

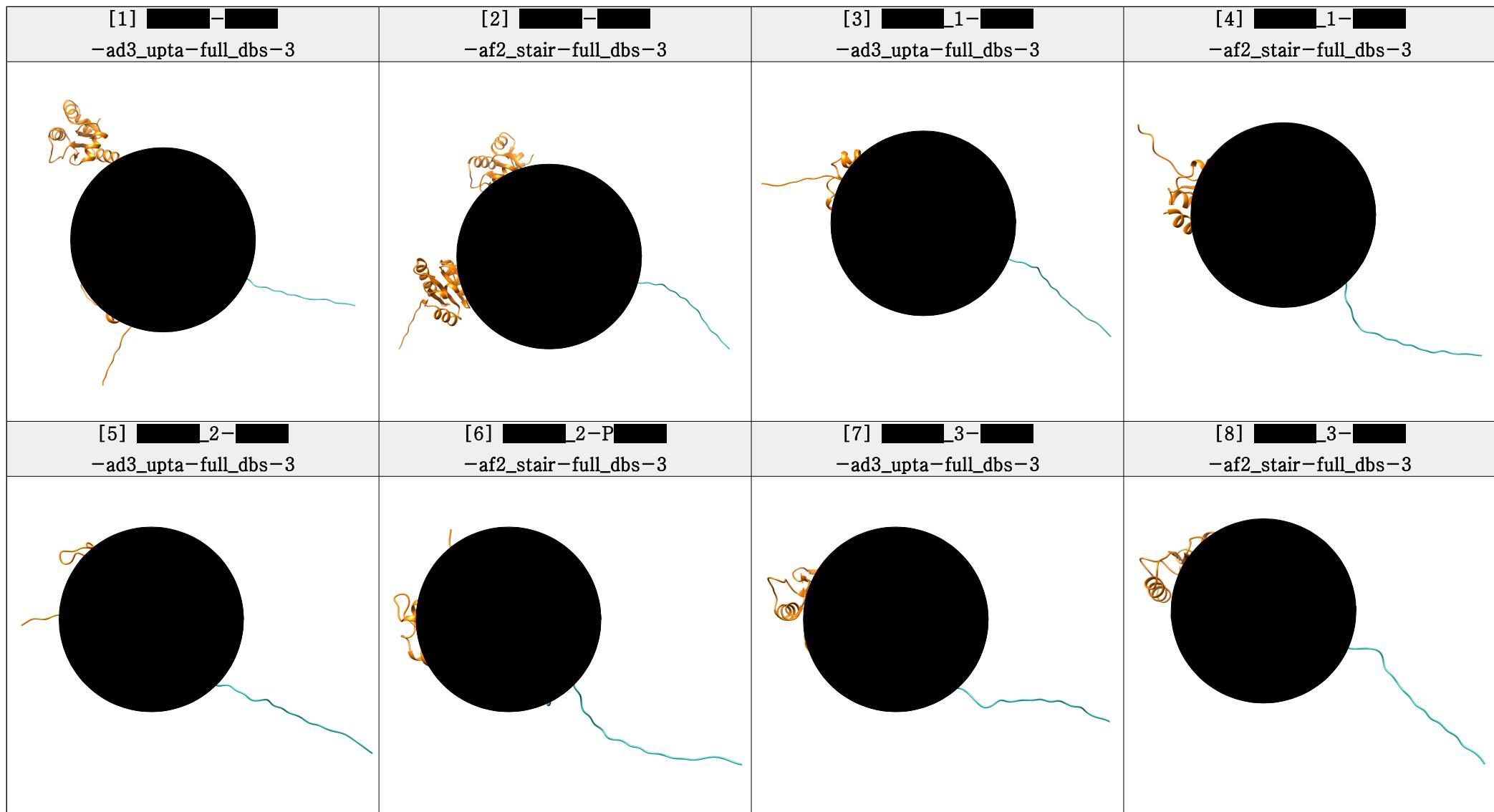
Binding affinity calculation for "████████"
using MM/PBSA(Molecular Mechanics/Poisson Boltzman Surface Area) method

오 예술

<Input data: ██████████>

o ██████████ (Gene: █████) & ██████████ ██████████ (Gene: █████)

