

Taller Docking Molecular con Autodock4 y SwissDock

Autor: Carlos Eduardo Bonilla

Fecha: 20/sep/2022

Se trabajará con moléculas: **BCL-XL y quercetina**.

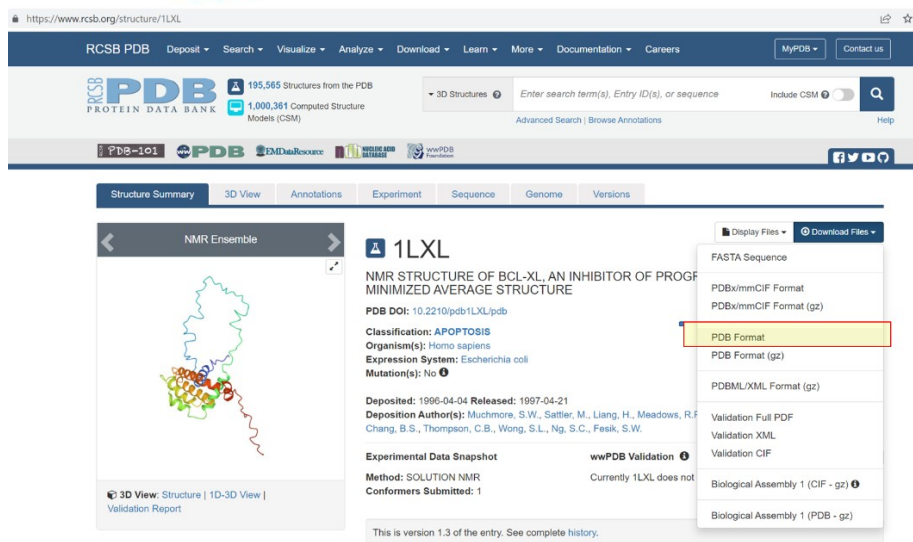
BCL-XL es una de las principales proteínas que estimulan la supervivencia celular mediante la inhibición de la apoptosis al unirse e inhibir a proteínas pro-apoptóticas (Bax, Bak y posiblemente Bok) o a proteínas BH3⁽¹⁾.

La quercetina es un bioflavonoide presente en múltiples (al menos 20) plantas, al que se le han encontrado propiedades anti-inflamatorias, antihipertensivas, vasoilataoras, antiobesidad, antihipercolesterolémica y antiarteriosclerótica. Además, de forma interesante, se ha encontrado que puede tener un efecto apoptótico en algunas células grasas y puede estimular la necrosis de células grasas. Se han descrito también propiedades anti-cáncer por potenciales efectos antiproliferativos, supresión de factores de crecimiento y antioxidante, así como un efecto inductor de apoptosis. Se han realizado estudios tempranos en líneas de cáncer cerebral, hepático, colónico (cáncer y en adenomas) y también en cáncer de próstata ⁽²⁾.

Esto tiene plausibilidad biológica, pues la evasión de la apoptosis es uno de los rasgos o características principales del cáncer ^(3, 4, 5)

Pasos:

- 1) Instalación de software: Autodock4, Autodocktools, Chimera.
- 2) Bajar estructura de proteína en Protein Data Bank, en formato PDB. En este caso es proteína BCL-XL.



https://www.rcsb.org/structure/1LXL

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More Documentation Careers MyPDB Contact us

RCSB PDB PROTEIN DATA BANK 195,565 Structures from the PDB 1,000,361 Computed Structure Models (CSM)

3D Structures Enter search term(s), Entry ID(s), or sequence Include CSM Help

Structure Summary 3D View Annotations Experiment Sequence Genome Versions

NMR Ensemble

1LXL

NMR STRUCTURE OF BCL-XL, AN INHIBITOR OF PROTOGENIC KINASES

PDB DOI: 10.2210/pdb1LXL/pdb

Classification: APOPTOSIS

Organism(s): Homo sapiens

Expression System: Escherichia coli

Mutation(s): No

Deposited: 1996-04-04 Released: 1997-04-21

Deposition Author(s): Muchmore, S.W., Sattler, M., Liang, H., Meadows, R., Chang, B.S., Thompson, C.B., Wong, S.L., Ng, S.C., Feak, S.W.

Experimental Data Snapshot

Method: SOLUTION NMR

Conformers Submitted: 1

wwPDB Validation Currently 1LXL does not have a validation report.

Download Files

- FASTA Sequence
- PDBx/mmCIF Format
- PDBx/mmCIF Format (gz)
- PDB Format**
- PDB Format (gz)
- POBML/XML Format (gz)
- Validation Full PDF
- Validation XML
- Validation CIF
- Biological Assembly 1 (CIF - gz)
- Biological Assembly 1 (PDB - gz)

