

עגינת ליגנדים באתר הפעיל של חלבון לצורך עיצוב תרופות בעזרת מחשב

מגישים: שילת וייצמן 314646092

שחר טרביץ 204735104

מנחה: ד"ר אולג קופרווסר



תוכן עניינים

3	תקציר
4	הקדמה
4	רקע היסטורי
4	תוצאות ידועות בתחום
4	החידושים בפרויקט
4	מטרות וחשיבות המחקר
4	רקע תיאורטי
4	מושגי יסוד
5	שיטות המחקר
5	טכניקות לעגינה מולקולרית
5	האלגוריתם הגנטי
6	גוף הפרויקט
6	שלבי העבוד ויישום האלגוריתם
8	דוגמאות של יישומים
8	תוצאות ודיון
8	סיכום
8	אפשרויות לכיווני מחקר עתידיים
9	נספח : מצגת יום פרויקטים

תקציר

פרויקט זה מתמקד בפיתוח ושיפור שיטות חישוביות לעגינה מולקולרית, המהווה כלי מרכזי בתהליך עיצוב תרופות. המטרה המרכזית היא לחזות את האינטראקציה בין ליגנד לחלבון באמצעות מציאת הקונפורמציה המיטבית של הליגנד באתר הפעיל של החלבון. בשיטות חישוביות אלו, מושם דגש על ניבוי הקשר החזק ביותר בליגנד בעל אנרגיה נמוכה, כך שהוא יעכב באופן אופטימלי את פעילות החלבון. בפרויקט נעשה שימוש באלגוריתם גנטי, המחקר תהליכים ביולוגיים של ברירה טבעית ומוטציות, לצורך מציאת הפתרון האופטימלי.

בעזרת מודל MMFF94 לחישוב אנרגיות הקשר של מולקולות, האלגוריתם הגנטי מאפשר זיהוי מהיר של הקונפורמציה הנכונה מתוך מרחב גדול של אפשרויות. תוצאות המחקר הראו כי ניתן לקבל דיוק גבוה במציאת תנוחות הליגנד, עם סטיות מינימליות מהתוצאות הניסיוניות. חשיבות הפרויקט היא ביצירת גישה יעילה וזולה יותר לגילוי תרופות, תוך הפחתת הצורך בבדיקות מעבדה מורכבות ויקרות. בנוסף, מוצעים כיווני מחקר עתידיים לפיתוח שיטות אלו.

הקדמה

רקע היסטורי

עגינה מולקולרית היא שיטה חישובית המשמשת בעיצוב תרופות, שמטרתה לחזות כיצד ליגנד נקשר לאתר הפעיל של חלבון. הבנת האינטראקציות הכימיות והפיזיקליות בין מולקולות קטנות (ליגנדים) לבין חלבונים מאפשרת תכנון מולקולות חדשות היכולות לשמש כמעכבים פוטנציאליים, ובכך לקדם את תהליך גילוי התרופות.

החקר בעגינה מולקולרית החל בשנות ה-70, עם פיתוח מודלים מתמטיים בסיסיים לחישוב אינטראקציות מולקולריות. מאז, התחום עבר שדרוגים משמעותיים, עם פיתוח של אלגוריתמים מתקדמים לחיזוי קונפורמציות של ליגנדים בצורה מדויקת ומהירה. מודלים של כוחות מולקולריים, כמו MMFF94, משמשים כיום לניבוי אנרגיות הקשר בין ליגנדים לחלבונים.

תוצאות ידועות בתחום

בעשרות השנים האחרונות, תוצאות מחקרים שונים הוכיחו כי שיטות עגינה חישוביות מסוגלות לחזות בצורה מדויקת את הקשרים בין ליגנדים לחלבונים. לדוגמה, שימוש בתוכנת SOL הראה תוצאות מרשימות במחקרי תוצאות ניסיוניות. שיטות אלו מסייעות לחוקרים בפיתוח תרופות חדשות, תוך שימוש ביכולות חישוביות לקיצור הזמן והמשאבים הנדרשים לבדיקות ניסיוניות.

