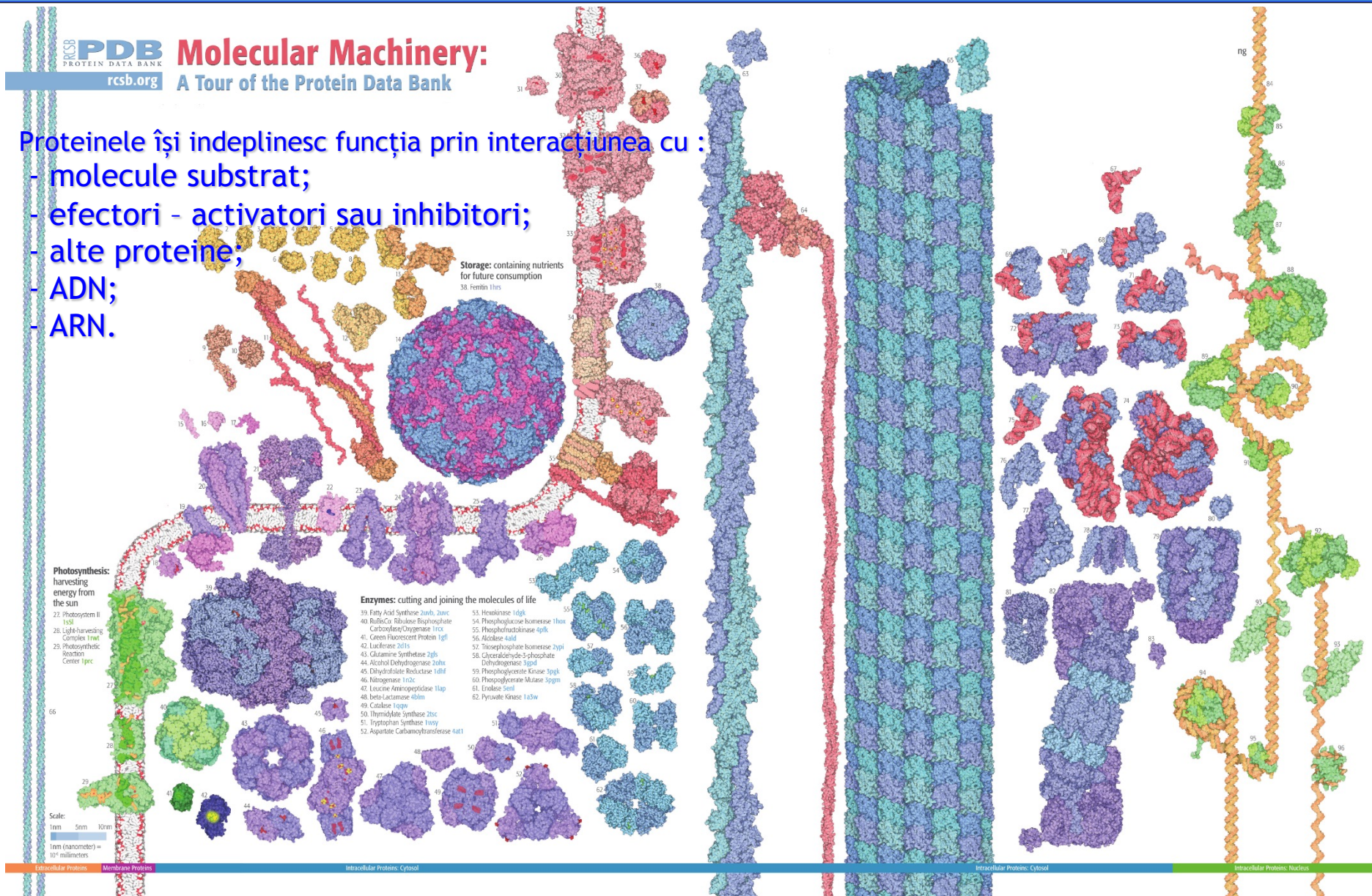
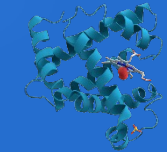


