

CAS-Registry-Nummern:

1, 99674-26-7; 2, 141805-51-8; 3, 141805-52-9; 4, 14687-15-1; 5, 141805-53-0; 6, 141805-54-1; 7, 5653-40-7; 8, 141805-55-2; 9, 141805-56-3; 10, 141805-57-4; 11, 84537-07-5; 12, 132938-43-3; 13, 141805-58-5; 14, 141805-59-6; 15, 141805-60-9; 16, 141805-61-0; 17, 126900-87-6; 18, 141805-62-1; 19, 141805-63-2; 20, 141865-64-3; 21, 141805-65-4; 22, 141805-66-5; 23, 141805-67-6; 24, 141823-81-6; 25, 141823-82-7; 26, 141823-83-8; C4-Epimer von 26, 141900-21-2.

- [1] J. Golik, J. Clardy, G. Dubay, G. Groenewold, H. Kawaguchi, M. Konishi, B. Krishnan, H. Ohkuma, K. Saitoh, T. W. Doyle, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *109*, 3461; J. Golik, G. Dubay, G. Groenewold, H. Kawaguchi, M. Konishi, B. Krishnan, H. Ohkuma, K. Saitoh, T. W. Doyle, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3462.
- [2] Für eine Übersicht über die chemischen und biologischen Eigenschaften der Endiin-Antibiotica siehe K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1453; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1387.
- [3] Für frühere Synthesen von Systemen, die der Esperamicin-A₁-Trisaccharidkette 3 ähneln, siehe a) R. L. Halcomb, M. D. Wittman, S. H. Olson, S. J. Danishefsky, J. Golik, H. Wong, D. Vyas, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5080; b) D. Yang, S.-H. Kim, D. Kahne, *ibid.* **1991**, *113*, 4715.
- [4] U. Zehavi, N. Sharon, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2141.
- [5] Für alle neuen Verbindungen wurden passende spektroskopische sowie elementaranalytische und/oder massenspektrometrische Daten erhalten. Die Ausbeuteangaben beziehen sich auf spektroskopisch und chromatographisch reines Material.
- [6] S. Hanessian, Y. Guidon, *J. Carbohydr. Res.* **1980**, *86*, C 3.
- [7] E. Wenkert, M. E. Alonso, B. L. Buckwalter, E. L. Sanchez, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2021.
- [8] K. C. Nicolaou, E. P. Schreiner, W. Stahl, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 566; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 585.
- [9] Hergestellt nach einer bereits beschriebenen Methode: K. C. Nicolaou, R. D. Groneberg, N. A. Stylianides, T. Miyazaki, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1275.
- [10] S. David, A. Thieffry, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1979**, 1568.
- [11] K. Nicolaou, R. D. Groneberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4085.
- [12] Bei dieser Reaktion wurde ein einziges geometrisches Isomer bezüglich der Oxim-C=N-Bindung erhalten; seine Konfiguration ist jedoch unbekannt.
- [13] Die Konfiguration von C-4 wurde aus den Kopplungskonstanten für H-4 ($J_{3,4} = 9.5$, $J_{4,5} = 9.6$ Hz; 500 MHz, CDCl₃, $\delta = 2.21$) abgeleitet, die axiale Beziehungen dieses Protons zu seinen beiden benachbarten Protonen anzeigen. Das Epimer von 26 zeigt ein Dublett bei $\delta = 2.99$ für H-4 ($J_{4,5} = 4.7$ Hz).

Moleküldynamiksimulation für ein allelspezifisches virales Nonapeptid aus dem Influenza-Matrixprotein in der Bindungstasche eines menschlichen MHC-Klasse-I-Proteins**

Von Norbert Zimmermann, Olaf Röttschke, Kirsten Falk, Didier Rognan, Gerd Folkers, Hans-Georg Rammensee und Günther Jung*

Professor Dietrich Brandenburg zum 60. Geburtstag gewidmet

MHC-Klasse-I-Proteine (Major Histocompatibility Complex = Gewebeverträglichkeitskomplex) befinden sich auf den Oberflächen der meisten menschlichen Zellen. Ihre Aufgabe im Immunsystem ist es, dem Killerzellrezeptor Bruchstücke von Proteinen des Zellinneren in einer Antigenbindungstasche zu präsentieren. Ist die Körperzelle gesund,

werden ausschließlich Fragmente körpereigener Proteine, sogenannte Selbstpeptide, prozessiert und präsentiert. Wird die Zelle von Viren befallen, so erkennen die cytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) die Bruchstücke viraler Fremdproteine (CTL-Epitope) in der MHC-Antigenbindungstasche und lysieren die erkrankte Zelle durch Ausschüttung von Perforinen.