החידושים בפרויקט

הפרויקט מציג חידוש חשוב בתחום העגינה המולקולרית באמצעות השימוש באלגוריתם גנטי. האלגוריתם הגנטי הוא כלי חישובי שמבוסס על עקרונות אבולוציוניים, והוא משמש לחיפוש פתרונות אופטימליים לבעיות מורכבות על ידי שימוש במוטציות, הכלאות ובחירה טבעית. בפרויקט זה, האלגוריתם מסייע במציאת הקונפורמציות האופטימליות של ליגנדים באתר הפעיל של חלבונים, תוך ניתוח אנרגיות הקישור הנמוכות ביותר.

בניגוד לשיטות עגינה מסורתיות, המגבילות את החיפוש לתנוחות מסוימות, האלגוריתם הגנטי מאפשר חיפוש נרחב ויעיל במרחב גדול של קונפורמציות. גישה זו מאפשרת מציאת פתרונות אופטימליים במהירות ובדיוק רב יותר, מה שמוביל לשיפור בתהליך גילוי התרופות.

מטרות וחשיבות המחקר

הפרויקט שואף לפתח וליישם שיטה חישובית יעילה ואמינה לעגינה מולקולרית. המטרה המרכזית היא לשפר את הדיוק בחיזוי התנוחות והמיקומים של ליגנדים באתר הפעיל של חלבונים, תוך קיצור הזמן והעלויות הנדרשים לתהליך זה. חשיבותו של הפרויקט היא בכך שהוא מציע גישה חדשה לייעול תהליך עיצוב התרופות, שיכול להוזיל את עלות הפיתוח ולייעל את השלבים המוקדמים בגילוי תרופות.

שימוש בכלים חישוביים במקום בניסויים מעבדתיים יקרים יכול לספק לחוקרים הבנה מעמיקה יותר של תהליך העגינה ולסייע בזיהוי מולקולות שיכולות לשמש כבסיס לפיתוח תרופות חדשות.

רקע תיאורטי

מושגי יסוד

- **מולקולה** : אוסף של אטומים המחוברים ביניהם בקשרים כימיים, כמו קשרים קוולנטיים.
- **קשר קוולנטי** : שיתוף של אלקטרוני ערכיות בין שני אטומים, כך שנוצר קשר חזק ביניהם.
- **אתר פעיל** : אזור בחלבון שבו מתרחשות תגובות כימיות, וכאשר ליגנד מתחבר אליו, הוא עשוי לעכב את הפעילות של החלבון.
- **ליגנד** : מולקולה קטנה שיכולה להיקשר לאתר הפעיל של חלבון ולשנות את פעילותו.

- **כוחות פיזיקליים המשפיעים על עגינה מולקולרית:** כוחות וון-דר-ואלס וכוחות אלקטרוסטטיים הם הכוחות העיקריים המכתיבים את הקשר בין ליגנד לחלבון. הכוח הראשון פועל במרחקים קצרים בין אטומים, בעוד שהכוחות האלקטרוסטטיים משפיעים על האינטראקציה בין המטענים החשמליים של המולקולות.

שיטות המחקר

טכניקות לעגינה מולקולרית

עגינה מולקולרית היא טכניקה המחשבת את האינטראקציה בין ליגנד לחלבון. השיטה מתבצעת על ידי ניתוח אנרגיות הקישור במגוון תנוחות וקונפורמציות של הליגנד, ובחירת התנוחה עם האנרגיה הנמוכה ביותר. השיטה כוללת מספר שלבים, כולל הכנה של הליגנד והחלבון, סימולציה של התנוחות האפשריות, וחישוב אנרגיות הקישור.

האלגוריתם הגנטי

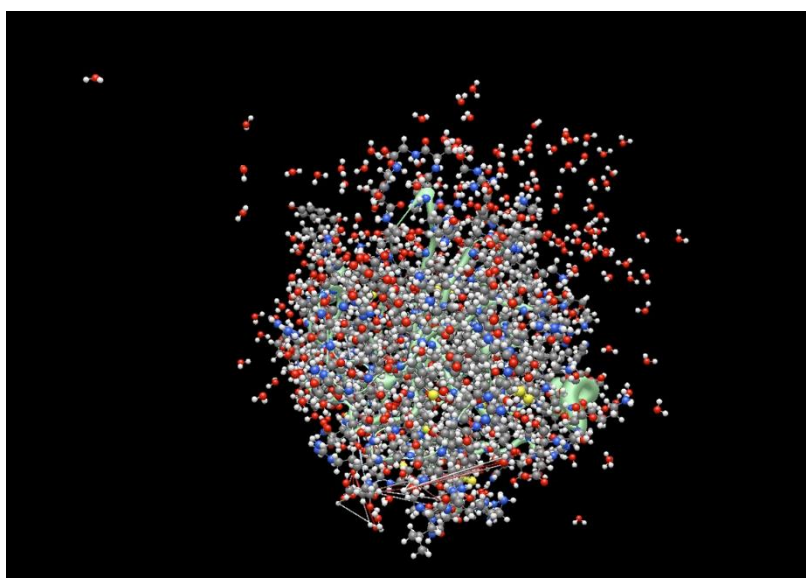
אלגוריתם גנטי הוא שיטת אופטימיזציה המבוססת על רעיונות מתחום האבולוציה. האלגוריתם מתחיל ביצירת אוכלוסייה של פתרונות אפשריים, שכל אחד מהם מייצג תנוחה אפשרית של הליגנד. לאחר מכן מתבצעים תהליכים של בחירה טבעית, הכלאות ומוטציות כדי לשפר את התנוחות ולהפחית את האנרגיה הכוללת של המערכת. התהליך חוזר על עצמו עד למציאת התנוחה האופטימלית של הליגנד.

שילבי העבוד ויישום האלגוריתם

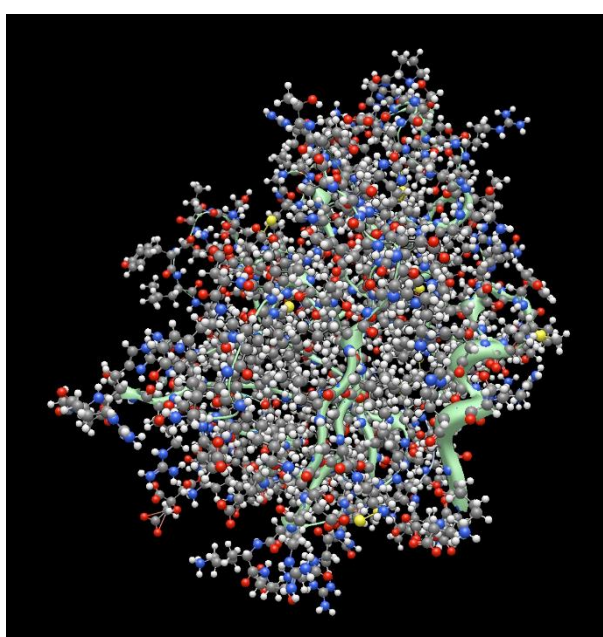
הפרויקט כולל מספר שלבים עוקבים אשר מטרתם היא לזהות את הקונפורמציה האופטימלית של ליגנד באתר הפעיל של חלבון מטרה. בשיטה זו, האלגוריתם הגנטי מופעל על קבוצה של ליגנדים, ולאחר מכן, בעזרת חישובים מדויקים, מתקבלות תוצאות המשוות את היעילות והדיוק של השיטה מול תוצאות ניסיוניות קיימות. להלן פירוט השלבים :

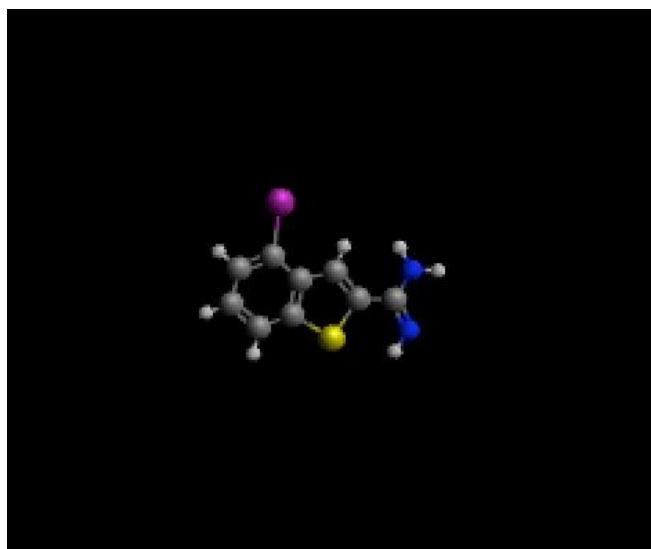
1. **הכנת המולקולות** : תהליך זה מתחיל באופטימיזציה גיאומטרית של המבנים המולקולריים של הליגנד והחלבון. המטרה היא לוודא שהמולקולות במצב היציב ביותר מבחינת האנרגיה לפני שמתחילים בסימולציה. שלב זה כולל שימוש בכלים ביואינפורמטיים להכנת המודל של החלבון וליצירת האתר הפעיל. הכנת הליגנדים מתבצעת גם היא, כולל הגדרת המבנים המולקולריים, אופטימיזציה של המולקולות, והכנתן לקישור לאתר הפעיל.

1C5W בתוכנת AVOGARDO :



תיאור של החלבון בתוכנת AVOGARDO :





2. **חישוב אנרגיות הקישור** : לאחר הכנת המבנים המולקולריים, נעשה שימוש במודל MMFF94 לחישוב האנרגיות הכרוכות בקשר בין הליגנד לחלבון. המודל כולל חישוב של כוחות וון-דר-ואלס, כוחות אלקטרוסטטיים, וגורמים נוספים המשפיעים על עוצמת הקשר. החישוב מתבצע על מגוון קונפורמציות אפשריות של הליגנד, תוך בדיקה מתמדת של השינויים באנרגיות הקשר בתנוחות השונות. תהליך זה כולל שימוש בתוכנות כמו SOLGRID ליצירת רשת של נקודות בסביבת האתר הפעיל ולחישוב אנרגיות עבור כל צומת ברשת זו. תוצאות אלו ישמשו בהמשך לביצוע תהליך האופטימיזציה.
3. **הפעלת האלגוריתם הגנטי** : בשלב זה מופעל האלגוריתם הגנטי, שמטרתו למצוא את התנוחה האופטימלית של הליגנד באתר הפעיל. האלגוריתם פועל על ידי יצירת "אוכלוסייה" ראשונית של פתרונות אפשריים – כל פתרון מייצג תנוחה מסוימת של הליגנד. לאחר מכן, מתחיל תהליך הדומה לביררה טבעית: הפתרונות הטובים ביותר (בעלי אנרגיות הקישור הנמוכות ביותר) נבחרים להמשיך לדור הבא, בעוד שהפתרונות הפחות טובים עוברים הכלאות ומוטציות כדי לנסות לשפר את האנרגיות הקישור שלהם. תהליך זה חוזר על עצמו לאורך מספר "דורות" עד שמתקבלת קונפורמציה יציבה שבה הליגנד מקושר לחלבון בצורה אופטימלית.
4. **בדיקת תוצאות** : בסיום תהליך החישוב, התוצאות החישוביות משווה לתוצאות ניסיוניות כדי לאמת את דיוק השיטה. הבדיקה כוללת השוואת נתוני ה-RMSD (Root Mean Square Deviation), המודדת את הסטייה בין הקונפורמציות החישוביות לקונפורמציות שנמדדו בניסויים ביוכימיים, כגון קריסטלוגרפיה של חלבונים. סטיות נמוכות מעידות על דיוק רב יותר של המודל החישובי, ומאשרות שהאלגוריתם הגנטי הצליח למצוא את הקונפורמציה האופטימלית.

```
*****
BEST SCORING: -4.127646
BEST GRID ENERGY: -44.576464
NUMBER OF ROTATORS: 1
*****
Total time (5779.000000 seconds):
  0 days
  1 hours
 36 minutes
 19 seconds
```

דוגמאות של יישומים

במסגרת הפרויקט, האלגוריתם הגנטי יושם על מספר דוגמאות של ליגנדים וחלבונים מטרה במטרה לבדוק את יכולתו לחזות את התנוחות האופטימליות. אחד היישומים המרכזיים בפרויקט היה עגינת ליגנד באתר הפעיל של חלבון MMP-1, חלבון המשמש בתהליך העגינה לחקר תרופות נגד דלקת פרקים. הניסוי הראה התאמה גבוהה לתנוחות שנמצאו בניסויים מבוססי קריסטלוגרפיה, עם סטייה של פחות מ-2 אנגסטרם. דוגמא נוספת כללה שימוש בליגנדים שונים בעגינה לחלבונים ויראליים, כגון חלבון מטרה של וירוס SARS-CoV-2, במטרה למצוא מולקולות שיכולות לשמש כמעכבי וירוסים יעילים.

תוצאות הפרויקט הצביעו על כך שהשימוש באלגוריתם הגנטי מוביל למציאת פתרונות מדויקים יותר מאשר שיטות עגינה מסורתיות, תוך קיצור זמן החישוב הנדרש. בנוסף, המחקר הראה שהשיטה מתאימה למגוון רחב של חלבונים וליגנדים, ויכולה לשמש ככלי חיוני בפיתוח תרופות חדשות.

תוצאות ודיון

תוצאות המחקר הראו שהאלגוריתם הגנטי הצליח לחזות את התנוחה האופטימלית של הליגנדים במדויק, עם סטיות מינימליות מהתוצאות הניסיוניות. בניסוי עם חלבון מטרה וליגנד ספציפי, נמצא שסטיות ה-RMSD בין התנוחה החישובית לניסיונית עמדה על כ-1.6 Å בלבד, דבר המוכיח את הדיוק של השיטה. התוצאות מצביעות על כך שהשימוש באלגוריתם גנטי משפר את דיוק העגינה ומקצר את זמן החישוב.

סיכום

הפרויקט מדגים כיצד שימוש באלגוריתם גנטי בעגינה מולקולרית מאפשר למצוא תנוחות אופטימליות של ליגנדים באתר הפעיל של חלבונים בצורה מדויקת ויעילה. השיטה מספקת כלי חישובי עוצמתי שיכול לחסוך זמן ומשאבים בפיתוח תרופות חדשות, תוך שמירה על רמת דיוק גבוהה. השוואות לתוצאות ניסיוניות מראות התאמה טובה מאוד, מה שמבסס את השימוש באלגוריתם ככלי מרכזי בעיצוב תרופות.

אפשרויות לכיווני מחקר עתידיים

- **שיפור האלגוריתם הגנטי** : ניתן לפתח אלגוריתמים גנטיים מתקדמים יותר, עם אפשרויות אופטימיזציה חכמות ומותאמות אישית לחלבונים ולליגנדים ספציפיים.
- **שילוב עם דינמיקה מולקולרית** : שילוב טכניקות עגינה עם דינמיקה מולקולרית (MD) יאפשר הבנה מעמיקה יותר של תהליכים דינמיים בזמן אמת, ויסייע בחיזוי השפעת תנודות מולקולריות על קישור ליגנד לחלבון.
- **שילוב בינה מלאכותית** : השימוש בטכניקות של למידת מכונה (ML) עשוי לשפר את היכולת לזהות דפוסים בקונפורמציות הליגנדים ולחזות בצורה מדויקת יותר את התנוחות המיטביות, במיוחד במקרים בהם יש מגבלות ניסיוניות או מורכבות חישובית.

חישוב של עגינת ליגנד בתוך אתר פעיל של חלבון עבור עיצוב תרופות על ידי מחשב



מגישים : שילת ויצמן 314646092

שחר טרביץ 204735104

מנחה : ד"ר אולג קופרווסר

ARIEL
UNIVERSITY

מושגים

מולקולה – אוסף של אטומים המחוברים בקשר כימי חזק.
קשר קוולנטי – שיתוף אלקטרוני ערכיות של שני אטומים, כך שנוצר אזור עם מטען שלילי שעל ידו נקשרים האטומים.
אלקטרוני ערכיות – אלקטרונים הנמצאים ברמת האנרגיה האחרונה של האטום.
MMFF94 – מודל לחיזוי תכונות כימיות ופיזיקליות של מולקולות.



רקע תיאורטי

התוכנית מתמקדת בשימוש בכלי מידול מולקולרי, במיוחד על ידי תוכנית עגינה, לפיתוח תרופות על בסיס אנרגיה.
בתכנית אנו נבדוק את האנרגיה של הליגנד ונחפש את האנרגיה הנמוכה ביותר, כדי שהקשר בין הליגנד למרכז הפעיל של החלבון יהיה חזק. כמו כן, יש למצוא את התנוחה של הליגנד, כדי שיוכל להתיישב באופן מיטבי במרכז הפעיל של החלבון.