주: █████ 파: █████



<Calculation procedure by Amber>

1. Prepare

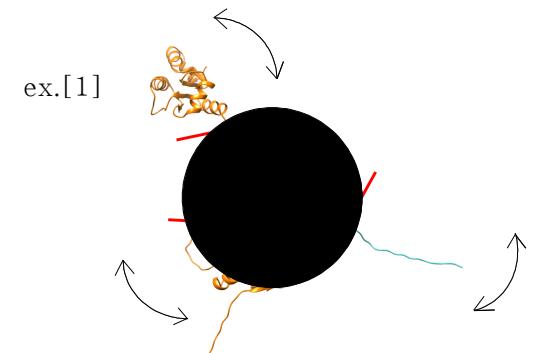
- o [REDACTED]와 [REDACTED] 모두 missing residue와 modified residue가 없으므로 별도의 작업 없이 pdb4amber로 LEaP 사용을 위한 PDB파일을 준비

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 close contact warning은 다음 minimization step에서 해결

3. Minimization, Heat, Density

- o Minimization time: 100 ps / Heat time: 100 ps / Density time: 100 ps
- o 결과: Epot, Temperature, density 모두 안정

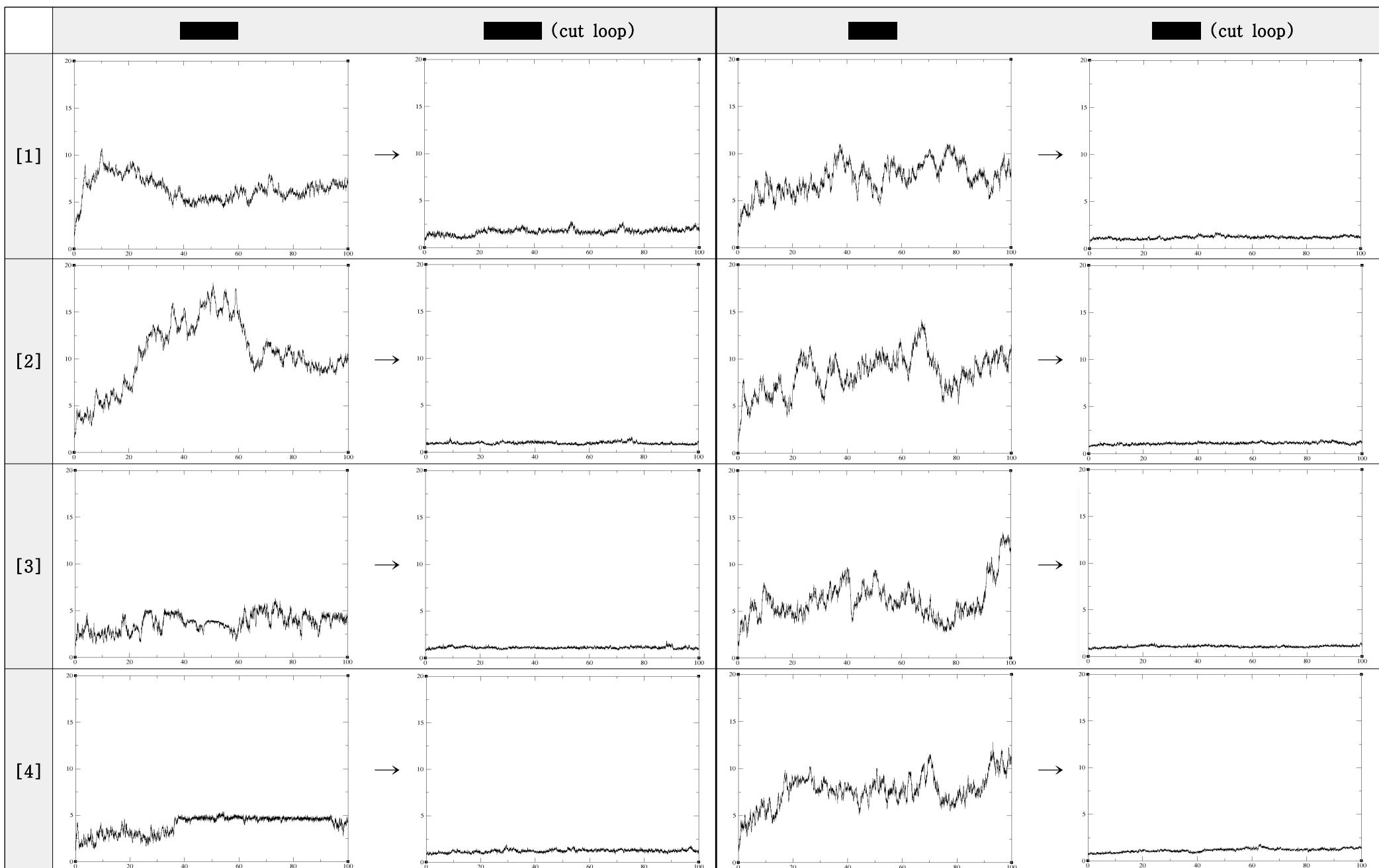


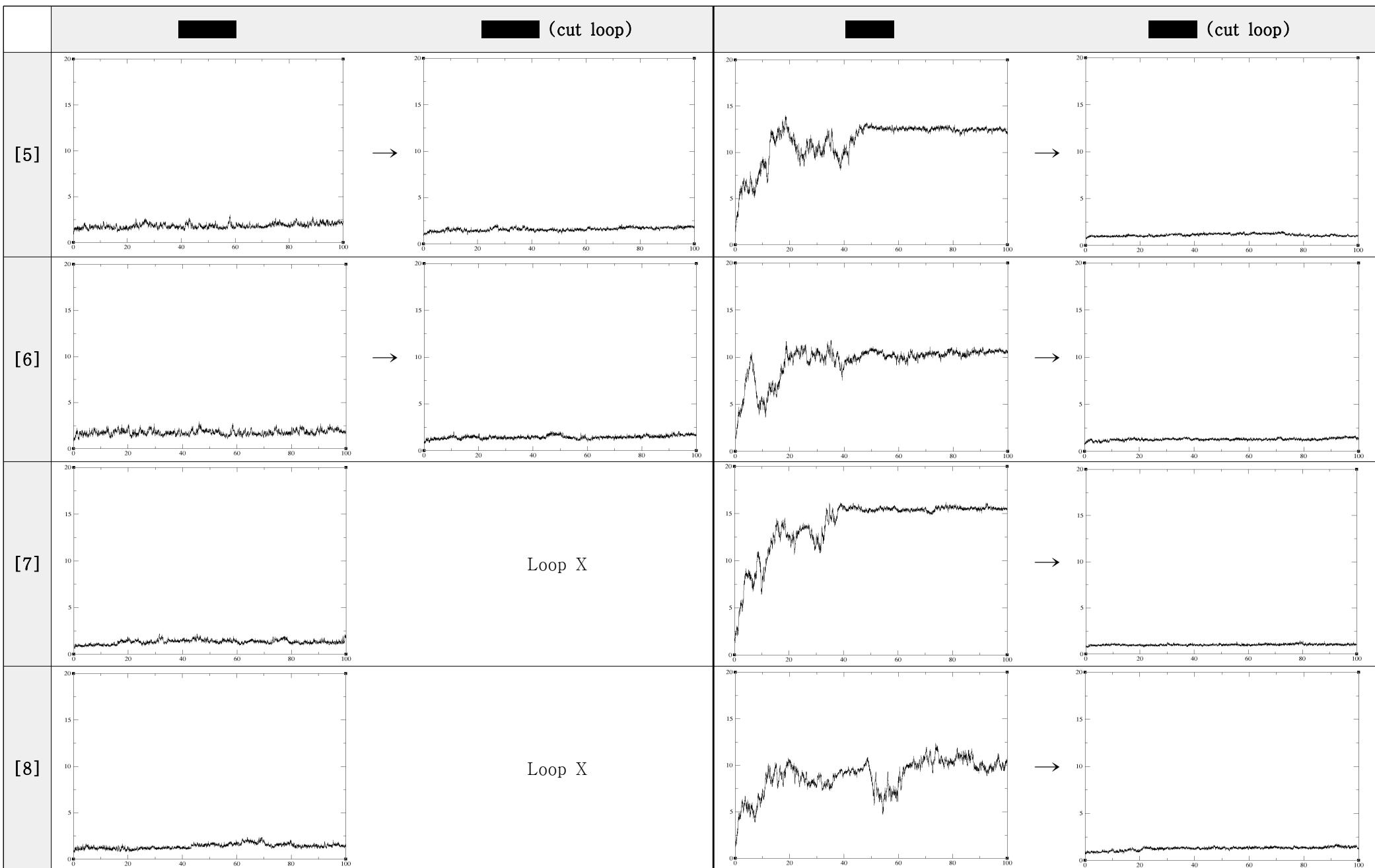
4. Equilibration

- o Equilibration time: 100 ns (:modeling protein)
- o RMSD reference structure: first frame
- o [REDACTED] [1], [2], [3]과 [REDACTED] [1]~[8]의 RMSD가 불안정하여 VMD로 moving 확인결과 문제가 없어 보임
- o Loop의 moving의 RMSD에 미치는 영향을 고려하여 loop를 제외하고 두 protein의 contact 하는 부분의 residues를 지정하여 RMSD 계산

	[REDACTED]	[REDACTED] (cut loop)	[REDACTED]	[REDACTED] (cut loop)		
[1]	residue #: 1-334	→	residue #: 122-228	residue #: 335-490	→	residue #: 335-436
[2]	residue #: 1-334	→	residue #: 130-230	residue #: 335-490	→	residue #: 335-436
[3]	residue #: 1-116	→	residue #: 13-116	residue #: 117-272	→	residue #: 117-249
[4]	residue #: 1-116	→	residue #: 13-116	residue #: 117-272	→	residue #: 117-249
[5]	residue #: 1-93	→	residue #: 1-86	residue #: 94-249	→	residue #: 94-226
[6]	residue #: 1-93	→	residue #: 1-86	residue #: 94-249	→	residue #: 94-226
[7]	residue #: 1-99	→	residue #: loop X	residue #: 100-255	→	residue #: 100-233
[8]	residue #: 1-99	→	residue #: loop X	residue #: 100-255	→	residue #: 100-233

