

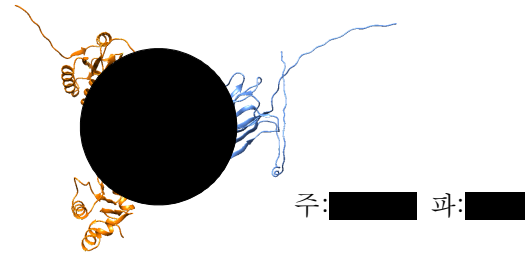
Binding affinity calculation for “ — ”
using MM/PBSA(Molecular Mechanics/Poisson Boltzman Surface Area) method
[model_1]

오예슬

<Input data: — >

o (Gene:)

o (Gene:)



<Calculation procedure by Amber>

1. Prepare

o 와 모두 missing residue와 modified residue가 없으므로 missing residue를 복원하기 위한 homology modeling과 modified residue를 standard residue로 바꾸는 과정 없이 LEaP 사용을 위한 PDB파일을 준비

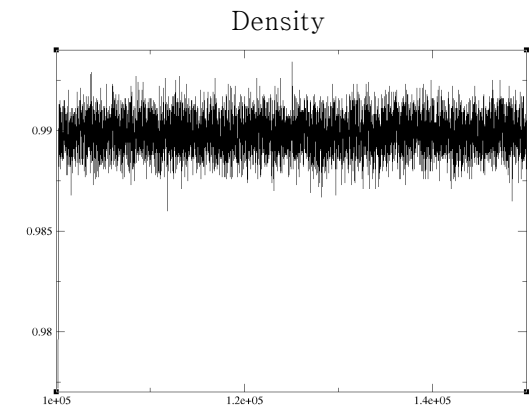
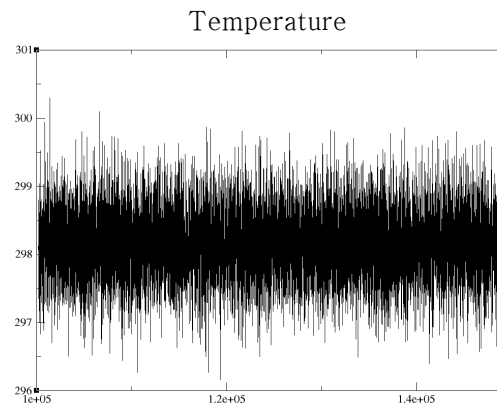
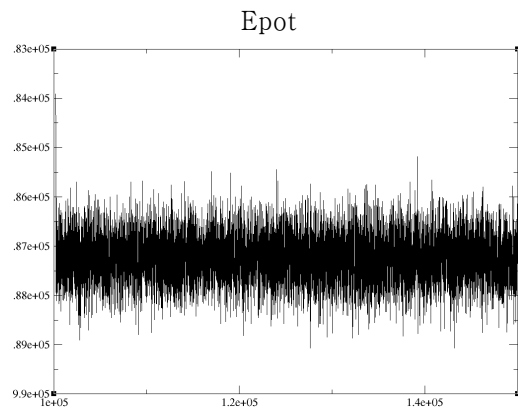
2. LEaP (Link, Edit and Parm)

o Protein force field: ff14SB 사용 (::ff14SB: Protein force field로 사용 권장)

o LEaP 실행결과 close contact warning 외 error 발생이 없었고 해당 warning은 다음 minimization step에서 해결

