

発は望めない。このような社会的背景からも、新たな抗レトロウイルス薬開発の基盤となる学術研究を厚生研究として支援する必要がある。この点で本研究は実際的な取り組みであり非常に価値が高い。

新規抗 HIV 薬開発に求められる要点は、(1) 既存の薬剤と作用機序を異にする、(2) 既存の抗エイズ薬との併用により薬剤作用を増強する、(3) 既存の薬剤耐性ウイルスに対しても治療効果を持つ、(4) 副作用が少ない、(5) 薬剤の体内動態が優れていることなどである。HIV-1 の逆転写酵素が持つ RNase H 活性の阻害剤は未だ実用化されていないが、RNase H 活性はウイルス複製に必須であり、上記の条件にもよく合致する。したがって RNase H 阻害剤は重要な抗ウイルス剤開発の標的といえる。

我々はこれまでに有望なリード化合物として 5-nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester (NACME) 誘導体を報告した (Fuji et al., J Med Chem 2009; Yanagita et al., Bioorg Med Chem 2011)。本研究は RNase H 活性阻害剤 NACME 誘導体における薬剤活性を評価することにより最適化を推し進めることである。本年度は昨年に引き続き新たな NACME 誘導体を合成展開し、HIV-1 の逆転写酵素に内在する RNaseH 活性の阻害能力を測定すると同時に、各化合物の構造と活性の関連について検討を行った。

B. 研究方法

逆転写酵素の RNaseH 活性の阻害能力を測定する系として、Perniack らが樹立した手法を基にした (Parniak et al, Anal Biochem 2003)。5'末端を FAM 蛍光標識した合成 RNA と 3'末端を蛍光阻害物質 BHQ で標識した合成 DNA をアニールさせて DNA/RNA heteroduplex 構造を構築する。これを基質とし、酵素反応により分解して増加する蛍光シ

グナルを保温可能な蛍光 ELISA リーダー Multimode Detector (Beckman)にてリアルタイムでモニターした。

本年度は 59 種類の小分子化合物を評価した。薬剤の濃度は 50 μ M, 10 μ M, 2 μ M にて活性を評価し、リード化合物である 5-nitro-furan-2-carboxylic acid adamantan-1-carbamoylmethyl ester (NAC) と活性を比較した。NAC よりも高い活性を有する化合物についてはさらに 50, 10, 2, 0.4, 0.08 μ M にて活性を評価した。本実験系の詳細は Fuji et al., J Med Chem 2009、及び Yanagita et al., Bioorg Med Chem 2011 に記載されている。

(倫理面への配慮)

特記すべきことなし。

C. 研究結果

新規に化学合成した NACME 誘導体を 59 種類の小分子化合物について RNaseH 阻害剤としての評価を行った (表 1)。計 59 種類の化合物の中で RNaseH 阻害能を有していたのは 12 種類 (20.3%) であった。研究計画初年度と 2 年目に検討した化合物に含まれている活性を持つ化合物の割合 (47.1%、25.0%) は昨年度よりもやや低かった。薬剤の持つ酵素阻害活性を IC₅₀ で、高 (<4.9 μ M)、中 (5~19 μ M)、低 (20~50 μ M) に分類すると、高が 5/59 (8.5%)、中が 5/59 (8.5%)、低が 2/59 (3.4%)、活性が検出されなかったものが 47/59 (79.7%) であった (表 2)。昨年度と同様の阻害活性物質のヒット率を達成し、かつ高い酵素阻害活性を示した化合物の頻度が昨年度実績 (8.6%) とほぼ同じであったことから、今年度も構造活性相関の理解も深化にともなって阻害効果の高い化合物が高い割合で合成されていたと考えられる。

D. 考察

NACME 誘導体が RNaseH 阻害剤の基本骨格として機能することは我々が 2009 年に発表した論文 (Fuji et al, J Med Chem 2009) で初めて検証された。今回デザインされた NACME 誘導体におけるヒット率 20.3%は、2009 年の報告書で検討された NACME 誘導体のヒット率 25.0%よりもやや低かった。しかし、ランダムスクリーニングで得られる RNaseH 阻害剤のヒット率は 0.1~1.9%であり (Parniak et al, Aual Biochem 2003; Fuji et al, J Med Chem 2009)、今回試験した候補化合物スクリーニングはランダムスクリーニングより有意に高いヒット率であった。これは NACME を骨格にした創薬デザインが有効であることを改めて示している。平成 21-22 年度と比較して、本年度の研究で得られた NACME 誘導体の RNaseH 阻害のヒット率はほぼ同程度に高かったともいえる。ヒットした化合物の数自体は増えているうえ、活性のない化合物の構造は戦略的な NACME 誘導体合成の大きな助けとなるためである。今後も基本骨格を維持しながら側鎖の改変を行い、低い IC50 を示した化合物を中心にした周辺化合物を合成して、より強力な阻害剤が同定できると期待される。特に中程度の活性を有する化合物コード#634⁷が得られたことは意義深い。これは NACME 構造とはことなる化合物であり、構造活性相関から得られた知見が十分に信頼性の高いレベルに達していることを強く示唆する。

RNaseH 阻害剤の開発を行っている研究グループは世界的に数が少なく、我々の研究の独自性は高く評価されている。化合物の構造と機能を比較する事によって、NACME 構造の nitrofuran とそれに近接するケトン構造は RNaseH 活性阻害に必須である事が改めて確認された。これらを異なる化学構造に置換しても活性を維持できれば、類似体の合成展開を容易にする事ができるためにさら

に多くの化合物を評価する事ができると思われる。特に Nitrofuran 側へのさらなる側鎖修飾と加水分解に対する耐性付与が今後の合成展開の課題と思われる。

E. 結論

HIV-1 の逆転写酵素に内在する RNaseH 活性を阻害する小分子化合物を同定するためのスクリーニングを行い、新たに 12 種類の NACME 誘導体を RNaseH 阻害剤として同定することに成功した。これらをもとにすれば、RNaseH 活性阻害剤をより改良することが可能になると期待できる。

F. 健康危機情報

総括研究報告書を参照。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takizawa M, Miyauchi K, Urano E, Kusagawa S, Kitamura K, Naganawa S, Murakami T, Honda M, Yamamoto N, Komano J*. Regulation of the susceptibility of HIV-1 to a neutralizing antibody KD-247 by non-epitope mutations distant from its epitope. AIDS. In press.
2. Watanabe T, Urano E, Miyauchi K, Ichikawa R, Hamatake M, Misawa N, Sato K, Ebina H, Koyanagi Y, Komano J*. The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDIB/D4GDI limits HIV-1 replication. AIDS Res Hum Retroviruses. In press.
3. Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakagawa-Nakagawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S*. CD4-positive T cells have a critical role in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. PLOS Pathog. In press.

