

การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างเอชไอวี-1 อินทิเกรสกับสารยับยั้งโดยใช้โครงสร้างของ
เอนไซม์ที่แตกต่างกัน

Molecular docking calculations of HIV-1 integrase and its inhibitor using various
enzyme structures



โดย

นางสาวกัญฐิกา เอื้ออนุกุลพงษ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างเอชไอวี-1 อินดิเกอร์กับสารยับยั้งโดยใช้โครงสร้างของ
เอนไซม์ที่แตกต่างกัน

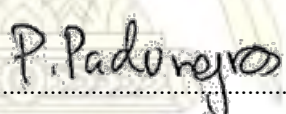
โดย นางสาวกัญฐิกา เอื้ออนุกุลพงษ์

ได้รับอนุมัติเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


คณะกรรมการสอบโครงการ


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ วชิรวงศ์กวิน)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ เพียรวิช)


..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ภาณุวัฒน์ ผดุงรส)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 10 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2559

คุณภาพของการเขียนรายงานนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างเอชไอวี-1 อินดิเกราสกับสารยับยั้งโดยใช้โครงสร้างของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวกัญญิกา เอื้ออนุกุลพงษ์ เลขประจำตัว 5533058823

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ เพ็ชรวงษ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันเทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลได้รับการยอมรับและถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อทำนายโครงสร้างการเข้าจับระหว่างเอนไซม์กับสารยับยั้ง อย่างไรก็ตามความถูกต้องแม่นยำของการคำนวณจะขึ้นกับโครงสร้างของเอนไซม์ที่นำมาใช้ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลกระทบของการใช้โครงสร้างอินดิเกราสที่แตกต่างกันที่มีต่อผลการคำนวณโครงสร้างการเข้าจับระหว่างเอชไอวี-1 อินดิเกราสกับยาโดลูเทกราเวียด้วยโปรแกรม AutoDock VINA โดยใช้โครงสร้างของอินดิเกราสจำนวน 19 โครงสร้างที่นำมาจากธนาคารข้อมูลโปรตีน นอกจากนั้นยังศึกษาผลของการใช้โครงสร้างอินดิเกราสที่มีการเติมและไม่เติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไป รวมถึงการเติมและไม่เติมตำแหน่งของโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์ ผลการคำนวณพบว่า โครงสร้างจำนวน 8 โครงสร้างให้ค่าพลังงานการเข้าจับที่เป็นบวก บ่งชี้ว่าโครงสร้างเหล่านี้ไม่เหมาะสำหรับนำมาใช้ในการคำนวณ เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างแบบที่ไม่เติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไปและไม่เติมโลหะ (โครงสร้างระบบที่ 1) โครงสร้างระบบที่มีการเติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไปแต่ไม่เติมโลหะ (โครงสร้างระบบที่ 2) และโครงสร้างระบบที่มีการเติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไปและโลหะทั้ง 2 ตัว (โครงสร้างระบบที่ 3) พบว่ามีเพียง 2 โครงสร้างที่มีลำดับค่าพลังงานการเข้าจับที่สอดคล้องกับความเป็นจริง นั่นคือ โครงสร้างที่มี PDB code เป็น 1EXQ และ 2ITG และเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลโครงสร้างการเข้าจับที่คำนวณได้กับโครงสร้างเอกซเรย์ของ PFV กับ โดลูเทกราเวีย พบว่าโครงสร้างที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการคำนวณในอนาคตคือ โครงสร้างที่มี PDB code 1EXQ

คำสำคัญ: เอชไอวี-1 อินดิเกราส, การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

Title Molecular docking calculations of HIV-1 integrase and its inhibitor using various enzyme structures

Student name Miss Kantika Euranukoonpong Student ID 5533058823

Advisor name Assistant Professor Dr. Somsak Pianwanit

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2015

Abstract

Nowadays molecular docking calculation technique is widely accepted and has been used to predict a binding structure between enzyme and inhibitor. However, an accuracy of the calculation depends on a structure of the enzyme that is used. In this research, effect of employing different integrase structures on the docked structure between HIV-1 integrase (IN) and dolutegravir drug was studied by using AutoDock VINA. 19 different IN structures were taken from the Protein Data Bank. In addition, effect of adding missing residues and metal co-factor were investigated. The results showed that 8 IN structures gave positive binding affinities which indicates that these structures are not appropriate for the docking calculations. Considering IN structure without adding missing residues and metals (system 1), IN structure with adding only missing residues but not metals (system 2) and IN structure with adding both missing residues and metals (system 3), only 2 structures, which structures with PDB code 1EXQ and 2ITG, have the corrected order of binding affinity. Comparing the docked structures with the X-ray structure of PVF-dolutegravir complex, IN structure with PDB code 1EXQ is the most suitable structure for future docking calculation.

Keyword: HIV-1 integrase, molecular docking calculation

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ ผู้ทำการวิจัยได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ เพียร
วณิช ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ท่านได้ให้คำแนะนำและความรู้มากมายในการทำวิจัย ให้คำปรึกษา
ที่ก่อให้เกิดประโยชน์เมื่อเกิดปัญหาต่าง ๆ ซึ่งเกิดขึ้นตลอดเวลาระหว่างการทำวิจัย ให้ความเอาใจใส่
ช่วยเหลือ จนทำให้การทำวิจัยและการเขียนรายงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นอกจากนี้ผู้ทำงานวิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ วชิรวงศ์กวิน และอาจารย์
ดร.ภาณุวัฒน์ ผดุงรส ที่กรุณาเสียสละเวลามาเป็นกรรมการในการสอบครั้งนี้ รวมถึงให้คำปรึกษาแนะนำใน
การเขียนรายงานจนเสร็จสมบูรณ์

โครงการวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของคณะ
วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2558 และได้รับความเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ที่ใช้ใน
งานวิจัยจากภาคเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลอดจนความช่วยเหลือจากบุคลากร
ฝ่ายต่าง ๆ จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูปภาพ	ช
สารบัญตาราง	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	1
1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	2
1.3.1 เชื้อเอชไอวีและโรคเอดส์	2
1.3.2 เอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส	3
1.3.3 Prototype Foamy Virus (PFV)	5
1.3.4 เทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล	6
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 2 การทดลอง	10
2.1 การเตรียมโครงสร้างสามมิติของยาโดลูเทกราเวีย	10
2.2 การเตรียมโครงสร้างสามมิติของเอชไอวี-1 อินติเกรส	10
2.3 ทำการตรวจสอบความถูกต้องของโปรแกรม AutoDock Vina	12
2.4 คำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส	13
2.5 การวิเคราะห์ผลการคำนวณ	13
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	14
3.1 ตรวจสอบความแม่นยำของโปรแกรม AutoDock Vina	14
3.2 ศึกษาผลกระทบของโครงสร้างอินติเกรสที่แตกต่างกัน 3 ระบบที่มีต่อโครงสร้างการเข้าจับกับโดลูเทกราเวีย	17
3.2.1 การเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสระบบที่ 1	17

3.2.2 การเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกราบบทที่ 2	19
3.2.3 การเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกราบบทที่ 3	22
3.2.4 วิเคราะห์เปรียบเทียบค่า Affinity ที่ได้จากการคำนวณทั้ง 3 ระบบ	24
3.2.5 ผลการเปรียบเทียบค่าพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกราบบททั้ง 3 แบบเฉพาะ PDB code ที่มีอาจจะเป็นโครงสร้างที่เหมาะสม	30
3.3 วิเคราะห์โครงสร้างเอชไอวี-1 อินดิเกราบบทที่เหมาะสม	30
3.3.1 ทำการซ้อนทับระบบที่คัดเลือกมาทุกค่าพลังงานในการเข้าจับ 1 ครั้ง กับโครงสร้างอ้างอิง ชนิด PFV	31
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	33
ภาคผนวก	34
เอกสารอ้างอิง	49
ประวัติผู้วิจัย	52

ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1.1 วงจรชีวิตของเชื้อเอชไอวี	2
รูปที่ 1.2 โครงสร้างของเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส	4
รูปที่ 1.3 โครงสร้างของยาโดลูเทกราเวีย	5
รูปที่ 1.4 ภาพจำลองการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล	6
รูปที่ 3.1 โครงสร้างที่ได้จากการคำนวณแบบที่ 1 ถึง 9 (mode 1 ถึง mode 9 แสดงในรูปที่ (A) ถึง (I) (ตามลำดับ) ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง	16
รูปที่ 3.2 โครงสร้างของยาโดลูเทกราเวีย	18
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 1B9F(A) และ 1BI4(B) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	26
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 1BIS(C) และ 1BIU(D) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	26
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 1BIZ(E) และ 1BL3(F) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	26
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 1EX4(G) และ 1EXQ(H) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	27
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 1ITG(I) และ 1K6Y(J) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	27
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 1QS4(K) และ 2ITG(L) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	27
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 3AO5(M) และ 3L3U(N) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	28
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 3L3V(O) และ 3NF7(P) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	28
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 3OVN(Q) และ 3VQ8(R) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	28
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 4CIE(S) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน	29
รูปที่ 3.4 พันธะไฮโดรเจนที่เกิดระหว่างสารยับยั้ง 5CITEP ในเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 1QS4 กับ Mg ²⁺ [28]	29

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงข้อมูลที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์อินติเกรสทั้ง 19 โครงสร้าง	10
ตารางที่ 3.1 แสดงพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับ PFV	14
ตารางที่ 3.2 ผลการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้งหมด 19 โครงสร้าง (ระบบที่1) รวมถึง PFV 1 โครงสร้าง	18
ตารางที่ 3.3 ผลการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้งหมด 19 โครงสร้าง (ระบบที่ 2) รวมถึง PFV 1 โครงสร้าง	20
ตารางที่ 3.4 ผลการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้งหมด 19 โครงสร้าง (ระบบที่3) รวมถึง PFV 1 โครงสร้าง	22
ตารางที่ 3.5 ผลเปรียบเทียบค่าพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้ง 3 ระบบ	24
ตารางที่ 3.6 ผลเปรียบเทียบค่าพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code ที่มีพลังงานเรียงลำดับจากมากไปน้อย	30
ตารางที่ 3.7 แสดงพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 1EXQ ระบบที่ 3	31
ตารางที่ 3.8 แสดงพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 2ITG ระบบที่ 3	32

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคเอดส์ (Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS) เป็นอาการระยะสุดท้ายของผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวี (Human Immunodeficiency Virus, HIV) ซึ่งผู้ป่วยจะมีภูมิคุ้มกันน้อย ทำให้ติดเชื้อโรคอื่น ๆ และเสียชีวิตในที่สุด โรคเอดส์และการติดเชื้อเอชไอวียังไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ ดังนั้นแนวทางการรักษาที่ทำได้ในปัจจุบันคือการควบคุมปริมาณเชื้อไวรัสให้ต่ำเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งสามารถทำได้โดยการไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญในวงจรชีวิตของเชื้อไวรัส อินติเกรสเป็นเอนไซม์สำคัญในวงจรชีวิตของเชื้อไวรัส โดยทำหน้าที่ช่วยในกระบวนการแทรกสายดีเอ็นเอของไวรัสเข้าไปในสายดีเอ็นเอของคน ยากลุ่มยับยั้งการทำงานของอินติเกรสจะเข้าจับกับเอนไซม์และไปกีดขวางไม่ให้อินติเกรสทำงานได้ การใช้ยากลุ่มนี้ไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงกับผู้ป่วยเพราะร่างกายคนเราไม่มีเอนไซม์ตัวนี้ ดังนั้นอินติเกรสจึงเป็นเป้าหมายที่นักวิจัยทั่วโลกให้ความสนใจ

ในการปรับปรุงยาให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างการเข้าจับและอันตรกิริยาระหว่างสารยับยั้งกับอินติเกรส เพื่อจะได้ปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสารยับยั้งให้จับกับอินติเกรสได้ดียิ่งขึ้น การหาโครงสร้างการเข้าจับด้วยวิธีทางการทดลอง มีข้อจำกัดหลายประการ รวมทั้งต้องใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน ดังนั้นนักวิจัยจึงได้ใช้เทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล (molecular docking calculation) มาทำนายโครงสร้างการเข้าจับ เพราะสามารถทำได้อย่างสะดวกและรวดเร็ว อย่างไรก็ตามความถูกต้องแม่นยำของผลการคำนวณจะขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ โปรแกรมที่ใช้คำนวณ การตั้งค่าในโปรแกรม ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาหาผลกระทบของการใช้โครงสร้างสามมิติของอินติเกรสที่แตกต่างกันที่มีต่อโครงสร้างการเข้าจับระหว่างอินติเกรสกับยาโดลูเทกราเวีย (dolutegravir) โดยจะใช้โครงสร้างของอินติเกรสแบบต่าง ๆ ที่ได้จากฐานข้อมูลธนาคารข้อมูลโปรตีน (Protein Data Bank) จำนวน 19 โครงสร้างมาทำการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลกับยาโดลูเทกราเวีย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

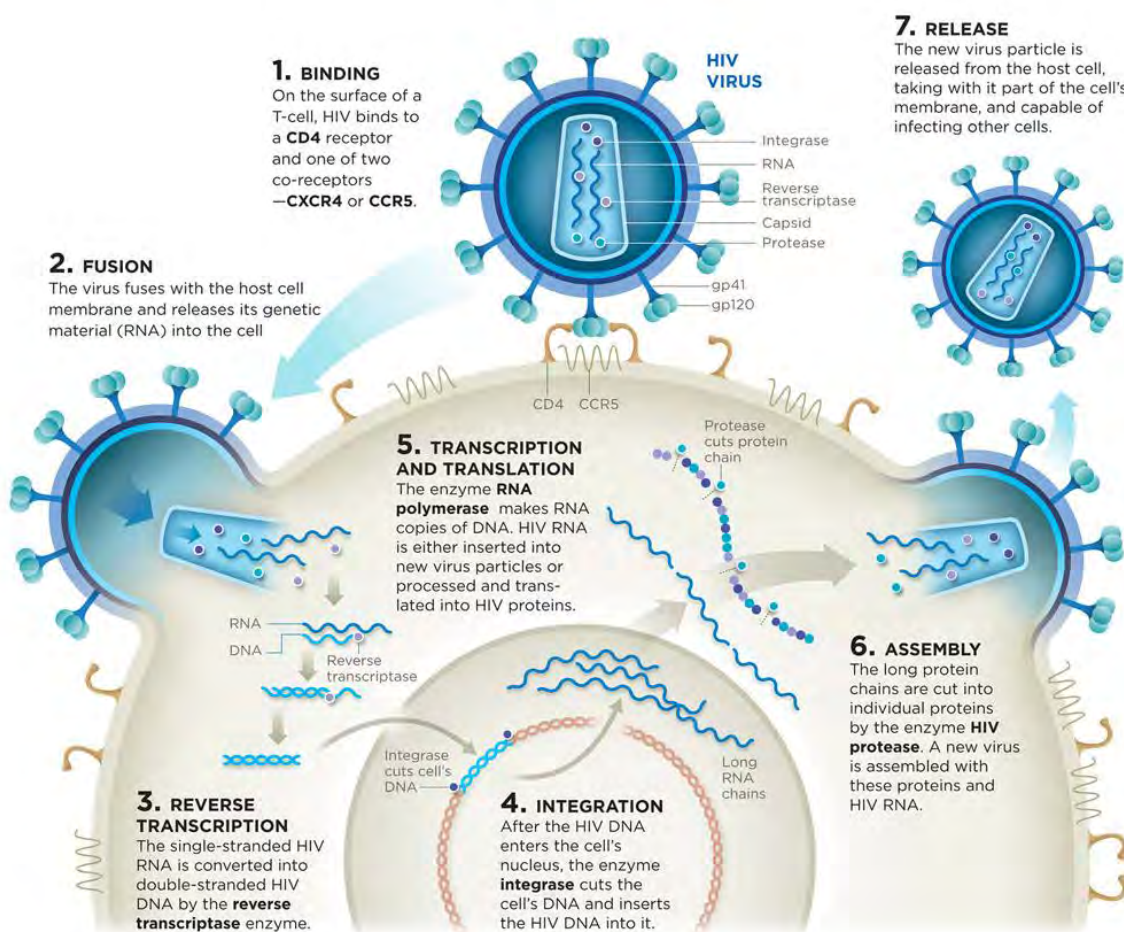
ศึกษาผลกระทบของโครงสร้างอินติเกรสที่แตกต่างกันที่มีต่อโครงสร้างการเข้าจับและอันตรกิริยาระหว่างเอชไอวี-1 อินติเกรสกับโดลูเทกราเวีย

1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.3.1 เชื้อเอชไอวีและโรคเอดส์

โรคเอดส์ เป็นอาการระยะสุดท้ายของผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวี ทำให้ผู้ป่วยเกิดภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง และติดเชื้อโรคฉวยโอกาสอื่น ๆ เช่น วัณโรคในปอด หรือต่อมน้ำเหลือง เยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อรา โรคผิวหนังบางชนิด หรือเป็นมะเร็งบางชนิดได้ง่ายกว่าคนปกติ ซึ่งการติดเชื้อโรคฉวยโอกาสเหล่านี้เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ผู้ป่วยโรคเอดส์เสียชีวิตได้อย่างรวดเร็ว เชื้อเอชไอวีมีอยู่ 2 สายพันธุ์ คือ เอชไอวี-1 และเอชไอวี-2 โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่ทั่วโลกจะติดเชื้อเอชไอวี-1 ในขณะที่ผู้ติดเชื้อเอชไอวี-2 จะพบได้น้อยกว่า และพบในประเทศแถบแอฟริกาตะวันตก

ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับวงจรชีวิตของไวรัสเป็นข้อมูลสำคัญและจำเป็นต่อการค้นหาเป้าหมายในการพัฒนารักษาโรค วงจรชีวิตของเชื้อเอชไอวี (ดังแสดงในรูปที่ 1.1) เป็นดังนี้



