

VII Escola de Modelagem Molecular em Sistemas Biológicos



EMMSB 2014

LNCC-Petrópolis, 18 - 22 de Agosto de



Métodos de Docking Receptor–Ligante (Portal DockThor)

Camila S. de Magalhães – UFRJ, camila@xerem.ufrj.br

Isabella Alvim – LNCC, isabella@lncc.br

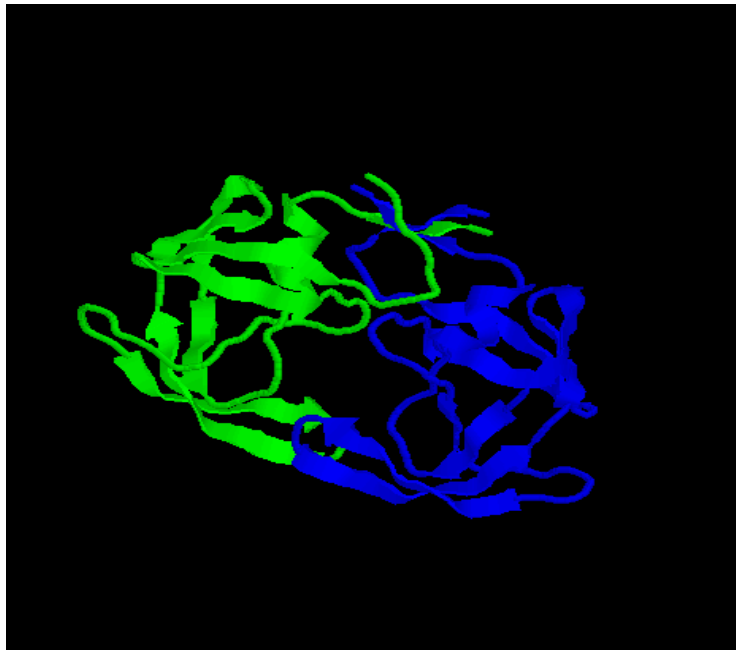
Laurent E. Dardenne – LNCC, dardenne@lncc.br

Programa do Curso

- ▶ **1ºDia:**
 - Introdução: Docking Molecular
 - Preparação dos Arquivos e Docking
- ▶ **2ºDia:**
 - Alterando os Parâmetros do Docking
- ▶ **3ºDia:**
 - Docking com Águas Estruturais
 - Influência da Conformação Inicial do Ligante
- ▶ **4ºDia:**
 - Cross-docking

O Problema de Docking

- ▶ Dada uma estrutura de **proteína**, e uma pequena molécula **ligante**, como as duas moléculas irão interagir?



