

**LOSCHMIDT  
LABORATORIES**

# Počítačové modelování proteinů

Mgr. Jan Brezovský, Ph.D.

Loschmidtovy laboratoře, Ústav experimentální biologie

Masarykova Universita, Brno

# Osnova

- Struktura a funkce proteinů
- Molekulové modelování
  - molekulová a kvantová mechanika
  - molekulové dokování
  - molekulová dynamika
  - kvantová chemie
- Proteinové inženýrství *in silico*
  - racionální design
  - *de novo* design
- Shrnutí

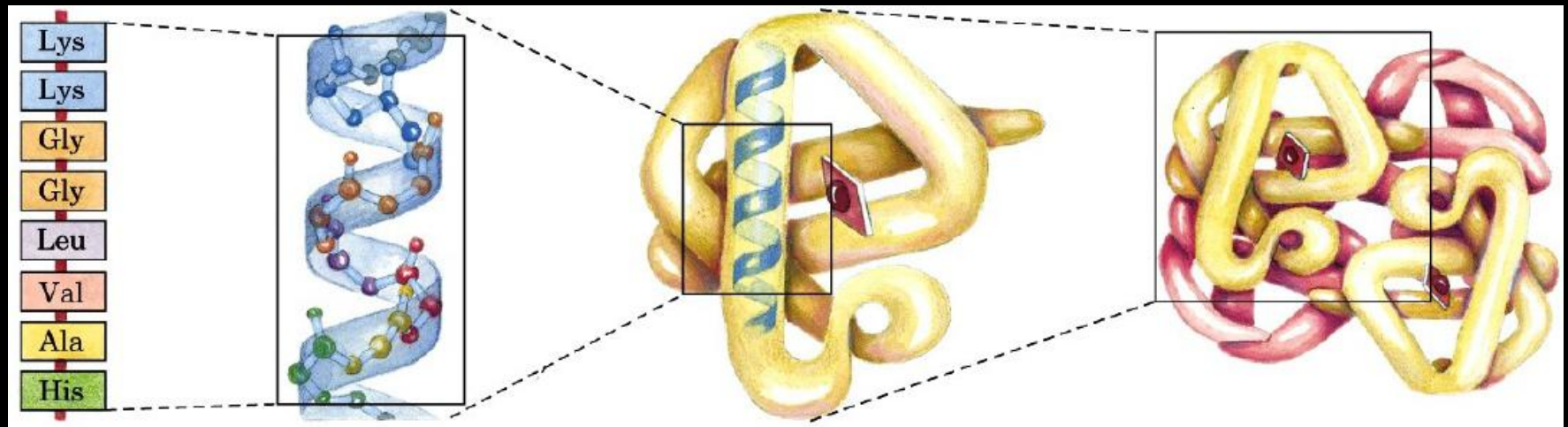
# Struktura a funkce proteinů

Primární  
struktura

Sekundární  
struktura

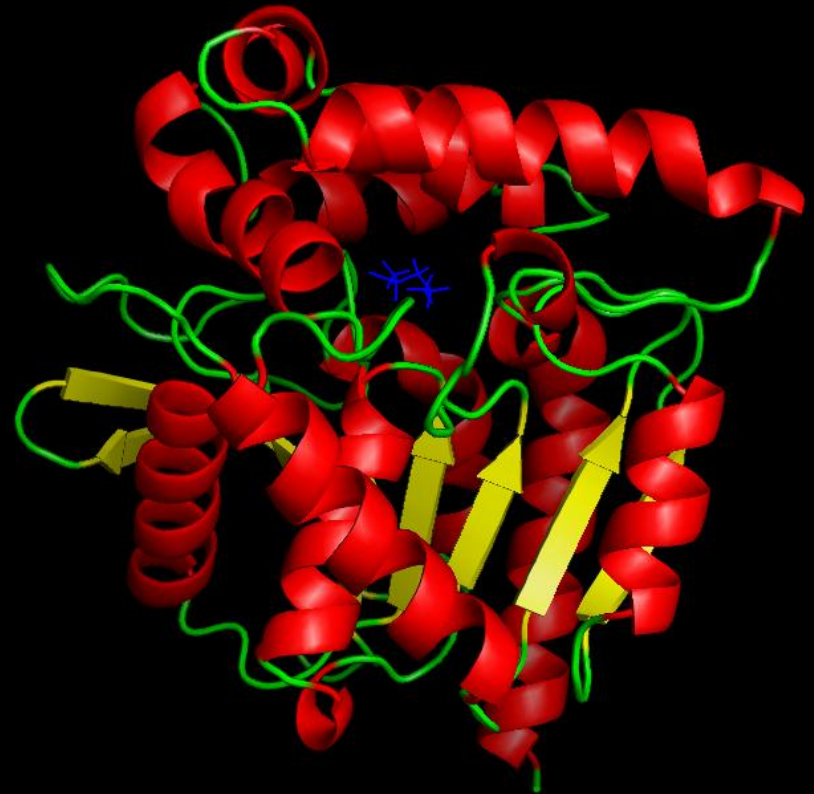
Terciární  
struktura

Kvarterní  
struktura



# Struktura a funkce proteinů

- Terciální struktura proteinů
  - → dynamika
  - → funkce
- Funkce proteinů
  - nekatalytická (strukturní, signální, transportní, ...)
  - katalytická → enzymy



# Molekulové modelování

- Co je to?
  - “Teoretická či výpočetní technika, která nám poskytne vhled do chování molekulárního systému.”

