

Instrucciones para realizar un Docking con Chimera, Avogadro y AutoDockTools

Preparar la Proteína (Chimera)

- Limpiar la proteína
 - Descargar la proteína: File > Fetch by ID > pdb (Ingresar ID) > Set Download Directori > Fetch
 - Identificar la cadena donde se encontrará el sitio de unión
 - Eliminar las otras cadenas
 - Seleccionar la proteína > invertir selección > eliminar selección
 - Guardar en .pdb

Sería todo en Chimera

Preparar el ligando (Avogadro)

- Descargar molécula (PubChem) en formato .sdf
- Abrir molécula
- Minimizar energía > Seleccionar en Force Field MMFF94 (para moléculas orgánicas) > Start
- Esperar que la derivada de la energía (dE) sea igual a cero
- Guardar en .mol2

Sería todo en Avogadro

Preparar el Docking (AutoDock Tools, autogrid4)

- Definir directorio de trabajo
 - File > Preferences > Set... > En “Startup Directory” colocar el directorio de trabajo > Set > Dismiss
- Preparar la proteína para el docking
 - File > Read Molecule > Seleccionar la proteína .pdb ya limpia
 - Edit > Hydrogens > Add > Polar Only > noBondOrder > OK
 - Edit > Hydrogens > Merge Non-Polar > Continuar (en caso de aparecer un WARNING)
 - Edit > Charges > Add Kollman Charges
 - File > Save > Write PDB > Buscar la carpeta correcta (En caso de hacerlo) > Seleccionar “Sort Nodes” > OK
- Preparar el ligando para el docking
 - Ligand > Input > Open... > seleccionar la molécula en .mol2
 - Seleccionar el ligando (solo el ligando), estando el ligando seleccionado hacer lo siguiente:
 - Edit > Hydrogens > Add > All Hydrogens > withBondOrder > Ok
 - Edit > Charges > Compute Gasteiger
 - Edit > Hydrogens > Merge Non-Polar > Continuar (en caso de aparecer un WARNING)
 - Ligand > Output > Save as PDBQT
- Preparar la grilla
 - Grid > Macromolecule > Choose... > Seleccionar la proteína > se deberá guardar en formato .pdbqt

- Grid > Set Map Types > Choose Ligand... > Seleccionar el ligando
- Grid > Grid Box... > posicionar la caja en el sitio de unión de la proteína (si no sabes donde está o con que aminoácidos debe interactuar el ligando dentro del bolsillo de unión, revisar la documentación de la proteína(PubMed); CASTp también es buena opción, pero tiene limitaciones con el tamaño de la proteína)
- Una vez ubicado la caja en la posición y con el tamaño correspondiente:
- File > Close saving current
- Grid > Output > Save GPF > guardar como “grid.gpf”
- Run > Run AutoGrid... > En “Program Pathname” se debe buscar la ubicación del programa “autogrid4” y seleccionarlo > En “Parameter Filename” se debe buscar la ubicación del archivo “grid.gpf” y seleccionarlo > En “Nice Level” se recomienda 0 pero se deja a criterio**> Launch

Si todo sale bien, aparecerá una ventana y se demorará en desaparecer (NO TOCAR NADA), si la ventana desaparece inmediatamente al lanzar el autogrid (aparece y desaparece), algo está mal.

Docking (AutoDock Tools, autodock4)

Siguiendo con AutoDock Tools

- Docking > Macromolecule > Set Rigid Filename... > Buscar y seleccionar la Proteína .pdbqt
- Docking > Ligand > Choose... > Elegir la molécula > Aceptar
- Docking > Search Parameters > Genetic Algorithm... > Si no es un Docking relevante, dejar todo igual y Aceptar. En caso de necesitar un Docking exhaustivo se recomienda leer documentación y ver que hace cada parámetro (chatgpt ayuda bastante).
- Docking > Output > Lamarckian GA... > guardar como “dock.dpf”
- Run > Run AutoDock... > En “Program Pathname” se debe buscar la ubicación del programa “autodock4” y seleccionarlo > En “Parameter Filename” se debe buscar la ubicación del archivo “dock.dpf” y seleccionarlo > En “Nice Level” se recomienda 0 pero se deja a criterio**> Launch

Si todo sale bien, aparecerá una ventana y se demorará en desaparecer (NO TOCAR NADA), si la ventana desaparece inmediatamente al lanzar el autodock (aparece y desaparece), algo está mal.

Analizar Docking (AutoDock Tools)

Siguiendo con AutoDock Tools, buscaremos la mejor pose

- Edit > Delete > Delete Molecule > Seleccionar el ligando y eliminar > Dismiss
- Analyze > Macromolecule > Choose... > Seleccionar la proteína
- Analyze > Dockings > Open... > Buscar y seleccionar el archivo recién creado “dock.dlg”
- Analyze > Conformations > Play, ranked by energy...

Si bien la conformación, o pose, de menor energía es la “mejor” se debe evaluar la interacción que esta tiene con la proteína y si interactúa correctamente con los aminoácidos correspondientes

- En la ventana de reproducción, click en el símbolo “&” (opens panel to change play options)
- En la ventana “Set play options” > Show Info > Build H-bonds

De esta manera se podrá ver las interacciones que hay con la proteína

- En la ventana de reproducción click en la flecha derecha e izquierda que están a los lados del número (Ej.: 1) y elegir la mejor pose
- En la ventana “Set play options” > Write Complex > Guardar complejo en .pdbqt
- Edit > Delete > Delete All Molecules > Continue
- File > Read Molecule > Buscar y seleccionar el complejo creado .pdbqt
- File > Save > Write PDB > Guardar complejo como .pdb

****Nice Level:** se refiere a la prioridad con la que el proceso se ejecuta en el sistema operativo. Es un concepto relacionado con la gestión de recursos y la asignación de tiempo de CPU a los procesos en ejecución.

Detalles del "Nice Level":

1. Prioridad del proceso:

- El "Nice Level" controla la prioridad de un proceso. Un valor más bajo significa que el proceso tiene mayor prioridad, mientras que un valor más alto significa que el proceso tendrá menor prioridad en comparación con otros procesos que se estén ejecutando al mismo tiempo.

2. Rango de valores:

- Los valores del "Nice Level" suelen ir desde -20 (máxima prioridad) hasta 19 (mínima prioridad). El valor por defecto suele ser 0, lo que indica una prioridad estándar.

3. Efecto en la ejecución:

- Si asignas un "Nice Level" bajo (por ejemplo, -5), el sistema operativo le dará más tiempo de CPU a AutoGrid, lo que podría hacer que termine más rápido, especialmente si el sistema está ejecutando otros procesos al mismo tiempo.
- Si asignas un "Nice Level" alto (por ejemplo, 10), AutoGrid se ejecutará con menos prioridad, lo que significa que se le asignará menos tiempo de CPU en comparación con otros procesos con un "Nice Level" más bajo. Esto puede ser útil si deseas que AutoGrid se ejecute en segundo plano sin afectar el rendimiento de otras aplicaciones.