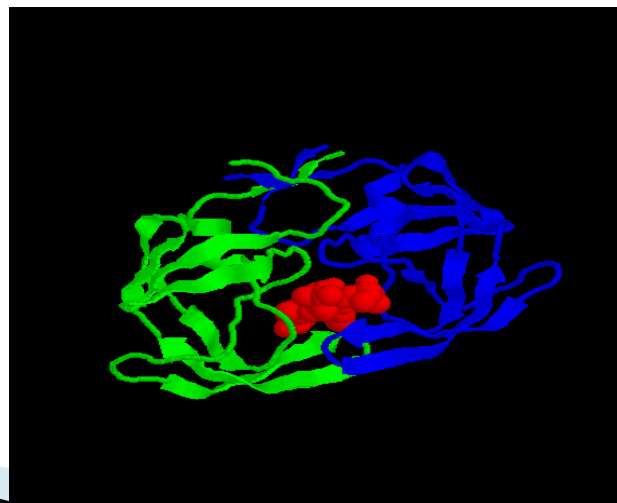
Proteína



Ligante

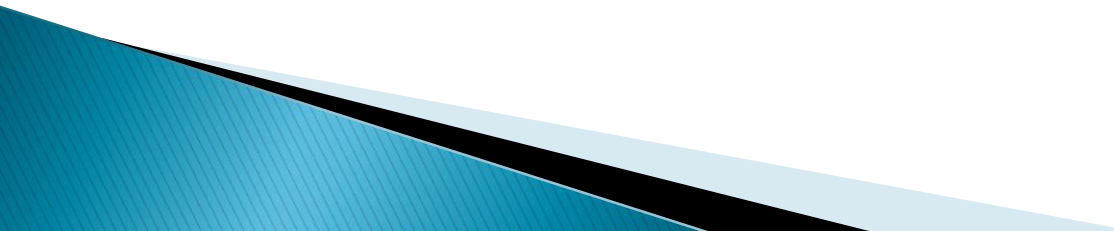
O Problema de Docking

- ▶ O que é Docking?
 - Predição do modo de ligação de uma pequena molécula ligante (**composto protótipo**) no sítio ativo (região de ligação) de uma proteína (**alvo molecular/receptor**)
 - Obtenção de uma estimativa da afinidade dessa ligação (pontuação ou “Scoring”)



Complexo
Proteína-ligante

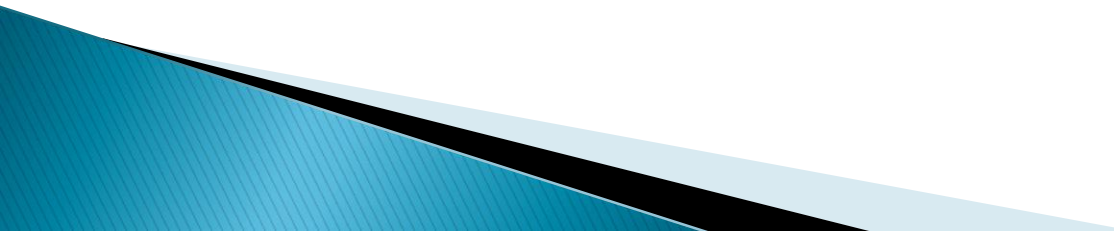
Motivação

- ▶ Desenho Racional de Fármacos Baseado em Estrutura
 - ▶ Possibilidade de redução do tempo e dos altos custos associados ao desenvolvimento de um novo medicamento
 - ▶ Área de pesquisa altamente ativa e desafiante, que tem atraído o interesse de universidades, indústrias farmacêuticas e empresas de biotecnologia
- 


Métodos de Docking

- Começaram a ser desenvolvidos na década de 80
- Vários métodos têm sido implementados desde então no desenvolvimento de programas de docking
- Métodos de docking se diferenciam principalmente em relação:
 - Grau de Flexibilidade Molecular
 - Função de Avaliação (Scoring)
 - Método de Busca

Programa DockThor

- ▶ Docking Ligante Flexível (Receptor Rígido)
 - ▶ Docking com cofatores (moléculas de água, metais, etc.)
 - ▶ Desenvolvido em C++ (algumas rotinas em Fortran)
 - ▶ Parametrização automática do receptor e do ligante
 - ▶ Implementação do campo de força MMFF94
 - ▶ Método de Busca: AG (Algoritmo Genético de Múltiplas soluções)
- 

Algoritmo Genético

- ▶ Inspiração: Teoria da Evolução por seleção natural proposta por Darwin
 - ▶ Principais características:
 - Trabalham sobre uma representação da solução
 - Operam sobre uma população de soluções (indivíduos)
 - Utilizam regras de transição probabilísticas
- 

Algoritmo Genético (AG)

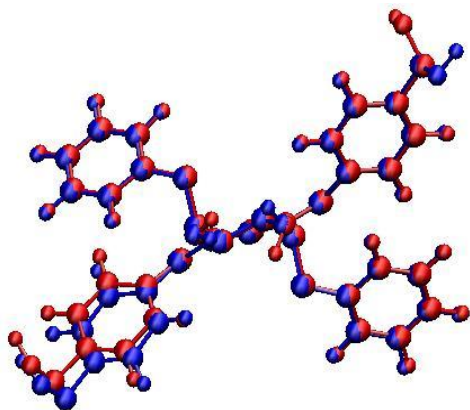
▶ Características:

