

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ С МАЛЫМИ МОЛЕКУЛАМИ – РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНОГО МЕТОДА СЛЕПОГО ДОКИНГА

Ю.Н. ВОРОБЬЕВ

**Institute Chemical Biology and Fundamental Medicine Siberian Branch of
Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia**

МОТИВАЦИЯ:

ПОСТГЕНОМНАЯ ЭРА –

- **МНОЖЕСТВО НОВЫХ НЕ ХАРАКТЕРИЗОВАННЫХ БЕЛКОВ**
- **ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ**
- **НОВЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ ПРЕПАРАТОВ**

- **ДОСТУПНЫЕ ПАКЕТЫ для ДОКИНГА :**

DOCK4.0, FlexX1.8, GOLD1.2, AutoDock4
находят структуры комплексов белок-лиганд

- **Успешный докинг RMSD 2.0 Å ~**

вероятность 40-60 %

[Chen et al, J Comp.Chem. 2007, 28:612-623;

- **Предсказание абсолютной энергии связывания ??**

нет надежных методов

ДОКИНГ:

ПОИСК ОПТИМАЛЬНОГО МЕСТА (СТРУКТУРЫ) СВЯЗЫВАНИЯ
ЛИГАНДА С МОЛЕКУЛОЙ БЕЛКА

DOCKING – GLOBAL OPTIMIZATION PROBLEM

для структуры комплекса белок-лиганд

- Фазовое пространство задачи (степени свободы):
 - позиция, ориентация, конформация лиганда
 - конформация белка – индуцированная подстройка
- Метод Глобальной оптимизации ??
- Целевая функция
 - Свободная энергия комплекса – не вычисляема
 - Разумные аппроксимации
- **reliable scoring function ?**
- должна отличать нативный комплекс от неправильного

Scoring function - two groups:

- 1) **Empirical scoring function** – weighted sum of terms or descriptors, i.e. different energy terms, weights are estimated on training set - **LIMITED TRANSFERABILITY** beyond of training P/L set
- 2) **PMF** – atom-atom potentials derived from 3D-dataset for P/L complexes, as a probability to find atom pair at a given distance – WEEK STAT.MECH. FOUNDATION – limited accuracy, SR ~ 55-70%
- 3) **physics based scoring functions**, i.e. Force Field used in atom-atom simulation of protein structure,
- **highest rate of transferability**

Наиболее надежны аппроксимации свободной энергии связывания =
потенциальная энергия + энергия сольватации + энтропия

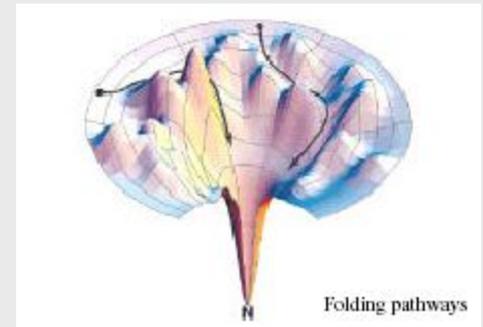
We present the docking method MdDOCK which relay on:

- 1) physics based approaches**
- 2) USE exhaustive hierarchical search for binding sites on protein surface**
- 3) USE physics based scoring function =
BINDING ENERGY : atom-atom potentials +
electrostatics + solvation model**
- 4) global optimization for ligand and receptor conformations via molecular dynamics coupled with simulated annealing and force field deformation**

Глобальная оптимизация в задаче ДОКИНГА

- Подход в лоб не продуктивен – известные методы используют:
 - ручное ограничение исследуемого фазового пространства - **ОГРАНИЧИВАЕТСЯ** область докинга на поверхности белка -
НЕ ПРИЕМЛЕМО ДЛЯ СЛЕПОГО ДОКИНГА
- Варианты генетического метода глобальной оптимизации + **локальные методы**

