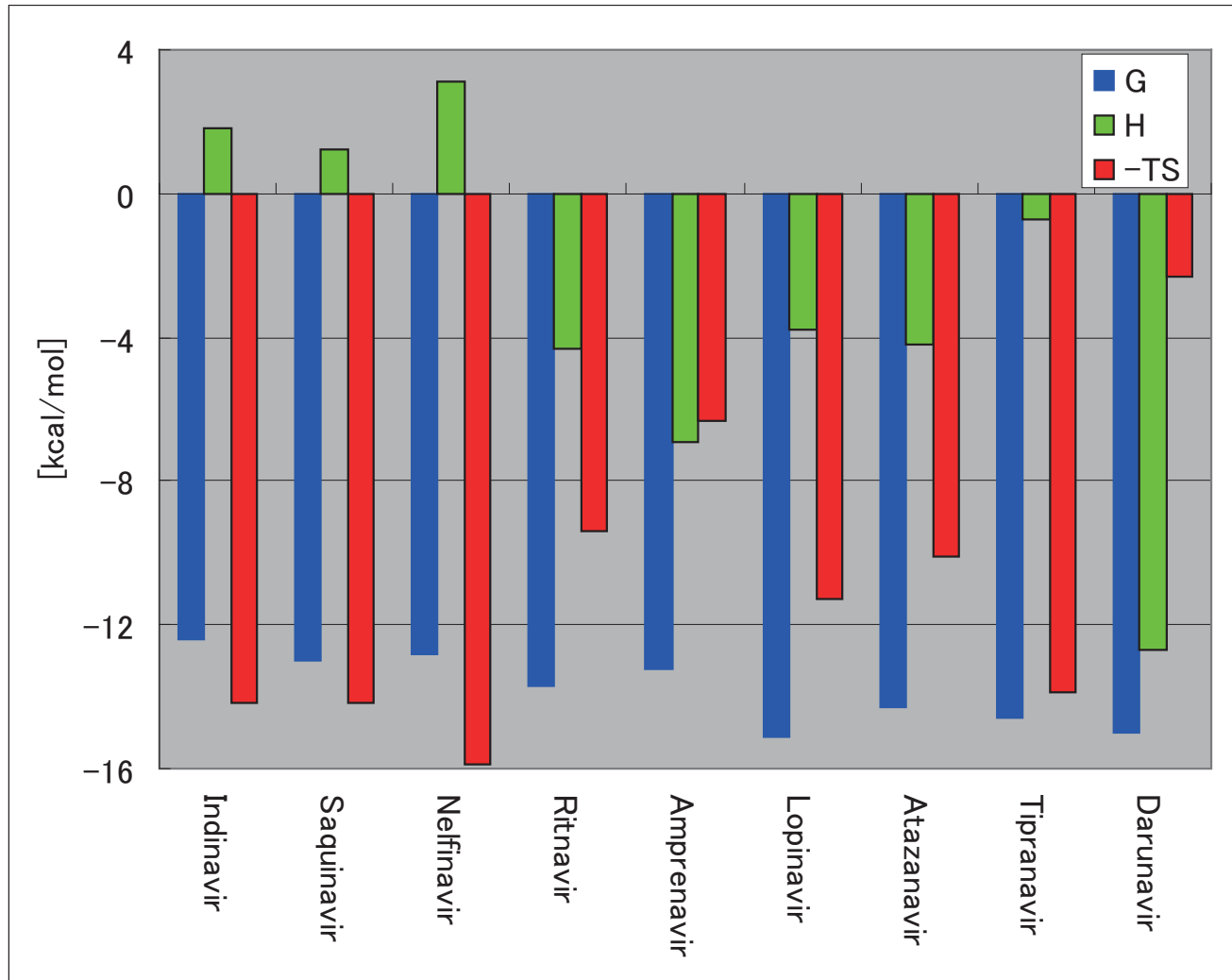


タンパク質-阻害剤の結合エンタルピー 予測法の開発

大正製薬(株): 宮川博夫、遠藤真弓

HIV-1プロテアーゼ阻害剤のITC測定 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$



HIV-1 protease inhibitors approved by the FDA

1995

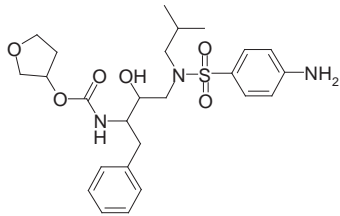
2006

Drug Discovery Today, Vol.13, Oct. '08, p. 869

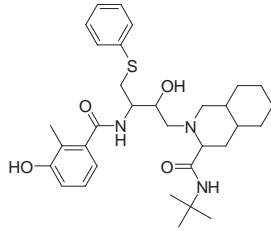
Review "Do enthalpy and entropy distinguish first in class from best in class?"

Ernesto Freire, Department of Biology, Johns Hopkins University (米)