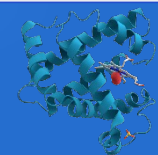
22.05.2024

Curs XII – Andocarea moleculară

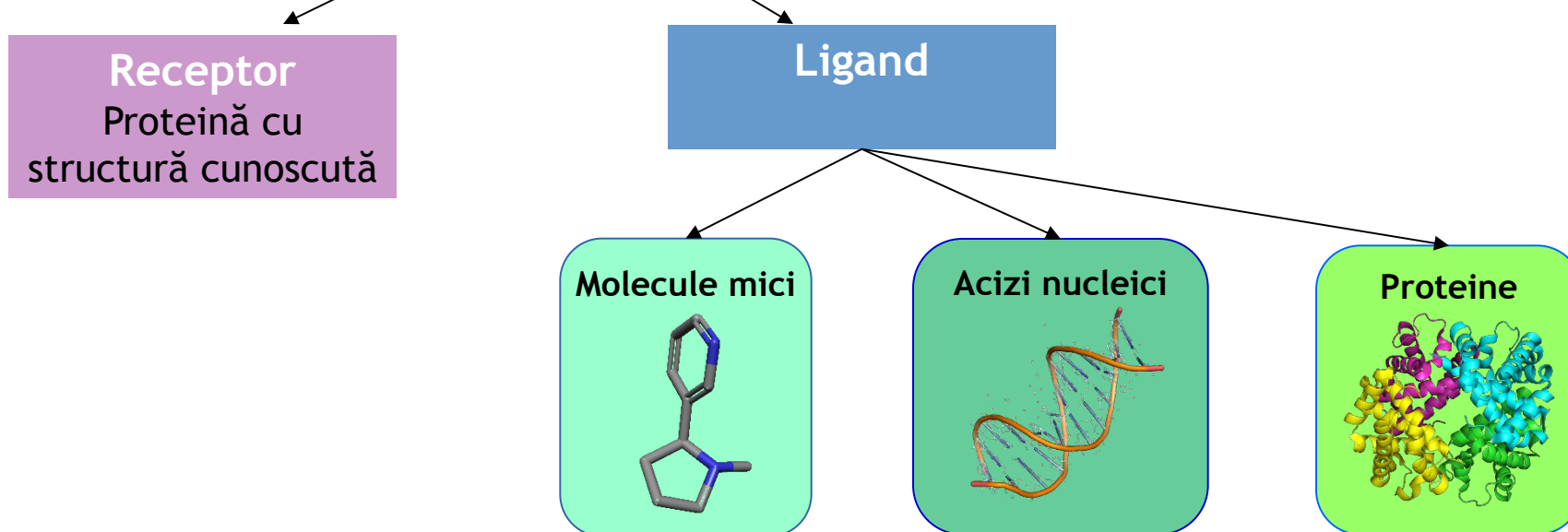
Proteinele nu sunt singure



Problematika andocării moleculare



Termenul de **andocare moleculară** *in-silico* desemnează o suită de algoritmi și metode computerizate care încearcă să deducă conformația tridimensională a unui complex format din două sau mai multe molecule constituente, un receptor și un ligand.



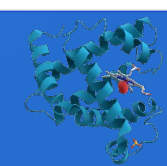
Receptorul - cel mai frecvent o proteină;

Ligandul - în contextul andocării moleculare poate fi fie o moleculă de dimensiuni mici (potențial medicament, substrat, inhibitor etc.), o altă proteină, o moleculă de acid nucleic.

Coordonatele atomice ale ligandului și receptorului pot proveni din:

1. **structura nativă** obținută prin cristalografie cu raze X sau NMR;
2. **structura pseudo-nativă** (structura unui complex obținută prin metode experimentale din care unul dintre componente a fost eliminat);
3. **structură modelată computațional** - model general prin metodele din cursul anterior - care?

Problematika andocării moleculare



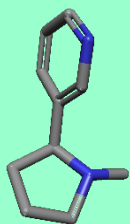
Problema pe care andocarea moleculară trebuie să o rezolve este: dacă se cunosc structurile tridimensionale a două molecule, **care este structura corectă a complexului rezultat din interacțiunea dintre cele două molecule?**

Pentru a răspunde la această întrebare ar trebui evaluate **toate conformațiile** posibile ale **ligandului**, **toate conformațiile** posibile ale **receptorului** și **toate conformațiile** posibile rezultate din **interacțiunea acestora** pentru a se identifica conformația cea mai plauzibilă.

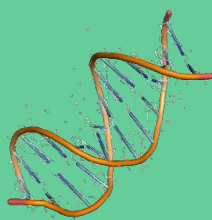
Dacă considerăm o moleculă cu doar **două legături** ce se pot roti și care trebuie amplasată într-un situs catalitic sub forma unui cub de 10^3 \AA^3 , **timpul necesar pentru a evalua din punct de vedere energetic toate cele 6×10^{14} conformații este de aproximativ 20.000 ani**. Metodele de andocare moleculare reduc acest timp prin diverse tehnici de reducere a numărului de conformații de evaluat (reducerea spațiului de căutare).