4. Urano E, Kuramochi N, Tomoda H, Takebe Y, Miyauchi K, Komano J*, Morikawa Y*. A Novel Postentry Inhibitor of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication Screened by Yeast Membrane-associated Two-hybrid System. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Sep;55(9):4251-60.
 5. Aoki T, Miyauchi K, Urano E, Ichikawa R, Komano J*. Protein transduction by pseudotyped lentivirus-like nanoparticles. *Gene Therapy.* 2011 Sep;18(9):936-41.
 6. Miyauchi K, Urano E, Yoshiyama H, Komano J*. Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latencies as a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. *Cancer Sci.* 2011 Jun;102(6):1236-41.
 7. Yanagita H, Urano E, Matsumoto K, Ichikawa R, Takaesu Y, Ogata M, Murakami T, Wu H, Chiba J, Komano J, Hoshino T. Structural and biochemical study on the inhibitory activity of derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid for RNase H function of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorg Med Chem.* 2011; 19, 816-25.
 8. 駒野 淳. 止まらないエイズウイルス流行の拡大. 中央論評. In press.
2. 学会発表
(国際学会)
1. Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Reiko Ichikawa, Mari Takizawa, Jun Komano. HIV-1 protease-activable CASP3 as a therapeutic gene against HIV-1 infection. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, 札幌
 2. Tadashi Watanabe, Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Reiko Ichikawa, Makiko Hamatake, Kei Sato, Hirotaka Ebina, Yoshio koranagi, Jun Komano. The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDI/D4GDI limits HIV-1 replication. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, 札幌
 3. Ken-ichi Imadome, misako Yajima, Ayako Arai, Atsuko Nakazawa, Norio Shimizu, Naoki Yamamoto, Tomohiro Morio, Shouichi Ohga, Mamoru Ito, Jun Komano, Shigeyoshi Fujiwara. Novel mouse xenograft models of CAEBV and EBV-HLH reveals a critical role of CD4+ T cells in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, 札幌
 4. Hiroshi Yanagita, Tyuji Hoshino, Masakazu Ogata, Emiko Urano, Reiko Ichikawa, Tsutomu Murakami, Jun Komano. Development of the compounds inhibiting RNase H enzymatic activity of HIV-1 reverse transcriptase. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, 札幌
 5. Kosuke Miyauchi, Emiko Urano, Jun Komano. Induction of innate anti-viral response by XMRV infection. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, 札幌
 6. Jun Komano. Inhibition of leukemic cell growth and HIV-1 propagation by HIV-1 protease-activable CASP3. CSHL meeting on Retroviruses, May 23-28, 2011, CSHL meeting on Retroviruses, NY
- (国内学会)
1. Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Mari Takizawa,

Reiko Ichikawa, Jun Komano. Therapeutic potential of CASP3 engineered to be activated by HIV-1 protease. 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日、横浜

2. 齊藤達哉、駒野淳、斎藤愛記、山岡昇司、山本直樹。好中球は Neutrophil extracellular traps により Human immunodeficiency virus-1 を排除する。第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日、横浜

3. Jun Komano, Kosuke Miyauchi, Emiko Urano, Yoshiaki Okada, Cheng Kui, Yin Hang. Activation of TRL3-mediated innate immune response by retroviral infection in human cells. 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日、横浜

4. 齊藤達哉、駒野淳、斎藤愛記、山岡昇司、山本直樹、審良静男。Zinc finger antiviral protein はガンマレトロウイルスに対する感染防御応答を制御する。第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日、横浜

5. 柳田浩志、横田瑞穂、尾湯将一、浦野恵美子、市川玲子、村上努、駒野淳、星野忠次。HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤の開発。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、2011年12月2日、東京

6. 浦野恵美子、宮内浩典、滝澤万里、市川玲子、駒野淳。HIV プロテアーゼ活性型 CAPS3 による HIV 複製抑制。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、2011年11月30日、東京

7. 尾崎太郎、浦野恵美子、鳴海哲夫、野村涉、Maddali Kasthuraiah、Pommier Yves、山本直樹、駒野淳、玉村啓和。Vpr 由来インテグラーゼ阻害剤の構造活性相関。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、2011年11月30日、東京

8. 招待講演 Jun Komano. Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latencies as

a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. シンポジウム「ガン・免疫・代謝研究を加速する Multiplex Assay とその応用」、2011年6月7日、東京

9. Chie Hashimoto, Wataru Nomura, Aki Ohya, Kosuke Miyauchi, tetsuo Narumi, Jun Komano, Naoki Yamamoto, Hirokazu Tamamura. Synthesis of Trimeric Peptide Based on Gp41-C34 and its Anti-HIV effects(HIV 外被タンパク質 gp41-C34 3量体の合成とその抗 HIV 作用). 日本ケミカルバイオロジー学会 第6回年会、2011年5月23-25日、東京

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 特許取得
特記すべきことなし
2. 実用新案登録
特記すべきことなし
3. その他
特記すべきことなし

表1. RNaseH 阻害剤スクリーニングにおける阻害剤ヒット率

Parniak et al, Anal Biochem 2003	0.10%
Fuji et al, J Med Chem 2009	1.90%
Fuji et al, J Med Chem 2009 NACME 誘導体	25.00%
H21 年度合成 NACME 誘導体	47.10%
H22 年度合成 NACME 誘導体	25.00%
H23 年度合成 NACME 誘導体	20.30%

表2.本研究で得られた NACME 誘導体の力価

H21 年度合成 NACME 誘導体	数	%
総計	70	
阻害効果高 (IC50 < 4.9 μ M)	5	7.1%
阻害効果中 (IC50 5–19.9 μ M)	25	35.7%
阻害効果高 (IC50 20–50 μ M)	3	4.3%
H22 年度合成 NACME 誘導体		
総計	152	
阻害効果高 (IC50 < 4.9 μ M)	13	8.6%
阻害効果中 (IC50 5–19.9 μ M)	14	9.2%
阻害効果高 (IC50 20–50 μ M)	11	7.2%
H23 年度合成 NACME 誘導体		
総計	59	
阻害効果高 (IC50 < 4.9 μ M)	5	8.5%
阻害効果中 (IC50 5–19.9 μ M)	5	8.5%
阻害効果高 (IC50 20–50 μ M)	2	3.4%