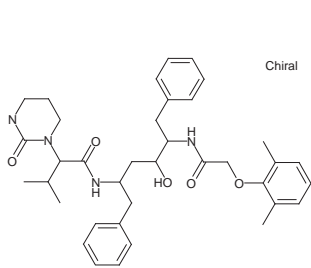
HIV-1 プロテアーゼとその阻害剤



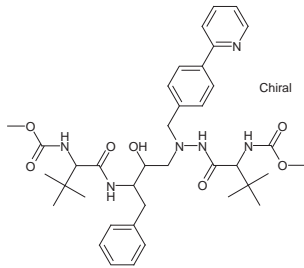
Amprenavir



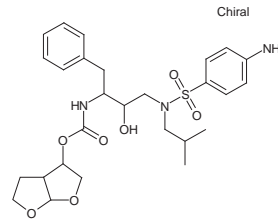
Nelfinavir



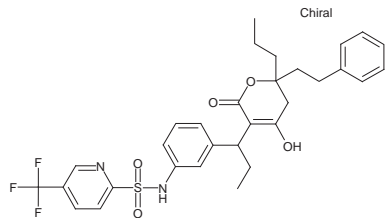
Lopinavir



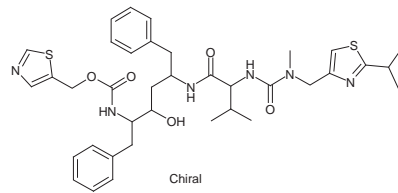
Atazanavir



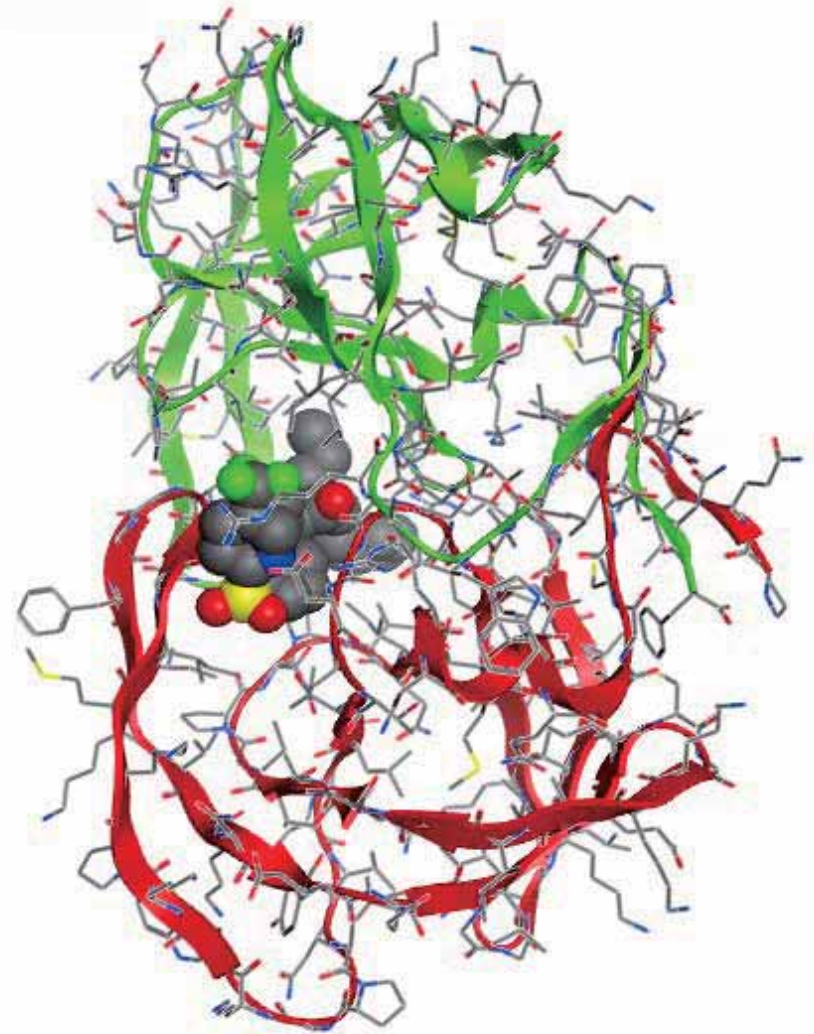
Darunavir



Tipranavir



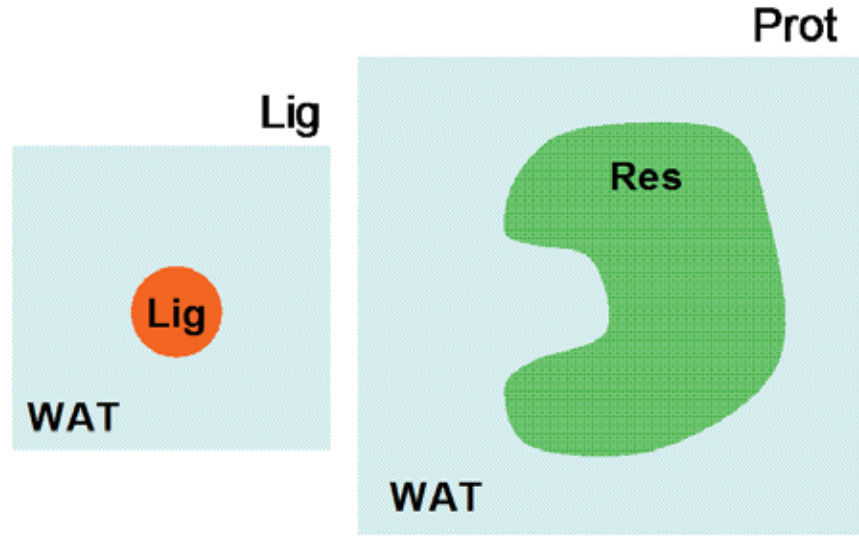
Ritonavir



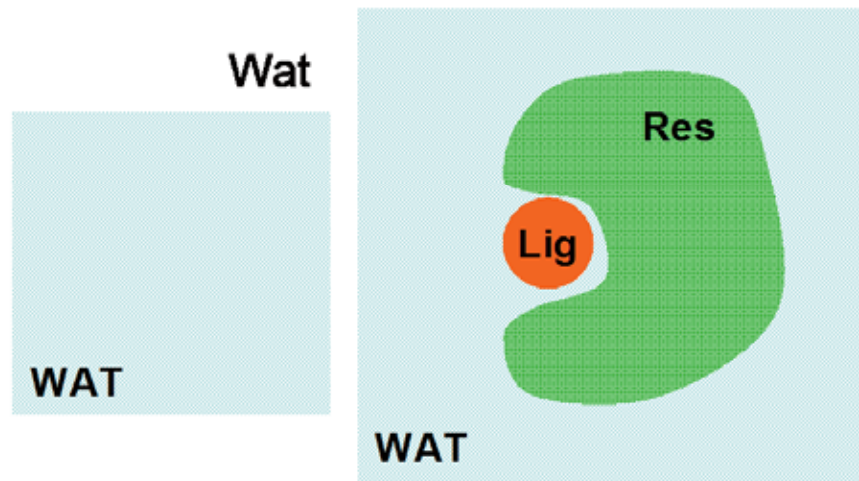
HIV-1 プロテアーゼ
Tipranavirとの複合体

タンパク質 - 阻害剤結合エンタルピー (ΔH_{Bind}) 計算

Four MD runs: 1atm, 300K, P.B.C.

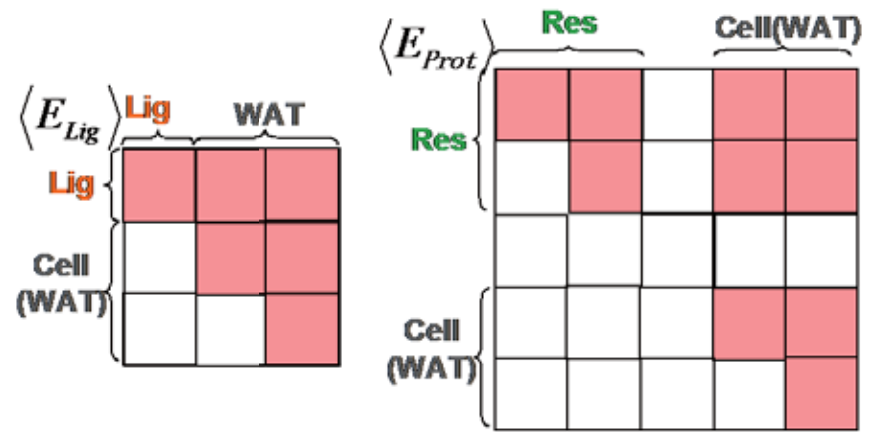


Ligand binding

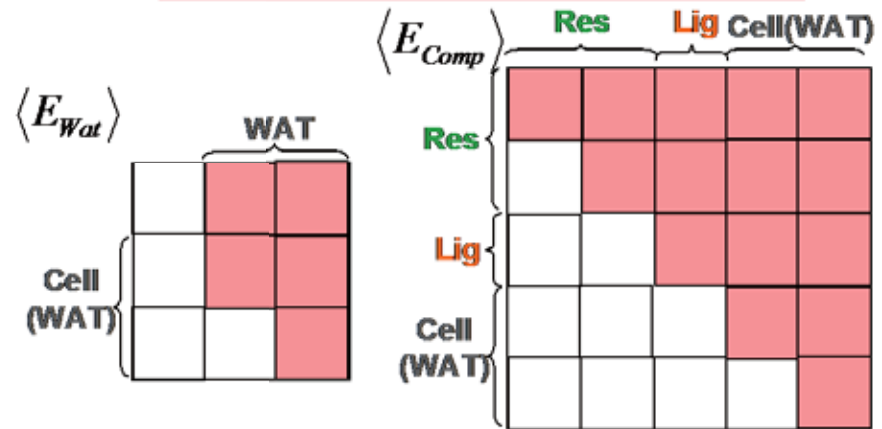


$$\Delta H_{Bind} = \left[\langle U_{Wat} \rangle + p \langle V_{Wat} \rangle + \langle U_{Comp} \rangle + p \langle V_{Comp} \rangle \right] - \left[\langle U_{Lig} \rangle + p \langle V_{Lig} \rangle + \langle U_{Prot} \rangle + p \langle V_{Prot} \rangle \right]$$