รูปที่ 1.1 วงจรชีวิตของเชื้อเอชไอวี

ที่มา <http://www.5wgraphics.com/img/gallery/5w-sample-020-hiv-lifecycle.jpg>

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

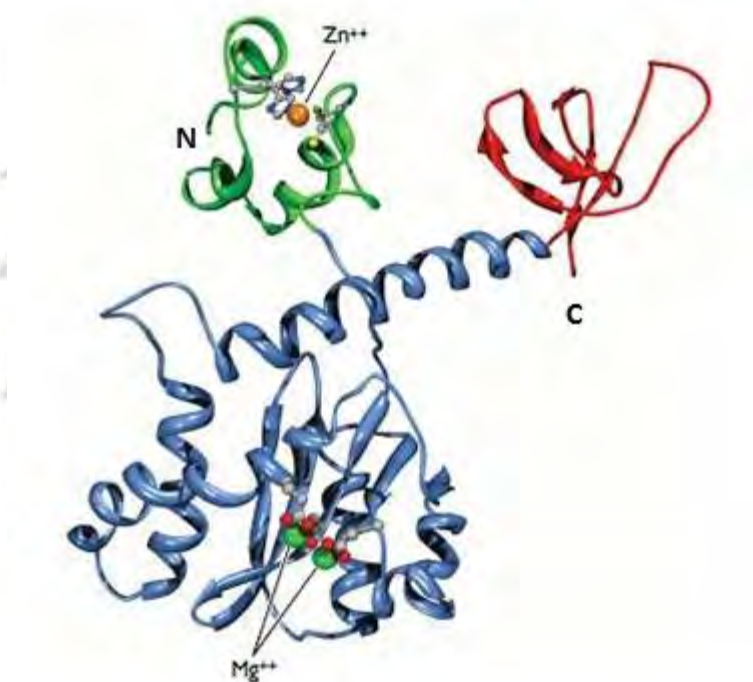
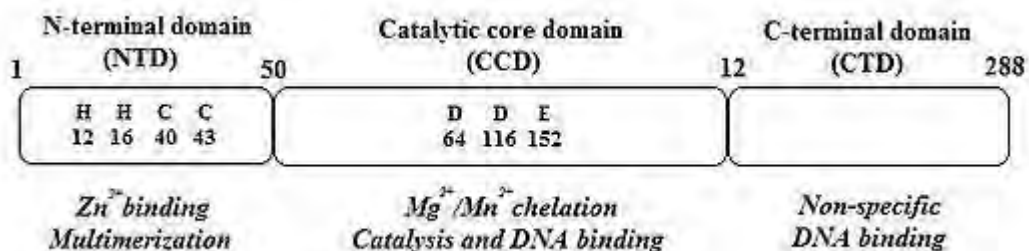
- ขั้นแรก** การเข้าจับ (binding) เชื้อเอชไอวีจะเข้าจับกับพื้นผิวของเซลล์เม็ดเลือดขาว
- ขั้นที่สอง** การรวมตัว (fusion) เชื้อไวรัสจะรวมตัวกับเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยปล่อยสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์ของคน
- ขั้นที่สาม** เนื่องจากเอชไอวีเป็นไวรัสชนิดอาร์เอ็นเอ (RNA virus) จึงจำเป็นต้องมีการแปลงอาร์เอ็นเอให้เป็นดีเอ็นเอ โดยขั้นตอนนี้จะอาศัยเอนไซม์รีเวิร์ส ทรานสคริปเทส (Reverse Transcriptase, RT) ในการเร่งปฏิกิริยา
- ขั้นที่สี่** ไวรัสจะทำการแทรกสายดีเอ็นเอของตัวเองเข้าสู่สายดีเอ็นเอของคน โดยอาศัยเอนไซม์อินทิเกรส (Integrase, IN) จากนั้นอาศัยกลไกของร่างกายมนุษย์ในการเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอของไวรัส
- ขั้นที่ห้า** ไวรัสจะทำการสร้างสายอาร์เอ็นเอจากสายดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอนที่สี่โดยอาศัยเอนไซม์อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส (RNA polymerase)
- ขั้นที่หก** ไวรัสจะใช้เอนไซม์โปรตีเอส (Protease, PR) ช่วยในการตัดโปรตีนสายยาวออกเป็นส่วนย่อย ๆ ของแต่ละโปรตีน แล้วทำการรวบรวมสิ่งจำเป็นต่าง ๆ เพื่อสร้างไวรัสตัวใหม่
- ขั้นที่เจ็ด** ไวรัสตัวใหม่จะหลุดออกจากเซลล์เม็ดเลือดขาวและพร้อมจะแพร่พันธุ์สู่เซลล์เม็ดเลือดขาวอื่น ๆ

จากวงจรชีวิตของเอชไอวี พบว่าเชื้อไวรัสจำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์หลายตัวในการเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นถ้าสามารถทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ได้ ก็จะสามารถหยุดการแพร่พันธุ์ของเชื้อไวรัสได้ ทำให้สามารถควบคุมปริมาณเชื้อไวรัสให้อยู่ในระดับต่ำ ผู้ติดเชื้อเอชไอวีก็จะไม่แสดงอาการป่วย และจะไม่พัฒนาไปสู่โรคเอดส์

1.3.2 เอนไซม์เอชไอวี-1 อินทิเกรส

เอนไซม์เอชไอวี-1 อินทิเกรส เป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 288 ตัว ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 โดเมน คือ เอ็นเทอร์มินัล โดเมน (N-terminal domain), คาตาไลติก โดเมน (catalytic domain) และ ซีเทอร์มินัล โดเมน (C-terminal domain) ซึ่งแต่ละโดเมนก็มีหน้าที่แตกต่างกันดังนี้ (ดังรูปที่ 1.2)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.2 โครงสร้างของเอนไซม์เอชไอวี-1 อินทิเกรส

ที่มา <http://america.pink/images/2/0/9/1/5/0/5/en/3-integrase.jpg>

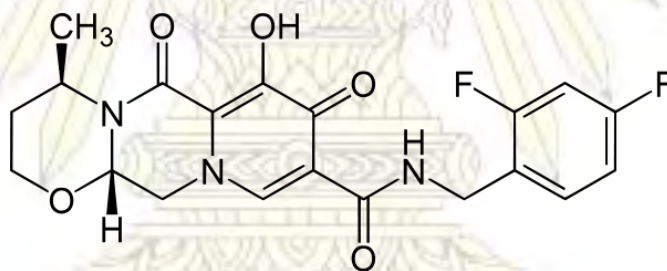
เอ็นเทอร์มินัล โดเมน (สายสีเขียว) โครงสร้างประกอบไปด้วย กรดอะมิโนตั้งแต่ลำดับที่ 1-49 โดยทำหน้าที่ในการจับกับ Zn^{2+} และทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ Protein Multimerization ของเอนไซม์อินทิเกรส

คาตาไลติก โดเมน (สายสีน้ำเงิน) ส่วนนี้มีความสำคัญมาก เนื่องจากเป็นส่วนที่เป็นบริเวณเร่ง (active site) และบริเวณที่ตัวยับยั้งเข้าจับ (binding site) โครงสร้างจะประกอบด้วยกรดอะมิโนตั้งแต่ลำดับที่ 50-212 ซึ่งรวมกรดอะมิโนที่จำเป็นในการเร่งปฏิกิริยาในเอนไซม์เอชไอวี-1 อินทิเกรส คือ กรดแอสปาร์ติกลำดับที่ 64 (Asp64), กรดแอสปาร์ติกลำดับที่ 116 (Asp116) และ กรดกลูตามิกลำดับที่ 152 (Glu152) นอกจากนี้ยังมีโลหะที่มีความสำคัญต่อการเร่งปฏิกิริยาซึ่งอาจจะเป็น Mg^{2+} หรือ Mn^{2+}

ซีเทอร์มินัล โดเมน (สายสีแดง) โครงสร้างประกอบด้วยกรดอะมิโนลำดับที่ 213-288 ซึ่งส่วนนี้ทำหน้าที่ในการจับกับดีเอ็นเอของเซลล์เจ้าบ้าน (Host cell) แบบไม่จำเพาะเจาะจง

จากการสืบค้นข้อมูลในฐานข้อมูลธนาคารข้อมูลโปรตีน พบว่ามีโครงสร้างทางการทดลองของ เอชไอวี-1 อินติเกรสจำนวนมาก และเมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างพบว่า บริเวณเร่งในแต่ละโครงสร้างมีลักษณะแตกต่างกัน รวมทั้งโครงสร้างหลาย ๆ โครงสร้างมีความไม่สมบูรณ์ เช่น ไม่มีตำแหน่งของกรดอะมิโนบางตัว (missing residue) หรือไม่มีตำแหน่งของโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์ ซึ่งจะส่งผลให้การเข้าจับของยาโดลูเทกราเวียแตกต่างกันออกไป เพราะมีอันตรกิริยาที่เปลี่ยนแปลงไป

ในปัจจุบันยารักษาโรคเอดส์กลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสที่ได้รับการอนุมัติจากองค์การอาหารและยามีอยู่ 3 ตัว คือ รราวเทลกราเวีย (raltegravir), เอลวิเทกราเวีย (elvitegravir) และโดลูเทกราเวีย (dolutegravir) โดยโดลูเทกราเวีย (Dolutegravir) ดังรูปที่ 1.3 เป็นยารักษาโรคเอดส์ในกลุ่มยับยั้งการทำงานของอินติเกรสที่มีประสิทธิภาพดีในคนไข้ที่ติดต่อยาชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกัน และสามารถใช้ได้กับผู้ป่วยทั้งผู้ที่เคยหรือไม่เคยได้รับยาต้านเชื้อมาก่อน นอกจากนี้โดลูเทกราเวีย ยังอนุญาตให้ใช้กับผู้ป่วยที่เป็นเด็กอายุ 12 ปีขึ้นไป ซึ่งมีน้ำหนักตัวอย่างน้อย 40 กิโลกรัม ทั้งนี้ไม่เคยได้รับยาต้านไวรัสเอชไอวีมาก่อน และเคยได้รับยาต้านไวรัสเอชไอวีที่ไม่ใช่ยาในกลุ่มยาที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อินติเกรสมาก่อนด้วย



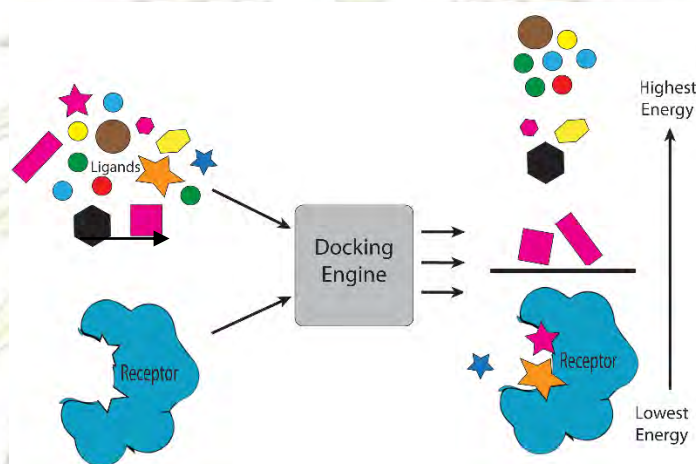
รูปที่ 1.3 โครงสร้างของยาโดลูเทกราเวีย

1.3.3 Prototype Foamy Virus (PFV)

Prototype Foamy Virus (PFV) เป็น retrovirus มีสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอ ซึ่งต้องอาศัยเอนไซม์ที่สำคัญในการจำลองโมเลกุลคือ เอนไซม์รีเวิร์ส ทรานสคริปเทส (Reverse Transcriptase, RT) ในการเร่งปฏิกิริยาแปลงอาร์เอ็นเอให้เป็นดีเอ็นเอ เอนไซม์อินติเกรส (Integrase, IN) ช่วยให้ไวรัสทำการแทรกสายดีเอ็นเอของตัวเองเข้าสู่สายดีเอ็นเอของคน จากนั้นอาศัยกลไกของร่างกายมนุษย์ในการเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอของไวรัส เอนไซม์อาร์เอ็นเอโพลิเมอเรส (RNA polymerase) ช่วยให้ไวรัสทำการสร้างสายอาร์เอ็นเอจากสายดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอนก่อนหน้า เอนไซม์โปรตีเอส (Protease, PR) ช่วยในการตัดโปรตีนสายยาวออกเป็นส่วนย่อย ๆ ของแต่ละโปรตีน แล้วทำการรวบรวมสิ่งจำเป็นต่าง ๆ เพื่อสร้างไวรัสตัวใหม่ โดย PFV ถูกวิจัยสร้างขึ้นมา และตกผลึกคู่กับสารยับยั้งเป็นโครงสร้างเอกซเรย์ เพื่อเป็นตัวต้นแบบในการศึกษากลไกการทำงานของเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส ที่ปัจจุบันยังไม่สามารถตกผลึกเป็นโครงสร้างเอกซเรย์ที่สมบูรณ์คู่กับสารยับยั้งได้

1.3.4 เทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลเป็นการทำนายลักษณะการวางตัวของสารเมื่อจับกับโมเลกุลเป้าหมาย โดยคำนวณพลังงานการยึดจับระหว่างสารกับโมเลกุลนั้น จากทุกพันธะที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ Van der Waals, Hydrogen Bonding, Electrostatic, และ Hydrophobic จากนั้นนำค่าพลังงานการเข้าจับที่คำนวณได้มาเรียงลำดับ โดยค่าพลังงานการจับที่ต่ำสุดจะเป็นค่าการจับระหว่างสารกับโมเลกุลเป้าหมายที่เสถียรที่สุด เพื่อเพิ่มความเข้าใจจะแสดงให้เห็นดังรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 ภาพจำลองการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

จากรูปที่ 1.4 จำลองการเข้าจับของสารกับโมเลกุล โดยโมเลกุลตัวรับ (Receptor) เช่น เอนไซม์ มีโพรงเข้าจับเป็นแฉกรูปดาวอยู่ 2 ตำแหน่ง ในขณะที่สารที่จะเข้าจับ (Ligand) เช่น ตัวยับยั้งหรือยา แทนด้วยรูปทรงเรขาคณิตต่าง ๆ เมื่อนำมาทดสอบการเข้าจับกันของสารกับโมเลกุลตัวรับ โดยใช้เทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลจะสังเกตเห็นว่า รูปทรงเรขาคณิตรูปทรงต่าง ๆ ที่ไม่สามารถจับกับโมเลกุลตัวรับได้จะได้ค่าพลังงานที่สูงขณะที่โครงสร้างรูปดาวที่จับได้พอดีกับโมเลกุลตัวรับ จะได้ค่าพลังงานที่ต่ำ หมายความว่า การเข้าจับกันนั้นมีความเสถียร [1]

ปัจจุบันเทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล มีโปรแกรมที่ใช้คำนวณหลากหลายโปรแกรม เช่น AutoDock, AutoDock Vina, Affinity, DOCK, DIVALI, DARWIN, eHiTS, FLOG, 52 FlexX, FTDOCK GOLD, Glide Hammerhead, ICM, LibDock, QXP, SANDOCK และ SLIDE เป็นต้น [2] ซึ่งแต่ละโปรแกรมจะใช้อัลกอริทึมที่แตกต่างกัน ความถูกต้อง ความเร็ว และการวางตัวของสารที่ได้ก็จะมี ความแตกต่างกัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงควรเลือกใช้โปรแกรมที่เหมาะสมกับโครงสร้างและชนิดของโมเลกุลที่ต้องการศึกษา

การทำงานของ การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของตัวรับ (Receptor) หรือตัวที่ใช้จับกับตัวยับยั้ง ซึ่งเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่เช่น โปรตีน (เอนไซม์) และ ส่วนของ Ligand ซึ่งเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น ตัวยับยั้งหรือยา โดยในงานวิจัยนี้จะให้ตัวรับเป็นเอนไซม์

ของเชื้อเอชไอวี-1 อินดิเกอร์สที่มีโครงสร้างแตกต่างกัน 19 โครงสร้าง และใช้ Ligand เป็นยาโดลูเทกราเวีย โดยจะใช้โปรแกรม AutoDock Vina ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลของสารดังกล่าว

AutoDock Vina เป็นโปรแกรมที่คำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลโดยใช้ genetic algorithm ซึ่งใช้การสุ่มอยู่ตลอดเวลาในการหาตำแหน่งและทิศทางของลิแกนด์ (ligand) ที่จะไปจับกับโพรงการเข้าจับ (binding pocket) ในเอนไซม์มีความซับซ้อน ดังนั้นจึงมีตำแหน่งให้ลิแกนด์ (ligand) เข้าจับได้เยอะมาก โปรแกรมพยายามที่จะหาตำแหน่งที่มีพลังงานต่ำที่สุด ถึงแม้ว่าในความเป็นจริงขณะที่ลิแกนด์ (ligand) เข้าจับกับตัวรับ (receptor) นั้นมีปัจจัยมากมายที่เป็นตัวกำหนดตำแหน่งและทิศทางของการเข้าจับ ซึ่งโปรแกรม AutoDock Vina ไม่สามารถคำนวณปัจจัยเหล่านี้ได้ทั้งหมด ตำแหน่งที่โปรแกรม AutoDock Vina คำนวณว่ามีพลังงานต่ำที่สุด อาจจะไม่ใช่ตำแหน่งการเข้าจับจริงก็เป็นได้ แต่โปรแกรม AutoDock Vina ก็เป็นโปรแกรมที่มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องทำให้โปรแกรมมีความถูกต้องแม่นยำสอดคล้องกับการทดลองในห้องปฏิบัติการ และที่สำคัญคือการทำซ้ำการดำเนินการแต่ละครั้งใช้เวลาไม่มาก โปรแกรมมีความรวดเร็ว และวิธีการใช้งานง่าย เป็นที่นิยม จึงเหมาะกับการทำงานวิจัยครั้งนี้

การคำนวณเชิงคอมพิวเตอร์มีความสำคัญในการช่วยการออกแบบ และพัฒนาตัวยา เนื่องจากไม่เพียงแต่เพิ่มโอกาสที่จะประสบความสำเร็จในการผลิตยาเพื่อรักษาโรคแล้ว ยังเป็นการช่วยลดระยะเวลาในการทดลอง ประหยัดงบประมาณ และลดการใช้สัตว์ทดลองอีกด้วย แต่การที่จะประสบความสำเร็จได้นั้น นักวิจัยต้องให้ความสำคัญในการเลือกใช้ฐานข้อมูลและโปรแกรมให้ถูกต้องและเหมาะสม และอีกสิ่งที่ต้องตระหนักคือ ผลที่ได้จากการคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์นี้เป็นเพียงการคาดการณ์เท่านั้น จึงต้องยืนยันผลโดยอาศัยการทดลองในห้องปฏิบัติการหรือการทดลองกับผู้ป่วยจริงๆ

1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 2547 Li-Dong และคณะ [3] ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์ของเชื้อเอชไอวี-1อินดิเกอร์ส และดีเอ็นเอ โดยสร้างเอนไซม์ของเชื้อเอชไอวี-1 อินดิเกอร์สแบบเตตระเมมเมอร์ ด้วยวิธีโฮโมโลจีโมเดลลิง จากนั้นทำการคำนวณจำลองระบบแบบโมเลกุลไดนามิกส์ ซึ่งจากการศึกษาการเข้าจับระหว่างดีเอ็นเอ และเอนไซม์อินดิเกอร์ส พบว่า ดีเอ็นเอจะจับกับอินดิเกอร์สแบบจำเพาะบริเวณที่ใกล้กับโลหะแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ซึ่งในแต่ละเมอร์มีโลหะแมกนีเซียม อยู่สองตัวในส่วนของคาตาไลติก (Catalytic core)

ในปี 2548 Masahiro และคณะ [4] ศึกษาตำแหน่งการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์ของเชื้อเอชไอวี-1 อินดิเกอร์สกับสารยับยั้งที่เป็น 2-hydroxy-3-heteroaryl acrylic acids ด้วยวิธีไทเทรตโลหะ (Metal titration) พบว่า สารยับยั้งที่มีฤทธิ์สูงจะเข้าจับกับเอนไซม์บริเวณใกล้กับโลหะแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ในบริเวณเร่ง (active site)

ในปี 2552 Healy และคณะ [5] ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของ L-Chicoric acid (l-CA) ที่มีโครงสร้างต่างกัน 4 แบบ ในการออกฤทธิ์เป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอชไอวี-1 อินดิเกอร์ส โดยการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล (molecular docking) ด้วยโปรแกรม AutoDock 4.0 พบว่าโครงสร้าง

การเข้าจับระหว่างตัวยับยั้งเอนไซม์กับเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสที่มีโครงสร้างต่างกัน ทำให้แอนตรกิริยาที่เกิดขึ้นต่างกันโดย s-cis/s-cis และ s-cis/s-trans isomers เป็นตัวที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด เนื่องจากได้ค่าพลังงานต่ำเมื่อทำการคำนวณการเข้าจับกับเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 1QS4 ที่มีโครงสร้างสมบูรณ์