HIV-1 RNase H 変異パターンに関する分子疫学的解析

研究分担者 岩谷靖雅 （（独）国立病院機構 名古屋医療センター 臨床研究センター）

研究要旨 HIV 感染症における多剤併用療法の進歩により治療の長期化が進んでいる。終生服薬の継続が求められる中、薬剤耐性ウイルスの出現や治療薬による副作用の問題を克服しなければならない。そのためには、少なくとも基礎研究レベルでは、既存の薬に満足することなく不断な薬剤開発は必要不可欠である。新規薬剤開発を行う上で、作用機序が既存のメカニズムと異なる新規抗 HIV 薬の開発を強力に推進することは効果的で、かつ重要であると考えられる。その中でも RNaseH は非常に魅力的な新規薬剤ターゲットである。HIV-1 RNaseH はウイルス複製に必須な酵素であり、抗 HIV 阻害剤開発において最も効果的で現実的な標的であると考えられる。ただし、RNaseH 阻害剤開発の上で、薬剤耐性ウイルスの出現と既存薬に対する交差耐性あるいは干渉作用を十分考慮しなければならない。

そこで、本分担では RNaseH 阻害剤の開発に必要な HIV-1 RNaseH の分子疫学的情報を収集することを目的とし研究を行った。本年度は、インテグラーゼ阻害剤 (Raltegravir、以下 RAL) に対する耐性を獲得した臨床検体において、RNaseH 領域の変異変化が認められるか検証した。その結果、RAL 耐性検体では RNaseH 領域の二次変異は見つからなかった。さらに、RNaseH 領域に認められた多型的変異のいずれも、構造上、核酸認識面には位置せず外側（核酸認識溝の反対側）表面に集積していたことが明らかになった。以上のことから、RNaseH の酵素活性中心および核酸認識部位は非常に保存され、安定した薬剤ターゲット領域であることが考えられた。

A. 研究目的と背景

HIV 感染症における多剤併用療法の進歩により治療の長期化が増々進んでいる。終生服薬の継続が求められる中、既存の薬に満足することなく不断な薬剤開発は必要不可欠である。さらに、作用点が異なる新規薬剤は併用することにより既存薬（例えば逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤）の投与量を抑えることができるため、副作用の軽減や薬剤耐性ウイルス出現のチャンスを低下させることが期待できる。また、現在使用されている逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤既存薬は改良が重ねられているため、同じ作用点を標的にした新規薬剤の実用化には、既存薬に対する耐性ウイルスにも効果を示すなどのより改善された阻害剤として要求される。以上の背景から、作用機序が既存のメカニズムと異なる新規抗 HIV 薬の開発を強力に推進することは効果的で、かつ重要であると考えられる。その中でも、RNaseH は HIV の複製に必須な酵素であり、抗 HIV 阻害剤開発において最も効果的で現実的な標的であると考えられる。ただし、RNaseH 阻害剤開発の上で、薬剤耐性ウイルスの出現と既存薬に対する耐性ウイルスの交差耐性あるいは干渉作用を十分考慮しなければならない。逆転

写酵素（Polymerase 領域と RNaseH 領域からなる）の Polymerase 領域内に生じる核酸系逆転写酵素阻害剤（Nucleoside analogue RT Inhibitor : NRTI）に対する薬剤耐性変異が、RNaseH 領域の変異によって、NRTI 耐性度が増強されるケースも報告されている。例えば、RNaseH Q509L 変異が、NRTI に対する TAMs 薬剤耐性の度合いを増強することが知られている。さらに、NRTI の治療によって Polymerase 領域ではなく、RNaseH 領域に変異が誘導されるケースも報告されている。以上のことから、RNaseH の遺伝子多型を考慮し、単に多くの遺伝子タイプに対する RNaseH に阻害効果を示す候補化合物の選択を押し進めるだけでなく、NRTI による治療歴がある患者におけるウイルス RNaseH 遺伝子領域の多型を考慮した薬剤開発をしなければならない。さらに、長期的な視野で、開発されるべき RNaseH 阻害剤に対する薬剤ウイルスが出現した場合、RNaseH 領域に生じる変異が既存薬（特に、NRTI）の治療に対してどのような影響を与えるか予測する基盤情報（HIV 遺伝子情報など）を蓄積し、NRTI 治療・未治療間で、RNaseH 領域と Polymerase

領域の変異の相関性を解析することは必要不可欠である。

さらに、臨床現場で用いられているインテグラーゼ阻害剤 RAL の作用機序は、酵素活性中心に配位した Mg^{2+} をキレートすることにより、インテグラーゼの酵素活性を不活化しウイルスの複製を阻害する。構造学的に、RNaseH も酵素活性中心に Mg^{2+} を配位し、酵素活性中心がインテグラーゼと類似した構造をとることが知られている。実際、インテグラーゼと RNaseH 酵素活性の両方に阻害活性を有する低分子化合物があることが報告されている(1, 2)。 Mg^{2+} を並列して配位する構造学的類似性から、RALによるインテグラーゼ領域に生じる薬剤耐性変異耐性(一次的な変異)だけでなく、RNaseH 領域に二次的な変異が誘導される可能性が予測される。そこで、本年度は RAL 耐性を獲得した症例を基に、誘発される可能性がある二次的な RNaseH 領域内の変異変化を検証した。

B. 研究方法

前年報告した手法により、逆転写酵素領域を増幅した(図1)。1次増幅では逆転写酵素 Polymerase (p51) 領域と RNaseH (p15) 領域を取り囲む RT 2388 nt から 4380 nt を増幅し、2次(Nested)では同じく p51 から p15 全領域 (RT 2485 nt から 4285 nt)を増幅するプライマーセットを利用した。シーケンシングには、nested PCR に用いたプライマーセット DRRT7L と DRGPR3L と、p51 下流からは DRRT4L、p15 (RNaseH) 上流からは DRRT30 を用いて、遺伝子配列を決定した。

C. 研究結果

RAL 耐性を獲得した感染者 ($n = 4$) の Pol 領域の遺伝子配列を解析した。4症例は G140S+Q148H (2症例)あるいは N155H、Y143C/A のメジャー変異を獲得していた。4症例の内、3症例について RAL 投与前の Pol 領域の遺伝子配列の決定に成功した。HIV-1 HXBII をリファレンスとして、RNaseH 領域の遺伝子配列を比較した結果(図2)、L491S は RAL 投与前後で変異変化のあったものは K451R と L452T、Q480E (赤)であった。しかし、これらの変異は、2症例のみで見られ、3症例に共通するものではなかった。一方、R461K と L491S (緑)は RAL 以外の HAART

治療後のサンプルから検出された。昨年度の研究結果から、両変異は治療(RALなし)群に優位に認められる変異であることから、RAL による二次変異である可能性は低いと考えられる。その他の変異(青)は、RAL 投与前(あるいは治療開始前)にも共通して存在した変異であるため、遺伝的多型だと考えられる。図には示していないが、N447S が RAL 投与前に変異として検出(1症例)された。Los Alamos の HIV-1 サブタイプ B の配列(1990年後半)にも N447S が存在することから、遺伝的多型であると考えられる。以上のことから、RAL 耐性獲得と RNaseH 領域への二次変異との相関するものは認められず、RAL 投与前による RNaseH の二次的な変異誘導は考えられにくいように思われる。今後、さらにこれらの症例を追跡するとともに、症例数を増やす必要がある。

