

# 抗 HIV-1 タンパク質 APOBEC3F と HIV-1 Vif の相互作用解析 Structural insight into the interaction between the host restriction factor APOBEC3F and HIV-1 Vif

中島雅晶<sup>1,2</sup>, 渡邊信久<sup>2,3</sup>, 岩谷靖雅<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> (独) 名古屋医療センター 臨床研究センター, 〒460-0001 名古屋市中区三の丸 4-1-1

<sup>2</sup> 名古屋大学 大学院工学研究科, 〒464-8603 名古屋市長和区不老町

<sup>3</sup> 名古屋大学 シンクロトロン光研究センター, 〒464-8603 名古屋市長和区不老町

Masaaki Nakashima<sup>1,2</sup>, Nobuhisa Watanabe<sup>2,3</sup>, Yasumasa Iwatani<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Clinical Research Center, Nagoya Medical Center, 4-1-1 Sannomaru, Naka-ku, Nagoya, 460-0001, Japan

<sup>2</sup> Graduate School of Engineering, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8603, Japan

<sup>3</sup> Synchrotron Radiation Research Center, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8603, Japan

## 1 はじめに

ヒトの細胞内で発現している APOBEC3 ファミリータンパク質は HIV-1 などのレトロウイルスの増殖を抑制するはたらきをもつ。しかしながら、HIV-1 感染細胞内では、HIV-1 がコードしている *vif* の遺伝子産物 Vif タンパク質が発現している。Vif は APOBEC3 と結合し、ユビキチンリガーゼ複合体へと導き、プロテアソームを介した APOBEC3 の分解を誘導する。したがって APOBEC3 と Vif の結合阻害は新規抗 HIV 薬の標的として注目されている。

これまでに、我々は、APOBEC3C の結晶構造を決定し、そのタンパク質表面上に位置するアミノ酸 10 残基から成る Vif 結合インターフェイスを有することを明らかにし、その類縁体であり抗 HIV 活性を有する APOBEC3F も同様の領域に Vif 結合インターフェイスを有することを報告した[1]。その後、Bohn らが、11 の変異を導入した APOBEC3F の Vif 結合ドメインである C 末端ドメイン (CTD) の結晶構造を決定し、そのタンパク質表面電荷を元に、より拡張された、APOBEC3F の広域な Vif 結合インターフェイスを予測した[2]。そこで、我々は、変異を含まない野生型配列を有した APOBEC3F CTD の結晶構造の決定と、予測された Vif 結合インターフェイスの実験的手法による検証を試みた。

## 2 実験

大腸菌発現系により、GST 融合タンパク質として APOBEC3F CTD を発現した。ついで、プロテアーゼによるタグ切断、ゲルろ過クロマトグラフィーにより精製した。ハンギングドロップ蒸気拡散法により結晶化を行った。Photon Factory BL-5A にて X 線回折データを収集し、解析、構造の決定を行った。

APOBEC3F の分子表面上に位置するアミノ酸残基にのうち、予測された既報の Vif 結合インターフェイス周辺のアミノ酸残基に関して点変異を導入した変異体 APOBEC3F の発現プラスミドを Vif 発現プラ

スミドと共に 293T 細胞にトランスフェクションし、変異体 APOBEC3F の発現量をウエスタンブロッティングにより解析した。また、変異体 APOBEC3F と Vif の共免疫沈降実験を行った。

## 3 結果および考察

APOBEC3F CTD の結晶構造を分解能 2.54Å で決定した (Fig. 1)。

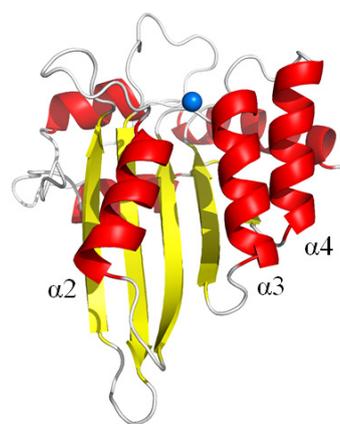


Fig. 1. APOBEC3F CTD の結晶構造

さらに、Bohn らによって予測された領域に関する変異体解析を行い、APOBEC3F の Vif 依存的な分解に関与するアミノ酸残基を探索した。その結果、既報の 10 残基に加えて、新たにヘリックス 3 ( $\alpha 3$ ) と  $\alpha 4$  上に位置する 3 つのアミノ酸残基が Vif 依存的な APOBEC3F の分解に関与していることがわかった。また、これらのアミノ酸残基が両者の結合に関与していることを共免疫沈降実験により見出した。

これらのアミノ酸残基を決定された APOBEC3F CTD の結晶構造上にマッピングした (Fig. 2)。

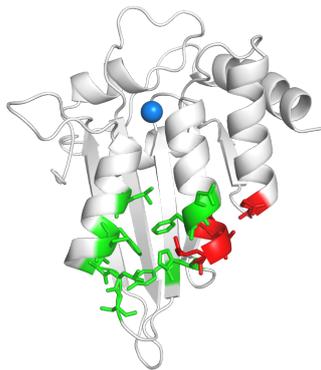


Fig. 2. APOBEC3F の Vif 結合インターフェイス  
APOBEC3C と共通の Vif 結合インターフェイス  
を緑色, APOBEC3F 特有の Vif 結合インターフ  
ェイスを赤色で示した.

APOBEC3F は APOBEC3C と共通の Vif 結合インターフェイスに加えて, APOBEC3F 特有の拡張された Vif 結合インターフェイスを有することがわかった. また, これらのアミノ酸残基が構成するタンパク質表面が有する構造学的特徴 (強い負電荷など) が明らかとなった.

今回得られた知見は, APOBEC3F を標的とした抗 HIV 薬開発の基盤的情報となると考えられる. これらの成果を文献 [3] にて報告した.

#### 参考文献

- [1] S. Kitamura *et al.*, *Nat Struct Mol Biol.* 19, 1005-1010 (2012)
- [2] M. Bohn *et al.*, *Structure*, 21, 6, 1042 (2013)
- [3] M. Nakashima *et al.*, *J Virology*, 90, 2, 1034 (2016)

\*iwataniy@nh.hosp.go.jp