

Fehérje-ligandum kötődés számítógépes modellezése I. Termodinamikai mennyiségek számítása

Ferenczy György

Semmelweis Egyetem
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

ferenczy.gyorgy@med.semmelweis-univ.hu

Tartalom

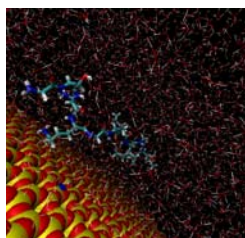
- Mintavétel molekuladinamikában
- Termodinamikai mennyiségek számítása az „átalakulási úton”
 - Szabadenergia számítási technikák:
 - Termodinamikai integrálás
 - Szabadenergia perturbáció
 - Átlagos erő potenciálja
 - Nem egyensúlyi munka
 - Standard szabadenergia
 - Entalpia és entrópia
 - Példák



2

Molekuladinamika (ismétlés)

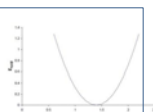
- Kapcsolat mikroszkopikus és makroszkopikus mennyiségek között
 - atomok mozgását szimuláljuk
 - mintát veszünk
 - nyomás, hőmérséklet, szabadenergia,... számítható



- Klasszikus molekula dinamika:

- atomok közötti potenciál $E_{MM} = E_{kötés} + E_{szög} + E_{torz} + E_{vdw} + E_{elek}$
- atomok sebességei

- Newton mozgásegyenletei: $-\frac{dU}{dr} = m \frac{d^2r}{dt^2}$



3

MD - Mintavétel

- Mikroállapotok Boltzmann eloszlás szerint jelennek meg
 - $\exp\left(-\frac{E}{kT}\right)$
- Számítási kapacitás által korlátozott szimulációs idő
 - Fehérjék esetében $\sim \mu s$
- Lassú, jelentős energiagáttal rendelkező folyamatok szimulációjának korlátja

4

MD - Mintavétel

Idő skála (s)	Amplitúdó (Å)	Jellemzés	MD lépésszám (lépés ~ fs)
10^{-15} - 10^{-12}	0.001-0.1	kötés megnyúlás, kötésszög torzulás	1-1000
10^{-12} - 10^{-9}	0.1-10	fehérje oldallánc, hurok, kollektív mozgások	10^3 - 10^6
10^{-9} - 10^{-6}	1-100	kisméretű fehérjék feltekeredése;	10^6 - 10^9
10^{-6} - 10^{-1}	10-100	fehérje feltekeredés, ligandum-fehérje kötődés	10^9 - 10^{14}

5

Szabadenergia - Mintavétel

$$F = -kT \ln \left[h^{-3N} \iint \exp \left(-\frac{E(r, p)}{kT} \right) dp dr \right] \quad (1) \text{ szabadenergia képlete}$$

Szabadenergia számítása MD mintavétellel nehéz
(1)-ben fázistér nem teljes : integrál pozitív; ln függvény monoton nő
-> negatív hozzájárulás hiányzik -> F túlbecsült

6

Szabadenergia - Mintavétel

$$F = -kT \ln \left[h^{-3N} \iint \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) dp dr \right] \quad (1) \text{ Szabadenergia képlete}$$

$$F = -kT \ln \left[\int \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) dr \right] + \left(\text{ideális gáz} \right) \quad (2) \text{ Impulzus szerint integrálva}$$

$$F' = -kT \ln \left[\frac{\int \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) dr}{\int \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) \exp \left(+\frac{E}{kT} \right) dr} \right] \quad (3) \text{ Térfogati integrállal osztva}$$

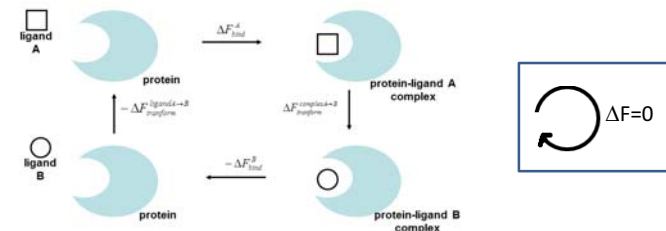
$$F' = kT \ln \left[\frac{\int \exp \left(+\frac{E}{kT} \right) \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) dr}{\int \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) dr} \right] = kT \ln \left\langle \exp \left(\frac{E}{kT} \right) \right\rangle \quad (4) \text{ előző egyenlet várható érték alakban}$$

