

## 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からexit clusterへのプロトン移動に関する理論的研究

三重大院工

○稲井拓也, 三谷昌輝

### Density Functional Study on Proton Transfer from His37 to Exit Cluster in M2 Channel of Influenza A Virus

○Takuya Inai, Masaki Mitani

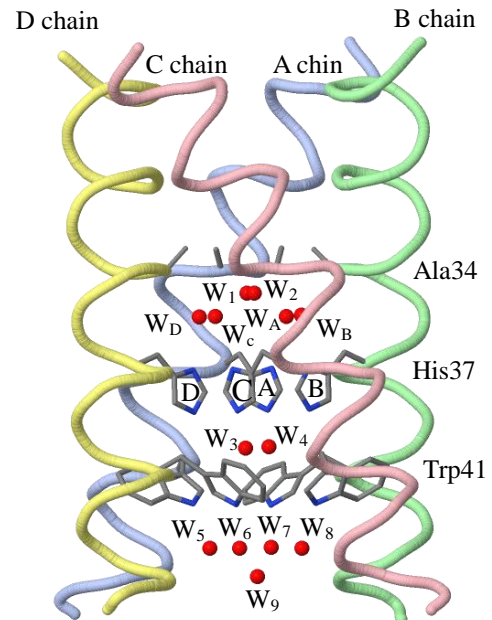
Graduate School of Engineering, Mie University, Japan

**【Abstract】** M2 channel of influenza A virus is a tetrameric protein and participates the proton transport from viral exterior to viral interior. It is suggested that when three His37 are protonated, a proton is transferred from His37 to water cluster (bridging cluster and exit cluster). However, details about the proton-transfer mechanism are not understood. In this study, stable structures of the triply protonated His37 and the doubly protonated His37 plus  $H_3O^+$  formed by the proton transfer from His37 to bridging cluster or exit cluster were examined with B3LYP/6-31G\* calculations. We used (Gly-Gly-Gly-His-Gly-Gly-Gly-Trp)<sub>4</sub> including twelve water molecules as a model system. Although the energy minima were not found for the proton transfer of His37 → bridging cluster, the energy minima were obtained for the proton transfer of His37 → bridging cluster → exit cluster. The exit cluster is stabilized by 2.3 kcal/mol after the proton transfer.

**【序】** A型インフルエンザウイルスのM2チャンネルは、プロトンをウイルスの外側から内側へ輸送する四量体のタンパク質である。M2チャンネルはインフルエンザウイルスの増殖に大きく関わるため、その阻害剤は新たなインフルエンザ薬になると期待されている。

Fig. 1はM2チャンネルのX線構造(PDB code: 3LBW)[1]を示しており、図の上がウイルスの外側、下がウイルスの内側である。ウイルスの外側から、6個の水分子(entry cluster:  $W_1, W_2, W_A-W_D$ ), 4個のHis37, 2個の水分子(bridging cluster:  $W_3, W_4$ ), 4個のTrp41, 5個の水分子(exit cluster:  $W_5-W_9$ )が並んでおり、プロトン移動経路はentry cluster → His37 → bridging cluster → exit clusterである。3個のHis37がプロトン化した状態でHis37からbridging clusterとexit clusterへプロトン移動すると考えられているが、プロトン移動の機構の詳細は不明である。本研究では、密度汎関数計算により3個のHis37がプロトン化した安定構造とHis37からプロトン移動してexit clusterがプロトン化した安定構造を決定し、その構造変化と相対安定性を検討した。

