



**Wydział Matematyki
i Nauk Informatycznych**

POLITECHNIKA WARSZAWSKA

Bioinformatyka

Projekt 3

Modelowanie i dokowanie

Michał Rdzany

Spis treści

Wprowadzenie	3
Opis zadania	3
Opis wykorzystanego białka	3
Opis wykonanych zadań	3
Model homologiczny	3
Dokowanie innych cząsteczek	4

Oświadczam, że niniejsza praca stanowiąca podstawę do uznania osiągnięcia efektów uczenia się z przedmiotu *Bioinformatyka* została wykonana przeze mnie samodzielnie.

Michał Rdzany

286396

Wprowadzenie

Opis zadania

Głównym zadaniem w projekcie jest zbudowanie modelu homologicznego podwójnego mutantu receptora adenozynowego A2A, zadokowanie w nim cząsteczki kofeiny i próba znalezienia innych cząsteczek o potencjalnie niższej energii wiązania.

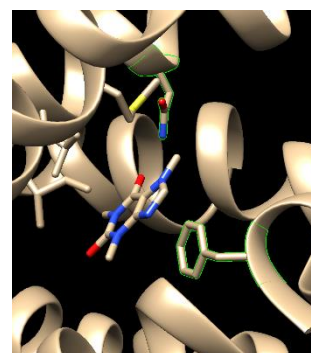
Opis wykorzystanego białka

Receptor adenozynowy A2A jest białkiem transmembranowym. Dostępne struktury dla tego białka są niekompletne i zawierają tylko pozycje w zakresie 1-318.

Opis wykonanych zadań

Model homologiczny

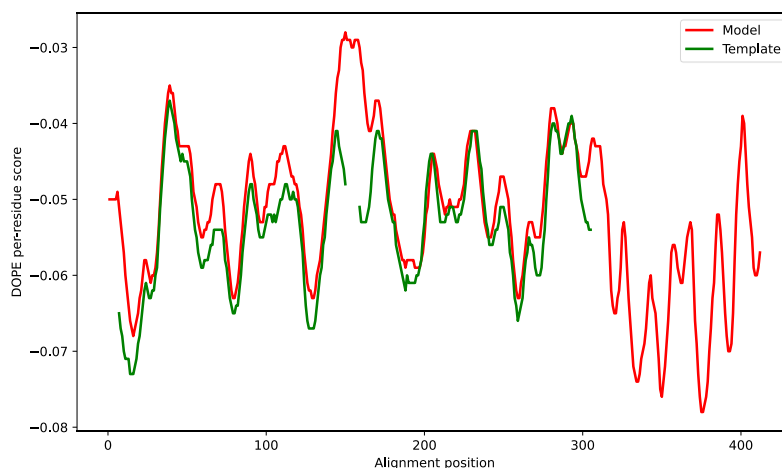
Z bazy UniProt pobrałem sekwencję receptora adenozynowego A2A (P29274) w formacie FASTA, a następnie podmieniłem wybrane aminokwasy 253: Asn → Glu, 168: Phe → Tyr. Podmienione aminokwasy (zaznaczone na rysunku po prawej) znajdują się w obrębie centrum aktywnego, więc ich modyfikacja może istotnie wpłynąć na wiązanie z cząsteczką kofeiny. Zaproponowane mutacje nie zmieniają hydrofobowości, ale zamiana asparaginy na kwas glutaminowy wprowadza dodatkowy ładunek ujemny.



Jako szablon wybrałem strukturę 3RFM z bazy PDB, ponieważ jest to kompleks z kofeiną i sekwencja jest bardzo podobna do tej z UniProta. Można wykorzystać również modelowanie wieloszablonowe, ale wydaje mi się, że przy tak małych różnicach w sekwencjach nie jest to konieczne.

Przy pomocy paczki Modeller w pythonie, utworzyłem uliniowanie pomiędzy zmutowanym białkiem i wybranym szablonem. Następnie na podstawie tego uliniowania i wybranego szablonu, ponownie wykorzystując funkcje z paczki Modeller, stworzyłem pięć modeli 3D zmutowanego białka. Do dalszej analizy wybrany został model z najmniejszą wartością DOPE (i jednocześnie najmniejszą wartością molpdf).