(4)-ben a nagy energiájú tagok hozzájárulása F-hez számottevő, de mintavételének valószínűsége kicsi

7

Szabadenergia különbség

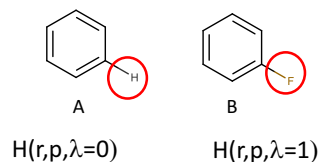
- A mintavételezés részlegessége nehezíti F és $\Delta F = F_B - F_A$ számítását
- Hasonló rendszerek $\Delta F = F_B - F_A$ (A hasonló B-hez) számítására speciális technikák (lásd később)
- Termodinamikai ciklus: 2 hasonló ligandum kötődési szabadenergia különbségének ($\Delta \Delta F$) számítását visszavezeti hasonló rendszerek szabadenergia különbségének számítására



- $-\Delta F(A)_{bind} - \Delta F(B)_{bind} = \Delta F(cmplx)_{tr} - \Delta F(ligand)_{tr}$
- „alkímiai” transzformációk: $\Delta F(cmplx)_{tr}$ és $\Delta F(ligand)_{tr}$
 - 2 transzformáció $\Delta \Delta F$ számításához

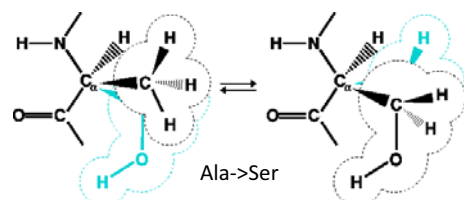
8

Alkímiai transzformáció - csatolási paraméter



$$H_\lambda = H(r,p,\lambda) = (1-\lambda) H_A + \lambda H_B$$

λ – csatolás paraméter
 H_λ λ -nak más függvénye is lehet
 H_A, H_B is függhet λ -tól



<http://www.ks.uiuc.edu/Research/namd/2.6/ug/node36.html>

- Nagy perturbáció – jelentős változás a környezetben
- Perturbáció mértéke korlátozott

9

MD technikák ΔF számítására

- Termodinamikai integrálás (TI)
- Szabadenergia perturbáció (FEP)
- Átlagos erő potenciálja (PMF)
- Nem egyensúlyi munka (Jarzynski egyenlet)

10

Termodinamikai integrálás

$$\Delta F = F_B - F_A = F(\lambda=1) - F(\lambda=0) = \int_{\lambda=0}^{\lambda=1} F'(\lambda) d\lambda$$

$$F' = \frac{d}{d\lambda} [-kT \ln Z(\lambda)] = \left\langle \frac{\partial E}{\partial \lambda} \right\rangle$$

$$F' = \left\langle \frac{\partial E}{\partial \lambda} \right\rangle \rightarrow \frac{dF(x,\lambda)}{d\lambda} = \frac{d \left(-kT \ln \int e^{-\frac{E(x,\lambda)}{kT}} dx \right)}{d\lambda}$$

$$= -kT \frac{1}{\int e^{-\frac{E(x,\lambda)}{kT}} dx} \int e^{-\frac{E(x,\lambda)}{kT}} \left(-\frac{1}{kT} \frac{dE(x,\lambda)}{d\lambda} \right) dx = \left\langle \frac{dE(x,\lambda)}{d\lambda} \right\rangle$$

Pl.: $E(x,\lambda) = (1-\lambda) E_A(x) + \lambda E_B(x)$;
 $dE/d\lambda = E_B - E_A$

11

Termodinamikai integrálás

• Megvalósítás

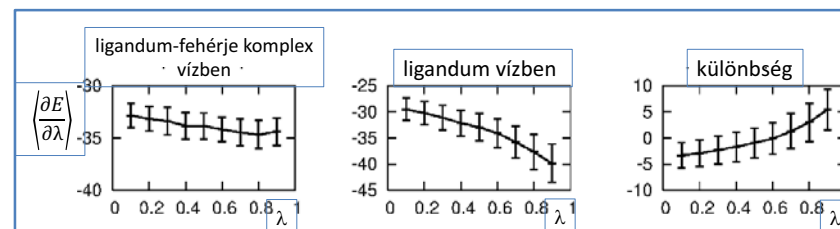
1. λ időben változik
2. Szimuláció különböző rögzített λ értékeknél