Die hochauflösende Röntgenstrukturanalyse des menschlichen HLA-A2.1-Proteins^[1] ergab für die Antigenbindungstasche zwei parallele α -helicale Domänen, die durch ein zentrales antiparalleles β -Faltblatt verbunden sind. In der Bindungsregion befinden sich sechs ausgeprägte Taschen, von denen angenommen wird, daß sie Aminosäureseitenketten der präsentierten antigenen Peptide aufnehmen können. Die nicht zu Bindungen zwischen HLA-A2-Atomen gehörende Restelektronendichte wurde einem Peptidgemisch zugeordnet, das mit den MHC-Molekülen kokristallisiert ist.

Durch Poolsequenzierung von Selbstpeptiden, die in unseren Laboratorien durch eine spezielle Säureelutionstechnik aus MHC-Proteinen isoliert wurden^[2], konnten allelspezifische Oligopeptidmotive ermittelt werden (Tabelle 1), die im Falle des HLA-A2-Proteins hauptsächlich aus Nonapeptiden mit konservierten hydrophoben Seitenketten an den Positionen zwei und neun (Ankerpositionen^[2]) bestehen. Ein Alignment mit der Sequenz des Influenza-Matrixproteins ergab das Nonapeptid GILGFVFTL als potentiellen Kandidaten für ein natürlich prozessiertes antigenes Peptid, was zusammen mit den Ergebnissen der Röntgenstrukturanalyse dazu diente, ein Modell für die Bindung zwischen HLA-A2 und Antigen aufzustellen.

Tabelle 1. Peptidbindungsmotiv von HLA-A2, ermittelt durch Sequenzierung von Selbstpeptiden [2]. Nonapeptide aus viralen Proteinsequenzen sind zum Vergleich aufgelistet. Das Influenza-Matrixproteinmotiv stellt höchstwahrscheinlich das natürliche Epitop dar und wurde deshalb für die Modeling-Studien ausgewählt.

Aminosäure-reposition	1	2	3	4	5	6	7	8	9
entsprechende HLA-A2-Taschen[a]		„B“				„D“			„F“
dominante Ankerposition stark		L							V
schwach	I	M	E	K	V	K	L		
	L	A	G	I	I	A	E		
	F	Y	P	K	L	Y	S		
	K	F	D	Y	T	H			
	M	P	T	N					
	Y	M	M	G					
	V	Y	S	F					
		V	R	V					
				H					
Sequenzvergleich mit bekannten CTL-Epitopen[b]									
	I	L	K	E	P	V	H	G	V
	G	I	L	G	F	V	F	T	L

[a] Taschen „A“–„F“ siehe Abbildung 1. [b] Sequenzvergleich an Ankerposition 2 (Ile, Leu, Met).

Wir führten dann eine Moleküldynamiksimulation über 28 ps in wässriger Umgebung durch, um die Stabilität und Mobilität des konstruierten Modells zu überprüfen und um potentielle T-Zell-Erkennungsregionen zu ermitteln^[3–5].

Ausgehend von einer minimierten β -Faltblattkonformation des Antigens wurden zunächst die hydrophoben Wechselwirkungen der dominanten Ankerpositionen an die ent-

[*] Prof. Dr. G. Jung, Dipl.-Chem. N. Zimmermann
Institut für Organische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, W-7400 Tübingen

O. Röttschke, K. Falk, Priv.-Doz. Dr. H.-G. Rammensee
Max-Planck-Institut für Biologie, Abteilung für Immunogenetik
Correnstraße 42, W-7400 Tübingen

Dr. D. Rognan, Prof. Dr. G. Folkers
Departement Pharmazie der Eidgenössischen Technischen Hochschule
ETH-Zentrum
Clausiusstraße 25, CH-8092 Zürich (Schweiz)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert (SFB 323 und 120).

