

Д.И. Осолодкин: Вы используете для докинга модели рецепторов, построенные высокопроизводительным автоматизированным методом. Насколько достоверны результаты докинга в такие модели и не было бы более надёжно построить модели под собственным контролем с использованием какого-либо общепринятого метода, например, MODELLER?

Г.Ф. Куракин: Этот способ построения специально разрабатывался для GPCR и включает в себя этап уточнения модели (точнее, это в принципе гибридный подход, ab initio/по гомологии). В то время как MODELLER и аналоги допускают лучший контроль со стороны пользователя, это чисто моделирование по гомологии без оптимизации. По поводу надёжности – в статье про сервер есть данные его теста на разных структурах: https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/papers/2015_11.pdf, только докинга там нет. Но, на мой взгляд, для гибкого докинга следует в любом случае предпочесть оптимизированную структуру. Что касается больше управляемости, то она была бы оптимальна при наличии близкого гомолога с открытым ортостерическим сайтом связывания – тогда не стоило бы доверяться серверу, а выбрать гомолог вручную. Но, так как таких шаблонов нет, решено было «довериться» автоматике.

Д.И. Осолодкин: Вы используете высокоавтоматизированный метод докинга для работы с молекулами, обладающими крайне высокой конформационной подвижностью, при этом анализируете лишь "10 лучших решений". Насколько полно этот метод докинга сэмплирует конформационное пространство исследуемых вами молекул? Из какого набора решений докинга выбираются "10 лучших"? Сильно ли отличаются значения оценочной функции для "10 лучших решений" от "следующих 10 лучших решений"? Является ли это отличие статистически значимым?

Г.Ф. Куракин: Ответы на эти вопросы мне неизвестны и самому: Galaxy7TM является «моделью с одной кнопкой» с крайне высокой степенью автоматизации и малой возможностью контроля со стороны пользователя. В том числе, он не выводит пользователю все решения докинга (а выводит только Top10). Сервер ROSIE, который также умеет делать гибкий докинг, более контролируем и выводит все решения, поэтому это можно было бы проверить. Тем не менее, для GPCR я предпочитаю Galaxy7TM, так как он разработан специально для них.

Д.И. Осолодкин: Вы анализируете данные ЯМР для комплекса 12-NHT и BLT2 (разумеется, это данные не для молекулы лиганда в растворе, а для её связанной с рецептором конформации), однако не учитываете конформационное разнообразие лиганда, экспериментально наблюдаемое авторами статьи. Использованная ими стратегия моделирования также оставляет желать лучшего. Многие пакеты молекулярного моделирования позволяют учитывать структурные ограничения, выводимые из ЯМР (NMR restraints), непосредственно. Не было ли у вас мысли обратиться к этим более надёжным методам?

Г.Ф. Куракин: Я не анализировал ещё данные ЯМР. Я на презентации сравнил только внешний вид конформаций лигандов, то есть это только предварительный этап. У меня есть мысль написать авторам той статьи и запросить у них хотя бы конформер лиганда, которым они пользовались при докинге. Тогда я бы мог совместить его с моими лигандами (докингом или фармакофорным наложением) и проверить, насколько на самом деле мои результаты сходны с результатами авторов обсуждаемой статьи. Вы подали очень интересную идею воспользоваться ЯМР-ограничениями напрямую. Буду рад, если подскажете программы, которые умеют обрабатывать такие ограничения, и формат файла с ограничениями, который мне следует запросить у авторов статьи.

Д.И. Осолодкин: Что является конкретным результатом работы -- способ связывания лиганда, конфигурация сайта связывания, структурные ограничения для докинга? Какова стратегия дальнейшего использования полученных вами результатов? Будут ли модели белка в дальнейшем применяться в виртуальном скрининге?

Г.Ф. Куракин: Скорее способ связывания лиганда. Мы старались создать единую «теорию», описывающую, как связываются лиганды с BLT и объясняющую как можно больше известных на сегодняшний день экспериментальных данных. Как структурное ограничение для докинга эти модели также можно использовать – мы сами пользовались таким ограничением на втором этапе работы, когда проводили повторный докинг LTB4 в BLT2. Модели доступны в качестве электронных

приложений к статье (в том числе в Elibrary). Я специально решил сделать их доступными для других исследователей, чтобы ими можно было пользоваться и как ограничениями, и для скрининга. Сам пока не планирую скрининг, так как он имеет смысл для последующего синтеза и испытания соединений. У нас в университете такие исследования пока не проводятся, поэтому скрининг получится «впустую». Но есть мысль продолжить работу в плане исследования связывания антагонистов.