Utworzyłem znormalizowany profil energetyczny dla modelu i szablonu. Porównując te 2 profile można zauważyć, że utworzony model może być mniej dokładny w okolicy regionu, którego brakowało w szablonie (150-157).



Utworzony model wczytałem do programu Chimera, usunąłem końcowy fragment (306-412) modelowany bez szablonu i wykonałem procedurę minimalizacji energii. Następnie przeprowadziłem dokowanie za pomocą programu AutoDock Vina. Aby znaleźć centrum aktywne, dopasowałem wczytany model do szablonu wykorzystując narzędzie MatchMaker. Zadokowanie cząsteczki kofeiny do stworzonego modelu dało nieznacznie gorszy wynik niż zadokowanie tej cząsteczki do szablonu (po usunięciu obecnej tam kofeiny). Jest to efekt zgodny z intuicją. Różnice w wynikach były bardzo małe.

mode	affinity	dist from best mode	
	(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.
	+	+	+
1	-5.0	0.000	0.000
2	-5.0	1.190	3.777
3	-4.9	1.633	4.068
4	-4.9	2.647	5.636
5	-4.8	2.956	5.376
6	-4.8	1.858	2.918
7	-4.8	2.702	4.306
8	-4.8	2.983	5.855
9	-4.8	2.575	4.694

dokowanie do szablonu

mode	affinity	dist from best mode	
	(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.
	+	+	+
1	-4.9	0.000	0.000
2	-4.9	1.792	4.087
3	-4.8	1.451	3.128
4	-4.8	1.752	4.542
5	-4.7	0.841	3.468
6	-4.7	2.582	4.355
7	-4.7	1.816	4.775
8	-4.6	2.019	3.357
9	-4.6	3.115	4.710

dokowanie do modelu

dokowanie do szablonu

dokowanie do modelu

Dokowanie innych cząsteczek

Do znalezienia innych cząsteczek do zadokowania, wykorzystałem bazę ZINC. Znalazłem w niej szkielet cząsteczki kofeiny, a następnie wyszukałem cząsteczki z tym szkieletem. Zapytanie to zwróciło 24383 cząsteczki. Jest to zbyt dużo cząsteczek do przeanalizowania w rozsądnym czasie. Liczbę tę ograniczyłem (do 41), wykorzystując tylko cząsteczki posiadające nazwy w bazie ZINC.

Cząsteczki te pobrałem w formacie .sdf (1 plik) i przekonwertowałem do .pdbqt (też 1 plik) wykorzystując program OpenBabel (z opcjami „add hydrogens” i „preserve hydrogens”). Przy konwersji, kolumny: vdW, Elec, q zostały wypełnione zerami, ale według manuala AutoDock Vina i tak z nich nie korzysta („AutoDock Vina ignores the user-supplied partial charges. It has its own way of dealing with the electrostatic interactions through the hydrophobic and the hydrogen bonding terms.”). Powstały plik .pdbqt ze wszystkimi cząsteczkami podzieliłem na osobne pliki .pdbqt za pomocą własnego skryptu w pythonie.

Wykorzystując kolejny własny skrypt w pythonie, dla wszystkich powstałych plików z cząsteczkami przeprowadziłem dokowanie do modelu w programie AutoDock Vina (wymiarzy obszaru do przeszukania wziąłem z plików .conf utworzonych przy wcześniejszym dokowaniu w Chimera). Co zaskakujące, większość z tych cząsteczek miała niższe energie wiązania niż kofeina. Energia wiązania była najniższa (-7.5 kcal/mol) dla cząsteczki *Nuttingin B* (ZINC 101085921). Przeprowadziłem również dokowanie tej cząsteczki w chimera i uzyskałem nieco wyższą energię wiązania równą -6.9 kcal/mol. Poza tym, za pomocą programu LigPlot+ stworzyłem diagram oddziaływań zadokowanej cząsteczki. Cząsteczka ta jest dosyć duża i ma wiele stopni swobody co mogło ułatwić uzyskanie niskiej energii wiązania. Innymi cząsteczkami które dopasowały się dobrze są 2 warianty cząsteczki *triclofylline* (ZINC 608114, 72266811). Wśród badanych cząsteczek, te z „długimi ogonami” z reguły dopasowywały się lepiej.