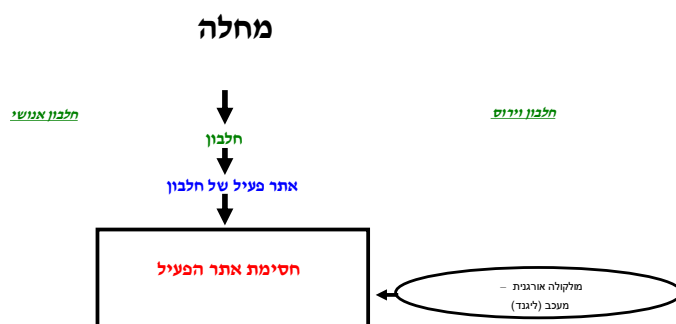
מטרת הפרויקט

התוכנית תמצא את הליגנד בעל אנרגיית הקשר הנמוכה ביותר ואת התנוחה שבה תוכל להשפיע בצורה המיטבית על מרכז הפעיל של החלבון.

המטרה: עיצוב או חידוש של תרופות בעזרת המחשב, בשביל לייעל את התהליך ולהוזיל אותו.

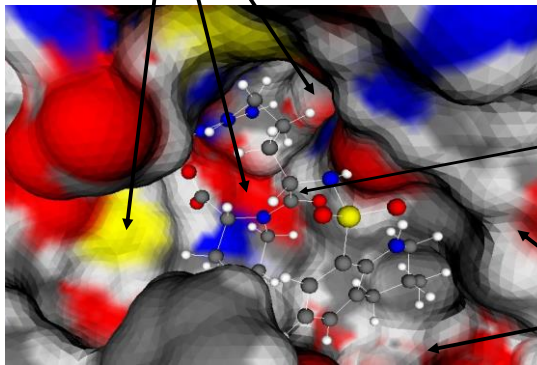


פעולת התרופה



השלב הראשוני של פיתוח תרופה חדשה:
חיפוש מעכבים למרכז הפעיל של החלבון
הרצוי

מרכז פעיל של
חלבון מטרה



מעכב (ליגנד)

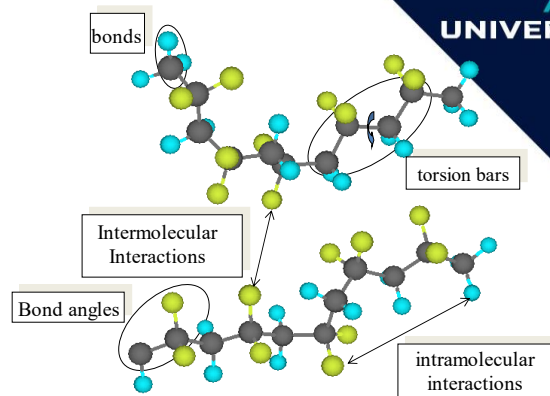
חלבון

מושגים:

- **חלבון** – אוסף של 20 מולקולות שנקראות חומצות אמינות ושם יש אנזימים שיכולים לזרז תהליכים כימיים.
- **אתר פעיל** – מקום על החלבון שבעזרתו החלבון עושה עבודה של זירוז התהליכים הכימיים.
- **ליגנד** – מולקולה קטנה שמתחברת לאתר הפעיל ומעכבת את הפעולה שלו על ידי סגירת האזור הפעיל.

שדות כוח

- **Bonds** – מחשבים את ההפרש בין אורך הקשר במצב יציב למצב של קשר I.
- **Angles** – מחשבים הפרש בין זווית החיבור במצב קבוע, למצבו בזווית מסויימת.
- **Torsions** – מחשבים זווית מולקולה במצב יציב, פחות הזווית המולקולה במקום מסוים.
- **Pairs** – חישוב האנרגיה בין שני אטומים על פי כח ואן דר ואלס, וחישוב חוק קולון שמחשב את המטענים של שני האטומים.
- נציב את V בחוק השני של ניוטון בשביל למצוא את האנרגיה הפוטנציאלית

