

Fehérje-ligandum kölcsönhatás kvantitatív jellemzése számítógépes modellezéssel 2. rész

Ferenczy György

MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport
ferenczy.gyorgy@med.semmelweis-univ.hu

2012.10.25

Vázlat

- Kötődési szabadentalpia számítási módszerei;
2. rész
 - Lineáris kölcsönhatási energia módszer; LIE (Linear Interaction Energy)
 - MM-PBSA (Molecular Mechanics Poisson – Boltzmann Surface Area)
 - Dokkolás pontozófüggvénnyel (docking-scoring)
- Vegyes kvantum mechanikai/molekula mechanikai számítások fehérjékre

LIE

Lineáris Kölcsönhatás Módszere

LIE

- Lineáris Kölcsönhatási Energia módszere
$$\Delta G = \alpha(\langle E_{cplx}^{vdw} \rangle - \langle E_{solv}^{vdw} \rangle) + \beta(\langle E_{cplx}^{el} \rangle - \langle E_{solv}^{el} \rangle) + X$$

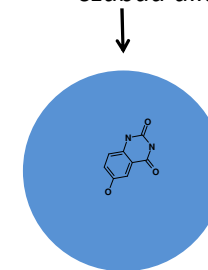
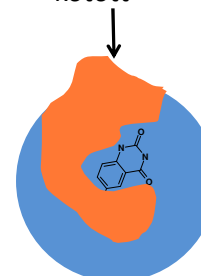
$$(\langle E_{cplx} \rangle - \langle E_{solv} \rangle)$$

Kölcsönhatási energia különbség a ligandum és a környezete között

kötött

és

szabad állapotokban



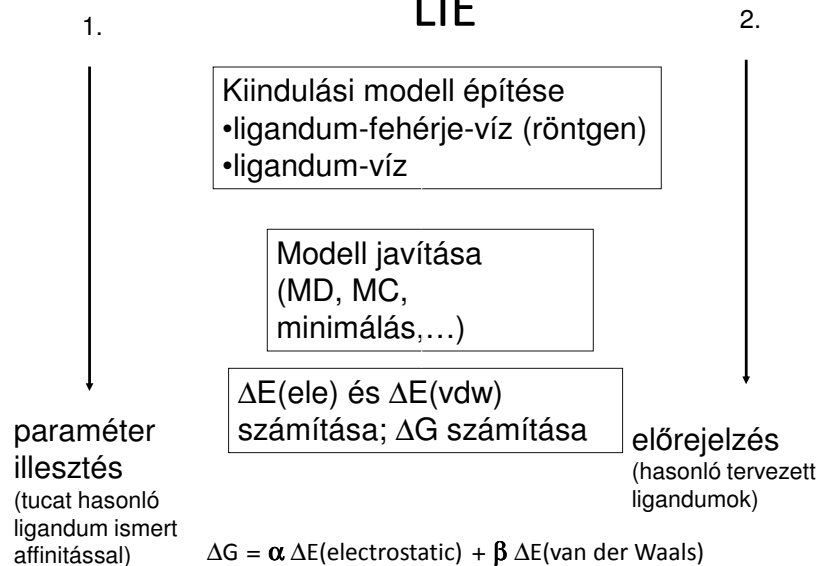
LIE

- $\Delta G = \alpha(\langle E_{cmplx}^{vdw} \rangle - \langle E_{solv}^{vdw} \rangle) + \beta(\langle E_{cmplx}^{el} \rangle - \langle E_{solv}^{el} \rangle) + X$
- α : illesztendő paraméter
- β : $\frac{1}{2}$ - elektrosztatikus lineáris válasz közelítés
vagy: illesztendő paraméter
- X: különböző közelítések:
 - 0 – eredeti
 - $X = \gamma(\langle E_{cmplx}^{cav} \rangle - \langle E_{solv}^{cav} \rangle)$ – felület nagysága
- Lineáris válasz: $\Delta G = 1/2 E^{el}$
- QSAR típusú egyenlet