ในปี 2555 Barry และคณะ [6] ศึกษาพลังงานการเข้าจับระหว่างเอชไอวี-1 อินติเกรสกับสารยับยั้งคือราลเทกราเวีย (raltegravir), เอลวิเทกราเวีย (elvitegravir), โดลูเทกราเวีย (dolutegravir) และ MK-0536 โดยการจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุล เปรียบเทียบกับพลังงานการเข้าจับที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจากการค้นหาเชื้อเอชไอวี-1 อินติเกรสในฐานข้อมูลธนาคารโปรตีน (Protein data bank) พบว่า เชื้อเอชไอวี-1 อินติเกรสไม่สามารถตกผลึกโครงสร้างที่สมบูรณ์ได้คือ มีกรดอะมิโนบางตัวและโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์หายไป ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาและพบว่าโครงสร้างของ prototype foamy virus (PFV) เป็นโครงสร้างที่ตกผลึกได้อย่างสมบูรณ์และมีโครงสร้างที่ใกล้เคียงกับเชื้อเอชไอวี-1 อินติเกรส ผู้วิจัยจึงเลือกโครงสร้างของ prototype foamy virus (PFV) PDB code 2L2T มาเป็นโครงสร้างอ้างอิงในการทำให้โครงสร้างที่สนใจคือ โครงสร้างของเชื้อเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code Y143R, N155H, และ G140S/Q148H มีโครงสร้างที่สมบูรณ์ ด้วย MOE 2009.10

ในปี 2557 Nuthanavanit และคณะ [7] ศึกษาการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างอนุพันธ์ของโครโมนกับเชื้อเอชไอวี-1 โปรตีเอส ด้วยโปรแกรม GOLD และ AutoDock โดยใช้โครงสร้างโครโมนจำนวน 48 โครงสร้าง และเชื้อเอชไอวี-1 โปรตีเอส จำนวน 12 โครงสร้าง พบว่าโครงสร้างที่ต่างกันส่งผลให้การเข้าจับต่างกัน เนื่องจากมีแอนตรกิริยาที่เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้แล้วโครงสร้างการเข้าจับที่เหมาะสมที่สุดคือโครงสร้างที่อนุพันธ์ของโครโมนกับเชื้อเอชไอวี-1 โปรตีเอสเข้าจับกันแล้วได้พลังงานการเข้าจับ (binding energy) ต่ำสุดในโปรแกรม AutoDock ซึ่งสอดคล้องกับค่าพลังงานการเข้าจับที่มากที่สุด (fitness score) ในโปรแกรม GOLD

ในปี 2559 Puripattanavong และคณะ [8] ศึกษาประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสที่มีโครงสร้างต่างกัน 10 โครงสร้าง ซึ่งสกัดได้จากสังกะไต (Aglaia andamanica) โดยใช้วิธีการทดลองในห้องปฏิบัติการ การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล (molecular docking) ด้วยโปรแกรม AutoDock 4.2 และทำการทดสอบความเป็นพิษด้วยหนูทดลอง พบว่าโครงสร้างที่ 10 (N-Methyl-trans-4-hydroxy-L-proline) มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส ซึ่งสอดคล้องกับการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่าง N-Methyl-trans-4-hydroxy-L-proline กับเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 1QS4 ซึ่งมีการเติมโครงสร้างให้สมบูรณ์โดยการเติมกรดอะมิโนที่หายไปในตำแหน่งที่ 141-144 [9] และเติมโลหะแมกนีเซียมที่เป็นโคแฟกเตอร์โดยใช้ prototype foamy virus integrase (PDB code 3OYA) เป็นโครงสร้างอ้างอิง [10] พบว่ามีค่าพลังงานการเข้าจับต่ำที่สุดจึงมีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อินติเกรส [11] เมื่อวิเคราะห์ถึงโครงสร้าง N-Methyl-trans-4-hydroxy-L-proline นี้ยังพบว่ามีความคล้ายคลึงกับอนุพันธ์ของไฮดรอกซิล ซึ่งทำให้

เกิดพันธะไฮโดรเจนกับอะมิโนทรีโอ닌ตำแหน่งที่ 66 แอสปาราจินตำแหน่งที่ 155 และไลซีนตำแหน่งที่ 159 ของเอนไซม์อินดิเกรส ซึ่งอะมิโนในตำแหน่งเหล่านี้เป็นอะมิโนในตำแหน่งที่สำคัญในการเกิดปฏิกิริยาการจำลองโมเลกุลของไวรัส [12] เมื่อสารยับยั้งเอนไซม์ (N-Methyl-trans-4-hydroxy-L-proline) เข้าจับกับเอนไซม์ของเชื้อเอชไอวี (PDB code 1QS4) ได้ดีในตำแหน่งที่สำคัญก็จะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไม่ให้เชื้อโรคแพร่พันธุ์ต่อไปได้

จากงานวิจัยที่ผ่านมา จะเห็นได้ว่าเอนไซม์อินดิเกรสเป็นเอนไซม์ที่น่าสนใจเนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่ไม่พบในมนุษย์ ทำให้การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงกับมนุษย์ รวมถึงโกลูเทกราเวียก็เป็นยาที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อินดิเกรส ที่มีคุณสมบัติในการรักษาผู้ป่วยที่รักษากับยาในกลุ่มเดียวกันไม่หาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาหาโครงสร้างการเข้าจับและอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์เอชไอวี-1 อินดิเกรสกับโกลูเทกราเวีย ด้วยการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลโดยใช้โครงสร้างของอินดิเกรสที่แตกต่างกันจำนวน 19 โครงสร้าง ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะช่วยเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของยา และเป็นข้อมูลสำคัญต่อการพัฒนาปรับปรุงยาตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2 การทดลอง

2.1 การเตรียมโครงสร้างสามมิติของยาโกลูเทกราเวีย

2.1.1 ทำการสืบค้นโครงสร้างสามมิติของยาโกลูเทกราเวียจากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีน ผลการสืบค้นพบว่ามีอยู่ 3 โครงสร้างที่เป็นโครงสร้างของ Prototype Foamy Virus (PFV) ที่จับอยู่กับโกลูเทกราเวีย โดยทั้งสามโครงสร้างได้มาจากเทคนิคเอกซเรย์ ได้แก่ โครงสร้างที่มี PDB code เป็น 3S3M, 3S3N และ 3S3O จึงทำการเลือกโครงสร้าง 3S3M และตัดเอาเฉพาะโครงสร้างของโกลูเทกราเวีย

2.1.2 นำโครงสร้างมาเติมอะตอมไฮโดรเจนและคำนวณประจุของแต่ละอะตอมด้วยวิธี Gasteiger พร้อมทั้งจัดเตรียมข้อมูลเกี่ยวกับพันธะที่หมุนได้ในโมเลกุลโดยใช้โปรแกรม ADT (AutoDock Tools)

2.2 การเตรียมโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์เออี-1 อินดิเกอร์ส

2.2.1 ทำการสืบค้นโครงสร้างของเอนไซม์เออี-1 อินดิเกอร์สจากฐานข้อมูลธนาคารข้อมูลโปรตีน ผลการสืบค้นพบว่ามีโครงสร้างอยู่เป็นจำนวนหลายโครงสร้าง จึงทำการจัดกลุ่มโครงสร้างทั้งหมดและคัดเลือกโครงสร้างที่มีประสิทธิภาพการจำแนกความแตกต่างของอะตอมที่อยู่ใกล้กันสูง (high resolution) คือมีค่าตัวเลขเชิงปริมาณต่ำที่สุดในแต่ละกลุ่มมา จึงได้โครงสร้างทั้งหมด 19 โครงสร้าง ได้แก่ โครงสร้างที่มี PDB code เป็น 1B9F, 1BI4, 1BIS, 1BIU, 1BIZ, 1BL3, 1EX4, 1EXQ, 1ITG, 1K6Y, 1QS4, 2ITG, 3AO5, 3L3U, 3L3V, 3NF7, 3OVN, 3VQ8 และ 4CIE โดยโครงสร้างทั้งหมดนี้มีลักษณะไม่สมบูรณ์ เช่น ไม่มีตำแหน่งของกรดอะมิโนบางตัว (missing residue) หรือไม่มีตำแหน่งของโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์ ดังตารางที่ 2.1 (รูปที่ 1-20 ในภาคผนวก)

ตารางที่ 2.1 แสดงข้อมูลที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์อินดิเกอร์สทั้ง 19 โครงสร้าง

เอนไซม์อินดิเกอร์ส PDB code	ส่วนประกอบของเอนไซม์		
	โดเมน	ตำแหน่งกรดอะมิโนที่หายไป	โลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์
1B9F	Core domain	189-192	ไม่มีโลหะ
1BI4	Core domain	141-150	ไม่มีโลหะ
1BIS	Core domain	143-150	ไม่มีโลหะ
1BIU	Core domain	141-147	มี Mg ²⁺ 1 ตัว

1BIZ	Core domain	141-148	ไม่มีโลหะ
เอนไซม์อินติเกรส PDB code	ส่วนประกอบของเอนไซม์		
	โดเมน	ตำแหน่งกรดอะมิโนที่หายไป	โลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์
1BL3	Core domain	141-150	มี Mg ²⁺ 1 ตัว
1EX4	Core domain N-domain	142-144	ไม่มีโลหะ
1EXQ	Core domain	144-150	ไม่มีโลหะ
1ITG	Core domain	141-153	ไม่มีโลหะ
1K6Y	Core domain C-domain	47-55, 140-148	ไม่มีโลหะ
1QS4	Core domain	141-144	มี Mg ²⁺ 1 ตัว
2ITG	Core domain	ไม่มีกรดอะมิโนที่หายไป	ไม่มีโลหะ
3AO5	Core domain	139-152, 189-191	ไม่มีโลหะ
3L3U	Core domain	ไม่มีกรดอะมิโนที่หายไป	ไม่มีโลหะ
3L3V	Core domain	143-151	ไม่มีโลหะ
3NF7	Core domain	189-192	ไม่มีโลหะ
3OVN	Core domain	143-151	ไม่มีโลหะ
3VQ8	Core domain	139-151, 189-192	ไม่มีโลหะ
4CIE	Core domain	188-193	ไม่มีโลหะ
3OYA (PFV)	Core domain N-domain N-domain	125-278	มี Mg ²⁺ 2 ตัว

2.2.2 ทำการลบส่วนของโมเลกุลที่ไม่ต้องการออก เช่น น้ำ สารที่ใส่เพื่อช่วยในการตกผลึก ลิแกนด์ ที่ติดมากับโครงสร้างด้วยโปรแกรม ADT

2.2.3 เนื่องจากโครงสร้างของอินดิเกอร์สทั้ง 19 โครงสร้างที่ได้จากข้อ 2.2.1 มีลักษณะไม่สมบูรณ์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาผลของความไม่สมบูรณ์ 2 ประการที่มีต่อโครงสร้างการเข้าจับ นั่นคือ ประการแรก ผลของการขาดตำแหน่งกรดอะมิโนบางตัว และประการที่สอง ผลของการไม่มีตำแหน่งของ โลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์ ดังนั้นในแต่ละโครงสร้าง (แต่ละ PDB code) จะทำการเตรียมโครงสร้าง 3 ระบบ คือ

ระบบที่ 1 ใช้โครงสร้างที่ได้มาจากธนาคารข้อมูลโปรตีนโดยตรง ไม่มีการเติมตำแหน่งของกรดอะมิโนและ โลหะที่ขาดหาย เพียงแต่เติมอะตอมไฮโดรเจนเท่านั้น

ระบบที่ 2 นำโครงสร้างที่ได้มาจากธนาคารข้อมูลโปรตีน มาเติมตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ขาดหายและ อะตอมไฮโดรเจน แต่ไม่เติมตำแหน่งของโลหะ

ระบบที่ 3 เป็นโครงสร้างสมบูรณ์ คือ นำโครงสร้างที่ได้มาจากธนาคารข้อมูลโปรตีน มาเติมตำแหน่งของ กรดอะมิโนที่ขาดหาย ตำแหน่งของโลหะ และอะตอมไฮโดรเจน

2.2.4 การเติมตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ขาดหายจะทำโดยซ้อนทับโครงสร้างแต่ละโครงสร้างเข้ากับโครงสร้างเอชไอวี-1 อินดิเกอร์สที่มี PDB code 3L3U ซึ่งมีกรดอะมิโนครบทุกตำแหน่ง แล้วตัดเอาเฉพาะ ส่วนของกรดอะมิโนที่ขาดหายจากโครงสร้าง 3L3U มาเติมเข้าไปในโครงสร้างที่ต้องการ จากนั้นทำการ ปรับโครงสร้างในส่วนของกรดอะมิโนเหล่านี้ให้เข้ากับโครงสร้างเดิม โดยใช้บริการของเว็บไซต์ Modloop (<https://modbase.compbio.ucsf.edu/modloop>)

2.2.5 ในการเติมตำแหน่งของโลหะที่ขาดหาย จะใช้โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ PFV ซึ่งเป็น เอนไซม์ที่มีความคล้ายคลึงกับอินดิเกอร์สมากและมีตำแหน่งของโลหะครบทั้งสองตัว โดยใช้โครงสร้างที่มี PDB code เป็น 3OYA (จากรูปในภาคผนวกรูปที่ 21) นำโครงสร้างของอินดิเกอร์สแต่ละแบบ แต่ละ โครงสร้างมาซ้อนทับกับ 3OYA แล้วทำการตัดตำแหน่งของโลหะมาใส่ในโครงสร้างของอินดิเกอร์ส

2.2.6 ในโครงสร้างแต่ละแบบ ทำการซ้อนทับโครงสร้าง (superimpose) ทั้ง 19 โครงสร้างเข้าด้วยกัน โดยใช้โครงสร้างเอชไอวี-1 อินดิเกอร์สที่มี PDB code 1QS4 เป็นตัวอ้างอิง เนื่องจากเป็นโครงสร้าง เอชไอวี-1 อินดิเกอร์สเดียวที่สามารถตกผลึกคู่กับสารยับยั้งเป็นโครงสร้างเอกซเรย์ เพื่อความสะดวกในการ วิเคราะห์ผล

2.3 ทำการตรวจสอบความถูกต้องของโปรแกรม AutoDock Vina

ทำการทดสอบความแม่นยำของโปรแกรมสำหรับระบบอินดิเกอร์สด้วยการใช้โครงสร้างทางการ ทดลองของ PFV ที่จับกับโดลูเทกราเวีย (PDB code 3S3M) มาดึงเอาโดลูเทกราเวียออก แล้วใช้โปรแกรม

AutoDock Vina คำนวณการเข้าจับของโดลูเทกราเวียกับ PFV ทำการเปรียบเทียบผลการคำนวณกับโครงสร้างจากการทดลอง

2.4 คำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส

ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างโดลูเทกราเวียกับอินติเกรส จะใช้โปรแกรม AutoDock Vina [13] ซึ่งเป็นโปรแกรมที่ได้รับความนิยมและมีความถูกต้องแม่นยำ

2.3.1 ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล จะต้องทำการกำหนดกล่องครอบคลุมบริเวณของเอนไซม์ที่จะให้โปรแกรมทำการค้นหาตำแหน่งการเข้าจับของลิแกนด์ ในงานนี้ทำการกำหนดกล่องให้ครอบคลุมบริเวณเร่งของอินติเกรส นั่นคือบริเวณของกรดอะมิโน Asp64, Asp116, Glu152 และโลหะ 2 ตัวที่เป็นโคแฟกเตอร์

2.3.2 พารามิเตอร์อื่น ๆ จะใช้ค่าโดยปริยาย (default values) ของโปรแกรม

2.5 การวิเคราะห์ผลการคำนวณ

แบ่งการวิเคราะห์เป็น 2 ส่วนคือ

2.4.1 ศึกษาผลกระทบของโครงสร้างอินติเกรสที่แตกต่างกัน 3 ระบบที่มีต่อโครงสร้างการเข้าจับกับโดลูเทกราเวีย

นำโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณมาทำการวิเคราะห์ผลกระทบของโครงสร้างอินติเกรสที่แตกต่างที่มีต่อโครงสร้างการเข้าจับและอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสกับโดลูเทกราเวีย โดยเอาผลการคำนวณการเข้าจับที่มี PDB code เดียวกันทั้ง 3 ระบบ

2.4.2 วิเคราะห์โครงสร้างเอชไอวี-1 อินติเกรสที่เหมาะสม

นำโครงสร้างการเข้าจับของโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสในระบบที่ 3 ที่เป็น PDB code ที่มีแนวโน้มลำดับพลังงานใกล้เคียงความเป็นจริงคือ ระบบที่ 3 โครงสร้างของอินติเกรสสมบูรณ์มีพลังงานการเข้าจับต่ำที่สุด (เสถียรที่สุด) รองลงมาคือพลังงานการเข้าจับกันของระบบที่ 2 โครงสร้างอินติเกรสมีการเติมกรดอะมิโนบางตัวที่หายไป และพลังงานการเข้าจับกันที่มากที่สุดคือ ระบบที่ 1 โครงสร้างอินติเกรสมีการเติมกรดอะมิโนบางตัวและโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์หายไป มาทำการเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับกับโครงสร้างอ้างอิงที่เป็น PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย เพื่อหาโครงสร้างการเข้าจับที่เหมาะสมโดยใช้เกณฑ์คือ โครงสร้างอินติเกรสที่เหมาะสมต้องมีการเรียงลำดับพลังงานตามแนวโน้มที่กล่าวมาข้างต้น และต้องมีตำแหน่งและทิศทางวางตัวของโดลูเทกราเวียในโครงสร้างนั้น ใกล้เคียงกับตำแหน่งและทิศทางวางตัวของโดลูเทกราเวียในโครงสร้างอ้างอิง

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 ตรวจสอบความแม่นยำของโปรแกรม AutoDock Vina