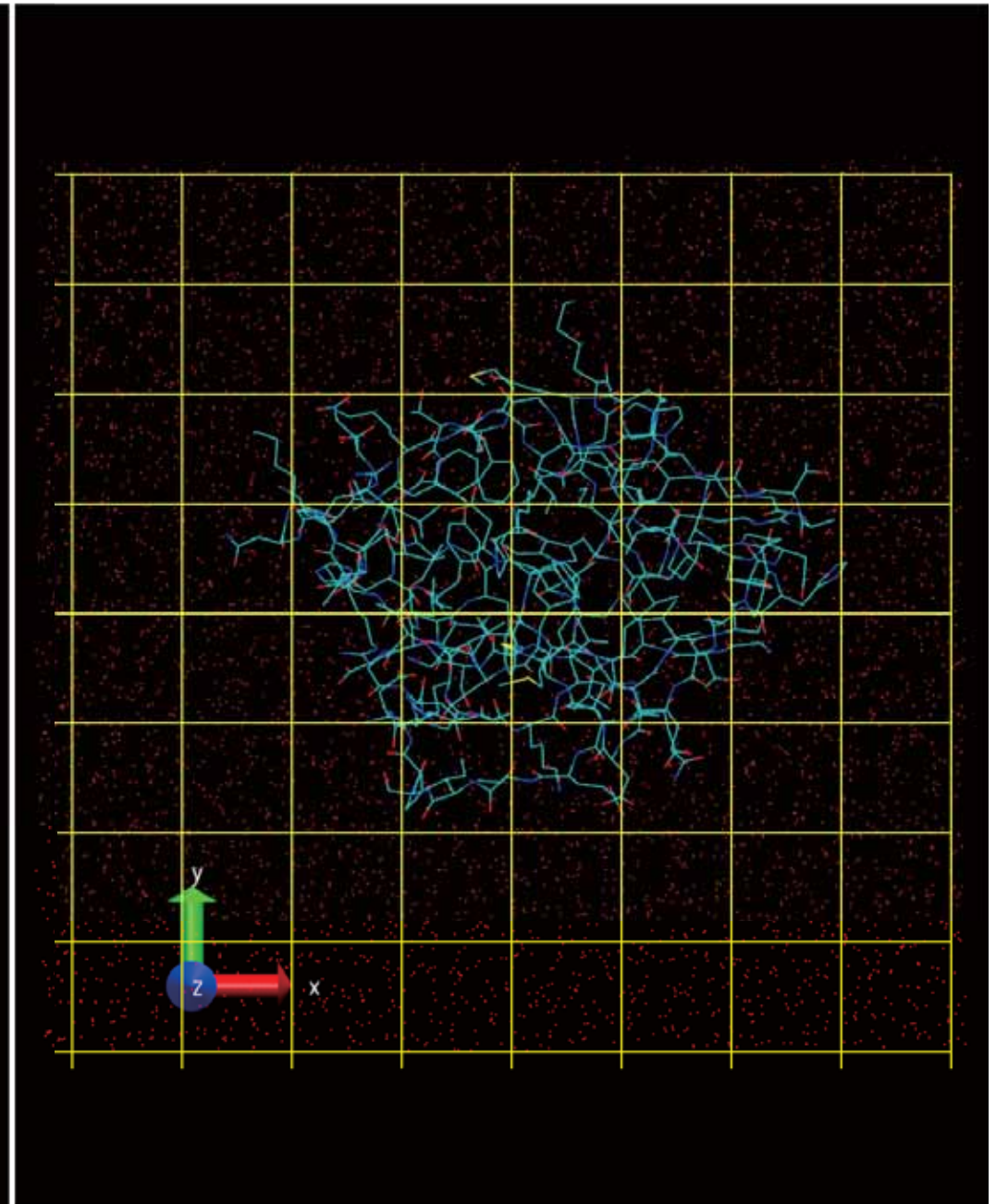
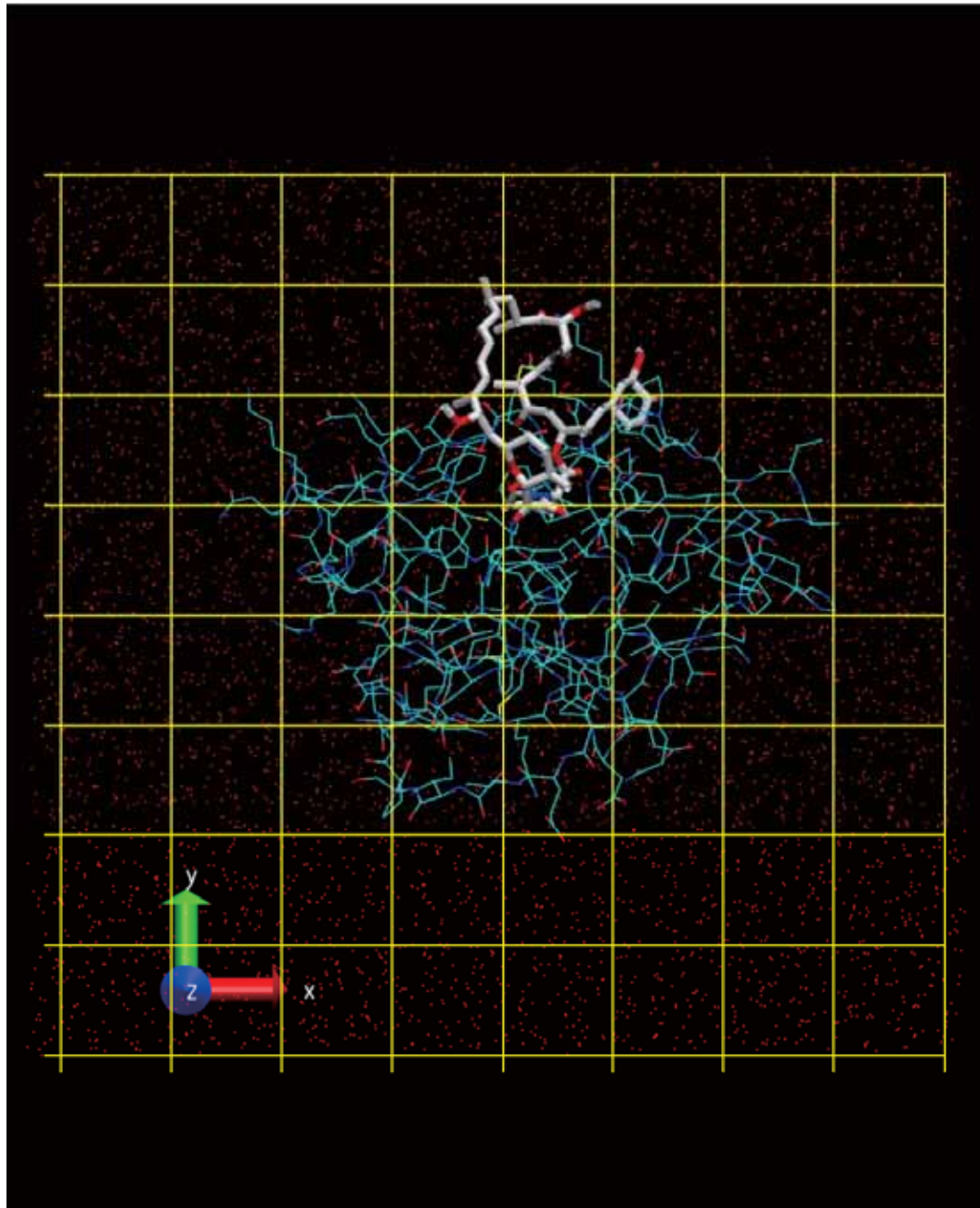
$$= \langle E_{Wat} \rangle - \langle E_{Lig} \rangle + \langle E_{Comp} \rangle - \langle E_{Prot} \rangle + p(\langle V_{Wat} \rangle - \langle V_{Lig} \rangle + \langle V_{Comp} \rangle - \langle V_{Prot} \rangle)$$