LIE

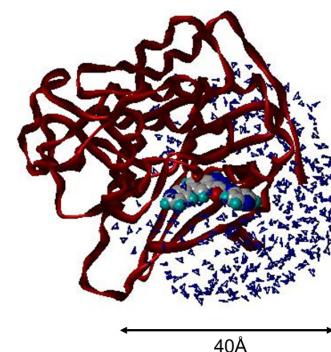
- Alkalmazás feltételei:
 - A kötésmód (közelítőleg) ismert
 - Néhány (~10) ligandum kötési állandója ismert – paraméter illesztés
 - Ligandumok hasonlóak (v.ö.: FEP, TI)

LIE



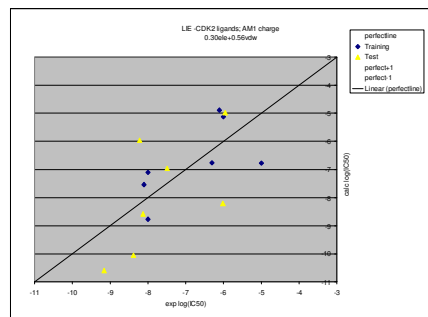
LIE

- Számítás néhány paramétere:
 - Explicit \leftrightarrow implicit víz
 - MM erőter (töltések)
 - Minimálás, dinamika
 - egyensúly, mintavétel (30ps, 50ps)



LIE

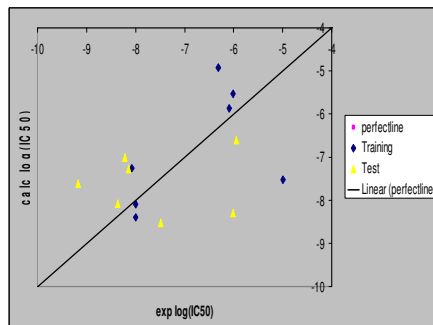
OPLS explicit víz, dinamika



$\Delta G = 0.30E(\text{ele}) + 0.56 E(\text{vdw})$
 RMS(logIC50)=1.02 (training)
 RMS=(logIC50)1.52 (test)
 RMS=(logIC50)1.30 (total)

2012.10.25

OPLSA_AA implicit (GB) víz, minimálás



$\Delta G = 0.19E(\text{ele}) + 0.24 E(\text{vdw})$
 RMS(logIC50)=1.16 (training)
 RMS=(logIC50)=1.28 (training)
 RMS=(logIC50)=1.22 (training)

9

MM-PBSA

Molecular Mechanics – Poisson-Boltzmann
Surface Area

MM-PBSA

- MM-PBSA: Molecular Mechanics – Poisson-Boltzmann Surface Area
- $\Delta G = G_{\text{komplex}} - G_{\text{ligandum}} - G_{\text{fehérje}}$
- $G = E_{\text{MM}} + G_{\text{PB}} + G_{\text{SA}} - TS_{\text{MM}}$
 - E_{MM} : MM energia (minimálás vagy szimuláció) oldószer nélkül
 - G_{PB} : poláris szolvatációs szabadentalpia Poisson-Boltzmann egyenletből
 - G_{SA} : nem poláris szolvatációs szabadentalpia becslése molekulafelszínből
 - S_{MM} : oldott molekula entrópiája normál mód (vagy kvázi-harmonikus) analízisből

2012.10.25

11

MM-PBSA

$$G = E_{\text{MM}} + G_{\text{PB}} + G_{\text{SA}} - TS_{\text{MM}}$$

– Szerkezetek generálása G számításához

- rövid molekula dinamikai szimuláció
 - Külön dinamika fehérje-ligandum komplexre, fehérjére és ligandumra
 - dinamika komplexre és G számítás abból kivett fehérjére és ligandumra
 - » egyetlen trajektoria
 - » kötött és szabad molekula azonos geometriával közelítve
- dinamika alternatívája: minimálás
- Explicit/implicit víz

2012.10.25

12

MM-PBSA

$$G = E_{MM} + G_{PB} + G_{SA} - TS_{MM}$$

- $E_{MM} = E_{\text{kötés}} + E_{\text{szög}} + E_{\text{torz}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{elek}}$
 - Egyetlen trajektoriánál:
 - intramolekuláris E_{MM} kioltás, numerikus hiba csökken