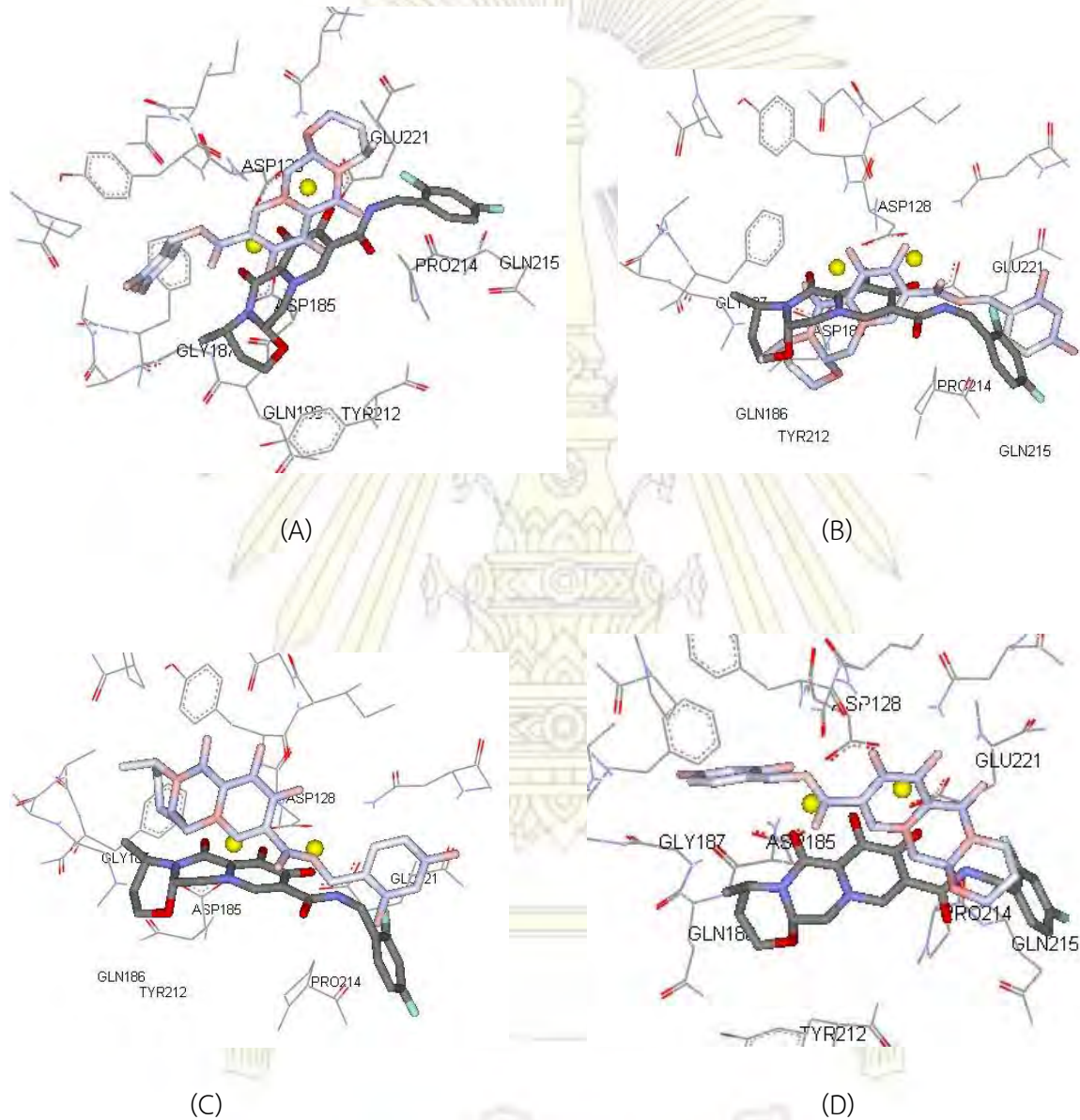
ทำการตรวจสอบความถูกต้องของโปรแกรมโดยนำโครงสร้างเอซเรย์ ของ PFV PDB code 3S3M มาดิงสารยับยั้งที่เป็นโกลูเทกราเวียออก แล้วจึงทำการคำนวณการเข้าจับของ PFV PDB code 3S3M กับ โครงสร้างของโกลูเทกราเวียที่ใส่กลับเข้าไปใหม่ โดยการเริ่มคำสั่งโปรแกรมแต่ละครั้งก็จะได้โครงสร้างการเข้าจับสุดท้ายที่แตกต่างกัน เนื่องจากโปรแกรมพยายามที่จะหาตำแหน่งการเข้าจับที่มีพลังงานต่ำที่สุด จากการทำโปรแกรมเข้าจับ (binding pocket) ในเอนไซม์ (receptor) มีความซับซ้อน ทำให้ตำแหน่งที่ให้ ลิแกนด์ (ligand) เข้าจับมีเยอะ โดยผลดังตาราง 3.1 แสดงรูปแบบการเข้าจับที่แตกต่างกัน 9 แบบ (mode) จากการเริ่มคำสั่งดำเนินการโปรแกรม 1 ครั้ง (1 run) ซึ่งแต่ละแบบการเข้าจับจะให้ค่าพลังงานเป็นค่า Affinity (kcal/mol) ซึ่งบ่งบอกว่ารูปแบบการเข้าจับที่ให้พลังงานการเข้าจับ Affinity (kcal/mol) ต่ำสุด จะมีการเข้าจับกันของเอนไซม์ (receptor) และตัวยับยั้ง (ligand) เสถียรที่สุด

ตารางที่ 3.1 แสดงพลังงานการเข้าจับระหว่างโกลูเทกราเวียกับ PFV

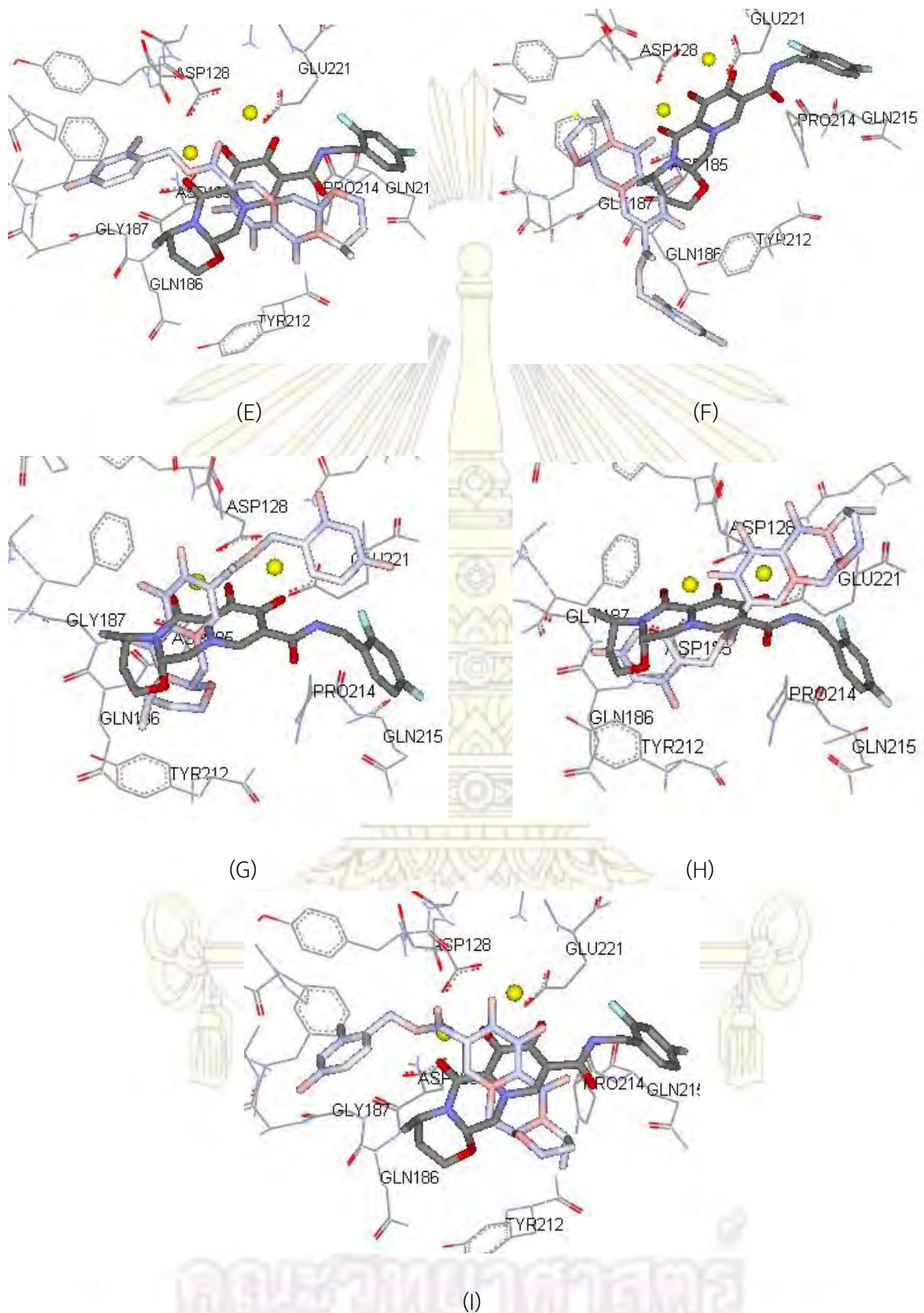
Mode	Affinity (kcal/mol)
1	-7.3
2	-7.1
3	-7.1
4	-7.0
5	-7.0
6	-6.9
7	-6.8
8	-6.8
9	-6.6

หมายเหตุ : Receptor คือ PFV, Ligand คือ โกลูเทกราเวีย

จากนั้นทำการซ้อนทับโครงสร้างที่คำนวณได้ข้างต้นกับโครงสร้างเอกซเรย์ PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่ กับ โดลูเทกราเวีย ดังรูปที่ 3.1 เพื่อดูความใกล้เคียงในการจัดเรียงตัวของโดลูเทกราเวีย



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.1 โครงสร้างที่ได้จากการคำนวณแบบที่ 1 ถึง 9 (mode 1 ถึง mode 9 แสดงในรูปที่ (A) ถึง (I) (ตามลำดับ) ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง

หมายเหตุ : ในการดำเนินคำสั่งโปรแกรม 1 ครั้ง (1 run) ได้โครงสร้างการเข้าจับต่างกัน 9 แบบ (mode) แต่ละแบบ คือโครงสร้างการเข้าจับของโกลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ PFV (3S3M) ซึ่งได้จากการคำนวณและโครงสร้างอ้างอิง คือโครงสร้างเอกเซอร์เรย์ของ PFV (3S3M) ที่ตกผลึกคู่กับโกลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)

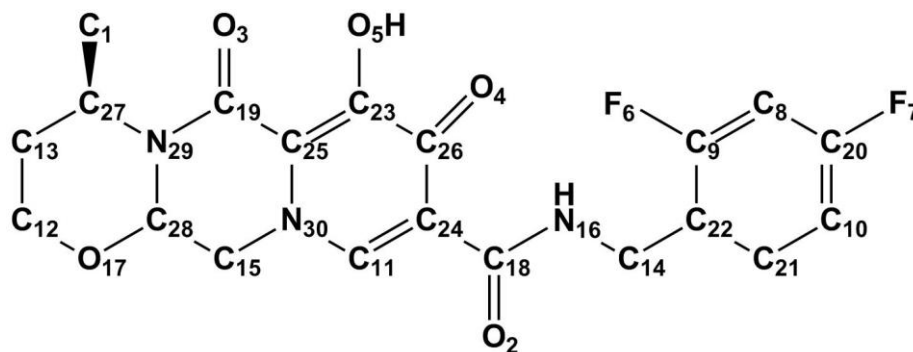
จากผลดังตารางประกอบกับรูปเมื่อนำมาวิเคราะห์พบว่า ผลการคำนวณของแบบที่ 1 มีพลังงานการเข้าจับระหว่างโกลูเทกราเวียกับ PFV (3S3M) ต่ำสุดคือ -7.3 kcal/mol แต่เมื่อนำมาซ้อนทับกับโครงสร้างเอกเซอร์เรย์ของ PFV (3S3M) ที่ตกผลึกคู่กับโกลูเทกราเวีย กลับพบว่าการจัดเรียงตัวของโกลูเทกราเวียจากทั้ง 2 ระบบไม่มีความใกล้เคียงกัน แต่โครงสร้างแบบที่ 2 มีพลังงานการเข้าจับเป็นลบน้อยกว่าคือ -7.1 kcal/mol เมื่อนำมาซ้อนทับกับโครงสร้างเอกเซอร์เรย์ของ PFV (3S3M) ที่ตกผลึกคู่กับโกลูเทกราเวีย มีรูปแบบการจัดตัวของโกลูเทกราเวียของ 2 ระบบใกล้เคียงกันมากกว่าแบบที่ 1 ซึ่งจะเห็นได้ว่าโครงสร้างแบบที่ 1 กับ แบบที่ 2 มีพลังงานต่างกันน้อยมาก ดังนั้นจึงไม่แปลกที่โครงสร้างของโกลูเทกราเวียในแบบที่ 2 จะใกล้เคียงกับโกลูเทกราเวียในโครงสร้างเอกเซอร์เรย์ของ PFV มากกว่า เนื่องจากหลักการของ AutoDock Vina คือ genetic algorithm ซึ่งใช้การสุ่มอยู่ตลอดเวลาในการหาตำแหน่งและทิศทางของลิแกนด์ (ligand) ดังนั้นการเริ่มคำสั่งดำเนินการแต่ละครั้ง ก็จะได้โครงสร้างการเข้าจับสุดท้ายที่แตกต่างกัน ดังจะเห็นได้จากผลการคำนวณที่ได้โครงสร้างมา 9 รูปแบบที่แตกต่างกัน ซึ่งโพรงการเข้าจับ (binding pocket) ในเอนไซม์มีความซับซ้อน ดังนั้นจึงมีตำแหน่งให้ลิแกนด์ (ligand) เข้าจับได้เยอะมาก และโปรแกรมก็พยายามที่จะหาตำแหน่งที่มีพลังงานต่ำที่สุด และในความเป็นจริงขณะที่ลิแกนด์ (ligand) เข้าจับกับตัวรับ (receptor) นั้นมีปัจจัยมากมายที่เป็นตัวกำหนดตำแหน่งและทิศทางการเข้าจับ แต่โปรแกรม AutoDock Vina ไม่สามารถคำนวณปัจจัยเหล่านี้ได้ทั้งหมด ดังนั้นตำแหน่งที่โปรแกรม AutoDock Vina คำนวณว่ามีพลังงานต่ำที่สุด อาจจะไม่ใช่ตำแหน่งการเข้าจับจริงก็เป็นได้ เพราะโปรแกรมทำหน้าที่เพียงแค่การคาดเดาโอกาสที่เป็นไปได้มากที่สุดเท่านั้น

3.2 ศึกษาผลกระทบของโครงสร้างอินดิเกอร์ที่แตกต่างกัน 3 ระบบที่มีต่อโครงสร้างการเข้าจับกับโกลูเทกราเวีย

3.2.1 การเข้าจับระหว่างโกลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกอร์ระบบที่ 1

ผลจากการคำนวณการเข้าจับระหว่างโกลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกอร์ทั้งหมด 19 โครงสร้าง ในบริเวณที่เป็นบริเวณเร่ง ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina แสดงผลเป็นรูปแบบการเข้าจับที่ให้พลังงานเป็นค่า Affinity (kcal/mol) ที่ต่ำที่สุด จากการเริ่มคำสั่งดำเนินการโปรแกรม 1 ครั้ง (1 run) ในแต่ละโครงสร้างของเอชไอวี-1 อินดิเกอร์ (แต่ละ PDB code) และข้อมูลพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างโกลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกอร์ รวมถึงระยะห่างในหน่วยอังสตรอม ซึ่งแสดงเป็นตำแหน่งของกรดอะมิโนของอินดิเกอร์ที่เข้าจับกับยาโกลูเทกราเวีย ได้ผลดังตารางที่ 3.2 และดังรูปที่ 3.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.2 โครงสร้างของยาโดลูเทกราเวีย

ตารางที่ 3.2 ผลการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกราสทั้งหมด 19 โครงสร้าง (ระบบที่1) รวมถึง PFV 1 โครงสร้าง

Receptor	H-bond Monitors			Distance (Å)	Affinity (kcal/mol)
	ligand	receptor			
	Atom type	Atom type	Residue No.		
1B9F	O2	OE2	Glu152	3.18	-5.8
1BI4	F7	HN3	Ile51	2.35	-4.3
1BIS	None-Hbond				-4.5
1BIU					-5.6
1BIZ					-5.3
1BL3	F7	HN	Glu152	2.40	-4.3
		NH3	Ile151	2.01	
1EX4	N16	OD2	Asp116	3.04	-4.9
	F6	HD	Asn155	2.37	
1EXQ	None-Hbond				-5.3
1ITG	O17	HN	Cys65	2.46	-7.0
1K6Y	O3	OG1	Thr66	3.19	-6.6
	O5	OG1	Thr66	2.81	
1QS4	F6	N	Gly140	3.15	0.3
	F7	NE2	Gln148	2.70	
2ITG	O5	OD1	Asn155	3.05	-6.6
3AO5	None-Hbond				-3.9
3L3U					-7.7
3L3V					-5.2
3NF7	O3	OD1	Asp64	3.035	-7.3
	O5	OD1	Asp64	3.19	
	O4	O	Asp116	2.77	
	O2	O	Gly140	3.09	

Receptor	H-bond Monitors			Distance (Å)	Affinity (kcal/mol)
	ligand	receptor			
	Atom type	Atom type	Residue No.		
3OVN	O2	N	Glu152	3.12	-6.0
3VQ8	N16	N	Glu152	3.09	-5.5
	F7	HN2	Glu152	2.50	
4CIE	O3	O	Gly140	2.99	-6.1
	F7	HD21	Asn155	2.30	
3OYA	F7	HZ3	Lys228	2.44	-7.8

หมายเหตุ : **Receptor** คือ เอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสในแต่ละ PDB code, **Ligand** คือ โดลูเทกราเวีย **Non-Hbond** คือ ไม่เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code นั้น ๆ กับ โดลูเทกราเวีย

3.2.2 การเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสระบบที่ 2

ผลจากการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้งหมด 19 โครงสร้าง ในบริเวณที่เป็นบริเวณเร่ง ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina แสดงผลเป็นรูปแบบการเข้าจับที่ให้พลังงานเป็นค่า Affinity (kcal/mol) ที่ต่ำที่สุด จากการเริ่มคำสั่งดำเนินการโปรแกรม 1 ครั้ง (1 run) ในแต่ละโครงสร้างของเอชไอวี-1 อินติเกรส (แต่ละ PDB code) และข้อมูลพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส รวมถึงระยะห่างในหน่วยอังสตรอม ซึ่งแสดงเป็นตำแหน่งของกรดอะมิโนของอินติเกรสที่เข้าจับกับยาโดลูเทกราเวีย ได้ผลดังตารางที่ 3.3

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.3 ผลการเข้าจับระหว่างโดเมนเทราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกอร์ทั้งหมด 19 โครงสร้าง (ระบบที่ 2) รวมถึง PFV 1 โครงสร้าง

Receptor	H-bond Monitors			Distance (Å)	Affinity (kcal/mol)
	Ligand	Receptor			
	Atom type	Atom type	Residue No.		
1B9F	F7	HN	Cys65	2.22	-6.1
1BI4	F7	HG1	Thr66	2.30	62
1BIS	O4	OH	Thr143	1.81	-2.6
	N16	OH	Thr143	2.71	
1BIU	F6	HN	Asn117	1.70	-3.5
1BIZ	None-Hbond				-5.0
1BL3					5.3
1EX4					-5.8
1EXQ	F6	HN	Gln146	2.22	-5.6
1ITG	O3	OG	Ser153	2.90	-6.1
	O5	OG	Ser153	2.90	
1K6Y	N16	OD2	Asp116	3.19	-4.4
	F6	HN	Asn120	2.10	
1QS4	O2	OD2	Asp116	3.13	-1.2
	O2	OD2	Asp64	3.04	
	O3	OE2	Glu152	2.69	
2ITG	None-Hbond				-6.6

Receptor	H-bond Monitors			Distance (Å)	Affinity (kcal/mol)
	Ligand	Receptor			
	Atom type	Atom type	Residue No.		
3AO5	F6	HD22	Asn120	2.29	44.2
	N30	HH	Tyr143	2.31	
	O2	SG	Cry65	2.53	
	O2	OD2	Asp116	2.89	
	N16	OD1	Asp64	3.14	
	N16	OD2	Asp116	2.21	
3L3U	None-Hbond				-7.7
3L3V	O2	OH	Thr143	3.16	-1.8
3NF7	O4	O	Asp116	2.63	-6.9
	O2	O	Gly140	3.06	
3OVN	None-Hbond				-5.9
3VQ8	None-Hbond				-3.9
4CIE	O7	HN	Gly140	2.06	-6.6
3OYA(PFV)	None-Hbond				-7.7

หมายเหตุ : Receptor คือ เอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสในแต่ละ PDB code, Ligand คือ โดลูเทกราเวีย
 Non-Hbond คือ ไม่เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code
 นั้น ๆ กับ โดลูเทกราเวีย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.3 การเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสระบบที่ 3

ผลจากการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้งหมด 19 โครงสร้างที่มีการเติมโครงสร้างให้สมบูรณ์ ในบริเวณที่เป็นบริเวณเร่ง (รูปที่ 22-40 ในภาคผนวก) ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina แสดงผลเป็นรูปแบบการเข้าจับที่ให้พลังงานเป็นค่า Affinity (kcal/mol) ที่ต่ำที่สุด จากการเริ่มคำสั่งดำเนินการโปรแกรม 1 ครั้ง (1 run) ในแต่ละโครงสร้างของเอชไอวี-1 อินติเกรส (แต่ละ PDB code) และข้อมูลพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส รวมถึงระยะห่างในหน่วยอังสตรอม ซึ่งแสดงเป็นตำแหน่งของกรดอะมิโนของอินติเกรสที่เข้าจับกับยาโดลูเทกราเวีย ได้ผลดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ผลการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้งหมด 19 โครงสร้าง (ระบบที่3) รวมถึง PFV 1 โครงสร้าง

Receptor	H-bond Monitors			Distance (Å)	Affinity (kcal/mol)
	Ligand	Receptor			
	Atom type	Atom type	Residue No.		
1B9F	Non-Hbond				-5.9
1BI4	O3	OD2	Asp116	3.12	-2.5
	O5	O	Cys65	2.75	
1BIS	O4	OH	Thr143	2.55	50.1
	O2	O	Ser147	2.78	
	O2	O	Gln148	3.04	
1BIU	O5	OE2	Glu152	3.15	16.2
	O4	OE2	Glu152	2.39	
1BIZ	O2	OD1	Asn155	3.13	-5.3
1BL3	O3	O	GLy140	2.20	24.5
	F6	HZ3	Lys159	2.42	

Receptor	H-bond Monitors			Distance (Å)	Affinity (kcal/mol)
	Ligand	Receptor			
	Atom type	Atom type	Residue No.		
1EX4	N16	O	Cys65	3.01	36.6
1EXQ	O3	O	Glu152	2.94	-6.3
	O3	O	Val151	3.17	
1ITG	None-Hbond				-5.1
1K6Y	None-Hbond				-6.1
1QS4	O3	OE2	Glu152	2.80	-2.1
2ITG	O3	OD1	Asn155	3.20	-6.7
	O5	OD1	Asn155	2.97	
3AO5	O2	SG	Cys65	2.63	47.2
	O2	OD2	Asp116	2.83	
	N16	OD1	Asp116	3.12	
	N16	OD2	Asp116	2.56	
	F7	HN	Gly118	2.08	
	F6	HD22	Asn120	1.63	
3L3U	None-Hbond				-6.4
3L3V	None-Hbond				1.3
3NF7	None-Hbond				-6.7
3OVN	O3	OD1	Asp64	3.07	-5.7
3VQ8	None-Hbond				-5.1

Receptor	H-bond Monitors			Distance (Å)	Affinity (kcal/mol)
	Ligand	Receptor			
	Atom type	Atom type	Residue No.		
4CIE	None-Hbond				-6.1
3OYA(PFV)	F7	HZ3	Lys228	2.48	-7.7

หมายเหตุ : Receptor คือ เอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสในแต่ละ PDB code, Ligand คือ โดลูเทกราเวีย
Non-Hbond คือ ไม่เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code
นั้น ๆ กับ โดลูเทกราเวีย

3.2.4 วิเคราะห์เปรียบเทียบค่า Affinity ที่ได้จากการคำนวณทั้ง 3 ระบบ

เมื่อทำการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้งหมด 19 โครงสร้าง
ของทั้ง 3 ระบบ ในบริเวณที่เป็นบริเวณเร่ง ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina ซึ่งแสดงผลเป็นรูปแบบการเข้า
จับที่ให้พลังงานเป็นค่า Affinity (kcal/mol) ที่ต่ำที่สุด จากการเริ่มคำสั่งดำเนินการโปรแกรม 1 ครั้ง
(1 run) ในแต่ละโครงสร้างของเอชไอวี-1 อินติเกรส (แต่ละ PDB code) นำผลของการเข้าจับระหว่าง
โดลูเทกราเวีย กับ เอชไอวี-1 อินติเกรสใน PDB code เดียวกันมาเปรียบเทียบกันทั้ง 3 ระบบ ได้ผลดัง
ตารางที่ 3.5

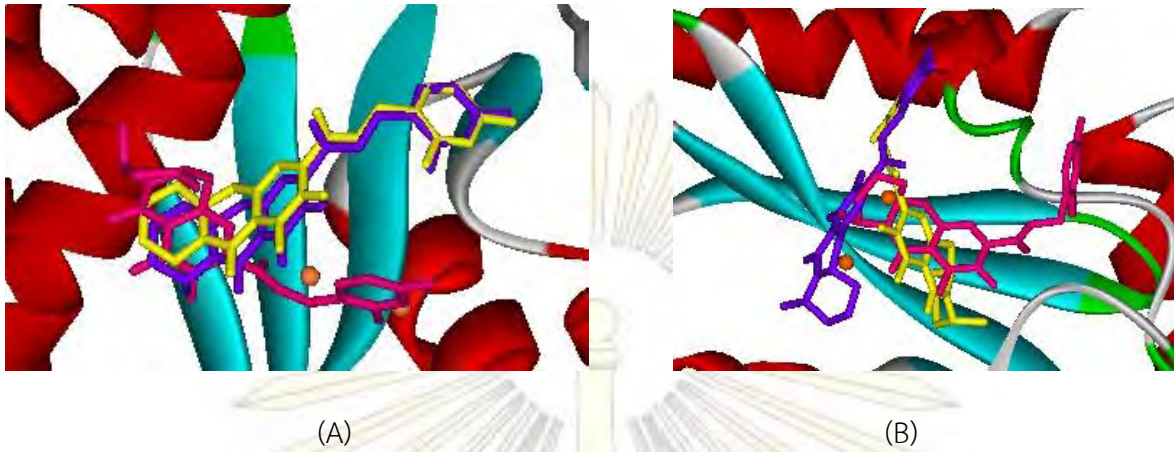
ตารางที่ 3.5 ผลเปรียบเทียบค่าพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้ง 3
ระบบ

Receptor	Affinity (kcal/mol)		
	System 1	System 2	System 3
1B9F	-5.8	-6.1	-5.9
1BI4	-4.3	62	-2.5
1BIS	-4.5	-2.6	50.1
1BIU	-5.8	-3.5	16.2
1BIZ	-5.3	-5.0	-5.3

Receptor	Affinity (kcal/mol)		
	System 1	System 2	System 3
1BL3	-4.3	5.3	24.5
1EX4	-4.9	-5.8	36.6
1EXQ	-5.3	-5.6	-6.3
1ITG	-7.0	-6.1	-5.1
1K6Y	-6.6	-4.4	-6.1
1QS4	0.3	-1.2	-2.1
2ITG	-6.6	-6.6	-6.7
3AO5	-3.9	44.2	47.2
3L3U	-7.7	-7.7	-6.4
3L3V	-5.2	-1.8	1.3
3NF7	-7.3	-6.9	-6.7
3OVN	-6.0	-5.9	-5.7
3VQ8	-5.5	-3.9	-5.1
4CIE	-6.1	-6.6	-6.1
3OYA	-7.8	-7.7	-7.7

หมายเหตุ : Receptor คือ เอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสในแต่ละ PDB code Ligand คือ โดลูเทกราเวีย

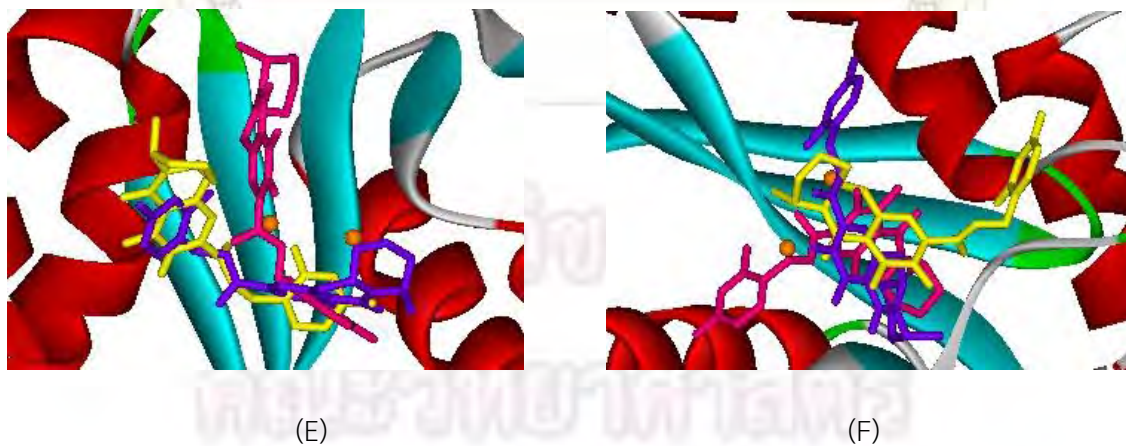
จากการศึกษาผลของการใช้โครงสร้างอินติเกรสทั้ง 3 ระบบที่มีการเติมและไม่เติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไป รวมถึงการเติมและไม่เติมตำแหน่งของโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์ ผลการคำนวณพบว่าโครงสร้างจำนวน 8 โครงสร้างได้แก่ โครงสร้างเอชไอวี-1 อินติเกรสที่มี PDB code เป็น 1BI4, 1BIS, 1BIU, 1QS4, 3L3V, 1BL3, 1EX4 และ 3AO5 ให้ค่าพลังงานการเข้าจับที่เป็นบวก บ่งชี้ว่าโครงสร้างเหล่านี้ไม่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการคำนวณ จากนั้นนำโครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสที่มี PDB code เดียวกันซ้อนทับกันทั้ง 3 ระบบดังแสดงในรูปที่ 3.3



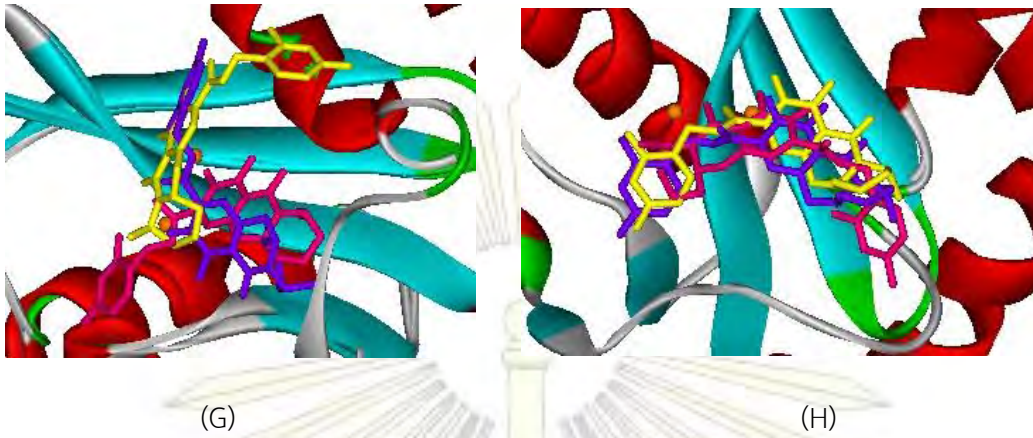
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกรส 1B9F(A) และ 1BI4(B)
ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน



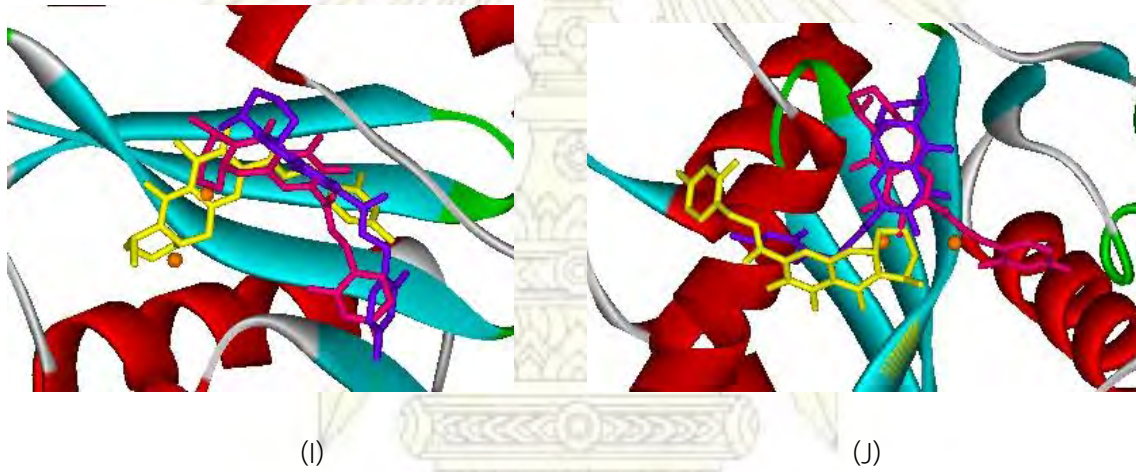
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกรส 1BIS(C) และ 1BIU(D)
ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน



รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกรส 1BIZ(E) และ 1BL3(F)
ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน



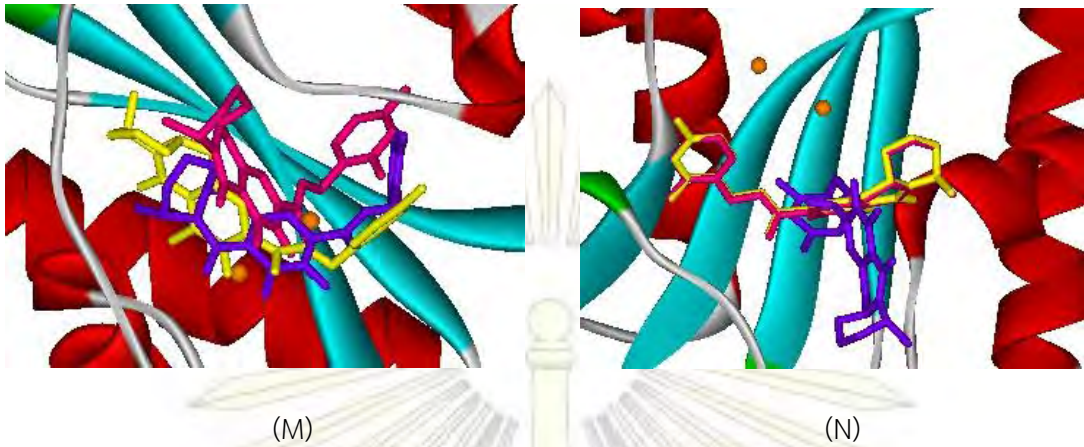
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินทิเกรส 1EX4(G) และ 1EXQ(H)
ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน



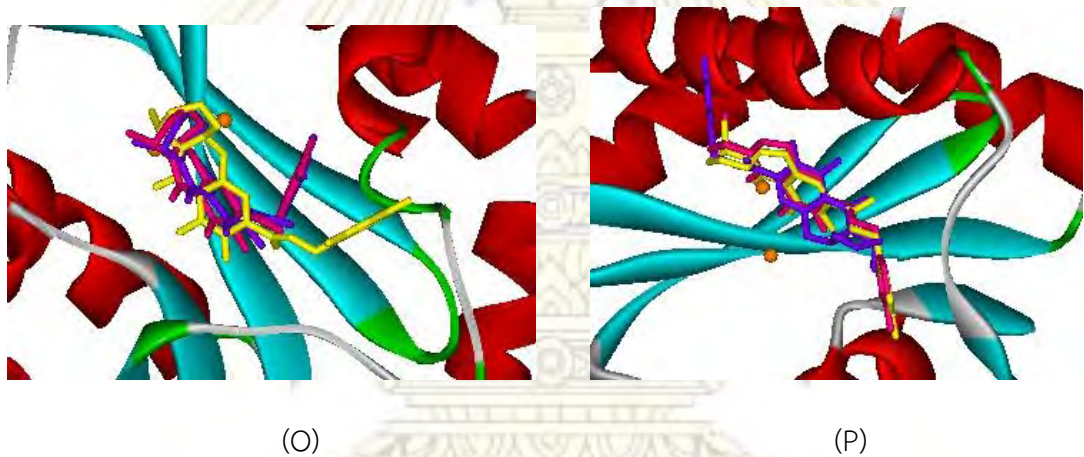
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินทิเกรส 1ITG(I) และ 1K6Y(J)
ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน



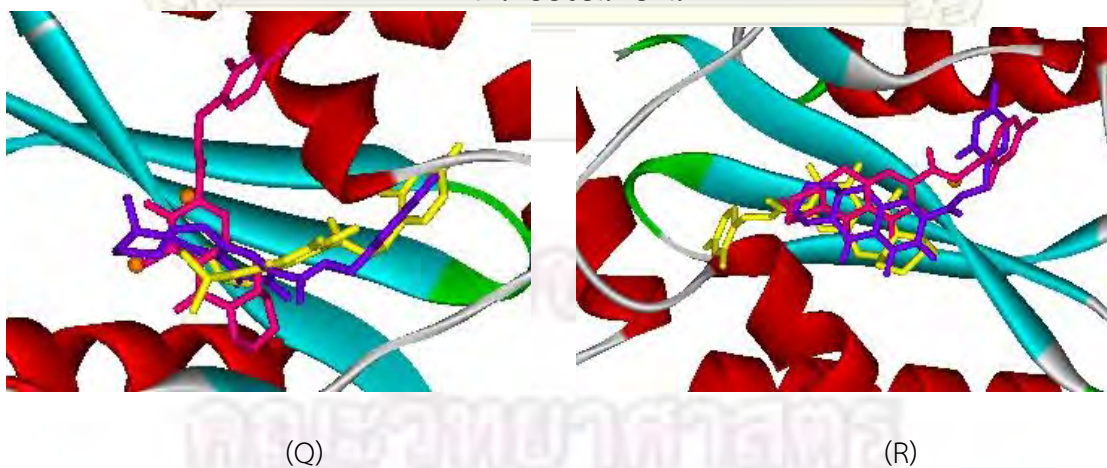
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินทิเกรส 1QS4(K) และ 2ITG(L)
ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน



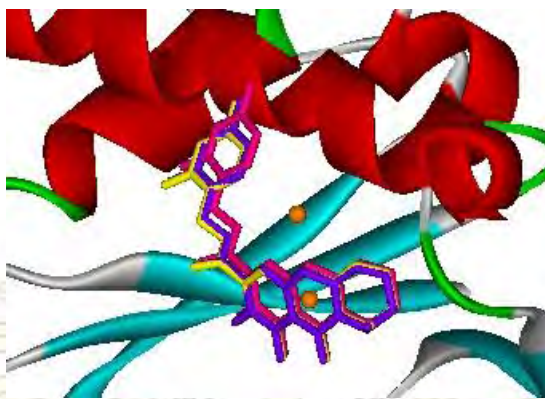
รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 3AO5(M) และ 3L3U(N) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน



รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 3L3V(O) และ 3NF7(P) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน



รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส 3OVN(Q) และ 3VQ8(R) ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน

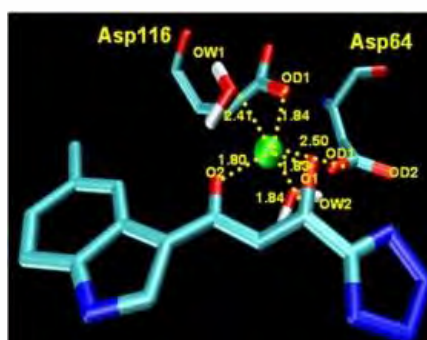


(S)

รูปที่ 3.3 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอซไคว-1 อินดิเกรส 4CIE(S)
ทั้ง 3 ระบบซ้อนทับกัน

