

# **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  $\sim$  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

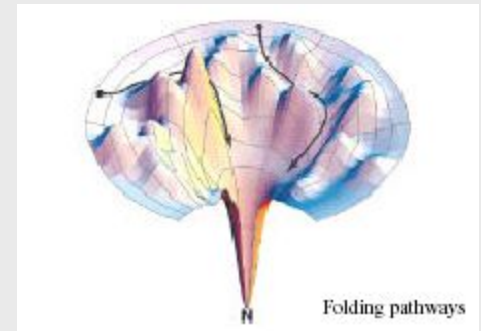
**We present the docking method MdDOCK which relay on:**

- 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**

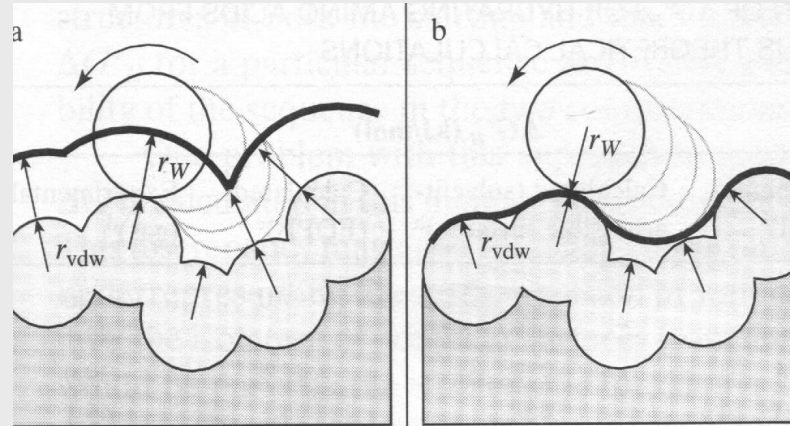
### **Глобальная оптимизация на основе**

- **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



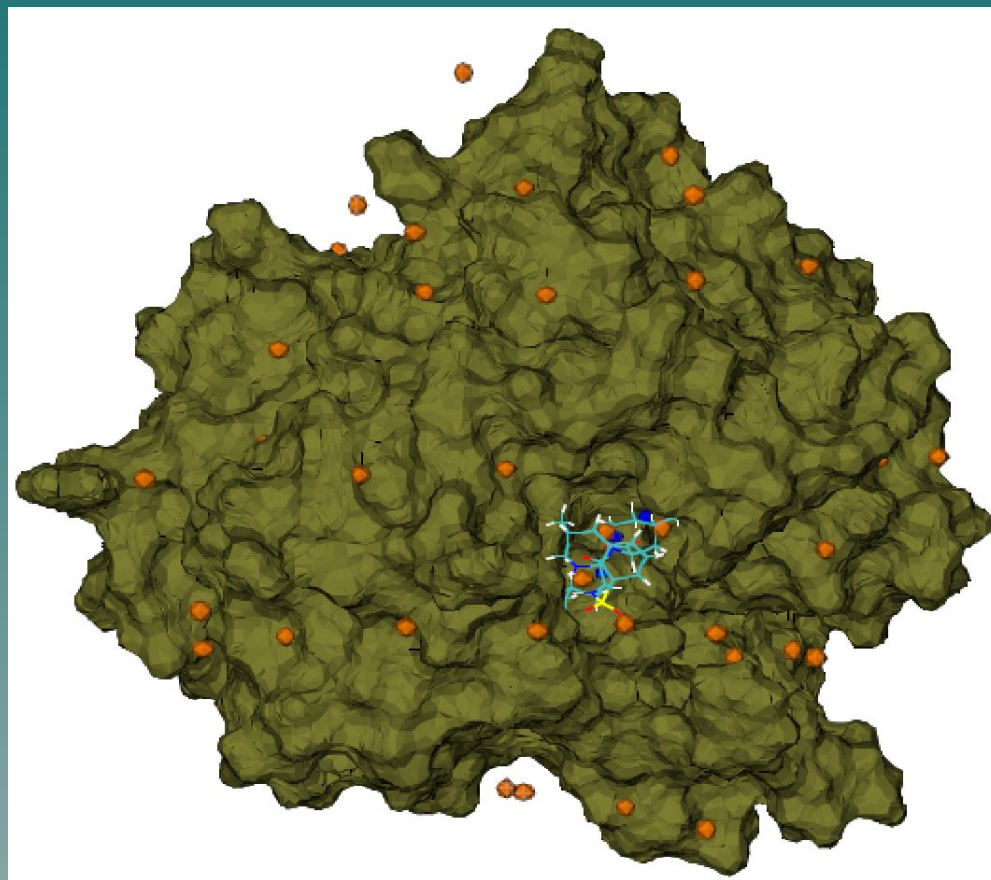
2 – анализ и определение позиций центров  
полостей, карманов и складок  
на поверхности молекулы белка =  
сайтов низкого разрешения