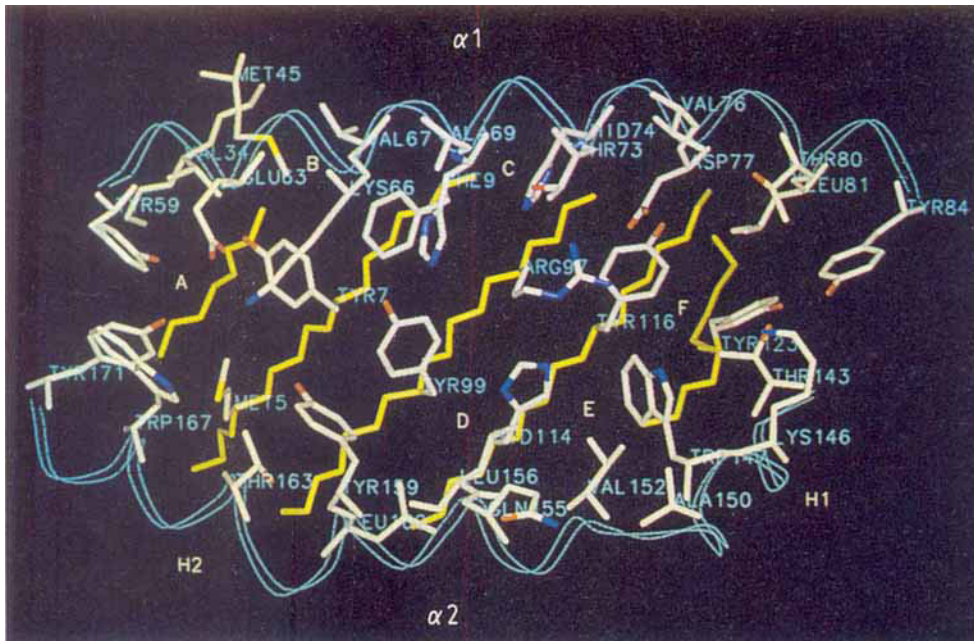


Abb. 1. Die HLA-A2-Peptidbindungsstelle setzt sich aus zwei parallelen α -Helices, α_1 und α_2 , zusammen (hellblaues Band), die durch ein antiparalleles β -Faltblatt verknüpft sind (in gelb). Stark ausgeprägte Bindungstaschen für Antigenseitenketten sind mit den Großbuchstaben A bis F gekennzeichnet (analog [1]). Aminosäureseitenketten, die durch Wassermoleküle erreicht werden können, sind in atypischen Farben gekennzeichnet.

sprechenden Taschen der HLA-A2-Struktur^[1] angepaßt (Abb. 1–3). Für Ile2 ist dies die hydrophobe Tasche B, die von den allelspezifischen Resten Met45, Val67 und Phe9 gebildet wird, für Leu9 die Tasche F, die von den hydrophoben Resten Ile124 und Trp147 begrenzt wird. Die Carboxylatfunktion des Antigen-C-Terminus Leu9 wurde hierbei in H-Brückendistanz zu Lys146 plaziert. Hierbei fällt besonders auf, daß Lys146 die einzige positiv geladene Aminosäure der HLA-Antigenbindungsstelle ist, die nicht durch eine saure Seitenkettenfunktion in einer Salzbrücke neutralisiert ist. Deshalb ist Lys146 allgemein für die Fixierung der C-Termini antigener Peptide prädestiniert^[6], nicht zuletzt auch deshalb, weil sie nicht nur im humanen, sondern auch im Maussystem höchst konserviert ist.

In der Poolsequenzierung der an HLA-A2 gebundenen Selbstpeptide^[2] erwiesen sich die Positionen sieben und acht im Nonapeptidmotiv als variabel. Deshalb wurde beim Mo-

dellieren des Komplexes in diesem Bereich darauf geachtet, daß für Peptidrückgrat und Seitenketten möglichst optimale Wechselwirkungen hinsichtlich Energie, Wasserstoffbrücken und van-der-Waals-Abständen erhalten, nicht jedoch Proteintaschen besetzt wurden.

Val6 ist ein zusätzlicher Anker, der deshalb in die hydrophobe Tasche D von HLA-A2 modelliert wurde^[1, 6a]. Diese Tasche wird von Leu156 und Leu160 flankiert und weist nach der Röntgenstrukturanalyse einen scharfen Peak Restelektronendichte auf. Die weiteren nichtkonservierten Reste Phe5, Gly4 und Leu3 nehmen eine unregelmäßige Konformation mit einem Knick zwischen den Resten vier und fünf ein, da das Peptidrückgrat in diesem Bereich zu lang ist, um die konservierten Reste Ile2 und Val6 in den Taschen B bzw. D auf direktem Weg zu verknüpfen. Die Konformation des Peptids in diesem Bereich stimmt auch sehr gut mit der räumlichen Gestalt der Restelektronendichte überein, die hier ebenfalls diese abgewinkelte Form aufweist^[1]. Es ist daher anzunehmen, daß dieser exponierte Antigenbereich eine potentielle Erkennungsregion für den CTL-Rezeptor ist.