Equilibration RMSD





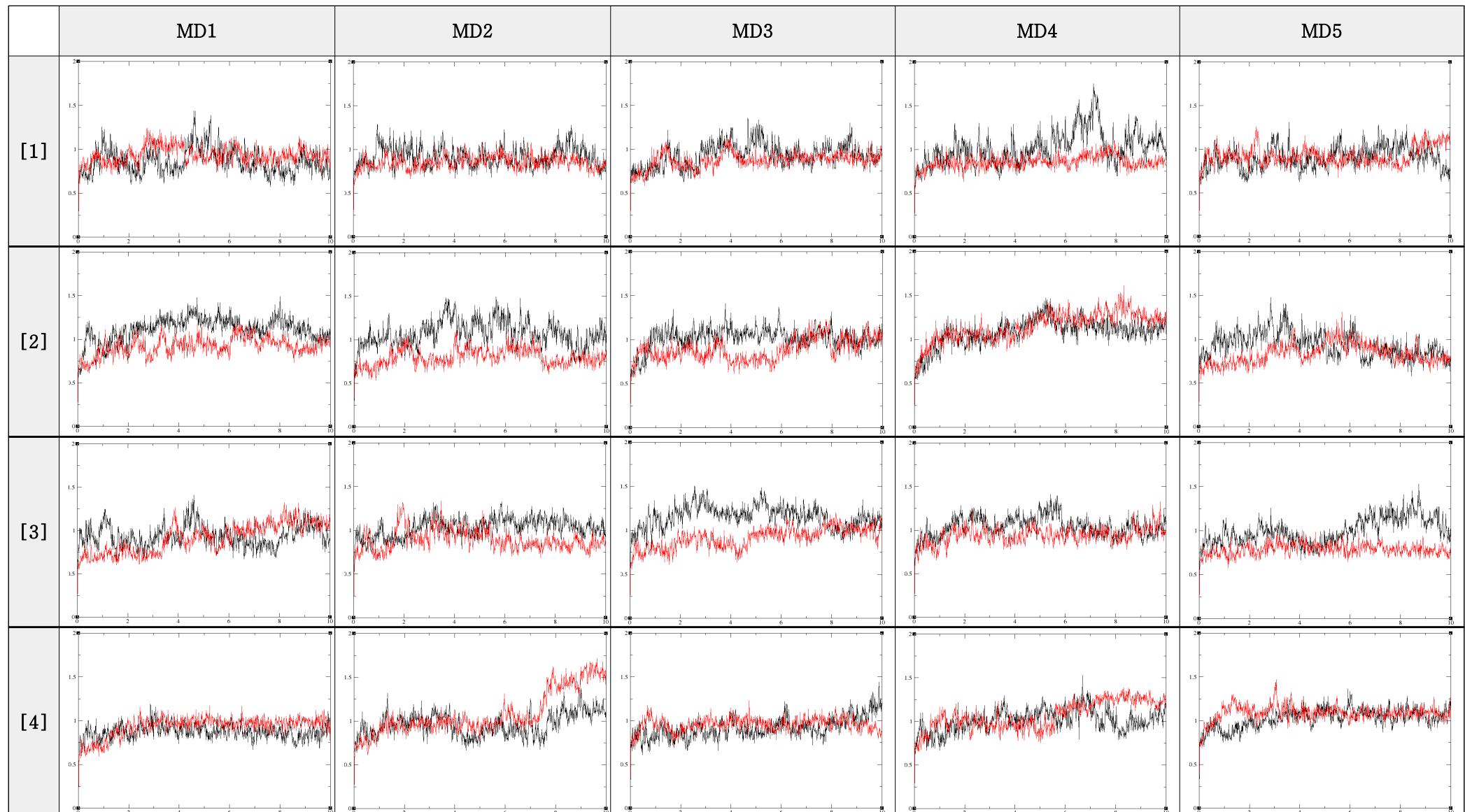
o Loop를 제외한 후 RMSD 매우 안정

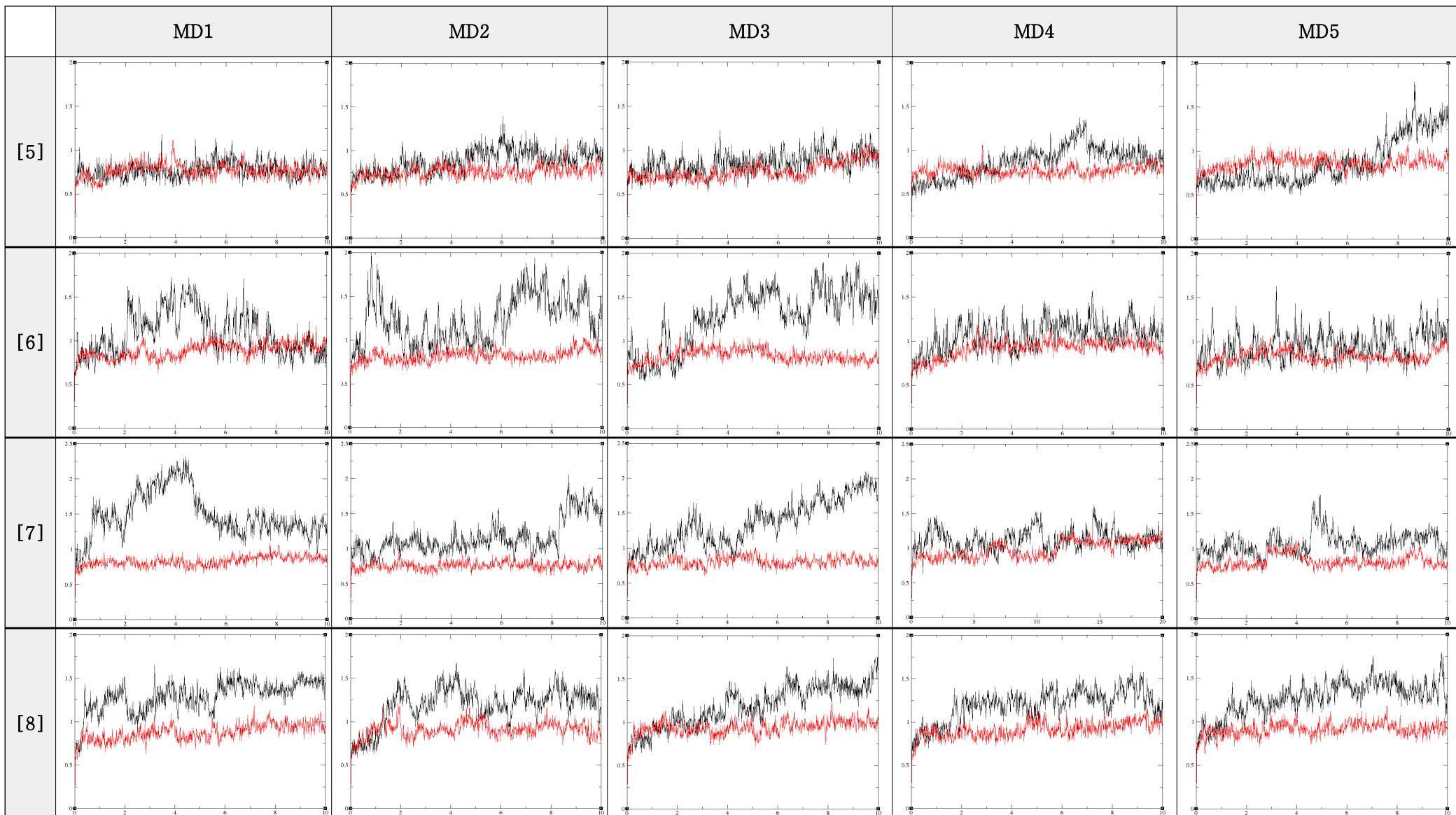
4. Production MD

- o 5회 simulation하여 5개의 trajectory 생성 (: [REDACTED]_model_1에서 3회 simulation한 각각의 MM/PB(GB)SA값이 꽤 차이를 보이므로 횟수를 늘려 평균 계산)
- o MD time: 10 ns (: [REDACTED]_model_1에서 10 ns와 50 ns simulation 하여 비교한 결과 10 ns simulation의 MM/PB(GB)SA값도 의미 있다고 보임)
- o frame 간격: 10 ps, total 1000 frames / RMSD reference structure: first frame/ loop를 제외하고 두 protein이 contact 하는 부분의 residues를 지정하여 계산

Production MD RMSD (cut loop)

검: [REDACTED] 빨: [REDACTED]





- o [4]번의 MD2에서 [REDACTED]의 RMSD가 조금 불안정해 보이거나 1 Å 내외 (Protein의 경우 2~3 Å 이면 안정)
- o [5]번의 MD5, [6]번의 MD2, MD3, [7]번의 MD3 [8]번의 MD3에서 [REDACTED]의 RMSD가 조금 불안정해 보이거나 2 Å 내외 (Protein의 경우 2~3 Å 이면 안정)

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

- General frame 간격: 10 ps, total 1000 frames
- GB igb=8, PB inp=1 (\because 현재까지 igb=8이 ff14SB force field에서 가장 잘 맞아 보인다고 함, PPI는 binding pocket이 없어 cavity가 없기 때문에 inp=1 사용)
- nmode frame 개수: 10 frames (\because ■■■-■■■_model_1에서 nmode frame 수를 증가시켜 여러 번 계산한 결과 frame 수 10개로도 비슷한 값을 가짐)

주: ■■■ 파: ■■■

[1] ■■■-■■■ -ad3_upta-full_dbs-3		[2] ■■■-■■■ -af2_stair-full_dbs-3		[3] ■■■_1-■■■ -ad3_upta-full_dbs-3		[4] ■■■_1-■■■ -af2_stair-full_dbs-3	
MM/GBSA	MM/PBSA	MM/GBSA	MM/PBSA	MM/GBSA	MM/PBSA	MM/GBSA	MM/PBSA
MD1 7.7594 ± 22.2217	-0.0947 ± 22.6479	7.5624 ± 9.3549	1.1117 ± 9.8125	6.3772 ± 9.3348	1.5921 ± 9.7490	-1.5668 ± 5.5627	-8.3288 ± 6.3179