หมายเหตุ : โดลูเทกราเวียที่เข้าจับกับโครงสร้างเอนไซม์อินดิเกรสแบบที่ 1 แทนด้วยสีเหลือง
โดลูเทกราเวียที่เข้าจับกับโครงสร้างเอนไซม์อินดิเกรสแบบที่ 2 แทนด้วยสีชมพู
โดลูเทกราเวียที่เข้าจับกับโครงสร้างเอนไซม์อินดิเกรสแบบที่ 3 แทนด้วยสีม่วง

จากรูปที่ 3.3 พบว่า โครงสร้างของเอซไคว-1 อินดิเกรสที่แตกต่างกันโดยใช้โครงสร้างอินดิเกรสที่มีการเติมและไม่เติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไป รวมถึงการเติมและไม่เติมตำแหน่งของโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์ ส่งผลให้ตำแหน่งและทิศทางการเข้าจับของโดลูเทกราเวียมีแนวโน้มแตกต่างกัน เห็นได้ว่าลำดับอะมิโนที่ขาดหายไปส่วนใหญ่เป็นตำแหน่งที่ 140-150 ซึ่งตำแหน่งนี้มีความสำคัญต่อการเข้าจับของสารยับยั้ง และโลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์ก็มีความสำคัญต่อรูปแบบการเข้าจับกันของอินดิเกรสและโดลูเทกราเวียเช่นกันดังรูปที่ 3.4 ที่พบว่าเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างสารยับยั้งกับโลหะภายในโครงสร้างเอนไซม์



รูปที่ 3.4 พันธะไฮโดรเจนที่เกิดระหว่างสารยับยั้ง 5CITEP ในเอนไซม์เอซไคว-1 อินดิเกรส PDB code 1QS4 กับ Mg^{2+} [28]

รวมถึงอาจเกี่ยวข้องกับการที่โปรแกรม AutoDock Vina ใช้ genetic algorithm ซึ่งมีการสุ่มอยู่ตลอดเวลา ในการหาตำแหน่งและทิศทางของลิแกนด์ (ligand) ดังที่กล่าวมาข้างต้น ตำแหน่งการเข้าจับที่เกิดขึ้น อาจจะไม่ใช่ตำแหน่งการเข้าจับจริงก็เป็นได้ เพราะโปรแกรมทำหน้าที่เพียงแค่การคาดเดาโอกาสที่เป็นไปได้มากที่สุดเท่านั้น

3.2.5 ผลการเปรียบเทียบค่าพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส ทั้ง 3 แบบเฉพาะ PDB code ที่มีอาจจะเป็นโครงสร้างที่เหมาะสม

จากการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสทั้ง 19 โครงสร้าง เมื่อพิจารณาจากผลที่ได้ทั้ง 3 ระบบพบว่า โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 1EXQ และ 2ITG มีพลังงานการเข้าจับเป็นไปตามแนวโน้มที่สอดคล้องกับความเป็นจริงคือ โครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสที่มีโครงสร้างสมบูรณ์ (ระบบที่ 3) จะมีพลังงานต่ำที่สุด รองลงมาคือ การเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสที่มีโครงสร้างที่มีการเติมองค์ประกอบบางส่วนที่จำเป็นและขาดหายไป (ระบบที่ 2) และพลังงานการเข้าจับที่มากที่สุดคือ พลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรสที่มีโครงสร้างไม่สมบูรณ์ (ระบบที่ 1) ดังตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 ผลเปรียบเทียบค่าพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code ที่มีพลังงานเรียงลำดับจากมากไปน้อย

Receptor	Affinity (kcal/mol)		
	System 1	System 2	System 3
1EXQ	-5.3	-5.6	-6.3
2ITG	-6.6	-6.6	-6.7

หมายเหตุ : Receptor คือ เอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรสในแต่ละ PDB code, Ligand คือ โดลูเทกราเวีย

3.3 วิเคราะห์โครงสร้างเอชไอวี-1 อินติเกรสที่เหมาะสม

ทำการวิเคราะห์หาโครงสร้างของเอชไอวี-1 อินติเกรสที่เหมาะสม โดยเลือกโครงสร้างตามเกณฑ์ของแนวโน้มพลังงานการเข้าจับที่สอดคล้องกับความเป็นจริงข้างต้นดังข้อ 3.2.5 และมีตำแหน่งและทิศทางการเข้าจับของโดลูเทกราเวีย ใกล้เคียงกับการตำแหน่งและทิศทางการวางตัวของโดลูเทกราเวียที่ตกผลึกคู่กับโครงสร้างอ้างอิง โดยนำโครงสร้างดังกล่าวเฉพาะที่มีโครงสร้างสมบูรณ์ (แบบที่ 3) เนื่องจากโครงสร้างที่สมบูรณ์มีพลังงานการเข้าจับต่ำสุดเสถียรที่สุด มาซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิงที่เป็น PFV PDB code 3S3M โดยจากการค้นข้อมูลพบว่าเป็นโครงสร้างที่มีความใกล้เคียงกับโครงสร้างของเอชไอวี-1 อินติเกรสและสามารถตกผลึกโครงสร้างได้เป็นโครงสร้างเอกซเรย์คู่กับโดลูเทกราเวีย

3.3.1 ทำการซ้อนทับระบบที่คัดเลือกมาทุกค่าพลังงานในการเข้าจับ 1 ครั้ง กับโครงสร้างอ้างอิงชนิด PFV

ทำการซ้อนทับโครงสร้างการเข้าจับทุกรูปแบบพลังงานระหว่างโดลูทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส ดังกล่าวกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M โดยการเริ่มคำสั่งโปรแกรมแต่ละครั้งก็จะได้โครงสร้างการเข้าจับสุดท้ายที่แตกต่างกัน จากการเริ่มคำสั่งดำเนินการโปรแกรม 1 ครั้ง (1 run) ได้ผลดังตารางที่ 3.7 แสดงรูปแบบการเข้าจับระหว่างโดลูทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 1EXQ ที่แตกต่างกัน 9 แบบ (mode) รูปที่ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิงรูปในภาคผนวกรูปที่ 41-49 ตารางที่ 3.8 แสดงรูปแบบการเข้าจับระหว่างโดลูทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 2ITG ที่แตกต่างกัน 9 แบบ (mode) รูปที่ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิงรูปในภาคผนวกรูปที่ 50-58 ซึ่งแต่ละแบบการเข้าจับจะให้ค่าพลังงานเป็นค่า Affinity (kcal/mol) ซึ่งบ่งบอกว่ารูปแบบการเข้าจับที่ให้พลังงานการเข้าจับ Affinity (kcal/mol) ต่ำสุด จะมีการเข้าจับกันของเอนไซม์ (receptor) และตัวยับยั้ง (ligand) เสถียรที่สุด

ตารางที่ 3.7 แสดงพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 1EXQ ระบบที่ 3

Mode	Affinity (kcal/mol)
1	-6.3
2	-5.9
3	-5.8
4	-5.6
5	-5.5
6	-5.5
7	-5.2
8	-4.6
9	-4.4

หมายเหตุ : Receptor คือ เอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 1EXQ, Ligand คือ โดลูทกราเวีย

ตารางที่ 3.8 แสดงพลังงานการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 2ITG ระบบที่ 3

Mode	Affinity (kcal/mol)
1	-6.7
2	-6.5
3	-6.2
4	-6.0
5	-5.8
6	-5.7
7	-5.4
8	-5.4
9	-5.0

หมายเหตุ : Receptor คือ เอนไซม์เอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 2ITG, Ligand คือ โดลูเทกราเวีย

จากการวิเคราะห์ข้อมูลข้างต้นพบว่า มีเพียงโครงสร้างการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวียกับเอนไซม์เอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 1EXQ ที่เป็นไปตามเกณฑ์ของการเลือกโครงสร้างที่เหมาะสมที่ต้องมีแนวโน้มพลังงานการเข้าจับที่สอดคล้องกับความเป็นจริงข้างต้นดังข้อ 3.2.5 และมีตำแหน่งและทิศทางการเข้าจับของโดลูเทกราเวีย ใกล้เคียงกับการตำแหน่งและทิศทางการวางตัวของโดลูเทกราเวียที่ตกผลึกคู่กับโครงสร้างอ้างอิง ซึ่งก็คือโครงสร้างเอนไซม์เอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 1EXQ แบบที่ 6 (รูปที่ 45 ในภาคผนวก) และ 9 (รูปที่ 48 ในภาคผนวก) ซึ่งมีค่า Affinity คือ -5.5 และ -4.4 Kcal/mol ตามลำดับ ซึ่งโครงสร้างการเข้าจับแบบที่ 6 และ 9 ไม่ได้มีพลังงานต่ำสุดแต่มีตำแหน่งและทิศทางการวางตัวของโดลูเทกราเวียใกล้เคียงกับโดลูเทกราเวียในโครงสร้างอ้างอิง เนื่องจากเหตุผลที่กล่าวมาแล้วว่า AutoDock Vina ใช้ genetic algorithm ซึ่งใช้การสุ่มอยู่ตลอดเวลาในการหาตำแหน่งและทิศทางของลิแกนด์ (ligand) และด้วยความซับซ้อนของโพรงการเข้าจับ (binding pocket) ในเอนไซม์ จึงมีตำแหน่งให้ลิแกนด์ (ligand) เข้าจับได้เยอะมาก โดยโปรแกรมก็พยายามที่จะหาตำแหน่งที่มีพลังงานต่ำที่สุด และในความเป็นจริงขณะที่ลิแกนด์ (ligand) เข้าจับกับตัวรับ (receptor) นั้นมีปัจจัยมากมายที่เป็นตัวกำหนดตำแหน่งและทิศทางการเข้าจับ แต่โปรแกรม AutoDock Vina ไม่สามารถคำนวณปัจจัยเหล่านี้ได้ทั้งหมด ดังนั้นตำแหน่งที่โปรแกรม AutoDock Vina คำนวณว่ามีพลังงานต่ำที่สุด อาจจะไม่ใช่ตำแหน่งการเข้าจับจริงก็เป็นได้ เพราะโปรแกรมทำหน้าที่เพียงแค่การคาดเดาโอกาสที่เป็นไปได้มากที่สุดเท่านั้น ดังนั้นโครงสร้างที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการคำนวณในอนาคตคือ โครงสร้างอินดิเกรสที่มี PDB code 1EXQ

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาหาผลกระทบของการใช้โครงสร้างของอินดิเกรสที่แตกต่างกันที่มีต่อการคำนวณการเข้าจับระหว่างเอชไอวี-1 อินดิเกรสกับยาโดลูเทกราเวีย โดยใช้โครงสร้างของอินดิเกรสที่แตกต่างกันจำนวน 19 โครงสร้างที่ได้มาจากธนาคารข้อมูลโปรตีน และใช้โปรแกรม AutoDock Vina ในการคำนวณ พบว่า มีโครงสร้างจำนวน 8 โครงสร้างให้ค่าพลังงานการเข้าจับที่เป็นบวก บ่งชี้ว่าโครงสร้างเหล่านี้ไม่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการคำนวณ เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างแบบที่ไม่เติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไปและไม่เติมโลหะ (โครงสร้างระบบที่ 1) โครงสร้างแบบที่มีการเติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไปแต่ไม่เติมโลหะ (โครงสร้างระบบที่ 2) และ โครงสร้างแบบที่มีการเติมกรดอะมิโนที่ขาดหายไปและโลหะทั้ง 2 ตัว (โครงสร้างระบบที่ 3) พบว่ามีเพียง 3 โครงสร้างที่มีลำดับค่าพลังงานการเข้าจับที่สอดคล้องกับความเป็นจริง นั่นคือ โครงสร้างที่มี PDB code เป็น 1EXQ และ 2ITG และเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลโครงสร้างการเข้าจับที่คำนวณได้กับโครงสร้างการเข้าจับทางการทดลองของ PFV กับโดลูเทกราเวีย พบว่าโครงสร้างที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการคำนวณในอนาคตคือ โครงสร้างที่มี PDB code 1EXQ

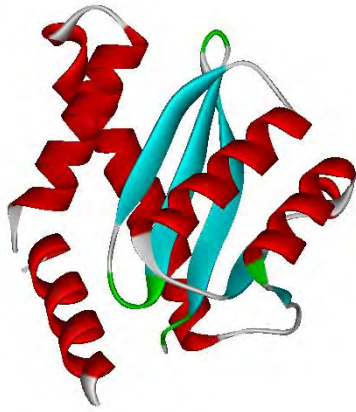
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



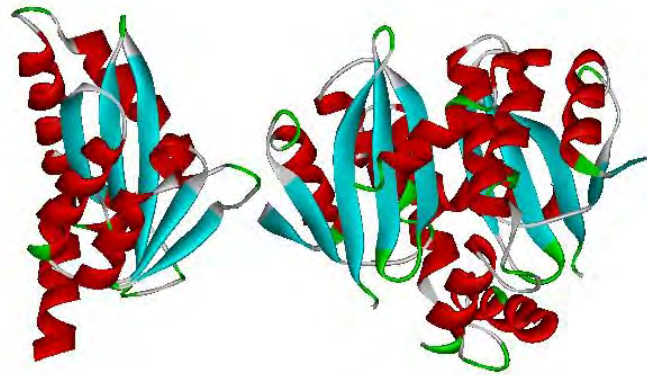
ภาคผนวก

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

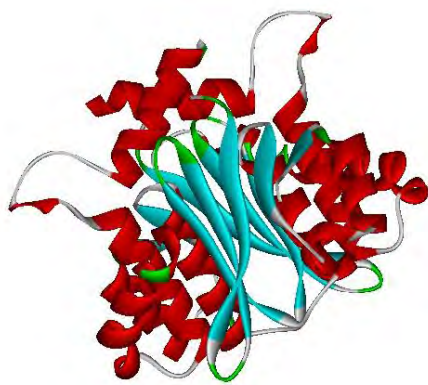
รูปโครงสร้างเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส 19 โครงสร้างที่ได้จากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีน



รูปที่ 1 โครงสร้างของอินติเกรส 1B9F [14]



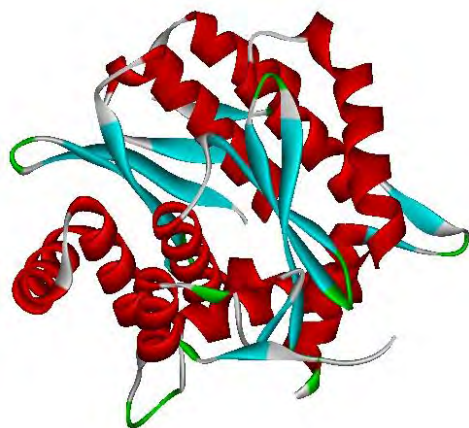
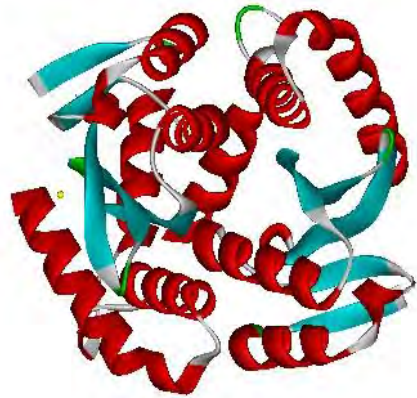
รูปที่ 2 โครงสร้างของอินติเกรส 1BI4 [15]



รูปที่ 3 โครงสร้างของอินติเกรส 1BIS [16]



รูปที่ 4 โครงสร้างของอินติเกรส 1BIU [16]

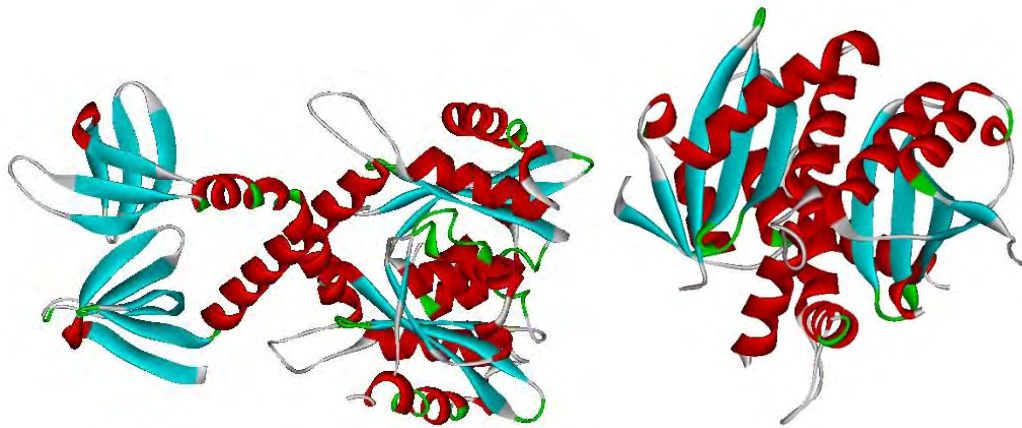


รูปที่ 5 โครงสร้างของอินติเกรส 1BIZ [16]



รูปที่ 6 โครงสร้างของอินติเกรส 1BL3 [15]





รูปที่ 7 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 1EX4 [17]

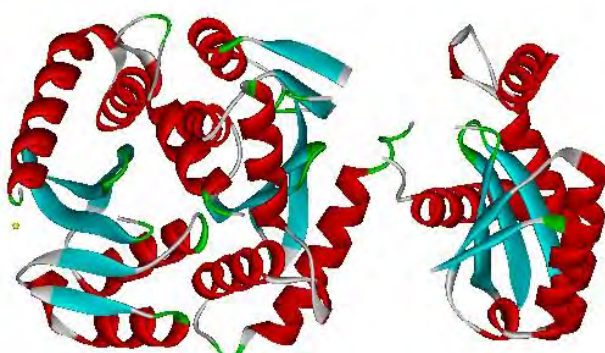
รูปที่ 8 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 1EXQ [17]



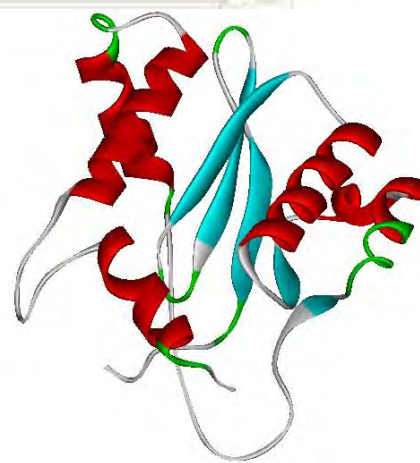
รูปที่ 9 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 1ITG [18]



รูปที่ 10 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 1K6Y [19]



รูปที่ 11 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 1QS4 [20]



รูปที่ 12 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 2ITG [21]



รูปที่ 13 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 3AO5 [22]



รูปที่ 14 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 3L3U [23]



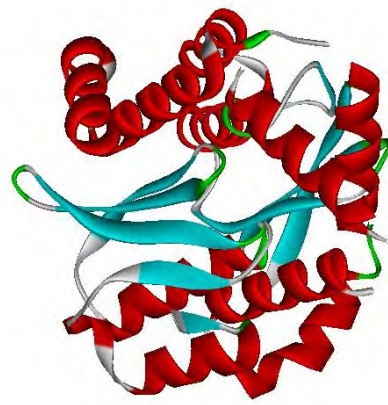
รูปที่ 15 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 3L3V [23]