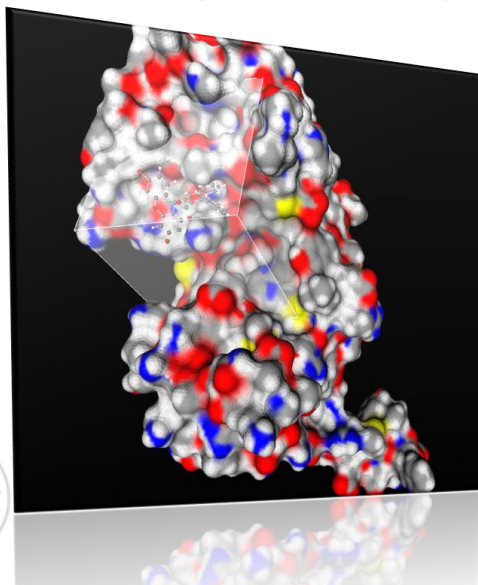


$$V = \sum_i^{\text{bonds}} \frac{k_{l,i}}{2} (l_i - l_{0,i})^2 + \sum_i^{\text{angles}} \frac{k_{\alpha,i}}{2} (\alpha_i - \alpha_{0,i})^2 + \sum_i^{\text{torsions}} \left\{ \sum_k^M \frac{V_{ik}}{2} [1 + \cos(n_{ik}(\theta_{ik} - \theta_{0,ik}))] \right\} + \sum_{i,j}^{\text{pairs}} \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{r_{0,ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_{0,ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \sum_{i,j}^{\text{pairs}} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}}$$



Grid of potentials program

ARIEL
UNIVERSITY



התוכנה מייצרת קובייה על המרכז הפעיל של החלבון, ומחשבת על כל צומת בו את האנרגיה של כל אטום בליגנד. מתוכנית זו יוצאים נתונים רבים ובהם נשתמש בהמשך כדי למצוא את האנרגיה של הליגנד כולו.

תכנית עגינת ליגנד בתוך אתר פעיל של חלבון

ARIEL
UNIVERSITY



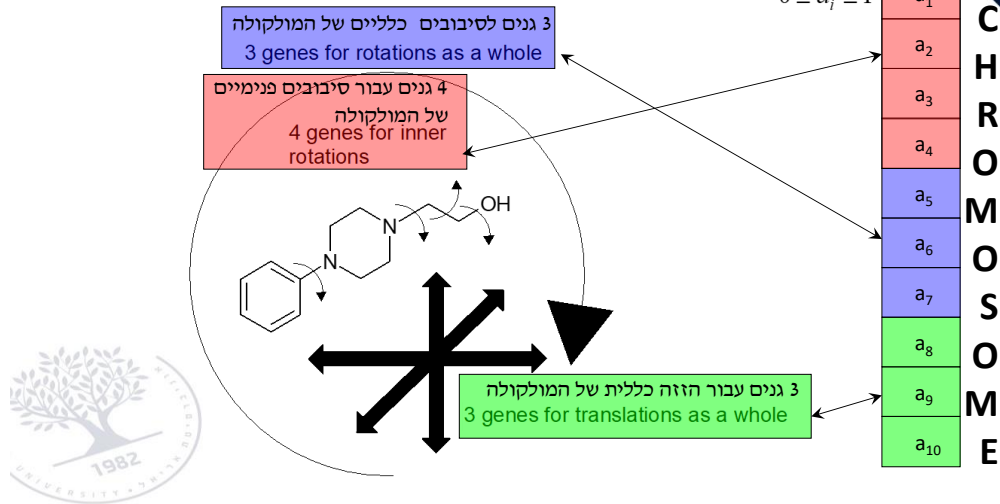
התוכנית העיקרית בפרויקט ובה נשתמש באלגוריתם גנטי כדי למצוא תנוחה ומיקום של הליגנד.

אנו נשתמש בנתונים שקיבלנו בתוכנית הקודמת, כדי למצוא את המיקום והתנוחה שיש להם את האנרגיה הנמוכה ביותר של הליגנד בתוך החלבון.