3 – Расчет ранга (числа контактов) сайтов низкого разрешения

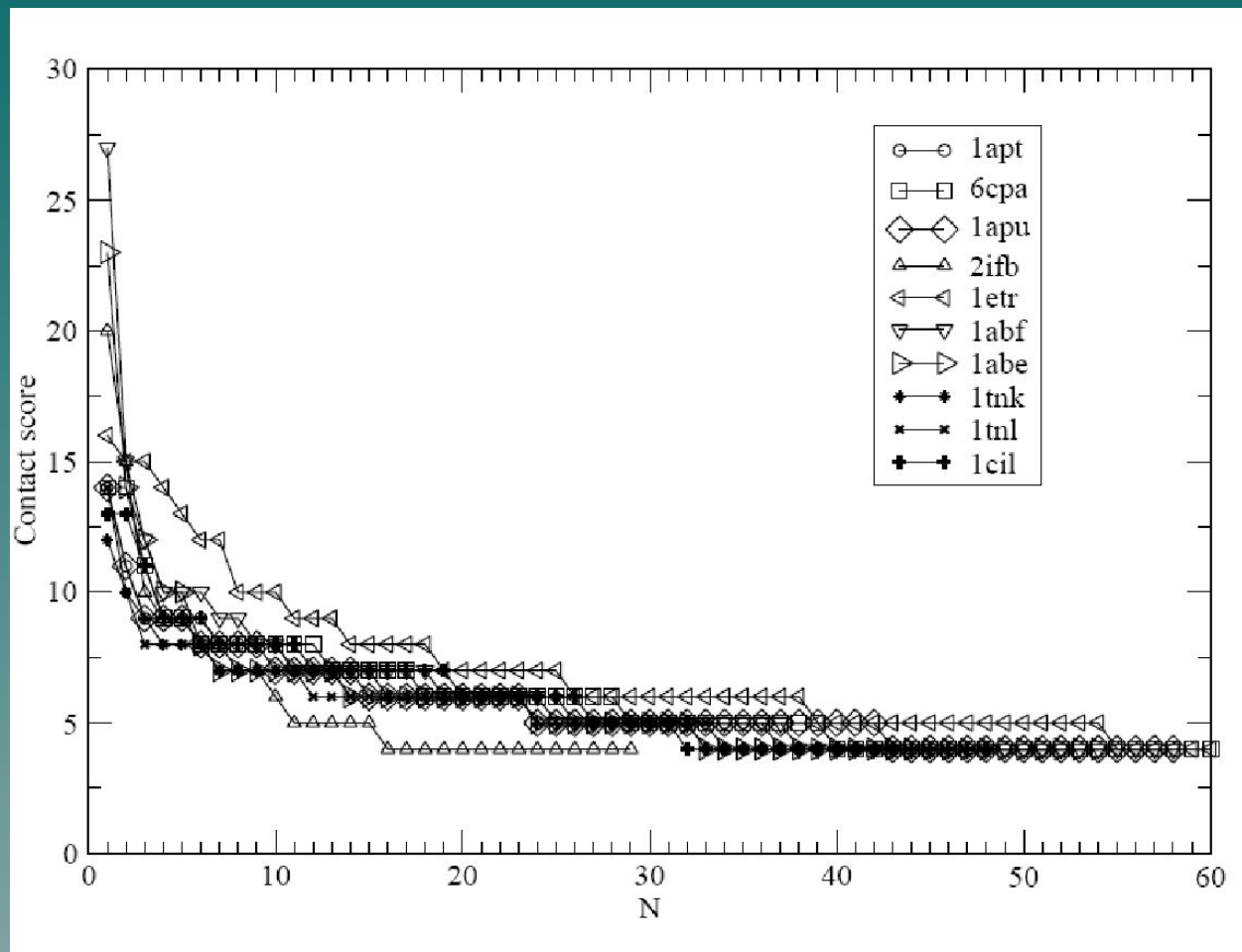
4 - Определение сайтов связывания низкого разрешения с  
наибольшим рангом

