

2P105

インフルエンザウィルスの M2 チャンネルにおける His37 へのプロトン移動に関する DFT 計算 (三重大院工) ○三谷 昌輝・吉岡 泰規

Density functional study on proton transfer to His37 in M2 channel of influenza virus
(Mie Univ.) ○Masaki Mitani, Yasunori Yoshioka

【序】インフルエンザウィルスの M2 チャンネルはプロトン輸送の機能を担っており、宿主細胞への感染に大きく関与している。図 1 に、A 型インフルエンザウィルスの M2 チャンネルの X 線構造を示す (PDB code: 3LBW) [1]。M2 チャンネルは 4 本鎖から構成されており、膜貫通領域には His37 (His-box) と Trp41 (Trp-basket) が存在する。ウィルス粒子の外側が酸性条件になると M2 チャンネルが活性化され、プロトンが図 1 の上から下に透過していきウィルス粒子の内部に取り込まれる。

X 線構造において、His37 の上部に 6 個の水分子 (Entry cluster)、His37 と Trp41 の間に 2 個の水分子 (Bridging cluster)、Trp41 の下部に 5 個の水分子 (Exit cluster) が観測されている。Entry cluster の上側の 2 つの O 原子は水素結合距離にあり、下側の 4 つの O 原子は、それぞれ、各鎖の Ala34 の O 原子および His37 の $N_{\delta 1}$ 原子と水素結合距離にある。また、Entry cluster の上側の各 O 原子は、それぞれ、下側の 2 つの O 原子とも水素結合距離にある。Bridging cluster の 2 つの O 原子は水素結合距離にあり、それぞれ、C 鎖と D 鎖の His37 よりも A 鎖と B 鎖の His37 に近く、 $N_{\epsilon 2}$ 原子と水素結合距離にある。

プロトンの移動経路は Entry cluster → His-box → Bridging cluster と考えられているが、移動機構の詳細は不明であり、プロトン移動における His37 の役割について幾つかの提案がなされている。1 つの His37 がプロトン化すると、隣接する 2 つの His が $N_{\epsilon 2}$ -H- $N_{\delta 1}$ で連結した 2 量体を形成し、プロトン移動に関与するという考えと、His37 の 2 量体はプロトン移動に関与しないという考えがある [2, 3]。本研究では、プロトン移動の初期過程である Entry cluster から His37 へのプロトン移動について、密度汎関数計算により構造変化とエネルギー変化を検討した。

【計算】モデル分子は、3LBW の X 線構造を基に構成した。X 線構造から Ala34-Ile35-Leu36-His37-Leu38-Ile39-Leu40-Trp41 の 4 量体を取り出し、末端のペプチド結合を水素原子で終端した。結晶安定化のために導入された Ala は野生型の Gly に置き換え、側鎖はプロトン移動に直接関与しないと考えられるため Ile と Leu は全て Gly に置き換えた。したがって、モデル分子は Gly34-Gly-Gly-His37-Gly-Gly-Gly-Trp41 の 4 量体であり、水分子は Entry cluster および Bridging cluster の 8 個を考慮した。

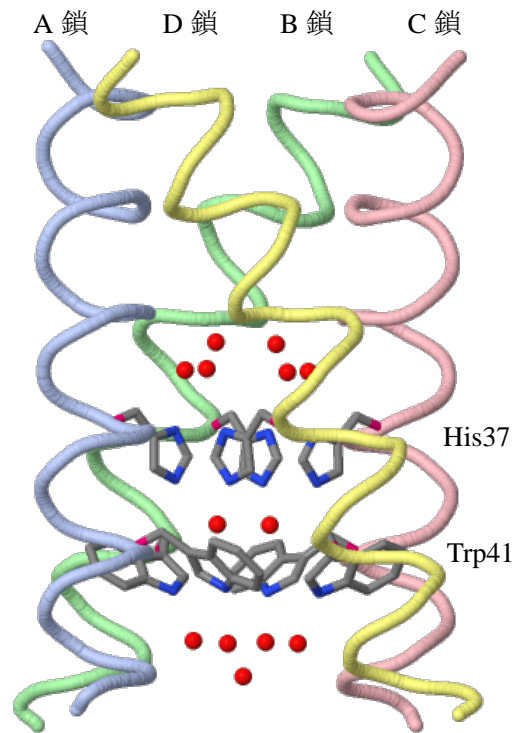


図 1. A 型インフルエンザウィルスの M2 チャンネルの X 線構造 (PDB code: 3LBW)