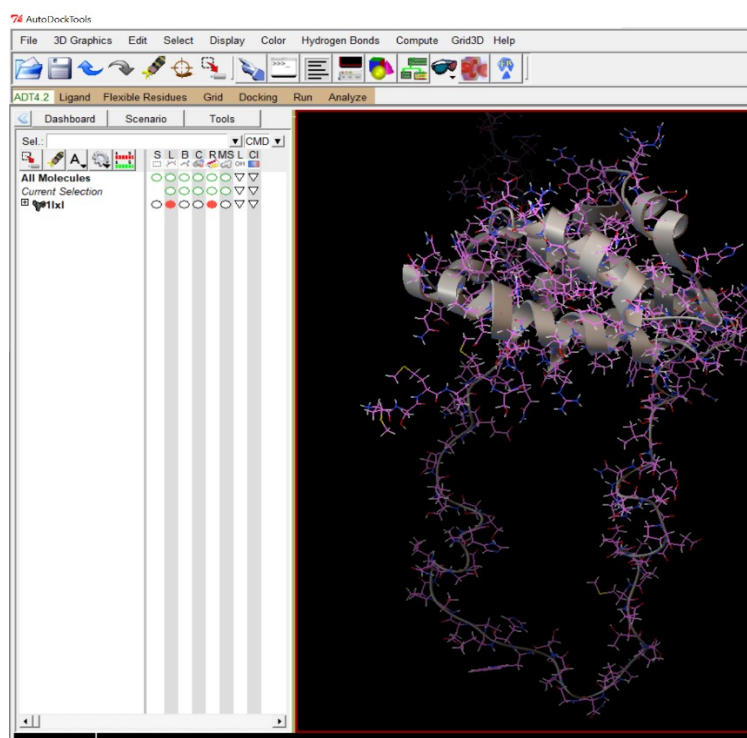
This is version 1.3 of the entry. See complete history.

3) Bajar estructura de ligando: genisteína, en Pubchem. Formato SDF y posteriormente se graba en formato Mol2 (En Chimera o Babel).

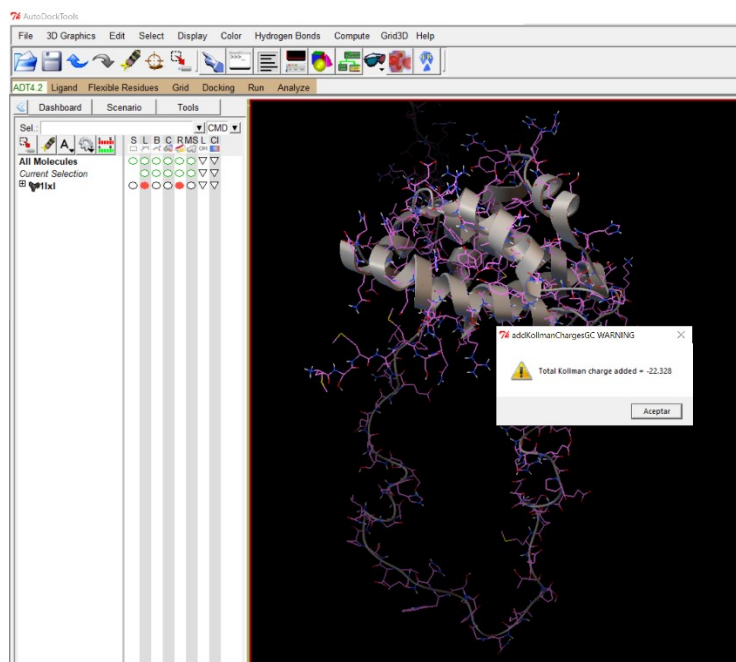
4) El ligando se abre en Avogadro. Se hace un proceso de minimización de energía. Force Field MMF94 (recomendado para moléculas orgánicas). Se guarda en formato Mol2.

5) Ahora en AutodockTools4: en archivo, preferencias, se ajusta el Startup Directory (en downloads) y se selecciona "Set".

6) Se trae ahora la proteína (BCL-XL): en File, read molecule.

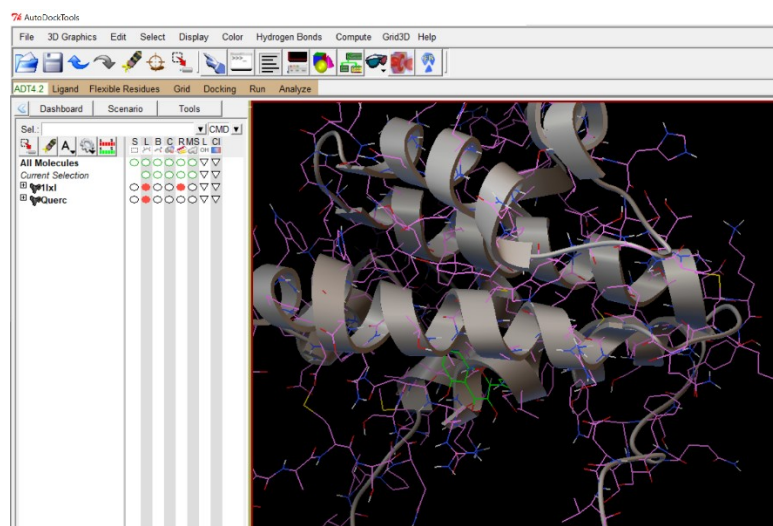


7) Se prepara la proteína: en edit, se adicionan H⁺ polares (para añadir cargas), se da OK. Luego se da click a Merge Non Polar. Y se adicionan cargas de Kollman para la proteína. Las cargas de Kollman añadidas son de -22.328