**-ДОКИНГ – подобен самоорганизации
поверхность потенциальной энергии – ВОРОНОЧНАЯ-**



**-Область низкой энергии в фазовом
пространстве – сайт связывания
в низком разрешении**

**-Точная структура комплекса
белок-лиганд
- сайт в высоком разрешении**

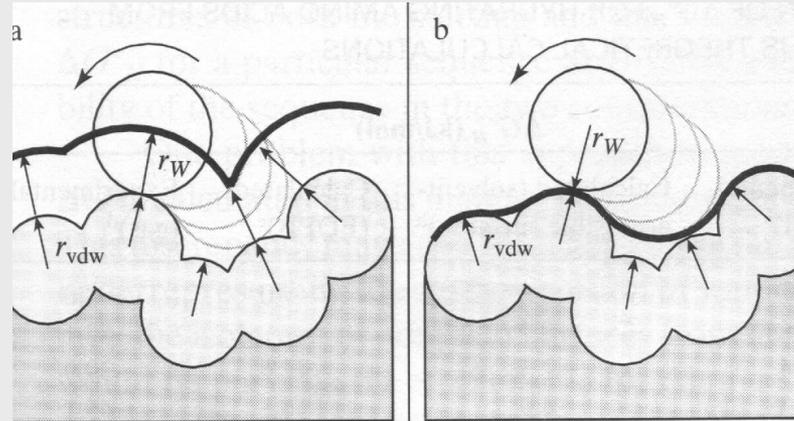
- **РАЗРАБАТЫВАЕТСЯ-**
метод слепого иерархического ДОКИНГА
- **1) исчерпывающий анализ молекулярной поверхности молекулы белка**
 - поиск всех полостей, карманов, складок
- **локализация позиций связывания в низком разрешении $\sim 3 \text{ \AA}$**
- 2) Глобальная оптимизация позиции, ориентации, конформации лиганда,**
- **оптимизация индуцированной подстройки белка**

Глобальная оптимизация на основе

- **метода Молекулярной Динамики**
- **деформация поверхности потенциальной энергии + отжиг по температуре, множественный старт из разных ориентаций (конформаций) лиганда из сайта низкого разрешения**

Определение сайтов связывания низкого разрешения:

1 – Расчет поверхности молекулы белка
ДОСТУПНОЙ сфере радиуса 1.4



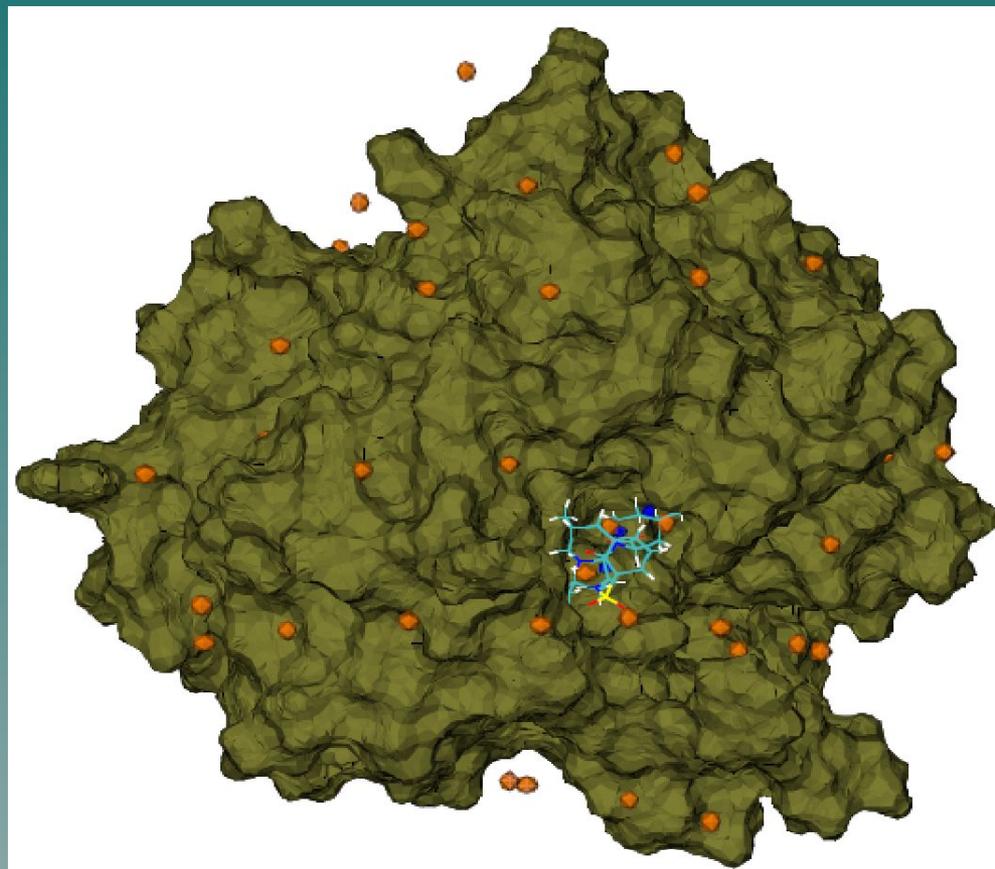
2 – анализ и определение позиций центров
полостей, карманов и складок
на поверхности молекулы белка =
сайтов низкого разрешения