## Сайты связывания в низком разрешении

**1etr** – thrombin/agrotroban complex



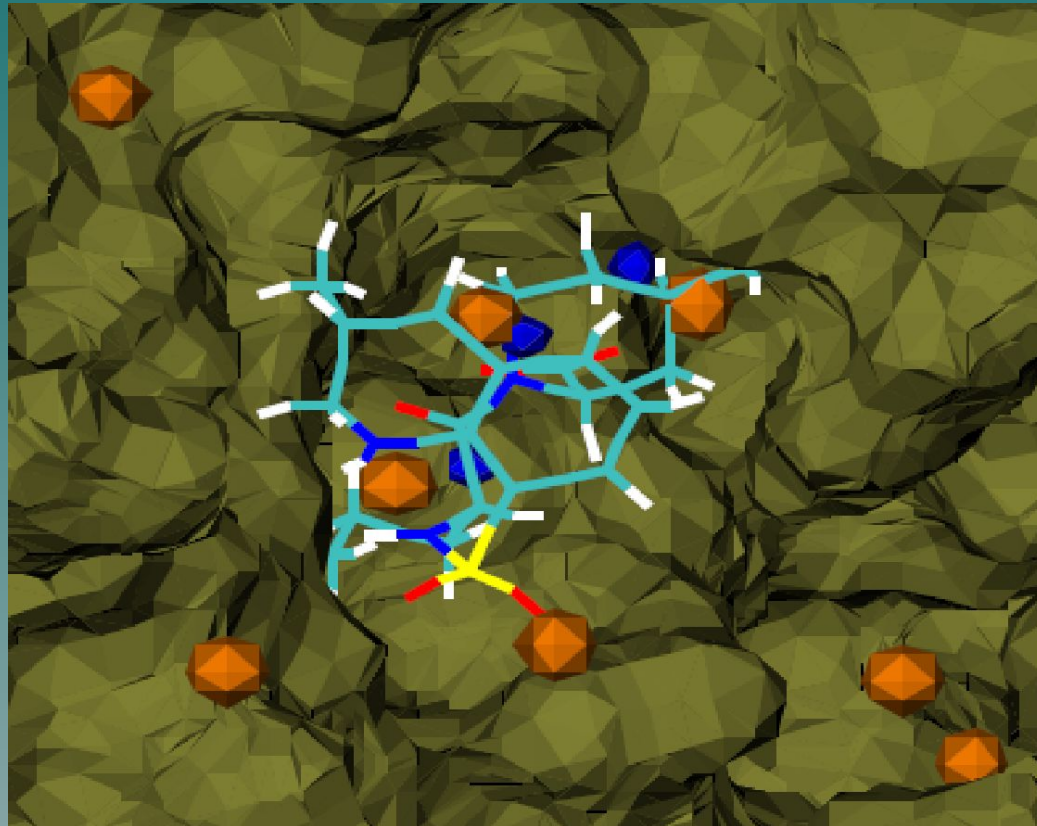
## Распределение сайтов связывания по рангу (число контактов)



Определение приближенной ориентации лиганда:

