

TSUBAME 共同利用 平成30年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 HIV エンベロープタンパク質の分子動力学解析  
英文: Molecular dynamics simulation of HIV envelope protein

利用課題責任者 横山 勝  
Masaru Yokoyama

所属 国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター  
Pathogen Genomics Center, National Institute of Infectious Diseases  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/>

#### 邦文抄録

ヒト免疫不全ウイルス(HIV)の粒子表面上のエンベロープタンパク質は、三量体を形成することで主要中和エピトープを遮蔽することが知られている。しかし、遮蔽構造の発現・維持の分子メカニズムは未だ明らかにされていない。我々は中和抵抗性株と中和感受性株のエンベロープタンパク質三量体の構造的特徴を、Gaussian Accelerated Molecular Dynamics (GaMD) シミュレーションにより調べた。GaMDにより得られたエンベロープタンパク質三量体の平衡構造は、中和感受性株のエンベロープタンパク質三量体が、中和抵抗性株よりも緩い構造となっていることを示唆した。この構造的特徴が、抗体中和逃避能を制御していると考えられる。

#### 英文抄録

Envelope proteins on the surface of human immunodeficiency virus (HIV) are known to mask major neutralizing epitopes by forming trimers. However, the molecular mechanism of the shielding structure has not been clarified yet. We investigated the structural features of the envelope protein trimer of the neutralization-resistant strain and the neutralization-sensitive strain by Gaussian accelerated molecular dynamics (GaMD) simulation. The equilibrium structure of the envelope protein trimer suggested that the envelope protein trimer of the neutralization-sensitive strain had a looser structure than the neutralization-resistant strain. It is believed that this structural feature controls the ability to escape antibody neutralization.

#### Keywords:

human immunodeficiency virus, envelope protein, neutralization resistance, structural feature, Gaussian accelerated molecular dynamics

#### 背景と目的

本研究では、TSUBAME の Amber16 を用いた分子動力学解析により、不明な点の多いヒト免疫不全ウイルス(HIV)の抗体耐性機構の理解を深める。そこで得られる知見は、これまで報告されている抗原部位の変異によるものとは全く異なる抗体逃避機構の理解を深め、ウイルスの持続感染を司る構造基盤の解明につながる。今回、我々は中和抵抗性株と中和感受性株のエンベロープタンパク質三量体の構造的特徴を、拡張アンサンブル法の一つである Gaussian Accelerated Molecular Dynamics (GaMD) シミュレーションにより調べた。GaMDにより得られたエンベロープタンパク質三量体の平衡構造は、中和抵抗性株と中和感受性株で異なることを示唆した。

#### 概要

HIV は致死性的感染症エイズの病原として公衆衛生上の重要な研究対象になっている。我々を含む複数の研究グループの研究により、HIV 粒子表面上のエンベロープタンパク質は三量体を形成することで主要中和エピトープを遮蔽することが知られている。しかし、遮蔽構造の発現・維持の分子メカニズムは未だ明らかにされていない。そこで本研究では、TSUBAME の Amber16 を用いてエンベロープタンパク質三量体の分子モデルを構築し、その構造的特徴を調べることにより、抗体中和逃避能を司る構造基盤を解明する。

#### 結果および考察

GaMD シミュレーションに用いる初期構造は、ホモロジーモデリング法により構築した。鑄型には X 線結晶

解析法により決定された構造 (PDB ID:4TVP) を用いた。中和抵抗性株には JR-FL、中和感受性株には NL4-3 のアミノ酸配列を用いた。糖鎖は、High mannose 型である  $\text{Man}_5\text{GlcNAc}_2$  を付加した。

MD シミュレーションは Amber16 の pmemd.cuda モジュールにより実行した。計算条件は、温度 310K、圧力 1 bar、塩濃度 150 mM NaCl とした。2 ns の Conventional MD 後、248 ns の GaMD を実行した。GaMD により得られたトラジェクトリーは AmberTools17 の cpptraj により解析した。

はじめに、初期構造からの構造変化を、RMSD を指標に調べた。JR-FL と NL4-3 のどちらも、50 ns までに急激に RMSD は増加する。その後、RMSD は揺らぎながら緩やかに増加し、JR-FL では約 4 Å、NL4-3 では約 5 Å に達する。NL4-3 は JR-FL よりも初期構造からの変化が大きい。

次に、エンベロープタンパク質三量体の大きさの変化を知るため、gp120 の  $\alpha 2$  と p41 の HR1 の距離を調べた。200 ~ 250 ns のデータを用いて計算すると、JR-FL では  $50.4 \pm 0.6$  Å、NL4-3 では  $51.8 \pm 1.0$  Å であった。NL4-3 は JR-FL よりも大きい。

最後に、エンベロープタンパク質三量体における gp120 間の配置の変化を知るため、gp120 の最も内側に位置する P88 間の距離を JR-FL と NL4-3 で比較した。JR-FL では  $15.5 \pm 1.5$  Å、NL4-3 では  $20.0 \pm 1.3$  Å であった。NL4-3 の gp120 は、JR-FL の gp120 よりも互いに離れて配置されている。

以上より、中和感受性である NL4-3 のエンベロープタンパク質三量体は、中和抵抗性である JR-FL よりも緩い構造となっていることが明らかになった。この構造的特徴が、抗体中和逃避能を制御していると考えられる。

#### まとめ、今後の課題

今回、我々は中和抵抗性株と中和感受性株のエンベロープタンパク質三量体の構造的特徴を、GaMD シミュレーションにより調べた。GaMD により得られたエンベロープタンパク質三量体の平衡構造は、中和感受性株のエンベロープタンパク質三量体が、中和抵抗性株よりも緩い構造となっていることを示唆した。

今回明らかになった構造的特徴が中和感受性を決める構造要因であるかどうかを明らかにするために、今回用いた株とは異なる中和感受性株と中和抵抗性株での検討が必要である、