D. 考察

昨年度も報告したことであるが、治療患者と未治療患者との間で、RNaseH 領域の変異多型は、優位に NRTI 治療歴患者により多くの多型が認められた。しかし、限局されたアミノ酸に多型がある傾向があるように考えられる。一方で、RAL 耐性ウイルスでは、RAL 耐性獲得前後で RNaseH 領域には優位な二次変異の変化は認められず、RAL のインテグラーゼに対する特異性の高さが間接的に示されたのではないかと考えられる。さらに、RAL は RNaseH に変異を誘導できるほどの活性部位へ干渉作用がないことが考えられた。

今回検出した変異多型が RNaseH 領域内のどこに分布しているのか構造学的に考察してみた。HIV-1 HXB2 の逆転写酵素の結晶構造(PDB#1HYS)(4)を基に、本研究で見出された多型箇所をマップした結果を図4に示す。核酸(RNA/DNA ハイブリッド)が結合する領域には変異多型が全く認められず、むしろ対局的な領域に集約していることが明らかになった。さらに、治療群と未治療群の間で局在パターンに違いが認められなかった。多型変異の中で N447S が最も活性中心部に近く、場合によっては阻害薬の合成展開をする上で考慮すべき部位であるかもしれない。また、変異多型の局在箇所また、逆転写酵素 TAM 耐性に影響を与えると報告されている R461K は polymerase 領域に近接していることが分かった。昨年も報告したが、これは

治療群に優位に検出された。RNaseH 領域内の R461K 変異が、Polymerase 活性あるいは NRTI に対する耐性に対して影響を与えるのか明らかになっておらず、今後詳細な解析をする必要がある。

以上のことから、治療群(RAL あり)に優位に認められる変異多型箇所は RNaseH 酵素活性中心や核酸結合面とは正反対領域にあるため、RNase H 酵素活性中心や核酸結合面に結合する低分子化合物を探索することが、抗 HIV 薬開発する上で効果的であることが考えられた。

引用文献

1. Budihis SR, *et al.* (2005) *Nucleic Acids Res* 33:1249-1256.
2. Dash C, *et al.* (2008) *Nucleic Acids Res* 36:6363-6371.
3. Ding J, *et al.* (1998) *J Mol Biol* 284:1095-1111.
4. Sarafianos SG, *et al.* (2001) *EMBO J* 20:1449-1461.

F. 知的所有権の取得状況

該当なし

G. 研究発表

論文発表

- (1) Li, J., Hakata, Y., Takeda, E., Liu, Q., Iwatani, Y., Kozak, CA., and Miyazawa, M. Two genetic determinants acquired late in *Mus* evolution regulate the inclusion of exon5, which alters mouse APOBEC3 translation efficiency. *PLoS Pathogens* 8:e1002478.
- (2) Kitamura, S., Ode, H., and Iwatani, Y. Structural features of antiviral APOBEC3 proteins are linked to their functional activities. *Frontiers in Microbiology* 2:258, 2011.
- (3) Shibata, J., Sugiura, W., Ode, H., Iwatani, Y., Sato, H., Tsang, H., Matsuda, M., Hasegawa, N., Ren, F., and Tanaka, H. Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case. *Antiviral Research* 90:33-41, 2011.
- (4) Fujisaki, S., Yokomaku, Y., Shiino, T., Koibuchi, T., Hattori, J., Ibe, S., Iwatani, Y., Iwamoto, A., Shirasaka, T., Hamaguchi, M.,

and Sugiura, W. Outbreak of infections by hepatitis B virus genotype A and transmission of genetic drug resistance in patients coinfecting with HIV-1 in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 49:1017-1024, 2011.

(5) 徳永 研三、足立 昭夫、高折 晃史、中山 英美、岩部 幸枝、岩谷 靖雅. HIV-1 感染阻害因子. *日本エイズ学会誌* 13:56-62, 2011

(6) 岩谷 靖雅. 宿主防御因子 APOBEC3 ファミリーと抗レトロウイルス機序. *ウイルス* 61:61-72, 2011

2. 学会発表等

国内発表

(1) 岩谷靖雅、北村紳悟、前島雅美、伊部史朗、横幕能行、杉浦互：HIV-1 NC は逆転写開始反応を促進する。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月

(2) 北村紳悟、中島雅晶、大出裕高、前島雅美、伊部史朗、横幕能行、渡邊信久、鈴木淳巨、杉浦互、岩谷靖雅：HIV-1 Vif 感受性に関する APOBEC3C/F のアミノ酸残基の同定。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月

(3) 伊部史朗、近藤真規子、今村淳治、岩谷靖雅、横幕能行、杉浦互：ウェスタンブロット法により HIV-1/HIV-2 重感染が疑われた症例の精査解析。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月

(4) 今村淳治、横幕能行、服部純子、岩谷靖雅、杉浦互：薬剤耐性変異を認めた新規未治療 HIV/AIDS 症例の治療と予後の検討。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月

(5) 横幕能行、鬼頭優美子、今村淳治、大出裕高、服部純子、伊部史朗、岩谷靖雅、杉浦互：HIV プロテアーゼ表現型検査法である VLP ELISA 法の実臨床への応用。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月

(6) 北村紳悟、中島雅晶、大出裕高、前島雅美、伊部史朗、横幕能行、渡邊信久、鈴木淳巨、杉浦互、岩谷靖雅：Structure-Guided Mutagenesis を用いた APOBEC3C/F の HIV-1 Vif 感受性に関するアミノ酸残基の同定。第 34 回日本エイズ学会・年会、横浜、2011 年 12 月

(7) 松岡 和弘、正岡 崇志、田邊 史子、森下了、澤崎 達也、岩谷 靖雅⁴、杉浦 互：

Development of in vitro enzymatic method for assessing susceptibility to HIV-1 reverse transcriptase inhibitors using a wheat-germ cell-free translation system. 第 34 回日本エイズ学会・年会、横浜、2011 年 12 月

(8) Yasumasa Iwatani, Shingo Kitamura, Masaaki Nakashima, Hirotaka Ode, Akatsuki Saito, Shiro Ibe, Yoshiyuki Yokomaku, Wataru Sugiura: HIV-1 NC Facilitates Formation of Efficient Initiation Complex for Reverse Transcription, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Sep. 2011

(9) Shingo Kitamura, Masaaki Nakashima, Hirohide Ode, Akatsuki Saito, Hiroaki Yoshii, Yoshiyuki Yokomaku, Wataru Sugiura, Yasumasa Iwatani: Identification of Critical Residues in APOBEC3C/F for HIV-1 Vif-mediated degradation, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Sep. 2011