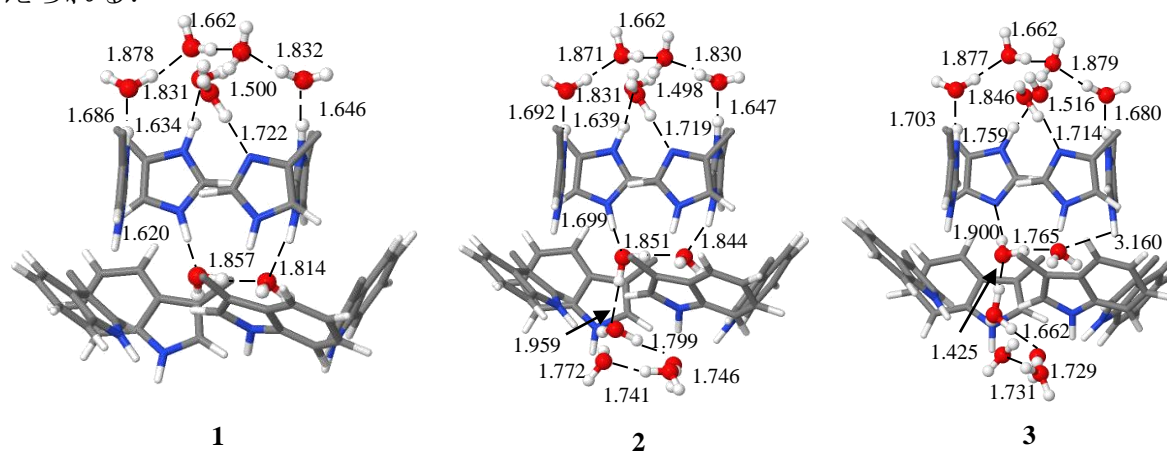
**【計算】** X線構造からAla34-Ile35-Leu36-His37-Leu38-Ile39-Leu40-Trp41の4量体およ



**Fig.1.** X-Ray Structure of M2 Channel.

び entry cluster と bridging cluster を取り出し，ペプチド結合を水素原子で終端した。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関与しないため Gly に置き換えて(Gly-Gly-Gly-His-Gly-Gly-Gly-Trp)<sub>4</sub> をモデル分子とした。また，exit cluster は W<sub>5</sub>-W<sub>8</sub> の水分子を考慮した。まず，exit cluster がないモデルで，プロトン化位置の異なる 3 つの His37 がプロトン化した構造を求めた。次に，エネルギー的に安定であった構造について，exit cluster を追加し，bridging cluster の 1 つの水分子と exit cluster の一つの水分子が水素結合した構造を求めた。その後，His37 → bridging cluster のプロトン移動により bridging cluster の水分子が H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> となった構造および His37 → bridging cluster → exit cluster のプロトン移動により exit cluster の水分子が H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> となった構造を検討したが，His37 → bridging cluster のプロトン移動では安定構造は得られなかった。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 $\alpha$ , C)は X 線構造の位置で固定して構造最適化を行った。

**【結果】** Fig. 2 は His37 → bridging cluster → exit cluster のプロトン移動前(1, 2)とプロトン移動後(3)の最適化構造および水素と酸素または窒素の原子間距離(Å)を示している。1 は exit cluster を含まない構造，2 は bridging cluster と exit cluster が水素結合した構造，3 は exit cluster へプロトンが移動した構造である。1 と 2 の構造を比較すると，entry cluster と His37 の水素結合距離の変化は最大 0.007 Å，His37 と bridging cluster の水素結合距離の変化は最大 0.079 Å であり，構造に bridging cluster と exit cluster の水素結合による顕著な影響は見られない。2 と 3 のエネルギーを比較すると，3 は 2 より 2.3 kcal/mol 安定であり His37 から exit cluster へのプロトン移動は発熱的である。2 と 3 の構造を比較すると，exit cluster の構造が大きく変化した。2 では exit cluster のプロトン化する前の水分子と隣接する水分子は 1.772 Å で水素結合しているが，3 ではプロトン化した H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>に隣接する水分子の水素の向きが変化して水素結合が切れた構造になった。これは水分子が H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>になることで，水素結合していた水分子の水素が H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>と静電反発するためと考えられる。また，2 では His37 と bridging cluster は 1.884 Å で水素結合しているが，3 では原子間距離が 3.160 Å となり水素結合が切れた構造になった。これは，2 と 3 での bridging cluster と exit cluster の水素結合が 1.959 Å から 1.425 Å に短くなっており，bridging cluster が H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>に引き寄せられたためであると考えられる。



**Fig. 2.** Optimized Structures of Triply Protonated His37 (1, 2) and Doubly Protonated His37 plus H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> (3).

### 【参考文献】

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