プロトンは、Entry cluster の上側の2つの水分子から、Entry cluster の下側の4つの水分子を経由して、His37 まで移動する。Entry cluster の上側の2つの水分子を W1 および W2 とし、Bridging cluster の2つの水分子を W3 および W4 とする。各鎖の His37 を His_A, His_B, His_C, His_D とし、各鎖の His37 と水素結合する Entry cluster の下側の4つの水分子を W_A, W_B, W_C, W_D とする。

プロトン移動前の構造として、W1 がプロトン化した構造 W1H⁺-W2 および W2 がプロトン化した構造 W1-H⁺W2 を検討した。プロトン移動の経路は、W1 → W_A → His_A と W1 → W_D → His_D および W2 → W_B → His_B と W2 → W_C → His_C の経路が可能であり、プロトン移動後の構造として各経路でプロトンが移動した構造を検討した。

W3 と W4 は、それぞれ、O(W3)-HN_{e2}(His_A) と O(W4)-HN_{e2}(His_B) の水素結合を形成していると仮定し、W3 の H 原子と W4 の O 原子が水素結合する構造 H(W3)-O(W4) および W3 の O 原子と W4 の H 原子が水素結合する構造 O(W3)-H(W4) を検討した。

密度汎関数計算には B3LYP 汎関数を用い、基底関数には 6-31G* を適用した。構造最適化は、各アミノ酸主鎖の原子 (N, C_α, C) を X 線構造の位置に固定して実行した。

【結果】W1 または W2 がプロトン化した、プロトン移動前の安定構造の相対エネルギーを表 1 に示す。なお、Bridging cluster が H(W3)-O(W4) の構造では、W2 がプロトン化した安定構造は得られなかった。W3 の H 原子と W4 の O 原子が水素結合する構造の **1a** よりも、W3 の O 原子と W4 の H 原子が水素結合する構造の **1b**, **1c** が安定である。

表 1. プロトン移動前の安定構造の全エネルギーと相対エネルギー

モデル	Entry cluster	Bridging cluster	E_{tot} (Hartree)	E_{rel} (kcal/mol)
1a	W1H ⁺ -W2	H(W3)-O(W4)	-9937.797765	1.2
1b	W1H ⁺ -W2	O(W3)-H(W4)	-9937.799499	0.1
1c	W1-H ⁺ W2	O(W3)-H(W4)	-9937.799608	0.0

1a, **1b**, **1c** の各構造からプロトンが His37 まで移動した、プロトン移動後の安定構造の相対エネルギーを表 2 に示す。C 鎖または D 鎖の His37 がプロトン化した構造の **2b**, **2d**, **2f** よりも、A 鎖または B 鎖の His37 がプロトン化した構造の **2a**, **2c**, **2e** が安定である。

表 2. プロトン移動後の安定構造の全エネルギーと相対エネルギー

モデル	プロトン移動前	His37	E_{tot} (Hartree)	E_{rel} (kcal/mol)
2a	1a	H ⁺ N _{δ1} (His _A)	-9937.801328	0.8
2b	1a	H ⁺ N _{δ1} (His _D)	-9937.798488	2.6
2c	1b	H ⁺ N _{δ1} (His _A)	-9937.799892	1.7
2d	1b	H ⁺ N _{δ1} (His _D)	-9937.797402	3.3
2e	1c	H ⁺ N _{δ1} (His _B)	-9937.802667	0.0
2f	1c	H ⁺ N _{δ1} (His _C)	-9937.799463	2.0

プロトン移動によるエネルギー変化は、**2a** で 2.2 kcal/mol、**2b** で 0.5 kcal/mol、**2c** で 0.2 kcal/mol、**2e** で 1.9 kcal/mol の安定化であり、**2d** で 1.3 kcal/mol、**2f** で 0.1 kcal/mol の不安定化である。

結果の詳細は、発表当日に報告する。

[1] R. Acharya et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 15075-15080 (2010).

[2] J. Wang et al., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **21**, 68-80 (2011).

[3] T. E. DeCoursey et al., *J. R. Soc. Interface*, **11**, 20130799 (2014).