2012.10.25

13

MM-PBSA

$$G = E_{MM} + G_{PB} + G_{SA} - TS_{MM}$$

- Poisson-Boltzmann egyenlet
 - Poisson: összefüggés a töltéssűrűség és az elektrosztatikus potenciál között
 - Boltzmann: összefüggés az ionkoncentráció (töltéssűrűség) és az elektrosztatikus potenciál között
 - Poláris molekula ionokat tartalmazó vízben (oldószerben)
 - Oldószer kontinuum – dielektromos állandó
 - Numerikus megoldás:
 - Elektrosztatikus potenciál rácspontokban
 - Oldódást kísérő energiaváltozás (elektrosztatika)
- Alternatív: Általánosított Born modell (MM-GBSA)
 - PB közelítése
 - Kevesebb számítás

2012.10.25

14

MM-PBSA

$$G = E_{MM} + G_{PB} + G_{SA} - TS_{MM}$$

- G_{SA}
 - $G_{SA} = \gamma SA + \beta$
 - γ, β állandók
 - SA (surface area): oldószer által hozzáférhető felszín nagysága
 - Hidrofób hidratáció

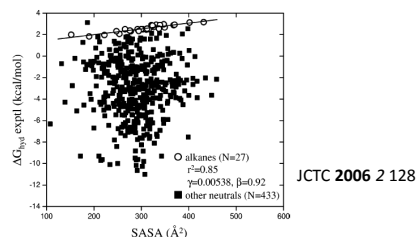


Figure 2. Experimental free energies of hydration vs total molecular solvent-accessible surface area (SASA). The best fit line to the 27 linear and branched alkanes (○) yields a correlation coefficient $R^2 = 0.85$, $\gamma = 0.00538$, and $\beta = 0.92$. Other compounds are represented as filled squares (■).

2012.10.25

15

MM-PBSA

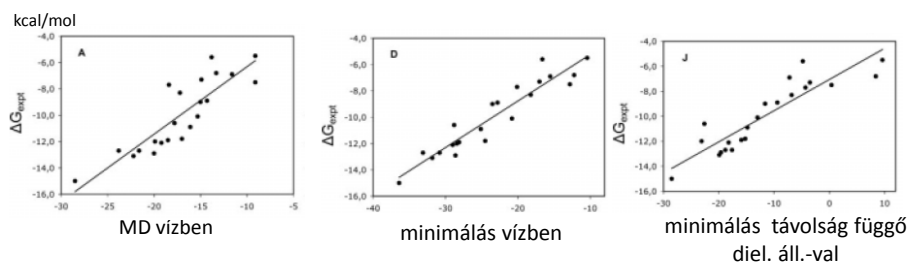
$$G = E_{MM} + G_{PB} + G_{SA} - TS_{MM}$$

- S_{MM}
 - Molekula rezgések hozzájárulnak a szabadenergiához
 - Kis frekvenciájú rezgések entrópia hozzájárulása lényeges ΔG számításához
 - Normál mód analízis
 - Energia minimált szerkezet
 - Erőállandó mátrix diagonalizálása
 - Számításigényes – néhány „snapshot”-ra
 - Hiányosságok
 - anharmonicitás
 - oldószerhatás

2012.10.25

16

MM-PBSA



JCC 2010 31 797

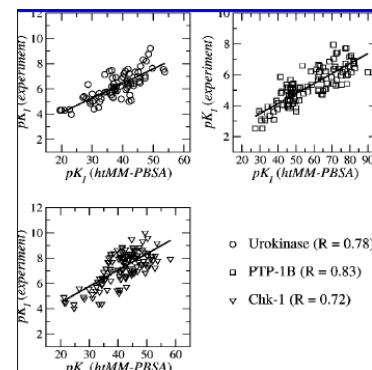
- Abszolút ΔG rosszul becsült
- ΔG_{exp} és ΔG_{calc} korrelál
- Mintavételtől kevésbé függ (?)

2012.10.25

17

Pontozófüggvény és dokkolás

MM-PBSA



JMC 2009 52 3159

- Abszolút ΔG rosszul becsült
- ΔG_{exp} és ΔG_{calc} korrelál
- Regressziós paraméterek fehérjétől függenek

2012.10.25

18

Pontozó függvény

- Fehérje-ligandum komplex kötődési szabadentalpiájának (?) becslése
- Szabadentalpia vs. pontozás (scoring)
- Nagyon gyors – másodperc/ligandum
- Általában egyetlen konfiguráció leírása
- Dokkolással párosítva
 - Komplex szerkezetek generálása - minimális előzetes szerkezeti információból!