3 – Расчет ранга (числа контактов) сайтов низкого разрешения

4 - Определение сайтов связывания низкого разрешения с
наибольшим рангом

Сайты связывания в низком разрешении

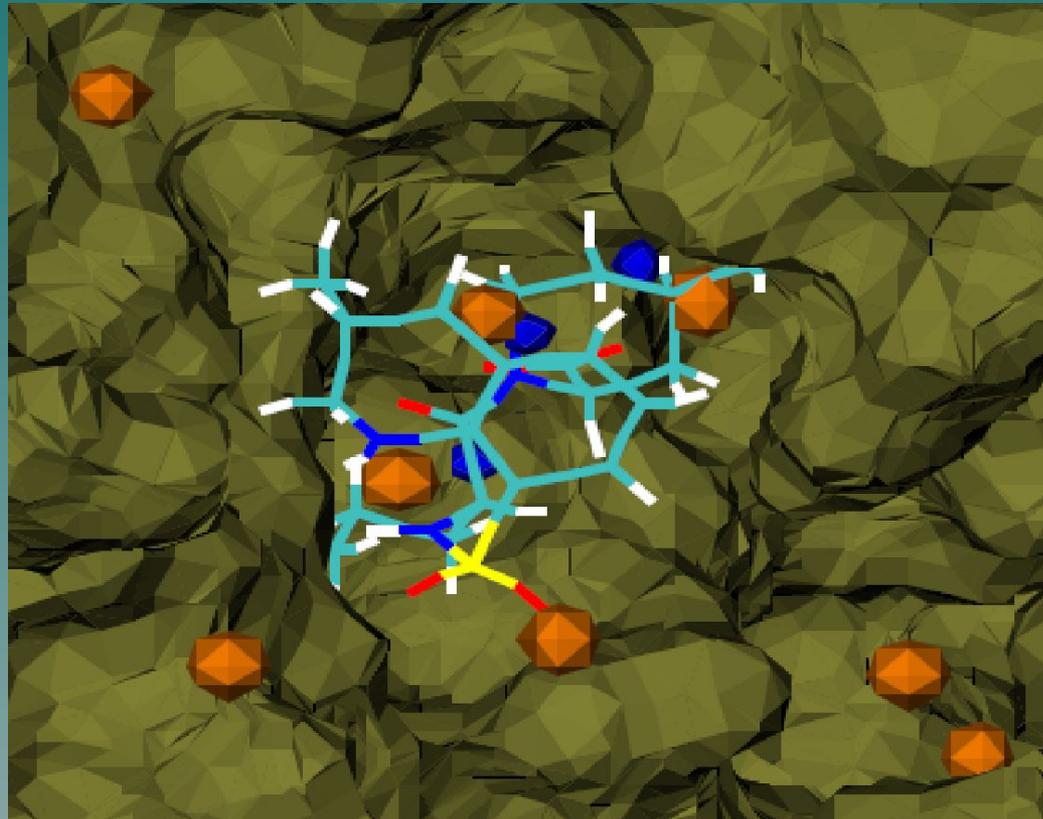
1etr – thrombin/agrotroban complex



Определение приближенной ориентации лиганда:

Точечный образ лиганда \square натягивается на сайты связывания
низкого разрешения

1etr – thrombin/agrotroban complex AGROTROBAN



МД глобальная оптимизация:

- молекулярная динамика для лиганда в окрестности сайта связывания низкого разрешения
- температурный отжиг + деформация поверхности потенциальной энергии (стимуляция конформационных переходов)

