

Fehérje-ligandum kötődés számítógépes modellezése I. Termodinamikai mennyiségek számítása

Tartalom

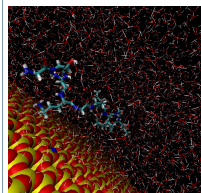
- Mintavétel molekuladinamikában
- Termodinamikai mennyiségek számítása az „átalakulási úton”
 - Szabadenergia számítási technikák:
 - Termodinamikai integrálás
 - Szabadenergia perturbáció
 - Átlagos erő potenciálja
 - Nem egyensúlyi munka
 - Entalpia és entrópia
 - Példák



2

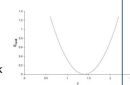
Molekuladinamika (ismétlés)

- 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

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

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

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

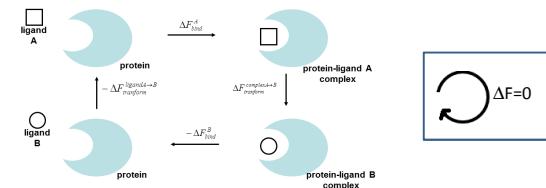
$$F' = kT \ln \left[\frac{\int \exp \left(+\frac{E}{kT} \right) \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) dr}{\int \exp \left(-\frac{E}{kT} \right) dr} \right] = kT \ln \left(\exp \left(\frac{E}{kT} \right) \right) \quad (4) \text{ előző egyenlet várható érték alakban}$$

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

7

Szabadenergia különbség

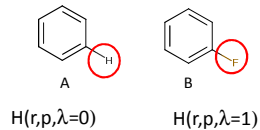
- A mintavételezés részlegessége nehezíti F és $\Delta F = F_B - F_A$ számítását
- Hasonló rendszerek $\Delta F = F_B - F_A$ (A hasonló B-hez) számítására speciális technikák (lásd később)
- Termodinamikai ciklus: 2 hasonló ligandum kötődési szabadenergia különbségének ($\Delta \Delta F$) számítását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

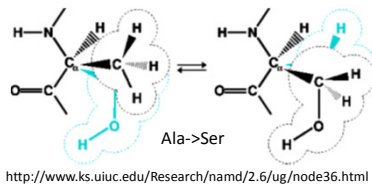
8

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



- 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

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

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

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

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

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

11

Termodinamikai integrálás

• Megvalósítás

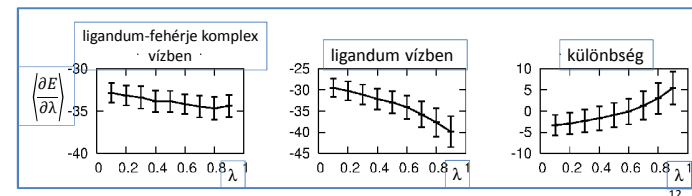
1. λ időben változik
2. Szimuláció különböző rögzített λ értékeknél

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

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



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

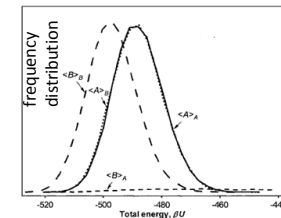
Szabadenergia perturbáció

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

- A → B több szakaszra osztható (osztandó)

– A két állapot konfigurációs tere átfedjen

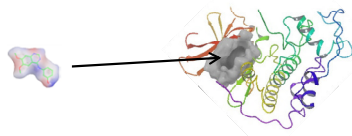
$$A \xrightarrow{\quad} B \quad \Delta F = \sum_i -kT \ln \left\langle \exp \left(-\frac{E(\lambda_{i+1}) - E(\lambda_i)}{kT} \right) \right\rangle_{\lambda_i}$$



J. CHEM. PHYS.
123, 084109 (2005)

14

Átlagos erő potenciálja (PMF)



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

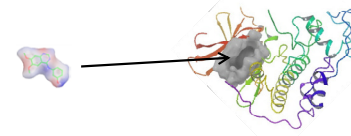
$$F = -RT \ln \left[\int \exp \left(-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT} \right) d\underline{x} d\underline{y} \right] \quad \text{szabadenergia}$$

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

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

15

Átlagos erő potenciálja (PMF)



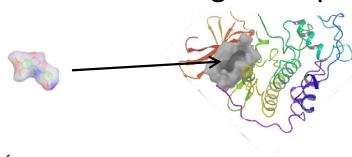
\underline{x} – intermolekuláris koordináták
 \underline{y} – intramolekuláris koordináták

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

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

16

Átlagos erő potenciálja



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

Számítás:

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

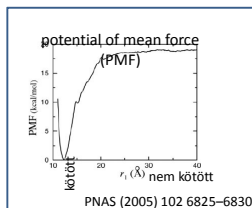
$$F(\underline{x}) - F_{ref} = -RT \ln \frac{P(\underline{x})}{P(ref)}$$