Complexitatea andocării moleculare crește odată cu creșterea complexității ligandului.

Molecule mici

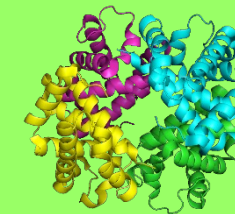


Acizi nucleici



Complexitate

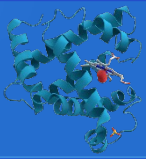
Proteine



- 3-15 legături ce se pot roti;
- situs de legare de dimensiuni mici și localizat;
- prin legare se induc modificări de conformație mici la nivelul receptorului.

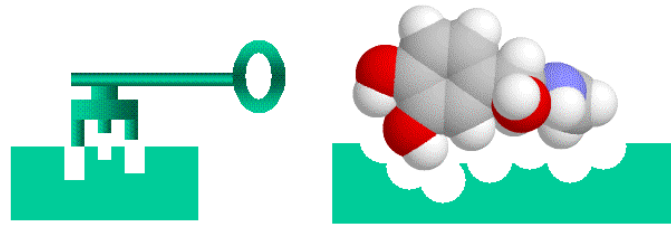
- ligand încărcat negativ;
- situs de legare de dimensiuni mari;
- situs de legare ce se formează în urma interacțiunii cu ligandul.

- ligandul este o proteină cu 1000 - 2000 legături ce se pot roti;
- situs de legare de dimensiuni mari;
- legarea ligandului duce la modificări masive de conformație a receptorului.



Procesul de formare a complexelor macromoleculare biologice active poate fi privit prin prisma a două teorii:

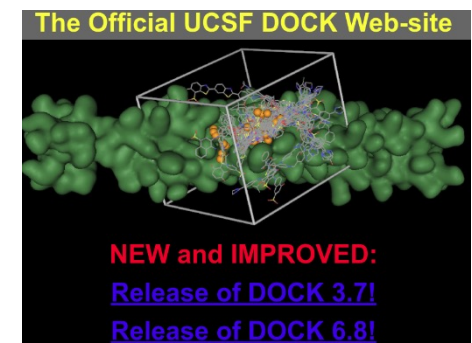
- 1. teoria “lacăt și cheie”** – similară cu modelul cu același nume din enzimologie;
- între ligand și receptor există o complementaritate de formă/interacțiuni.

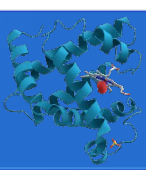


Programele de andocare moleculară ce se bazează pe această teorie încearcă să **scaneze suprafața receptorului pentru a identifica depresiuni complementare ca formă cu ligandul și de a orienta ligandul în depresiunea formată**. Această abordare pleacă de la premiza că atât ligandul cât și receptorul sunt molecule fixe, lipsite complet de flexibilitate (unghiurile dintre legături, lungimea legăturilor și unghiurile de torsiune sunt menținute fixe) – **andocare moleculară cu corpuri rigide (rigid body docking)**.

Primul program de andocare moleculară DOCK folosea această abordare considerată în prezent simplistă.

