

フラグメント分子軌道法の生物間相互作用解析 --ウイルスの受容体への結合特異性解析への応用--

丸山 正 (海洋研究開発機構 海洋生命理工学研究開発センター)

## 1. はじめに

近年の地球環境の変化は、生物の移動や分布パターンに影響すると考えられ、それに伴って、その生物の感染症の分布も変化すると考えられる。海洋哺乳類である鯨類や鯨類でも、モービリウイルスによる感染症が大量死を起こす事が知られているが、その分布が変化する可能性がある。これらの生物の種間での感染の予測には宿主と寄生者あるいは病原微生物の関係を決めている要因の解析が重要になる。本研究では、そのような要因として重要な受容体とモービリウイルスの特異的な関係を地球シミュレータで解析し、その特異性を推定することを目指している。しかし、そのためには受容体とウイルスの正確な立体構造情報が必要であるが海洋哺乳類のモービリウイルスではその両者の立体構造が明らかになっていない。そこで、両者の立体構造が明らかになっていて、宿主の受容体と同じ分子種に属すヒトのモービリウイルスである麻疹ウイルス (MV) とヒトの受容体の関係をフラグメント分子軌道 (FMO) 法により解析することを目的とした。

モービリウイルスとその受容体の相互作用のコンピュータによる解析はされたことが無く、その相互作用をコンピュータ解析により明らかに出来ると、宿主特異性の高いモービリウイルスの宿主特異性がどのように決まり、また、どのような動物群にこのウイルスが感染できるのか推定できるようになるなど、重要な情報が得られると期待される。

## 2. 麻疹ウイルスとヒトの受容体および研究分担

MV の場合、宿主受容体と相互作用するのはヘマグルチニン (MVH) である。MVH が結合する宿主受容体には、①CD46 (初めに見つかった受容体だが、後で弱毒生ワクチン株だけが利用することが判明した)、②SLAM (多くの野生株ウイルスの感染時の受容体)、③Nectin-4 (ウイル

スが増殖後宿主から脱出する際に用いる受容体)、の3つが知られている。これらの3受容体はいずれも、MVH のほぼ同じ領域に結合することが結晶構造解析で明らかにされている (図 1)<sup>1)</sup>。ウイルスの宿主特異性に関わるのは SLAM 受容体である。

研究体制としては、MVH と SLAM の相互作用については主に JAMSTEC が分担し、MVH と Nectin-4 相互作用については主に神戸大学で進めることにした。

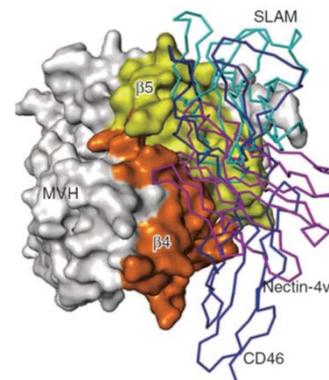


図 1. 麻疹ウイルスと三つの受容体の結合。麻疹ウイルスのヘマグルチニン分子 (MVH) に SLAM, Nectin-4 および CD46 の 3 受容体の結合を重ねて示した図。3 受容体がほぼ同じ領域に結合していることが分かる。(文献<sup>1)</sup>より)

## 3. ABINIT-MP の新 ES への移植

平成 27 年度には地球シミュレータの更新が行われたので、まず、FMO 法解析プログラム ABINIT-MP の新 ES への移植を行った。

比較的小さい系では ES2 と遜色無い性能が得られたが、MVH-SLAM と同程度の大きさの系でテスト計算を実施したところ、並列化効率がかなり悪化した結果となった。ES サポートに相談し、2015 年 12 月に問題箇所が解決した。即ち、フラグメントペア単位で通信を実施している部分について、計算ランク毎に一度配列に格納し、最後に allreduce するようにコードを変更した。これにより、64 ノード 256 コアで約 22,000 秒

かかっていた計算が約 3,500 秒に減少した。新 ES では ES2 と比較して、ノード当たりの並列数が 1/2、ノード間転送性能が 1/8 となったため、今回のコード変更が必要になったと考えられる。

