

平成 26 年度 地球シミュレータ利用報告 研究成果概要

1. 課題名

フラグメント分子軌道法の地球生態系解析への応用

Analysis of Global Ecosystem Ecology by Fragment Molecular Orbital (FMO) Method

2. 課題責任者

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)

Tadashi Maruyama

3. 課題の目的

フラグメント分子軌道(FMO)法によるタンパク質-リガンド相互作用解析は ES により非常に高速な解析ができる優れた方法である。本研究は FMO 法を用いて気候変動により地球規模で感染が変化するウイルス感染性を解析し、更に地球生態系で重要な深海共生生態系を支える共生細菌の酵素-基質の相互作用にも適用し、地球生態系とその進化の解析に応用する。ウイルスとしては地球規模でヒトや野生動物に感染し、気候変動の影響が大であるインフルエンザウイルスとモルビリウイルスを扱い、感染リスク評価を試みる。深海共生系としては共生二枚貝と化学合成共生細菌を選び、その酵素-基質相互作用や立体構造の安定性の解析により、共生細菌の変異や進化との関連を明らかにする。

4. 今年度当初の研究計画

(1) **モルビリウイルス**:モルビリウイルスと種々の哺乳類の SLAM との相互作用エネルギーを FMO 法で解析することで、その動物のウイルス感受性の予測を試み、感染に関与するアミノ酸残基を特定する。1つのウイルス種が複数の宿主に感染する場合には、そのアフィニティーと感染性や病原性の強弱との関係から計算結果の妥当性を検証する。

これまでの研究から SLAM の感染性や宿主特異性を決める 34 個のアミノ酸を絞り込んでいる。研究上必要となる麻疹ウイルスと SLAM の遺伝子情報と鋳型となる結晶構造のデータや、ウイルス側の情報は最近報告されたデータベース(GenBank, Protein Data Bank)の情報を利用する。研究の進め方として、まずは、麻疹ウイルス-ヒト SLAM を解析し、それを元に、他の動物の SLAM との結合を解析する。昨年度の検討において複合体構造の最適化が不十分であることが明らかになったため、本年度は分子動力学(MD)計算を取り入れて構造の最適化を試み、相互作用解析の目的に適う複合体構造を得る。宿主とウイルスの様々な組み合わせに適応可能とすることで、ウイルス感染リスクやワクチンの安全性を早期かつ簡便に予測可能とする。

(2) **インフルエンザウイルス**:インフルエンザウイルスに関しては、ヘマグルチニンおよびノイミニダーゼ蛋白質と抗体、糖鎖、薬剤等との複合系に対して既に FMO 計算の実績がある。本研究では、最近の FMO 法の進展を踏まえ、特にトリ型とヒト型の感染特異性に関し、ES による高精度高速計算を複合系に対して行って、変異予測やワクチン開発、新薬設計を視野に入れた定量的な相互作用解析を実行する。

5. 研究計画に沿った利用状況

モルビリウイロスの解析では、MD 計算の条件検討に時間を要したため計算開始が大幅に遅れたが、当初計画していた計算はおおよそ行う事が出来た。インフルエンザウイルスに関しては、人員異動などが重なったため新たな計算は実施せず、昨年度計算結果の詳細な解析を実施した。

6. 今年度得られた成果、および達成度

<成果>

MD 計算による 5.6 ns の構造緩和と FMO 解析により、ヒト麻疹ウイルスと小型サル（マーモセット:ヒト感染症モデル) SLAM の複合体構造に関して、分子間相互作用の安定性を評価し、安定的な熱振動の再現と、相互作用エネルギーの振動を明らかにした。また、2013 年に中国で起こった、インフルエンザウイルスのトリからヒトへの感染の分子メカニズムを解明する以下の論文を執筆・出版した。この研究では、トリ型 H7N3 およびヒト型 H7N9 ウイルスのヘマグルチニン(HA)蛋白質と、トリ型およびヒト型糖鎖レセプターとの結合相互作用を FMO 法により解析し、G186V、Q226L などのアミノ酸変異が HA と糖鎖の相互作用を直接的あるいは(蛋白質の構造変化を通じて)間接的に変化させることで、H7N9 がヒト型レセプターとの強い引力的相互作用を獲得したことを定量的に示すことに成功した。

<達成度>

(年度当初の研究計画を全て達成した場合を 100% / 複数の目標があった場合は、それぞれについて達成度を数値で記載)

70%

7. 計算機資源の利用状況

<計算機資源の利用状況>

(計画的に計算機資源を利用できているか、状況を記載)

モルビリウイロスの解析では、条件検討に計画よりも資源を必要としたためやや不足したが、インフルエンザウイルスでは人員の異動などにより計算が実施できなかったため、その資源を充当した。ES 上での計算開始が遅れたが、最終的に割り当て時間を全て利用した。

<チューニングによる成果>

(ベクトル化、並列化チューニング等、計算機資源を有効利用するために行ったこととその効果を記載)

チューニング済みのプログラムを使用したため該当なし。

<計画的に利用できていない場合、その理由>

MD 計算の条件検討に時間を要したほか、メンバーの所属異動なども重なったため。

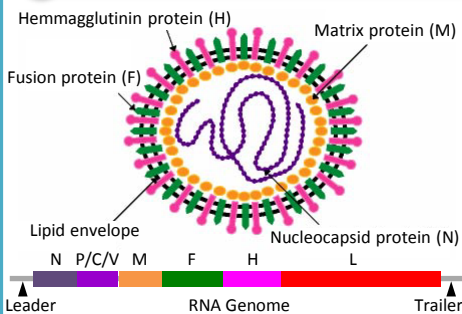
8. 新聞、雑誌での掲載記事

Anzaki S, Watanabe C, Fukuzawa K, Mochizuki Y, Tanaka S.(2014) Interaction energy analysis on specific binding of influenza virus hemagglutinin to avian and human sialosaccharide receptors: importance of mutation-induced structural change. *J Mol Graph Model*. 2014 Sep;53:48–58. doi: 10.1016/j.jmgm.2014.07.004. Epub 2014 Jul 18.

