

## Fehérje-ligandum kötődés számítógépes modellezése I. Termodinamikai mennyiségek számítása

1

## Tartalom

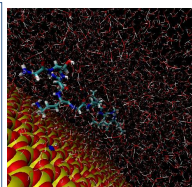
- Mintavétel molekuladinamikában
- Termodinamikai mennyiségek számítása az „átalakulási úton”
  - Szabadenergia számítási technikák:
    - Termodinamikai integrálás
    - Szabadenergia perturbáció
    - Átlagos erő potenciálja
    - Nem egyensúlyi munka
  - Entalpia és entrópia
  - Példák



2

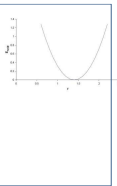
## Molekuladinamika (ismétlés)

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



3

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

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

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

6

## Szabadenergia - Mintavétel

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

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

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

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

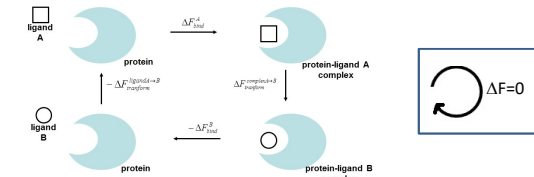
(4)-ben a nagy energiájú tagok hozzájárulása F-hez számottevő, de mintavételének valószínűsége kicsi

7

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

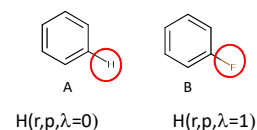


- $\Delta F(A)_{bind} - \Delta F(B)_{bind} = \Delta F(cmplx)_{tr} - \Delta F(ligand)_{tr}$
- „alkímiai” transzformációk:  $\Delta F(cmplx)_{tr}$  és  $\Delta F(ligand)_{tr}$ 
  - 2 transzformáció  $\Delta \Delta F$  számításához

8

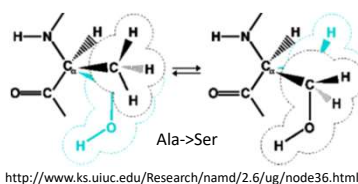
8

## Alkímiai transzformáció - csatolási paraméter



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

$\lambda$  - csatolás paraméter  
 $H_\lambda$   $\lambda$ -nak más függvénye is lehet  
 $H_A, H_B$  is függhetnek  $\lambda$ -tól



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

9

9

## MD technikák $\Delta F$ számítására

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

10

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

11

## Termodinamikai integrálás

### Megvalósítás

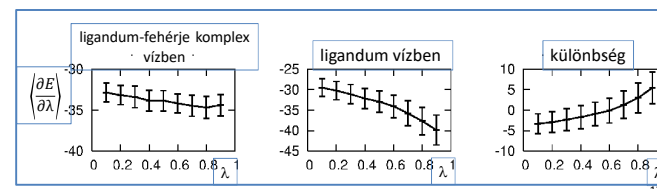
1.  $\lambda$  időben változik
2. Szimuláció különböző rögzített  $\lambda$  értékeknél

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

– T.f.:  $\frac{\partial E}{\partial \lambda} = E_B - E_A \rightarrow \langle E_B - E_A \rangle_\lambda$   $\lambda$ -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

12

## Szabadenergia perturbáció

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

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

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

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

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

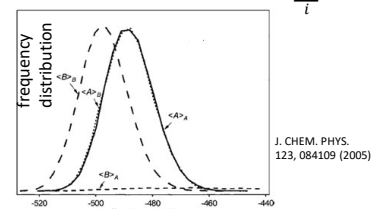
13

13

## Szabadenergia perturbáció

$$\Delta F = -kT \ln \left[ \exp \left( -\frac{E_B - E_A}{kT} \right) \right]_A$$

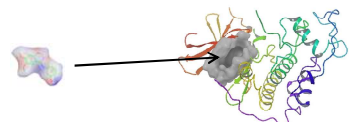
- A → B több szakaszra osztható (osztandó)
  - A két állapot konfigurációs tere átfedjen
  - A  $\rightarrow$  B  $\Delta F = \sum_i -kT \ln \left[ \exp \left( -\frac{E(\lambda_{i+1}) - E(\lambda_i)}{kT} \right) \right]_{\lambda_i}$