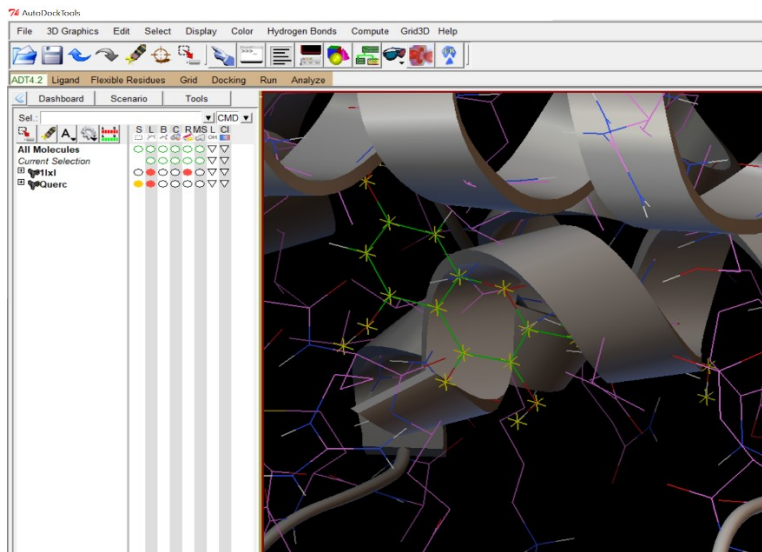
8) De nuevo en File, seleccionamos Save y luego Write PDB, se selecciona Sort Nodes (verificar dirección de guardado). Sobreescribir.

9) Ahora en menú castaño: en ligando se da click a Input y luego Open. Y seleccionamos el ligando (Mol2 o PDBQT).



10) Ya con el ligando en el grid, se selecciona la molécula ("S"). Y vamos a preparar el ligando. En el menú de arriba vamos a Edit, luego añadir H⁺. Se añaden todos los hidrógenos, y se deja la opción de renumerar átomos. Después se añaden cargas de

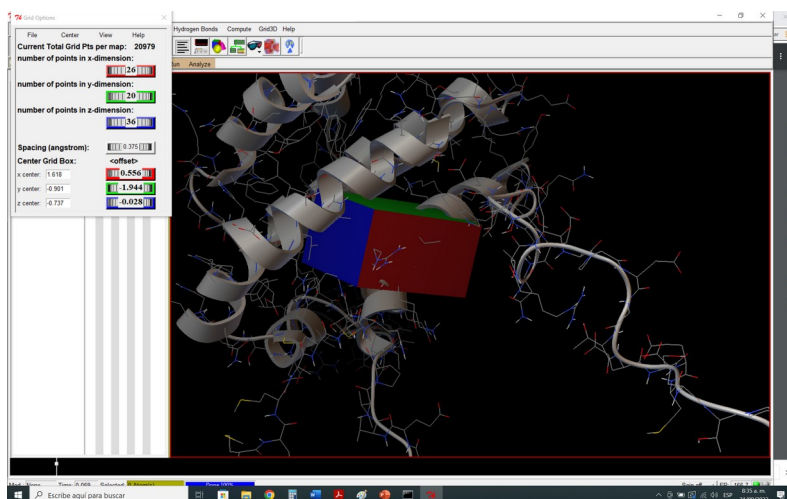
Gesteiger y finalmente se da click a Merge Non polar. Luego en menú castaño de abajo en pestaña de ligando, vamos a Output y se guarda como PDBQT. Se verifica la dirección de guardado.



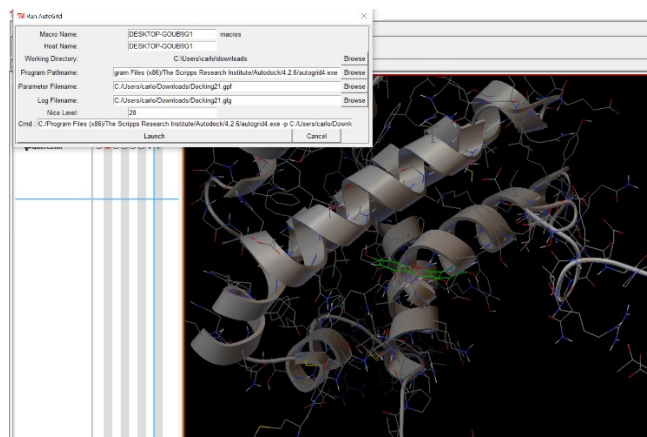
11) Ahora deseccionamos todo y vamos a menú castaño, a la pestaña de Grid. Luego vamos a macromolécula, y damos click en Choose. Se escoge la proteína BCL-XL.

12) Siguiente paso: también en pestaña de Grid vamos a Set Map Types. Y se escoge la opción de “Choose Ligand”. Seleccionamos el ligando.

13) Ahora configuramos la Caja Grid Box. En pestaña de Grid vamos a Grid Box, y se cuadra la caja, el tamaño y la posición. Una vez conseguido el volumen y posición deseada, vamos a File (de Grid Box), damos click a “Close saving current”. Luego vamos a menú castaño, pestaña Grid y vamos a Output, y poner Save/GPF. Asegurar el folder.