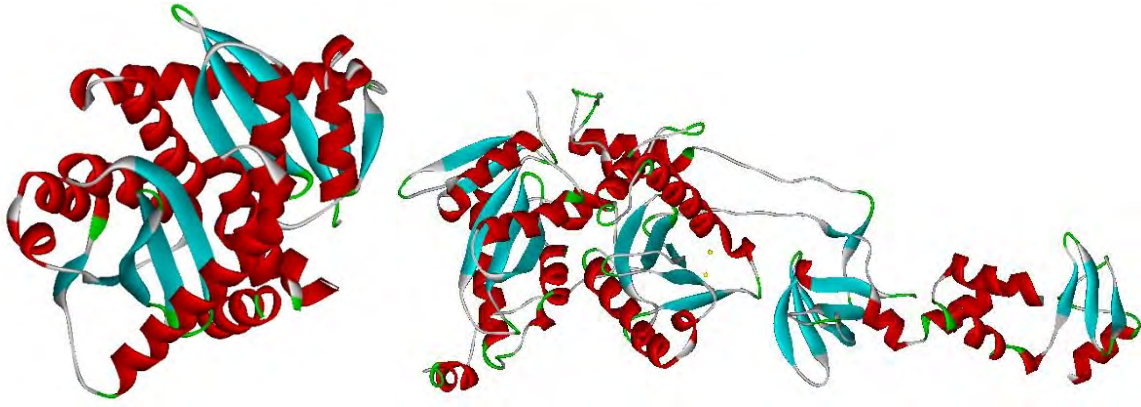
รูปที่ 16 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 3NF7 [24]



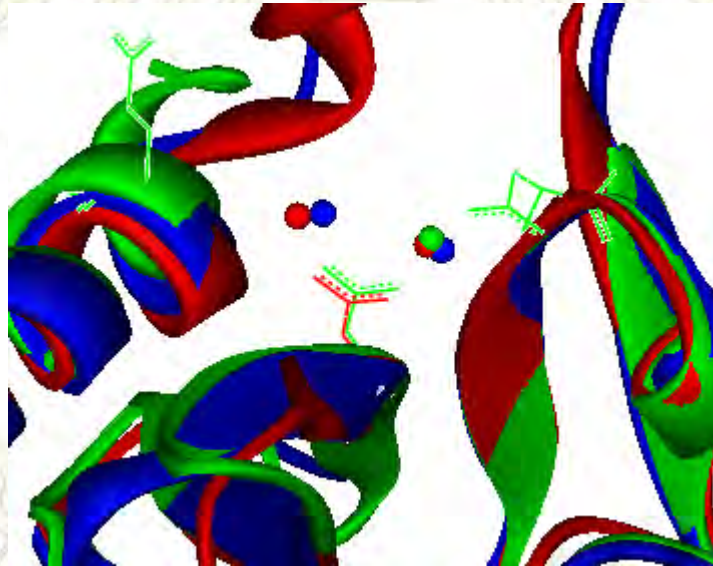
รูปที่ 17 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 3OVN [25]



รูปที่ 18 โครงสร้างของอินดิเกอร์ส 3VQ8 [26]



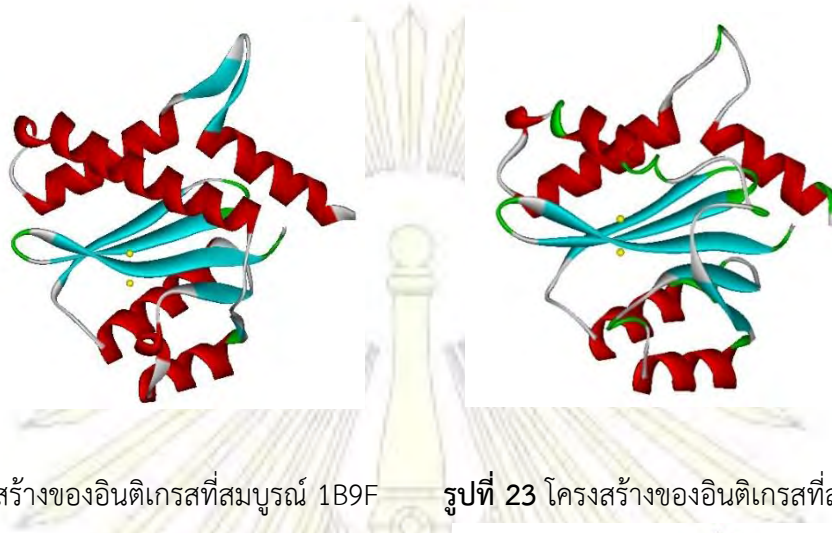
รูปที่ 19 โครงสร้างของอินดิเกรส 3OVN [25] รูปที่ 20 โครงสร้าง Prototype Foamy Virus, 3OYA [27]



รูปที่ 21 การซ้อนทับของโครงสร้างเอนไซม์อินดิเกรส PDB code 1QS4 (Mg^{2+} แทนด้วยทรงกลมสีเขียว) กับ โครงสร้าง PFV PDB code 3AOY (Mg^{2+} แทนด้วยทรงกลมสีแดง) โครงสร้าง RFV PDB code 1VSH (Zn^{2+} แทนด้วยทรงกลมสีน้ำเงิน) ซึ่งจะเห็นว่า โลหะที่เป็นโคแฟกเตอร์ของ 3OYA มีตำแหน่งใกล้เคียงกับ 1QS4 มากกว่า และมีครบ 2 ตัว

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปโครงสร้างเอนไซม์เอชไอวี-1 อินติเกรส 19 โครงสร้างที่ทำการเติมโครงสร้างให้สมบูรณ์



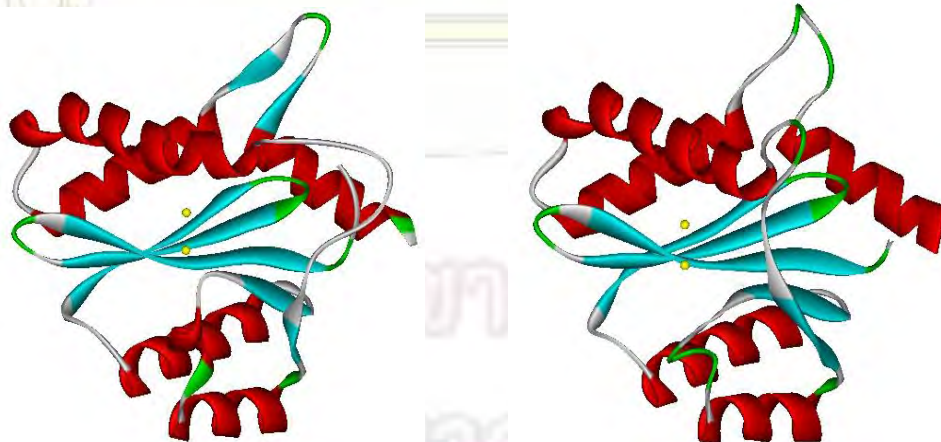
รูปที่ 22 โครงสร้างของอินติเกรสที่สมบูรณ์ 1B9F

รูปที่ 23 โครงสร้างของอินติเกรสที่สมบูรณ์ 1BI4



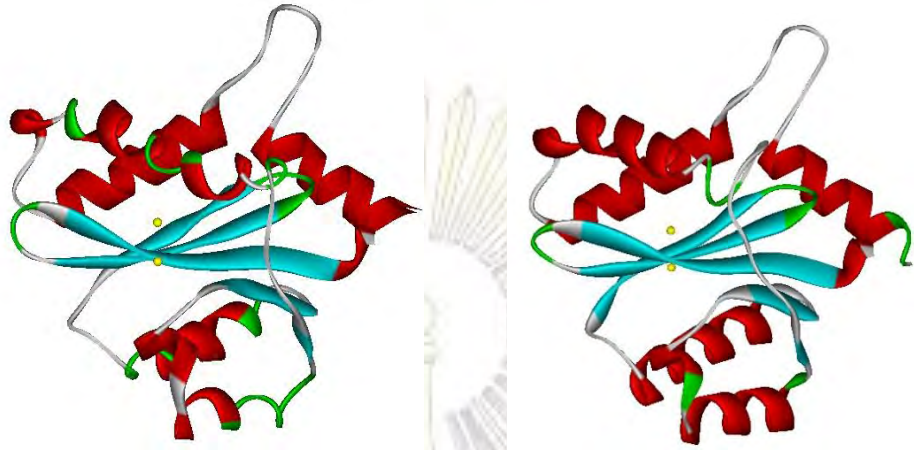
รูปที่ 24 โครงสร้างของอินติเกรสที่สมบูรณ์ 1BIS

รูปที่ 25 โครงสร้างของอินติเกรสที่สมบูรณ์ 1BIU



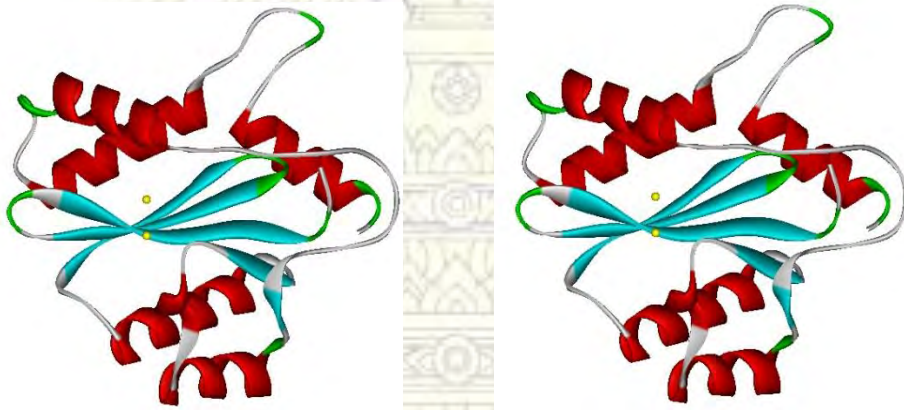
รูปที่ 26 โครงสร้างของอินติเกรสที่สมบูรณ์ 1BIZ

รูปที่ 27 โครงสร้างของอินติเกรสที่สมบูรณ์ 1BL3



รูปที่ 28 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 1EX4

รูปที่ 29 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 1EXQ



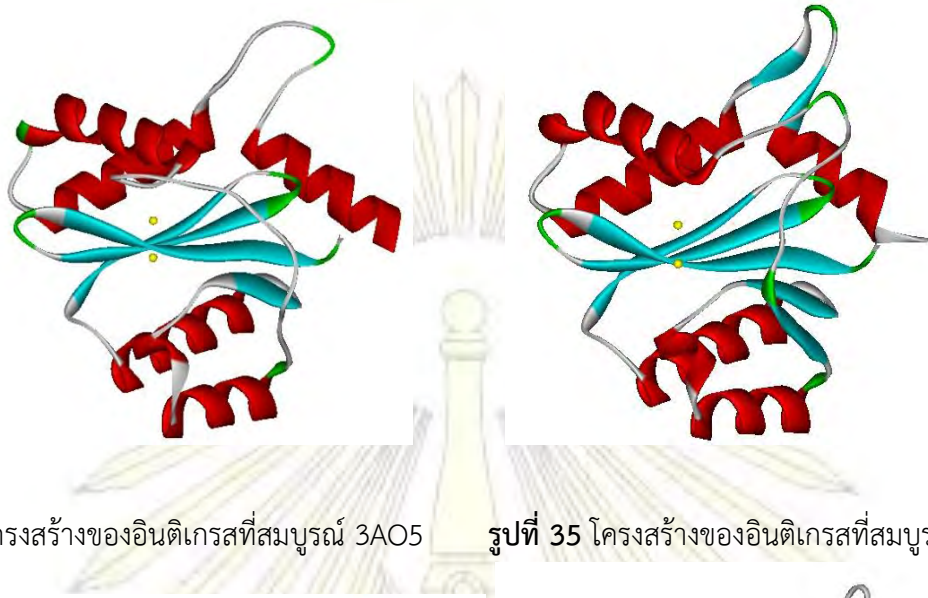
รูปที่ 30 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 1ITG

รูปที่ 31 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 1K6Y



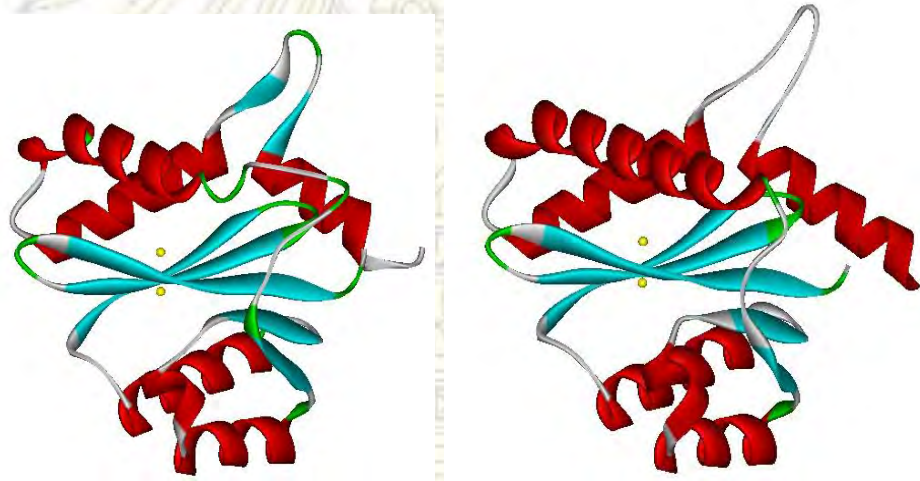
รูปที่ 32 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 1QS4

รูปที่ 33 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 2ITG



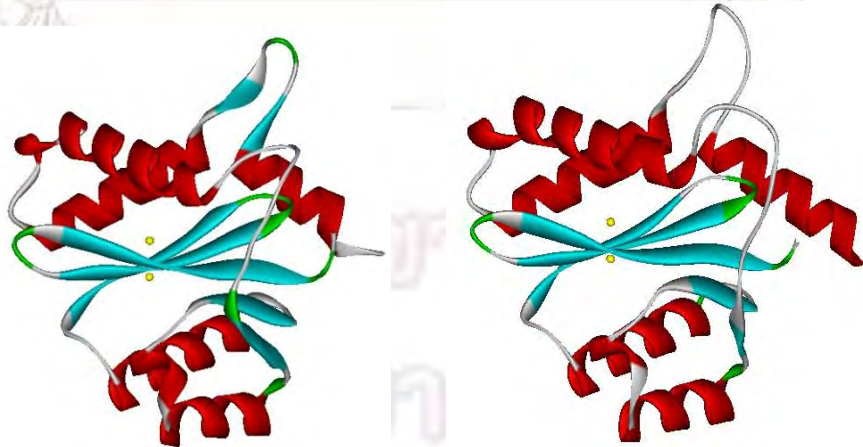
รูปที่ 34 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 3AO5

รูปที่ 35 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 3L3U



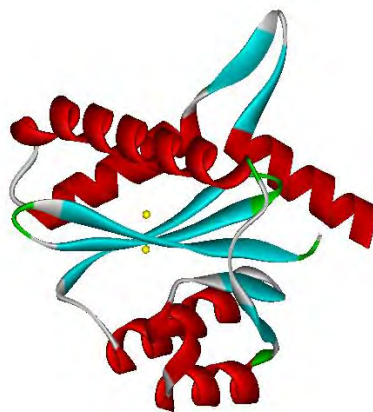
รูปที่ 36 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 3L3V

รูปที่ 37 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 3NF7



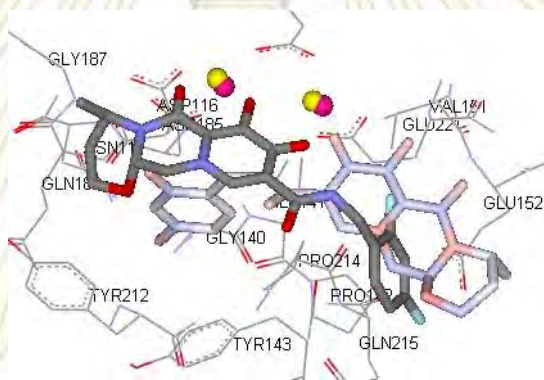
รูปที่ 38 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 3OVN

รูปที่ 39 โครงสร้างของอินดิเกอร์ที่สมบูรณ์ 3VQ8

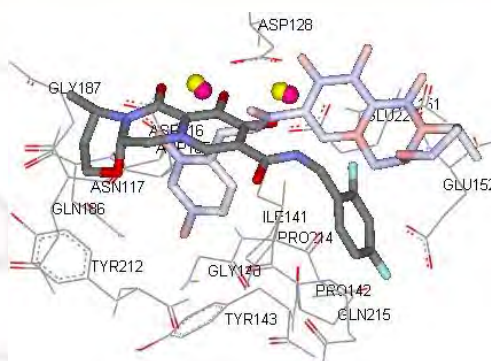


รูปที่ 40 โครงสร้างของอินดิเกรสที่สมบูรณ์ 3OVN

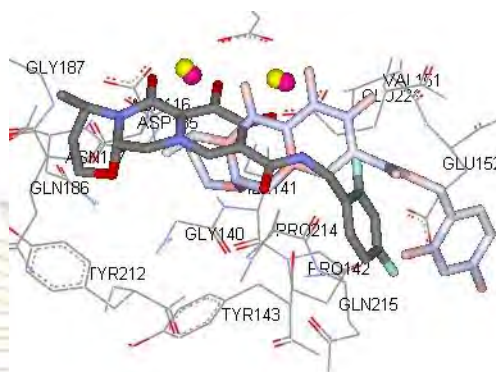
รูปที่ซ้อนทับโครงสร้างที่ได้จากการคำนวณการเข้าจับ 1EXQ กับโดลูเทกราเวียทุกระดับพลังงานที่เกิดจากการสั่งดำเนินการโปรแกรม 1 ครั้ง กับ โครงสร้างอ้างอิง



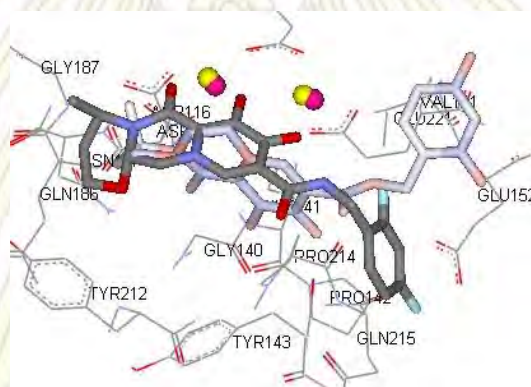
รูปที่ 41 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 1EXQ แบบที่ 1 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



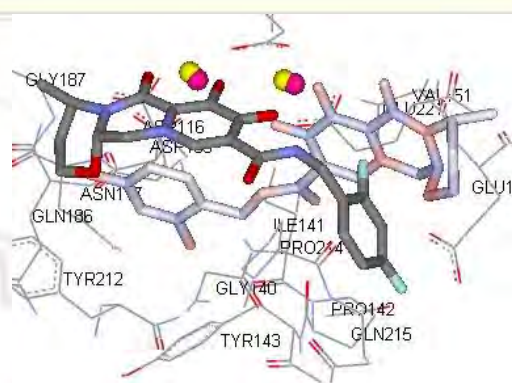
รูปที่ 42 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับเอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 1EXQ แบบที่ 2 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



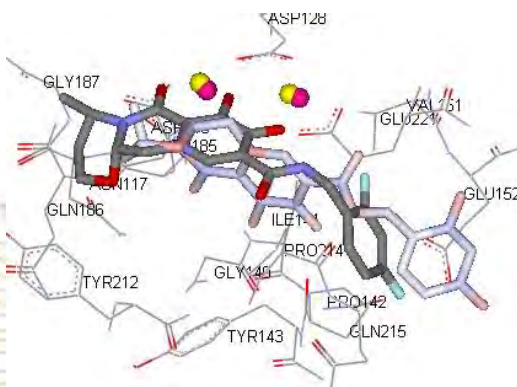
รูปที่ 43 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับเอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 1EXQ แบบที่ 3 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