- Representação da Solução
- Operadores Genéticos
- Função de Avaliação

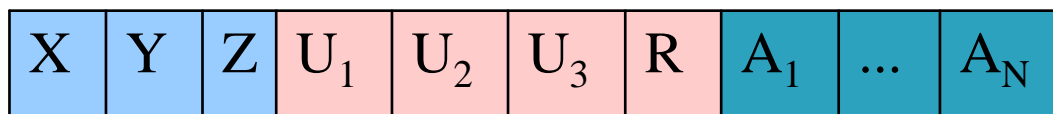
Algoritmo Genético (GA)

- Representação do Ligante

Estrutura 3D



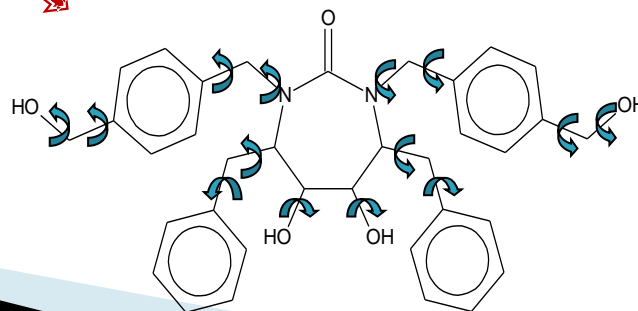
Cromossomo (DOF's)



Translacional

Rotacional

Conformacional



Ligante DMP

Operadores Genéticos

- Exemplo: Crossover de 2-pontos

CROMOSSOMO 1

$V_1 V_2 V_3 V_4 V_5 | V_6 V_7 | V_8$

CROMOSSOMO 2

$V_1 V_2 V_3 V_4 V_5 | V_6 V_7 | V_8$

FILHO 1 $V_1 V_2 V_3 V_4 V_5 V_6 V_7 V_8$

FILHO 2 $V_1 V_2 V_3 V_4 V_5 V_6 V_7 V_8$

Operadores Genéticos

- Exemplo: Mutação

CROMOSSOMO

$V_1 V_2 V_3 V_4 V_5 V_6 V_7 V_8$

Mutação:

$$\mathbf{V}_3 = V_3 + \Delta$$

Novo CROMOSSOMO

$V_1 V_2 \mathbf{V}_3 V_4 V_5 V_6 V_7 V_8$

Algoritmo Genético (AG)

- Gera População Inicial
- Seleciona Indivíduos (pais)
- Seleciona Operador Genético
- Aplica Operador Genético
- **Avalia** Novo Indivíduo
- Insere Novo Indivíduo (filho) na População

Condição de parada:

- Número Máximo de Avaliações de função

Programa DOCKTHOR

- ▶ Função de avaliação baseada no campo de força MMFF94 (Merck Molecular Force Field)

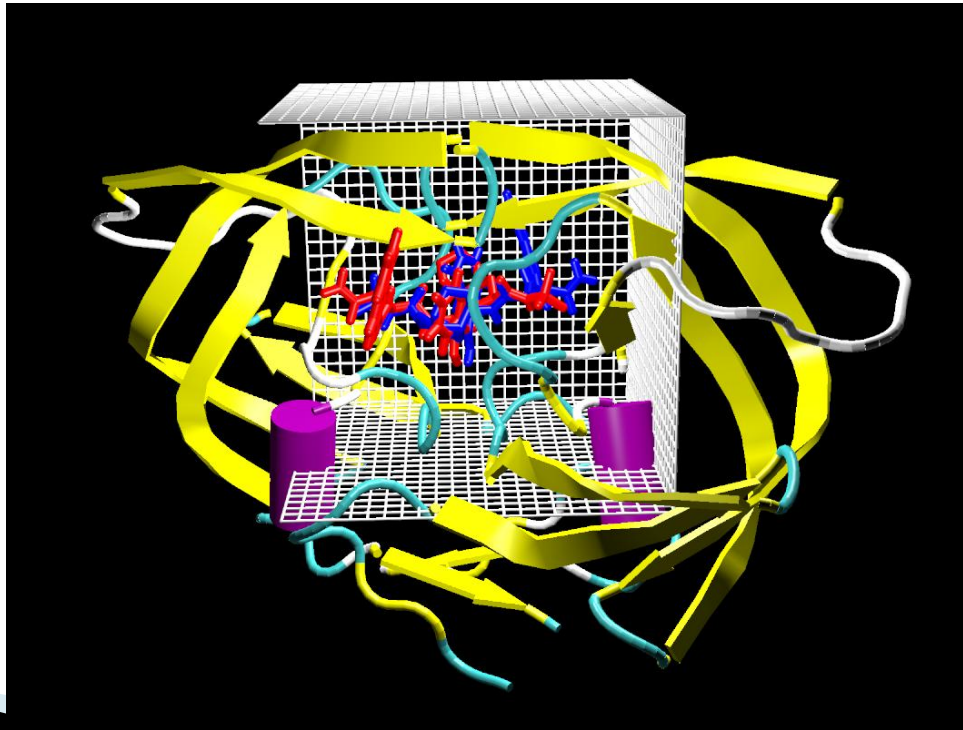
$$EMMFF = (E_{vdWij} + EQ_{ij})_{\text{Receptor-Ligante}} + (E_{vdWij} + EQ_{ij} + ET_D)_{\text{Ligante-Ligante}}$$

- Para todos os pares de átomos i,j
 - Receptor-Ligante } **alto custo computacional**
 - Ligante-Ligante

Metodologia Baseada em Grade

Cálculo da função :

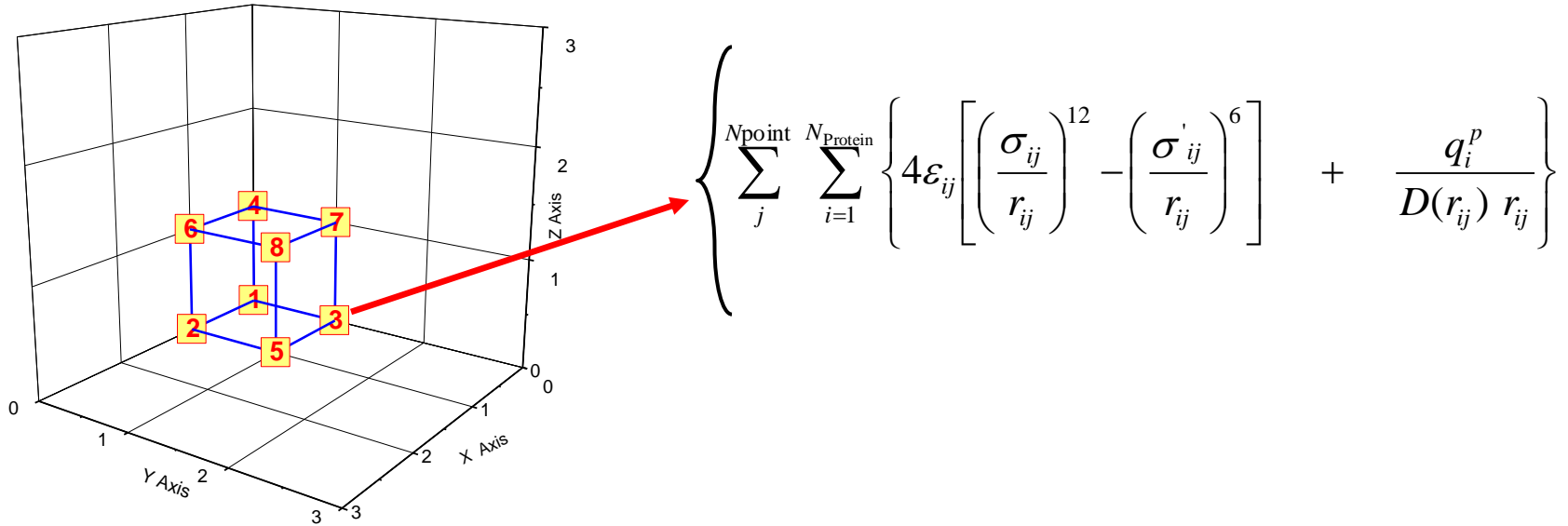
- ▶ Docking na Grade: A energia de interação proteína-ligante para cada conformação investigada é calculada através da interpolação dos valores (pré-calculados) em oito pontos localizados nos vértices de uma célula da malha construída centralizada no sítio ativo do receptor.