<http://dock.compbio.ucsf.edu/>

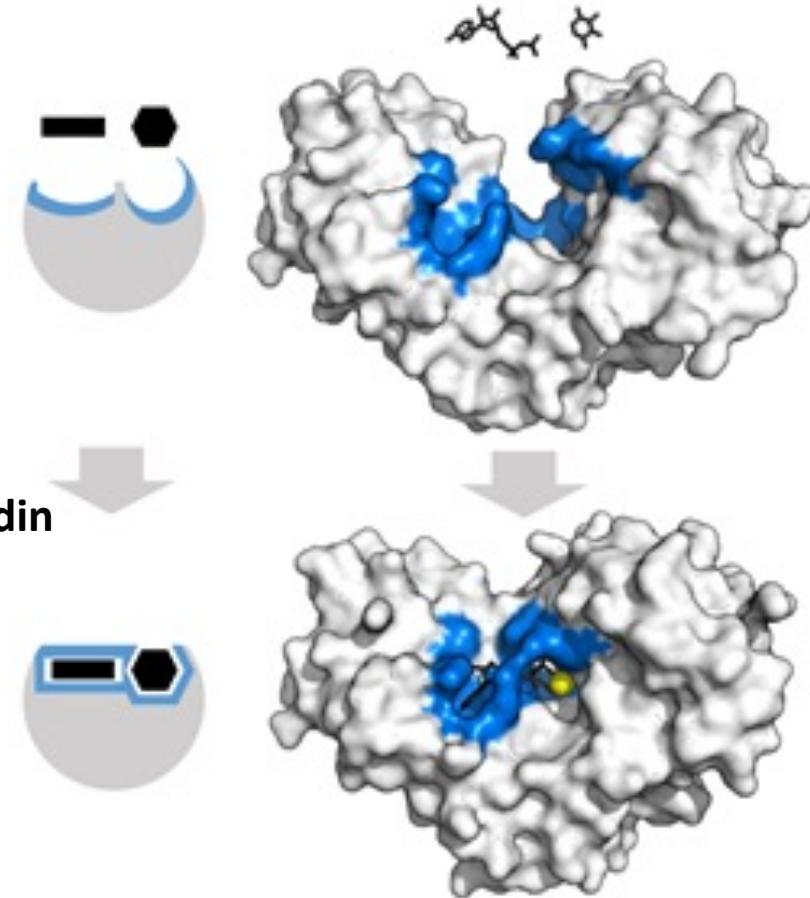


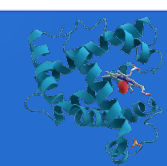


2. teoria conformației optime induse – ligandul se leagă de receptor într-o conformație mai puțin favorabilă, induce o serie de modificări structurale la nivelul receptorului ce conduc la atingerea nivelului energetic minim și contribuie astfel la obținerea unui complex stabil.

Această teorie se bazează pe observația că **70 – 100% dintre atomii liganzilor sunt îngropați în interiorul proteinei** în structurile complexelor proteină-ligand determinate experimental prin difracție cu raze X. Mai mult decât atât, **85% dintre proteinele depuse în PDB** conțin unul până la trei reziduuri flexibile.

Majoritatea programelor de andocare moleculară țin cont în prezent de **flexibilitatea liganzilor și lanțurilor de aminoacizi din structura receptorilor proteici** (unghiurile dintre legături, lungimea legăturilor, unghiurile de torsiune au un grad de libertate) realizând ceea ce se numește **andocare flexibilă (flexible docking)**.





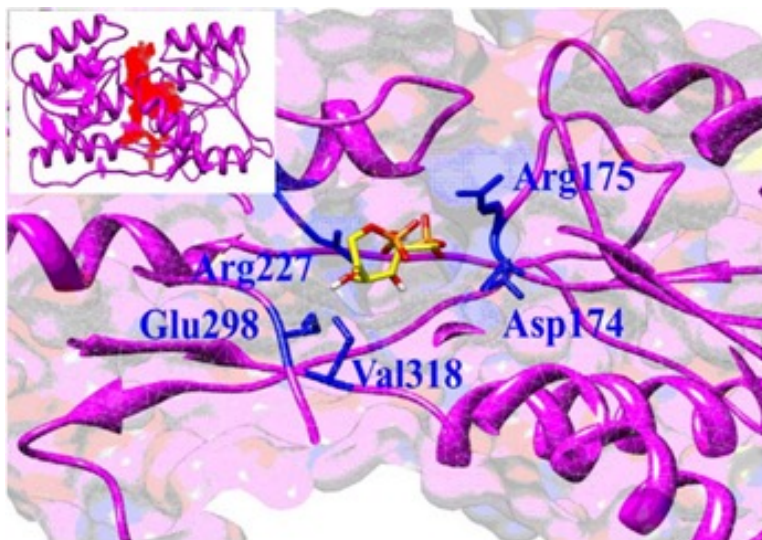
Funcție de **tipul de informații utilizat pentru a stabili conformația unui complex ligand-receptor**, metodele de andocare moleculară se clasifică în:

A. andocare moleculară nedirecționată (blind docking)

– singurele informații utilizate pentru obținerea complexului sunt coordonatele carteziene ale atomilor ligandului și receptorului (fișiere cu structura 3D, format pdb);

- sunt evaluate toate conformațiile posibile ale celor 2 parteneri;

- funcție de dimensiunea (numărul de atomi) al partenerilor, puterea de calcul necesară pentru a identifica și evalua toate conformațiile posibile ale complexului poate depăși capacitățile unui calculator obișnuit.