(10) Junko Hattori, Urara Shigemi, Masumi Hosaka, Reiko Okazaki, Yasumasa Iwatani, Yoshiyuki Yokomaku, Wataru Sugiura: Characteristics of drug-resistant HIV-1 transmission, Analysis of drug resistance in recently and not-recently infected treatment naïve patients in Japan, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Sep. 2011

(11) Shiro Ibe, Takashi Masaoka, Yoshiyuki Yokomaku, Yasumasa Iwatani, Wataru Sugiura: Identification of novel drug-resistance mutations selected during abacavir+Lamivudine+Lopinavir/R therapy in HIV-2 CRF01_AB infection, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Sep. 2011

図1 使用したプライマーセット

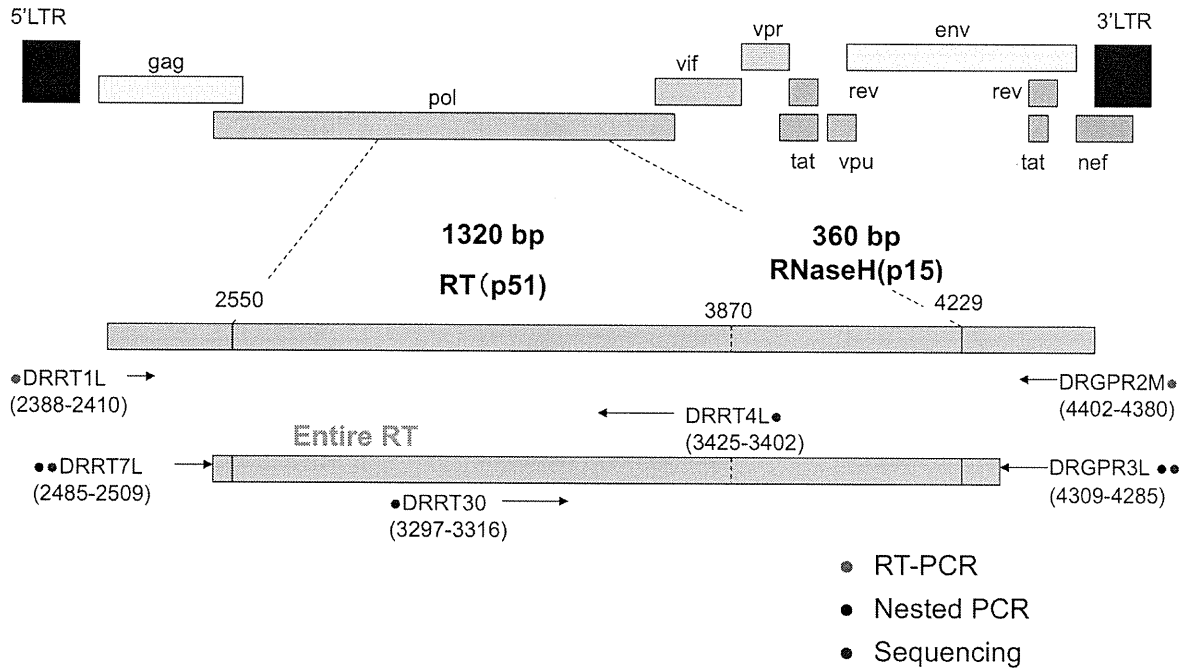


図2 RAL 耐性検体(4症例)における RNaseH 変異

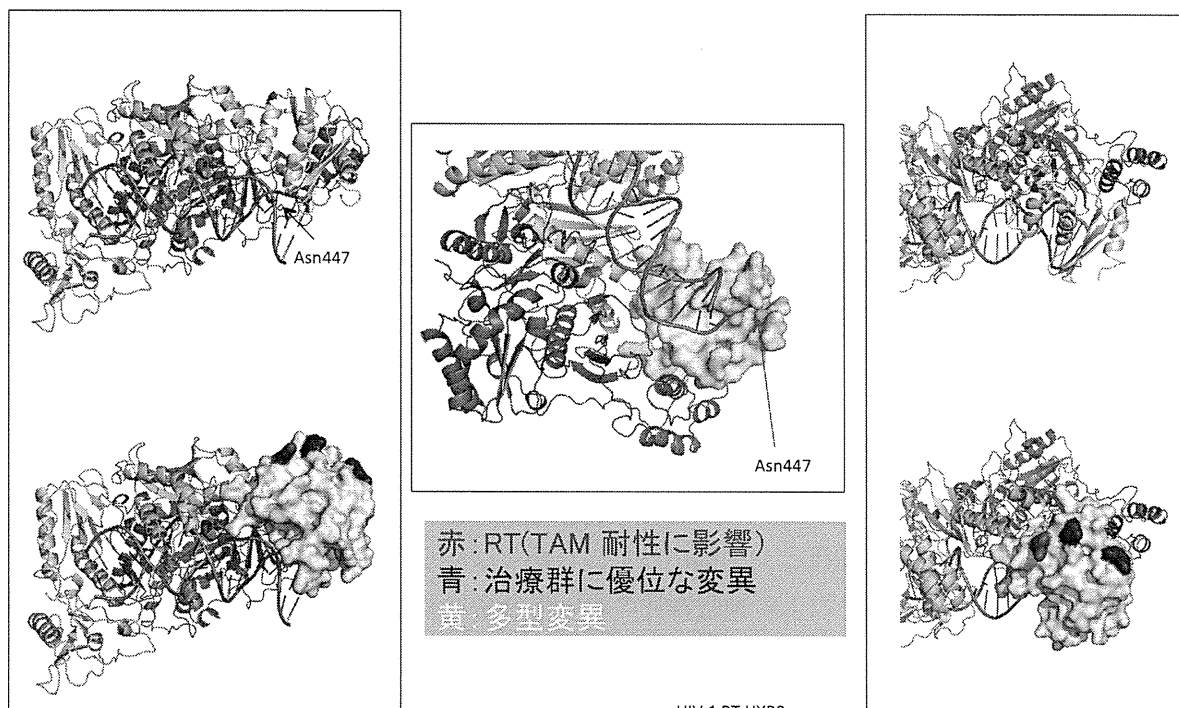
RAL 耐性変異	RNaseH 領域変異
Q148H	K451R
N155H	K451R
Q148H	L452T
N155H	L452T
G140S	N460D
Q148H	N460D
Q148H	R461K
N155H	R461K
Y143C	V467I
Y143A	V467I
N155H	V467I
Y143C	T468S
Y143A	T468S
Q148H	T468S
N155H	T468S

RAL 耐性変異	RNaseH 領域変異
G140S	T468P
Q148H	T468P
Q148H	Q480E
N155H	Q480E
Y143A	Y483H
Y143C	Y483H
Q148H	Y483H
N155H	Y483H
Y143A	L491S
Y143C	L491S
Q148H	L491S
G140S	A502S
Q148H	A502S
G140S	Q512K
Q148H	Q512K