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

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

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

Alkalmas 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

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

19

Példa – FKBP12-ligandum

Standard kötődési szabadentalpia
 Kettős lecsatolás
 FEP
 Energia komponensek is

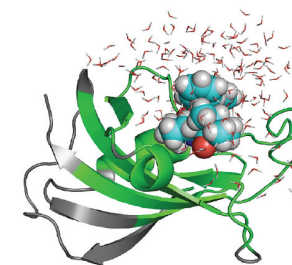
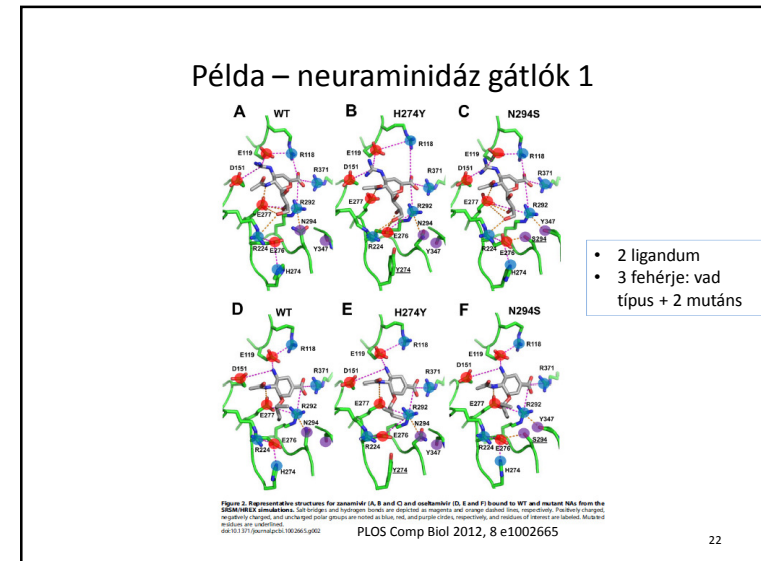
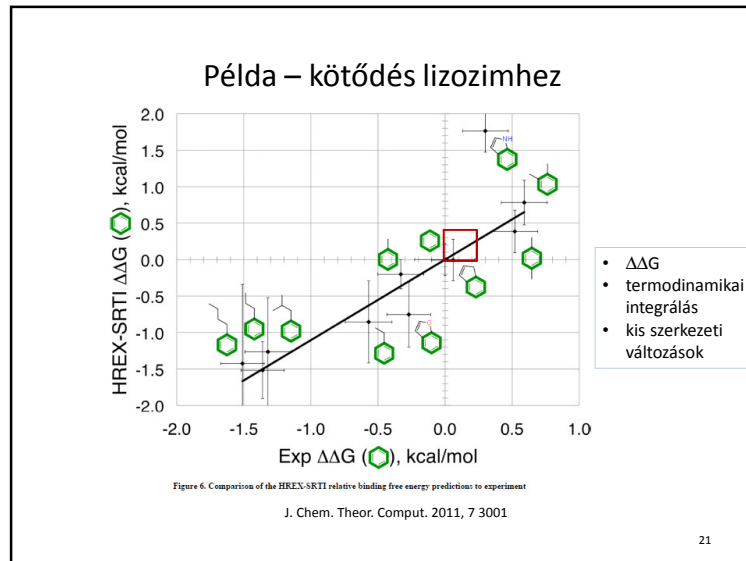


Figure 4. FKBP12 bound with ligand #8 studied previously.^{40,42} The gray parts are treated as a mean-field approximation with generalized solvent boundary potential.³⁸ See ref 42 for computational details.

$\Delta\Delta G_{rep}$	$\Delta\Delta G_{dis}$	$\Delta\Delta G_{elec}$	$\Delta\Delta G_c$	$\Delta\Delta G_t^0$	$\Delta\Delta G_r$	ΔG_{bind}^0	exptl
-1.1	-21.1	-3.7	6.9	3.4	5.4	-10.2	-10.9
konf				transz		rot	

²⁰
 J. Phys. Chem. B **2009**, 113, 2234



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 (RMSD), kcal/mol
	$\Delta\Delta G$, kcal/mol	$\Delta\Delta G$, kcal/mol	$\Delta\Delta G$, kcal/mol	$\Delta\Delta G$, kcal/mol	$\Delta\Delta G$, kcal/mol	$\Delta\Delta G$, kcal/mol	
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)
RMM	-5.8 (7.4)	0.7 (7.0)	6.2 (7.7)	5.8 (6.2)	-0.1 (8.7)	-0.9 (7.4)	4.2 (7.4)
RSM	1.7 (2.9)	1.2 (3.0)	0.6 (2.0)	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)	-5.9 (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)
Coarse	-0.4 (0.5)	0.8 (0.4)	-0.4 (0.3)	0.2 (0.2)	-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

• $\Delta\Delta G$; 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
--	---	--

23

- ## 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
 - Entalpia és entrópia változás számítása fokozottan pontatlan
 - Nem rutinszerű alkalmazás; változó pontosság
- 24