

Поиск низкомолекулярных ингибиторов белков, участвующих в передаче сигналов от рецепторов клеточной смерти.

Ищенко А.С.

Лаборатория компьютерной протеомики

Научный руководитель: к.б.н. Иванисенко В.А.

Цель работы

Осуществить поиск низкомолекулярных соединений, ингибирующих взаимодействие DEED каспазы-8 с белками DISC (death inducing signaling complex), с помощью методов молекулярного моделирования.

Апоптоз

-регулируемый процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные апоптотические тельца, ограниченные плазматической мембраной.

Роль апоптоза

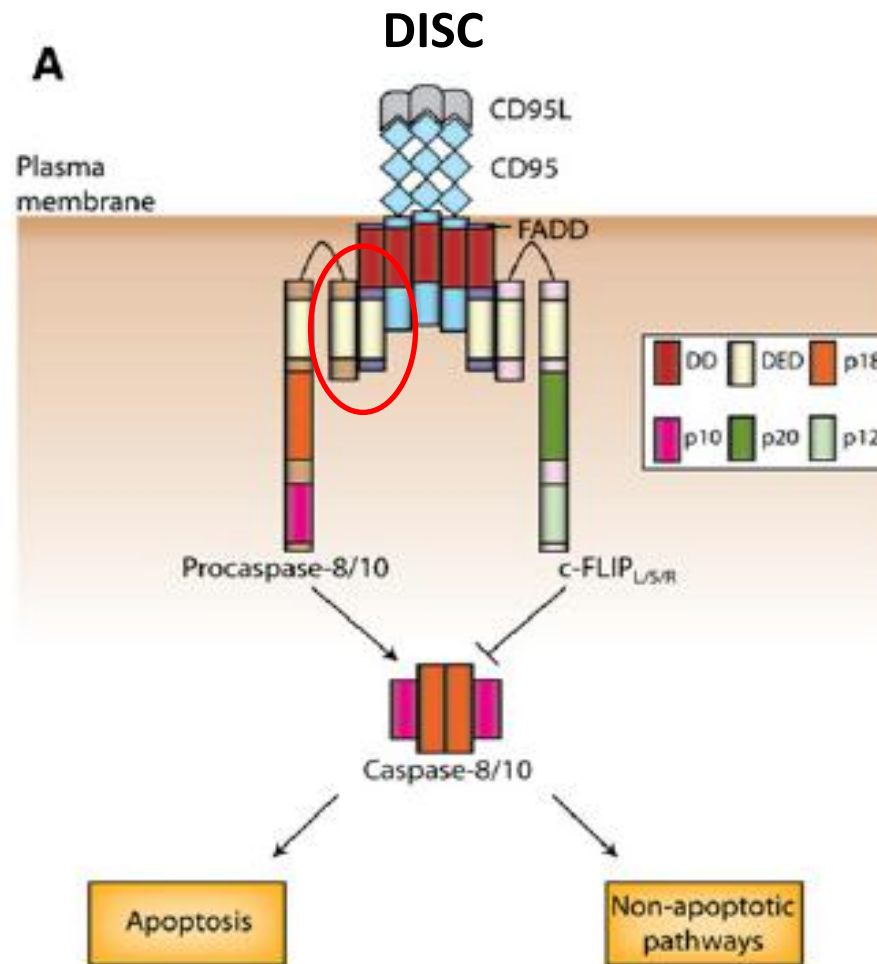
ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ

- Перестройки в эмбриогенезе
- Противоопухолевая защита
- Противовирусная защита
- Клеточный гомеостаз

ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ

- Нейродегенеративные заболевания
- Ишемические состояниях
- Сепсис

Инициация апоптоза



Death Effector Domains каспазы 8



PDB ID: 4ZBW

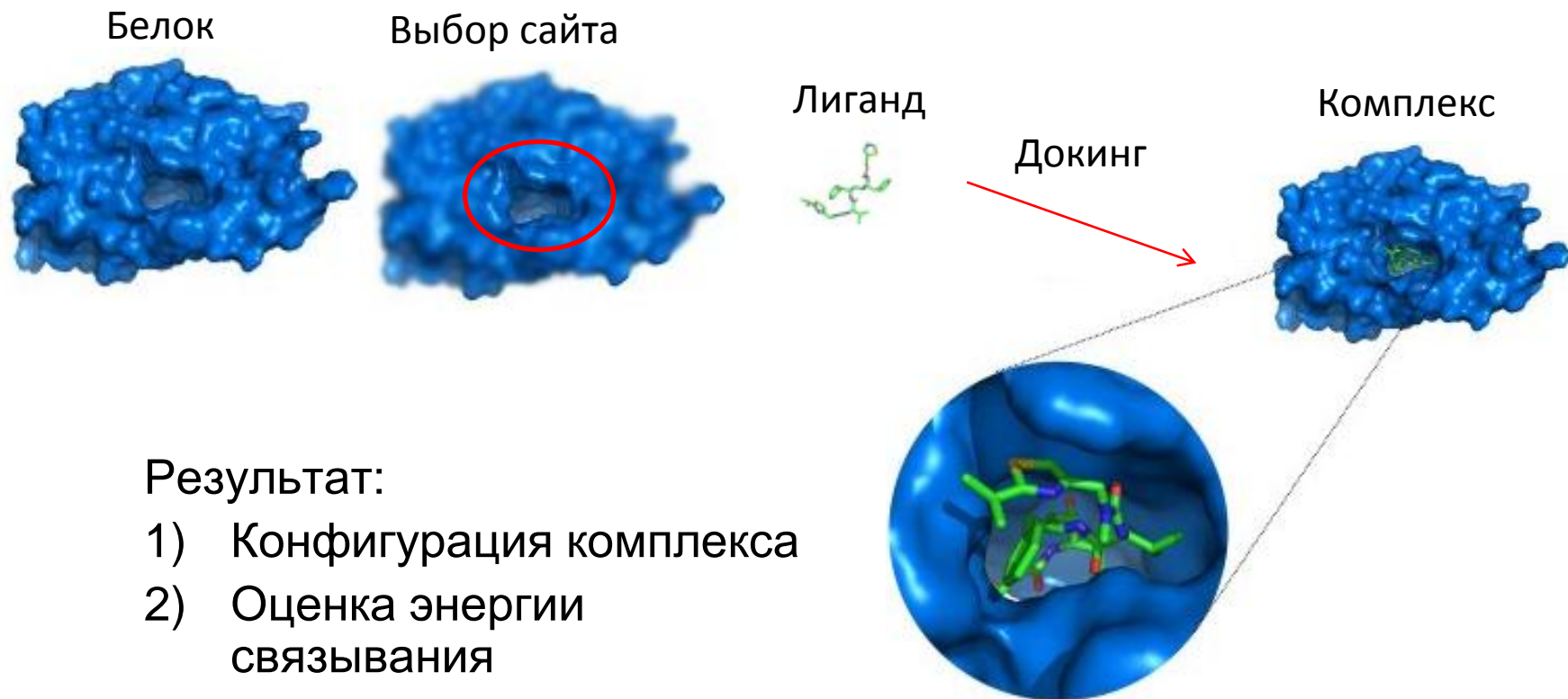
Актуальность:

1. Каспаза-8 – важный участник активации апоптоза
2. Ингибиторы DED – полезные инструменты для изучения апоптоза
3. DED имеются и у других важных белков, например, C-FLIP.

Основные методы

- 1) Молекулярный докинг
- 2) Молекулярная динамика
- 3) Экспериментальные методы проверки активности соединений