Der variable, positiv geladene N-Terminus des Antigen GILGFVFTL wurde in Wasserstoffbrückendistanz zwischen die Hydroxyfunktionen der konservierten HLA-A2-Aminosäurereste Tyr171 und Tyr59 plaziert. Die Tasche A ist groß genug, um statt Glycin auch sperrigere Aminosäureseitenketten aufzunehmen.

Während der Aufheiz- und Äquilibrierungsphase der Simulation in den ersten 10–15 ps muß vor allem darauf geachtet werden, ob schlechte van-der-Waals-Kontakte durch das Andocken das System abrupt verändern, was aber nicht der Fall war. Die Analyse der Trajektorien und der Energiewerte ergab keine prinzipielle Abweichung von den vorgeschlagenen Nonapeptid-HLA-A2-Wechselwirkungen.

Alternativ zu der hier vorgestellten Simulation einer gestreckten Antigenkonformation wurde versucht, das Antigen GILGFVFTL in einer α -helicalen Konformation in die HLA-A2-Bindungstasche einzupassen, entsprechend doch noch recht weit verbreiteter Vorschläge und Modelle in der Literatur^[7]. Jedoch war die Übereinstimmung dieses α -helicalen Antigenmodells mit der räumlichen Gestalt der Restelektronendichte^[1] und auch der Geometrie der Bindungstasche sehr gering. Das Antigen in der α -helicalen Konfor-

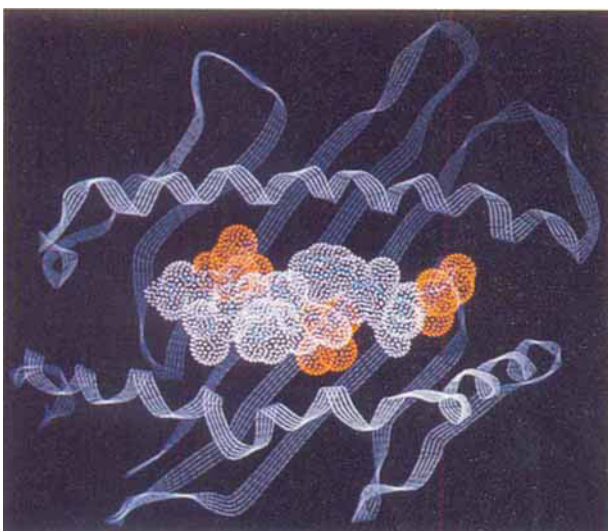


Abb. 2. Das Nonapeptid-CTL-Epitop GILGFVFTL aus dem Influenza-Matrixprotein wurde in die Bindungstasche von HLA-A2 modelliert und als Startkonformation für die Moleküldynamiksimulation zusätzlich minimiert. Das HLA-A2-Rückgrat ist als weißes Band dargestellt, das CTL-Antigen mit den Ankerseitenketten von Ile2, Val6 und Leu9 (in orange) als van-der-Waals-Oberfläche gezeigt.