Receptor Rígido

Metodologia Baseada em Grade

Exemplo:

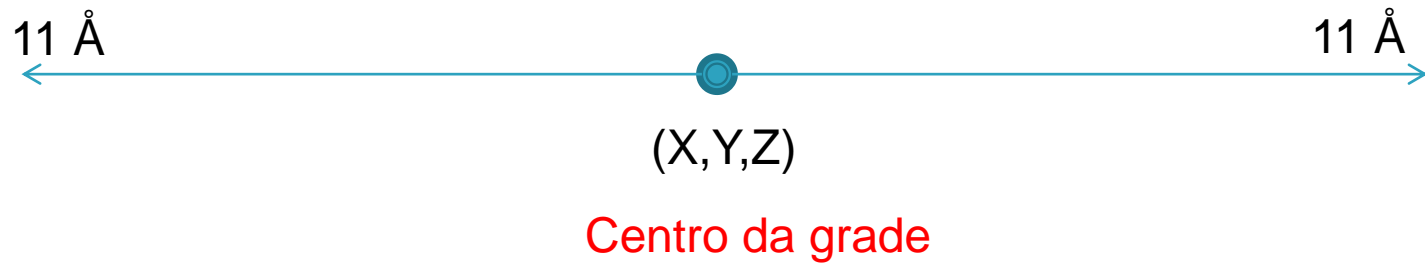


$$\sum_{j=1}^{N_{\text{Ligand}}} \left\{ V(LJ) + q_j^l V(EP) \right\}$$

Interação de vdW e eletrostática pré-calculadas em cada ponto de cada célula da grade

Dockthor

► Grade:




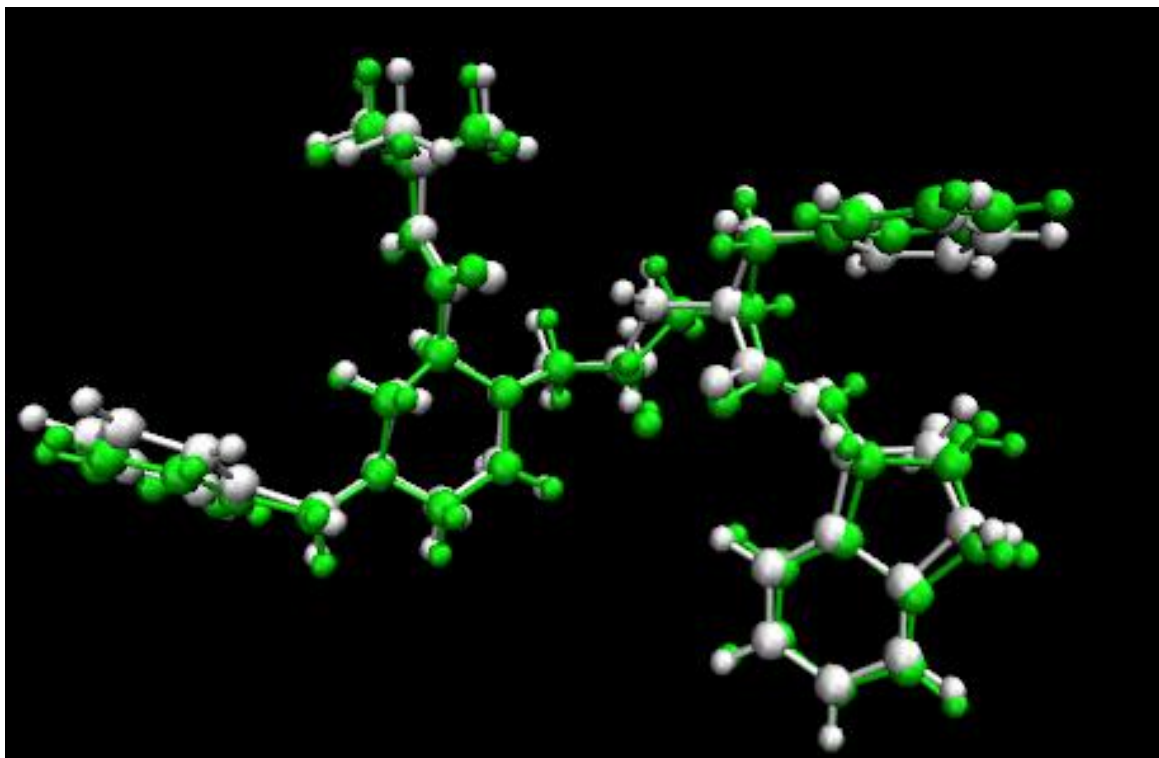
Dimensão total da grade: 22 Å x 22 Å x 22 Å

Múltiplas Soluções em AGs

- Método de seleção–inserção MRTS (Restricted Tournament selection):
 - Indivíduos entram na população substituindo indivíduos similares
 - **Vantagem:** múltiplos modos de ligação podem ajudar na otimização de ligantes

Avaliação dos Métodos de Docking

- ▶ **Reprodução de Estruturas Experimentais:** Capacidade de encontrar estrutura próxima à experimental, como a de menor energia (Útil como controle e para o desenvolvimento de novos algoritmos)
- ▶ Valor do RMSD (Root Mean Square Deviation) entre coordenadas dos átomos da estrutura encontrada pelo algoritmo e da estrutura experimental:
- ▶ Se menor do que 2.0 Å  sucesso.
(embora até 2.5 Å seja considerado um bom resultado)