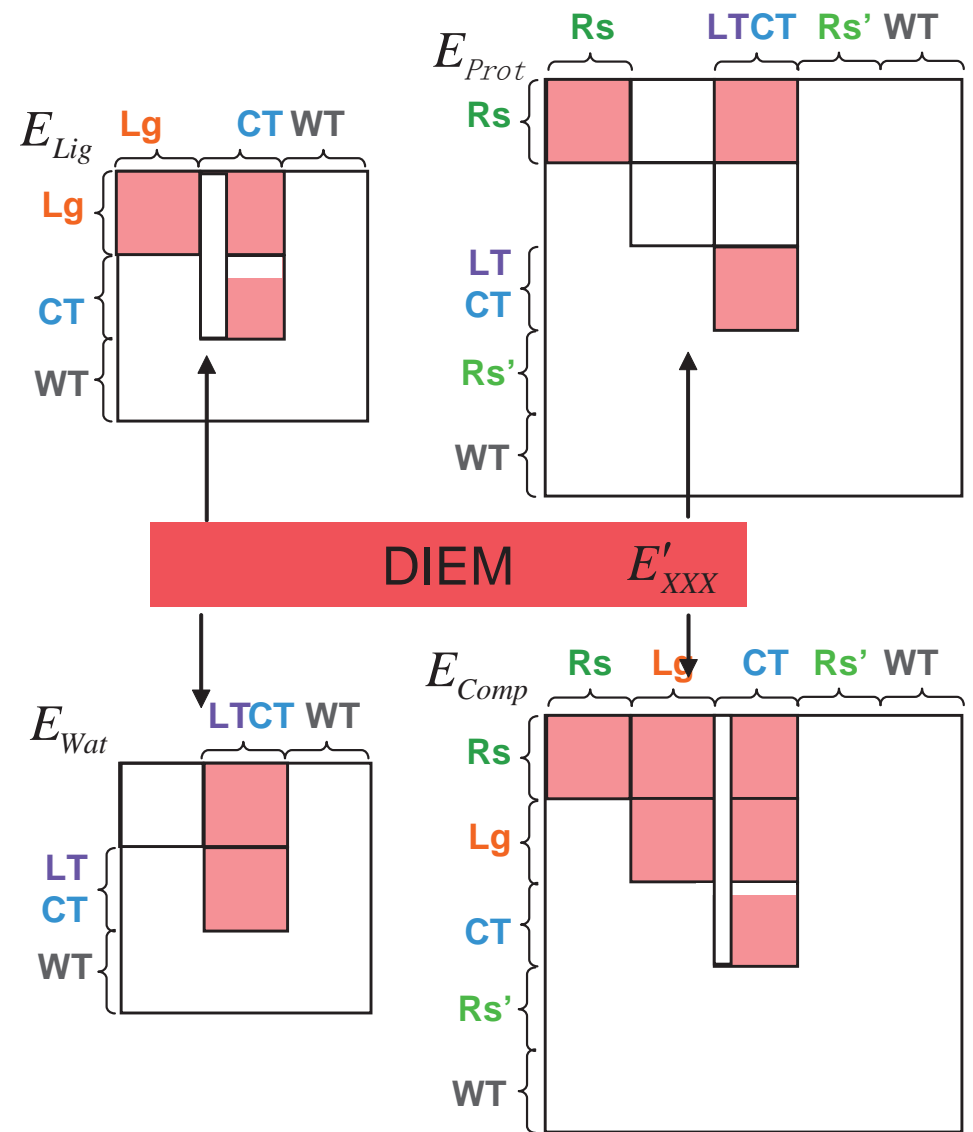
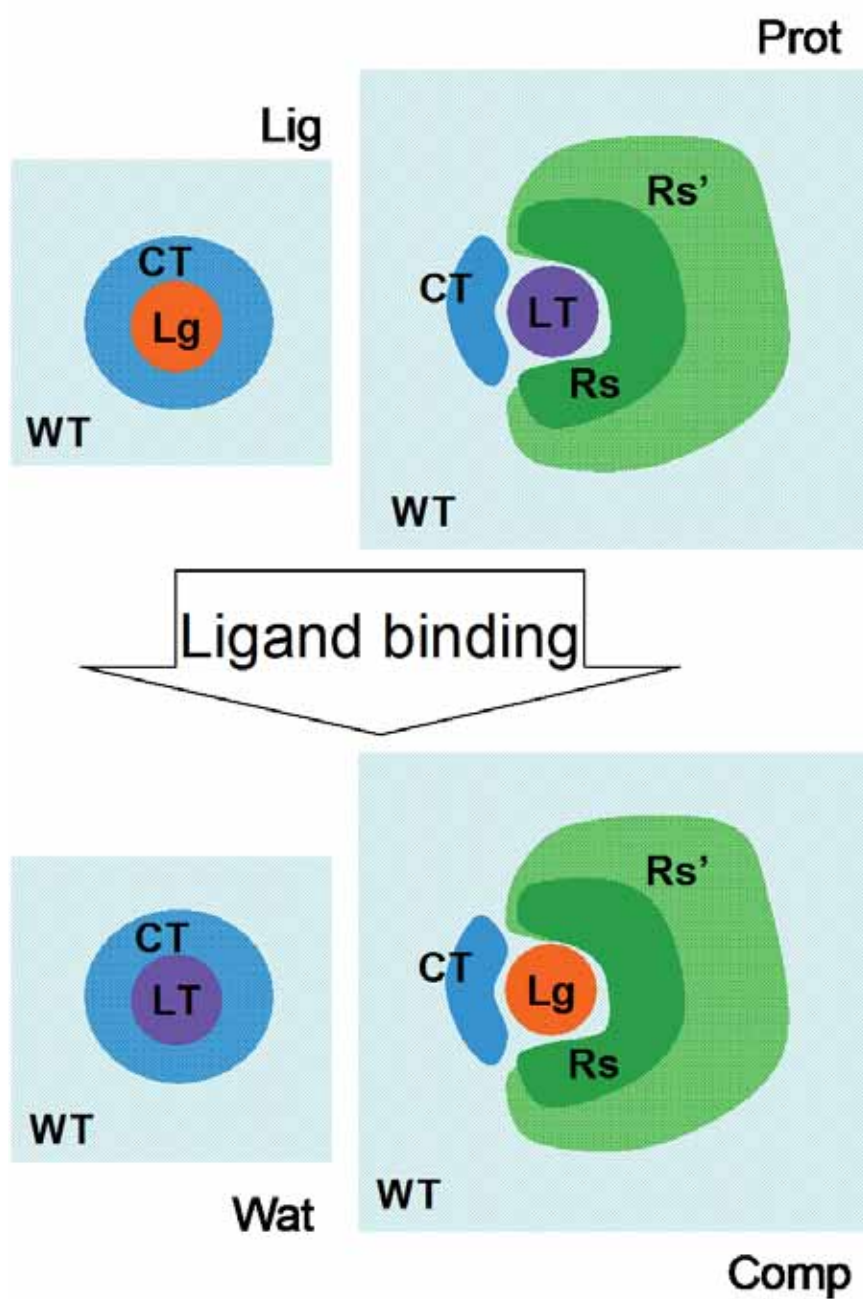
E_{XXX} : Upper triangular matrix



Cellularly-divided areas are used to distinguish water molecules.



