

MD シミュレーションを用いた APOBEC3G タンパク質の熱力学的安定性に関する研究

(材料設計) 本郷 紗記

1. 緒言

ウイルス複製を阻害することで知られている APOBEC3 ファミリータンパクの一つである APOBEC3G タンパク質は、一本鎖 DNA のシトシンをウラシルに変換することで HIV-1 の遺伝子を改変し、ウイルスの増殖を阻害する。しかし、HIV-1 のアクセサリータンパクの一つである Vif (Viral infectivity factor) の存在下においては、Vif が結合することにより、ウイルス粒子内へ APOBEC3G が取り込まれないということが報告されている。つまり、Vif 非存在下においてはじめて APOBEC3G は抗ウイルス活性を示す。この Vif タンパクと APOBEC3G の相互作用を弱めることができれば、HIV-1 の増殖を防ぐことができると考えられる。APOBEC3 ファミリーによる抗ウイルス自然免疫システム、それに対するウイルスの進化、またそれらの分子レベルでの理解は、新たな抗 HIV-1 薬の開発へつながると期待されている。

APOBEC3G タンパク質は、NMR および X 線によって研究された構造がある。両者には二次構造に違いが見られ、特に β -sheet の数が異なり、NMR 構造で 4 枚、結晶構造では 5 枚の β -sheet¹⁾ が確認された。先行研究において GROMACS 力場を用いて

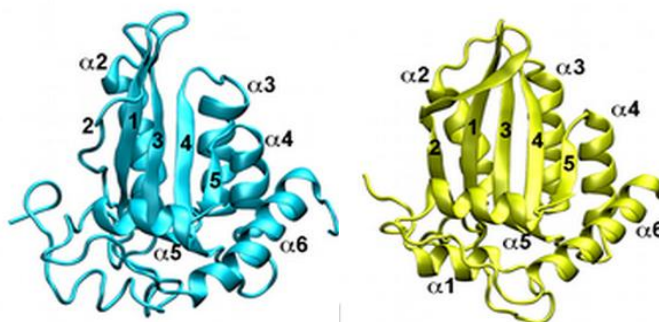


Figure. 1 APOBEC3G の NMR 構造(左)と結晶構造

Molecular Dynamics(MD)計算が行われた結果、結晶構造の方が安定であると報告された。しかし、この報告に対して、①使用された GROMACS 力場は α -helix や β -sheet を形成しやすいため、二次構造が安定化されてしまったということ、②NMR 構造は溶液中での実験結果であり、固体の結晶構造より生体内により近いのではないかとということ、③二つの構造は熱力学的な平衡状態にある、④自由エネルギーの比較(エントロピーの考慮)がなされていないということ、などの疑問点があげられる。そこで本研究では、これらの考えを元に APOBEC3G タンパク質の熱力学的安定性および二つの構造の熱力学的平衡状態を知るため、先行研究とは力場を変えて、自由エネルギーの解析、二つの構造の間の変換経路を得ることを目的としている。

2. 計算方法

NMR 構造と結晶構造のモデルとして、それぞれ PDB(Protein Data Bank)名が 2KEM、3IR2 というものを用いた。構造によって $\alpha 0$ と呼ばれる α -helix があるものとないものが存在するので、これらの N 末端($\alpha 0$)を削除した構造をモデルとした。NVT アンサンブル、温度 300K、

cutoff 12Å、長距離クーロン力は FMM 法を用いて、遠距離の粒子からの寄与は空間的にまとめた。タイムステップ 2 fs にて、平衡化 1 ns、平衡後 2 ns、MD 計算を行った。この際に力場はたんぱく質に対して最もよく用いられている Amber99 とさらに高いレベルの量子化学計算を用いて Fujitani らによって改良された力場²⁾(Amber-Fujitani 力場とする)を用いた。その後、GBSA 法により H(エンタルピー)を、二面角の揺らぎから TS(T は時間、S はエントロピー)を見積もり、G(自由エネルギー)を求めた。また、NMR 構造と結晶構造の平衡関係を明らかにするため、一方をターゲットとして、他方の構造から出発して、拘束をかけ連続してターゲット構造に近づけるといふ Targeted MD を行った。force 0.01~0.1 kcal/mol・Å²をかけて引っ張り、PCA(Principle Component Analysis)により、似た構造をカテゴリイズし、2 構造の変換反応座標上の 10 構造を均等に選び、それぞれ 0.01 kcal/mol・Å²の拘束の元で MD 平衡計算を行った。

3. 結果と考察

まず、Amber99 力場、Amber-Fujitani 力場を用いて、モデル 3IR2(結晶構造)と 2KEM(NMR 構造)について MD 計算を行なった結果を Table. 1 に示す。自由エネルギーの値が、2KEM の方が小さいことから、NMR 構造の方が安定であることがわかった。

Table. 1 Amber99 力場および Amber-Fujitani 力場を用いた計算の結果
平衡後 2 ns の熱力学パラメータ/kcal

力場	構造	H	TS	G
Amber99	3IR2	-5851.45	6742.49	-12593.94
	2KEM	-5756.63	6914.39	-12671.03
Amber-fujitani	3IR2	-5907.42	6282.44	-12189.86
	2KEM	-5769.82	6548.02	-12317.85

また、2 構造の変換経路の自由エネルギー計算も行った。NMR 構造と結晶構造のモデルの自由エネルギーと Targeted MD を用いて 3IR2 から 2KEM に近づけ、上記の方法で MD 平衡計算を行った結果を Figure. 2 に示す。Amber 力場の計算から、2 つの構造間にはエネルギー障壁の存在が考えられる。Amber-fujitani 力場については計算中である。

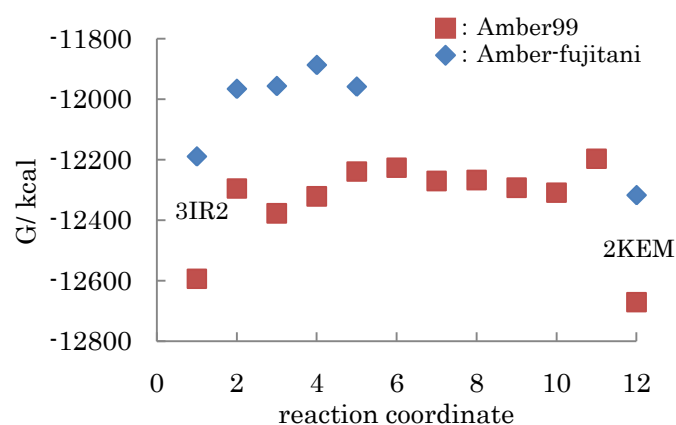


Figure. 2 自由エネルギー経路

4. 参考文献

- 1) Flavia A., *et al.* (2010) PLoS ONE.5.7.e11515
- 2) Hideaki F., *et al.* (2009) *J.Chem.Theory Comput.* 5,1155-1165