

**П. Полищук:** Какой белок использовался как темплат для построения модели? Был ли это комплекс с каким-то лигандом или апо-форма? Если апо-форма, то как контролировали размер полости сайта связывания? Ведь в апо-форме полости нужного размера может не быть.

**Г.Ф. Куракин:** Мы загружали готовые модели из базы GPCR-HGMod, а для неё, в свою очередь, модели строились сервером GPCR-I-TASSER. В нём невозможно проконтролировать темплат: сервер выбирает его сам. Причём для каждой модели он использует сразу много темплатов. Список темплатов можно найти на страничке модели в базе. К сожалению, я забыл указать идентификаторы моделей в презентации (указал только в статье в «Молекулярной биологии»). BLT1 – это HG0452 (вот он: <https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/GPCR-HGmod/models/Q15722/>), а BLT2 – это HG0781 (вот он: <https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/GPCR-HGmod/models/Q9NPC1/>). Здесь можно найти всю подробную информацию, в том числе о темплатах. Но я особо не контролировал это, потому что см. п. 2.

**П. Полищук:** Структуры белков после моделирования по гомологии как-то оптимизировались или нет? Не знаю про GPCR-I-TASSER, но свисс-модел даёт не совсем реалистичные конформации белков. Мы их обычно ещё минимизируем или делаем короткую МД симуляцию, и при этом важно чтобы полость не схлопнулась.

**Г.Ф. Куракин:** GPCR-I-TASSER, как и вообще I-TASSER, оптимизирует модели после моделирования по гомологии. Оптимизация встроена в него. Насколько я знаю, там используется как раз молекулярная динамика. Поэтому я особо не контролировал, какой будет темплат: сервер всё равно довольно сильно поменяет структуру на выходе за счёт оптимизации.

Про свисс-модел я в курсе, и именно поэтому я не использовал его как основной. Он встречается лишь в «жёсткой» модификации процесса, когда мне надо было уложить белок-гомолог в те же координаты и избежать их изменения в ходе оптимизации. То есть я пользовался им только как своего рода «прокрустовым ложем» для белка – и только в том случае, когда любая оптимизация была для меня нежелательна. Это лишь один случай – «замена» BLT2 на BLT1 в готовом комплексе. Для докинга же использовались оптимизированные модели.

Если бы полость схлопнулась, то была бы надежда, что при гибком докинге она бы «расхлопнулась» обратно. Galaxy7TM имеет встроенный шаблон движений любого GPCR. На первом этапе он из заданного пользователем белка генерирует конформации и только потом делает докинг. Затем – релаксация структуры для оптимизации. Причём докинг был прямой. Я так понимаю, что сервер изначально выбрал бы ту конформацию, в которой заданный сайт открыт.

**П. Полищук:** Очень рекомендовал бы сделать МД для этих комплексов, чтобы понять насколько устойчива найденная докингом конформация лиганда и его ориентация. Ну и это даст возможность оценить энергию связывания другим методом (MM-PBSA/GBSA).

**Г.Ф. Куракин:** МД – это было бы замечательно! Пока мне не на чем её сделать, кроме вот этого сервера (<http://mmb.irbbarcelona.org/MDWeb//index.php>). Но он требует файл ЛИБ и ФРЦМОД, а я не знаю, как их сделать.

**П. Полищук:** Ещё для валидации моделей белков можно сдокировать набор соединений с известной активностью/аффинитетом и посмотреть может ли докинг отличить активные от неактивных. Тоже могло быть косвенным подтверждением правильности модели. Хотя тут может сильно повлиять плохая способность докинга оценивать энергию связывания очень гибких лигандов.

**Г.Ф. Куракин:** Насчёт гибких лигандов – это точно, мои липиды всегда дают низкую энергию связывания. Есть план попробовать антагонисты и валидировать уже ими, они не такие длинные и гибкие.