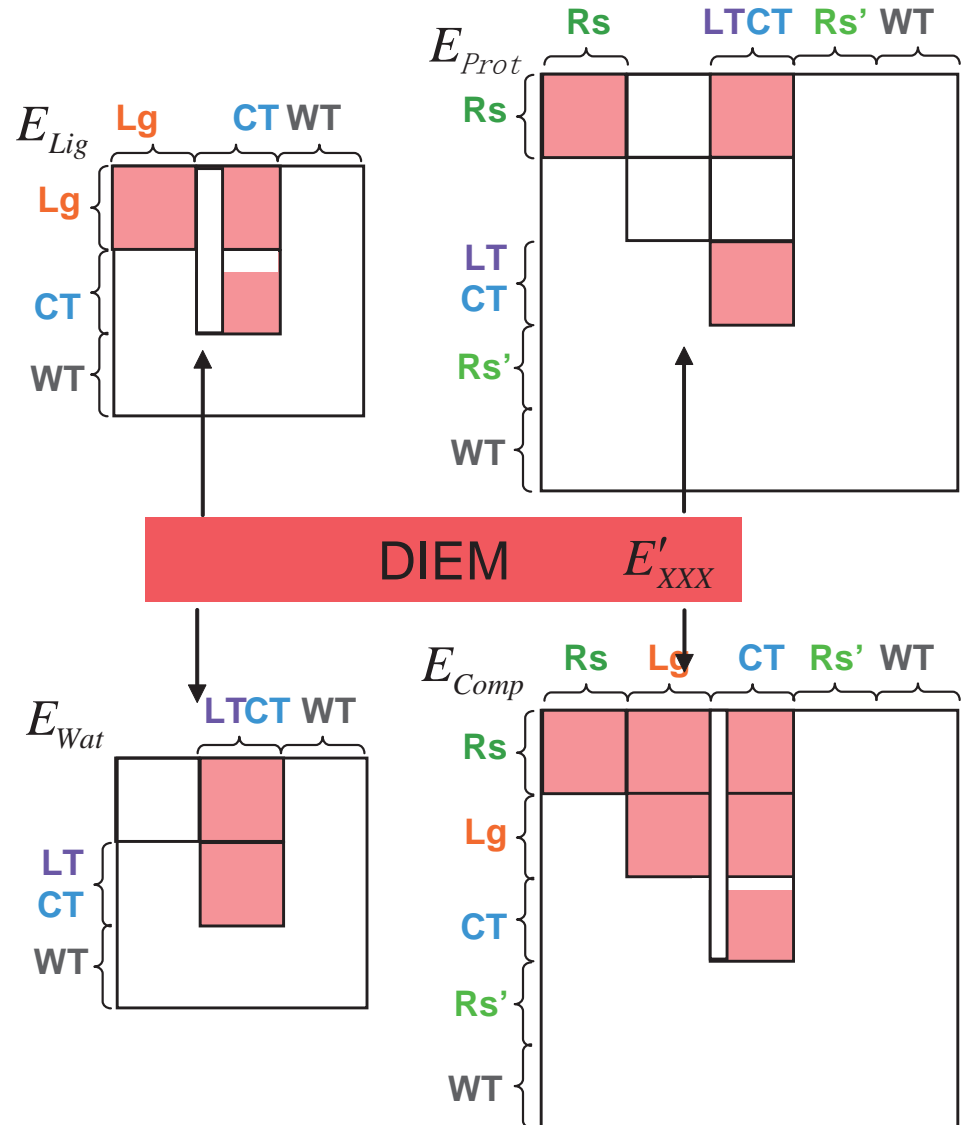
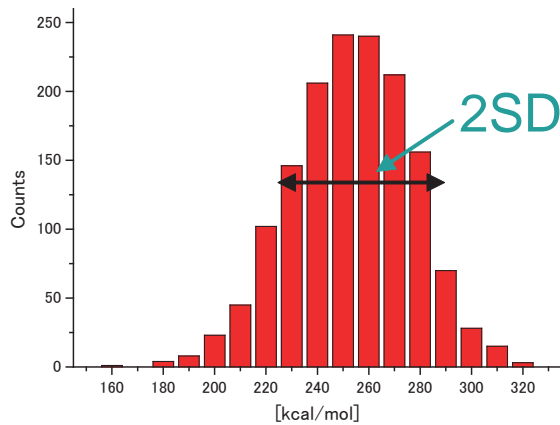
DIEM (Difference Interaction Energy Matrix) による 結合エンタルピー (ΔH_{Bind}) 計算



FMO計算のための部分分子系の取り出し、snapshotsの選抜

① Histogram of DIEM component : $E_{XX(\alpha-\beta)}^i$, $E_{XX(total)}^i$

$XX = Lig, Wat, Prot, Comp$
 $\alpha, \beta = Rs, Lg, LT, CT$



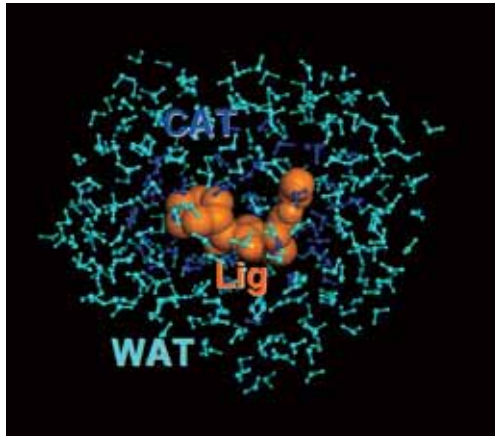
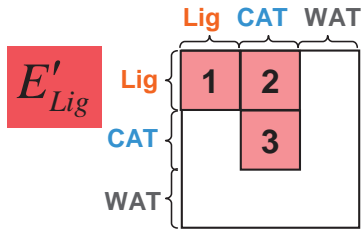
② Selection of snapshot i

$$\bigcap_{\alpha, \beta, total} \left\langle E_{XX(\alpha-\beta)}^i \right\rangle - SD \leq E_{XX(\alpha-\beta)}^i \leq \left\langle E_{XX(\alpha-\beta)}^i \right\rangle + SD$$

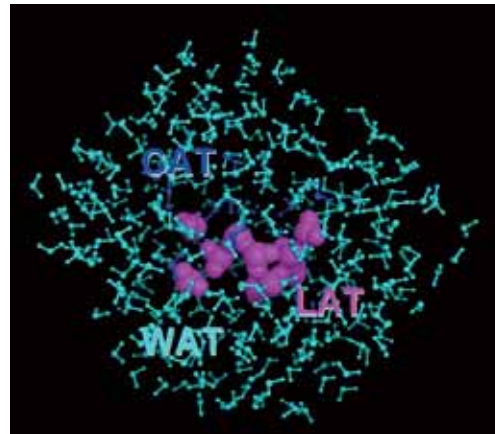
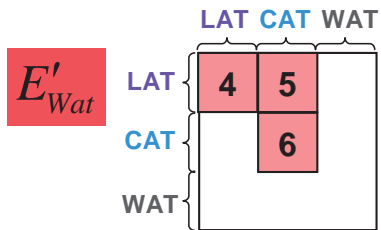
部分分子系FMO計算: FMO-MP2/6-31G(d,p), Amprenavir 2分割 ABINIT-MP

$$\Delta H_{Bind} = (E'_{Comp} - E'_{Prot}) + (E'_{Wat} - E'_{Lig}) = -6.5\text{kcal/mol}$$

Xeon X5570 2.8GHz x 2CPU(2P8C) (32GB)

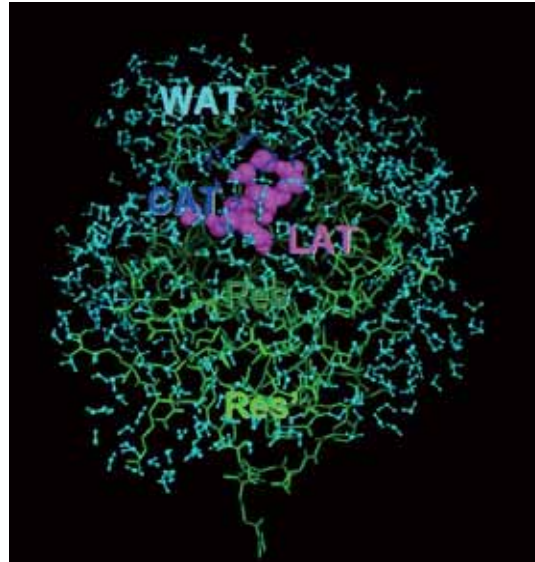
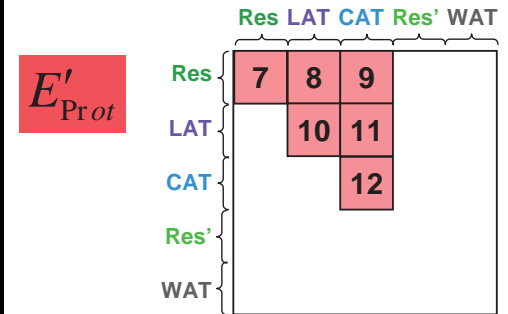