2012.10.25

20

Pontozó függvény

- Típusai
 - Erőtér alapú
 - Molekula-mechanikai erőter
 - Tapasztalati (empirical)
 - Lokalizált kölcsönhatások összege
 - Tudásalapú
 - Adatbázisok elemzésére épül
 - Vegyes
 - Előzőek kombinációja

2012.10.25

21

Erőtér alapú pontozófüggvény

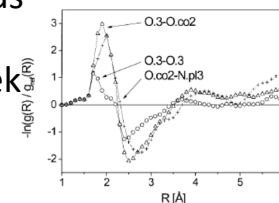
- Gáz-fázisú energia számítás
(\leftrightarrow oldatbeli szabadenergia)
- Fehérje tere előre kiszámítható egy griden – számítási sebesség növekszik
- Lehetővé tesz szerkezet optimalást
- Kiegészíthető
 - oldószer hatás
 - entrópia ?

Tapasztalati pontozófüggvények

- Kölcsönhatási tagok intuitív válogatása
 - Hidrogén-kötés
 - Típus szerint súlyozott összeg
 - Ionos kölcsönhatás
 - Hidrofób kölcsönhatás
 - Arányos az érintkező felszín nagyságával
- Kísérleti affinitásokhoz illesztett paraméterek
- Csak a modellben szereplő tagokat „látja”
- Lokális kölcsönhatások

Tudásalapú pontozófüggvények

- Komplexek kísérleti adatainak statisztikai analíziséből
 - $E_i = -kT \ln(p_i)$ – energia tag \sim előfordulás valószínűsége
- Protein Data Bank: 85435 szerkezet 2012. október 23-án
- Kötődési adat nem szükséges
- Nagy távolságú mintavétel – oldószer hatás is
- Kis távolságú mintavétel – specifikus kölcsönhatások hangsúlyozása
- Taszító kölcsönhatások nem teljeselek



Dokkolás - pontozás

- Ligandum-fehérje komplex szerkezetek generálása és rangsorolása
 - Egyetlen ligandum-fehérje pár esetén
 - kötési mód meghatározása
 - Több ligandum és egyetlen fehérje esetén
 - kötési módok meghatározása
 - affinitás (kötődési szabadentalpia) szerinti rangsorolás
 - Virtuális szűrés
- Komplexre vonatkozó előzetes szerkezeti információ nélkül (elvileg)
- Gyógyszerkutatási alkalmazásokat lásd később

Dokkolás-pontozás közelítései

Néhány fontosabb:

- Fehérje flexibilitás
- Protonáltsági fok
- Vízszerkezet
- Kötést közvetítő vízmolekulák
- Entrópia
- Hőmérséklet
- ...

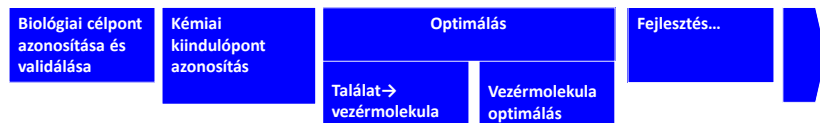
Fehérje flexibilitás – dokkolás-pontozás

- Fehérje flexibilitás
 - Kötéshez kedvező fehérje konformáció kiválasztása
 - Populáltság eltolódás
 - Indukált illeszkedés
 - Korábban jelen nem lévő fehérje konformációhoz való kötődés
 - Nincsen éles határ a fenti két mechanizmus között

Fehérje flexibilitás – dokkolás-pontozás

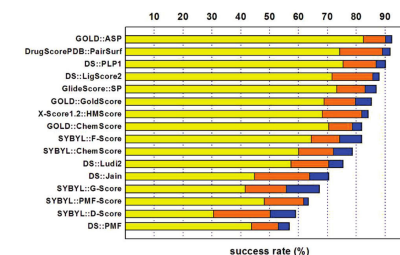
- Dokkolás fehérje flexibilitás figyelembe vételével
 - Több statikus fehérje szerkezet használata
 - Kísérleti szerkezetek – komplexek különböző ligandumokkal, NMR
 - Számítással (MD, MC) generált szerkezetek
 - Több számítás
 - „Puha” („soft”) fehérje szerkezet
 - több szerkezetből egy átlagos, tompított kölcsönhatásokat tartalmazó szerkezet
 - Nagy mozgások nem tud leírni
 - Megnövekedett kötőzseb
 - Egymást kizáró kötőhelyek egyszerre
 - Fehérje konformáció dokkoláskor alakul (pl. MD)