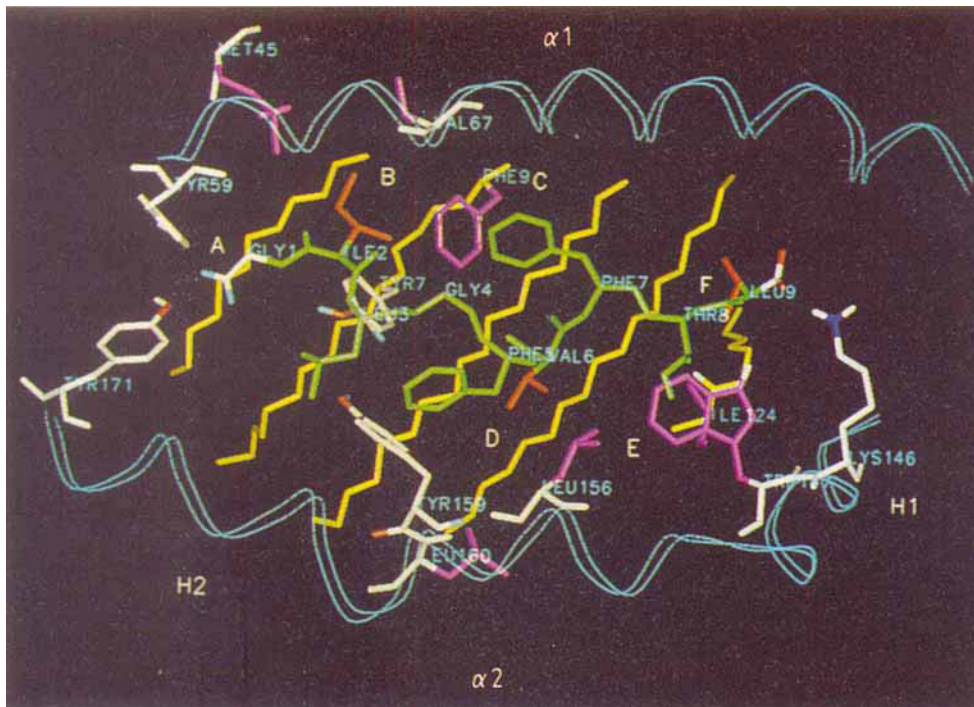


Abb. 3. Das detaillierte Modell des HLA-A2-Antigen-Komplexes zeigt die essentiellen Wechselwirkungen zwischen dem CTL-Epitop und der Antigenbindungstasche. In die hydrophoben Taschen B, D und F (in magenta) wurden die konservierten Seitenketten von Ile2, Val6 bzw. Leu9 eingefügt. Die hydrophilen Taschen C und E bleiben frei. Die Carboxygruppe von Leu9 interagiert mit Lys146, die N-terminale Aminofunktion mit Tyr59 und Tyr171.

mation wurde von uns analog^[7] derart in die Antigenbindungstasche eingepaßt, daß die dem *Agretop*[*] zugewandten Reste Ile2, Val6 und Leu9 in Richtung der Bindungstasche zeigten und die drei sperrigen Epitop-Reste Leu3, Phe5 und Phe7 in Richtung des T-Zellrezeptors gerichtet waren. Alle Moleküldynamiksimulationen mit α -helicalen Antigenkonformationen ergaben ein Herausdriften des Antigens aus der Bindungstasche, was zu der Annahme führt, daß Peptidantigene in α -helicalen Konformationen nicht in der Lage sind, effizient an HLA-A2 zu binden.

In der Moleküldynamiksimulation mit der *gestreckten* Antigenkonformation zeigen sowohl die elektrostatisch fixierten N- und C-Termini in den Positionen eins bzw. neun als auch die hydrophoben Ankerseitenketten in den Positionen zwei, sechs und neun kaum Fluktuationen relativ zu

ihrer Lage aus der Kristallstrukturanalyse, während die dem T-Zellrezeptor zugewandten Reste drei bis fünf, wie zu erwarten, eine höhere Beweglichkeit aufweisen (Abb. 4).

Interessant waren folgende Beobachtungen während der Simulation (Abb. 3–5): Die Seitenkette von Leu9 wanderte in Richtung der F-Taschenmitte, eine Position, die offensichtlich energetisch günstiger ist und auch mit einem Maximum an Restelektronendichte an dieser Stelle übereinstimmt^[1]. Die Salzbrücke zwischen Glu63 und Lys66 bricht nach etwa 7 ps auf, um zunächst in eine Wechselwirkung mit dem Peptidrückgrat von Ile2 und Gly1 und schließlich mit dem geladenen N-Terminus überzugehen, was auf eine eventuelle Hilfsfunktion von Glu63 beim Einpassen der antigenen Peptide schließen läßt. Die Schlaufenregion zwischen den beiden α -helicalen HLA-Untereinheiten H1 und H2 der α_2 -Domäne an Position Ala150 ist der am meisten exponierte Bereich der HLA-Struktur. Zusammen mit der Gly162-Schleife (rechts neben Thr163 in Abb. 1; Gly162 selbst ist nicht zu sehen) könnte diese Region für die Erkennung peptidbeladener MHC-Moleküle durch T-Zellen verantwortlich sein.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß unser Modell des HLA-A2-Antigen-Komplexes vollständig mit experimentellen Ergebnissen für HLA-A2^[1, 2] und HLA-B27^[6] übereinstimmt. Die Maxima der Restelektronendichte, die am Anfang und am Ende der HLA-Antigenbindungsstelle gefunden wurden, sind in Einklang mit der elektrostatischen Fixierung des N- bzw. C-Terminus des gebundenen Antigens. Weiterhin passen Gestalt, Ladung und Restelektronendichte der HLA-A2-Antigenbindungstaschen A, D, E und F vollkommen zu den Ankerpositionen, die wir für unser HLA-A2-Peptidbindungsmotiv aus der Poolsequenzierung der Selbstpeptide abgeleitet haben^[2]. Die Antigen termini sind in geeigneten Positionen, um mit polaren (Tyr59 und Tyr171 am N-Terminus) bzw. geladenen (Lys146 am C-Terminus) HLA-Aminosäureresten in Wechselwirkung zu treten. Darüber hinaus sind fast alle für die Antigenbindung essentiellen Aminosäurereste konserviert oder zumindest allelspezifisch im HLA-System. Ebenso konnte die Struktur des Antigenrückgrats zwischen Val6 und Ile2, die sich