- $\left\langle \frac{\partial E}{\partial \lambda} \right\rangle$ kiszámítása

– T.f.: $\frac{\partial E}{\partial \lambda} = E_B - E_A \rightarrow \langle E_B - E_A \rangle_\lambda$ λ -tól függ; általában bonyolultabb $\frac{\partial E}{\partial \lambda}$

- Numerikus integrálás – „sima” $F(\lambda)$ szükséges

$$\Delta F = \int_{\lambda=0}^{\lambda=1} \left\langle \frac{\partial E}{\partial \lambda} \right\rangle_\lambda d\lambda$$



12

Szabadenergia perturbáció

$$F = -kT \ln \left[\int \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) dr \right] \quad (1) \text{ szabadenergia képlete}$$

$$F_B - F_A = -kT \ln \left[\frac{\int \exp \left(-\frac{E_B}{kT} \right) dr}{\int \exp \left(-\frac{E_A}{kT} \right) dr} \right] \quad (2) \text{ két rendszer szabadenergia különbsége}$$

$$F_B - F_A = -kT \ln \left[\frac{\int \exp \left(-\frac{E_A}{kT} \right) \exp \left(\frac{E_A}{kT} \right) \exp \left(-\frac{E_B}{kT} \right) dr}{\int \exp \left(-\frac{E_A}{kT} \right) dr} \right] \quad (3) 1 = \exp \left(-\frac{E_A}{kT} \right) \exp \left(\frac{E_A}{kT} \right)$$

$$F_B - F_A = -kT \ln \left[\frac{\int \exp \left(-\frac{E_A}{kT} \right) \exp \left(-\frac{\Delta E}{kT} \right) dr}{\int \exp \left(-\frac{E_A}{kT} \right) dr} \right] \quad (4) \Delta E = E_B - E_A$$

$$F_B - F_A = -kT \ln \left[\left\langle \exp \left(-\frac{\Delta E}{kT} \right) \right\rangle_A \right] \quad (5) \text{ előző kifejezés várható érték alakban}$$

13

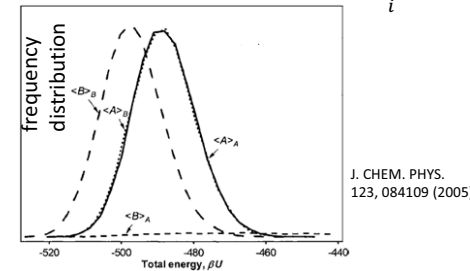
Szabadenergia perturbáció

$$\Delta F = -kT \ln \left\langle \exp -\frac{E_B - E_A}{kT} \right\rangle_A$$

- A → B több szakaszra osztható (osztandó)

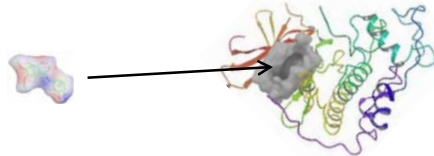
– A két állapot konfigurációs tere átfedjen

– A \rightarrow B $\Delta F = \sum_i -kT \ln \left\langle \exp -\frac{E(\lambda_{i+1}) - E(\lambda_i)}{kT} \right\rangle_{\lambda_i}$



14

Átlagos erő potenciálja (PMF)



\underline{x} – intermolekuláris koordináták
 \underline{y} – intramolekuláris koordináták

$$F = -RT \ln \left[\int \exp \left(-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT} \right) d\underline{x} d\underline{y} \right] \quad \text{szabadenergia}$$

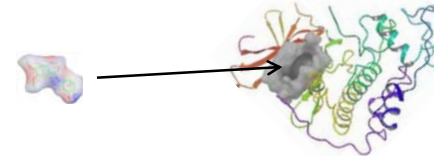
$$F(\underline{x}) = -RT \ln \left[\int \exp \left(-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT} \right) d\underline{y} \right] \quad \text{átlagos erő potenciálja}$$

magyarázat

$$\frac{dF(\underline{x})}{d\underline{x}} = \frac{\int \frac{dE(\underline{x}, \underline{y})}{d\underline{x}} e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{y}}{\int e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{y}} = -\langle \varphi(\underline{x}) \rangle_y \quad F - \text{potenciál; } \varphi - \text{erő}$$