Точечный образ лиганда □ натягивается на сайты связывания  
низкого разрешения

**1etr – thrombin/agrotroban complex AGROTROBAN**



## **МД глобальная оптимизация:**

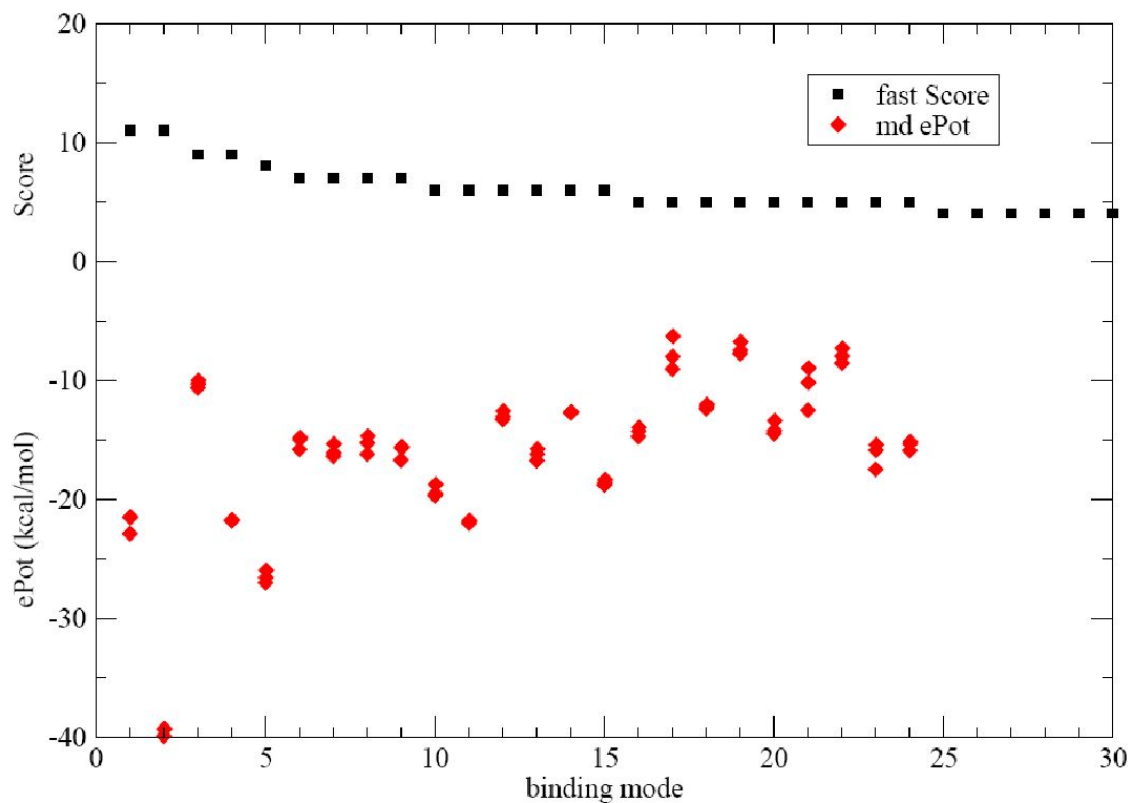
- молекулярная динамика для лиганда в окрестности сайта связывания низкого разрешения
- температурный отжиг + деформация поверхности потенциальной энергии (стимуляция конформационных переходов)
  
- Force Field – AMBER99 for VDW +
  - + modified electrostatics
  - + explicit HydrogenBonds
  - + Solvation