Dokkolás-pontozás alkalmazásai



- Dokkolás - Kötődési mód meghatározás
 - Adott ligandum-fehérje pár kötőmódjainak összehasonlítása
 - Találat → vezérmolekula fázis
- Néhány vegyület rangsorolása a kötődés erőssége szerint
 - Néhány hasonló vegyület kötődési szabadenergiájának rangsorolása
 - Vezérmolekula optimálása fázis
- Virtuális szűrés
 - Nagyszámú ligandum kötődésének rangsorolása
 - Kémiai kiindulópont azonosítása fázis

Dokkolás



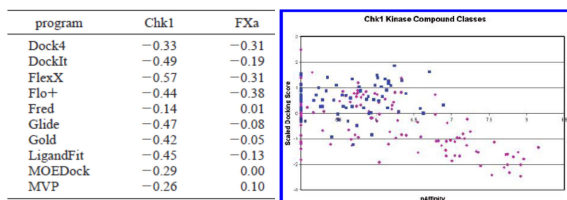
success rate (%)

JCIM 2009, 49, 1079

- Fehérje szerkezet
 - röntgen krisztallográfia
 - homológia modell
- Ligandum szerkezet
 - Modell
- Komplex szerkezet
 - Ligandumnak a fehérje kötőzsebébe illesztése - dokkolás
 - Ligandum különböző pozícióinak rangsorolása pontozófüggvénnyel
 - Korlátozott fehérje flexibilitás
 - Ligandum konformációs térének hatékony feltérképezése
- Dokkolt ligandum szerkezet RMSD < 2 Å – esetek 70-80%-a kedvező esetben

Rangsorolás

- Molekulák dokkolása és pontozófüggvény szerinti rangsorolása
- Gyakran hasonló szerkezetű, tervezett molekulákat vizsgálunk – vezérmolekula optimálás
- Gyenge korreláció a pontozófüggvény és a kísérleti affinitás között
- A pontozófüggvény szerinti rangsor gyengén korrelál a kísérleti affinitás szerinti rangsorral



method	Pearson R	Spearman ρ
code 1	0.76 (0.80–0.71)	0.74 (0.79–0.68)
code 2	0.72 (0.77–0.66)	0.73 (0.78–0.67)
code 3	0.67 (0.72–0.60)	0.68 (0.74–0.61)
code 4	0.64 (0.70–0.58)	0.64 (0.70–0.56)
code 5	0.63 (0.69–0.56)	0.64 (0.71–0.57)
code 6	0.62 (0.68–0.55)	0.61 (0.68–0.53)
code 7	0.62 (0.68–0.55)	0.61 (0.68–0.53)
code 8	0.61 (0.67–0.54)	0.59 (0.66–0.51)
code 9	0.61 (0.67–0.53)	0.60 (0.67–0.52)
code 10	0.60 (0.66–0.52)	0.60 (0.67–0.52)
code 11	0.59 (0.66–0.52)	0.57 (0.64–0.49)
code 12	0.57 (0.63–0.49)	0.57 (0.65–0.49)
code 13	0.56 (0.63–0.48)	0.60 (0.67–0.52)
code 14	0.56 (0.63–0.48)	0.54 (0.62–0.45)
code 15	0.56 (0.63–0.48)	0.56 (0.63–0.47)
code 16	0.53 (0.60–0.45)	0.53 (0.61–0.44)
code 17	0.35 (0.44–0.25)	0.37 (0.46–0.27)

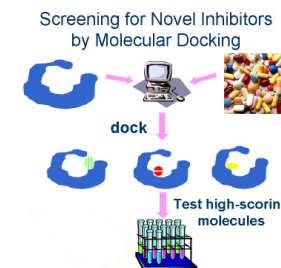
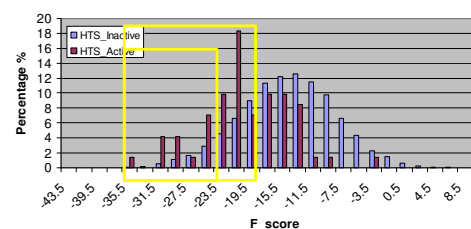
JMC 2006, 49, 5912