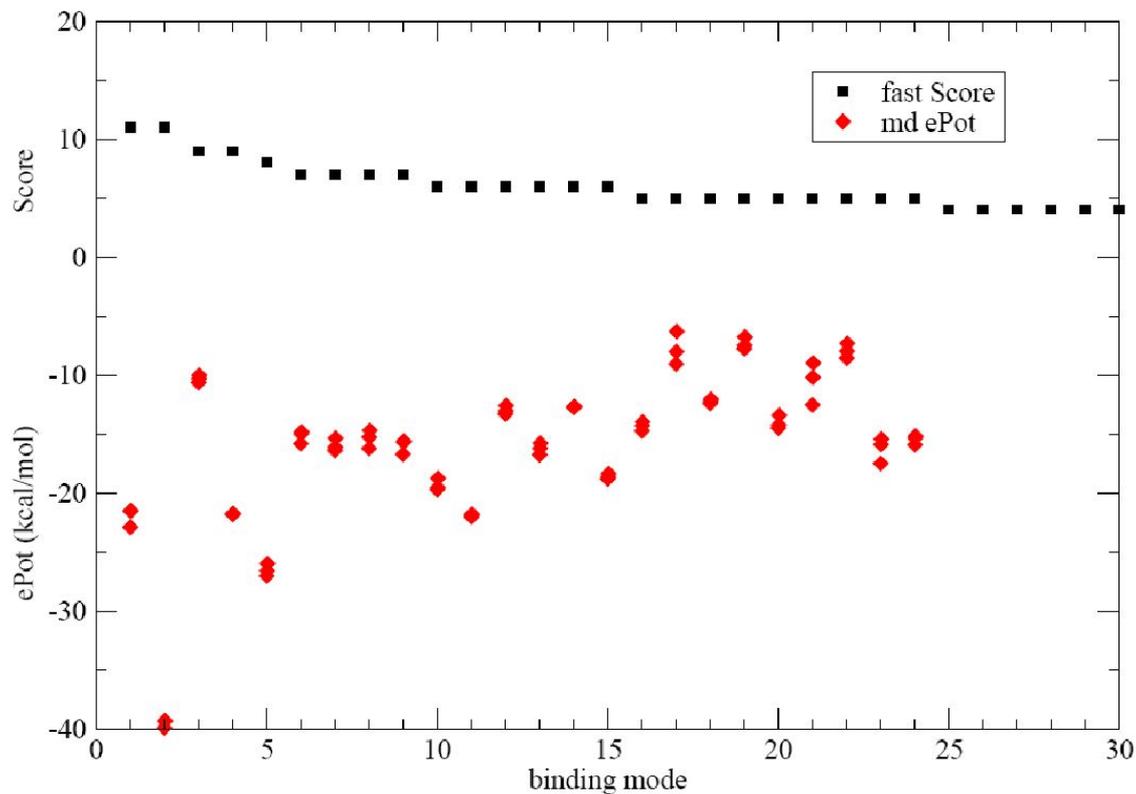
- Force Field – AMBER99 for VDW +
 - + modified electrostatics
 - + explicit HydrogenBonds
 - + Solvation

Trypsine/ benzamidine complex.