RAL 耐性変異	RNaseH 領域変異
N155H	Q512K
Y143A	Q512T
Y143C	Q512T
Y143A	L517V
Y143C	L517V
G140S	N519S
Q148H	N519S
N155H	N519S
G140S	I526V
Q148H	I526V
N155H	I526V
G140S	A554N
Q148H	A554N
Y143A	K552R
Y143C	K552R

RAL 耐性にのみ認められた変異
 RAL 投与前にも認められた変異
 治療(RALなし)群に有意に認められる変異

図3 RNaseH 変異は核酸結合領域とは異なる外側に集積している



HIV-1 RT HXB2
(Modified from Structure Data by E. Arnold *et al.*)

研究要旨: 本研究の最終目的は、長期抗 HIV 療法に適う新規エイズ治療薬 Reverse Transcriptase associated RNase H 活性阻害剤の実用化開発である。今年度も主任研究者（星野）が合成し、分担研究者駒野が RNase H 阻害活性を測定した 33 化合物について 293T 細胞を使用してそれらの細胞毒性を MTT 法にて測定した。その結果、furan 環のニトロ基の近傍に Br を導入した化合物の CC_{50} が 3 μ M と細胞毒性が強かった。また、ester 結合をベンジルニトロ基に変換した数種の誘導体の CC_{50} は 10 μ M 前後とやや強かった。しかしながら、その他ほとんどの化合物はその CC_{50} が数十 μ M から 100 μ M 以上の細胞毒性の弱い化合物であった。

A. 研究目的

本研究の最終目的は、長期抗 HIV 療法に適う新規エイズ治療薬 Reverse Transcriptase associated RNase H 活性阻害剤の実用化開発である。分担研究者の今年度の研究目的は主任研究者（星野）が合成した種々の誘導体化合物について 293T 細胞を使用してそれらに対する細胞毒性測定することである。

B. 研究方法

293T 細胞に対する細胞毒性の測定 (MTT assay)

1. 100 μ l の RPMI1640 +10%FBS (2%DMSO 含有) を 96 ウェルマイクロプレートに分注した(プレートの外周は PBS を 100 μ l 分注し、エッジ効果を防止した)。
2. トップのウェルに 200 μ M 化合物溶液 (RPMI1640 +10%FBS (2%DMSO 含有) を 200 μ l 分注した(トップのウェルの最終濃度は 100 μ M)。
3. 化合物溶液の 2 倍段階希釈系列を作製した (100, 50, 25, 12.5 μ M)。その右隣の列はサン

プル無添加のコントロールとした。

4. 293T 細胞(2×10^5 /ml, 100 μ l) を各ウェルに分注した (培養液の最終 DMSO 濃度は 1%になる)。

5. CO₂ インキュベーター(37C, 5%CO₂)にて培養を開始した。

6. (培養 1-3 日目) 添加した化合物の細胞毒性を観察した。

7. (培養 3 日目)

1) 培養上清 (100 μ l) を除去した。

2) dye solution (MTT 試薬) を 15 μ l 各ウェルに添加し、CO₂ インキュベーター内で 1 時間培養した。

3) solubilization solution/stop mix を 100 μ l 各ウェルに添加し、よくピペティングした (色素を十分溶解するさせるため、4C で一晩静置した)。

4) プレートを室温に戻してから OD570/690 を分光光度計 (BIO-TEK ELx808) にて測定した。

5) サンプルの細胞毒性を算出した (細胞毒性

が50%を超えるものは、 CC_{50} も算出した)。

(倫理面での配慮)

該当事項なし

C. 研究結果

(293T細胞に対する細胞毒性)

1) Nitro-furan 部分の誘導体:

furan 環のニトロ基の近傍に Br を導入した化合物の CC_{50} が $3\ \mu\text{M}$ と細胞毒性が強かった。それ以外の誘導体では CC_{50} は数十 μM から $100\ \mu\text{M}$ 以上と細胞毒性は弱かった (Table 1)。

2) Phenyl-ester コアを有する誘導体:

多くの誘導体では CC_{50} は数十 μM から $100\ \mu\text{M}$ 以上と細胞毒性は弱かった (Table 2)。

3) Benzyl-based 置換基と結合した ester コアを有する誘導体:

多くの誘導体では CC_{50} は数十 μM から $100\ \mu\text{M}$ 以上と細胞毒性は弱かった (Table 3)。

4) ester 結合を他の連結様式に変換した誘導体:

ester 結合をベンジルニトロ基に変換した数種の誘導体の CC_{50} は $10\ \mu\text{M}$ 前後とやや強かった (Table 4)。

D. 考察

今回の細胞毒性の結果と RNase H 阻害活性を総合すると、RNase H 阻害活性が高いが細胞毒性が低い誘導体、RNase H 阻害活性が高いが細胞毒性も比較的高い誘導体、RNase H 阻害活性が高いが細胞毒性も比較的高い誘導体が低いが細胞毒性が高い誘導体の3通りのパターンに分かれた。今回得られた細胞毒性の結果も前年度までの結果と総合して、今後のより毒性の低い誘導体合成のための有益な情報となる。

E. 結論

RNase H 阻害剤候補化合物 33 サンプル(4種類のグループに分けられる誘導体)の細胞毒性を 293T 細胞を用いて評価した結果、ほとんどの化合物で顕著な細胞毒性は認めらなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Yanagita, H., E. Urano, K. Mastumoto, R. Ichikawa, Y. Takaesu, M. Ogata, T. Murakami, H. Wu, J. Chiba, J. Komano, and T. Hosino. Structural and biochemical study on the inhibitory activity of derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid for RNase H function of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorg. Med. Chem.*, 19: 816-825, 2011.

2) Tanaka, T., T. Narumi, T. Ozaki, A. Sohma, N. Ohashi, C. Hashimoto, K. Itotani, W. Nomura, T. Murakami, N. Yamamoto, and H. Tamamura. Azamacrocyclic-metal complexes as CXCR4 antagonists. *Chem. Med. Chem.*, 6: 834-839, 2011.

3) Narumi, T., N., M. Komoriya, C. Hashimoto, H. Wu, W. Nomura, S. Suzuki, T. Tanaka, J. Chiba, N. Yamamoto, T. Murakami, and H. Tamamura. Conjugation of cell-penetrating peptides leads to identification of anti-HIV peptides from matrix proteins. *Bioorg. Med. Chem.*, 20: 1468-1474, 2011.

2. 学会発表

1) Murakami T., H. Wu, M. Kawamata, J. Chiba, and T. Takemura. Role of Rab11a in HIV-1 assembly. The 2011 Meeting on Retroviruses. Cold Spring Harbor, USA, 2011.