15

Átlagos erő potenciálja (PMF)



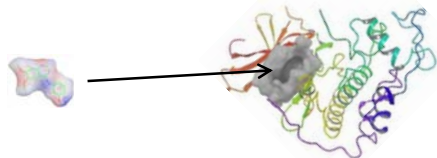
\underline{x} – intermolekuláris koordináták
 \underline{y} – intramolekuláris koordináták

$$P(\underline{x}) = \int P(\underline{x}, \underline{y}) d\underline{y} = \frac{\int e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{y}}{\int e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{x} d\underline{y}} = \frac{e^{-\frac{F(\underline{x})}{RT}}}{\int e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{x} d\underline{y}} \quad P(\underline{x}) - \underline{x} \text{ valószínűsége}$$

$$F(\underline{x}) - F_{Ref} = -RT \ln \frac{P(\underline{x})}{P(Ref)}$$

16

Átlagos erő potenciálja



\underline{x} – intermolekuláris koordináták
 \underline{y} – intramolekuláris koordináták

Számítás:

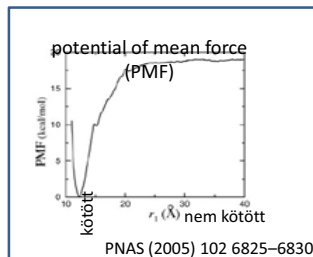
1. $P(\underline{x})$ számítása \underline{x} mentén

$$F(\underline{x}) - F_{Ref} = -RT \ln \frac{P(\underline{x})}{P(Ref)}$$

$$F(\underline{x}) = -RT \ln P(\underline{x}) + konst.$$

2. $\langle \varphi(\underline{x}) \rangle$ számítása rögzített \underline{x} -k mentén

$$F(x') - F(ref) = \int_{ref}^{x'} \frac{dF(x)}{dx} dx = \int_{ref}^{x'} -\langle \varphi(x) \rangle dx$$



PNAS (2005) 102 6825–6830

Alkalmos mintavétel szükséges!

17

Nem egyensúlyi munka

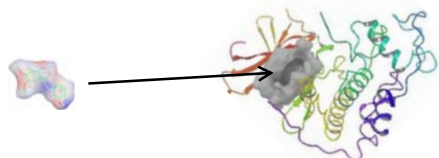
$$\Delta F = F_2 - F_1 = -kT \ln \left\langle \exp \left(-\frac{W}{kT} \right) \right\rangle \quad (\text{Jarzynski})$$

- Nem egyensúlyi úton végzett munkából (W) számolt várható érték
- Gyors transzformáció is lehetséges a két állapot között
- Mintavételezési probléma
- Jelenlegi eljárások nem hatékonyabbak, mint az egyensúlyi módszerek

18

Standard kötődési szabadentalpia számítás - 1

- $LP \leftrightarrow L + P$
- ΔG (nem $\Delta\Delta G$) számítás
 - Ligandum tényleges kötődési folyamata

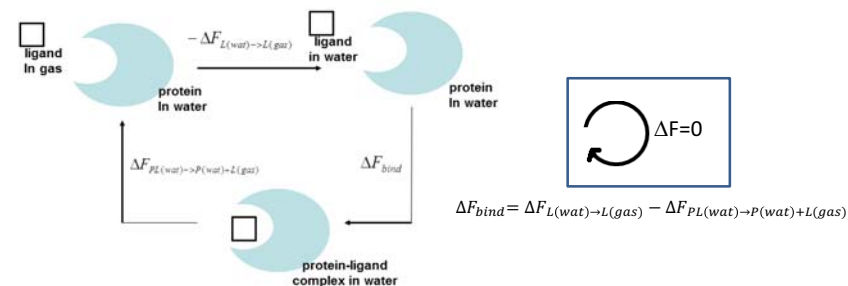


– λ reakciókoordináta mentén: átlagos erő potenciálja (PMF)