*A. R. Leach*

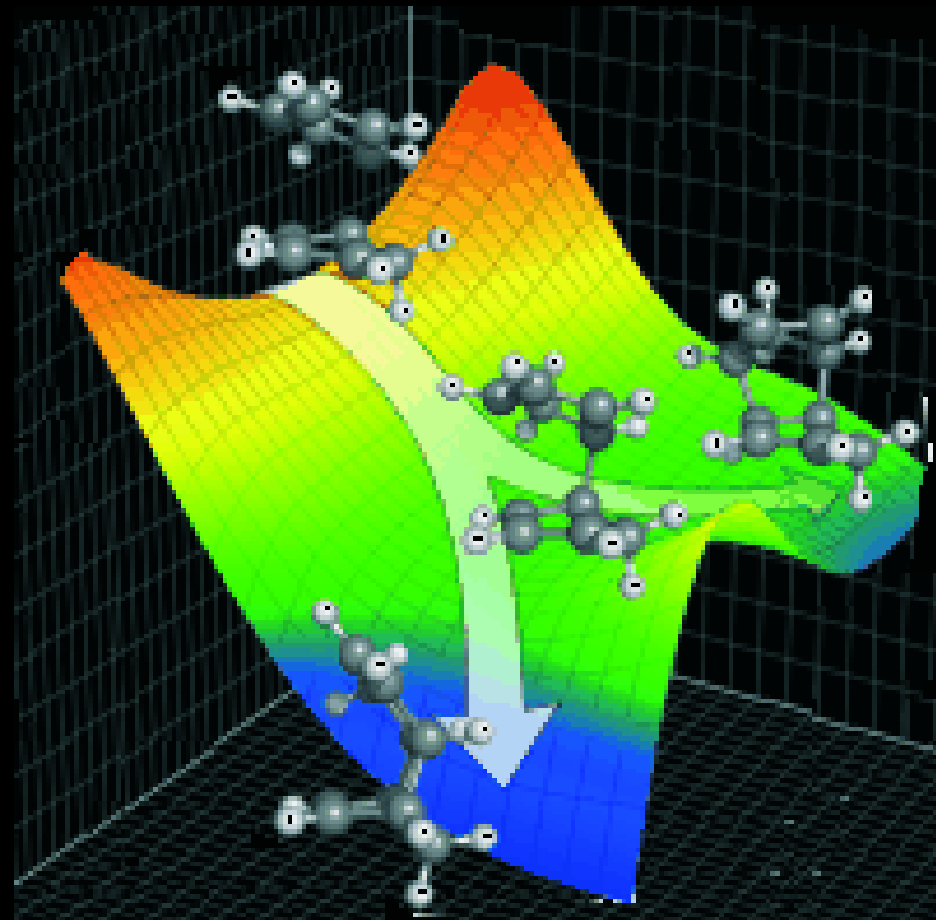
- Využití
  - předpověď dynamiky a stability proteinů
  - předpověď interakcí mezi ligandem a proteinem
  - předpověď reakčních bariér a mechanismů
  - předpověď struktury nových enzymů

# Molekulové modelování

- K čemu se hodí?
  - rychlé procesy (ns až ms)
  - detaily na úrovni jednotlivých atomů (experimentálně často nedostupné)
  - omezený rozpočet
- A k čemu se nehodí?
  - pomalé procesy (> minuty)
  - obrovské systémy (> miliardy atomů)

# Molekulové modelování

- Základem je vztah mezi energií a trojrozměrnou strukturou systému
  - povrch potenciální energie
- Popis pomocí
  - molekulové mechaniky
  - kvantové mechaniky



# Molekulová mechanika

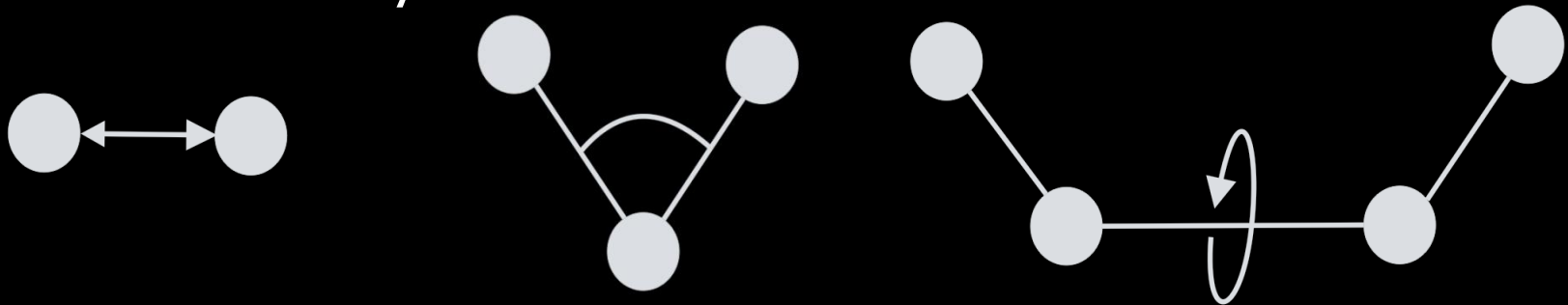
- Energie
  - funkce polohy atomových jader
  - Rovnice – tzv. silové pole:

$$V(\mathbf{r}^N) = \sum_{\text{bonds}} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{\text{torsions}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma))$$
$$+ \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \left( 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right)$$