MD2 8.8518 ± 7.5901	-0.1567 ± 8.3934	12.8456 ± 6.9719	3.9154 ± 7.2238	6.0149 ± 8.1723	-0.2192 ± 8.0205	0.3048 ± 5.9209	-7.0307 ± 6.4521
MD3 7.5668 ± 9.8327	-0.7129 ± 10.2029	4.8883 ± 11.2005	-2.0055 ± 11.4152	22.5347 ± 4.5548	14.4166 ± 4.9850	-2.9979 ± 6.5649	-7.7496 ± 6.9087
MD4 5.3326 ± 9.6159	-3.8421 ± 10.1846	9.4348 ± 5.6247	0.2584 ± 5.8937	8.8277 ± 6.3251	1.5170 ± 6.5170	0.8657 ± 6.4929	-5.1217 ± 7.0934
MD5 6.5774 ± 10.2491	-1.7265 ± 11.1556	14.6675 ± 11.2175	6.0340 ± 11.3682	9.3262 ± 8.9106	1.6671 ± 9.2469	0.4198 ± 6.1756	-7.2008 ± 7.2820
Avg 7.2176 ± 1.3275	-1.3066 ± 1.5611	9.8797 ± 3.9434	1.8628 ± 3.1510	10.61614 ± 6.8201	3.7947 ± 5.9896	-0.5949 ± 1.6349	-7.0863 ± 1.2103