## Trypsine/ benzamidine complex.

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

**B** – энергии связывания в сайтах связывания высокого разрешения- ▲

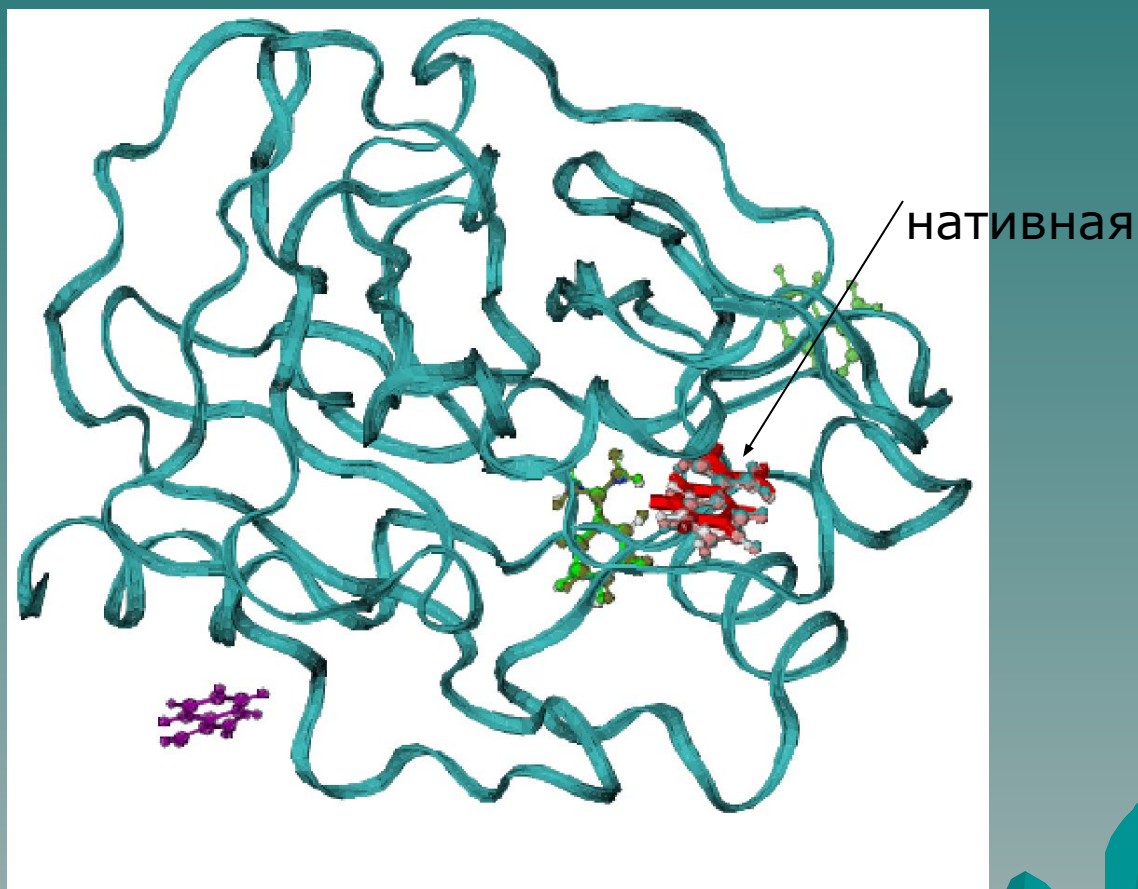
1bty - benzamidine docking





## Benzamidine-trypsine 1bty

**красный** – структура минимальной энергии;  
СРК- native.

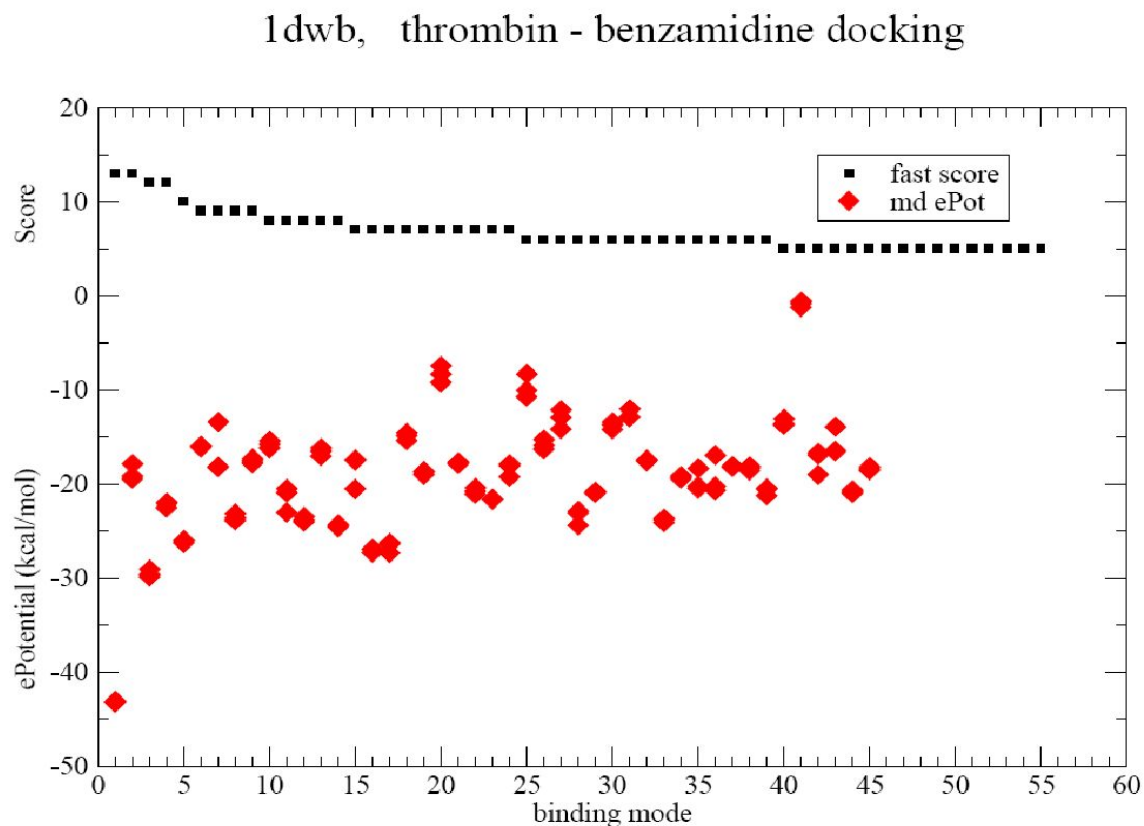


## 1dwb : thrombin/ benzamidin complex

**A** – ранг низкого разрешения для сайтов связывания  
низкого

разрешения - ■

**B** – энергии связывания в сайтах связывания высокого  
разрешения- ▲





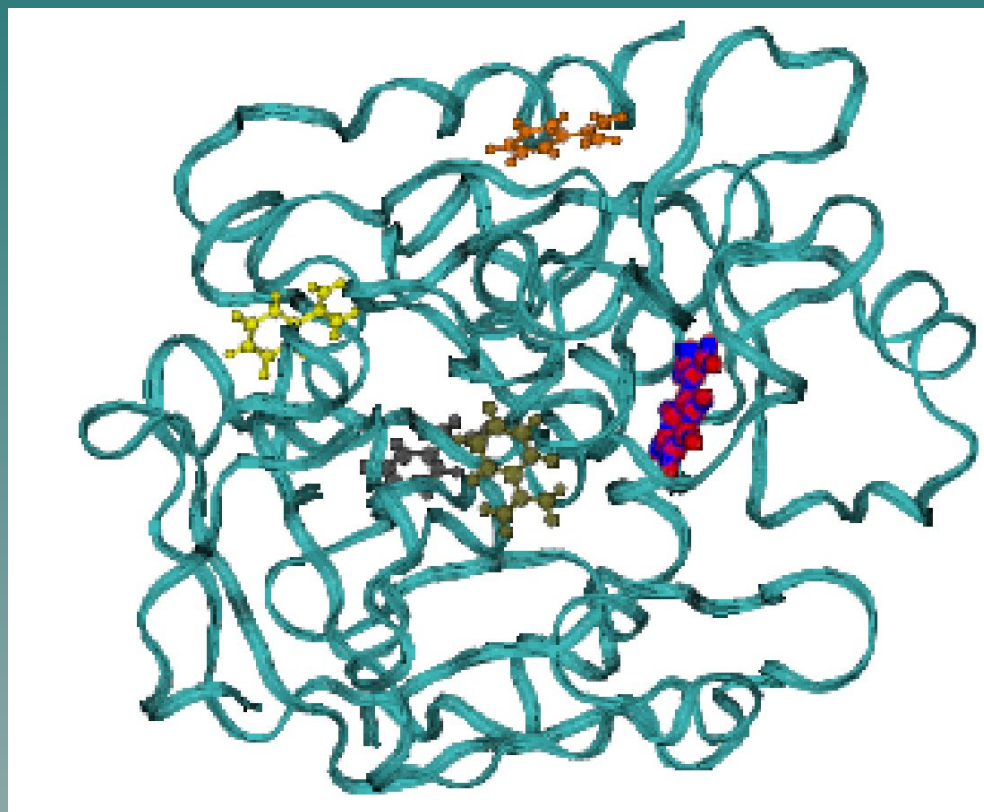
## Docking results

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**