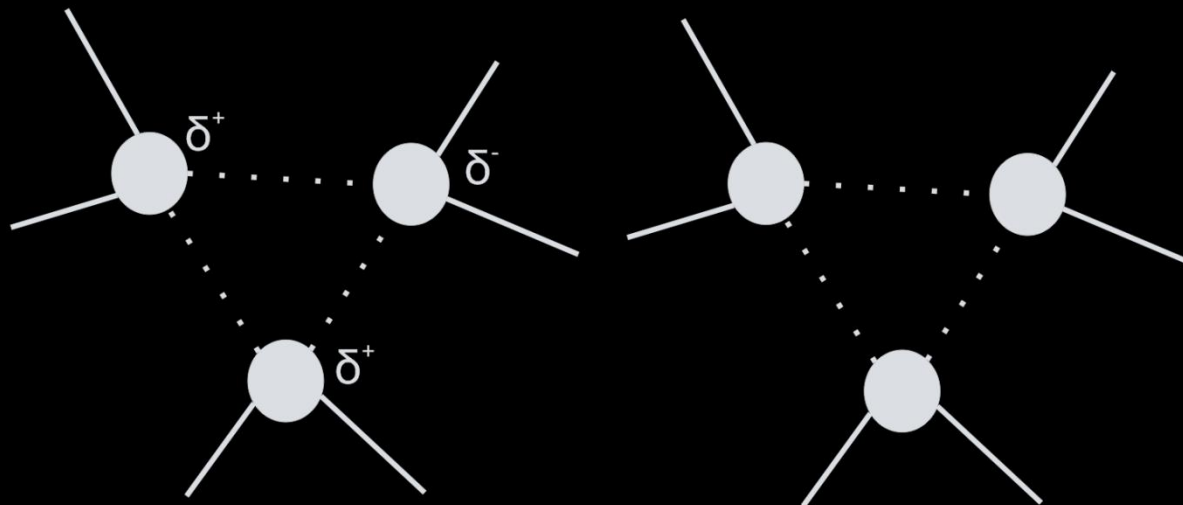


# Molekulová mechanika

- Vazebné členy



- Nevazebné členy



# Molekulová mechanika

- Kovalentní vazby předem dané
  - hodnoty blízké experimentální situaci v rovnovážném stavu
  - vazby se během výpočtu nemění
  - celková energie – odchylka od arbitrární hodnoty v rovnováze

# Kvantová mechanika

- Energie

- funkce polohy elektronů
- Schrödingerova rovnice:

$$\left( -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V \right) \Psi(r) = E \Psi(r)$$

- Žádné *a priori* kovalentní vazby

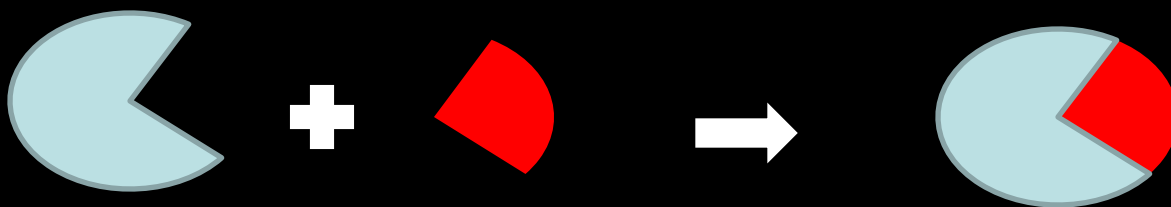
- vizualizace na základě vzdálenosti
- vazby mohou během výpočtu vznikat i zanikat

# Kvantová *versus* molekulární mechanika

	<b>QM</b>	<b>MM</b>
Příprava výpočtu	Pozice atomů a jejich chemický prvek	Pozice atomů a mnoho specifických parametrů
Výpočetní čas	$\sim N^2 - N^6$	$\sim N^1 - N^2$
Velikost systému	1 000 – 10	>100 000
Reaktivita	Implicitně zahrnuta	Složité metody (QM/MM, EVB)