3. Minimization, Heat, Density

o Minimization time: 100 ps / Heat time: 100 ps / Density time: 100 ps

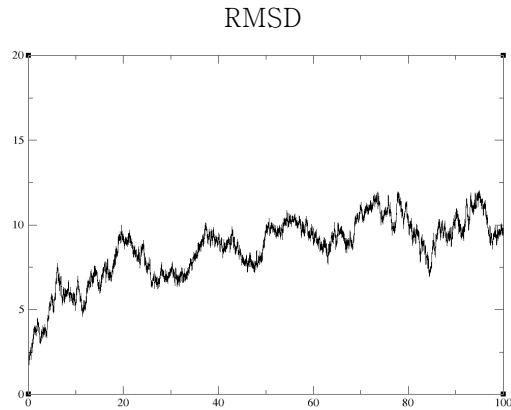


o 모두 수평을 유지하며 안정적

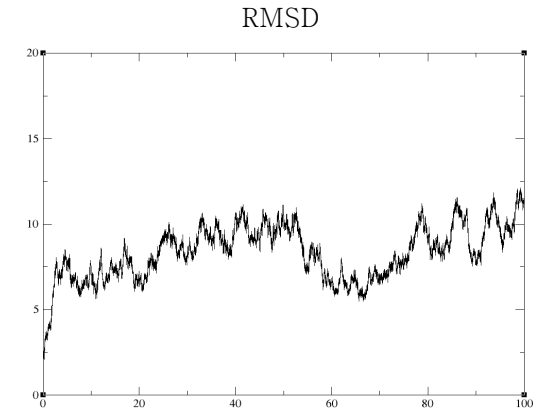
4. Equilibration

o Equilibration time: 100 ns (::modeling protein이기 때문에 equilibration time을 길게 함)

o RMSD reference structure: first frame (∵ first frame은 equilibration step 까지 마친 후 trajectory의 첫 번째 frame이기 때문에 conformation이 안정적인지 확인하기 위해 reference structure로 사용)



불안정 (∵ 증가하는 추세)

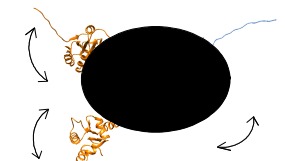


불안정 (∵ 증가하는 추세)

o VMD로 protein들의 moving 확인결과 문제가 없어 보임

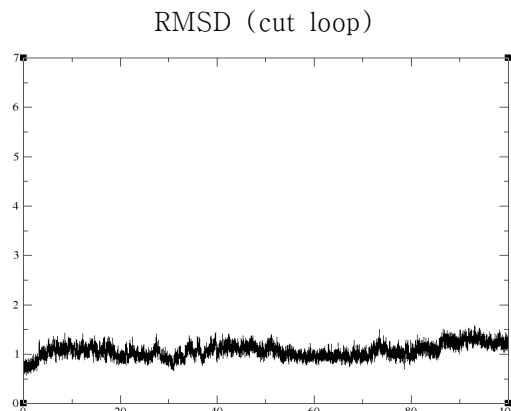
o RMSD가 불안정한 원인 예측

- > [redacted] 중앙부 structure의 양쪽 loop로 인해 protein이 접혔다 펴졌다하는 moving이 발생
- > [redacted] 말단의 loop가 풀려거리는 moving을 보임

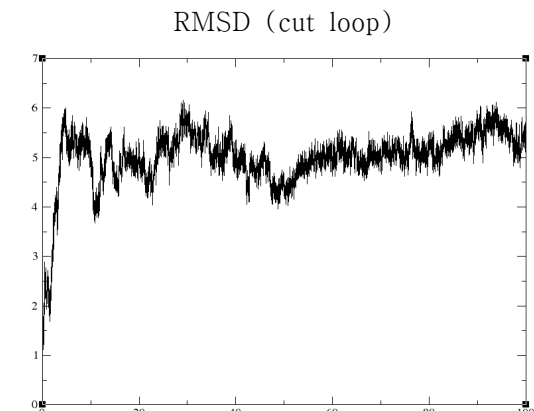


o 해결: loop의 moving이 RMSD에 영향을 미칠 것이라 판단하여 loop를 제외하고 두 protein이 contact 하는 부분의 residues를 지정하여 RMSD 계산

- > [redacted] residue number: 1-335 → [133~233], [redacted] residue number: 336-531 → [361~509]



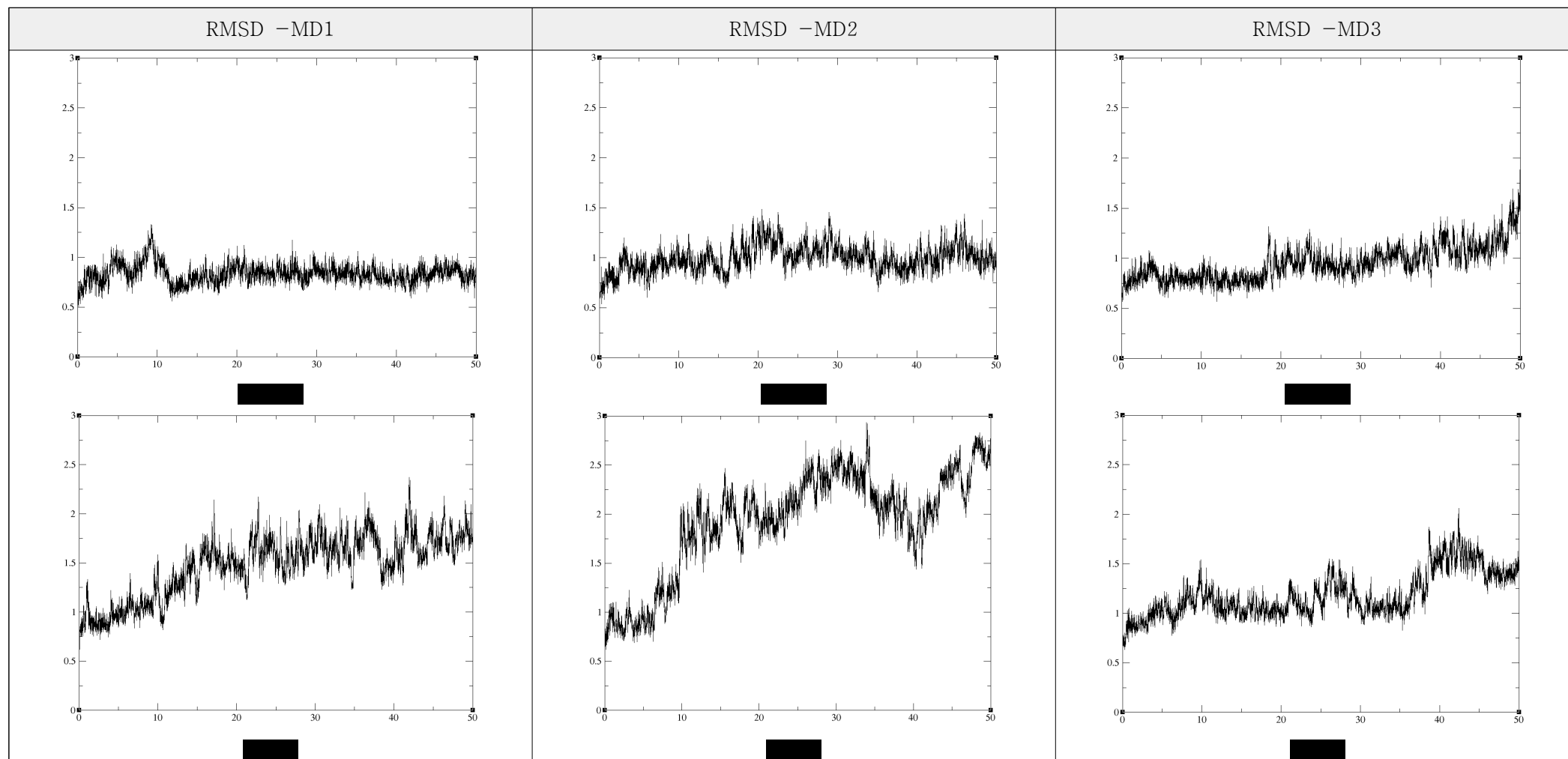
안정 (∵ 1 Å 내외)



안정 (∵ 초반부를 지나고부터 2 Å 내에서 수평적인 추세 유지)