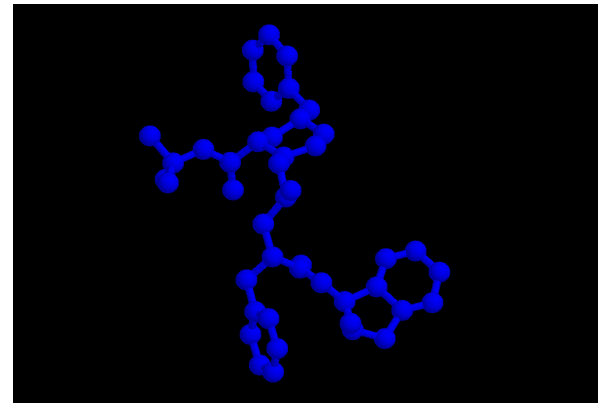
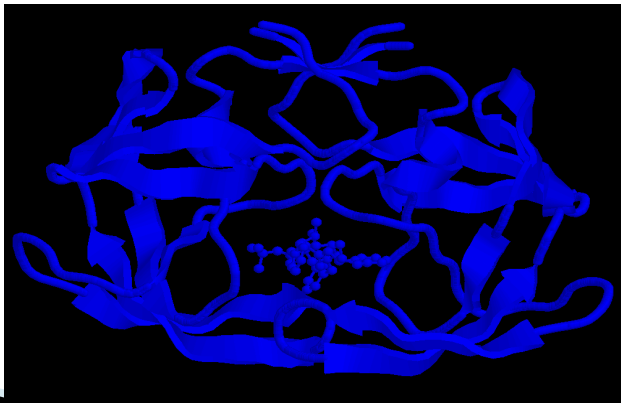
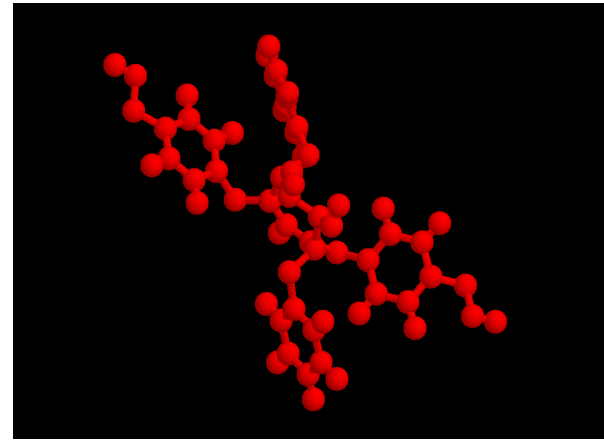
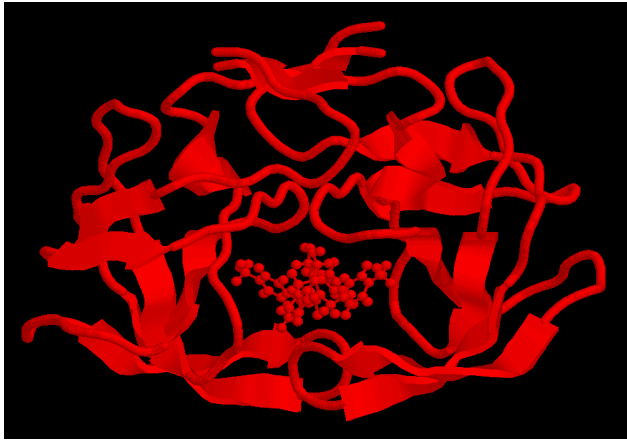