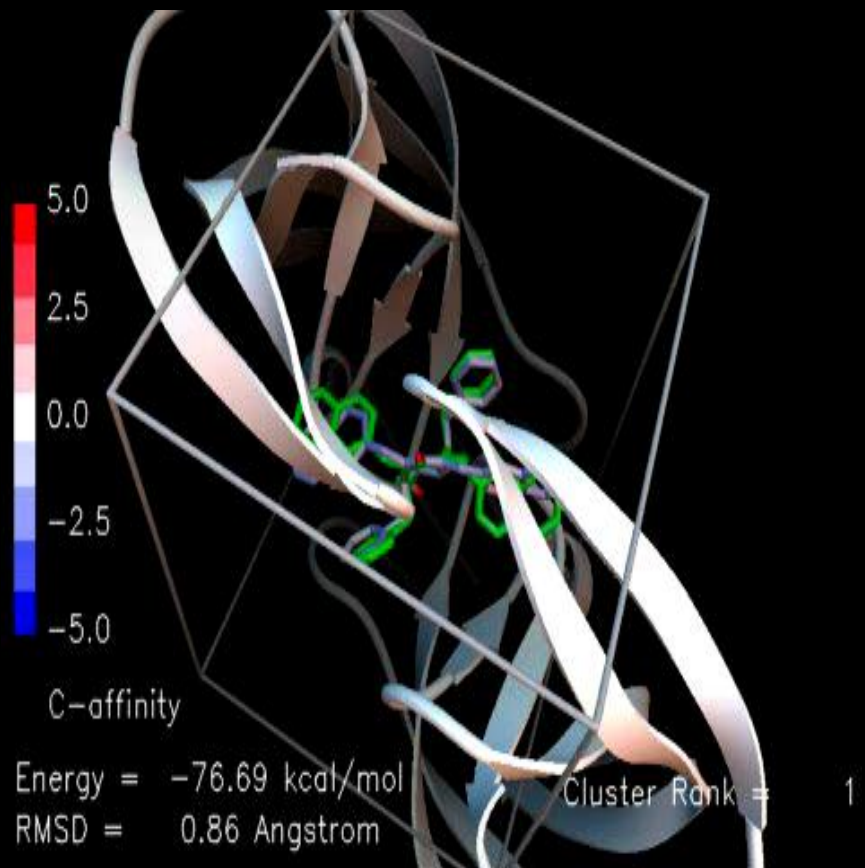
# Molekulové dokování

- Předpověď struktury protein-ligandového komplexu a jeho afinity



# Molekulové dokování

- Dvousložkový proces
  - hledání
  - hodnocení



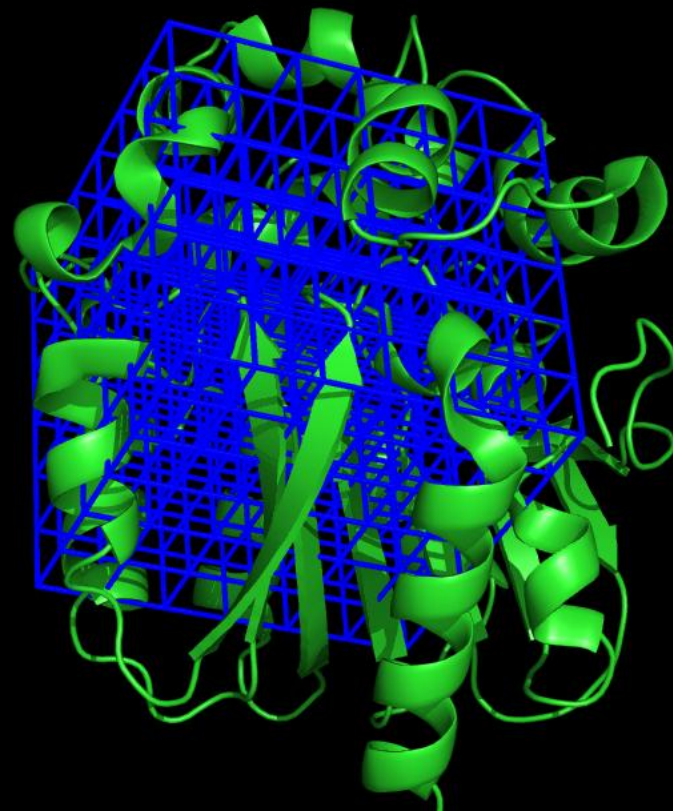
# Molekulové dokování

- Ideální postup
  - vyčerpávající generování všech možných vazebných módů
  - sofistikované ohodnocení vazebné energie
- Výpočetně nemožné



# Molekulové dokování

- Nutnost mnoha aproximací:
  - rychlé hodnotící funkce
  - chytré prohledávací algoritmy
  - omezená pohyblivost ligandu
  - rigidní receptor
  - zjednodušená reprezentace receptoru