- 82 liganzi
 - 3 receptori
 - Ligandul flexibil și receptorul rigid
 - Dock6
-
- Calcul continuu timp de 2 săptămâni pe un PC cu 2 procesoare de 1.8 Ghz

VERSITA

Biologia 65/5: 760–767, 2010
Section Cellular and Molecular Biology
DOI: 10.2478/s11756-010-0093-8

In-silico evidence of a pAO1 encoded pathway for the catabolism of tagatose derivatives in *Arthrobacter nicotinovorans*

J Mol Model (2006) 12: 366–372
DOI 10.1007/s00894-005-0057-z

ORIGINAL PAPER

Bogdan Iorga · Denyse Herlem ·
Elvina Barré · Catherine Guillou

Acetylcholine nicotinic receptors: finding the putative binding site of allosteric modulators using the “blind docking” approach



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medicinal Chemistry

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejmech>

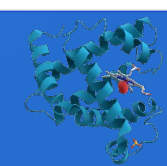


Original article

CoMFA, LeapFrog and blind docking studies on sulfonanilide derivatives acting as selective aromatase expression regulators

Carlos Gueto, Juan Torres, Ricardo Vivas-Reyes*

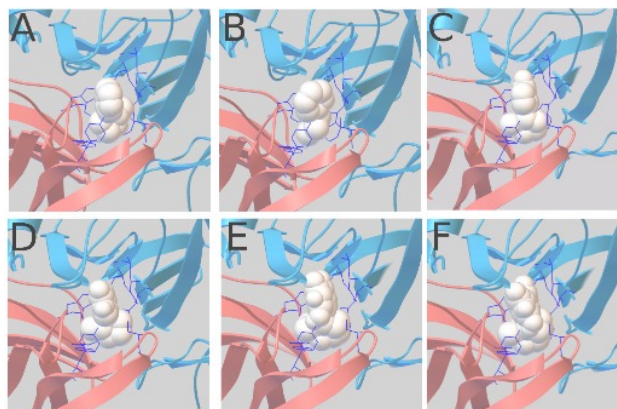
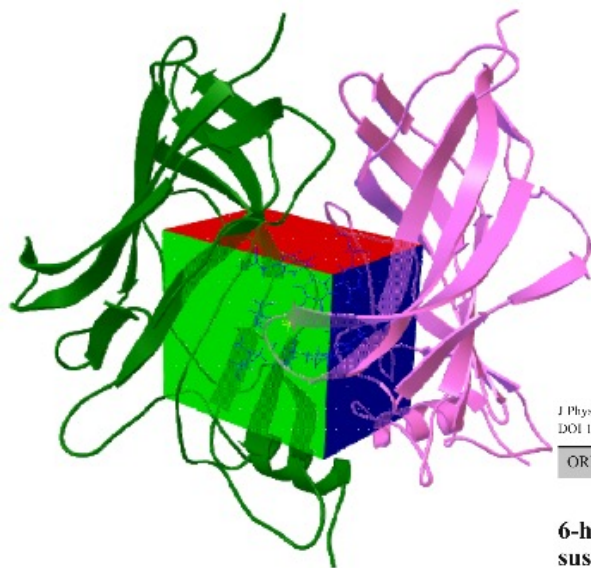
Grupo de Química Cuántica y Teórica, Universidad de Cartagena, Programa de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Campus De Zaramocín, Cartagena, Colombia



B. andocare moleculară direcționată (guided docking)

– alături de coordonatele carteziene ale atomilor ligandului și receptorului (fișiere cu structura 3D, format pdb) sunt utilizate și informații provenite din experimente de laborator pentru a se limita numărul de conformații posibile. Cel mai frecvent se indică cu aproximație locația situsului de legare a ligandului în structura receptorului Ex: - se limitează zona de legare a ligandului la o sferă cu raza de 20 Å în jurul unui aminoacid cunoscut ca fiind implicat în cataliză.

- Prin reducerea numărului de conformații evaluate (numărul de atomi), puterea de calcule necesară pentru andocarea moleculară este redusă drastic, chiar și pentru parteneri de dimensiuni mari.