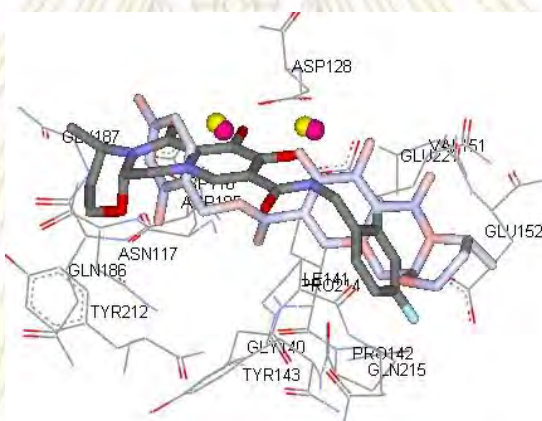
รูปที่ 44รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับเอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 1EXQ แบบที่ 4 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



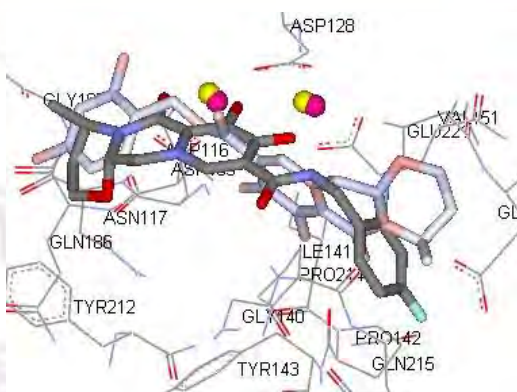
รูปที่ 45 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับเอชไอวี-1 อินดิเกรส PDB code 1EXQ แบบที่ 5 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



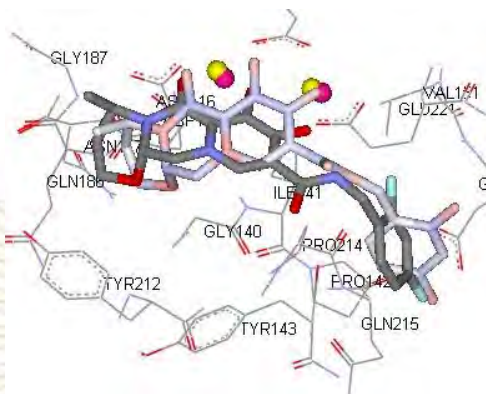
รูปที่ 46 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับเอชไอวี-1 อินดิเกอร์ส PDB code 1EXQ แบบที่ 6 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



รูปที่ 47 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับเอชไอวี-1 อินดิเกอร์ส PDB code 1EXQ แบบที่ 7 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)

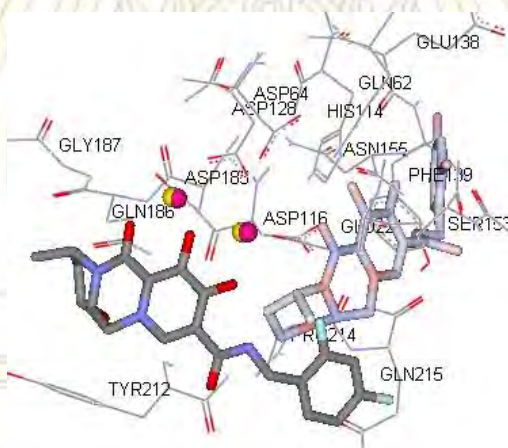


รูปที่ 48 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับเอชไอวี-1 อินดิเกอร์ส PDB code 1EXQ แบบที่ 8 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)

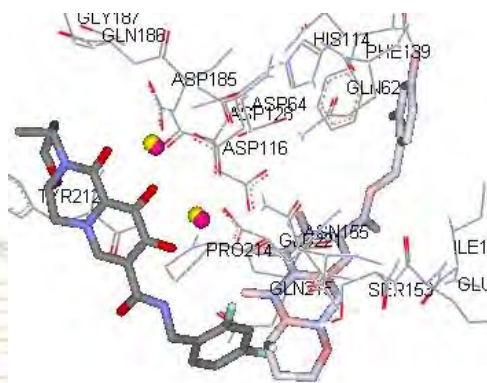


รูปที่ 49 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินดิเเกรส PDB code 1EXQ แบบที่ 9 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)

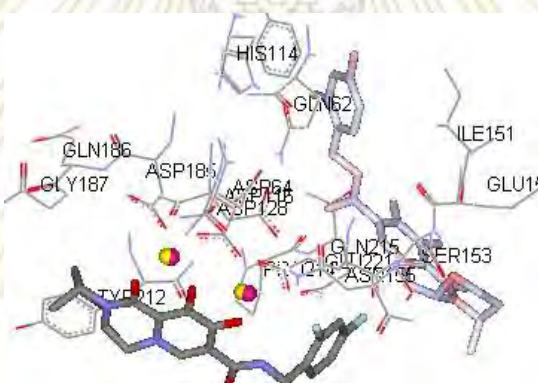
รูปที่ซ้อนทับโครงสร้างที่ได้จากการคำนวณการเข้าจับ 2ITG กับโดลูเทกราเวียทุกระดับพลังงานที่เกิดจากการสั่งดำเนินการโปรแกรม 1 ครั้ง กับ โครงสร้างอ้างอิง



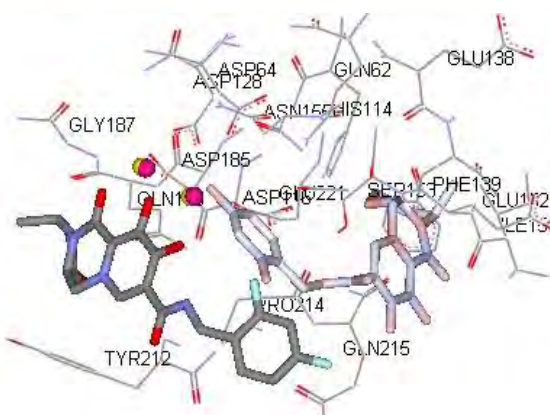
รูปที่ 50 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินดิเเกรส PDB code 2ITG แบบที่ 1 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



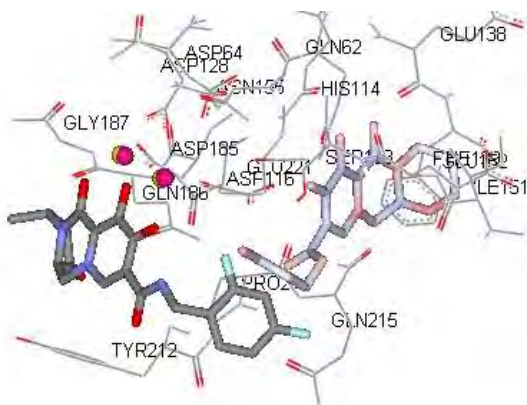
รูปที่ 51 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินทิเกรส PDB code 2ITG แบบที่ 2 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



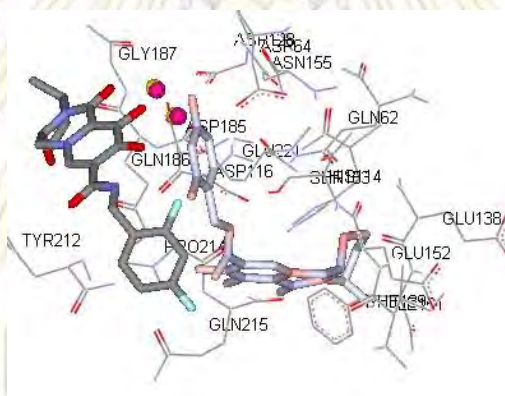
รูปที่ 52 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินทิเกรส PDB code 2ITG แบบที่ 3 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



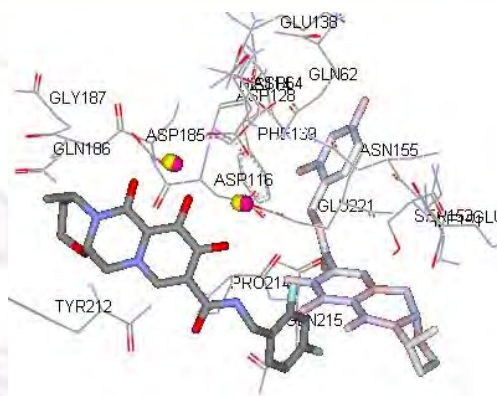
รูปที่ 53 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินทิเกรส PDB code 2ITG แบบที่ 4 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



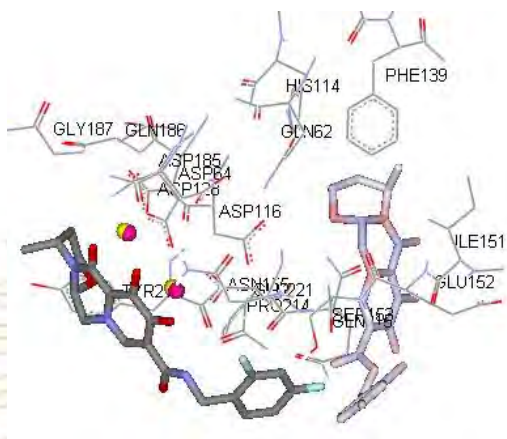
รูปที่ 54 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินดิเกอร์ส PDB code 2ITG แบบที่ 5 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



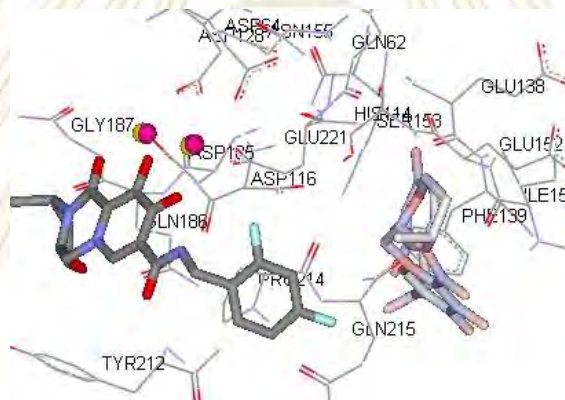
รูปที่ 55 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินดิเกอร์ส PDB code 2ITG แบบที่ 6 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



รูปที่ 56 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินดิเกอร์ส PDB code 2ITG แบบที่ 7 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



รูปที่ 57 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 2ITG แบบที่ 8 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)



รูปที่ 58 รูปที่ซ้อนทับระหว่าง ผลการคำนวณการเข้าจับระหว่างโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีจาง) กับ เอชไอวี-1 อินติเกรส PDB code 2ITG แบบที่ 9 ซ้อนทับกับโครงสร้างอ้างอิง PFV PDB code 3S3M ที่ตกผลึกคู่กับโดลูเทกราเวีย (แทนด้วยสีเข้ม)

เอกสารอ้างอิง

1. Jacob, R. B.; Andersen, T.; McDougal, O. M. Accessible High-throughput Virtual Screening Molecular Docking Software for Students and Educators. *PLOS Computational Biology*. **2012**, *8*(5), e1002499.
2. Meng, X. Y.; Zhang, H. X.; Mezei, M.; Cui, M. Molecular Docking: a Powerful Approach for Structure-based Drug Discovery. *Current Computer Aided Drug Design*. **2011**, *7*, 146-157.
3. Li-Dong, W.; Chan-Li, L.; Wei-Zu, C. Cun-Xin, W. Constructing HIV-1 Integrase and Exploring Influences of Metal Ion on Forming Integrase-DNA complex. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. **2005**, *337*, 313-319.
4. Takashi, K.; Masahiro, J.; Tomokazu, Y.; Akihiko, S.; Tamio, F.; Ryuichi, W. a Platform for Designing HIV Integrase Inhibitor Part 2: a Two-Metal Binding Model as a Potential Mechanism of HIV Integrase Inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2006**, *14*, 8420-8429.
5. Healy, E. F.; Sanders, J.; King, P. K.; Robinson Jr, E. W. a Docking Study of L-chicoric Acid with HIV-1 Integrase. *J MOL GRAPH MODEL*. **2009**, *27*, 584-589.
6. Barry, C. J.; Mathieu, M.; Yves, P.; Stephen, H. Molecular Dynamics Approaches Estimate the Binding Energy of HIV-1 Integrase Inhibitors and Correlate with In Vitro Activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2011**, *12*, 411-419.
7. Nuthanavanit, P.; Ungwitayatorn, J. Molecular Docking Studies of Chromone Derivatives Against Wild Type and Mutant Strains of HIV-1 Protease. *Medicinal Chemistry Research*. **2014**, *23*, 4198-4208.
8. Puripattanavong, J.; Tungcharoen. P.; Chaniad. P.; Pianwanit. S.; Tewtrakul. S. Anti-HIV-1 Integrase Effect of Compounds from *Aglaia Andamanica* Leaves and Molecular Docking Study with Acute Toxicity Test in Mice. *Pharm Biol*. **2016**, *4*, 654-659.
9. Vajragupta. O.; Boonchoong. P.; Morrisc. G. M.; Olsonc. A. J. Active Site Binding Modes of Curcumin in HIV-1 Protease and Integrase. *Bioorg Med Chem Lett*. **2005**, *15*, 3364-3368.
10. Krishnan, L.; Engelman A. Retroviral Integrase Proteins and HIV-1 DNA Integration. *J Biol Chem*. **2012**, *287*, 40858-40866.
11. Healy. E. F.; Sanders. J.; Peter. J.; a Docking Study of L-Chicoric Acid with HIV-1 Integrase. *J Mol Graphics Model*. **2009**, *27*, 584-589.
12. Dayam. R.; Neamati. N. Active Site Binding Modes of the B-diketoacids: a Multi-Active Site Approach in HIV-1 Integrase Inhibitor Design. *Bioorg Med Chem*. **2004**, *12*, 6371-6381.

13. Yu, T.; Volodymyr, T.; Andriv, V.; Gennady, P. A New, Improved Hybrid Scoring Function for Molecular Docking and Scoring Based on AutoDock and AutoDock Vina. 2016, 87, 618-625.
14. Greenwald, J.; Le, V.; Butler, S.L.; Bushman, F.D.; Choe, S. The mobility of an HIV-1 Integrase Active Site Loop is Correlated with Catalytic Activity. *Biochemistry*. **1999**, 38, 8892-8898
15. Maignan, S., Guilloteau, J.P., Zhou-Liu, Q., Clement-Mella, C., Mikol, V. Crystal Structures of the Catalytic Domain of HIV-1 Integrase Free and Complexed with Its Metal Cofactor: High Level of Similarity of the Active Site with other Viral Integrases. *J. Mol. Biol.* **1998**, 282, 359-368
16. Goldgur, Y.; Dyda, F.; Hickman, A.B.; Jenkins, T.M.; Craigie, R.; Davies, D.R. Three new structures of the core domain of HIV-1 integrase: an active site that binds magnesium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **1998**, 95, 9150-9154.
17. Chen, J.C.; Krucinski, J.; Miercke, L.J.; Finer-Moore, J.S.; Tang, A.H.; Leavitt, A.D.; Stroud, R.M. Crystal Structure of the HIV-1 Integrase Catalytic Core and C-terminal Domains: a Model for Viral DNA Binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2000**, 97, 8233-8238.
18. Dyda, F.; Hickman, A.B.; Jenkins, T.M.; Engelman, A.; Craigie, R.; Davies, D.R. Crystal Structure of the Catalytic Domain of HIV-1 Integrase: Similarity to other Polynucleotidyl Transferases. *Science*, **1994**, 266, 1981-1986.
19. Wang, J.Y.; Ling, H.; Yang, W.; Craigie, R. Structure of a Two-Domain Fragment of HIV-1 Integrase: Implications for Domain Organization in the Intact Protein. *EMBO J*. **2001**, 20, 7333-7343.
20. Goldgur, Y.; Craigie, R.; Cohen, G.H.; Fujiwara, T.; Yoshinaga, T.; Fujishita, T.; Sugimoto, H., Endo, T.; Murai, H.; Davies, D.R. Structure of the HIV-1 integrase catalytic domain complexed with an inhibitor: a platform for antiviral drug design. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, 96, 13040-13043.
21. Bujacz, G.; Alexandratos, J.; Qing, Z.L.; Clement-Mella, C., Wlodawer, a. the Catalytic Domain of Human Immunodeficiency Virus Integrase: Ordered Active Site in the F185H Mutant. *FEBS Lett*, **1996**, 398, 175-178.
22. Wielens, J.; Headey, S.J.; Deadman, J.J.; Rhodes, D.I.; Parker, M.W.; Chalmers, D.K.,; Scanlon, M.J. Fragment-based Design of Ligands Targeting a Novel Site on the Integrase Enzyme of Human Immunodeficiency Virus 1. *ChemMedChem*, **2011**, 6, 258-261.
23. Wielens, J.; Headey, S.J.; Jeevarajah, D.; Rhodes, D.I.; Deadman, J.; Chalmers, D.K.,; Scanlon, M.J.; Parker, M.W. Crystal Structure of the HIV-1 Integrase Core Domain in Complex with Sucrose Reveals Details of an Allosteric Inhibitory Binding Site. *Febs Lett*, **2010**, 584, 1455-1462.

24. Rhodes, D.I.; Peat, T.S.; Vandegraaff, N.; Jeevarajah, D.; Le, G.; Jones, E.D.; Smith, J.A.; Coates, J.A.; Winfield, L.J.; Thienthong, N.; Newman, J., Lucent; D., Ryan; J.H., Savage, G.P.; Francis, C.L.; Deadman, J.J. Structural Basis for a New Mechanism of Inhibition of HIV-1 Integrase Identified by Fragment Screening and Structure-based Design. *Antivir. Chem. Chemother.* **2011**, *21*, 155-168.
25. Wielens, J.; Headey, S.J.; Deadman, J.J.; Rhodes, D.I.; Parker, M.W.; Chalmers, D.K.; Scanlon, M.J. Fragment-based Design of Ligands Targeting a Novel Site on the Integrase Enzyme of Human Immunodeficiency Virus 1. *ChemMedChem*, **2011**, *6*, 258-261.
26. Wielens, J.; Headey, S.J.; Deadman, J.J.; Rhodes, D.I.; Parker, M.W.; Chalmers, D.K.; Scanlon, M.J. Parallel Screening of Low Molecular Weight Fragment Libraries: do Differences in Methodology Affect Hit Identification?. *J Biomol Screen*, **2013**, *18*, 147-159.
27. Hare, S.; Vos, A.M.; Clayton, R.F.; Thuring, J.W.; Cummings, M.D.; Cherepanov, P. Molecular Mechanisms of Retroviral Integrase Inhibition and the Evolution of Viral Resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2010**, *107*, 20057-20062.
28. Nunthaboot, N.; Pianwanit, S. Parasuk, V.; Ebalunode, J.; Briggs, J.; Kokpol, S. Hybrid Quantum Mechanical/Molecular Mechanical Molecular Dynamics Simulations of HIV-1 Integrase/Inhibitor Complexes. *Biophysical Journal*. **2007**, *93*, 3613-3626

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวกัญฐิกา เอื้ออนุกุลพงษ์ เกิดเมื่อวันที่ 2 กรกฎาคม พ.ศ. 2536 ที่คลินิกหมอจาม จังหวัดสงขลา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลาย แผนกวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ โครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษ ด้านวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (Science Math Ability) เมื่อปี พ.ศ. 2555 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจากจบการศึกษาปริญญาตรี 90 ถนนชัย-เพชรมงกุฎ ตำบลบ่อยาง อำเภอเมืองสงขลา จังหวัดสงขลา 90000



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย