

3P093

FMO/PCM法で計算したインフルエンザHAとシアロ糖鎖の結合自由エネルギー

(¹産総研・計算、²JST・CREST、³京大院・薬) ○澤田敏彦^{1,2}、Dmitri G. Fedorov¹、北浦和夫^{1,3}

導入

インフルエンザウイルスは、ウイルス膜に存在するスパイク状糖タンパク質である赤血球凝集素(HA)の作用によって、宿主細胞膜上のシアロ糖タンパク質やシアロ糖脂質に結合する。HAのシアロ糖鎖結合親和性は、ウイルスの宿主領域と関係がある。トリ型ウイルス H3 亜型は、糖鎖結合サイトを形成するアミノ酸残基の1つに Gln226 を持っており、Neu5Ac α 2-3Gal 糖鎖(α 2-3)に強く結合する。一方でヒト型ウイルス H3 は Leu226 であり、Neu5Ac α 2-6Gal 糖鎖(α 2-6)に強く結合する。トリ H3 のアミノ酸が Gln226 から Leu に置換すると、そのトリ H3 は、 α 2-3 よりもヒト α 2-6 に強く結合する。逆に、ヒト H3 Leu226Gln は、 α 2-6 よりも α 2-3 に強く結合する。従って、トリ型ウイルスがヒトヒト間で容易に感染する際のイベントとして、トリ HA 変異体の α 2-6 に対する結合親和性向上が考えられる。[1] そこで我々は、連続誘電体モデル(PCM)によるフラグメント分子軌道(FMO)法[2]によって、H3 及び H3 点変異体とシアロ2糖の相互作用を定性的に理解したいと考えた。

方法

トリ及びヒト H3 3量体と Neu5Ac α 2-3 or 2-6Gal 2糖の複合体構造を分子力学計算(MM)でエネルギー極小化した後[3]、HA1 ドメイン単量体—シアロ2糖 複合体を切り出した[4]。切り出した各複合体と HA1 及びシアロ2糖を、FMO2-MP2/6-31G(d)及び FMO2-MP2/PCM[1(2)]/6-31G(d)でシングルポイントエネルギー計算して、溶質の気相中における内部エネルギー E_{gas} と溶媒和自由エネルギー ΔG_{solv} を得た。HA1 は、1アミノ酸残基を1フラグメントとした。シアロ2糖は、単糖ごとにフラグメント化した。その一方で、各溶質を Amber99 力場と GLYCAM06e 力場による MM 計算で再度エネルギー極小化した後、基準振動解析を行って溶質のエントロピー S_{solute} を算出した。MM 計算と基準振動解析は、距離依存誘電率 $\epsilon=4r$ の条件で行った。[5] H3 HA1 とシアロ2糖の結合自由エネルギー G_{bind} を次式で算出した。

$$G_{\text{bind}} = \Delta E_{\text{gas}} + \Delta \Delta G_{\text{solv}} - T \Delta S_{\text{solute}}$$

$$\Delta E_{\text{gas}} = E_{\text{gas,complex}} - (E_{\text{gas,HA1}} + E_{\text{gas,sialoside}})$$

$$\Delta \Delta G_{\text{solv}} = \Delta G_{\text{solv,complex}} - (\Delta G_{\text{solv,HA1}} + \Delta G_{\text{solv,sialoside}})$$

$$\Delta G_{\text{solv}} = \Delta G_{\text{pol}} + \Delta G_{\text{es}} + \Delta G_{\text{cav}} + \Delta G_{\text{disp}} + \Delta G_{\text{rep}}$$

$$\Delta S_{\text{solute}} = S_{\text{solute,complex}} - (S_{\text{solute,HA1}} + S_{\text{solute,sialoside}}), \quad S_{\text{solute}} = S_{\text{trans}} + S_{\text{rot}} + S_{\text{vib}}$$

ここで、 ΔG_{pol} ; 溶質-PCM間の分極相互作用項、 ΔG_{es} ; 溶質-PCM間の静電相互作用項、 ΔG_{cav} ; 空孔形成エネルギー項、 ΔG_{disp} ; 溶質-PCM間の分散相互作用項、 ΔG_{rep} ; 溶質-PCM間の交換反発項、である。 S_{trans} 、 S_{rot} 、 S_{vib} は、並進、回転、振動エントロピーである。

結果と考察

トリ H3 HA1 は、 α 2-3 に対して有利な G_{bind} を与えた。トリ H3-トリ α 2-3 糖鎖複合体は、分子間水素結合と分子間分散相互作用によって安定化した。その分、複合体形成に伴う脱溶媒和ペナルティーも大きかった。トリ H3 Gln226Leu HA1 と α 2-6 の G_{bind} は、トリ H3-ヒト α 2-6 複合体の G_{bind} よりも有利であり、特に S_{solute} の寄与が重要だった。ヒト H3 HA1- α 2-6 複合体の G_{bind} は-4.3 kcal/mol と算出されて、実験値-3.7~-3.6 kcal/mol [6]に類似した。その G_{bind} は、トリ H3 Gln226Leu HA1- α 2-6 複合体の G_{bind} よりも有利だった。

同じ HA1-シアロ2糖複合体モデルについて、上述の系と、系の全電荷を0に調整した系を比較した結果、 E_{gas} は電荷の影響を強く受けた。しかし、その影響を相殺するように脱溶媒和ペナルティーが作用した。

結論と展望

FMO/PCM 法と MM レベルの基準振動解析の組み合わせは、H3 のシアロ2糖に対する結合親和性の大小関係を定性的に説明した。本方法は、トリ H3 Gln226Leu がヒト α 2-6 糖鎖に結合できるという実験結果を説明した。FMO/PCM 法は、H3-シアロ2糖複合体の分子間相互作用安定化と、複合体形成に伴う脱溶媒和ペナルティーを見積もった。精度良く G_{bind} の大小関係を見積もるために、現在我々は、分子動力学計算による HA-シアロ糖脂質複合体の平衡化を行っている。今後、サンプリングした複合体構造を多階層 FMO 法や EFP 法による水分子の取扱いによって構造最適化する。そして、FMO/PCM 法でエネルギー解析する。

文献

- [1] Y. Kawaoka Ed., *Influenza virology current topics*, Caister Academic Press, Wymondham, **2006**.
- [2] D. G. Fedorov, K. Kitaura, Eds., *The fragment molecular orbital method: practical applications to large molecular systems*, CRC press, Boca Raton, **2009**.
- [3] T. Sawada et al. *Glycoconj. J.* **2008**, 25, 805.
- [4] T. Sawada et al. *J. Mol. Genet. Med.* **2009**, 3, 133.
- [5] L. T. Chong et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, 96, 14330., M. G. Ford et al. *Proteins Struct. Func, Genet.* **2003**, 53, 229.
- [6] N. K. Sauter et al. *Biochemistry* **1989**, 28, 833.