J Physiol Biochem (2013) 69:25–34
DOI 10.1007/s13105-012-0184-9

ORIGINAL PAPER

6-hydroxy-L-nicotine from *Arthrobacter nicotinovorans* sustain spatial memory formation by decreasing brain oxidative stress in rats

Lucian Hritcu · Marius Stefan ·
Roderich Brandisch · Marius Mihasan

- 8 liganzi
- 1 receptor
- Atât ligandul cât și receptorul flexibili;
- AutoDock 4

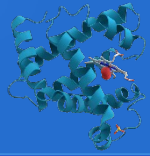
Câteva ore pe un PC cu 4
procesoare de 2.4 Ghz

PROTEINS: Structure, Function, and Genetics 52:28–32 (2003)

Guided Docking: First Step to Locate Potential Binding Sites

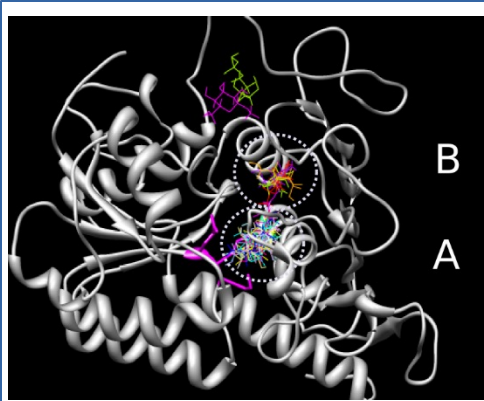
Paul W. Fitzjohn and Paul A. Bates*
Biomolecular Modelling Laboratory, Cancer Research U.K. London Research Institute, London, United Kingdom

Rezultatele unui experiment de andocare moleculară



Majoritatea programelor ce realizează andocarea moleculară conțin două componente distincte:

1. **o metodă pentru generarea și explorarea tuturor conformațiilor posibile receptor-ligand;** - realizează andocare moleculară propriu-zisă și generează un număr mare de conformații posibile ale complexului ligand-receptor;



Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM IX, 2008

COMPUTER-BASED MODELING FOR SUGAR PREFERENCES OF AN
OXIDOREDUCTASE FROM ARTHROBACTER NICOTINOVORANS
PAO1 PLASMID
MARIUS MIHĂȘAN^{1,2}, VLAD ARTENIE¹

Rezultatul unui experiment de andocare moleculară = o colecție de conformații posibile ale ligandului legat de receptor ce trebuie evaluate pentru stabilirea conformației plauzibile;

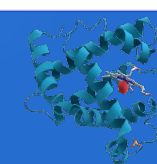
Dacă structura complexului a fost determinată experimental, acuratețea rezultatelor andocării se poate evalua prin compararea poziției atomilor determinați experimental cu cei rezultați prin andocare pe baza **RMSD** (root-mean-square deviation):

- RMSD < 2 Å conformația este acceptabilă;
- RMSD = 2-3 Å conformația este un succes parțial;
- RMSD > 3 Å conformația nu este corectă.

Această metodă de evaluare a acurateții nu este realmente utilă.

2. **o metodă de evaluare și ordonare a conformațiilor**, cel mai frecvent funcție de energie de legare a ligandului.

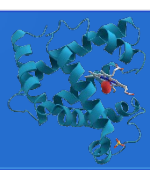
Exemple de programe/servele de andocare moleculară



Program/Server	Tipuri de andocare*	Pagină web	Observații	Ref. bibl.
Programe				
AutoDock 4	CR, FL, FR, AD, AN	http://autodock.scripps.edu/	Gratuit, doar în linie de comandă, disponibil pentru Linux, OSX, Windows, Solaris; o interfață grafică foarte bună este pusă la dispoziție de către autori, AutoDockTools (ADT)	(86)
Glide	CR, FL, AN	https://www.schrodinger.com/products/14/5/	Aplicație comercială, disponibilă pentru Linux și Windows	(87)
FlexX	CR, FL	http://www.biosolveit.de/FlexX/	Aplicație comercială, disponibilă pentru Linux și Windows; face parte din pachetul LeadIT; interfață grafică foarte bună; poate să țină cont și de prezența metalelor în structura receptorului	(88)
Dock 6	CR, FL, AN, AD	http://dock.compbio.ucsf.edu/DOCK_6/index.htm	Program gratuit, doar în linie de comandă, disponibil pentru Unix, Linux, Windows și OSX; pentru pregătirea ligandului și a receptorului, precum și pentru vizualizarea rezultatelor este indicat programul UCSF Chimera	(63)
HADDOCK	Poate utiliza și date	http://www.nmr.chem.uu.nl/haddock/	Programul poate utiliza simultan până la șase molecule diferite într-o rundă de experimente de andocare moleculară; gratuit, dar trebuie trimis autorului un acord de utilizare; nu are interfață grafică; programul este disponibil sub forma unei colecții de scripturi	(89)
GOLD	CR, FL, AD	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/	Program comercial disponibil pentru Linux și Windows	(90)
ICM	FL, FR, AN, PP	http://www.molsoft.com/docking.html	Program comercial disponibil pentru Windows, Linux, SGI, OSX	(91)
HEX Protein docking	CR, AN	http://hex.loria.fr/	Program oferit gratuit pentru cercetătorii din mediul academic; dezvoltat în special pentru a realiza andocarea moleculelor de ADN; disponibil pentru Windows, Linux și OSX având o interfață grafică bine pusă la punct; fișierele pdb pot fi utilizate direct ca input	(72)
Molegro Virtual Docker	FL, FR, AD	http://www.molegro.com/mvd-product.php	Program comercial cu o bună interfață grafică, disponibil pentru Linux, Windows și OSX; conține un algoritm de detecție automată a cavităților din interiorul receptorului permițând astfel identificarea potențialelor situs-uri active	(73)
DOT	CR, PP	http://www.sdsc.edu/CCMS/DOT/	Program doar în linie de comandă, disponibil pentru Linux (numai Red Hat) OSX, Solaris; poate andoca atât proteine, cât și ADN și ARN; permite pregătirea automată a fișierelor necesare pornind de la fișiere	(74)

Program/Server	Tipuri de andocare*	Pagină web	Observații	Ref. bibl.
AutoDock Vina	CR, FL, FR, AD, AN	http://vina.scripps.edu/	.pdb Program open-source doar în linie de comandă, disponibil pentru Linux, OSX și Windows; pentru pregătirea fișierelor necesare andocării și pentru vizualizarea rezultatelor se poate utiliza AutoDockTools (ADT)	(75)
DockVison	FL, AD	http://dockvision.com/	Programul are o interfață grafică, disponibil pentru SGI și Linux	(76)
GEMDOCK	FL, FR	http://gemdock.life.nctu.edu.tw/dock/	Gratuit pentru cercetătorii din mediul academic, disponibil pentru Windows și Linux	(77)
Fitted	FL, FR	http://fitted.ca/	Program comercial cu interfață grafică bazată pe utilizarea unui browser web, ceea ce permite folosirea în orice sistem de operare	(78)
eHiTs	FL, AN	http://simbiodysys.ca	Program comercial, conține un algoritm de detecție automată a cavităților din interiorul receptorului permițând astfel identificarea potențialelor situs-uri active	(79)
Servele				
ZDOCK Server	CR, LD, PP	http://zdock.bu.edu/	Dezvoltat în special pentru andocare proteină-proteină, poate utiliza direct fișiere .pdb	(80)
ClusPro Server	CR, PP	http://cluspro.bu.edu	Fișierele input pot fi în coordonate 3D în format .pdb sau direct codurile acestor fișiere	(81)
GRAMM-X	LB, BD, PP	http://vakser.bioinformatics.ku.edu/resources/gramm/grammx	Conceput exclusiv pentru andocarea proteină-proteină	(82)
RosettaDock Server	CR, FL, PP	http://rosettdock.graylab.jhu.edu	Bazat pe programul RosettaDock	(83)
Hex Server	CR	http://hexserver.loria.fr	Serverul folosește direct structurile în format pdb	(84)
DockBlaster	CR, FL, AN	http://blaster.docking.org/	Folosește programele DOCK 3 și PocketPicker pentru andocare și baza de date ZINC pentru selecția liganzilor	(85)

* CR – andocare cu corpuri rigide, FL – andocare cu liganzi flexibili, FR – andocare cu receptor flexibl, AN – andocare nedirecționată, AD – andocare direcționată, PP – andocare proteină-proteină



A. Andocarea cu liganzi de dimensiuni mici

Scopul acestei aplicații este de a identifica situsul de legare și/sau modul de legare al unei molecule de dimensiuni mici într-o moleculă proteică. Ligandul este reprezentat prin coordonatele tridimensionale ale întregii molecule, coordonate obținute în general dintr-o bază specifică de date precum ZINC (<http://zinc.docking.org/>) sau PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

• Exemple de aplicații:

- ✓ Identificarea mecanismului molecular de inhibare a monoamin oxidazei umane;
- ✓ Validarea datelor experimentale privind o noua ω -amidază;
- ✓ Identificarea de aminoacizi țintă pentru mutagenză *in vitro*.