19

Standard kötődési szabadentalpia számítás - 2

- $LP \leftrightarrow L + P$
 - Kettős lecsatolás („double decoupling”); L nem hat kölcsön a környezetével



– TI vagy FEP

$$\Delta F = \int_{\lambda=0}^{\lambda=1} \left\langle \frac{\partial E}{\partial \lambda} \right\rangle d\lambda$$

$$\Delta F = \sum_i -kT \ln \left\langle \exp -\frac{E(\lambda_{i+1}) - E(\lambda_i)}{kT} \right\rangle_{\lambda_i}$$

20

Entalpia és entrópia számítása

- ΔF számítható hasonló rendszerek energiakülönbsége várható értékéből
 - v.ö. TI és FEP
- ΔH , $T\Delta S$ a végállapotok állapotfüggvényei várható értékének különbségéből számítható
- ΔH , $T\Delta S$ számítása több nagyságrenddel pontatlanabb, mint ΔF számítása

21

Példa – FKBP12-ligandum

Standard kötődési szabadentalpia
Kettős lecsatolás
FEP
Energia komponensek is

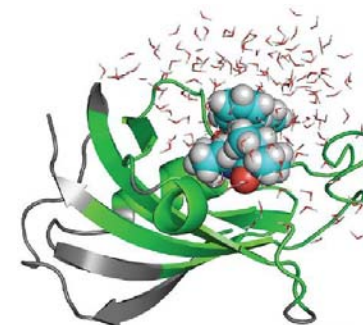


Figure 4. FKBP12 bound with ligand #8 studied previously.^{40,42} The gray parts are treated as a mean-field approximation with generalized solvent boundary potential.⁴⁰ See ref 42 for computational details.

$\Delta\Delta G_{\text{rep}}$	$\Delta\Delta G_{\text{dis}}$	$\Delta\Delta G_{\text{elec}}$	$\Delta\Delta G_{\text{c}}$	$\Delta\Delta G_{\text{t}}$	$\Delta\Delta G_{\text{r}}$	$\Delta G_{\text{bind}}^{\circ}$	exptl
-1.1	-21.1	-3.7	6.9	3.4	5.4	-10.2	-10.9
			konf	transz	rot		

²²
J. Phys. Chem. B **2009**, 113, 2234

Példa – kötődés lizozimhez

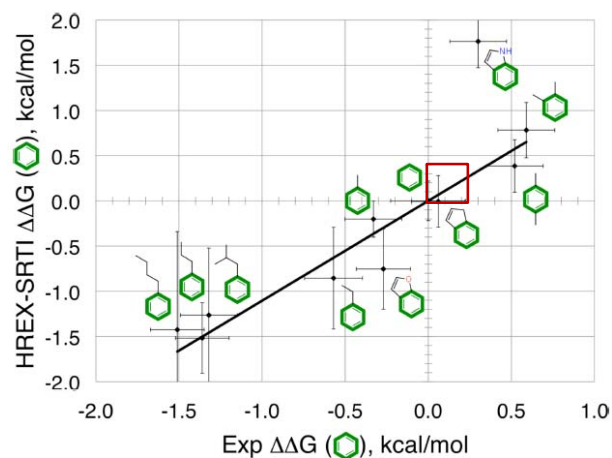


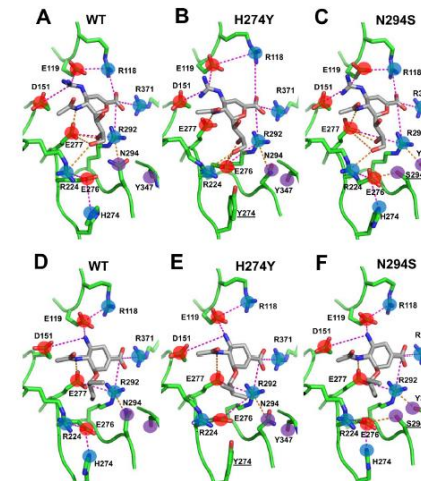
Figure 6. Comparison of the HREX-SRTI relative binding free energy predictions to experiment

J. Chem. Theor. Comput. 2011, 7 3001

- $\Delta\Delta G$
- termodinamikai integrálás
- kis szerkezeti változások

23

Példa – neuraminidáz gátlók 1



- 2 ligandum
- 3 fehérje: vad típus + 2 mutáns

Figure 2. Representative structures for neuraminidase (A, B and C) and neuraminidase (D, E and F) bound to WT and mutant NAIs from the SRM/HREX simulations. Salt bridges and hydrogen bonds are depicted as magenta and orange dashed lines, respectively. Positively charged, negatively charged, and uncharged polar groups are noted as blue, red, and purple circles, respectively, and residues of interest are labeled. Multibonded residues are underlined. doi:10.1371/journal.pcbi.1002665.g002

PLOS Comp Biol 2012, 8 e1002665

24

Példa – neuraminidáz gátlók 2

Table 1. Comparison of experimental $\Delta\Delta G$ in oseltamivir and zanamivir for three NA mutations with estimates obtained using different computational approaches.

Method	H274Y		N294S		Y252H		RMSE
	$\Delta\Delta G$, kcal/mol		$\Delta\Delta G$, kcal/mol		$\Delta\Delta G$, kcal/mol		(RMSD), kcal/mol
	zanamivir	oseltamivir	zanamivir	oseltamivir	zanamivir	oseltamivir	
Experimental ^a	0.4 (0.1)	3.3 (0.2)*	1.2 (0.1)*	2.6 (0.2)*	0.1 (0.2)	-1.4 (0.1)	N/A (0.2)
SRMM	-5.8 (7.4)	0.7 (7.0)	8.2 (7.7)	5.8 (6.2)	-0.1 (8.7)	-0.9 (7.4)	4.2 (7.4)
SRCM	1.7 (2.9)	1.2 (3.0)	0.6 (3.0)	1.7 (1.9)	1.5 (1.7)	0.5 (1.5)	1.5 (2.2)
SRSM/HREX	1.3 (0.8)	4.1 (2.4)	2.3 (0.4)	2.2 (0.9)	0.6 (0.8)	0.7 (1.4)	1.1 (1.1)
MM-GBSA	6.2 (8.1)	0.9 (3.8)	5.7 (6.1)	-3.9 (3.6)	2.1 (2.9)	-1.9 (3.0)	4.8 (4.6)
MM-PBSA	8.4 (10.1)	3.0 (3.9)	5.8 (4.5)	-4.7 (3.2)	2.8 (3.1)	0.2 (2.6)	5.0 (4.6)
CoarseGrained	-0.4 (0.5)	-0.8 (0.8)	-0.4 (0.3)	0.3 (0.7)	-0.1 (0.4)	0.0 (0.0)	1.7 (0.3)

^aValues were derived from the data reported by Collins et al [10].

Standard deviations are shown in parentheses. Root mean squared error (RMSE) and the RMS Standard Deviation (RMSD) are provided.

*Indicates experimentally determined drug resistant mutation. 'N/A' stands for *not applicable*.

doi:10.1371/journal.pcbi.1002665.t001

PLOS Comp Biol 2012, 8 e1002665

<ul style="list-style-type: none"> $\Delta\Delta G$; TI Vad típus/mutáns Kísérleti/számított Standard deviáció is 	A különböző mutánsokhoz való kötődés erősségének sorrendje helyes mindkét ligandum esetében	A két ligandum adott fehérjéhez való kötődés erősségének sorrendje nem mindig egyezik a kísérletivel
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------

25

Összefoglalás

- Fehérje-ligandum kölcsönhatás számítógépes modellezése – 1. rész
 - MD alapú módszerek - potenciálisan pontosak
 - Legfőbb nehézség: mintavétel
 - $\Delta\Delta F$ ($\Delta\Delta G$) számítása hatékony; „Alkímiai” transzformációk
 - Technikák ΔF számítására (hasonló állapotok között)
 - Termodinamikai integrálás
 - Szabadenergia perturbáció
 - Átlagos erő potenciálja
 - Nem egyensúlyi munka
 - Standard kötődési szabadentalpia is számítható
 - Entalpia és entrópia változás számítása fokozottan pontatlan
 - Nem rutinszerű alkalmazás; változó pontosság

26