フラグメント分子軌道法の地球生態系解析への応用

丸山 正、独立行政法人海洋研究開発機構

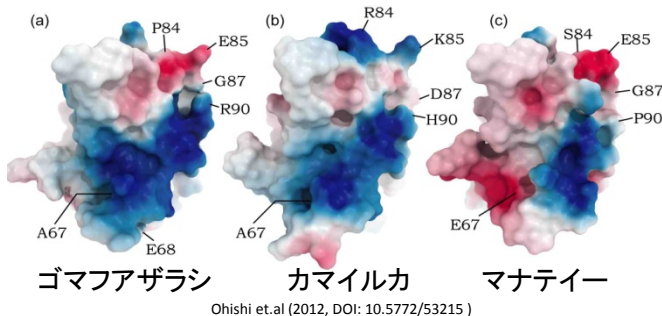
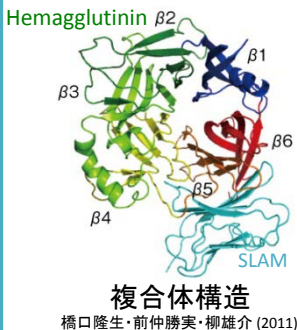
ウイルス・受容体間の相互作用の定量評価により感染性を予測する



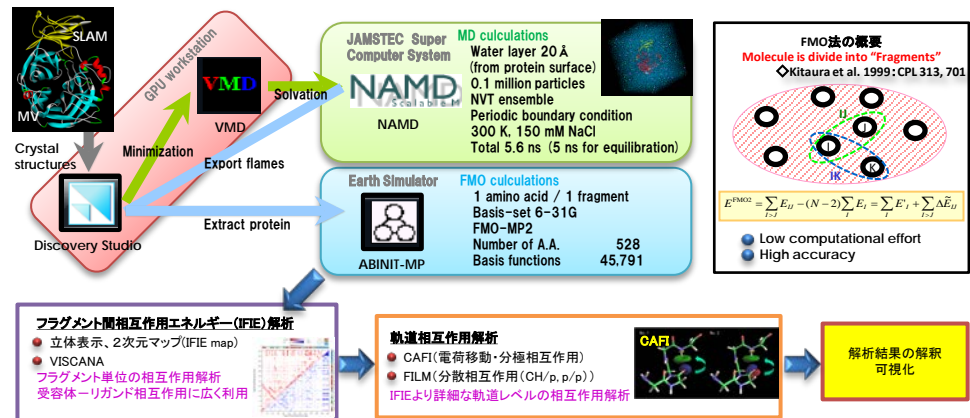
モルビリウイルスは**宿主特異性が高く激烈な感染症を引き起こす1本鎖RNAウイルス**で、強力な感染性を持ち、ヒト麻疹、イヌジステンパー、牛疫等を引き起こすことが知られている。近年、海洋哺乳類を中心に大西洋などでモルビリウイルスを原因とする野生生物の大量死が報告されている。本研究では、モルビリウイルスのHemagglutininとその受容体であるSignaling Lymphocyte Activation Molecule (SLAM)との分子間相互作用を定量的に評価する。実験研究が困難な野生生物について、地球環境の変動によって生じる異種間の接触によるウイルス感染症の伝播を予測し、その対策につなげる。

SLAM表面のアミノ酸が感受性を決定している

SLAMのウイルス結合面のアミノ酸は感染性を示すウイルスごとに保存されている。我々は海洋哺乳類である鯨類、鯨脚類、海牛類のSLAMの遺伝子解析を行い、3次元モデルを構築してモルビリウイルスとの結合面を推定した。結合面にはおよそ34個のアミノ酸が露出しており、分子表面電荷が宿主特異性を決定すると考えており、本研究でその影響を定量化する (Ohishi et al. 2012 & 2014)。



フラグメント分子軌道 (FMO) 法による相互作用エネルギー計算方法



結果

野生での感染報告例やアミノ酸改変実験による基礎データが豊富に揃っているヒト麻疹ウイルスとイヌジステンパーウイルスに対して、種々の生物種のSLAMを結合させたモデルを13セット構築してMDおよびFMO計算した。ヒト麻疹ウイルスと小型サル (ヒト感染モデル生物) のSLAMでは、5.6nsの分子動力学計算 (極小化 0.3 ns、昇温 0.3 ns、平衡化 5 ns) でRMSD値が3.5 Å程度変動したが (右図上)、HemagglutininとSLAM間の相互作用エネルギーはほぼ一定しているか、むしろ昇温過程でいったん不安定化した後、初期構造よりも安定な相互作用を形成する傾向を示しており、ウイルスと受容体の相互作用をよく再現できた (右図下)。一方、ホモロジーモデリングを用いて構築したデータセットでは、振動時間に比例して2分子が解離し、安定化エネルギーが急速に減少しており、初期構造の構築とMDの条件を再検討することが次年度の課題となる。