20Node時間
× 25snapshots

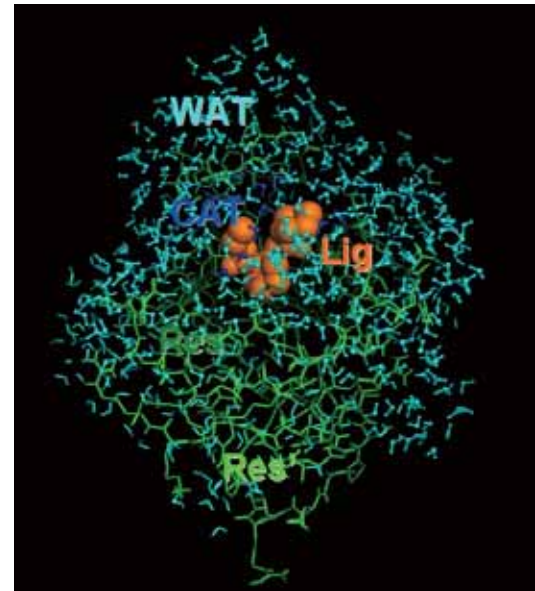
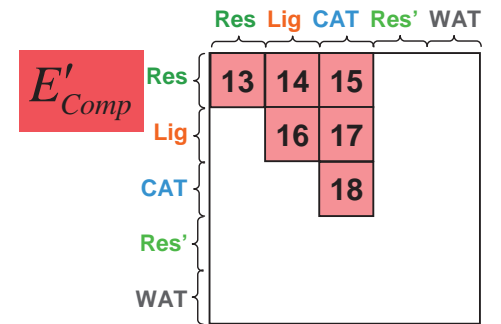


0.8Node時間
× 25snapshots

ES2



49Node時間
× 10snapshots



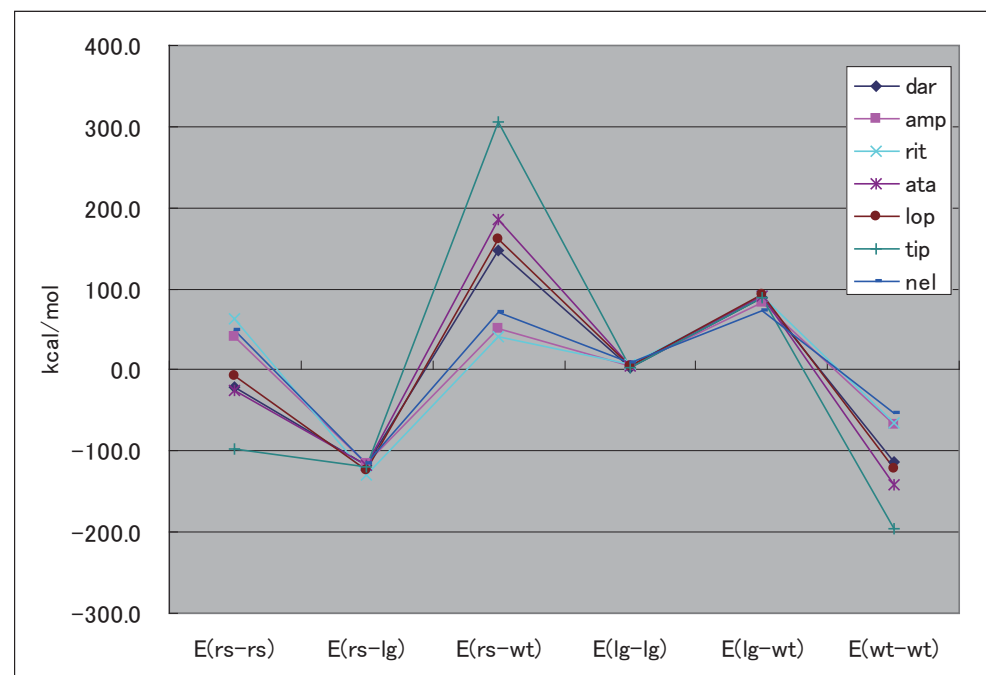
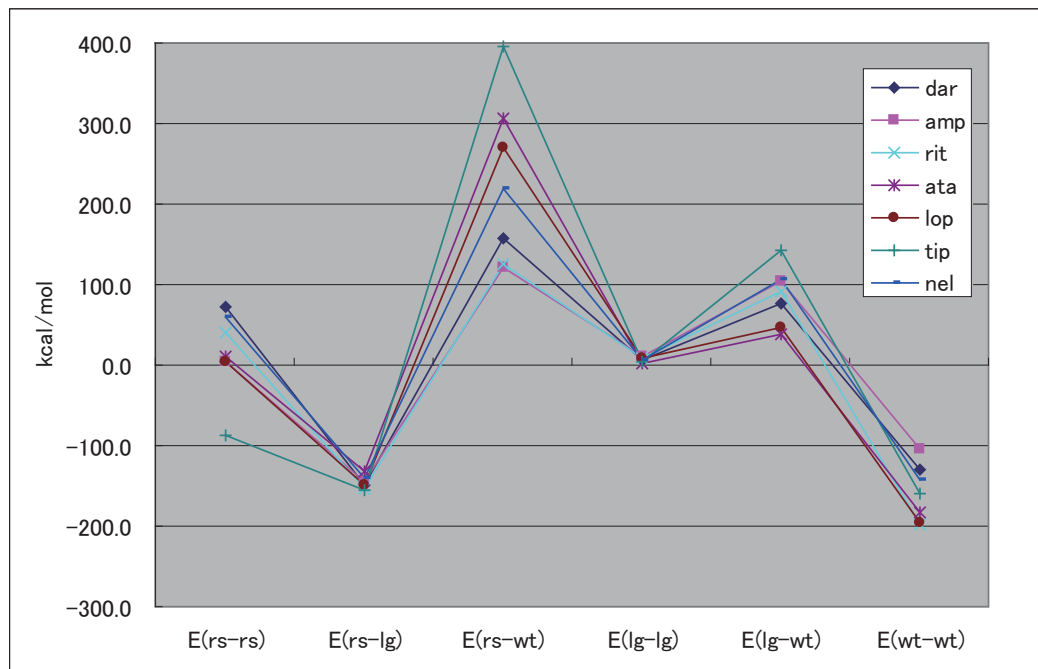
54Node時間
× 10snapshots