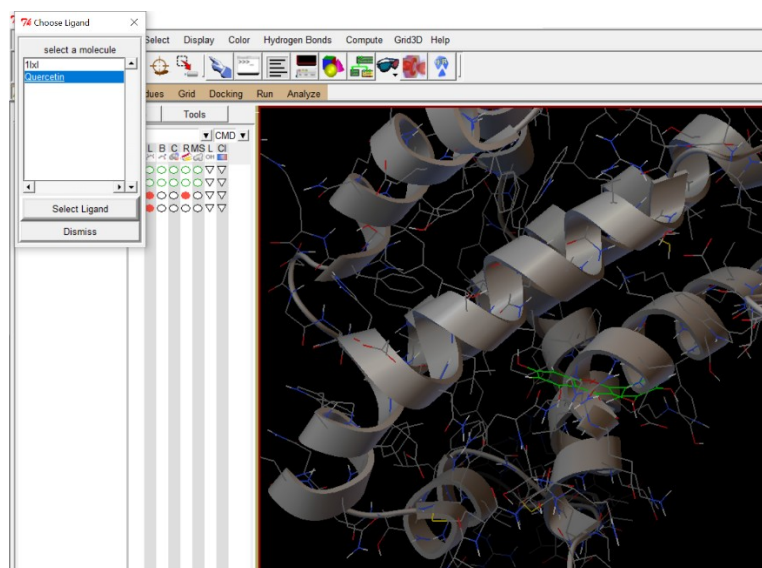


14) Ahora vamos a menú castaño y Run Autogrid. Se verifica la ruta del programa Autogrid4 (Program Pathname) y luego nos aseguramos del Parameter Filename (donde está grabado el .gpf). Nice Level 20. Luego damos click en Launch. Ahora en carpeta de descarga podemos verificar unos archivos de mapas (.map).

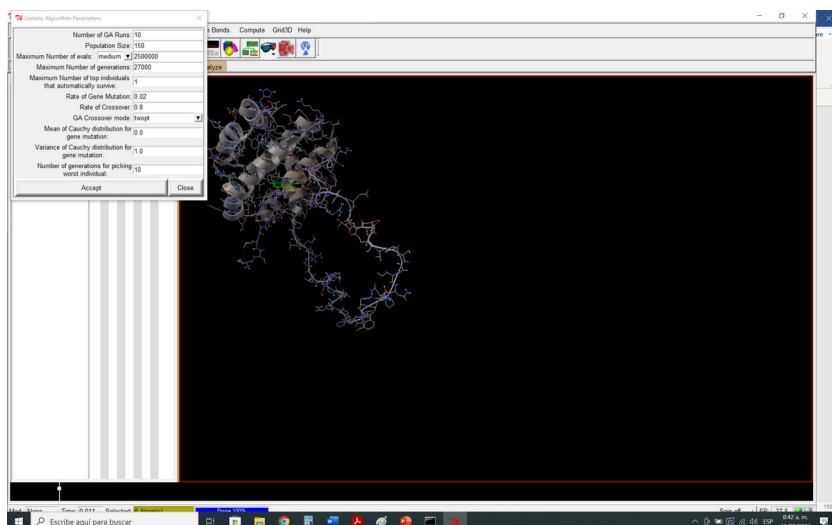


15) Ahora vamos a pestaña de Docking, vamos a Macromoléculas y vamos a “Set Rigid Filename”. La proteína permanecerá rígida, estática. Vamos al PDBQT que se creó de la proteína.

16) Luego vamos a Docking, luego Ligando y damos Click a Choose. Escogemos la molécula. Se deja posición inicial de ligando “random”, y el offset diedro relativo inicial “random”. Damos click en aceptar.

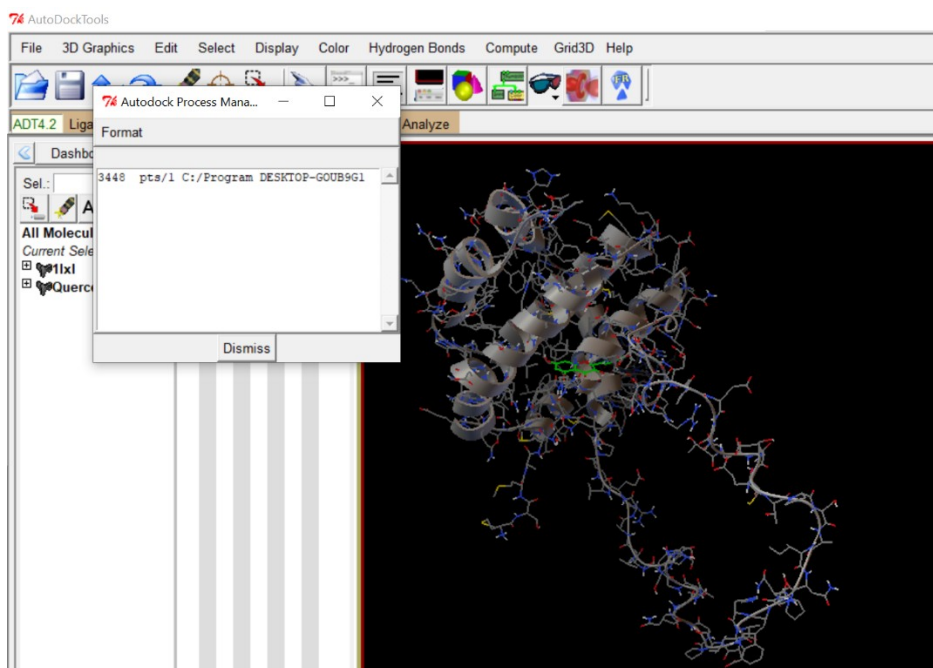


17) Volvemos a pestaña de Docking y luego “search parameters”. Damos click en Algoritmo genético. Hay muchos parámetros. No es necesario ajustar eso. Se a click en aceptar.

