

## Fehérje-ligandum kötődés számítógépes modellezése II. Termodinamikai mennyiségek becslése közelítő módszerekkel

1

## Vázlat

- Kötődési szabadentalpia számítása „végpont” módszerekkel
- $\Delta G = G_B - G_A$ 
  - $G/\Delta G$  nem számítható pontosan
  - $G/\Delta G$  számítása
  - Közelítő módszer szükséges:
    - MM-PBSA (Molecular Mechanics Poisson – Boltzmann Surface Area)
    - Dokkolás-pontozás pontozófüggvénnyel (docking-scoring)



2

2

## MM-PBSA Molecular Mechanics – Poisson-Boltzmann Surface Area

3

3

## MM-PBSA

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

4

4

## MM-PBSA

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

### – Számítás 2 lépésben

- Szerkezetek generálása
  - rövid molekula dinamikai szimuláció
    - » Külön dinamika fehérje-ligandum komplexre, fehérjére és ligandumra
    - » dinamika komplexre és abból kivett fehérje és ligandum
      - egyetlen trajektória
      - kötött és szabad molekula azonos geometriával közelítve
  - dinamika alternatívája: minimálás
  - explicit/implicit víz
- Energiatagok ( $E_{MM}$ ,  $G_{PB}$ ,  $G_{SA}$ ,  $TS_{MM}$ ) számítása a víz eltávolításával kapott szerkezetekre

5

## MM-PBSA

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

- $E_{MM} = E_{kötés} + E_{szög} + E_{torz} + E_{vdw} + E_{elek}$
- Egyetlen trajektória
  - előnye:
    - intramolekuláris  $E_{MM}$  kioltás, numerikus hiba csökken
    - Kevesebb számítás
  - hátránya:
    - Mintavételi hiba lehetősége

6

## 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)
- Alternatíva: Általánosított Born (GB) modell (MM-GBSA)
  - PB közelítése
  - Kevesebb számítás

7

## MM-PBSA

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

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

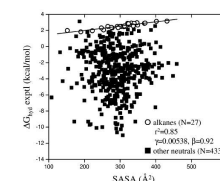


Figure 2. Experimental free energies of hydration vs total molecular solvent-accessible surface area (SASA). The best fit line to the 27 linear and branched alkanes (○) yields a correlation coefficient  $r^2 = 0.85$ ,  $\gamma = 0.00838$ , and  $\beta = -0.92$ . Other compounds are represented as filled squares (■).

8

## MM-PBSA

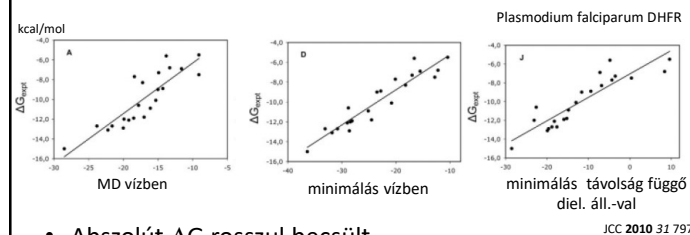
$$G = E_{MM} + G_{PB} + G_{SA} - TS_{MM}$$

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

9

9

## MM-PBSA

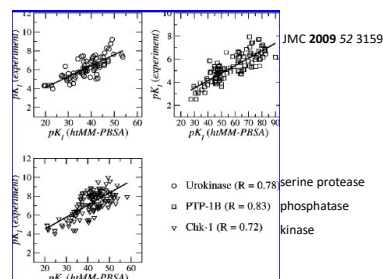


- Abszolút  $\Delta G$  rosszul becsült
- $\Delta G_{exp}$  és  $\Delta G_{calc}$  korrelál
- Mintavételtől kevésbé függ (?)

10

10

## MM-PBSA



- Abszolút  $\Delta G$  rosszul becsült
- $\Delta G_{exp}$  és  $\Delta G_{calc}$  korrelál
- Regressziós paraméterek fehérjétől függenek

11

11

## Pontozófüggvény és dokkolás

12

12

## Pontozó függvény

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

13

13

## Pontozó függvény

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

14

14

## Erőtér alapú pontozófüggvény

- Gáz-fázisú energia számítás  
( $\leftrightarrow$  oldatbeli szabadenergia)
- Fehérje tere előre kiszámítható egy térháló pontjain  
→ számítási sebesség növekszik
- Lehetővé tesz szerkezet optimalizálást
- Kiegészíthető
  - oldószer hatás
  - entrópia (?)