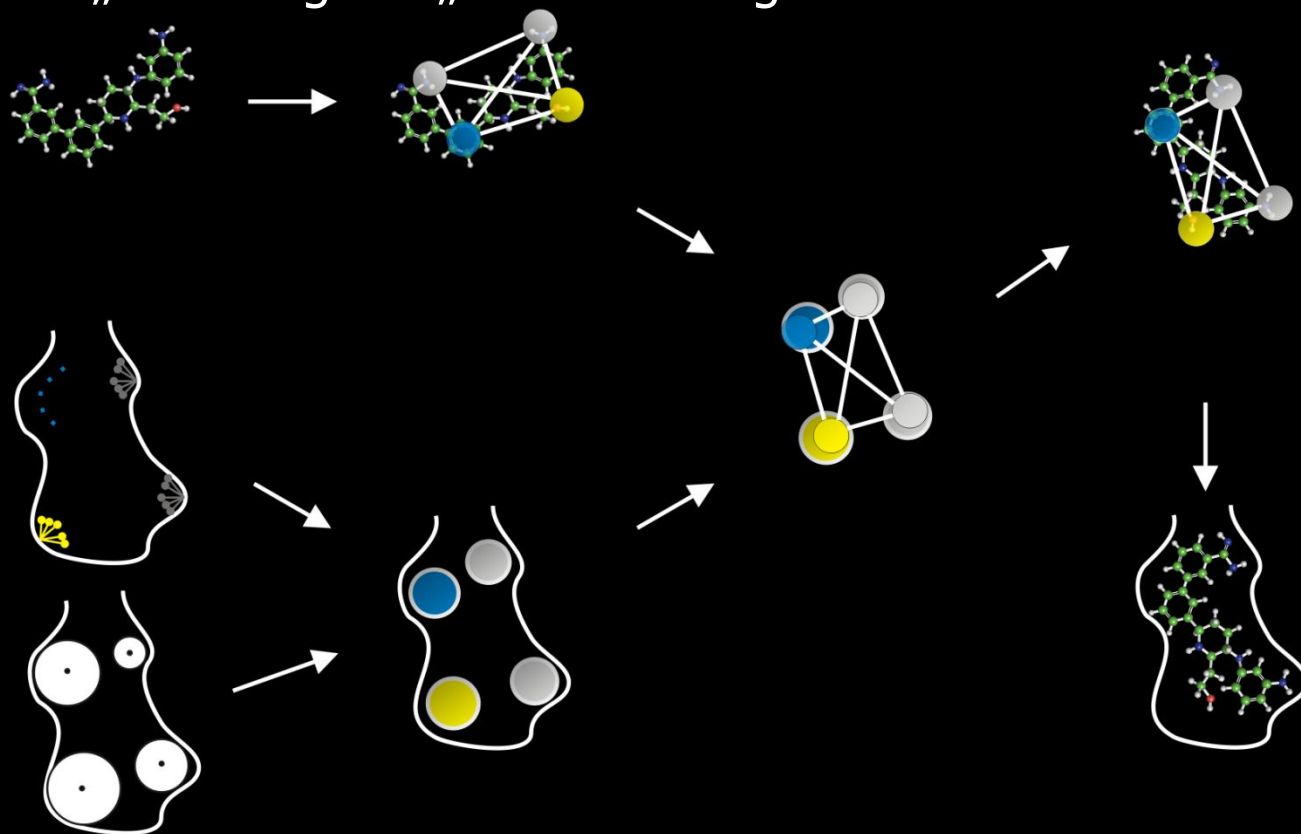




# Molekulové dokování

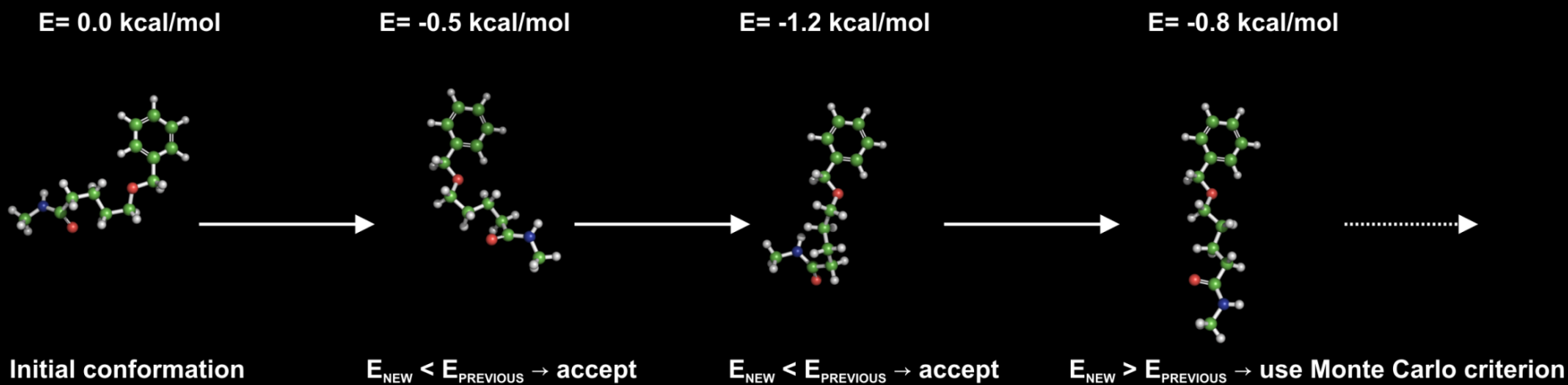
- Deterministické algoritmy

- „matching“ či „incremental grow“



# Molekulové dokování

- Stochastické algoritmy
  - Monte Carlo či genetické algoritmy



# Molekulové dokování

- Hodnotící funkce

- silové pole – přesné, ale příliš pomalé
- empirické – význam jednotlivých typů interakcí kalibrovány na základě experimentálních dat

$$\Delta G_{bind} = \alpha \cdot \Delta G_{hb} + \beta \cdot \Delta G_{lipo} + \gamma \cdot \Delta G_{el} + \delta \cdot \Delta G_{rot} + \dots$$

- znalostní – párové atomové potenciály odvozeny ze statistické analýzy struktur známých komplexů

# Molekulové dokování

- Využití
  - vstupní metoda pro další sofistikovanější techniky
  - identifikace residuů v kontaktu s ligandem
    - mutageneze
  - predikce afinity
    - specificita, inhibice a interference
    - funkce proteinu

# Molekulová dynamika

- Následující konfigurace systému v čase
  - trajektorie → pohyb

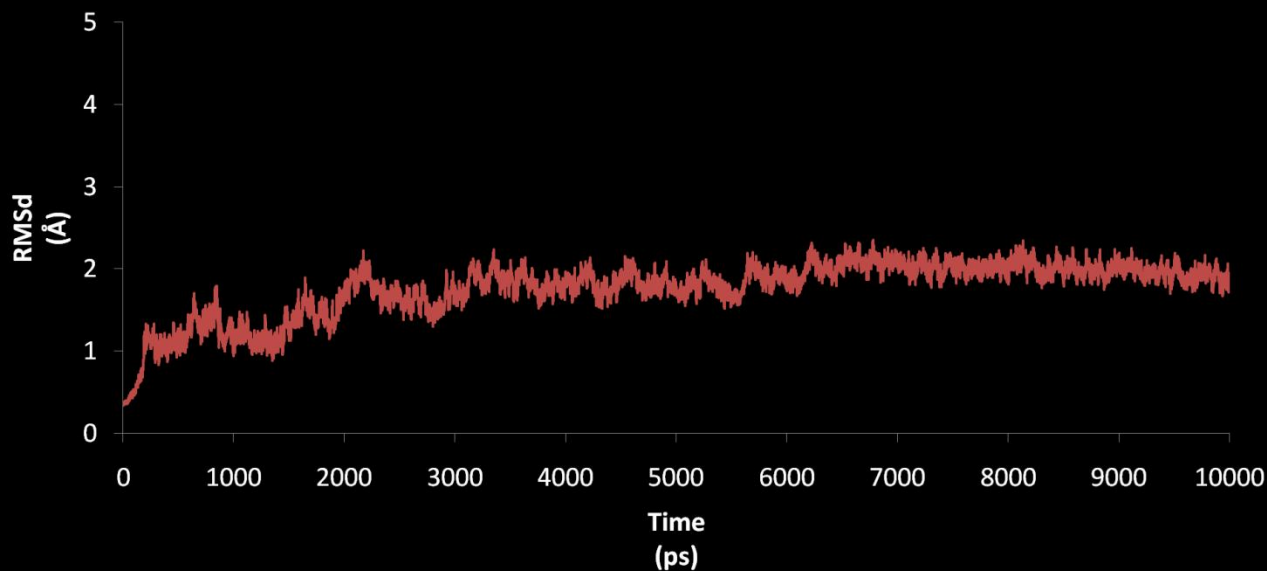


# Molekulová dynamika

- Newtonovy pohybové zákony
- Další konfigurace se získá na základě
  - stávající struktury, rychlosti atomů a sil působících mezi všemi atomy
  - síly vypočteny typicky na základě molekulové mechaniky
  - velice krátký „časový krok“  $\sim 2$  fs
- Nastavení a kontrola teploty, tlaku či objemu

# Molekulová dynamika

- Hodnocení stability
  - globalní – celková struktura proteinu (RMSd)



- lokální – zachování konformace vybraných residuí

# Molekulová dynamika

- Produkuje ansámbl struktur
  - → odhad entropie
  - → přesnější výpočty volných energií





# Molekulová dynamika

- Využití
  - zpřesnění residuí v kontaktu s ligandem
  - zpřesnění predikce afinity
  - odhad aktivity - pravděpodobnost výskytu aktivovaného komplexu
  - odhad stability
  - transportní procesy
  - flexibilní regiony důležité pro adaptabilitu
  - ...