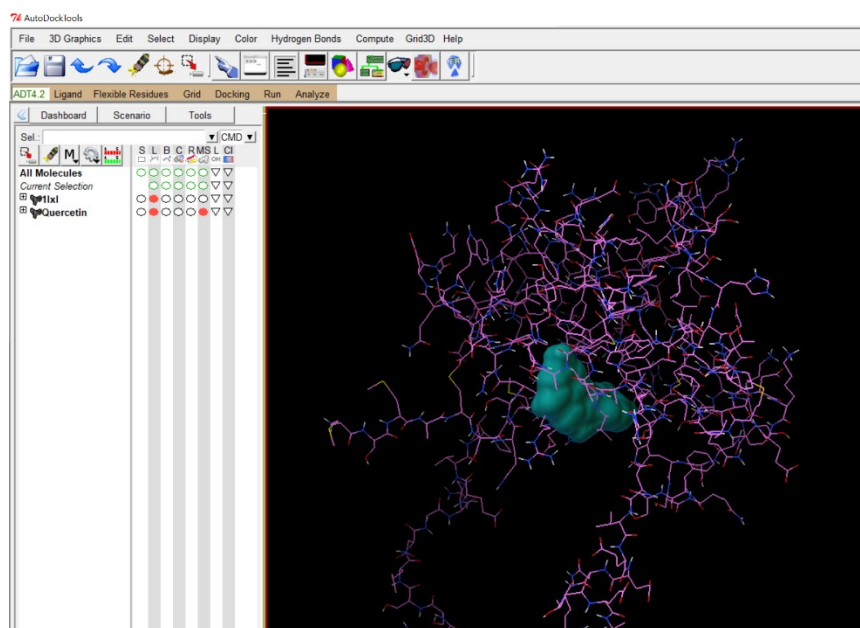


18) Menú castaño, Docking, vamos a Ouput y damos click en Lamarckiano GA. Eso graba en formato dpf.

19) Ahora vamos a Run, Run Autodock, y abre un menú; se cuadra la ruta de Audocok4, y se asegura la ruta del parámetro .dpf. Luego damos click a Launch. Luego se demoran algunos minutos. Ya queda el análisis en formato .dlg. El archivo se puede abrir en bloc de notas, o mejor, se puede analizar en Analyze tools.



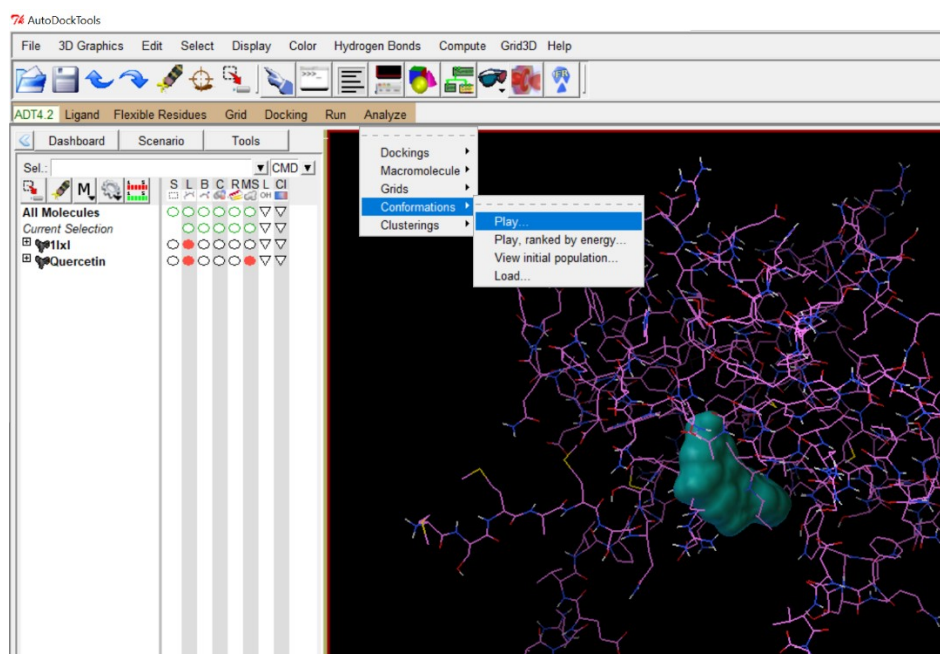
20) Otra forma de ver la molécula (se cambia color y se escoge gráfica de superficie para mostrar el ligando):