Molecular insights into human monoamine oxidase (MAO) inhibition by 1,4-naphthoquinone: Evidences for menadione (vitamin K3) acting as a competitive and reversible inhibitor of MAO

Eduardo Coelho Cerqueira ^a, Paulo Augusto Netz ^b, Cristiane Diniz ^a, Vanessa Petry do Canto ^b, Cristian Follmer ^{a,*}



Homologous gene clusters of nicotine catabolism, including a new ω -amidase for α -ketoglutaramate, in species of three genera of Gram-positive bacteria

Cristina Cobzaru ^a, Petra Ganas ^a, Marius Mihasan ^b, Paula Schleberger ^{a,c}, Roderich Brandsch ^{a,*}

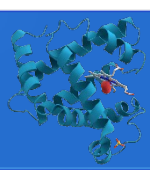


Insight into the binding of the wild type and mutated alginate lyase (AlyVI) with its substrate: A computational and experimental study

Adel Hamza ^b, Yu Lan Piao ^c, Mi-Sun Kim ^a, Cheol Hee Choi ^c, Chang-Guo Zhan ^b, Hoon Cho ^{a,*}

• Limitări:

- ✓ Necesită structuri tridimensionale ale receptorului cu o rezoluție de preferat mai bună de 1.2 Å - majoritatea structurilor obținute prin cristalografie cu raze X au o rezoluție cuprinsă între 1.5 and 2.5 Å, modelele obținute prin modelare pe bază de omologie au o rezoluție mai mică. **Rezoluția acceptată pentru obținerea de rezultate utilizabile este de cel puțin 2.2 Å.**
- ✓ În general metodele de andocarea cu molecule mici nu țin cont de inhibitorii legați covalent, de cofactori sau ionii metalici.



B. Identificarea de noi liganzi (pharmacophore generation) - este utilă în special în industria farmaceutică pentru a identifica noi medicamente sau generarea unui farmacofor. Pentru aceasta, se pleacă de la o colecție de liganzi de dimensiuni mici despre care se știe că se leagă de un receptor proteic dat. Metoda presupune că legarea lor se datorează unui set comun de proprietăți geometrice și chimice. Astfel, liganzii sunt tratați ca fragmente și sunt andocați în situsul de legare al receptorului. Prin combinarea lor și ligarea diverselor grupe de atomi se obține o nouă moleculă care se va lega de receptor mai puternic decât oricare dintre liganzii de la care s-a pornit.

Principalul punct slab al acestei aplicații este faptul că în mod paradoxal reduce diversitatea structurală disponibilă cercetătorului. Dacă un compus se leagă într-un situs de legare dat, este de așteptat ca toate moleculele cu structură analoagă să se comporte la fel. Când se ordonează potențialii liganzi în funcție de energia de legare, liganzii similari vor fi plasați în apropiere, cercetătorul ignorând involuntar liganzii structural diferiți, dar cu șanse să se lege de proteina dată.

C. Andocarea moleculară a acizilor nucleici – puține programe sunt capabile să realizeze acest lucru, cele mai importante sunt **MONTY** și **AutoDock**.

- La ora actuală nu există un cod care să descrie clar modul de interacțiune al aminoacizilor cu bazele azotate din ADN/ARN.

D. Andocarea moleculară proteină–proteină – reprezintă cel mai nou domeniu al andocării moleculare, însă datorită complexității deosebite necesită computere extrem de puternice.

Mini-review

What *in silico* molecular docking can do for the 'bench-working biologists'

MARIUS MIHĂȘAN

Alexandru Ioan Cuza University, Faculty of Biology, Department of Molecular and Experimental Biology, Iași, Romania

(Fax, 2201472; Email, marius.mihasan@uaic.ro)

Required by an increasing amount of scientists, the *in silico* docking field is in full expansion, new algorithms and methods appearing at an exponential rate. The sheer range of available programs is overwhelming for the bench-working biologist, which is often discouraging by the lack of a graphical user interface, good user manual or literature to validate a given program. This mini-review attempts to present the docking problem and available solutions from a non-bioinformatician point of view and makes a selection of the available servers and programs. These tools are evaluated from several points of view, as numbers of citations, ease of usage and computer requirements. Finally, the capabilities and limitations as well as specific applications of *in silico* docking techniques are presented.

[Mihășan M 2012 What *in silico* molecular docking can do for the 'bench-working biologists'. *J. Biosci.* 37 1089–1095] DOI 10.1007/s12038-012-9273-8