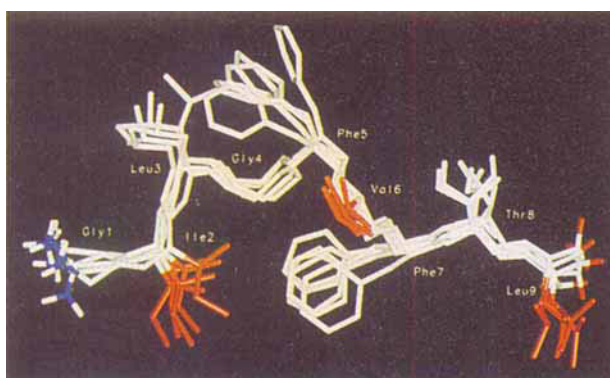
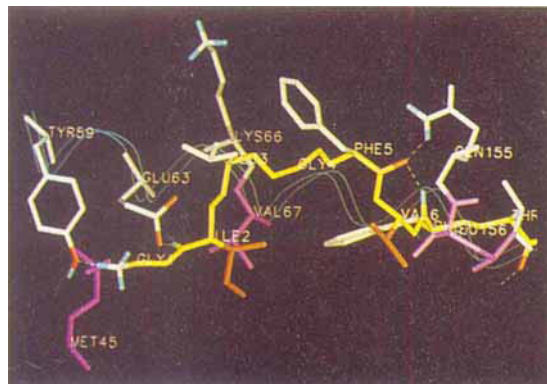


Abb. 4. Überlagerung von fünf Konformationen des CTL-Epitops, die sich durch Minima der potentiellen Energie nach 1, 7, 12, 14 und 28 ps der Moleküldynamiksimulation auszeichnen. Die Standardabweichungen zwischen der Startkonformation und den Momentaufnahmen aus der Moleküldynamiksimulation betragen 0,81, 0,65, 0,81, 1,02 bzw. 0,88 Å für das Antigen und 2,09, 2,09, 2,26, 2,52 bzw. 2,66 Å für den gesamten HLA-A2-Antigen-Komplex.

[*] Das *Agretop* (antigen restriction element) ist derjenige Teil eines MHC-Moleküls, der bei der Präsentation auf der Zelloberfläche mit dem Antigen wechselwirkt.

zwingend aus rein geometrischen Gesichtspunkten der Ankerpositionen ergab, durch die Gestalt der HLA-A2-Restelektronendichte bestätigt werden. Schließlich stimmt die sequenzierte Peptidlänge von neun Aminosäuren^[2] mit der Gesamtlänge der Restelektronendichte vom N- zum C-Terminus sehr gut überein.

a)



b)