A – ранг низкого разрешения для сайтов связывания низкого разрешения - ■

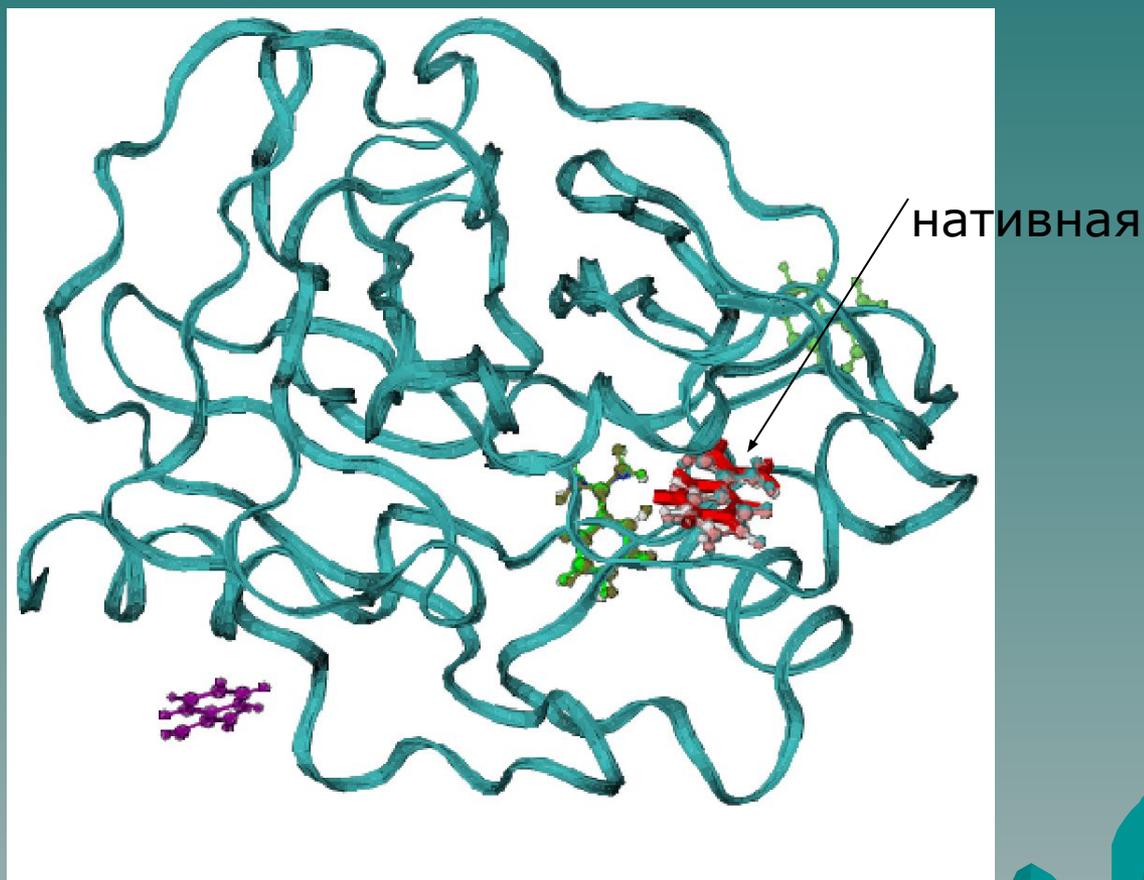
B – энергии связывания в сайтах связывания высокого разрешения- ▲

1bty - benzamidine docking



Benzamidine-trypsine 1bty

красный – структура минимальной энергии;
СРК- native.