Молекулярный докинг

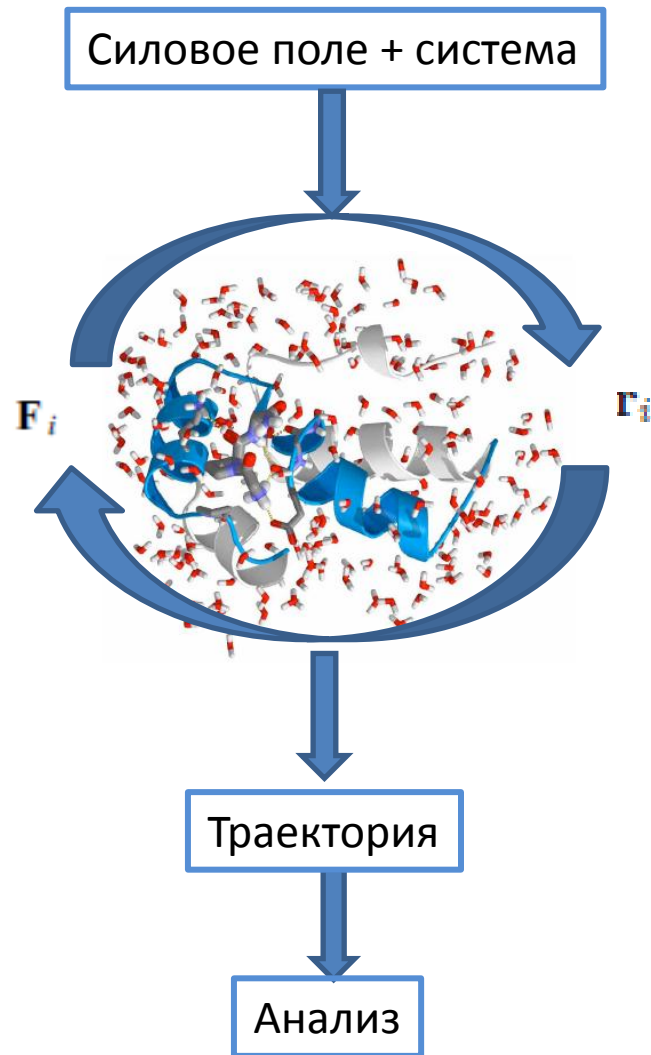


Молекулярная динамика

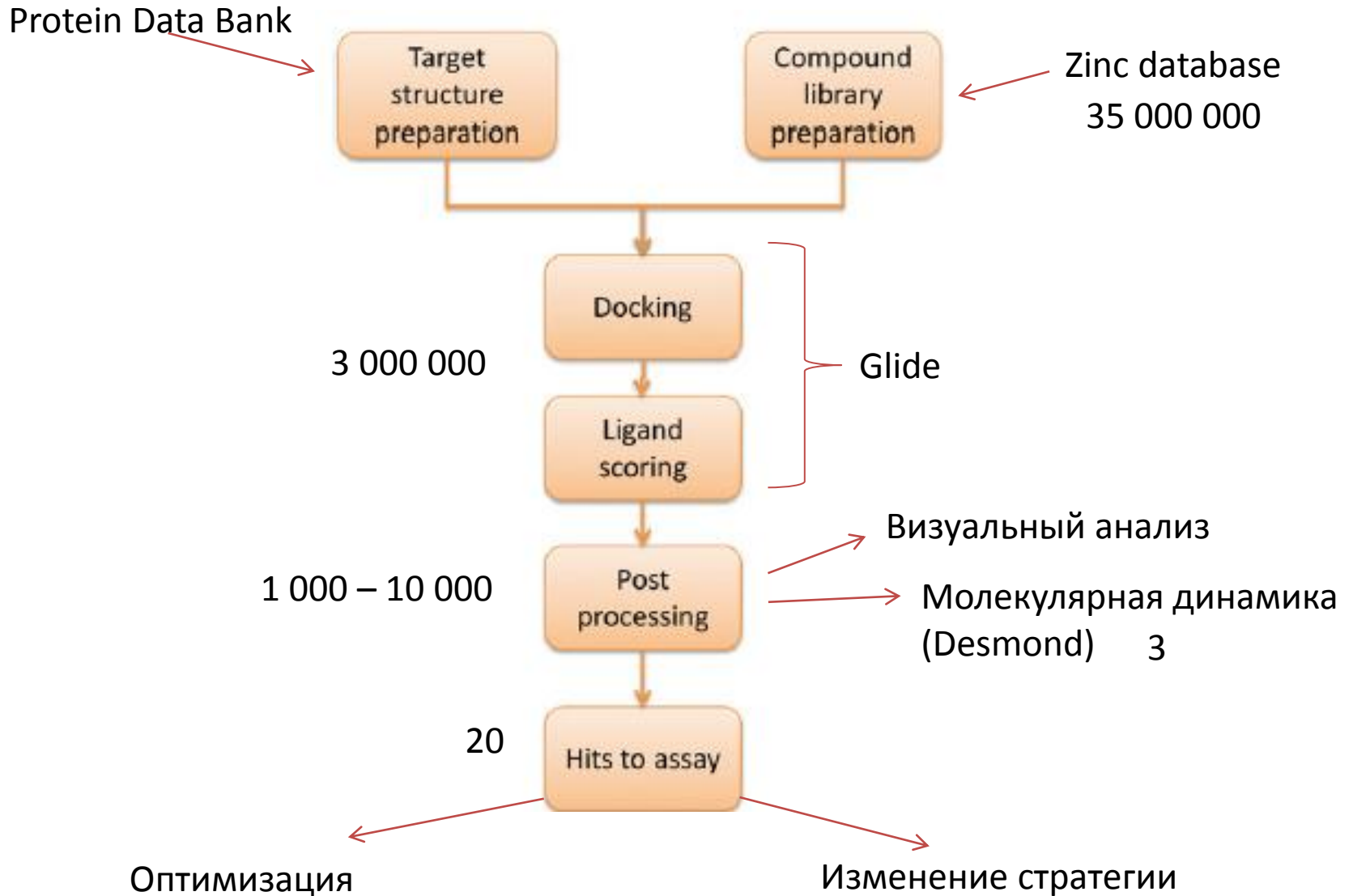
$$U(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = \sum_{\text{bonds}} \frac{a_i}{2} (l_i - l_{i0})^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{b_i}{2} (\theta_i - \theta_{i0})^2$$
$$+ \sum_{\text{torsions}} \frac{c_i}{2} [1 + \cos(n\omega_i - \gamma_i)]$$
$$+ \sum_{\text{atom pairs}} 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]$$
$$+ \sum_{\text{atom pairs}} k \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$$