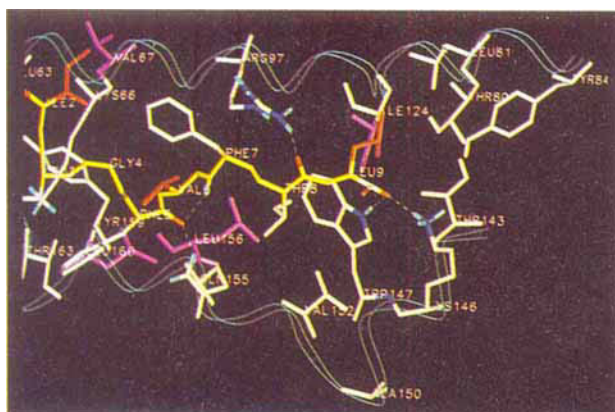


Abb. 5. Momentaufnahme aus der Moleküldynamiksimulation nach 12 ps. a) Die N-terminale Aminofunktion des CTL-Epitops wechselwirkt mit der Hydroxyfunktion von Tyr59. Wasserstoffbrückenbindungen bilden sich zwischen der Carbonylgruppe von Phe5, der Seitenkette von Gln155 und dem NH-Proton von Phe7. Die Antigenkette ist in gelber Farbe dargestellt, die Taschen B und D in magenta. b) Die C-terminale Carboxygruppe des CTL-Epitops zeigt Wasserstoffbrückenbindungen zur positiv geladenen Seitenkette von Lys146 und zur Trp147-Indolyl-NH-Funktion. Die Carbonylgruppe von Thr8 bildet eine Wasserstoffbrücke zur Seitenkette von Arg97.

Die Moleküldynamikuntersuchung eines Komplexes zwischen HLA-A2 und einem viralen Nonapeptidantigen in wässriger Lösung belegte die Stabilität der vorhergesagten Antigenbindungsstellen und gab zusätzlich Hinweise auf potentielle T-Zell-Erkennungsregionen. Unser Modell, vollständig gestützt durch experimentelle Ergebnisse, kann als Grundlage für eine ortsspezifische Mutagenese und für Markierungsstudien dienen, mit denen die vorgeschlagenen Wechselwirkungen zusätzlich belegt werden könnten und die bei der Entwicklung von Arzneimitteln und synthetischen Impfstoffen, die direkt mit MHC-Proteinen in Verbindung treten können^[8], helfen sollten.

Eingegangen am 19. Dezember 1991 [Z 5082]

CAS-Registry-Nummer:
GILGFVFTL, 141368-69-6.

- [1] M. A. Saper, P. J. Bjorkman, D. C. Wiley, *J. Mol. Biol.* **1991**, *219*, 277–319.
[2] K. Falk, O. Röttschke, S. Stefanović, G. Jung, H. G. Rammensee, *Nature* **1991**, *351*, 290–296.