#### 4. MVH と Nectin-4 の相互作用の解析

地球シミュレータへのプログラム移植の間に、神戸大学では  $\pi$ -computer を利用して MVH と Nectin-4 受容体の相互作用解析を FMO 法により行った。MVH と Nectin-4 の複合体の結晶構造 (PDB: 4GJT) をダウンロードし、重原子位置は固定して、水素付加と位置の最適化を分子計算ソフトウェア MOE で行った構造に対して、FMO-HF (Hartree-Fock)/ST0-3G 計算と FMO-MP2/6-31G 計算を ABINIT-MP により実行した。そして、計算結果から、タンパク質複合体に含まれるアミノ酸残基間の IFIE (Inter-Fragment Interaction Energy) 解析を行い、MVH (A 鎖) と Nectin-4 (B 鎖、C 鎖) の結合に重要な役割を果たしているアミノ酸 (フラグメント) を相互作用レベルで定量的にピックアップした。

FMO-MP2 計算による IFIE 解析の結果、MVH (A 鎖) と Nectin-4 (B 鎖) の間で強い引力的相互作用を示す残基ペア上位 20 組のうち、先行研究の構造解析実験<sup>1)</sup>において重要であると示唆された 6 つの非荷電性アミノ酸残基 Leu464, Leu482, Phe483, Tyr524, Tyr541, Tyr543 のうちの 3 つ (Leu464, Phe483, Tyr543) が含まれた。また、Tyr541 も 21 位のペアに含まれた。一方、FMO-HF 計算では、これらの 6 つの非荷電性アミノ酸残基は上位 20 組のペアに 1 つも含まれなかった。一般に、アミノ酸ペアの相互作用が強くなるのは、どちらかが荷電性のアミノ酸である静電的な相互作用の場合が多く、今回の FMO-MP2 計算では Arg547 と Glu2 のペア、FMO-HF 計算では Leu500 と Lys54 のペアが最も強い引力的相互作用を示した。また、電子相関効果を適切に記述できない HF 計算では、非荷電性アミノ酸間の分散力 (ファンデルワールス力) 的相互作用を記述できないことが知られており、これが今回の FMO-HF 計算において、実験的に示唆された 6 つの非荷電性アミノ酸が関わる疎水的な相互作用を抽出できなかった原因であると考えられる。言いかえると、MVH と

Nectin-4 間の分子間相互作用 (分子認識) の正しい記述には、電子相関を取り入れた MP2 レベルの計算が必要である。

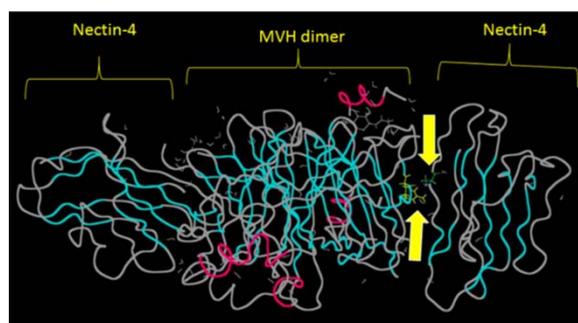


図 2. 計算結果の一例。Nectin-4 の C 鎖に対して一番強い相互作用を示したアミノ酸残基ペア、Asp7 と Arg334 を矢印で示した。

#### 5. MVH と SLAM 相互作用の解析

地球シミュレータへのプログラム移植を待っていたため、解析は今後になるが、Nectin-4 と同様の手法で行う。複合体の結晶構造 (PDB: 3ALX) に対して、少なくとも FMO-MP2/6-31G レベルの計算を行い、IFIE 解析によって相互作用の仕組みを解明する。

#### 6. まとめと今後の展望

以上のように、MVH と Nectin-4 受容体間の相互作用解析を FMO-MP2 計算に基づき適切に行うことができることがわかったので、今後は、実験データと対比させながら、アミノ酸残基間の相互作用のタイプをより詳しく分析し、特に、先行研究において重要だとされている疎水性ポケットの分子認識における役割について解明していきたいと考えている。また、地球シミュレータを用いて、MVH に対する他の受容体 (CD46, SLAM) における分子認識機序との系統的対比計算も行い、ウイルスに対する阻害剤設計や医療応用につなげていきたいと考えている。

これらの研究により、海洋哺乳類におけるモービリウイルスの結合特異性と海洋におけるウイルス伝播への理解についても深まると考えられる。

文献

- 1) X. Zhang et al., Nat. Struct. Mol. Biol. 20 (2013) 67-72.