JCIM 2011, 51, 2115

Virtuális szűrés

- Kémiai kiindulópont azonosítás
- Számítás menete:
 - Nagy számú, szerkezetileg szerteágazó, létező molekula dokkolása
 - Kapott komplexek pontozása

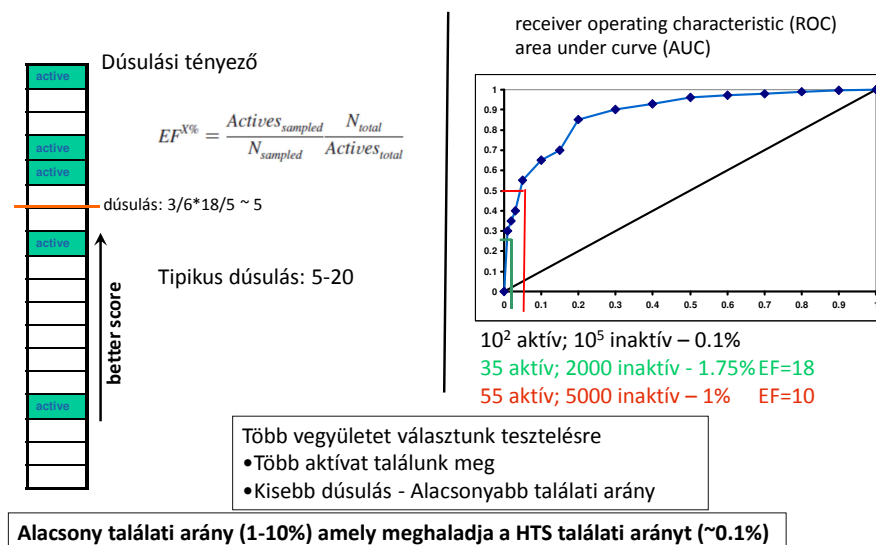
- „Legjobbak” kísérleti tesztelése



Kémiai kiindulópont azonosítás és virtuális szűrés

- Nagy áteresztőképességű szűrés (HTS) - kísérleti
 - Adott célpontra (gyenge) hatást mutató vegyületek megtalálása
 - Biokémiai/biofizikai módszerek
 - receptor kötődés
 - enzim gátlás
 - ...
 - 10^5 - 10^6 vegyület kísérletes tesztelése
 - Találatok száma: $\sim 10^2$
 - találási arány: 0.1% ($10^2/10^5$)
- Virtuális szűrés
 - Cél a HTS találási arány javítása a vegyületek előszűrésével
 - $\sim 10^6$ molekula dokkolása és pontozása
 - Legjobb $\sim 10^3$ molekula kísérleti tesztelése

Virtuális szűrés hatékonysága



Kvantum mechanika – molekula mechanika

Kvantum mechanika – Molekula mechanika

- Molekula mechanika
 - Paraméteres leírás
 - Tipikusan egyensúlyhoz közeli rendszerekre
- Kvantum mechanika(kémia)
 - Tetszőleges rendszerre, de nagy számításigénnyel
 - Tipikus alkalmazás: ahol MM nem megfelelő
 - Reakciómechanizmus
 - elektrongerjesztés

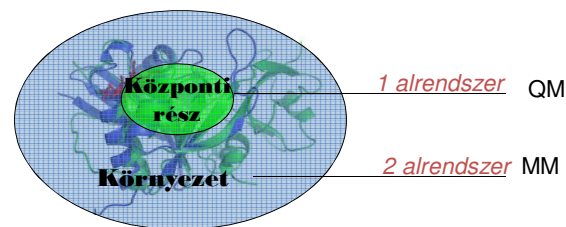
Vegyes kvantum mechanikai/molekula mechanikai számítások

• Kvantumkémia – számításigény – fehérjék

- Félempirikus módszerek
- Hartree-Fock, elektron korreláció
- Lineárisan skálázódó módszerek
- Sűrűség funkcionál elmélet
- Vegyes módszerek (QM/MM)

