

2P131

A 型インフルエンザウイルスの M2 チャンネルにおける His37 のプロトン化構造に関する DFT 計算

(三重大院工) ○稲井 拓也、三谷 昌輝

Density functional study on protonated structures of His37 in M2 channel of influenza A virus

(Mie Univ.) ○Takuya Inai, Masaki Mitani

【序】インフルエンザウイルスは、M2 チャンネルがウイルスの外側から内側へプロトンを移動し、ウイルス内部が酸性化することにより RNA を放出して増殖する。

図 1 は M2 チャンネルの X 線構造 (PDB code: 3LBW) [1]で、上と下がウイルスの外側と内側に対応している。M2 チャンネルは 4 本鎖で構成され、イオン透過経路に 6 個の水分子 (Entry cluster)、4 個の His (His-box)、2 個の水分子 (Bridging cluster)、4 個の Trp (Trp-basket) が並んでいる。Entry cluster と His37 及び His37 と Bridging cluster は水素結合しており、3 個の His37 がプロトン化すると His37 から Bridging cluster へプロトンが移動すると考えられているが、プロトンの移動機構の詳細は不明である。本研究では、1~3 個の His37 がプロトン化した構造とその安定性の検討を研究目的とした。

【計算】3LBW の X 線構造から Ala34-Ile35-Leu36-His37-Leu38-Ile39-Leu40-Trp41 の 4 量体を抜き出し、Entry cluster と Bridging cluster の 8 個の水分子を加えてモデル分子とした。X 線構造は G34A の変異型であるため Ala を野生型の Gly に戻し、Ile と Leu の側鎖はプロトン移動に寄与しないため Gly に変えた (Gly-Gly-Gly-His-Gly-Gly-Gly-Trp)。計算方法は B3LYP 密度汎関数法と 6-31G* 基底関数を用い、アミノ酸主鎖の原子 (N, C α , C) は X 線構造の位置で固定して構造最適化を行った。

図 1 の A 鎖~D 鎖の His37 を HisA, HisB, HisC, HisD とし、HisA~HisD と水素結合する Entry cluster の水分子を W_A, W_B, W_C, W_D とする。Entry cluster 上部の水分子を W₁, W₂ とし、Bridging cluster の水分子を W₃, W₄ とする。Bridging cluster は W₃ の水素が W₄ の酸素を向く構造 H(W₃)-O(W₄)と W₄ の水素が W₃ の酸素を向く構造 O(W₃)-H(W₄)を検討した。His37 へのプロトン移動経路は W₁→W_A→HisA, W₂→W_B→HisB, W₂→W_C→HisC, W₁→W_D→HisD の 4 通りが考えられる。W₁ または W₂ にプロトンが付加してプロトン移動した際に可能な、His37 のプロトン化構造を全て決定した。2 個及び 3 個の His37 がプロトン化した構造は、1 個及び 2 個の His37 がプロトン化した構造で最安定な構造にプロトンが付加するものとした。

【結果】Entry cluster に 1 つ目のプロトンが付加した構造は W₁ と W₂ の間にプロトンが位置しており、O(W₃)-H(W₄)の **1b** と H(W₄)-O(W₃)の **1a** のエネルギー差は 0.54 kcal/mol で、等エネルギー的である。**1a** 及び **1b** の O(W₁)-H⁺と H⁺-O(W₂)の原子間距離は 1.106 Å と 1.346 Å 及び 1.310 Å と 1.128 Å であり、プロトンは **1a** では W₁ に **1b** では W₂ に結合している。