15

15

## Tapasztalati pontozófüggvények

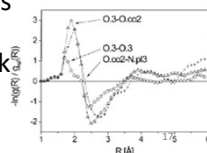
- Kölcsönhatási tagok intuitív válogatása
  - Hidrogén-kötés
    - Típus szerint súlyozott összeg
  - Ionos kölcsönhatás
  - Hidrofób kölcsönhatás
    - Arányos az érintkező felszín nagyságával
- Kísérleti affinitásokhoz illesztett paraméterek
- Csak a modellben szereplő tagokat „látja”
- Lokális kölcsönhatások

16

16

## Tudásalapú pontozófüggvények

- Komplexek kísérleti adatainak statisztikai analíziséből
  - $E_i = -kT \ln(p_i)$  – energia tag  $\sim$  előfordulás valószínűsége
- Protein Data Bank: több mint 147000 szerkezet 2018. decemberében
- Kötődési affinitás adat nem szükséges
- Nagy távolságú mintavétel – oldószer hatás is
- Kis távolságú mintavétel – specifikus kölcsönhatások hangsúlyozása
- Taszító kölcsönhatások nem teljesek



17

## Dokkolás - pontozás

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

18

18

## Dokkolás-pontozás közelítései

Néhány fontosabb:

- Fehérje merev, vagy korlátozottan flexibilitás
- Protonáltsági fok
- Vízszerkezet
- Kötést közvetítő vízmolekulák
- Entrópia
- Hőmérséklet
- ...

19

19

## Fehérje flexibilitás – dokkolás-pontozás

- Fehérje flexibilitás szerepe a ligandum kötődéskor
  - 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

20

20



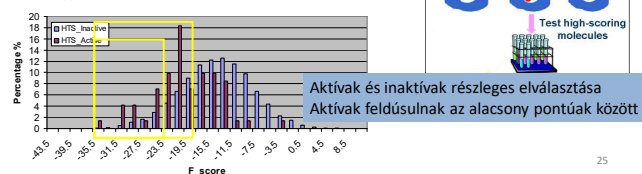
## Virtuális szűrés

- Kémiai kiindulópont azonosítás

- Számítás menete:

- Nagy számú, szerkezetileg szerteágazó, létező molekula dokkolása
- Kapott komplexek pontozása

- „Legjobb” kísérleti tesztelése



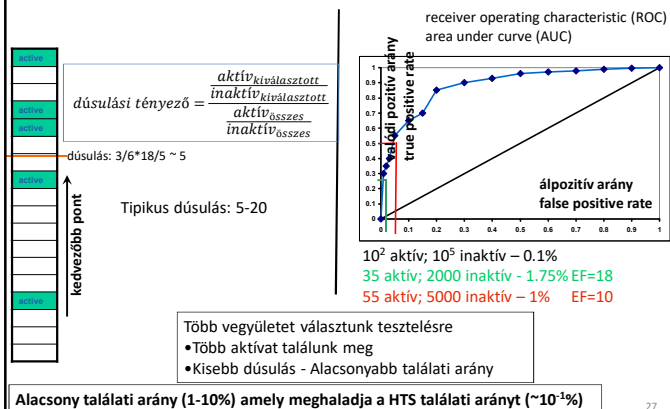
25

## Kémiai kiindulópont azonosítás és virtuális szűrés

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

26

## Virtuális szűrés hatékonysága



27

## Összefoglalás

- Végpont módszerek - Közelítő eljárások  $\Delta G$  becslésére
  - MM-PBSA
    - gyors (kevésbé)
    - esetenként jó korreláció kísérleti értékekkel
    - virtuális szűrés eredményének finomítására is alkalmazható
  - Dokkolás - Pontozás
    - Nagyon gyors
    - Kötés mód jó előrejelzése
    - Pont és kísérleti affinitás között gyenge korreláció
    - Virtuális szűrés előnyösen támogatja a kísérleti szűrést
    - Széleskörű gyógyszerkutatói alkalmazás

28