

基準振動を用いた HIV-1 プロテアーゼ/阻害剤複合体の動的挙動の解析

鎌倉寿行・後藤仁志

豊橋技術科学大学 (〒441-8580 豊橋市天伯町雲雀ヶ丘 1-1)

【はじめに】

生体内におけるタンパク質の構造と機能の関係を知らることができれば、生命現象を解明する手がかりになり、また医療や創薬への応用を十分に期待することができるだろう。特に、タンパク質の活性が著しく温度に依存することから、構造と機能、あるいは生理活性を関連付けて理解するためには、動力学的な特徴と熱力学的な性質の双方を分子レベルで検証する必要がある。このため、タンパク質-リガンド複合体に関する多くの研究では、X線やNMRによって解析された静的な立体構造に対し、分子動力学(MD)シミュレーションを適用することが多い。ところが、巨大なタンパク質-リガンド複合体の熱揺らぎを考えた時、十分な精度を得るだけのMDシミュレーションを実施するには、現在の計算機の演算能力で十分であるとは言えない。現在行われている生体高分子やその複合体のMDシミュレーションは、ポテンシャル空間の限られた領域における構造変位を調査する段階で留められていることが多いようである。

ところで、Protein Data Bank (PDB) やそれに続く MD シミュレーションの結果から、生理活性と構造の関係を説明できる「ありそうな」立体構造が得られたとしよう。その立体構造を適切な力場ポテンシャルで十分に構造最適化を行うことができれば、基準振動解析はその複合体構造に関する様々な情報を与えてくれる。すなわち、 $3(N-2)$ 個の振動数と振動モードは、調和振動子近似の範囲内ではあるが、複合体の自由エネルギーと動的構造変位を与える(N は複合体の総原子数)。かつて郷らによって行われた「骨格ねじれ角に関する振動動力学解析[1]」は、今では一つの極小点に対して三次元構造に基づく $3(N-2)$ もの振動ベクトルを効率良く組み合わせた動力学シミュレーションを可能にし、しかも、現在の計算機的能力で十分に実行可能になっている。

そこで本研究では、盛んに研究されている HIV-1 プロテアーゼ/阻害剤複合体を例に、基準振動解析に基づく振動動力学シミュレーションとその動的立体配座解析を行う。特に、先行研究において大きな構造変位領域として指摘されてきた HIV-1 プロテアーゼの flap-elbow 領域 (38-41 残基付近) と flap-tip 領域 (49-52 残基付近)、80 番目の残基[2,3]に注目し (図 1)、これまでの先行研究の結果と合わせて比較検討する。

【方法】

本研究では、Nelfinavir 系阻害剤として知られる Viracept (AG1343) を含む HIV-1 プロテアーゼの X 線結晶構造 (PDB-ID:1OHR) に基づいて、次の 4 種類の複合体モデルを作成した: HIV-1 プロテアーゼ A/B 鎖のみの系 (P モデル)、結晶水を含む系 (PW モデル)、阻害剤を含む系 (PL モデル)、及び阻害剤と結晶水を含む系 (PLW モデル)。これらを入力構造として構造最適化を行い、得られたエネルギー極小構造に対して基準振動解析を行った。次に、エネルギー均分配則を仮定し、それぞれの基準振動解析で得られた 100 cm^{-1} 以下の振動数に対応する振動モードを用いて振動動力学シミュレーションを 100ps まで行い、動的立体配座解析を行った。これら一連の計算には CONFLEX5 [4]を用い、ポテンシャルエネルギー評価のための分子力場として MMFF94s [5]を適用した。

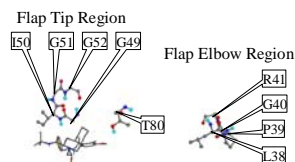


図 1 HIV-1 プロテアーゼ。Leu38-Pro39-Gly40-Arg41 は flap-elbow 領域、Gly49-Ile50-Gly51-Gly52 は flap-tip 領域および Thr80 残基を示す。

【結果と考察】

構造最適化

表 1 は X 線結晶構造と構造最適化後の各複合体モデル構造を $C\alpha$ 原子で重ね合わせた時の RMSD 値と最大変位値である。また、重ね合わせた時の立体構造と、各 $C\alpha$ 原子の変位グラフを図 2 に示した。これらの結果より、PLW モデルが最も X 線結晶構造に近いことが解る。興味深いことに、PW モデルが二番目に近い構造を維持している。このことは、結晶水が結晶構造を形成する上で重要な構成要素であることを意味している。また、創薬分野で注目されるドッキングシミュレーションにおいてしばしば用いられる PL モデルが、他のモデルより大きく構造変化し、しかもアミノ酸は阻害剤と結合する領域の一つである 80 番目の残基の $C\alpha$ 原子が大きく変化してしまったことは、今後、詳細に検討すべき結果であると言えるだろう。

