

# HIV-1 インテグラーゼ触媒ドメイン変異体の X 線結晶構造解析

## X-ray crystallographic study on a mutant of HIV-1 integrase catalytic core domain

中村照也<sup>1,2,\*</sup>, 中村朋文<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 熊本大学大学院先端機構, 〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1

<sup>2</sup> 熊本大学大学院生命科学研究部 (薬), 〒862-0973 熊本市中央区大江本町 5-1

<sup>3</sup> 熊本大学大学院生命科学研究部 (医), 〒860-8556 熊本市中央区本荘 1-1-1

Teruya NAKAMURA<sup>1,2,\*</sup> and Tomofumi NAKAMURA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Priority Organization for Innovation and Excellence, Kumamoto University,  
5-1 Oehonmachi, Chuo-ku, Kumamoto, 862-0973, Japan

<sup>2</sup> Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University,  
5-1 Oehonmachi, Chuo-ku, Kumamoto, 862-0973, Japan

<sup>3</sup> Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University  
1-1-1 Honjo, Chuo-ku, Kumamoto, 860-8556, Japan

### 1 はじめに

HIV-1 感染症は、感染すると未だ体内から完全に排除することができず、生涯にわたり治療薬を内服しなければならない。我々はさらに強力な治療薬を開発するために HIV-1 インテグラーゼ (IN) に結合する薬剤の耐性変異に着目した。HIV-1 が薬剤から逃れるために IN の触媒ドメイン (CCD) 内に獲得した薬剤耐性変異を解析することによって、構造学的な視点から HIV-1 の薬剤逃避メカニズムを解明することを目指した。これら薬剤耐性変異の中でも A128T と K173Q の変異を持つ CCD<sup>P15</sup> の 2 量体形成および阻害剤結合の構造学的基盤を明らかにすることを目的に CCD<sup>P15</sup> の X 線結晶構造解析を行った[1]。

### 2 実験

CCD<sup>P15</sup> は、大腸菌発現系を用いて N 末端に His タグを付加させた融合タンパク質として発現させ、Co アフィニティークラムを用いて精製した。CCD<sup>P15</sup> の結晶化は、ハンギングドロップ蒸気拡散法により行い、50 mM sodium cacodylate-HCl (pH 6.5), 1.2 M ammonium sulfate の結晶化溶液を用いることで結晶を得た。X 線回折実験は PF の BL-17A で行い、2.1 Å 分解能の X 線回折強度データを収集した。CCD<sup>P15</sup> の結晶は、空間群 *P3<sub>1</sub>21* に属し、格子定数は  $a = b = 72.8$ ,  $c = 64.3$  Å であった。位相の決定は、プログラム MOLREP を用いた分子置換法により行い、サーチモデルには CCD(A128T)変異体を用いた。構造の精密化はプログラム PHENIX と COOT を用いて行い、 $R_{\text{work}}/R_{\text{free}} = 0.193/0.247$  の最終構造を得た。

### 3 結果および考察

CCD<sup>P15</sup> に見られる K173Q の変異は、2 量体の界面 (単量体間の相互作用面) に位置している。CCD<sup>P15</sup> の Gln173 側鎖は、野生型 CCD の Lys173 側鎖とは異なった方向に伸び、Val88 の主鎖、Gln177 の側鎖と水

素結合を形成していた (図 1)。この 173 番目のアミノ酸 (Gln173 もしくは Lys173) と Tyr99 の間にはファンデルワールス接触が見られ、CCD<sup>P15</sup> では K173Q の変異により Tyr99 側鎖が野生型 CCD の時とは異なったコンフォメーションをとり、阻害剤結合部位にせり出していることがわかった。すなわち、CCD<sup>P15</sup> の K173Q 変異により、1) Tyr99 側鎖のコンフォメーション、2) 2 量体の界面の相互作用様式、3) 阻害剤結合部位の構造、が変化し、CCD<sup>P15</sup> の 2 量体化の安定性と阻害剤結合に影響を与えたことを明らかにした [1]。

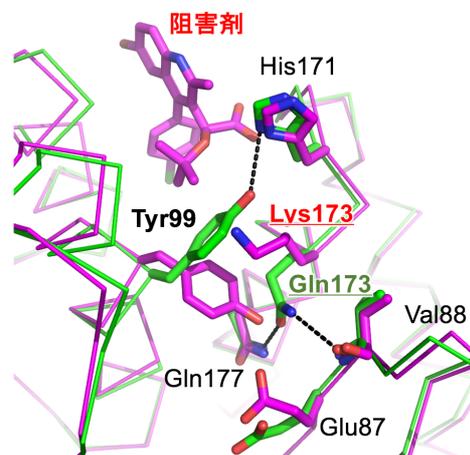


図 1: CCD<sup>P15</sup> (緑) と CCD (紫) の構造比較

### 謝辞

放射光実験を実施するにあたり、ビームラインスタッフの皆様には大変お世話になりました。この場を借りて感謝申し上げます。

### 参考文献

[1] T. Nakamura *et al.*, *J. Virol.* **94**, e00486-20 (2020).

\* tnaka@gpo.kumamoto-u.ac.jp