

TSUBAME 共同利用 平成 30 年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 EV-A71 カプシドタンパク質の分子動力学解析
英文: Molecular dynamics simulation of EV-A71 capsid protein

利用課題責任者 佐藤 裕徳
Hironori Sato

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
URL: <https://www.niid.go.jp/niid/ja/>

邦文抄録

エンテロウイルスは、小児神経症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。現在、病原性発現の分子機序はほとんど分かっていない。本研究では、TSUBAME を用いた分子動力学解析により、EV-A71 病原性発現の構造基盤を解き明かす手がかりを得た。すなわち、ウイルス粒子外郭タンパク質の 1 アミノ酸置換（残基番号 VP1 145）が、変異箇所とは離れた位置に存在する受容体結合部位や抗体エピトープの構造特性変化を誘発することを見出した。特定アミノ酸残基の変異による粒子外郭タンパク質の構造変化が、EV-A71 の速やかな形質変化に結びつく可能性がある。

英文抄録

Enterovirus infection is becoming an important research subject in the public health because it can cause childhood neurosis. At present, molecular mechanisms for the neuropathogenesis remain unclarified. In this study, we have obtained a clue for elucidating a structural basis for the neuropathogenesis by a single mutation in a capsid protein. Molecular dynamics (MD) simulation study using TSUBAME disclosed that VP1-145 is the cis-allosteric regulator to coincidentally modulate physical properties of multiple interaction surfaces of the capsid protein.

Keywords: Enterovirus, capsid, mutation, neutralization escape, cell-tropism change, pathogenesis

背景と目的

ヒトや動植物に感染するウイルスは、時に地球規模で甚大な被害をもたらす。特に、RNA をゲノムに持つ RNA ウイルスは変身能力に優れ、しばしば新たな性質を獲得した病原体が流行して人々の生活を脅かす。1918-1919 当時の世界人口の～5%に達する死者（5000 万～1 億人）を出したとされるインフルエンザ（スペイン風邪）、2015 年末までに 3,000 万人に達する死者を出し今もなお全世界で流行するエイズなど、動物界からヒト社会に広がり深刻な損害を与え続ける RNA ウイルス感染症は枚挙にいとまがない。感染症に国境はない。RNA ウイルス感染症の制御は、世界が共有する公衆衛生上の最重要課題の一つになっている。

ウイルスの分子構造は、ウイルスの性質決定・変化の鍵を握る。そこで我々は、2005 年前後より、生体高分子の立体構造や相互作用を再現するコンピュ

ータシミュレーション技術を軸とする独自の病原体解析プラットフォームを整備し、強化してきた。これを用いてウイルス感染症の様々な謎の解明に貢献してきた。

本研究では、TSUBAME を用いることで、特に、分子動力学 (MD) 計算の高速化を図った。解析対象は、エンテロウイルス A71 (EV-A71) の粒子外郭タンパク質 (カプシド蛋白質) とした。EV-A71 は、小児の神経症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。国立感染症研究所と東京都医学総合研究所の研究グループの研究により、EV-A71 粒子表面上のカプシド蛋白質 VP1 の 145 番目のアミノ酸残基が変異すると、受容体親和性、抗体感受性、病原性など多様な生物活性が同時に変化することが知られている。しかしその分子メカニズムは未だ全く明らかにされていない。これを明らかにすることは、学術上の貢献のみならず、エンテロウイルスのリスク

評価法開発につながる。本研究では、TSUBAME の Amber を用いてカプシド構成単位 (VP1, VP2, VP3, VP4 複合体) の分子動力学 (MD) 解析を実施した。構造の動的特性と変異の効果を解析することで、145 変異が変異箇所とは異なる相互作用表面の構造特性変化を誘発することを見出した。

概要

本研究では、TSUBAME を用いることで、特に、分子動力学 (MD) シミュレーションの高速化を図った。TSUBAME の Amber を用いた MD 解析により、エンテロウイルス A71 (EV-A71) の神経病原性発現の構造基盤を解き明かす手がかりを得た。すなわち、ウイルス粒子外郭タンパク質 (カプシド蛋白質) の変異が、変異箇所とは離れた位置に存在する種々の相互作用表面の構造特性を変えることを見出した。影響を受けた表面には、ウイルスの細胞指向性、抗体感受性、病原性発現を司る領域が含まれていた。残基 145 変異は、EV-A71 病原性発現に寄与する様々な形質の変化を遠隔から同時に誘発するアロステリック制御部位であることがわかった。成果は、エンテロウイルスの国際学会で発表した (小谷ら、Europic 2018, Netherlands)。

結果および考察

(1) 分子モデル構築: Fuyang 株カプシド立体構造情報 (PDB ID: 3vbs) を鋳型とし、ホモロジーモデリング法により、種々の EV-A71A 株の 145 残基置換株のカプシド分子モデルを構築した。

(2) 分子動力学計算: TSUBAME の Amber を用いて、上で構築した分子モデルの MD 計算を実行した。複合体周囲に水分子を配置して、1 atm, 310 K, 150 mM NaCl の条件で MD 計算を 100 ns 実施した。水・イオン分子の衝突・熱運動により変化する立体構造の時系列データ (時系列 trajectory データ) を収集した。

(3) trajectory 解析: 上の計算で得た時系列構造データを用い、アミノ酸残基ごとの "Root Mean Square Fluctuation (RMSF)" のプロファイルを作成・解析し、145 残基置換による分子表面の揺らぎの変化が生じる箇所を特定した。

(4) 145 変異は、変異箇所とは離れた位置に存在する分子間相互作用表面の構造特性を変えることを見出した。影響を受けた相互作用表面には、ウイルスの細胞指向性、抗体感受性、病原性発現に関わる領域が含まれていた。

以上の解析により、EV-A71 カプシドタンパク質の残基 145 は、ウイルスの細胞指向性、抗体感受性、病原性を同時に制御する部位であることが示唆された。

まとめ、今後の課題

TSUBAME の Amber を用いた MD シミュレーションの高速化により、エンテロウイルスの神経病原性発現の構造基盤を解き明かすための重要な手がかりを得た。ウイルス粒子外郭タンパク質の 1 アミノ酸残基置換が、ウイルスの細胞指向性、抗体感受性、病原性発現を司る領域の構造変化を同時に誘発することを見出した。

今後は、上の発見の一般性を種々のウイルス株を用いて調べるとともに、残基 145 以外の構造・機能制御部位の探索を進める。実験を取り入れながら細胞におけるエンテロウイルスの細胞指向性、中和抗体逃避、及び感染個体における病原性発現の構造基盤解明を進める。得られた知見を元に、エンテロウイルス制御法開発 (構造ベースの創薬、ワクチン抗原設計、及びリスク変異予測法開発など) を進める。