FMO法による結合エンタルピーとエネルギー成分分解

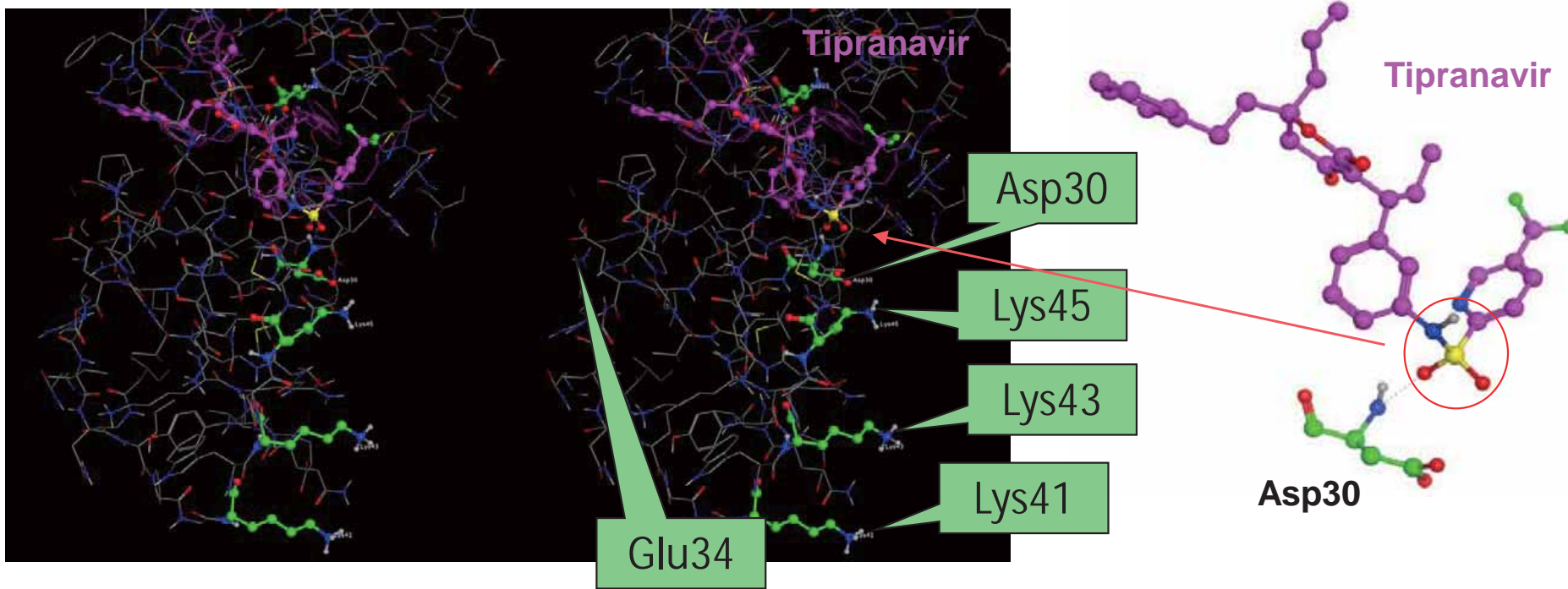
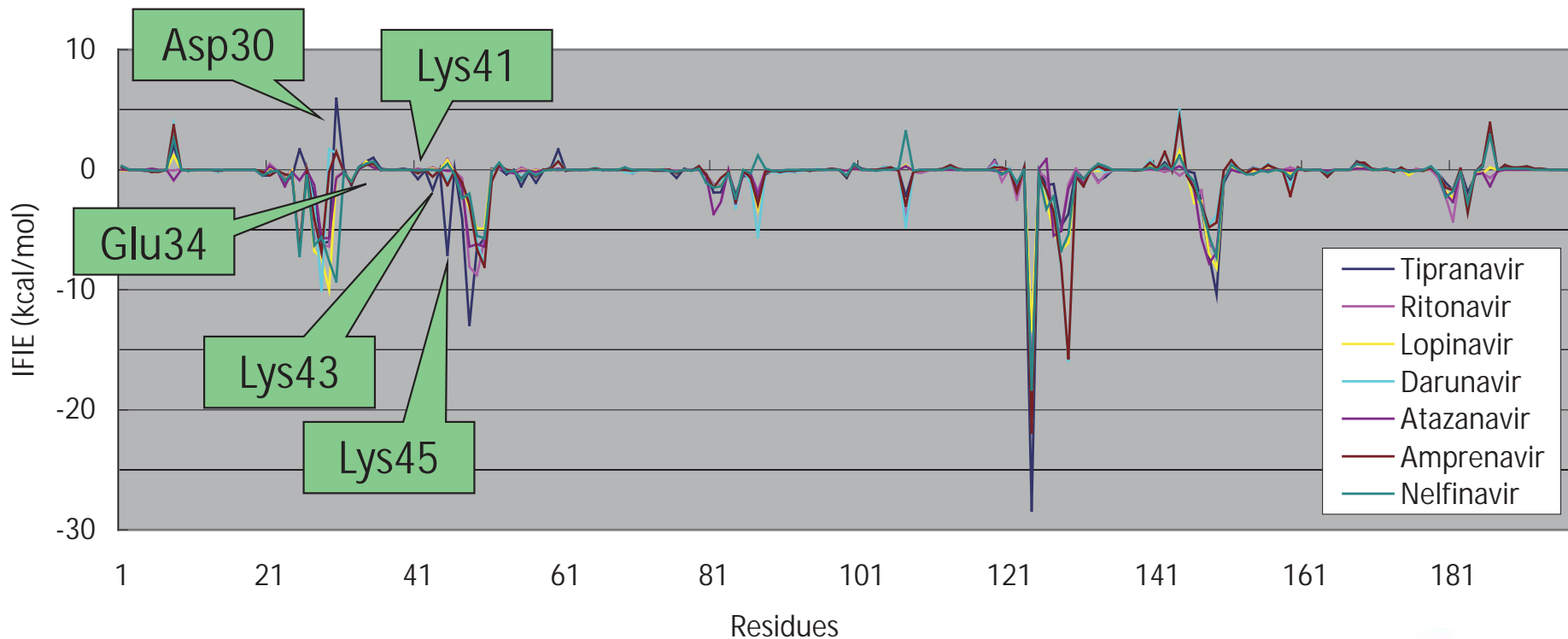
Ligand	deltaH(exp)	deltaH(MD)	deltaH(FMO)	E(rs-rs)	E(rs-lg)	E(rs-wt)	E(lg-lg)	E(lg-wt)	E(wt-wt)
dar	-12.7	-12.5	77.5	73.0	-149.9	158.0	6.5	75.6	-129.4
amp	-6.9	-3.9	-6.5	4.8	-143.7	122.0	11.2	103.9	-104.3
rit	-4.3	9.2	-49.1	41.1	-153.8	126.5	8.3	91.3	-197.3
ata	-4.2	-4.4	54.9	11.2	-132.2	307.3	2.9	37.8	-183.0
lop	-3.8	8.9	-29.2	3.8	-148.6	270.1	8.9	46.5	-195.5
tip	-0.7	-14.8	84.6	-88.1	-154.7	394.9	4.0	142.5	-160.2
nel	3.1	35.2	49.4	60.0	-140.5	219.2	6.1	106.5	-142.1

