

## 2P110

### インフルエンザウイルスHAのシアロ糖鎖結合親和性解明に向けた理論研究

(CREST・JST<sup>1</sup>、産総研・計算科学<sup>2</sup>、京大院・薬<sup>3</sup>)

○澤田敏彦<sup>1,2</sup>、石田豊和<sup>1,2</sup>、Dmitri G. Fedorov<sup>1,2</sup>、内丸忠文<sup>1,2</sup>、北浦和夫<sup>1,2,3</sup>

#### 【導入】

A型インフルエンザウイルスは、自身が持つ赤血球凝集素(HA)を介して宿主細胞膜上のシアロ糖鎖に結合して細胞感染する。HAとシアロ糖鎖の結合親和性は、インフルエンザウイルスの宿主領域と関係がある[1]。すなわち、トリ型ウイルスのHAは、トリ腸管上皮細胞に見られる Neu5Ac $\alpha$ (2-3)Gal 糖鎖( $\alpha$ 2-3 糖鎖)に強く結合する。ヒト型ウイルスは、ヒト気道上皮細胞が持つ Neu5Ac $\alpha$ (2-6)Gal 糖鎖( $\alpha$ 2-6 糖鎖)に強く結合する。注意すべきことに、トリ型ウイルス HA のアミノ酸残基が置換されると、そのウイルスは $\alpha$ 2-6 糖鎖に強く結合する場合がある。

最近、ヒト上気道線毛細胞に $\alpha$ 2-3 糖鎖が若干存在すること[2]及び、ヒト気道深部(肺胞)に $\alpha$ 2-3 糖鎖が発現していること[3]が示された。従って、トリ型ウイルスに長時間暴露されたヒトは、本ウイルスに感染する。しかし、トリ型ウイルスがヒト-ヒト間で容易に感染するためには、HAのアミノ酸置換に起因した $\alpha$ 2-6 糖鎖に対する結合親和性の向上が必要であろう。

強毒性トリ型インフルエンザウイルス H5N1 (A/Vietnam/1194/04: VN1194)の H5 は、 $\alpha$ 2-3 糖鎖に強く結合した。しかし、H5のアミノ酸が2点置換したもの(Gln192Arg、Ser223Asn)は、 $\alpha$ 2-6 糖鎖にも同程度結合した[4]。特に、Gln192Arg が寄与した。なぜこの置換で $\alpha$ 2-6 糖鎖への結合親和性が増すのだろうか？我々は、 $\alpha$ 2-6 糖鎖と VN1194 H5 及び VN1194 Gln192Arg H5 の複合体を分子構造論的に解析して、両者を比較することを目指した。

#### 【方法・結果】

VN1194 H5 と $\alpha$ 2-6 オリゴ糖鎖[Neu5Ac $\alpha$ (2-6)Gal $\beta$ (1-4)GlcNAc $\beta$ (1-3)Gal $\beta$ (1-4)-OH]の複合体結晶構造は報告されていない。よって、1997年トリ型ウイルス H5- $\alpha$ 2-6 オリゴ糖鎖複合体[5]のアミノ酸を *in silico* で置換して VN1194 H5 複合体、及び VN1194 Gln192Arg H5 を調製した。また、このシアロオリゴ糖鎖はアッセイ系でも使われる[6]。

本複合体中の $\alpha$ 2-6 オリゴ糖鎖は、その部分構造が定まっていない。そこで、ブタ H1、及びヒト H3 に結合している $\alpha$ 2-6 オリゴ糖鎖の構造[7, 8]を代用した。具体的には、各複合体中で構造が決まっている Neu5Ac 残基の座標データを基準にしてオリゴ糖鎖を置き換えた。

調製した各複合体に、系を中性化するためのイオンを置き、さらに 9.0 Å の層で TIP3P モデルの H<sub>2</sub>O 分子を置いた。複合体結晶中で構造が決まっている H<sub>2</sub>O 分子で、H5- $\alpha$ 2-6 オリゴ糖鎖相互作用に関わると予想された分子は、その座標を用いた。

本構造を TINKER[9]の分子力学計算で構造最適化した。分子力場パラメーターに、amber-ff99[10]と glycam-06d[11]を用いた。この段階で、Arg192 は $\alpha$ 2-6 オリゴ糖鎖の Glc 残基と強く相互作用しているように思われた。一方で Gln192 は、Glc 残基と相互作用していないと思われ

た。今後、本構造の一部を QM レベルで構造最適化し、さらにフラグメント分子軌道法で分子間相互作用を解析する。

#### 【文献】

- [1] Matrosovich M.N., Klenk H-D. and Kawaoka Y. 2006. Receptor specificity, host-range, and pathogenicity of influenza viruses. In: Kawaoka Y (Ed) *Influenza virology current topics*, Caister Academic Press, Wymondham, UK, pp95-137.
- [2] Matrosovich M.N. et al. 2004. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 4620-4624
- [3] Shinya K. et al. 2006. Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature* **440**, 435-436, van Riel. D. et al. 2006. H5N1 virus attachment to lower respiratory tract. *Science* **312**, 399
- [4] Yamada S. et al. 2006. Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. *Nature* **444**, 378-382
- [5] Ha Y. et al. 2001. X-ray structures of H5 avian and H9 swine influenza virus hemagglutinins bound to avian and human receptor analogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* ,**98**, 11181-11186
- [6] Shinya K. et al. 2005. Characterization of a human H5N1 influenza A virus isolated in 2003. *J. Virol.* **79**, 9926-9932
- [7] Gamblin S.J. et al. 2004. The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin. *Science* **303**, 1838-1842
- [8] Eisen M.B. et al. 1997. Binding of the influenza A virus to cell-surface receptors: structures of five hemagglutinin-sialyloligosaccharide complexes determined by x-ray crystallography. *Virology* **232**, 19-31
- [9] TINKER home page. <http://dasher.wustl.edu/tinker/>
- [10] Wanget J. et al. 2000. How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules?. *J. Comput. Chem.* **21**,1049-1074
- [11] Glycam parameter home page. [http://www.glycam.com/gl\\_params.html](http://www.glycam.com/gl_params.html)