

Р.Г. Ефремов: В чем конкретно заключается научная новизна Вашего метода? Подходы с использованием динамических фармакофоров известны и широко применяются. Можете сравнить полученные Вами результаты с уже имеющимися алгоритмами/методами? Например, в случае CDK2 – для этой мишени имеется очень много данных!

Д.И. Баширова: Научная новизна метода заключается в предложенном подходе ранжирования молекул - подход охвата конформеров (слайд 6), где соединения ранжируются в зависимости от процента конформеров соединения, соответствующих репрезентативным фармакофорным моделям. Наш метод не требует наличия выборок соединений с известными активностями для выявления репрезентативных фармакофорных моделей, как и подход общих хитов. Два метода ранжирования подход охвата конформеров и подход общих хитов были сравнены (слайд 9), при этом подход охвата конформеров продемонстрировал более высокие показатели early enrichment factor.

Р.Г. Ефремов: Какой протокол МД использовали? Расчеты проводили для комплекса белок-лиганд? Если да, то насколько при этом адекватным было исследование конфигурационного фазового пространства («сэмплирование») остатков активного центра и лиганда по сравнению с результатами МД изолированных мишени и лиганда?

Д.И. Баширова: Моделирование было выполнено с использованием GROMACS. Для генерации топологий белков мы использовали силовое поле Amber99SB-ILDN, для лигандов- Antechamber 17.3 с использованием параметров силового поля GAFF2. Комплексы белок-лиганд были сольватированы в додекаэдрической ячейке, заполненной водой, с минимальным расстоянием до ячейки 1 Å. Для описания воды использовалась модель TIP3. После минимизации энергии каждая система была уравновешена в течение 100 пс на каждое уравновешивание NVT и NPT. После чего мы моделировали комплексы в NPT ансамбле с модифицированным термостатом Берендсена (V-rescale) и баростатом Парринелло-Рахмана при 310 К в течение 50 нс с шагом 2 фс. Нашей задачей было определение центров связывания лиганда с биомишенью для последующего создания на их основе фармакофора, описывающего связывающий мотив. Семплирование белка и лиганда по отдельности для этого не требуется. Энергию связывания с использованием МД мы не оценивали.

Р.Г. Ефремов: Как конкретно задавали модели фармакофоров, т.е. какие критерии использовали (число сайтов, их взаимное расположение, допустимая подвижность сайтов и пр.)? Насколько результаты были чувствительны к небольшим изменениям в структуре/составе фармакофора?

Д.И. Баширова: Фармакофорные модели составлялись с использованием всех обнаруженных центров взаимодействий лиганда с белком. В ходе МД моделирования число таких центров сильно варьировалось. МД траектория запускалась на основе имеющейся в PDB структуры комплекса. Возможность перемещения между сайтами не контролировалась, однако видно, что за отведенное время молекула свой сайт не покидала. Для оценки возможности того, что молекулы могут связываться в разных участках сайтов и иметь разный набор центров, мы использовали фармакофорные модели, полученные из четырех комплексов различных лигандов. Три из них вели себя похожим образом, один сильно отличался, так как молекула была гибче, число фармакофорных центров из-за ее лабильности было меньше и фармакофорные модели были достаточно неспецифичными. Мы пробовали разные сценарии: использовать все фармакофоры или содержащие по меньшей мере N фармакофорных центров (слайд 8). Фармакофорные модели, содержащие $N \geq 4$ фармакофорных центров, приводят к более высокой точности виртуального скрининга, чем более простые модели.