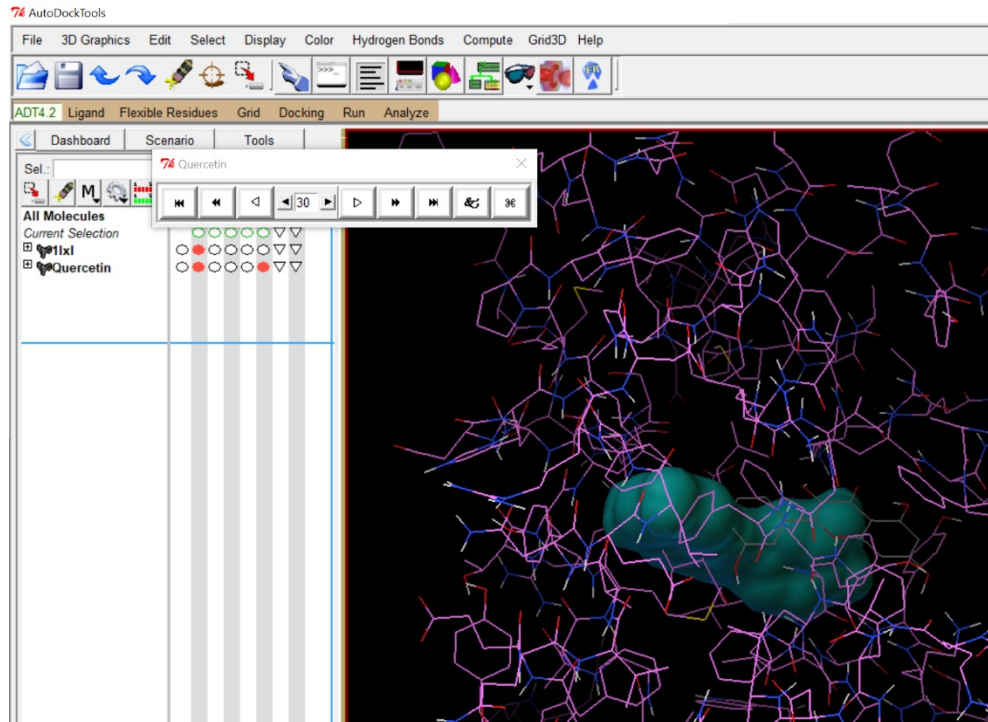


21) Ahora vamos a Analyze y se escoge la macromolécula en Choose.

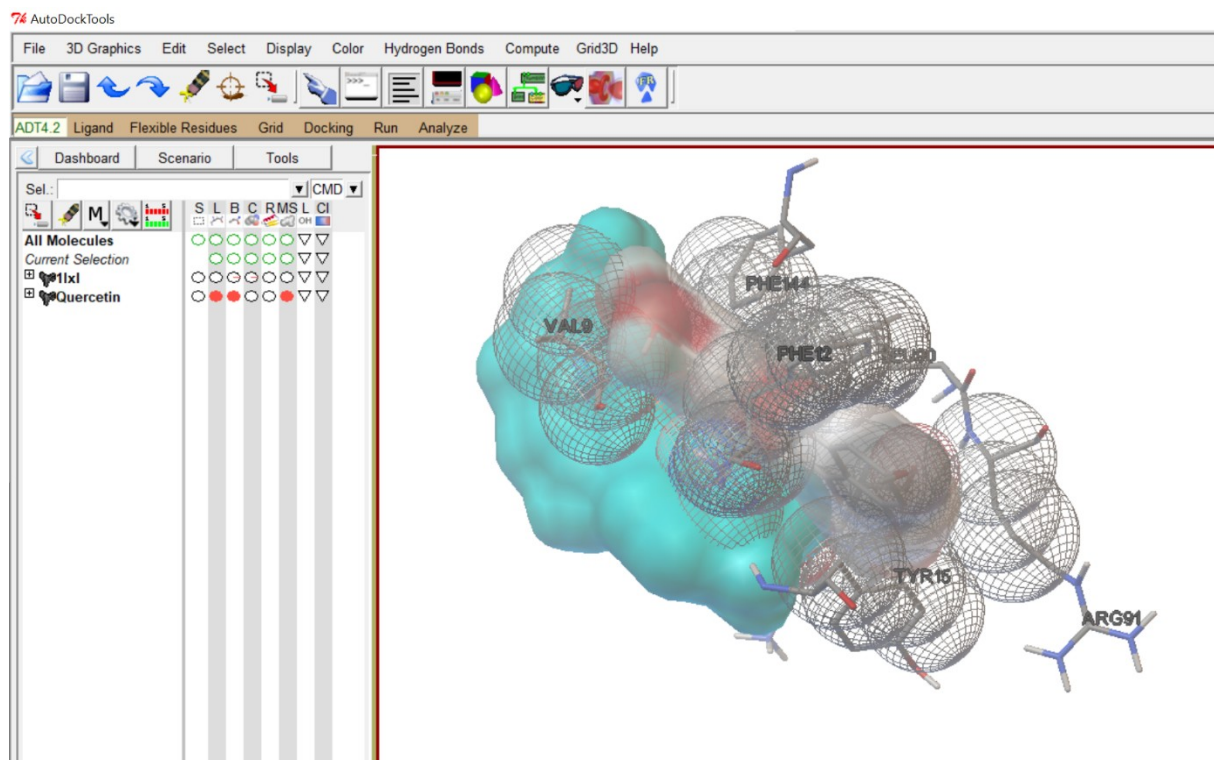
22) Luego en Analyze vamos a Dockings, Open y abrimos el archivo .dlg resultante.

23) Posteriormente en Analyze, vamos a conformation y damos click en Play. Se pueden hacer análisis a nivel atómico.