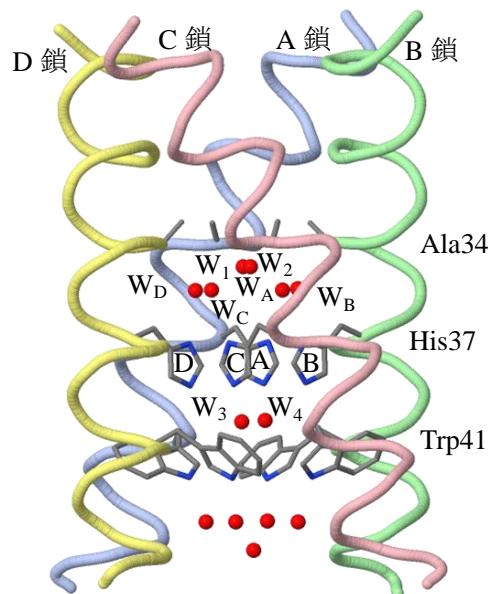


図 1. A 型インフルエンザウイルスの M2 チャンネルの X 線構造

1 個及び 2 個の His37 がプロトン化した構造の相対エネルギーを表 1 及び表 2 に示す。2a ~ 2d と 2e ~ 2h はそれぞれ 1a と 1b から得られた構造であり、3a ~ 3e と 3f ~ 3j はそれぞれ 2a と 2f から得られた構造である。1 個の His37 がプロトン化した場合、H(W₃)-O(W₄)の構造では 2a が 2b, 2c, 2d より 2.3 kcal/mol 以上安定で、O(W₃)-H(W₄)の構造では 2f が 2e, 2g, 2h より 1.3 kcal/mol 以上安定である。2 つの最安定構造 2a と 2f のエネルギー差は 0.25 kcal/mol で、等エネルギー的である。2 個の His37 がプロトン化した場合、H(W₃)-O(W₄)の構造では 3c が 3a, 3b, 3d, 3e より 2.8 kcal/mol 以上安定で、O(W₃)-H(W₄)の構造では 3g が 3f, 3h, 3i, 3j より 2.2 kcal/mol 以上安定である。2 つの最安定構造 3c と 3g のエネルギー差は 0.77 kcal/mol で、等エネルギー的である。

表 1. 1 個の His37 がプロトン化した構造の相対エネルギー

モデル	His37 の プロトン化	E_{rel} (kcal/mol)	モデル	His37 の プロトン化	E_{rel} (kcal/mol)
2a	HisA	0.00	2e	HisA	1.99
2b	HisB	3.35	2f	HisB	0.25
2c	HisC	5.77	2g	HisC	2.23
2d	HisD	2.30	2h	HisD	1.62

表 2. 2 個の His37 がプロトン化した構造の相対エネルギー

モデル	水と His37 の プロトン化	E_{rel} (kcal/mol)	モデル	水と His37 の プロトン化	E_{rel} (kcal/mol)
3a	W ₁ , HisA, HisB	4.56	3f	W ₁ , HisB, HisA	4.31
3b	W ₁ , HisA, HisC	3.59	3g	W ₁ , HisB, HisD	0.00
3c	W ₁ , HisA, HisD	0.77	3h	W ₂ , HisB, HisA	3.50
3d	W ₂ , HisA, HisB	4.92	3i	W ₂ , HisB, HisD	2.22
3e	W ₂ , HisA, HisC	4.63	3j	W ₂ , HisB, HisC	3.75

1 個及び 2 個の His37 がプロトン化した構造で、最安定な最適化構造を図 2 に示す。1 個の His37 がプロトン化した構造について、His にプロトン化した水素と水分子の水素結合距離は、2a では 1.572 Å、2f では 1.575 Å であり、水分子と水分子及び水分子と他の His の水素結合距離より短い。2 個の His37 がプロトン化した構造について、2a と 3c 及び 2f と 3g で W_cの向きが変化しており、W_c と HisC の水素結合距離は、2a の 1.871 Å から 3c の 1.790 Å に、2f の 1.856 Å から 3g の 1.783 Å に短くなり、水素結合が強くなっている。

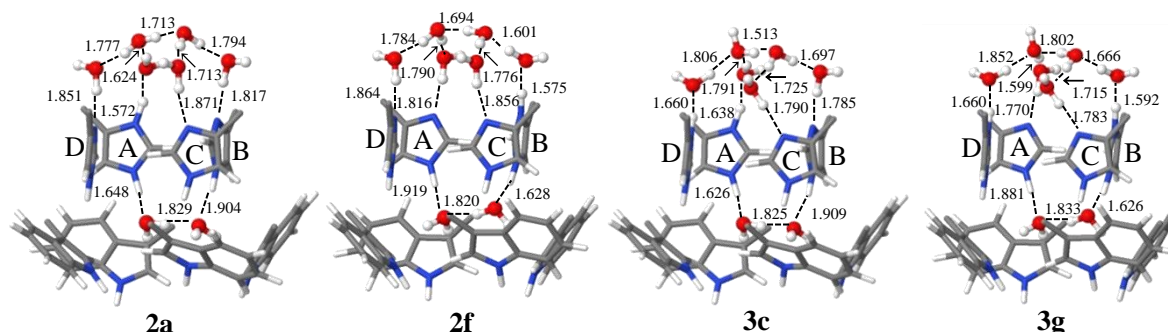


図 2. 1 個及び 2 個の His37 がプロトン化した最適化構造と水素結合距離 (Å)

発表当日は、3 個の His37 がプロトン化した構造とその詳細も併せて報告する。