

4P077

インフルエンザウイルス HA タンパク質の pH 依存性構造変化に関する 分子シミュレーション研究

(お茶大・生命情報学セ) ○三浦信明、(北大・人獣セ) 五十嵐学

Molecular simulation study on conformation changes depending on pH of influenza virus hemagglutinin

(Center for Informational Biology, Ochanomizu Univ.) ○Nobuaki MIURA,

(Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido Univ.) Manabu IGARASHI

【序】インフルエンザウイルスは、季節性インフルエンザとして、毎年ヒトの間で流行し、多数の患者・死者を出している。また、動物の間で流行・保持されているインフルエンザウイルスが、ヒトの間で新型インフルエンザとしてパンデミック(世界的大流行)を起こすことも懸念される。このようにインフルエンザは公衆衛生上大きな問題であり、その予防・治療法の改良・発展は重要な課題である。本研究では新規抗インフルエンザ剤の開発に資するための知見を得ることを目的としている。インフルエンザウイルスの粒子表面には 2 種類の糖タンパク質、ヘマグルチニン(HA)とノイラミニダーゼ(NA)が存在する。HA は感染初期過程において細胞に侵入する際の機能を司り、NA は複製したウイルスが細胞から出芽する際の機能を司る。現在、最も治療に用いられているリレンザ、タミフルは NA の機能を阻害する薬剤であるが、耐性ウイルスの出現が問題になっている。一方、いまだ認可されている HA 阻害剤は存在しない。HA はウイルス感染において、①宿主細胞表面にある糖鎖レセプターと結合する、②宿主細胞のエンドソーム膜とウイルス膜を融合させる、という2つの機能を持つ。したがって、これらの HA の機能を阻害する化合物があれば、抗インフルエンザ剤の候補となる可能性がある。これまで、糖鎖レセプターと HA の結合を阻害する化合物(Cyanovirin-N、trisphenol-sialyllactose)や膜融合を阻害する化合物(TBHQ, BMY-27709, CL-385319, N-carboxamide)が報告されている。しかしながら、これらの化合物はある特定のウイルス株にしか効果がないため、臨床使用には適していない。そこで我々は次の標的として、インフルエンザウイルスが細胞内に取り込まれた後、エンドソーム内の pH の低下により HA が構造変化を起こす動的過程に着目した。本研究では分子動力学(MD)シミュレーションにより、HA タンパク質の pH 依存性構造変化の分子機構の詳細を明らかにし、新規抗インフルエンザ剤の開発に有用な知見を得る。

【計算】HA タンパク質の pH 依存性構造変化の分子メカニズムを解明するために、Protein Data Bank に収録されている A/Puerto Rico/8/1934(H1N1)株(PDB code: 1RU7)を用いて、以下 2 種類の MD シミュレーションを行った。計算は全て、AMBER14 を用いて行った。

(1) MD1

pdb2pqr を用いて pH=4.5 を想定したプロトネーションを行い、あらわに水を溶媒和させ、エネルギー最小化を行った。その後 300K、1 気圧の条件で加温(50 ps)、平衡化(100 ps)を行った後、100 ns

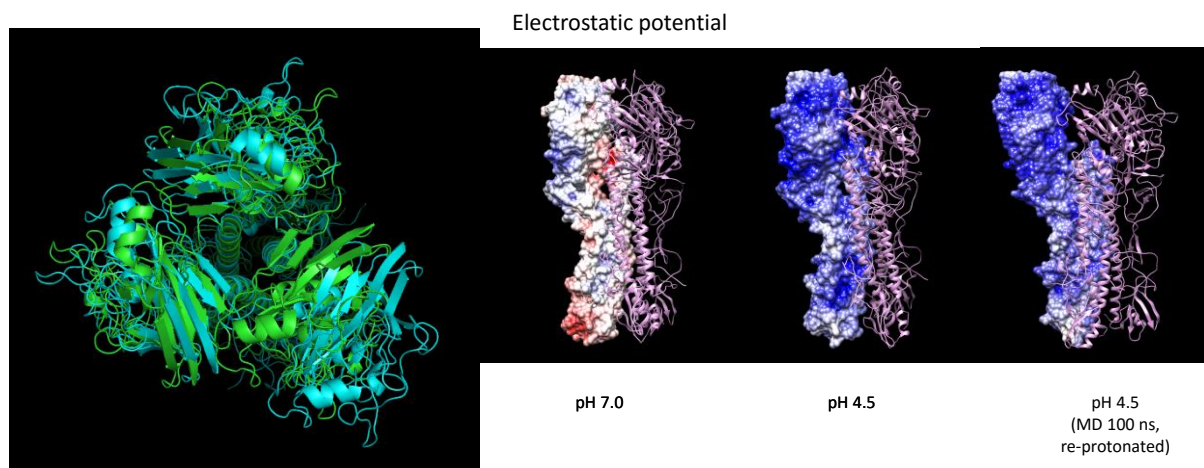
のプロダクトランを行った。数 ns ごとに構造をサンプリングし、それらの構造に対して再度 pH=4.5 でプロトネーションを行い、MD シミュレーションを行った。

(2) MD2

AMBER14 に implement されている constant pH molecular dynamics (CpHMD) を行った。CpHMD はグランドカノニカル分布に従い、プロトネーションの有無をダイナミクス中に変化させることができる。この方法では構造の変化に従ってイオン化状態が変化していく様子を逐次反映させる事ができる。ただし、あらわな溶媒は扱えないなどの制約がある。

【結果と考察】MD1 における 100 ns 後の構造と、初期構造(1RU7)を比較した(下図(左))。レセプター結合サイト側からの視点で描かれている。100 ns 後の構造(シアン)は初期構造(緑)に比べ、レセプター結合サイトを含む HA タンパク質の頭部が外側に開いている事が観察できる。また APBS を用いて、初期構造(pH=7.0と4.5)および 100 ns 後(pH=4.5)の構造に対して静電ポテンシャル計算を行った(下図(右))。ただし、100 ns 後の構造は、MD 計算後の構造に対して、再度プロトネーションを行った構造である。初期構造の静電ポテンシャルでは、中性の状態に比べ低 pH における状態ではタンパク質の表層が正電荷を帯びている事が観察できる。これは電気的な反発を引き起こすことで HA タンパク質の頭部領域が開くことを示唆している。また、100 ns の MD シミュレーション後、すなわち頭部がやや開いた状態ではさらに正電荷を帯びている部位が増加している様子が見て取れる。

図: MD1 の 100 ns における構造と 1RU7 の構造(シアン:MD1 100 ns, 緑:PDB 1RU7)の静電ポテンシャルの pH 依存性



【謝辞】本研究は、北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター一般共同研究の支援により実施した。