2) Takemura T., M. Kawamata, and T. Murakami. Selection and characterization of the mutant HIV-1 that can replicate without cypa in the cypa-dependent jurkat cell. The 2011 Meeting on Retroviruses. Cold Spring Harbor, USA, 2011.

3) Murakami T., H. Wu, M. Kawamata, J. Chiba, and T. Takemura. Role of Rab11a in Virus Assembly of HIV-1. XV International Congress of Virology,

4) Takemura T., M. Kawamata, and T. Sapporo, Japan, 2011.

Murakami. Selection and Sequencing Analysis of the Mutant HIV-1 that can Replicate without Cypa in Jurkat Cell. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, 2011.

5) 竹村太地郎、川又美弥子、村上 努。サイクロフィリン A 非依存的に増殖可能な新規 HIV-1 変異株の解析 第 25 回日本エイズ学会 学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30-12 月 2 日

6) 橋本智恵、鳴海哲夫、野村 歩、村上 努、山本直樹、玉村啓和。HIV-1 第二受容体 CXCR4 の細胞外ドメインを基にしたエイズワクチンの開発研究 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30-12 月 2 日

7) 呉 鴻規、竹村太地郎、川又美弥子、千葉丈、村上 努。HIV-1 粒子形成過程における Rab11a 蛋白質の機能解析 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30-12 月 2 日

8) 柳田浩志、横田瑞穂、尾瀨将一、浦野恵美子、市川玲子、村上 努、駒野 淳、星野忠次。HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤の開発 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、2011 年 11 月 30-12 月 2 日

9) Murakami, T., H. Wu, M. Kawamata, K. Hayashi, J. Chiba, and T. Takemura. Functional analysis of Rab11a in HIV-1 Replication 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜、2011 年 12 月 13 日-16 日

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

該当事項なし。

Table 1: RNase H inhibitory activity and cytotoxicity of the derivatives modulated at nitro-furan moiety.⁴¹

Compound	Structure	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
1		8.4	74
2		>50	49
3		30.3	50
4		>50	86
5		6.6	3
6		>50	>100
7		>50	>100
8		25.7	76

Table 3: RNase H inhibitory activity and cytotoxicity of the derivatives bearing ester core bound with benzyl-based substitute.⁴²

Compound	O-R	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
17		5.4	38
18		5.0	>100
19		5.8	75
20		4.5	>100
21		5.1	57
22		7.9	39
23		14.2	42
24		18.6	36
25		12.5	36
26		8.5	51
27		17.4	64

Table 2: RNase H inhibitory activity and cytotoxicity of the derivatives bearing phenyl ester core.⁴³

Compound	O-R	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
9		7.2	>100
10		8.2	24
11		9.1	>100
12		8.7	49
13		3.6	>100
14		3.1	>100
15		1.4	>100
16		3.8	>100

Table 4: RNase H inhibitory activity and cytotoxicity of the derivatives converted the ester bond into another linkage.⁴⁴

Compound	CH ₂ -R or NH-R	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
28		>50	11
29		>50	17
30		>50	9
31		>50	29
32		>50	27
33		>50	32

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

長期抗HIV療法に適う新規エイズ治療薬 Reverse Transcriptase
associated RNase H活性阻害剤の実用化開発

分担研究課題：HIV 逆転写酵素(RT)内在 RNase H ドメインに対する酵素活性阻害剤の
計算機シミュレーションによる設計

研究分担者 沖本憲明（理化学研究所 生命システム研究センター
生命モデリングコア 計算分子設計研究グループ）

研究要旨

HIV 逆転写酵素(RT)内在の RNase H ドメインの酵素活性中心には、2つの配位金属 Mg が隣接して存在している。このような活性中心を持つタンパク質ポケットに対する計算創薬手法はこれまで殆ど例をみない。そこで、本研究では、昨年度から実施している量子化学的手法を用いた RT 内在の RNase H ドメインと薬剤との複合体構造のモデリングを継続し、電子状態を考慮した RNase H ドメイン-薬剤複合体構造を入手した。次に、この構造を利用し、これまで知られている数種の RNase H 阻害剤の結合様式を予測し、これらの薬剤の体積の重なりと官能基 3次元特徴（ファーマコフォア）を考慮した分子形状クエリーを構築し、このクエリーによる大規模な薬剤ライブラリに対する薬剤探索を試みた。

（1）研究目的：

RT 内在の RNase H ドメインの酵素活性中心には、2つの配位金属 Mg が隣接して存在している。このような特徴を有するタンパク質ポケットに対する計算創薬の研究はほとんど報告されていない。このような創薬タンパク質に対しては、従来の計算創薬手法だけでは薬剤探索を行うことは難しいと考えられる。このため、昨年度から、従来の計算創薬手法に量子化学計算を取り入れて薬剤探索する技術の検討・評価を試みてきた。

本研究全体では、RT 内在の RNase H 活性を阻害する化合物が既に発見されている。一方で、医薬品開発を進める上では、多様なシード化合

物候補を検出することは重要であることから、本研究課題では、既知の阻害剤とは骨格の異なる化合物を発見するため、計算機シミュレーションと実験（RNase H 阻害活性の評価）を連動し薬剤探索を実施してきている。上述したように、RNase H ドメインのような高難度のターゲットに対しては、従来の計算創薬手法だけでは薬剤探索を行うことは難しいと考えられるため、量子化学計算を取り入れた新たな薬剤探索手法を取り込み、以下のような流れで研究を実施した。

(A) 量子化学的手法を用いた RT 内在の RNase H ドメインと薬剤との複合体構造の

モデリング（昨年度まで構築したモデル構造の見直し）

- (B) (A)の構造を使用し、数種の既存薬剤の構造情報から構築した分子形状クエリーを使用した薬剤探索

(2) 研究方法

- (A) 量子化学的手法を用いた RT 内在の RNase H ドメインと薬剤との複合体構造のモデリング

RT 内在の RNase H ドメインには 2 つの Mg^{2+} が配位しており、阻害剤との結合において極めて重要な役割を果たしていると考えられる。このような 2 つの Mg^{2+} を含有する RNase H ドメインと化合物との相互作用を高精度に計算機シミュレーションにより予測するためには、古典分子力学の手法だけでは限界があり、量子化学的な手法を導入して RNase H ドメイン-阻害剤複合体の構造を取り扱う必要がある。本研究では、計算ソフト QSITE を使用し、RNase H ドメインの活性中心（薬剤との結合に重要な 6 個のアミノ酸、2 つの Mg^{2+} 、2 つの水分子を含む）と薬剤分子を量子化学的に取り扱い、活性中心から離れている RNase H ドメインのアミノ酸残基については古典分子力学の取り扱いをする QM/MM 法によって複合体構造の計算を行った。この際、量子化学計算部分に対しては、密度汎関数法（DFT）の B3LYP 法で基底関数 lacvp+* を使用して計算した。