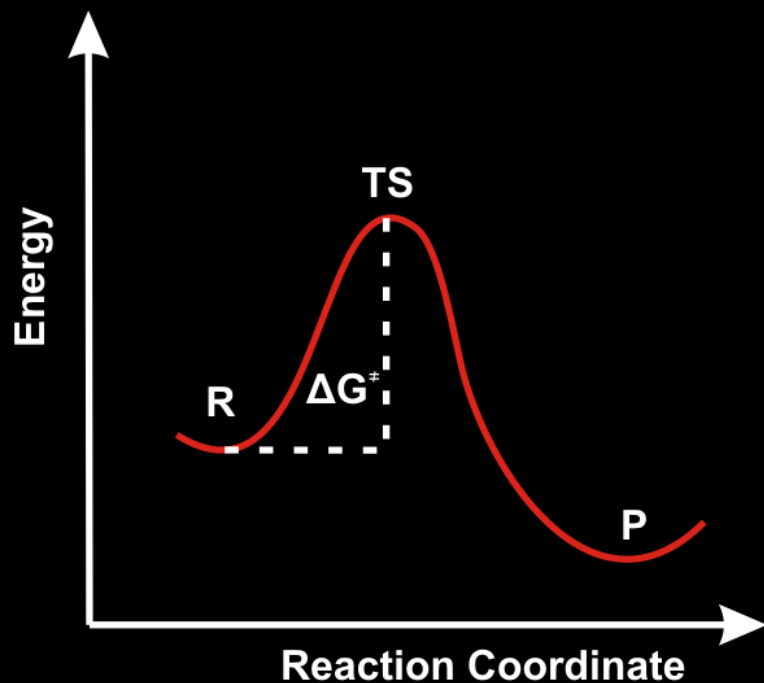
# Kvantová chemie

- Modelování reakce

- reakční bariéra

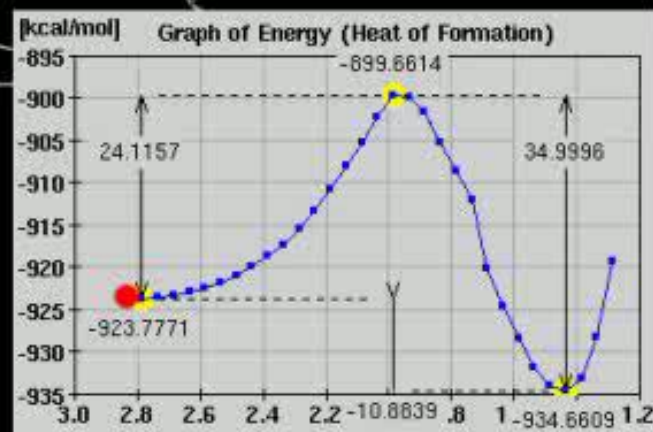
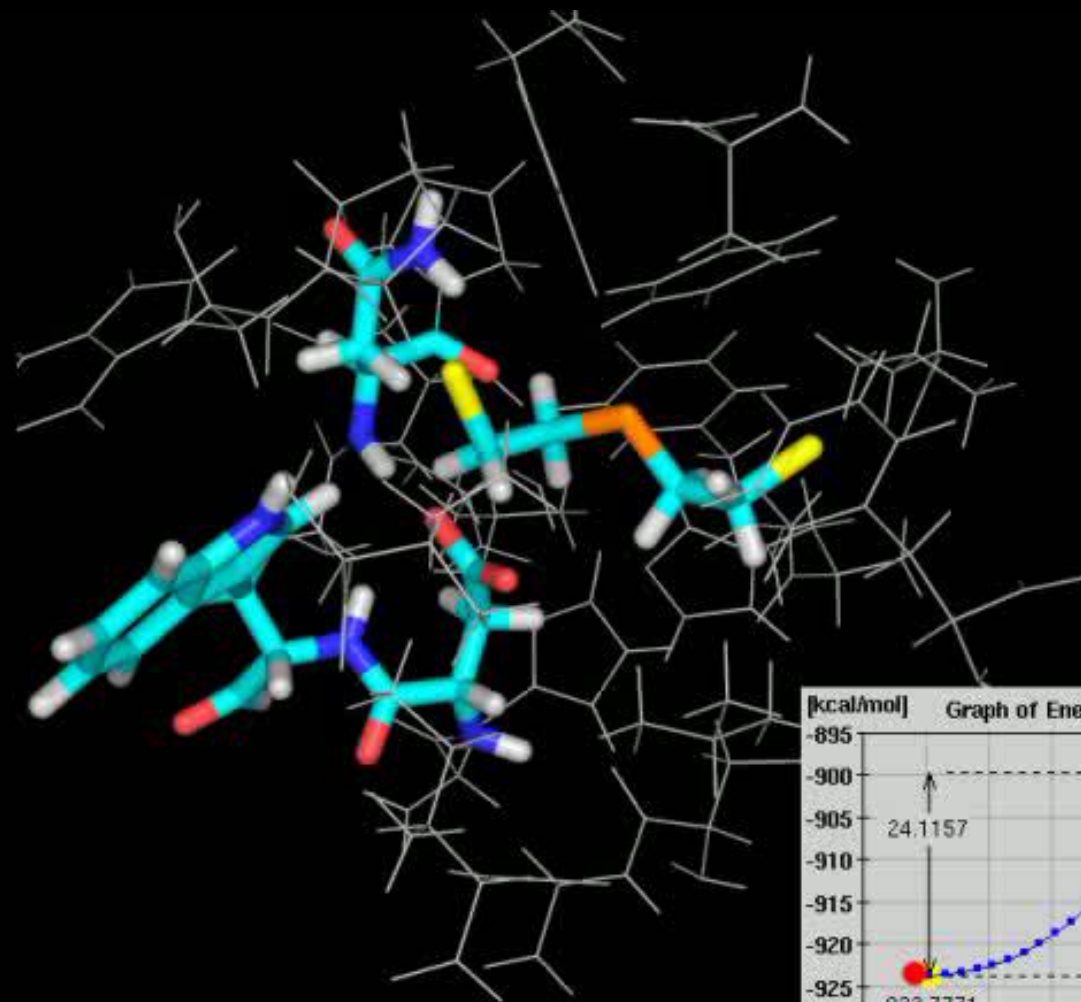
~