4. Production MD

- o 3회 simulation하여 3개의 trajectory 생성 (::ig=-1 설정 시 simulation마다 다른 trajectory를 얻을 수 있음)
- o MD time: 50 ns, frame 간격: 10 ps, total 5000 frames
- o RMSD reference structure: first frame
- o Equilibration 후 RMSD를 구했던 방식과 동일하게 loop를 제외하고 두 protein이 contact 하는 부분의 residues를 지정하여 계산
 > [] residue number: 1-335 → [133~233], [] residue number: 336-531 → [361~509]



- o []: 안정적
- o []: Conformation change가 약간 관찰되나 2 Å 내외 (Protein의 경우 2~3 Å 이면 안정), RMSD가 증가하는 추세라 moving확인 결과 두 protein간의 간격이 벌어지지 않는 것을 확인

5. MM/PB(GB)SA (PB, Poissonzmann Boltzmann →[approximation] GB, Generalized Born)

o general frame 간격: 10 ps, total 5000 frames

o nmode end frame: 5000번째 frame

o nmode의 end frame은 모두 동일하게 설정하고 frame의 간격을 점점 작아지게 즉, frame수를 점점 증가시켜 반복 계산하여 MM/PB(GB)SA 값의 수렴 관찰

	nmode # of frames : 10			nmode # of frames : 20			nmode # of frames : 40			nmode # of frames : 50		
	MM/GBSA		MM/PBSA	MM/GBSA		MM/PBSA	MM/GBSA		MM/PBSA	MM/GBSA		MM/PBSA
	igb=5	igb=8	inp=1	igb=5	igb=8	inp=1	igb=5	igb=8	inp=1	igb=5	igb=8	inp=1
MD1	-11.6956 ±8.5408	-7.1841 ±11.4349	-20.6846 ±12.1629	-13.2077 ±9.6008	-10.5684 ±10.8085	-24.0690 ±11.5759	-15.1695 ±11.5374	-11.0914 ±12.7780	-24.5919 ±13.4334	-13.3867 ±12.1303	-11.4817 ±11.0018	-24.9823 ±11.7566
MD2	-16.1045 ±10.3257	-17.1326 ±10.2915	-32.0421 ±11.0997	-17.9275 ±9.6336	-15.6377 ±9.3351	-30.5472 ±10.2193	-18.4479 ±13.3761	-16.3377 ±10.9520	-31.2472 ±11.7147	-16.2043 ±13.1096	-16.6398 ±25.0591	-31.5494 ±25.4017
MD3	-12.2976 ±11.6356	-6.7669 ±9.7788	-21.2543 ±10.4258	-12.5649 ±11.4801	-7.5104 ±9.3502	-21.9948 ±10.0248	-12.0164 ±11.7042	-7.1195 ±9.9169	-21.6039 ±10.5554	-10.9960 ±11.5392	-7.3858 ±10.1040	-21.8702 ±10.7314
Avg	-13.3659 ±2.3907	-15.1903 ±7.2334	-24.6603 ±6.3991	-14.5667 ±2.9282	-11.3189 ±4.0877	-25.5370 ±4.4612	-15.2113 ±3.2160	-11.5162 ±4.6238	-25.8143 ±4.9366	-13.5290 ±2.6071	-11.8358 ±4.6371	-26.1340 ±4.9413

<Result>

o nmode frame 수(10, 20, 40, 50)에 따른 convergence 확인

- > MM/GBSA (igb=5): -13.3659±2.3907 → -14.5667±2.9282 → -15.2113±3.2160 → -13.5290±2.6071 :비슷한 값 유지
- > MM/GBSA (igb=8): -15.1903±7.2334 → -11.3189±4.0877 → -11.5162±4.6238 → -11.8358±4.6371 :비슷한 값 유지
- > MM/PBSA (inp=1): -24.6603±6.3991 → -25.5370±4.4612 → -25.8143±4.9366 → -26.1340±4.9413 :비슷한 값 유지