$$\mathbf{F}_i = -\nabla_{\mathbf{r}_i} U(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = -\left(\frac{\partial U}{\partial x_i}, \frac{\partial U}{\partial y_i}, \frac{\partial U}{\partial z_i} \right)$$

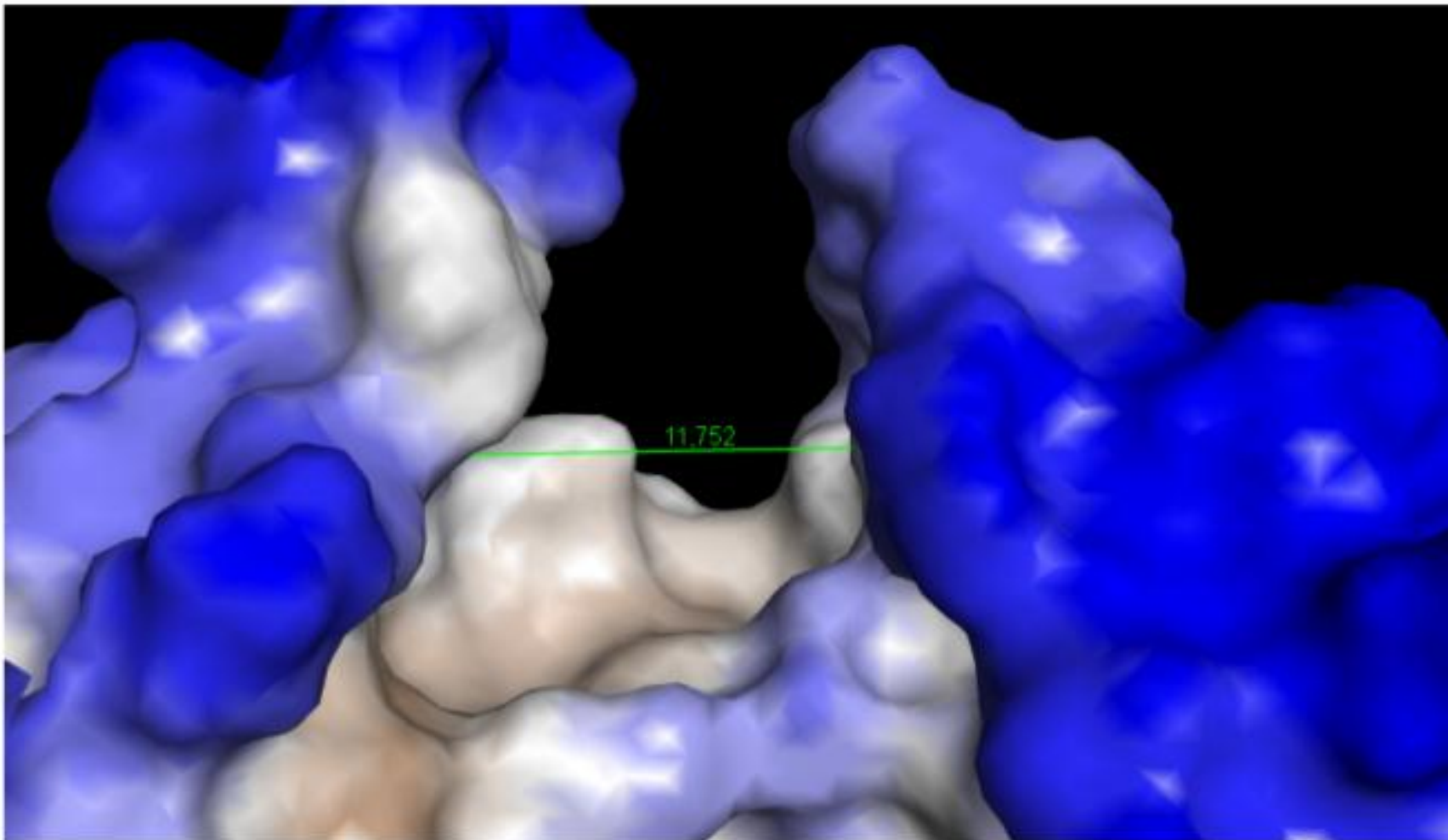
$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(t - \Delta t) + \frac{\Delta t^2}{m_i} \mathbf{F}_i(t).$$