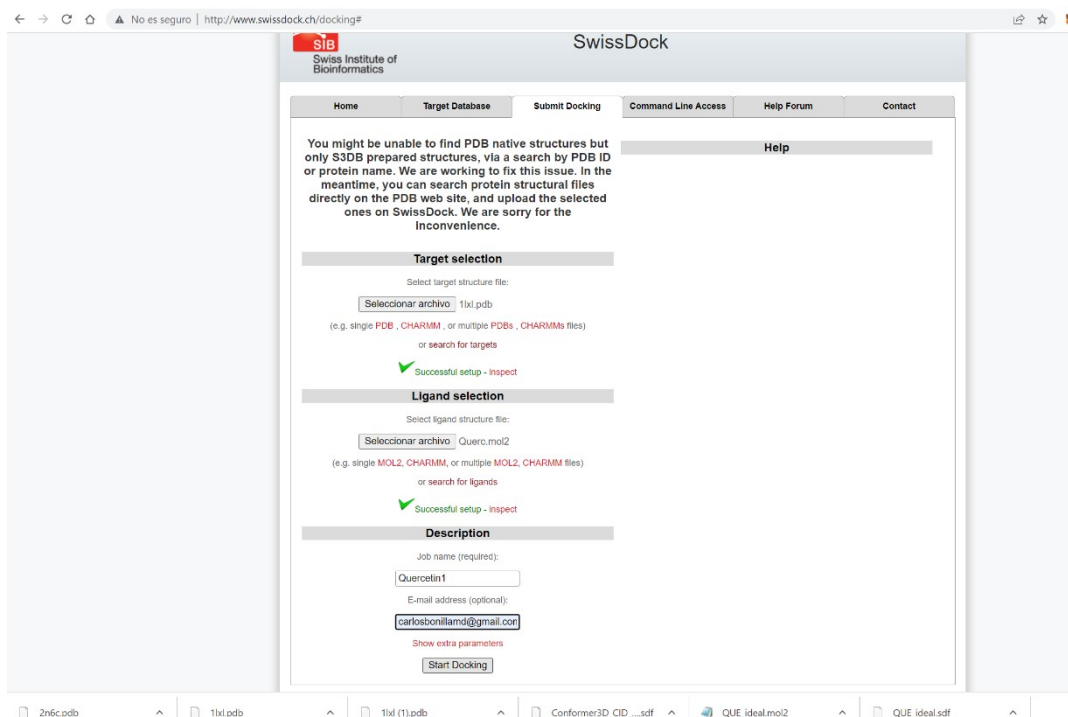


24) Luego en Analyze, show interactions se pueden obtener mejores gráficas.



TRABAJO CON SWISS DOCK:

- 1) Se accede a página www.swissdock.ch/docking#
- 2) Se ingresa en Target selection a la proteína (1lxl) en formato PDB, y en Ligand selection al ligando que en este caso es la molécula Quercetina, renombrada en mi caso como Querc.mol2



The screenshot shows the SwissDock website interface. The browser address bar displays "http://www.swissdock.ch/docking#". The website header includes the SIB logo and the text "Swiss Institute of Bioinformatics". The main navigation bar contains links: Home, Target Database, Submit Docking, Command Line Access, Help Forum, and Contact.

A message states: "You might be unable to find PDB native structures but only S3DB prepared structures, via a search by PDB ID or protein name. We are working to fix this issue. In the meantime, you can search protein structural files directly on the PDB web site, and upload the selected ones on SwissDock. We are sorry for the inconvenience."

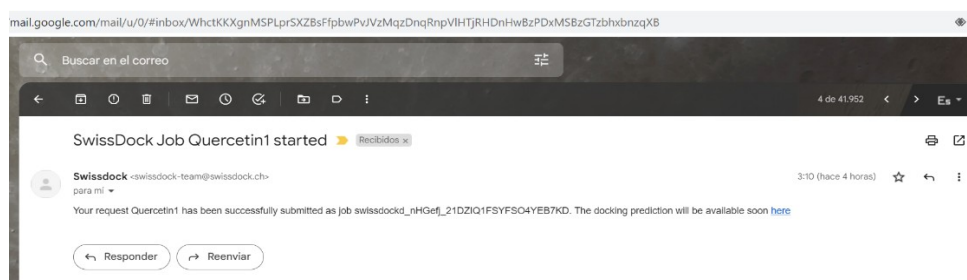
The "Target selection" section is active, showing "Select target structure file:" with a dropdown menu set to "1lx1.pdb". Below this, it says "(e.g. single PDB, CHARMM, or multiple PDBs, CHARMM files) or search for targets". A green checkmark indicates "Successful setup - inspect".

The "Ligand selection" section shows "Select ligand structure file:" with a dropdown menu set to "Querc.mol2". Below this, it says "(e.g. single MOL2, CHARMM, or multiple MOL2, CHARMM files) or search for ligands". A green checkmark indicates "Successful setup - inspect".

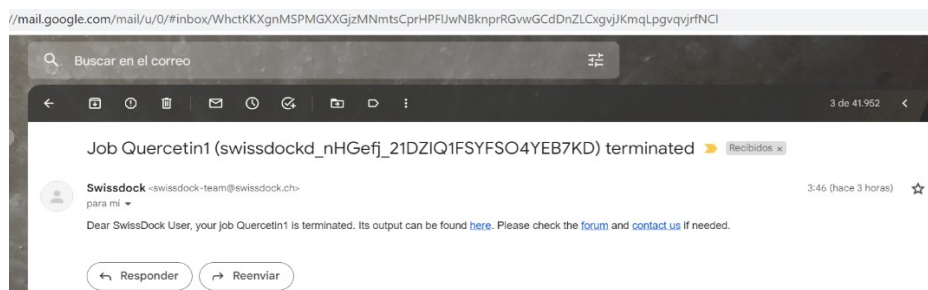
The "Description" section includes a "Job name (required):" field with the value "Quercetin1", an "E-mail address (optional):" field with the value "carlosbonilland@gmail.com", a "Show extra parameters" link, and a "Start Docking" button.

The bottom of the browser window shows a file explorer with the following files: 2n6c.pdb, 1lx1.pdb, 1lx1 (1).pdb, Conformer3D_CID_...sdf, QUE_ideal.mol2, and QUE_ideal.sdf.

- 3) El sistema de Swiss Dock verifica que los datos ingresados sean correctos tanto para el Target como para el Ligando.
- 4) Damos nombre al trabajo, adicionamos correo electrónico y luego click a Start Docking.
- 5) El sistema acepta realizar el Docking, y envía confirmación al correo electrónico.



- 6) En este caso, 36 minutos después, se obtiene nuevo correo informando que ya el trabajo está disponible.