- [3] a) Die Molekülmodelle wurden mit dem Softwarepaket SYBYL 5.4 (Tripos, St. Louis, USA) an Evans & Sutherland-PS-390-Graphikterminals erhalten, die über ein Ethernet-Netzwerk mit einer VAX 3500 als Hostrechner verbunden sind. Minimierung und Dynamikrechnungen wurden mit dem Softwarepaket AMBER 3.0 [3b] durchgeführt, welches auf einem CONVEX-C220-Vektorcomputer installiert ist. Die Trajektorien aus den Moleküldynamikrechnungen wurden mit dem Animations- und Analyseprogramm ADABTU auf PS-390-Stationen ausgewertet [3c]; b) S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, C. Singh, C. Ghio, G. Allagona, S. Profeta, P. Weiner, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 765–784; c) M. Krug, G. Folkers, *J. Mol. Graphics* **1991**, 199–211.
[4] Die dreidimensionale Kristallstruktur von HLA-A2 in einer Auflösung von 2.6 Å wurde aus der Brookhaven-Proteinstrukturdatenbank entnommen (F. C. Bernstein, T. F. Koetzle, G. J. B. Williams, E. F. Meyer, Jr., M. D. Brice, J. M. Rodgers, O. Kennard, T. Shimanouchi, M. Tasumi, *J. Mol. Biol.* **1977**, *112*, 535–542. Eintrag 3HLA). Wegen begrenzter Computerkapazität wurden für die Berechnung der HLA-A2-Molekülstrukturen nur die α_1 - und α_2 -Domänen von Gly1 bis zum methyramidierten Thr182 herangezogen. Um den HLA-A2-Antigen-Komplex in einer möglichst natürlichen Umgebung zu simulieren, wurde um das Molekül eine Wasserbox mit 1728 Wassermolekülen nach dem TIP3P-Modell [3b] generiert. Da in diesem Modell jedes Wassermolekül explizit betrachtet wird, muß die Dielektrizitätskonstante während der Simulation auf 1.0 gesetzt werden. Die Parameter für 1,4-ständige, nicht direkt gebundene Atome wurden mit dem Faktor 8.0 für Lennard-Jones- und 2.0 für elektrostatische Wechselwirkungen skaliert, um Big-AMBER-Bedingungen zu erhalten [7]. Die Partialladung des Sauerstoffatoms im TIP3P-Wasser wurde auf -0.66 gesetzt. Alle Wassermoleküle, die mehr als 5.0 oder weniger als 1.5 Å vom gelösten Stoff entfernt waren, wurden aus dem System entfernt. Nach 2000 Schritten Minimierung nach der Conjugate-gradient-Methode und mit dem AMBER-united-atom-Kraftfeld wurde das GILGFVFTL-Antigen unter Verwendung spezieller SYBYL-Funktionen interaktiv in die HLA-A2-Bindungstasche eingepaßt, so daß optimale Wechselwirkungsenergien, Abstände und Torsionswinkel erreicht wurden.
[5] Um die Stabilität und Mobilität des gemäß [4] aufgebauten MHC-Antigen-Komplexes zu überprüfen, wurde eine Moleküldynamiksimulation über 28.4 ps in wässriger Umgebung durchgeführt. Nach einer erneuten Conjugate-gradient-Minimierung des Komplexes über 2000 Schritte hinweg [4] wurden Newtons klassische Bewegungsgleichungen für das mehr als 5000 Atome umfassende System mit einer Schrittweite von 1 fs integriert, wobei wiederum das AMBER-united-atom-Kraftfeld mit TIP3P-Wasser verwendet wurde. Für die Wechselwirkungen zwischen nicht direkt gebundenen Atomen wurde – auf die Aminosäurereste bezogen – ein maximaler Abstand von 10 Å berücksichtigt; die Liste der in Wechselwirkung stehenden Atompaare wurde alle 100 Integrationschritte erneuert. Die Geschwindigkeitsvektoren für den ersten Integrationschritt wurden anhand der Maxwell'schen Geschwindigkeitsverteilung bei 300 K berechnet und mit einer Zufallsfunktion auf alle Atome des Systems verteilt. Die Simulationstemperatur wurde durch Koppeln des Systems an ein simuliertes Wärmebad bei 300 K konstant gehalten, wobei die Geschwindigkeiten der Atome alle 100 Simulationsschritte mit einer Relaxationszeit von 0.4 ps reskaliert wurden. Koordinaten und Energien des Systems wurden alle 0.1 ps auf Festplatte geschrieben, was zu 284 unterschiedlichen Konformationen führte. Die Entwicklung der potentiellen Energie des Systems ergab Gleichgewichtsbedingungen nach etwa 14 ps. Die aus der Trajektorie entnommenen Konformationen wurden anschließend einer Energieminimierung unterzogen, um die kinetische Energie aus den Systemen zu entfernen.
[6] a) Wie in der Modeling-Studie eines Komplexes von HLA-B27 mit einem Nonapeptidantigen gezeigt wurde [6b], besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, die Seitenkette von Antigenrest drei in die Tasche D zu plazieren. Dieses Andockschema stimmt zum einen nicht mit den Ergebnissen unserer HLA-A2-Poolsequenzierung überein und kann zum anderen nicht unmittelbar mit dem HLA-A2-Motiv verglichen werden. Rest drei des Peptidantigenes ist nicht konserviert und kann deshalb nur unzureichend mit der hydrophoben Tasche D wechselwirken. Durch weitere Modeling-Studien mit alternativen Einpassungsmöglichkeiten sollten Position und Funktion des Peptidantigenrestes sechs genauer bestimmt werden können. b) Kürzlich wurden ähnliche Wechselwirkungen, durch Modeling eines Nonapeptids in der Tasche von HLA-B27 ermittelt, beschrieben: D. R. Madden, J. C. Gorga, J. L. Strominger, D. C. Wiley, *Nature* **1991**, *353*, 321–325.
[7] a) D. Rognan, M. J. Reddehase, U. H. Koszinowski, G. Folkers, *Proteins* **1992**, *13*, 70–85; b) M. Del Val, H. Folkner, J. B. Rothbard, S. Jonjic, M. Messele, J. Schickedanz, M. J. Reddehase, U. H. Koszinowski, *J. Virol.* **1988**, *62*, 3965–3972; c) M. J. Reddehase, J. B. Rothbard, U. H. Koszinowski, *Nature* **1989**, *337*, 651–653.
[8] K. Deres, H. Schild, K.-H. Wiesmüller, G. Jung, H. G. Rammensee, *Nature* **1989**, *342*, 561–564.
[9] B. D. Walker, C. Flexner, K. Birch-Limberger, L. Fischer, T. J. Paradis, A. Aldovini, R. Young, B. Moss, R. T. Schooley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 9514–9518.
[10] F. Gotch, A. McMichael, I. Rothbard, *J. Exp. Med.* **1988**, *168*, 2045–2057.