図 2 X 線結晶構造 (赤線) と最適化構造の重ね合わせ図と $C\alpha$ 原子の変位。(a) P モデル (b) PW モデル (c) PL モデル、(d) PLW モデル。(a1)-(d1)において P を緑、PW をピンク、PL を青、PLW を黄色で描いた。(a2)-(d2)において、A 鎖を青線、B 鎖を赤線で示した。

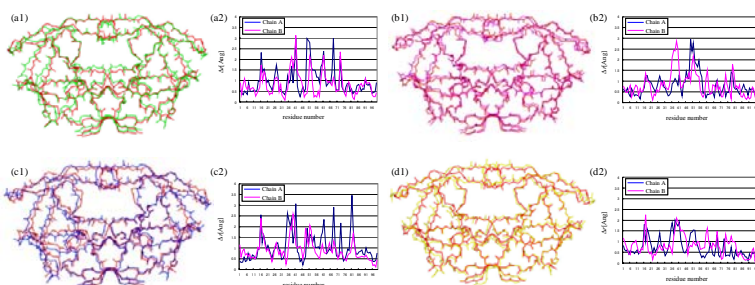


表 1 X 線結晶構造と最適化構造の $C\alpha$ 原子の重ね合わせた時の RMSD と最大変位 (\AA)

	RMSD	Max.
P	1.08	3.13
PW	0.96	2.97
PL	1.13	3.46
PLW	0.88	2.25

振動力学解析

各複合体モデルの残基毎に平均した変位の距離 Δr を調べたところ、全てのモデルにおいて flap-elbow と flap-tip 領域が大きく振動していることが分かる (図 3)。これは、以前実施された MD シミュレーションの結果 [3] と、ほぼ同じ傾向を示唆している。さらに各残基の平均変位距離の差 $\Delta\Delta r$ を図 4 に示した。この図より、例えば、PW と P モデルの差において flap-elbow 領域の残基の振動が大きくなり、PL と P モデルの差から flap-tip 領域における振動が減少していることが観測される。さらに、PLW と P モデル間の平均変位距離差から、flap-elbow 領域の振動が大きく増幅し、flap-tip 領域が小さくなっていることが分かる。これらのことから、結晶水は外側に露出している flap-elbow 領域の振動を誘起し、リガンドが活性部位に収まることによって flap-tip 領域の振動が減衰することが分かる。このことは NMR 解析に基づく観測結果 [2] と一致している。

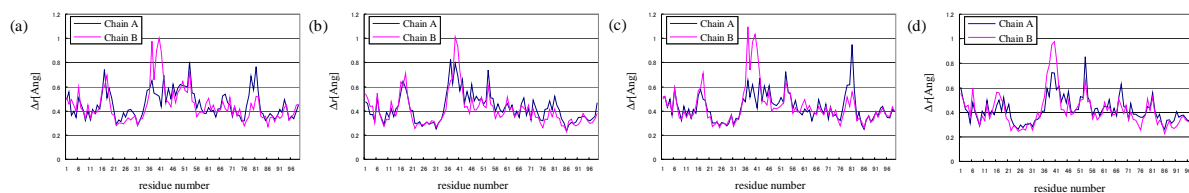


図 3 各モデルの残基毎に時間平均した動的変位：(a) P モデル、(b) PW モデル、(c) PL モデル、(d) PLW モデル。ここで、A 鎖を青線、B 鎖を赤線で示した。

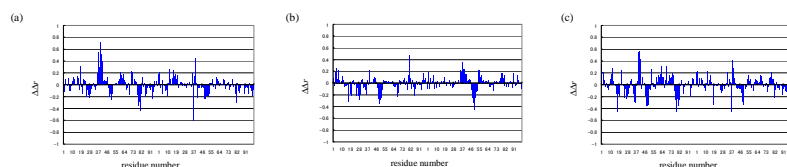


図 4 P モデルと他のモデル平均変位距離の差。(a) PW モデルとの差、(b) PL モデルとの差、(c) PLW モデルとの差

【参考文献】

- [1] N. Go, T. Noguti, T. Nishikawa, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 3696 (1983).
- [2] D. A. Torchia, R. Ishima, *Pure Appl. Chem.*, **75**, 1371-1381 (2003).
- [3] K. L. Meagher, H. A. Carlson, *PROTEINS*, **58**, 119-125 (2005).
- [4] H. Goto, S. Obata, T. Kamakura, N. Nakayama, K. Ohta, *CONFLEX5.21*, Conflex Corp., Tokyo, 2005.
- [5] T. A. Halgren, *J. Comp. Chem.*, **17**, 490-519 (1996).