Vegyes kvantum mechanikai/molekula mechanikai számítások

QM/MM rendszer szétválasztása



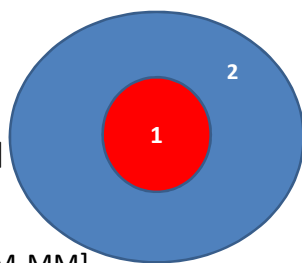
Pl.: Központi rész a ligandum és az enzim aktív helyének néhány aminosava

Vegyes kvantum mechanikai/molekula mechanikai számítások

• Energia számítási sémák:

- Különbség (subtractive)
- $E = E(1+2)[MM] - E(1)[MM] + E(1)[QM]$
- Összeg (additive)
- $E = E(1)[QM] + E(2)[MM] + E(1-2)[QM-MM]$

↑
kölcsonhatási tag



Vegyes kvantum mechanikai/molekula mechanikai számítások

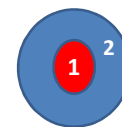
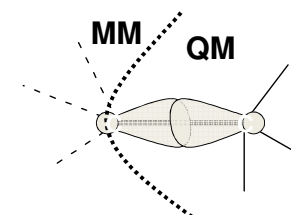
• Alrendszerekre bontás módszerei

– „link atom”:

- Szétválasztáskor keletkező szabad vegyértékek telítése
 - H-atommal
 - Atomcsoporttal
- „link” és rendszer atomok közel

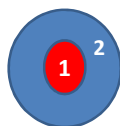
– Lokalizált kötés

- Sajátos QM feladat
- parametrizálás



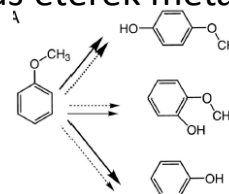
Vegyes kvantum mechanikai/molekula mechanikai számítások

- $E(1-2)[QM-MM]$ (kölsönhatási tag az energia összegben)
 - Mechanikai beágyazás
 - MM típusú töltésleírás a QM atomokon is
 - QM elektron sűrűség nem hat kölcsön a környezettel
 - Elektrosztatikus beágyazás
 - QM elektron sűrűséget polarizálják az MM töltések
 - q_{MM}/r típusú tag a Hamilton operátorban
 - Környezet töltéssűrűség változásai hatnak QM-re
 - Polarizált beágyazás
 - QM elektron sűrűséget polarizálják az MM töltések (lásd fent)
 - QM töltéssűrűség is polarizálja MM-t
 - Lehet önkonzisztens QM-MM polarizáció

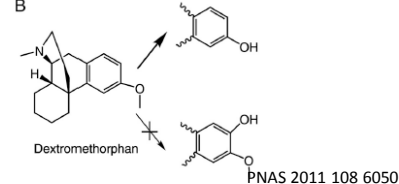


QM/MM alkalmazás - 1

- Dextrometorfán metabolizmusa P450 2D6 által
- Aromás éterek metabolizmusa általában 3 úton:

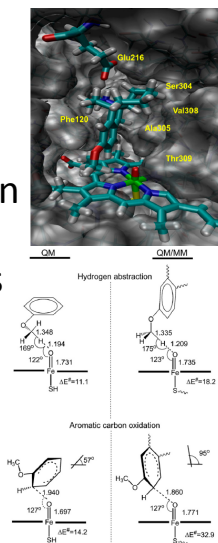


- Dextrometorfán esetében miért csak demetilálás, és nem aromás hidroxilálás?



QM/MM alkalmazás - 2

- Dokkolás és MD szerint sztérikusan az aromás hidroxilálás lehetséges
- QM szerint (kis modellre) az aromás hidroxilálás kedvező átmeneti állapoton keresztül mehet
- QM/MM szerint az aromás hidroxilálás átmeneti állapota kedvezőtlen - a kötőzsebbel való kölcsönhatás miatt



PNAS 2011 108 6050

Összefoglalás

- Fehérje-ligandum kölcsönhatás számítógépes modellezése
 - Kötődés
 - Termodinamika
 - MD alapú módszerekkel ΔG becsülhető
 - Számításgény, pontosság
 - Közelítő eljárások ΔG becsülésére
 - LIE, MM-PBSA, pontozás
 - QM/MM – reakció mechanizmus