reakční rychlost



$$k = \frac{k_B T}{h} e^{-\frac{\Delta G}{RT}}$$

# Kvantová chemie



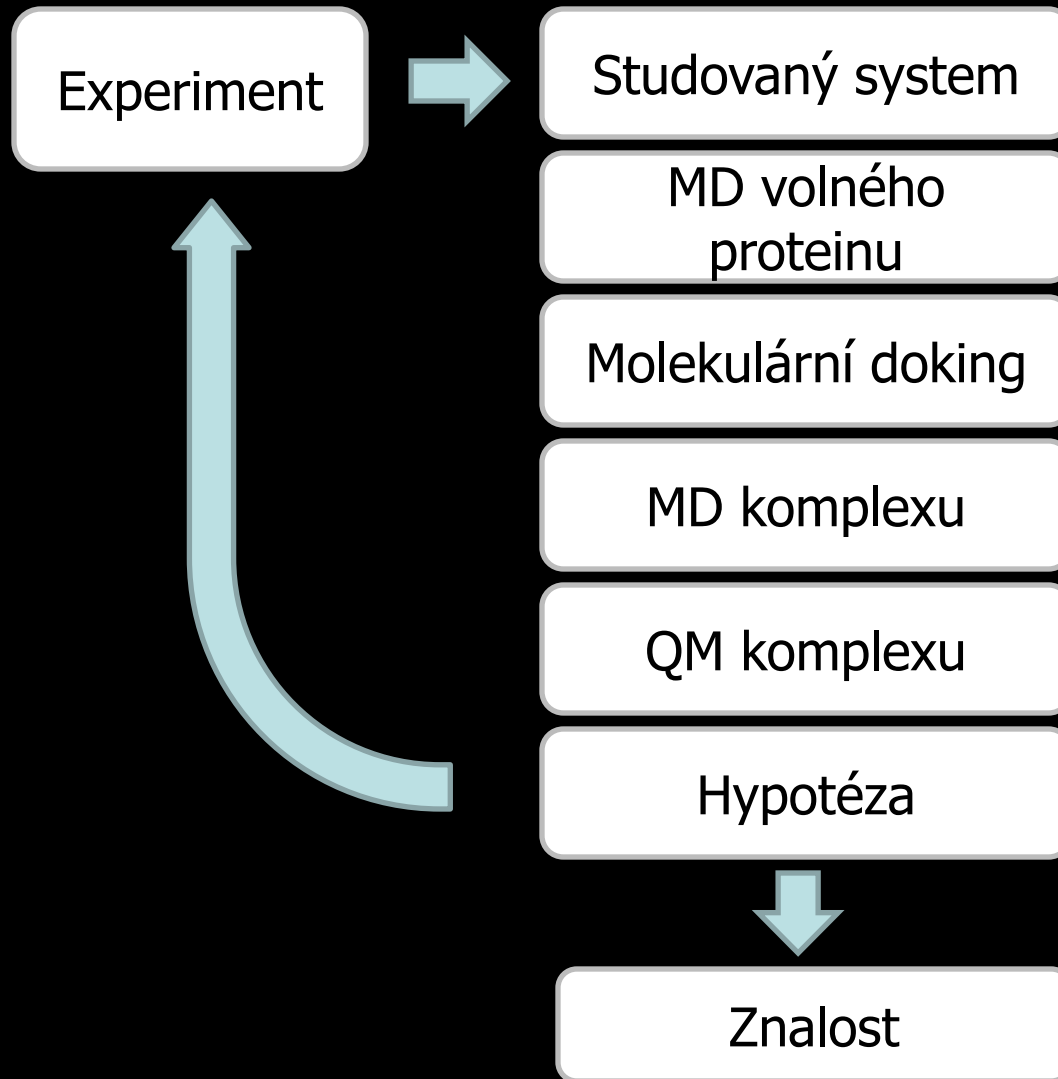
# Kvantová chemie

- Využití
  - identifikace residuů důležitých pro katalýzu
    - studium mechanismu
    - mutageneze
  - porovnání různých reakčních mechanismů
  - predikce reakčních rychlostí
    - aktivita

# Proteinové inženýrství *in silico*

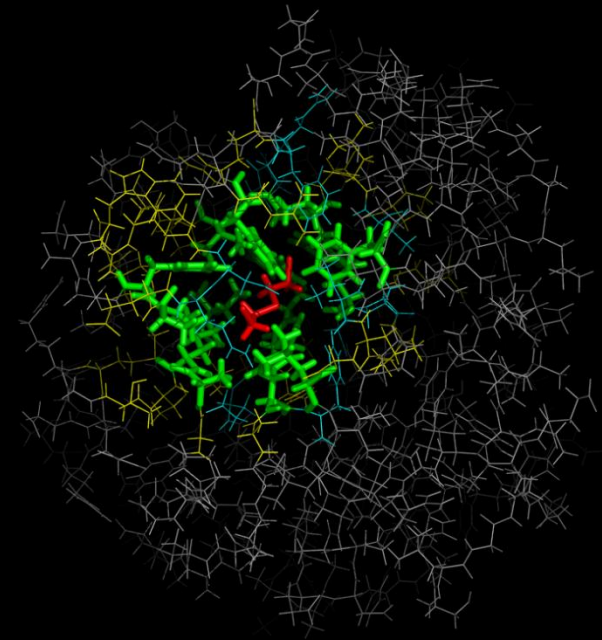
- Test úrovně poznání vztahů mezi strukturou proteinů a jejich funkcí
- Význam
  - mnoho modifikovaných proteinů využíváno v průmyslu
  - pochopení patogeneze, terapeutické použití, či pochopení resistance vůči léčivům