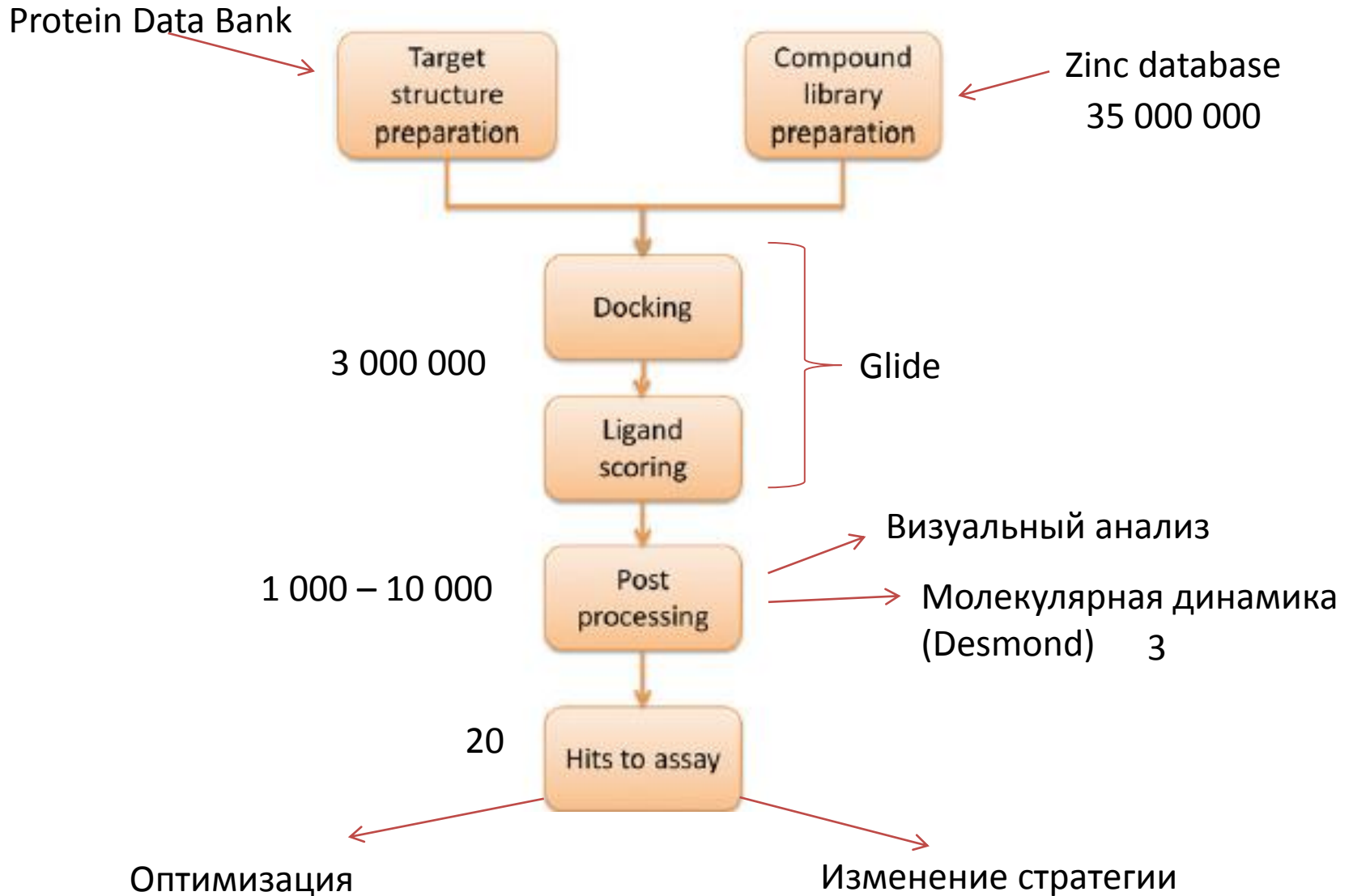
Виртуальный скрининг



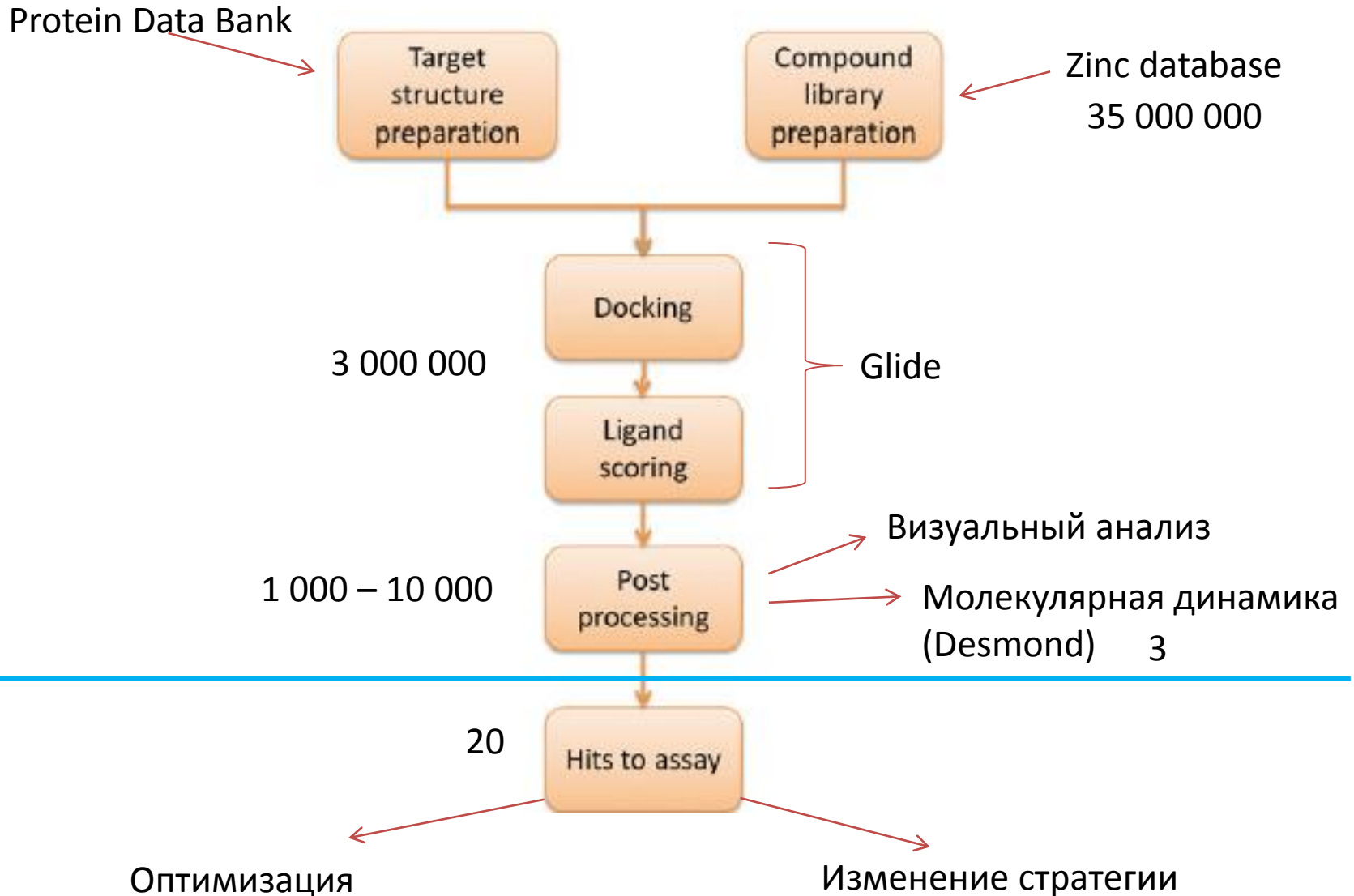
Потенциальный сайт связывания ингибиторов DED caspase-8