14

14

## Átlagos erő potenciálja (PMF)



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

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

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

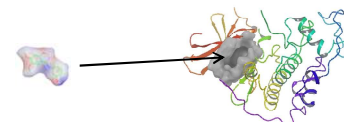
$$\frac{dF(\underline{x})}{d\underline{x}} = \frac{\int \frac{dE(\underline{x}, \underline{y})}{d\underline{x}} e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{y}}{\int e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{y}} = -\langle \varphi(\underline{x}) \rangle_y \quad F - \text{potenciál};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

magyarázat

15

15

## Átlagos erő potenciálja (PMF)



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

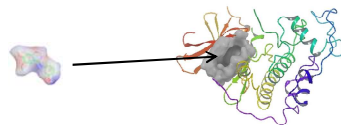
$$P(\underline{x}) = \int P(\underline{x}, \underline{y}) d\underline{y} = \frac{\int e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{y}}{\int e^{-\frac{E(\underline{x}, \underline{y})}{RT}} d\underline{x} d\underline{y}} = \frac{e^{-\frac{F(\underline{x})}{RT}}}{\int e^{-\frac{E(\underline{x},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

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

16

16

### Átlagos erő potenciálja



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

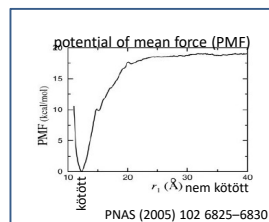
Számítás módja:

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

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

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

Alkalmas mintavétel szükséges  
 Standard kötődési szabadentalpia is számítható!



17

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

18

### Entalpia és entrópia számítása

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

19

19

### Példa – kötődés lizozimhez

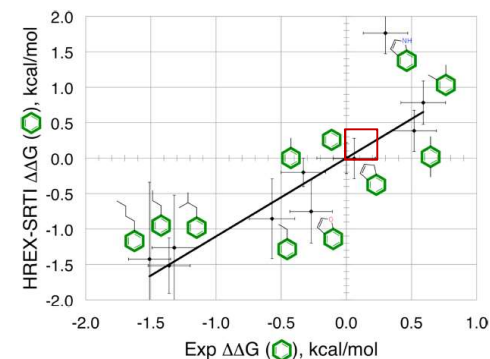


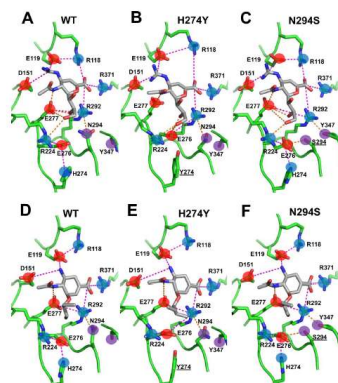
Figure 6. Comparison of the HREX-SRTI relative binding free energy predictions to experiment  
 J. Chem. Theor. Comput. 2011, 7 3001

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

20

20

## Példa – neuraminidáz gátlók 1



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

Figure 3. Representative structures for zanamivir (A, B and C) and oseltamivir (D, E and F) bound to WT and mutant NA from the SRSM-HREX simulations. Subunits and hydrogen bonds are depicted as orange dashed lines, respectively. Favorably charged, negatively charged, and unchanged polar groups are noted as blue, red, and purple circles, respectively, and residues of interest are outlined. Altered residues are underlined.  
doi:10.1371/journal.pcbi.1002665.g003

PLOS Comp Biol 2012, 8 e1002665

Y252H not shown

21

21

## 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		
	zanamivir	oseltamivir	zanamivir	oseltamivir	zanamivir	oseltamivir	
Experimental <sup>a</sup>	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)	8.2 (7.7)	5.8 (6.2)	-0.1 (8.7)	-0.9 (7.4)	4.2 (7.4)
BSM	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)
Amber	-0.4 (0.5)	0.8 (0.4)	-0.4 (0.3)	0.3 (0.2)	-0.1 (0.6)	0.0 (0.0)	1.7 (0.3)

<sup>a</sup>Values 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

22

22

## Példa – FKBP12-ligandum

Standard kötődési szabadentalpia  
Kettős lecsatolás  
FEP  
Energia komponensek is

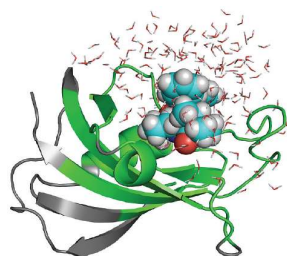


Figure 4. FKBP12 bound with ligand #8 studied previously.<sup>40,42</sup> The gray parts are treated as a mean-field approximation with generalized solvent boundary potential.<sup>40</sup> See ref 42 for computational details.

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

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

23

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  $\Delta F$  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

24