

HIV-1 プロテアーゼ複合体におけるフラグメント密度汎関数計算

(筑波大院・化) ○岩瀬 智行, 守橋 健二

[序論]

タンパク質分解酵素である HIV-1 プロテアーゼ(HIV-1 PR)は99残基のタンパク質の二量体である。これは、あらかじめ合成されたHIVの前駆体となるタンパク質のペプチド結合部分を切断する働きを持つ。その機能を発現させる活性部位は Asp25, Asp125 であることが知られている[1]。HIV-1 PR 阻害剤は、この活性部位に入り込み、大きな結合エネルギーを得ることで外れなくなくなり、その機能を阻害する。本研究では DMP323, indinavir, lopinavir, TMC114, TMC126 の5種の阻害剤についてフラグメント密度汎関数計算(F-DFT 計算)[2]を行った。阻害剤についても図1から図4のようにフラグメント分割し、阻害剤の各フラグメントと HIV-1 PR の主要な残基との相互作用を検討することで、阻害剤の重要な部位を発見することを目的とする。

今回検討した阻害剤のうち、TMC126とTMC114は非常に類似した構造を持つ。それにも関わらずTMC126はTMC114よりも高い阻害能を持つことが知られている[3]。この点についても詳細に検討する。

[計算方法]

計算には ABINIT-MP(DFT-version)プログラムを用い、B3LYP / 6-31G 基底によるフラグメント DFT 計算を行った。F-DFT 計算の際、HIV-1 PR だけでなく阻害剤もフラグメントに分割することにより、フラグメントごとに相互作用エネルギーを見積もった。相互作用を検討する HIV-1PR の残基は、活性部位の Asp25 および P2 binding pocket 部位[4]である Ala28, Asp29, Asp30, Ile50 と、それぞれに対応する B 鎖の残基に絞った。

また TMC114 と TMC126 について6-31G 基底でのエネルギー1点計算を行い、分子軌道のエネルギーを求めた。さらに HIV-1PR の A 鎖のみを HF / STO-3G 基底において FMO-MO 法[5]を用いて計算し、軌道のエネルギー準位を求めた。両者の軌道のエネルギーから TMC114 と TMC126 の阻害能の違いについて議論する。

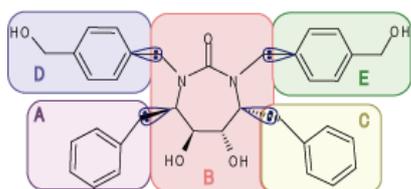


図1 阻害剤 DMP323 のフラグメント分割

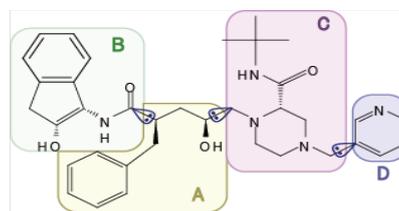


図2 阻害剤 indinavir のフラグメント分割

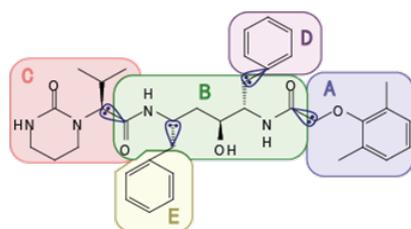


図3 阻害剤 lopinavir のフラグメント分割

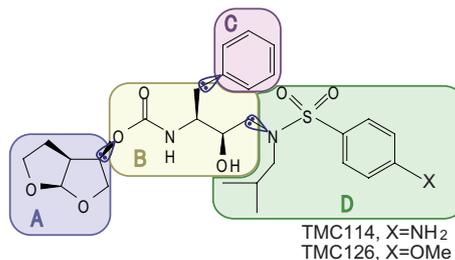


図4 阻害剤 TMC114, TMC126 のフラグメント分割

[結果・考察]

