

宿主防御タンパク質 APOBEC3C の結晶構造と HIV-1 Vif 結合インターフェイス Crystal Structure of host restriction factor APOBEC3C and HIV-1 Vif binding interface

北村紳悟^{1,2}, 中島雅晶^{1,2}, 渡邊信久^{1,3}, 岩谷靖雅^{2*}

¹名古屋大学大学院工学研究科, 〒464-8603 名古屋市千種区不老町

²(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*

³名古屋大学シンクロトロン光研究センター, 〒464-8603 名古屋市千種区不老町

Shingo Kitamura^{1,2}, Masaaki Nakashima^{1,2}, Nobuhisa Watanabe^{1,3}, Yasumasa Iwatani^{2*}

¹Graduate School of Engineering, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, 464-8603, Japan

²Clinical Research Center, Nagoya Medical Center, 4-1-1 Sannomaru, Naka-ku, Nagoya, 46-0001, Japan*

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

1 はじめに

APOBEC (A3) ファミリータンパク質は Human Immunodeficiency Virus type-1 (HIV-1) を含むレトロウイルスやレトロトランスポソンの複製を抑制する宿主防御タンパク質である \mathbb{Z} 。ヒトでは A3A から A3H までの 7 種類 (A3A, B, C, D, F, G, H) がリンパ球やマクロファージで発現している。A3 はシチジン脱アミノ化酵素活性と核酸に対する結合能を有し、これらの機能によりレトロウイルスの増殖を抑制する。

一方、HIV-1 は A3 による防御機構を解除するため、Vif タンパク質を感染細胞において発現させる。Vif は A3 と特異的に結合し、E3 ユビキチンリガーゼ複合体へとリクルートする。リクルートされた A3 ポリユビキチン化を介して、プロテアソームによる分解を受ける \mathbb{Z} 。HIV-1 は Vif を利用して感染細胞内より A3 を分解除去することにより自身の増殖を可能としている。

本課題では構造未決定で、なおかつ Vif 結合ドメインを有する A3C を研究対象とし、その構造解析および機能解析を行った。また、決定した構造情報をもとに A3C の類縁体である A3F の C 末端側ドメイン (CTD) のモデル構造を構築し、同様の機能解析を行った。

2 実験

大腸菌発現系により、A3C を発現、精製した。ハンギングドロップ蒸気拡散法により結晶化し、Photon Factory BL-17A にて X 線回折データを収集し、解析、構造の決定を行った。

さらに、決定された A3C の分子構造において分子表面上に位置するアミノ酸残基に対して網羅的に変異を導入した点変異体を作製し、これを用いた変異体解析を行った (Structure Guided Mutagenesis)。作製した A3C 変異体を Vif とともに 293T 細胞で共発現し、A3C が分解を受けなくなる (Vif を介した分解に対して非感受性となる) 変異体のみを抽出した。そして、配列相同性の高い A3F CTD についても、

A3C において Vif 結合に重要な残基に相当する残基に変異を導入した点変異体を作製し、同様に Vif 感受性を調べた。

3 結果および考察

A3C の X 線結晶構造解析の結果、分解能 2.15Å, 3.00 Å で A3C の結晶構造を決定した (PDB #3VOW, #3VM8) (図 1)。

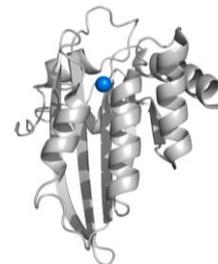


図 1 A3C の結晶構造 (PDB #3VOW)

また、A3C と A3F において変異を導入することで Vif 非感受性となる残基を両者の結晶構造もしくはモデル構造上にマッピングした (図 2)。

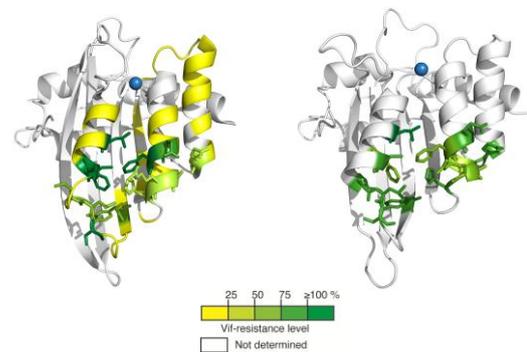


図 2 A3C (左) と A3F (右) の Vif 結合インターフェイス (濃い緑色の領域が Vif 結合に関与する)

その結果, A3C と A3F の Vif 結合インターフェイスは高度に保存されていること, A3C/F-Vif の相互作用において, A3C/F の負電荷, もしくは芳香族のアミノ酸が重要であること, A3C/F の Vif 結合インターフェイスは浅いくぼみを形成していることがわかった.

本研究成果は新規抗 HIV 薬開発において, 重要な基盤情報を提供するものであると考えられる.

参考文献

- [1] R. Golia-Gaur *et al.*, *Retrovirology*, 5, 51 (2008)
- [2] X. Yu *et al.*, *Science*, 302, 1056-1060 (2003).

成果

- [1] S. Kitamura *et al.*, *Nat Struct Mol Biol.* 19. 1005-1010(2012).

*iwataniy@nh.hosp.go.jp