- 7) Esto se lo que retorna (en esta dirección:

http://www.swissdock.ch/docking/view/swissdockd_nHGefj_21DZIQ1FSYFSO4YEB7KD). Predicción de modos de enlace

Predicted binding modes for your request Quercetin1

This page remains accessible one week after the docking completion. - [review parameters](#)

The [SwissDock forum](#) can help you understand the docking outcome.



Show	Cluster	Element	FullFitness (kcal/mol)	Estimated ΔG (kcal/mol)
<input checked="" type="radio"/>	1	1	-1820.05	-7.64
<input type="radio"/>	11	0	-1816.75	-7.62
<input type="radio"/>	11	1	-1816.75	-7.61
<input type="radio"/>	2	5	-1818.07	-7.50
<input type="radio"/>	1	2	-1819.37	-7.43
<input type="radio"/>	1	3	-1819.36	-7.43
<input type="radio"/>	1	4	-1819.23	-7.39
<input type="radio"/>	2	0	-1819.90	-7.32
<input type="radio"/>	1	0	-1820.97	-7.31
<input type="radio"/>	1	5	-1817.69	-7.30
<input type="radio"/>	2	2	-1819.58	-7.30
<input type="radio"/>	4	0	-1819.36	-7.30
<input type="radio"/>	1	6	-1817.68	-7.29
<input type="radio"/>	2	1	-1819.68	-7.29
<input type="radio"/>	2	4	-1819.41	-7.29
<input type="radio"/>	3	3	-1819.41	-7.29
<input type="radio"/>	18	0	-1815.72	-7.29
<input type="radio"/>	3	1	-1819.63	-7.28
<input type="radio"/>	3	2	-1819.59	-7.28
<input type="radio"/>	18	1	-1815.66	-7.28
<input type="radio"/>	2	3	-1819.50	-7.27

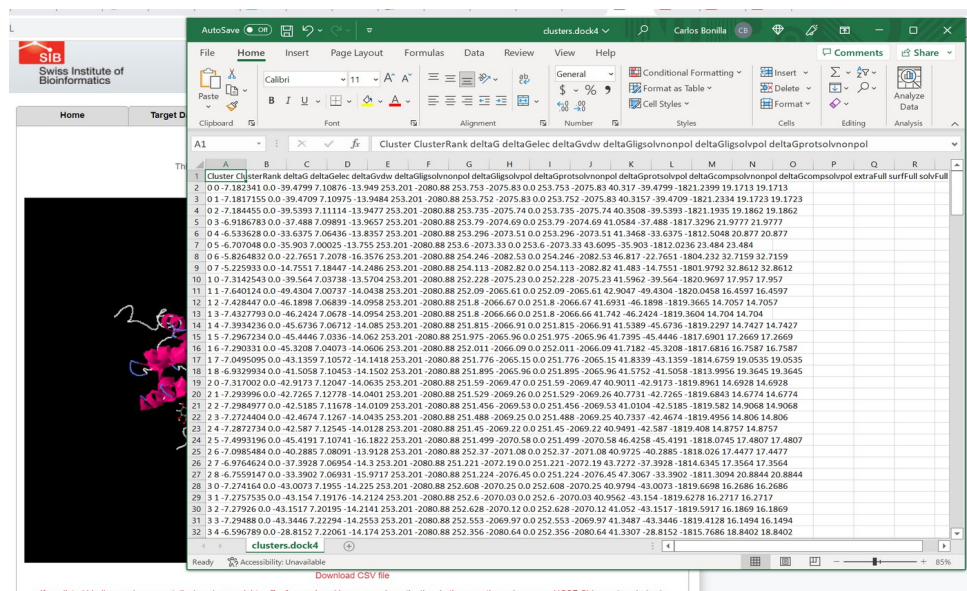
[Download CSV file](#)

If predicted binding modes are not displayed, you might suffer from a Jsmol bug we are investigating. In the meantime, please use UCSF Chimera (see below).

Binding modes are scored using their FullFitness and clustered. Clusters are then ranked according to the average FullFitness of their elements (see Grosdidier et al., Proteins. 2007 Jun 1;67(4):1010-25).

For further inspection, you can either download predictions files, or open UCSF Chimera from your browser:

8) Swiss Dock aporta también un archivo plano .csv con los datos del Docking:



Cluster	Element	FullFitness	Estimated ΔG
1	1	-1820.05	-7.64
11	0	-1816.75	-7.62
11	1	-1816.75	-7.61
2	5	-1818.07	-7.50
1	2	-1819.37	-7.43
1	3	-1819.36	-7.43
1	4	-1819.23	-7.39
2	0	-1819.90	-7.32
1	0	-1820.97	-7.31
1	5	-1817.69	-7.30
2	2	-1819.58	-7.30
4	0	-1819.36	-7.30
1	6	-1817.68	-7.29
2	1	-1819.68	-7.29
2	4	-1819.41	-7.29
3	3	-1819.41	-7.29
18	0	-1815.72	-7.29
3	1	-1819.63	-7.28
3	2	-1819.59	-7.28
18	1	-1815.66	-7.28
2	3	-1819.50	-7.27

Bibliografía.

1) Lee EF, Fairlie WD. The Structural Biology of BCL-XL. Int J Mol Sci 2019; 20: 2234, doi: 10.3390/ijms20092234

- 2) Anan David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn Rev* 2016; 10(20): 84 - 89.
- 3) Hanahan, D., and Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* 2001; 100: 57–70.
- 4) Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* . 2011 Mar 4;144(5):646-74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- 5) Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery* 2022; 12: 31 - 46.