Виртуальный скрининг



Виртуальный скрининг



Виртуальный скрининг

Protein Data Bank

Target structure preparation

Compound library preparation

Zinc database
35 000 000

Docking

Ligand scoring

Post processing

Hits to assay

Glide

Визуальный анализ

Молекулярная динамика
(Desmond) 3

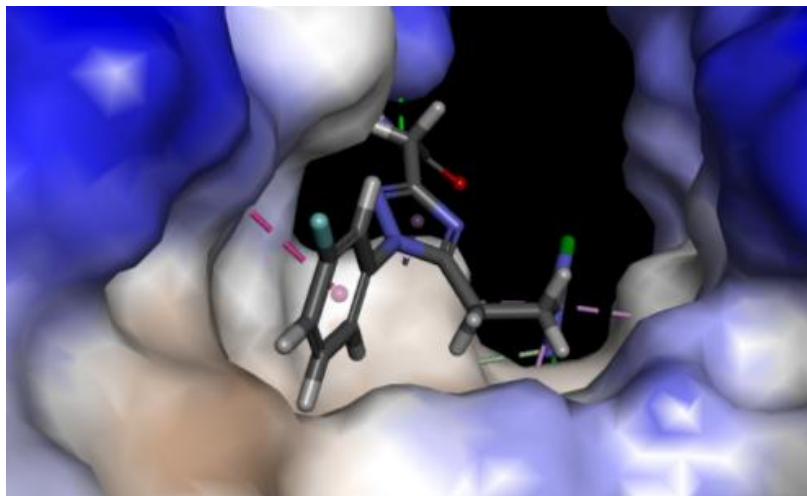
20

Оптимизация

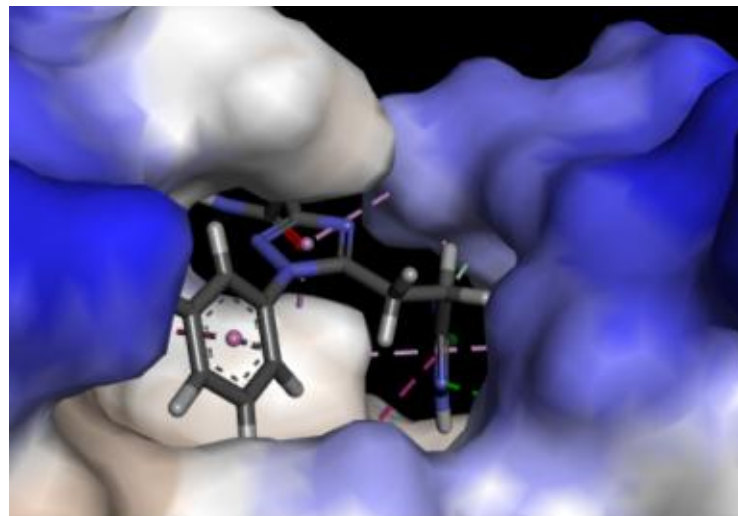
Изменение стратегии

- Завершить постпроцессинг
- Провести докинг в другие сайты(?)
- Проверка активности *in vitro*
- Работа с A20 и RIPK1

Оценка стабильности взаимодействия найденных хитов с использованием метода молекулярной динамики