[5] [REDACTED]_2-[REDACTED] -ad3_upta-full_db3-3		[6] [REDACTED]_2-[REDACTED] -af2_stair-full_db3-3		[7] [REDACTED]_3-[REDACTED] -ad3_upta-full_db3-3		[8] [REDACTED]_3-[REDACTED] -af2_stair-full_db3-3		
MM/GBSA	MM/PBSA	MM/GBSA	MM/PBSA	MM/GBSA	MM/PBSA	MM/GBSA	MM/PBSA	
MD1	-2.3146 ±6.3828	-5.6556 ±8.0167	-21.7756 ±6.6045	-33.1421 ±8.2376	5.3054 ±7.0611	1.9570 ±7.2443	2.3013 ±9.0740	-0.5729 ±9.5513
MD2	-0.5964 ±6.7812	-3.5820 ±8.3782	-16.7614 ±7.0345	-29.3063 ±7.7127	8.9342 ±8.4466	4.7624 ±8.4386	6.2654 ±6.9948	3.0892 ±7.3086
MD3	-5.4258 ±5.3196	-9.9146 ±6.9103	-19.0313 ±7.1655	-32.2555 ±7.2985	7.3293 ±8.0294	4.1436 ±8.1653	4.4889 ±9.6290	-0.8896 ±10.1273
MD4	-0.3725 ±8.2281	-3.0329 ±9.5964	-10.1654 ±7.4369	-21.7297 ±8.4046	5.6768 ±7.4794	2.7368 ±7.5995	1.1157 ±5.9751	-4.8702 ±6.3419
MD5	-0.0695 ±6.7661	-2.5433 ±7.9492	-19.2961 ±9.9622	-32.6709 ±8.6797	6.4468 ±4.6633	3.6744 ±4.7043	4.8592 ±7.9852	1.9597 ±9.0102
Avg	-1.7558 ±2.2295	-4.9457 ±3.0201	-17.4060 ±4.4201	-29.8209 ±4.7647	6.7385 ±1.4523	3.4548 ±1.1171	3.8061 ±2.0692	-0.2568 ±3.0778

Rank	[6]	[4]	[5]	[8]	[1]	[7]	[2]	[3]
MM/GBSA	-17.41 ± 4.42	-0.59 ± 1.63	-1.76 ± 2.23	3.81 ± 2.07	7.22 ± 1.33	6.74 ± 1.45	9.88 ± 3.9	10.62 ± 6.82
Rank	[6]	[4]	[5]	[1]	[8]	[2]	[7]	[3]
MM/PBSA	-29.82 ± 4.76	-7.09 ± 1.21	-4.95 ± 3.02	-1.31 ± 1.56	-0.26 ± 3.08	1.86 ± 3.15	3.45 ± 1.12	3.79 ± 5.99

○ 모든 시뮬레이션에서 PB의 binding affinity가 GB 보다 낮은(좋은) 값을 가짐.

○ GB가 PB의 binding affinity rank 순서를 반영한다면 시스템간의 상대적인 binding affinity 비교 목적으로 계산이 더 빠른 GB로 PB를 대체할 수 있겠지만, PB의 rank 순서를 정확히 따르지 않으므로(참고: 시스템 [1]과 [8], [2]와 [7]) 정확한 계산을 위해서는 PB 계산이 필요해 보임.