# Racionální design



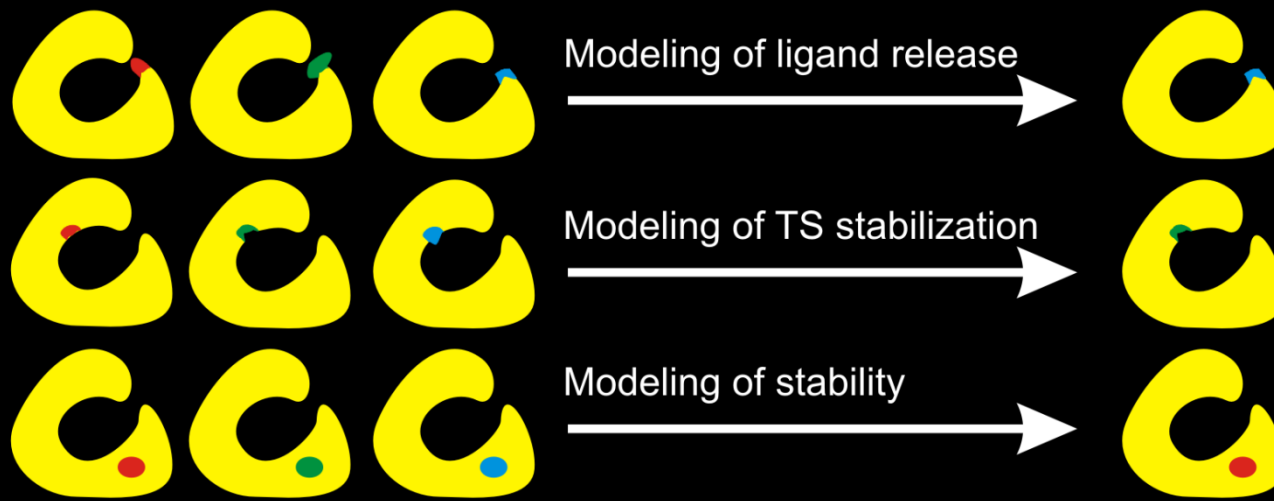
# Racionální design

- Identifikace funkčně významných residuí
  - flexilní residua – funkčně významná dynamika
  - residua tvořící významné kontakty v rámci proteinové struktury
  - residua tvořících transportní cesty
  - residua v kontaktu s ligandem
  - interagující residua – decompozice energie
  - residua stabilizující transitní stav



# Racionální design

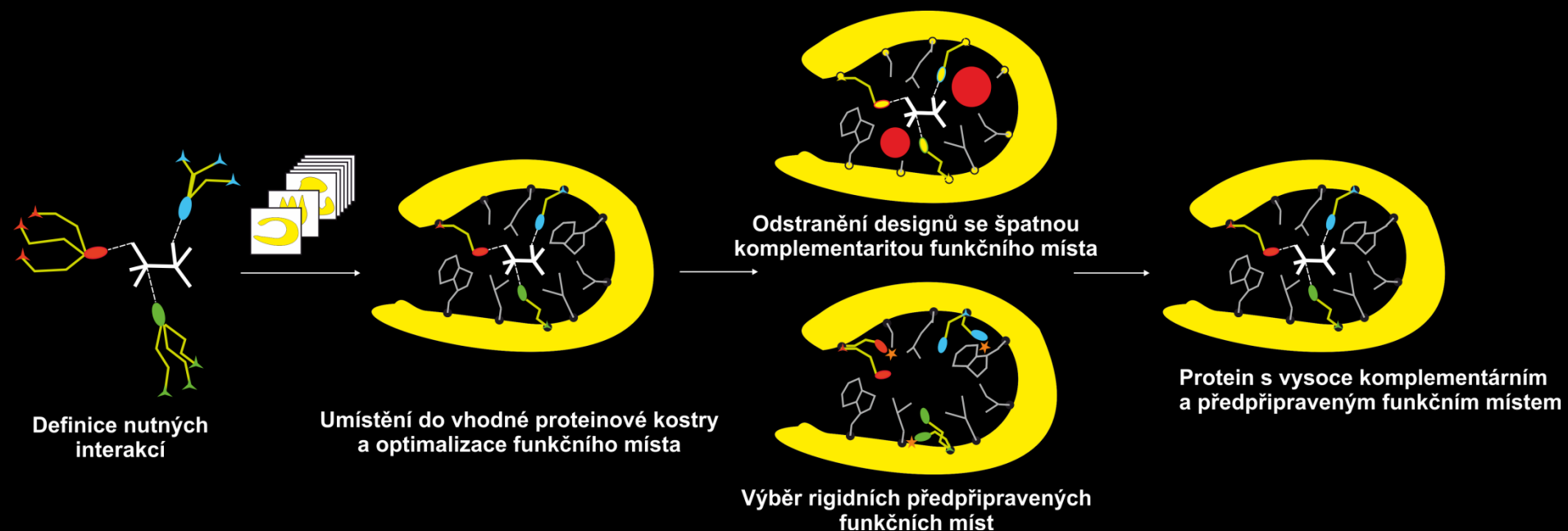
- Design modifikovaných proteinů pomocí *in silico* screeningu
  - předpověď dopadu jednotlivých mutací
  - vybrat a případně skombinovat nejlepší mutace





# De novo design

- Design nových proteinů pro nové funkce
  - speciální silové pole pro predikci struktury nativních proteinů
  - efektivní generování struktur celých nových proteinů



# *De novo* design

- Úspěchy
  - reakce doposud nekatalyzované přírodními enzymy
  - vazebná místa s vysokou afinitou
  - extrémně stabilní proteiny
  - ...

# Shrnutí

- Molekulové modelování má široké využití
  - molekulární rozpoznávání – molekulové dokování
  - pohyb a stabilita struktury – molekulová dynamika
  - enzymová katalýza – kvantová chemie
  - proteinové inženýrství – specializované nástroje
- **Pro a proti** molekulového modelování
  - výhoda – detailní popis procesů na atomové úrovni
  - nevýhoda – relativně nižší přesnost → nejistota
- **Ideální je kombinace modelování s experimentem**