

2P129

HIV プロテアーゼ複合体における QM/MM 計算による構造研究
(筑波大学院・化) ○神立 倫明, 守橋 健二

A QM/MM study on molecular structures of HIV protease complexes
(Univ. of Tsukuba) ○Kandatsu Tomoaki, Morihashi Kenji

[序]

人免疫不全ウイルス (HIV) が増殖する際、感染した細胞に自身を構成するたんぱく質と RNA を作らせる。このたんぱく質はいくつかのたんぱく質をつないだ一本鎖の前駆体タンパク質を構成する。HIV-1 プロテアーゼはこの前駆体タンパク質を適当なサイズのたんぱく質に切断する役割があり、切断後、感染力のあるウイルスが導かれる。

HIV-1 プロテアーゼ阻害剤はタンパク質分解酵素に強く結合することでプロテアーゼの活動を阻害し、感染力をなくすことで増殖を防ぐことができる。ただし阻害剤はプロテアーゼのアミノ酸側鎖に結合することが多く、アミノ酸を変異させることで耐性を得やすい⁽¹⁾という特徴がある。したがって、プロテアーゼに耐性を与えない阻害剤の開発が必要となる。

本研究では QM/MM 計算のうちの ONIOM 法⁽²⁾を用いて最適化した構造と、QMMMMD により最適化した構造と結晶構造の比較を行い、ONIOM 法により最適化の妥当性と HIV-1 プロテアーゼと阻害剤の複合体の構造を予測した。

[計算方法]

阻害剤としてインディナビル、ロピナビル、DMP323、TMC114 を対象として計算を行った (図 1)。

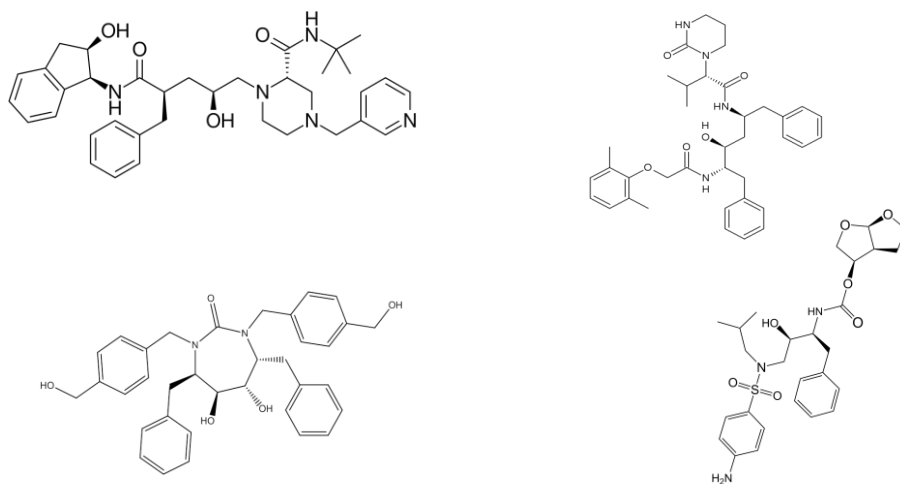


図 1 : インディナビル (左上) , DMP323 (左下) ,
ロピナビル (右上) , TMC114 (左下) の構造式

各阻害剤の初期構造は Protein Data Bank にある X 線構造解析により得られた構造を用いた。各構造には水素が付加されていないため Amber10 により水素を付加した。その後、Amber10 を用いて HIV-1 プロテアーゼの周りに構造水として 7000-9000 個の水分子を水の溶媒和(TIP3P)ボックスで配置した。次に系の電荷を中和するために、カウンターイオンとして DMP323 には Cl を 6 個、インディナビル、ロピナビル、TMC114 には Cl を 5 個、それぞれ配置した。

これらの構造に対して ONIOM 計算では、阻害剤、活性部位である ASP25、ASP125、さらに阻害剤の隣接残基である Ile50、Ile150 を QM 部位として QM/MM による構造最適化を行った。構造最適化には

Gaussian09 を用い、QM 部位は M06-2X/6-311G(d, 2p)を、MM 部位には Amber を用いた。

また QM/MM MD 計算では、Time step を 1fs、周期境界条件と SHAKE 法を適用して NPT 計算を行った。また活性部位である ASP25, ASP125, さらに阻害剤の隣接残基である Ile50, Ile150 を QM 部位とし、QM 部分では AM1-BCC を用いて計算を行った。

まず最急降下法及び共役勾配法にて系全体を緩和した。次に水溶媒のみを緩和した。その後系全体を 40000 ステップ緩和した。最初の 20ps で熱浴温度を 0K から 300K にあげ、その後 20ps ステップで 300K を保った。その後 3ns, 300K にて MD 計算を行った。

[計算結果]

まず MD 計算の初期構造に対する QM/MM MD 計算による時間あたりの構造の根二乗平均偏差(RMSD)とエネルギーの時間あたりの変異を調べた。RMSD においてもエネルギーにおいても時間経過によって大きな変化は見られずほぼ一定な数値に収束していた。

次に複合体の最適化構造から阻害剤の構造のみを取り出し(1)、孤立した阻害剤だけを最適化した構造(2)と、X 線構造解析により得られた構造(3)について、エネルギーを比較した。各阻害剤について、(2) > (1) > (3) の順にエネルギーが低くなった。次に X 線構造解析により得られた構造と ONIOM 計算により最適化した構造と MD 法による 2.5ns~3ns 間の平均構造について、結合距離や結合角のズレがどの程度生じたかを調べた。図 2 に ONIOM 法で最適化した構造(1)と QM/MM MD 計算の平均構造を示した。MD 計算と ONIOM 法における構造比較において、原子間距離では ONIOM 法の構造のベンゼン環の距離が 0.05Å~0.11Å 長くなっていた。これは M06-2X においてベンゼン環の距離は平均化しているためと考える。また、二面角ではフェニル基に結合している CH₂OH を含む二面角及び活性部位である ASP25 と ASP125 との水素結合をする OH 基の二面角が 20° ~40° 程異なっていた。これは、MD の経緯を見ると水素結合している時間の構造としていない構造が存在することが変化の一因ではないかと考える。これらの結果から MD 法と ONIOM 法により得られた構造は大きな違いはあまり見受けられないが水素結合に関しては違いが生じるという結果となった。

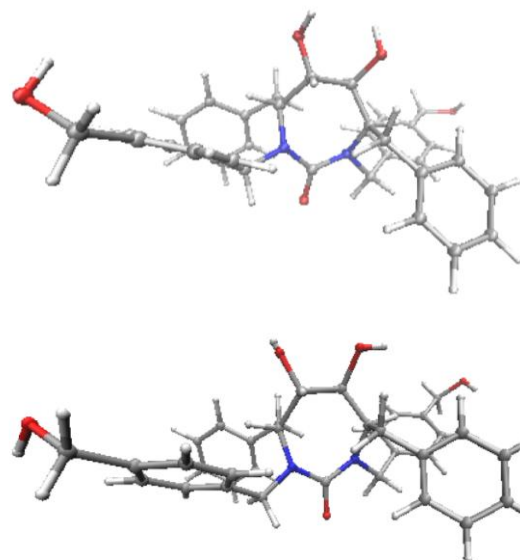


図 2: ONIOM 法で最適化した構造 (上) と QM/MM MD 計算で求めた平均構造 (下)

[参考文献]

(1) 岩田理子, 吉田慎哉, 原田寧, 日薬理誌, 132, 363-369 (2008).

(2) K. Morokuma, Bull. Korean Chem. 24, 797-801 (2003).