表1に各阻害剤について計算した結合エネルギーおよびIC₅₀の実験値を示す。IC₅₀とは50%阻害濃度のことでHIV-1 PRを50%阻害するのに必要な阻害剤の濃度を表す。この値が低いほど阻害能は高い。各阻害剤の結合エネルギーとIC₅₀の値に着目すると、おおむねよい相関を示している。しかしTMC126はTMC114よりも非常に高い阻害能を示すのに対し、計算された結合エネルギーはより低い。これはおそらく用いた初期構造の違いによるもので、構造の緩和条件などを今後見直す必要がある。

しかし図4に示す構造の置換基Xと最も距離が近いASP130との相互作用エネルギー解析によると、TMC126の方がTMC114よりも強い引力を示していることがわかった(図5)。これは両者の置換基の違いに由来するものである。TMC126の-OMe基のように電気陰性な置換基の方が、TMC114の-NH₂基よりも、Asp129と有利に水素結合を形成していることが考えられる。

また図6はHIV-1PRの単量体でのエネルギー準位図である。HIV-1PRのペプチド鎖切断反応は、活性部位の酸素原子からの求核攻撃より始まることが知られている[1]。そのため、PRの占有軌道のエネルギーと阻害剤の空軌道のエネルギーに興味を持たれる。図6を見るとPRの占有軌道のエネルギーはどれもHOMOのエネルギーである-0.02582 a.u.よりも低い。そのため阻害剤の空軌道のエネルギーはこのHOMOのエネルギーに近いほど、阻害に有利であると予想される。一方TMC114, TMC126のLUMOのエネルギーはそれぞれ0.08486 a.u., 0.079454 a.u.でありTMC126の方が低い。これは置換基Xがより電子吸引性の-OMeに置換されたことによるLUMOのエネルギー変化であり、TMC126が高い活性を示す要因の一つであると考えられる。

表1 各種阻害剤の結合エネルギーおよびIC₅₀の実験値

阻害剤	結合エネルギー (kcal/mol)	IC ₅₀ (μ M)
DMP323	9.93	-
indinavir	28.47	0.047
lopinavir	30.96	0.007
TMC114	96.25	0.003
TMC126	71.32	0.0005

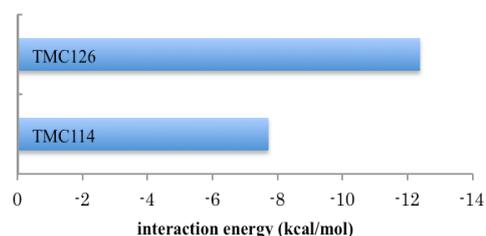


図5 TMC114, TMC126のフラグメントDにおけるASP130との相互作用エネルギー

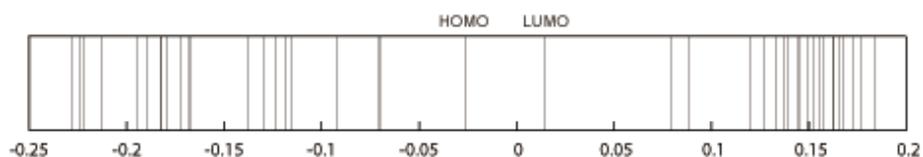


図6 HIV-1PRのA鎖(99残基)のエネルギー準位 (HOMO: -0.02582 a.u., LUMO: 0.01397 a.u.)

[参考文献]

- [1] J. Trylska et al., *Protein Sci.*, **13**, 513(2004).
- [2] Y. Shimodo et al., *J. Mol. Struct.(Theochem)*, **770**, 163(2006).
- [3] A. K. Ghosh et al., *Chem. Med. Chem.*, **1**, 939(2006).
- [4] K. Nivesanond et al., *Int. J. Quantum Chem.*, **105**, 292(2005).
- [5] Inadomi, Y. et al., *U. Chem. Phys. Lett.*, **364**, 139(2002).