אלגוריתם גנטי לעגינה

PHENOTYPE – מיקום ותנוחה של מולקולה בתוך האתר פעיל של חלבון

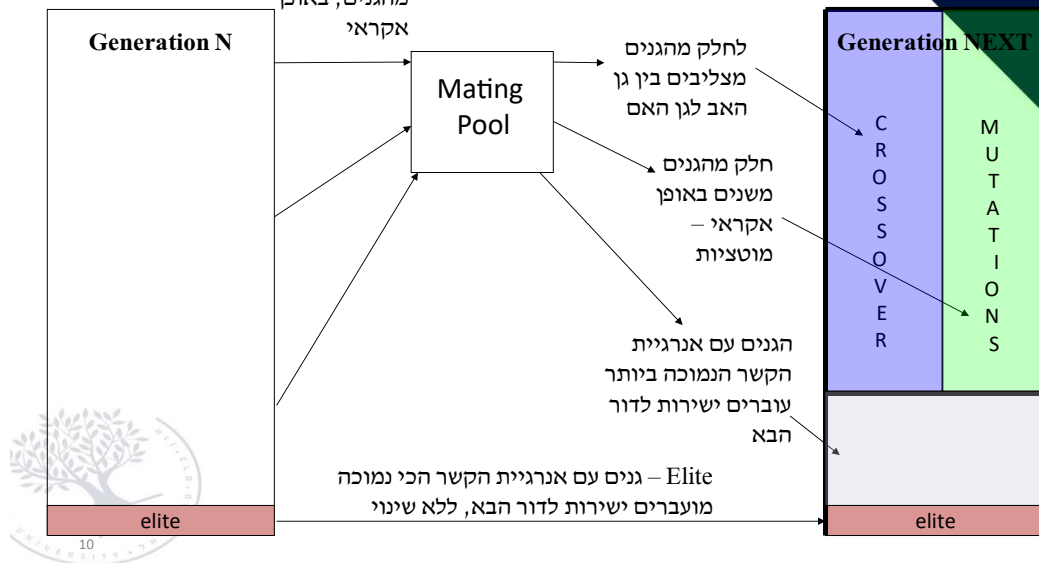
GENOTYPE – הגנים המשפיעים על המיקום והתנוחה של המולקולה
 $0 \leq a_i \leq 1$



9

אלגוריתם גנטי לעגינה

אל Mating Pool עוברים רק חלק מהגנים, באופן אקראי



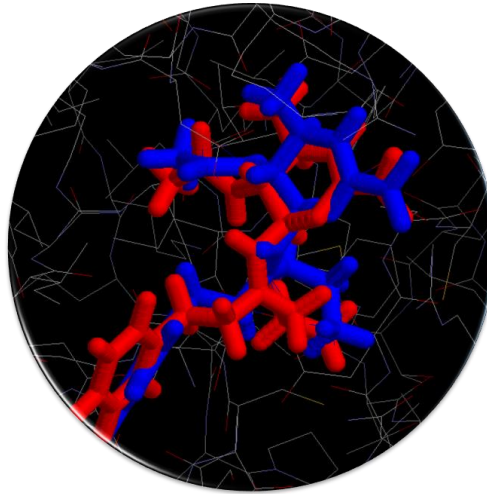
חלבון Q4A1

תוצאות תכנית העגינה ביחס למדידות מאתר PDB

RMSD: 1.6 Å

חישוב השגיאה :
נבחר זוג אטומים
מקבילים בתוצאות
התכנית ובמדידת
האתר, ונפעיל עליה
חישוב שגיאה נומרי
על ידי מינימום
ריבועי (Root Mean
Square Deviation).
במקרה שלנו ניתן
לראות שהפער הוא
קטן מאוד 1.6
Angstrom (שהוא
 10^{-10} מטר)

$$\sqrt{\frac{1}{n} (x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2)}.$$



בכחול – מיקום ותנוחה לפי מדידות

אדום – מיקום ותנוחה לפי תוצאות תוכנית העגינה

מסקנות :

- מהתוצאות של הריצה של תכנית עגינה, ניתן לראות שמיקום הליגנד של הניסוי תואם כמעט לגמרי את מיקום הליגנד של התכנית. כפי שהמחשנו בתמונה הליגנדים דומים הן בצורה והן במיקום
- כמו כן ראינו שלפי החישוב הנומרי במינימום ריבועי (Root Mean Square Distance) השגיאה קטנה מאוד (A1.6)
- ממקרה זה ניתן להסיק באופן כללי, כי אלגוריתם עגינה עושה עבודה טובה ומאוד מדויקת במציאת מיקום ותנוחת הליגנד במרכז הפעיל של החלבון. ולכן, תוכנה זו היא תחלופה מצוינת לפיתוח תרופות, שכן היא מהירה, יעילה וזולה הרבה יותר מאשר הבדיקות והמדידות שעושים במעבדה



