

Molekulární docking a design léčiv – predikce komplexu léčiva Donepezil s acetylcholin esterasou

1. Identifikace vazebných míst v receptoru a jejich druggability

- naleznete potenciální vazebná místa ve struktuře Acetylcholin esterasy ([1EA5](#)) v databázi [DrugEBllity](#)
 - při rozhodování berte v potaz zejména konsenzuální předpověď (ensemble)
 - stáhněte výsledky ve formátu PDB (jako druggebility.pdb), budete je potřebovat při řešení úkolu v 3. sekci
 - zobrazte potenciální vazebné místa v PyMOLu a ověřte které z nich obsahuje katalytická residua s pomocí databáze [CSA](#)

2. Příprava struktury ligandu Donepezilu

- připravte strukturu ligandu pomocí konvertoru [CORINA](#)
 - stáhněte 3D strukturu ve formátu PDB (pojmenujte **donepezil.pdb**)

3. Příprava komplexu molekulárním dockováním s programem [AutoDock Vina](#)

- příprava receptoru k dockování
 - načtěte strukturu acetylcholin esterasy (**1EA5**) do Pymolu
 - odstraňte molekuly vod: *Action -> remove waters*
 - vyberte a odstraňte molekuly N-acetyl-D-glucosaminu – residua NAG: *Action -> remove atoms*
 - v záložce **Receptor** pluginu Autodock Vina generujte receptor pro položku **1EA5**
- příprava ligandu
 - načtěte strukturu ligandu (**donepezil.pdb**) do Pymolu
 - v záložce **Ligands** pluginu Autodock Vina
 - aktualizujte selekce: *Import selections*
 - generujte ligand pro položku **donepezil**
- výběr relevantního regionu (tj. obsahující druggable vazebné místo)
 - načtěte soubor **druggebility.pdb**
 - vyberte druggable site (identifikované místa jsou reprezentovány residui SPH)
 - modifikujte selekci tak, aby obsahovala residua v okolí 4 Å od vybraného místa: *Action -> modify -> around -> residues within 4 Å*
 - v záložce **Grid Settings** pluginu Autodock Vina
 - vyberte - *Calculate Grid Center by Selection*, je třeba použít ENTER
 - upravte rozměry boxu, tak aby zahrnoval celé druggable site (vybrané residuum SPH) – sekce *Parameters* – X,Y,Z-points např. (60, 60, 90)
- proveďte samotný výpočet molekulového dockování
 - v záložce **Docking** pluginu Autodock Vina vyberte správný receptor a ligand
 - nastavte počet predikovaných vazebných módů (# Poses) na 5
 - *run vina*
- analyzujte výsledky molekulového dockování
 - v záložce **View poses** pluginu Autodock Vina načtěte soubor s výsledky (donepezil.1ea5.docked.pdbqt): *load -> Show all*

- v záložce **Score/rank** pluginu Autodock Vina je pro jednotlivé vazebné módy uvedena predikovaná volná energie
- jaká residua jsou v kontaktu s nejlepším vazebným módem?
- jaká je jeho vazebná energie?

4. Porovnání predikované struktury komplexu s experimentem

- porovnejte predikovaný vazebný mód s experimentální strukturou komplexu (PDB-ID [1EVE](#))
 - jak moc se vazebné módy liší? (Donepezil – residuum **E20**)
 - volitelně - zobrazte si pro elektronovou hustotu ligandu z [EDS databáze](#)
 - PDB-ID 1EVE, Download Maps, formát mapy: CCP4; typ: 2mFo-DFc
 - rozbalte (např. 7-zip) a přejmenujte CCP4 mapu 1eve.ccp4 → 1eve_map.ccp4
 - vytvořte selekci sele obsahující residuum E20 a zobrazte jeho elektronovou hustotu příkazem: *isomesh ed, 1eve_map, 1.0, sele, carve=1.6*
- porovnejte predikovanou vazebnou energii s experimentálně stanovenou hodnotou z databáze [BindingDB](#)
 - např.: *Compound -> Name -> Donepezil*
 - jak moc se energie liší?

Jako e-learningová podpora ke cvičení je k dispozici videotutorial popisující tento protokol:
http://loschmidt.chemi.muni.cz/sbiol/videos/cv08/08_dokovani/08_dokovani.html