FMO

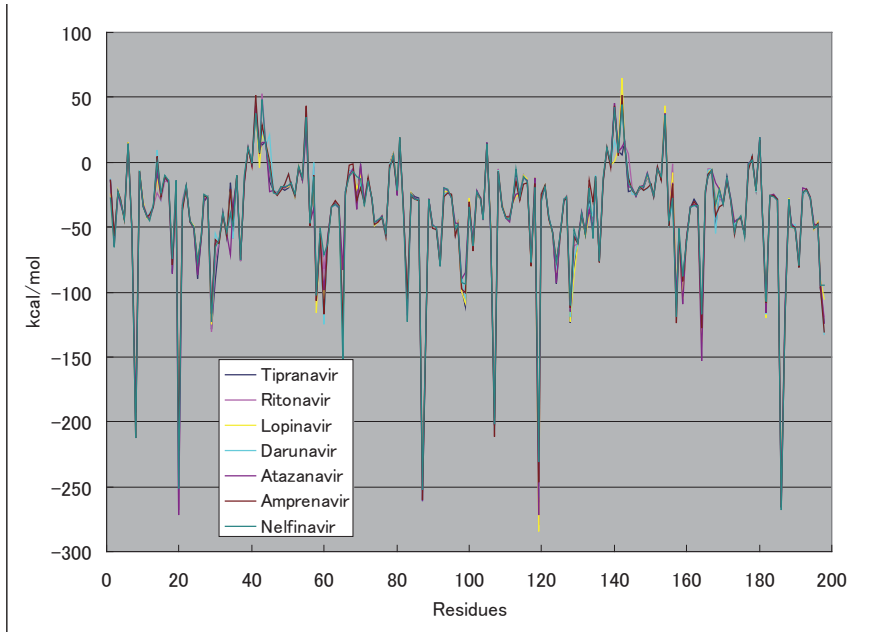
MD



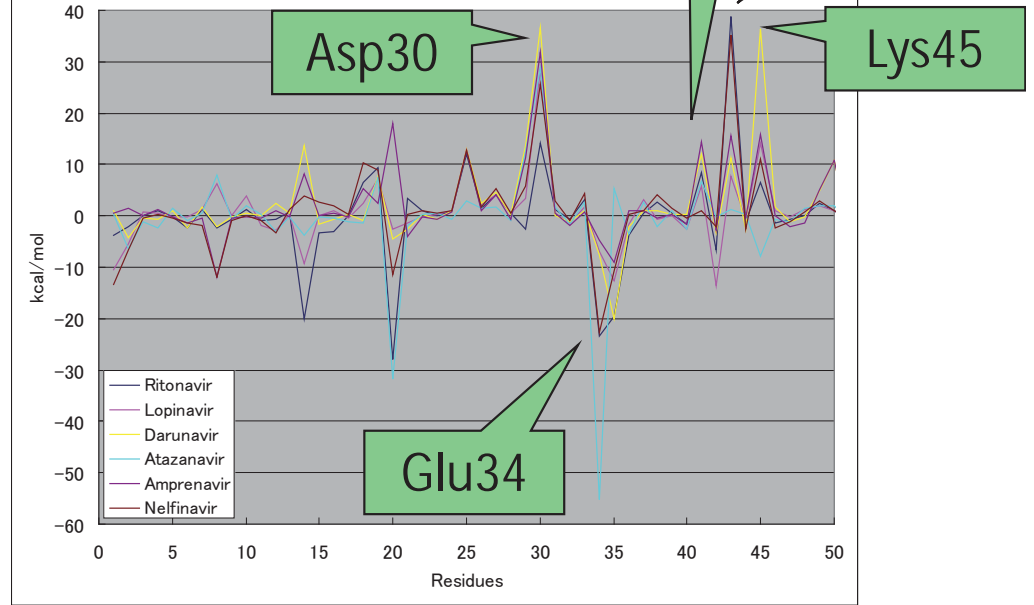
Interaction energies between inhibitor and each residue (IFIE)



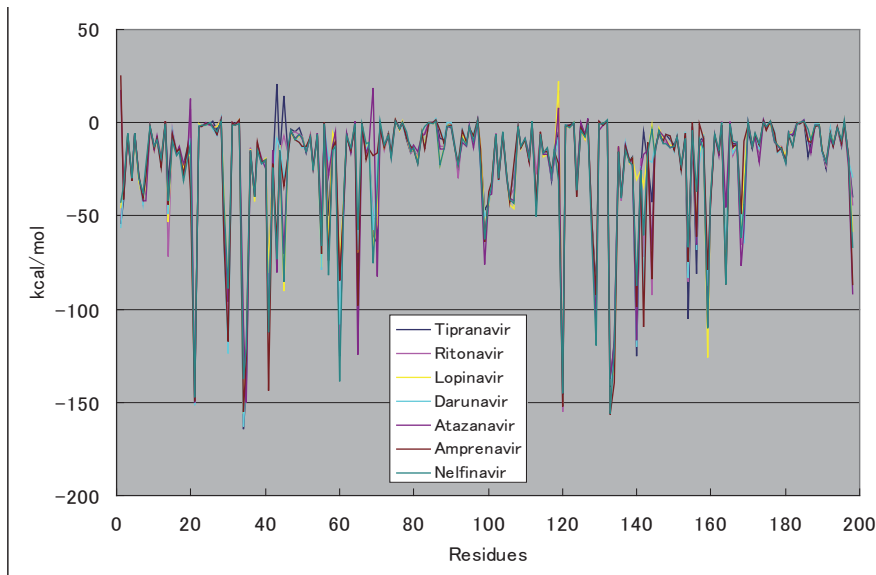
Protein internal energy of each residue



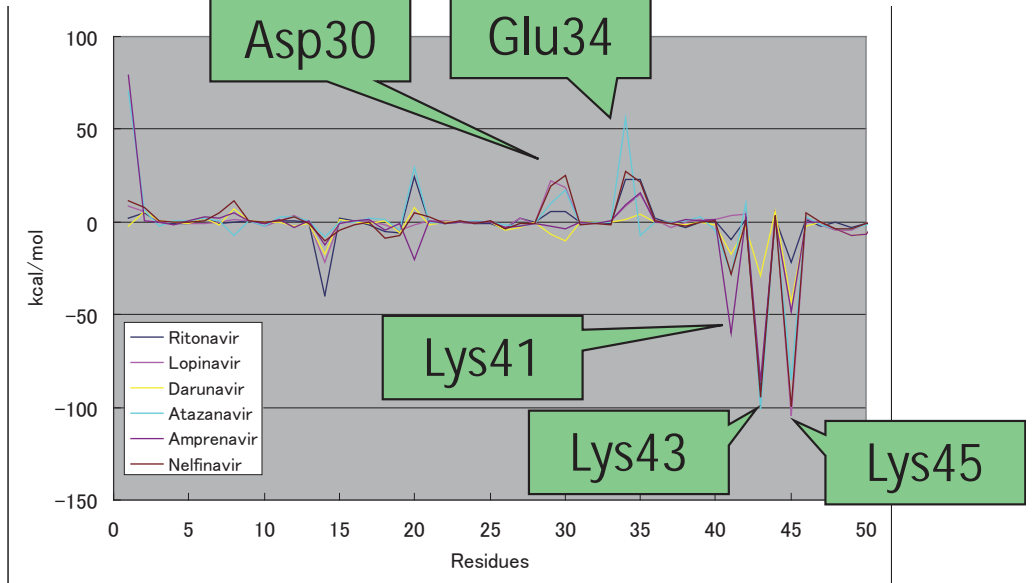
Difference form Tipranavir complex



Hydration energy of each residue



Difference form Tipranavir complex



まとめ

- タンパク質－阻害剤の結合エンタルピーを、フラグメント分子軌道(FMO)法プログラムABINIT-MPを用いて量子化学的に算出するための計算手法を考案
 - タンパク質－水系と複合体－水系、阻害剤－水系と純水系について、それぞれ、相互作用エネルギーマトリックスの差から得られるDIEMを定義
 - DIEMを用いると、量子化学的に計算する分子系を小さくすることが可能で、ES2上で最適化されたABINIT-MPにより分子軌道法で結合エンタルピーを算出
- HIV-1プロテアーゼ－阻害剤に適用し、結合エンタルピーの計算精度を検証
 - 結合エンタルピーの計算値は、計算誤差が大きく、実験値の再現、各阻害剤の差を示すことはできず
- 実験では測定不可能な結合エンタルピーの成分分解解析
 - 分解された各成分は阻害剤の特徴を示すことができ、結合メカニズムを考察
 - 薬剤Tipranavirは後期に開発されたものであるが、エンタルピーの寄与が小さい。成分分解によるとTipranavirの結合により、タンパク質と水の相互作用が不安定化したこと原因であると示唆

謝辞

本研究にあたり御指導いただいた
国立医薬品食品衛生研究所・中野達也博士、
NECソフト株式会社・山下勝美氏
に感謝いたします。