計算の初期構造は、昨年度と同様の構造を使用した。RT-阻害剤（thujaplicinol）複合体の X 線結晶構造（PDB:3IG1）を鋳型にして、ホモロジーモデリング技法により欠損部位を補完した RNase H ドメイン-阻害剤（thujaplicinol）の複合体構造を構

築し、QM/MM 法によってエネルギー極小化を行った。ただし、昨年度までに構築した構造では、MM 部分のタンパク質骨格やアミノ酸側鎖が X 線結晶構造から大きく変化しており、薬剤設計に利用するには不適切であると考えられた。そこで、本年度は、QM 部分以外の原子配置を固定してエネルギー極小化を行い、これまでの既存薬剤の結合様式やその相互作用エネルギー解析を行った。

- (B) (A)の構造を使用し、数種の既存薬剤の構造情報から構築した分子形状クエリーを使用した薬剤探索

(A)の過程で構築した RT-阻害剤複合体構造モデルを利用し、これまでに発見されている既存薬剤の構造情報を取り入れ、体積の重なり及びファーマコフォアの観点から薬剤の探索を実施した。

まず、化合物ライブラリ（600 万化合物収載）に対し、発ガン性や薬らしさの観点から絞り込みを行い、約 100 万化合物を収容するリード化合物創出用ライブラリを構築した。

次に、QM/MM 計算により得られた RT-阻害剤複合体構造を使用して、これまで発見されている数種の RNase H 阻害剤を取り入れて薬剤の重ね合わせを行った。これらの薬剤構造から体積の重なりを考慮した分子体積モデルを構築し、更に、この分子体積モデル上に水素結合ドナーやアクセプターなどのファーマコフォア情報を付加した分子形状クエリーを作成した。

最後に、リード化合物創出用ライブラリ内の化合物と分子形状クエリーの類似度から薬剤候補を絞り込んだ。分子形状クエリーの作成及びライブラリ化合物との

類似度計算は ROCS (OpenEye) を利用して行った。

(3) 研究結果

(A) 量子化学的手法を用いた RT 内在の RNase H ドメインと薬剤との複合体構造のモデリング

昨年度まで構築した RT-阻害剤構造では、タンパク質骨格やアミノ酸側鎖が X 線結晶構造から大きくずれており、薬剤設計に利用するには不適切であることがわかった。本年度は、QM/MM 計算の電子状態を考慮する QM 部分以外の原子配置を固定してエネルギー極小化を行った。図 1 からわかるように、昨年度構築したものはタンパク質骨格が異なっていることがわかる。また、昨年度の構造 (図 1 緑) と本年度の構造 (図 1 青) では、ポケット中心のアミノ酸、金属、配位水、阻害剤 (thujaplicinol) の相対配置がずれていることがわかる。本研究では、タンパク質部分の立体構造が X 線結晶構造に類似している今年度構築した構造 (図 1 青) を薬剤探索の研究に使用することにした。更に、この構造を基に、昨年度までに本課題で検出した酵素活性阻害能を有するヒット薬剤 (図 2) とタンパク質の多様な結合様式を分子ドッキング等によりモデリングし、構造解析およびエネルギー解析を行った。結果、図 2 (A) のヒット薬剤は、2 つの官能基 (sulfanylidenepranoic acid) の一方を RNase H ドメインの活性中心にある 2 つの Mg^{2+} へ配位させ、もう一方の官能基はタンパク質表面に存在するアルギニンと水素結合を形成している結合様式が最安定のポテンシャルエネルギー (溶媒効果を含む) を示すことがわかった (図 3)。図 2 (B) の化合

物においても、図 2 (A) の化合物と同様の結合様式が最安定のポテンシャルエネルギーを示すことがわかった。

(B) (A) の構造を使用し、数種の既存薬剤の構造情報から構築した分子形状クエリーを使用した薬剤探索

(A) の過程で構築した RT-阻害剤複合体構造の情報を利用して、これまでに発見されている既存薬剤の構造情報を取り入れ、薬剤の体積の重なり及びファーマコフォア情報を基に分子形状クエリーを作成した (図 4)。この分子形状クエリーを使ってリード化合物創出用ライブラリの中から類似度の高い 11 化合物を選考した。これらの薬剤の酵素活性阻害を実験により測定したが、阻害活性能を持つ薬剤は見えなかった。

(4) 考察

本年度は、電子状態を考慮した QM/MM 法によって RT-阻害剤複合体構造を構築した。次に、この RT-阻害剤複合体構造を利用して、既知の薬剤情報のモデリングを行い、その体積の重なりやファーマコフォア情報に基づく分子形状クエリーを作成した。最後に、この分子形状クエリーを使用して化合物探索を試みた。しかし、この計算により選んだ 11 化合物については実験による酵素活性阻害能は見られなかった。したがって、本計算手法は現状では実用的に問題があり、更に改善する必要があると考えられる。この手法が成功しなかった原因としては、QM/MM 計算に適用した既知薬剤の数が少なかったこと、分子形状クエリーの制限が強すぎたことが考えられる。

(5) 結論

本年度は、電子状態を考慮した RT-阻害剤複合体構造を利用した薬剤探索手法を試みた。本手法は新しい試みではあるものの、RNase H ドメインの酵素活性中心のような高難度のターゲットに対して効果的な薬剤探索を実現できなかった。これは、分子形状クエリーの構築技術に問題があり、改善の余地があると考えている。

(6) 研究危険情報

無し

(7) 研究発表

(1) 論文発表

1. ○Taiji M and Okimoto N. 高性能計算による薬剤分子設計. 日本化学会情報化学部会誌 29 (2011) 55-60pp
2. ○Kondo H, Okimoto N, Morimoto G, and Taiji M. Free-Energy Landscapes of Protein Domain Movements upon Ligand Binding. Journal of Physical Chemistry B, 115 (2011) 7629-7636pp

(2) 学会発表

1. 沖本 憲明, 平野 秀典, 大塚 教雄, 森本元太郎, 藤田 茂雄, 泰地 真弘人
“Computational analysis of G9a-inhibitor interactions” 情報計算化学生物(CBI)学会 2011 年大会、平成 23 年 11 月 8-10 日、神戸
2. 沖本 憲明, 平野 秀典, 大塚 教雄, 森本元太郎, 藤田 茂雄, 泰地 真弘人
“Computational analysis of G9a-inhibitor interactions” 第 25 回分子シミュレーション討論会、平成 23 年 12 月 5-7 日 東京

(8) 知的財産権の出願・登録状況

(1) 特許取得

無し

(2) 実用新案登録

無し

(3) その他

無し