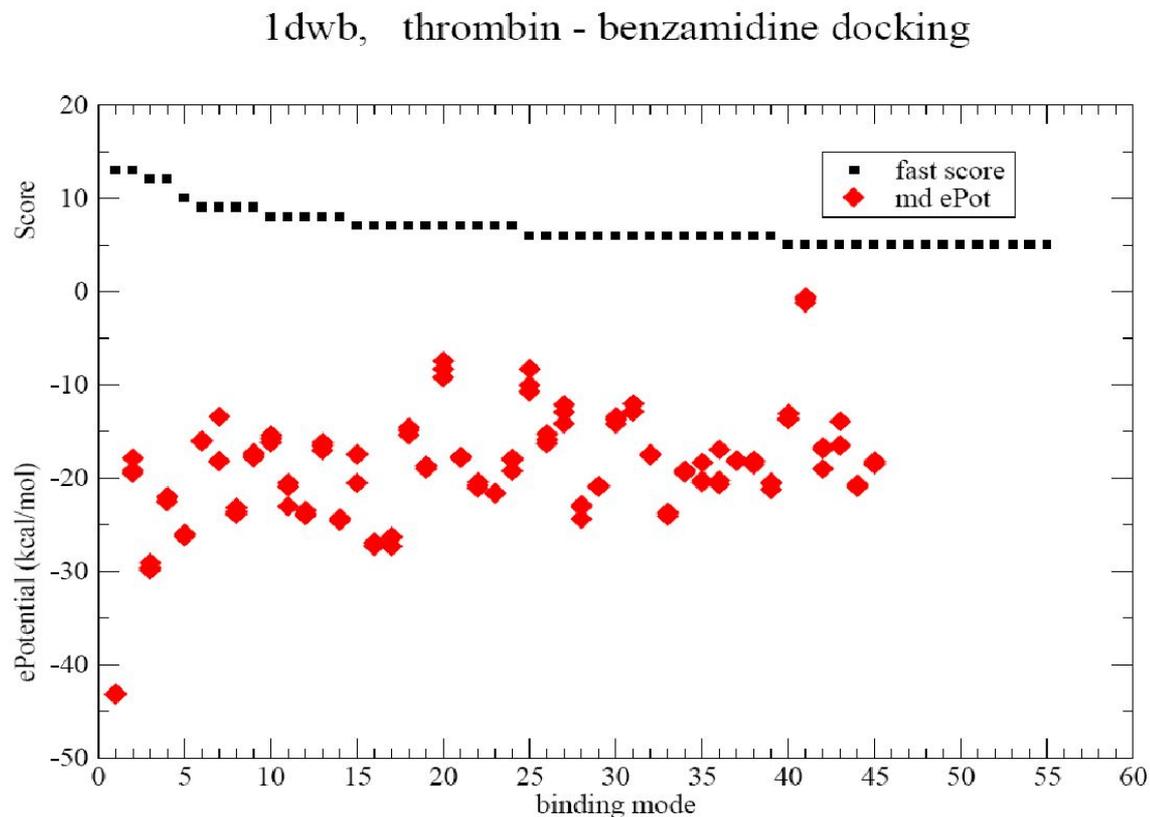


1dwb : thrombin/ benzamidin complex

A – ранг низкого разрешения для сайтов связывания
низкого

разрешения - ■

B – энергии связывания в сайтах связывания высокого
разрешения- ▲



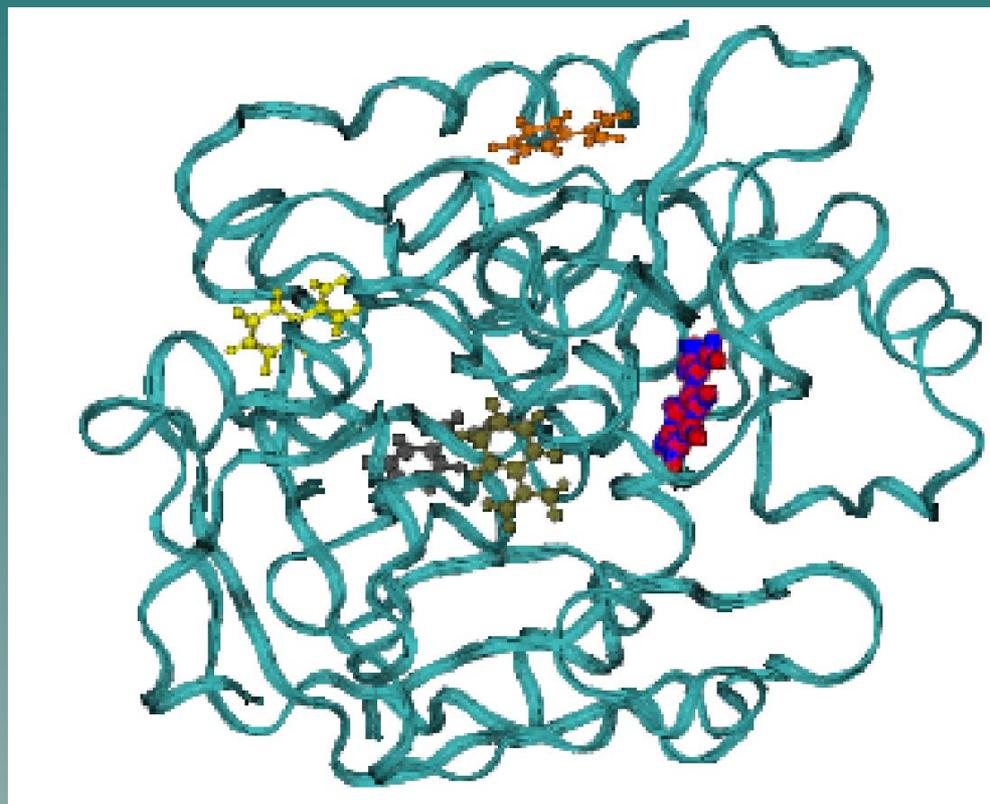
Docking results

1dwb : thrombin + benzamidine complex

Структура минимальной энергии - синий;

НАТИВНЫЙ-СРК- красный benzamidine in 1dwb complex,

Другие комплексы – yellow, brown, green.



Заключение

Работа продолжается

ЦЕЛЬ:

Разработать иерархический метод слепого докинга, который может использоваться для характеристики сайтов связывания новых белков и направленном конструировании лекарственных препаратов