

П.Г. Полищук: Как я понял, сэмпировали белок в апо-форме 200 нс при 300К. Вы считаете достаточным такое сэмпирование? Ведь полости связывания, особенно если они глубокие, в отсутствие лиганда будут появляться редко на траектории и соответственно их труднее обнаружить и выделить. Как Вы справлялись с этой проблемой? А если не наблюдали ее, то почему?

А.А. Чеблоков: Для сэмпирования мы использовали методику ускоренной молекулярной динамики (Accelerated Molecular Dynamics или aMD) - это некоторая разновидность метадинамики, при которой вносится дополнительная энергия в систему, что облегчает переходные процессы в ней. Благодаря aMD на небольшой траектории порядка сотен наносекунд - можно получить сэмпирование сопоставимое с миллисекундными траекториями.

П.Г. Полищук: Сколько получилось кластеров и сколько структур белка было выбрано для докинга?

А.А. Чеблоков: Использовали алгоритм иерархической кластеризации по координатам тяжёлых атомов полипептидной цепи и получили десять кластеров. Для поиска сайтов связывания использовали центральную структуру наиболее заселённого кластера. Далее для каждого найденного сайта провели повторную кластеризацию по всем атомам аминокислотных остатков сайта. Получили 5 кластеров, центральные структуры которых использовали для докинга.

П.Г. Полищук: Как выбирали какие сайты и в каких структурах представляют интерес для дальнейшего моделирования с МД? Ведь когда есть несколько структур белка, в каждом свой набор возможных сайтов, то выбрать наиболее вероятные становится намного сложнее, а все подряд отправлять на МД довольно затратно.

А.А. Чеблоков: Проводили докинг соединения к каждой из центральных структур кластеров. Экономия времени достигается за счёт того, что пакет ICM, который мы используем для докинга, имеет функцию проведения так называемого 4D докинга. Он позволяет одновременно проводить докинг к нескольким конформациям белка, совмещенным в пространстве, и получать отсортированные по величине оценочной функции позы среди всех исследуемых конформаций белка. Затем визуально отбирали наиболее вероятные с нашей точки зрения позы (следили за образованием водородных связей с белком, и учитывали, чтобы гидрофобные части лиганда меньше контактировали с растворителем). Кроме того, подбирали отличающиеся друг от друга позы, которые и использовали в качестве стартовых в МД.