Начальная конфигурация



Репрезентативная структура из МД-траектории

Молекулярная динамика

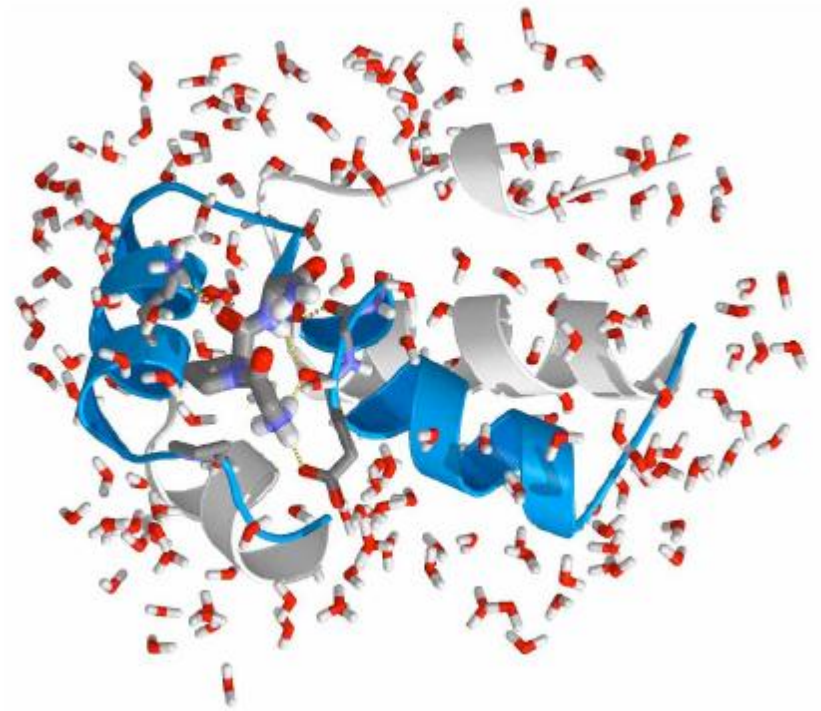
$$U(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = \sum_{\text{bonds}} \frac{a_i}{2} (l_i - l_{i0})^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{b_i}{2} (\theta_i - \theta_{i0})^2$$
$$+ \sum_{\text{torsions}} \frac{c_i}{2} [1 + \cos(n\omega_i - \gamma_i)]$$
$$+ \sum_{\text{atom pairs}} 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]$$
$$+ \sum_{\text{atom pairs}} k \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$$

$$\mathbf{F}_i = -\nabla_{\mathbf{r}_i} U(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = -\left(\frac{\partial U}{\partial x_i}, \frac{\partial U}{\partial y_i}, \frac{\partial U}{\partial z_i} \right)$$

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) \approx \mathbf{r}_i(t) + \Delta t \mathbf{v}_i(t) + \frac{\Delta t^2}{2m_i} \mathbf{F}_i(t).$$

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = 2\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(t - \Delta t) + \frac{\Delta t^2}{m_i} \mathbf{F}_i(t).$$

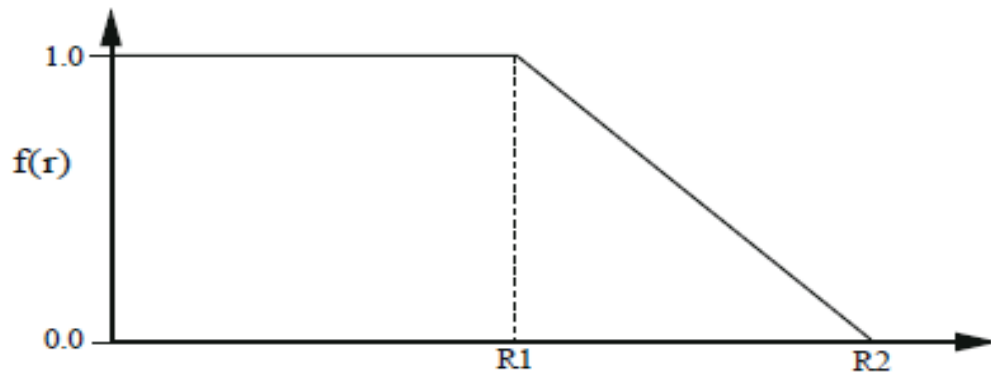
$$\mathbf{v}_i(t) = \frac{\mathbf{r}_i(t + \Delta t) - \mathbf{r}_i(t - \Delta t)}{2\Delta t}.$$



Скоринг-функции

- Эмпирические скоринг-функции
- Forcefield-based скоринг-функции
- Knowledge-based скоринг-функции

$$\Delta G_{\text{bind}} = C_0 + C_{\text{lipo}} \sum f(r_{\text{lr}}) + C_{\text{hbond}} \sum g(\Delta r) h(\Delta \alpha) + C_{\text{metal}} \sum f(r_{\text{lm}}) + C_{\text{rotb}} H_{\text{rotb}} \quad (1)$$



Исследование конформационного пространства

- Генетический алгоритм
- Ламаркианский генетический алгоритм
- Алгоритм имитации отжига
- Систематический семплинг