Indinavir
RMSD = 0.55

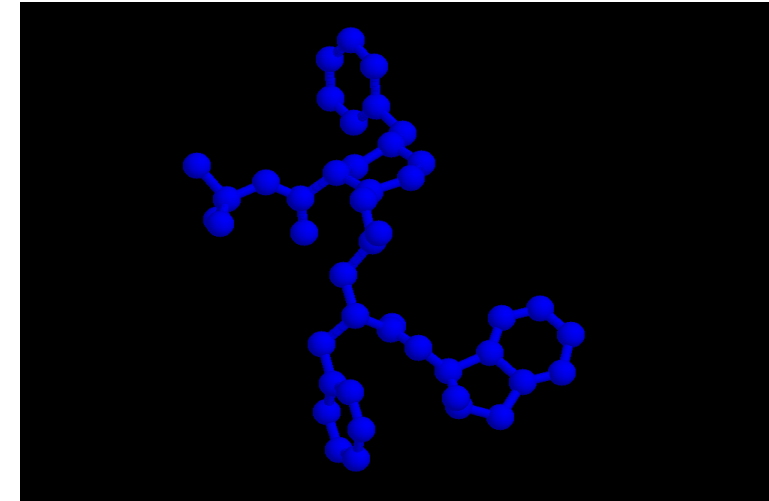
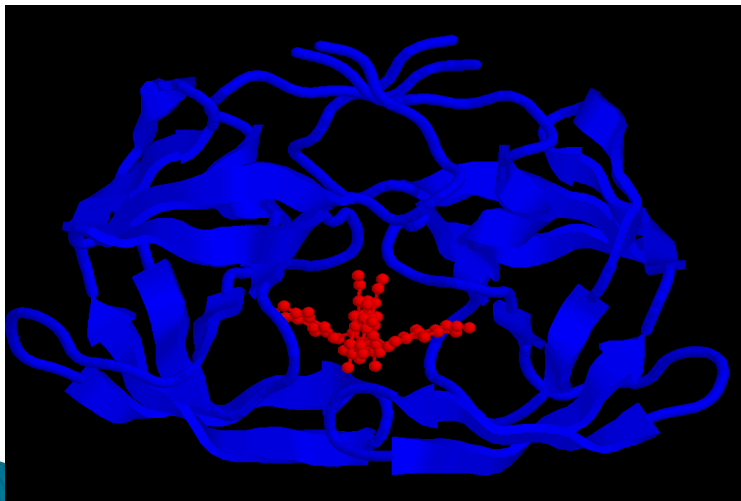
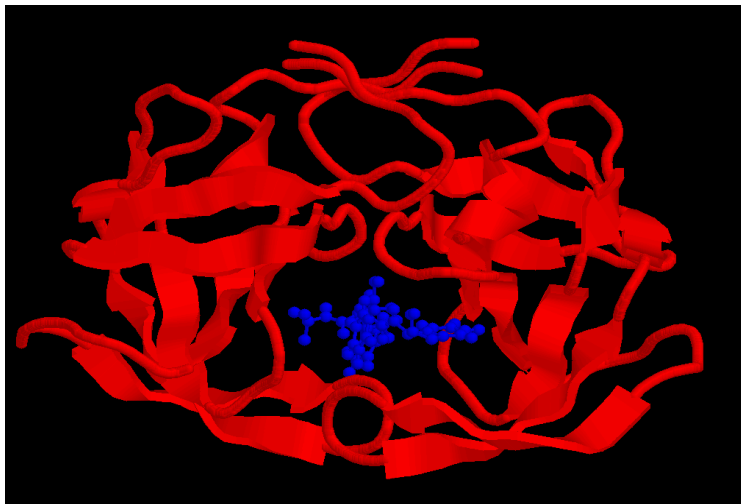
$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n ((v_{ix} - w_{ix})^2 + (v_{iy} - w_{iy})^2 + (v_{iz} - w_{iz})^2)}$$

Redocking

- Conformação originalmente complexada com o ligante



Cross-Docking



Pacote de Programas Dockthor

- **pdbthorbox:** Preparação da Proteína
 - **mmffligand:** Preparação do Ligante
-
- **dockthor:** Docking molecular
-
- **dtstatistic :** Análise dos resultados de docking

Portal DockThor

Um Servidor Web Gratuito para Docking Proteína-Ligante

Isabella A. Guedes, Eduardo Krempser, Diogo Marinho, Camila S. de Magalhães & Laurent E. Dardenne

Laboratório Nacional de Computação Científica – LNCC/MCTI



INPI Software Registration Number 13318-3

www.dockthor.lncc.br

DockThor Portal is a free ligand-receptor docking server developed by the GMMSB/LNCC group with the aim of facilitate and enable the use of the program by the academic community using the computational facilities provided by the SINAPAD high performance platform.

dockthor@lncc.br



dockthor
a receptor-ligand docking program

Home Docking References About Support ▾

Welcome to DockThor Portal

The DockThor Portal, developed by the group GMMSB/LNCC, is a free receptor-ligand docking server idealized to facilitate and enable the use of the docking methodology by the academic community. The implemented DockThor[®] program is a flexible-ligand and rigid-receptor grid based method that employs a multiple solution genetic algorithm and the MMFF94 molecular force field scoring function. The major steps of the ligand and protein preparation are available on the DockThor Portal, being possible to change the protonation states of the amino acid residues and include cofactors (e.g., structural water molecules, metals, organic molecules) as rigid entities. The user can also customize the main parameters of the energy grid and the genetic algorithm.

The results of the docking process are analyzed and ordered automatically. The parameters of the analysis can also be customized by the user. The DockThor Portal employs the computational facilities provided by the SINAPAD (Sistema Nacional de Alto Desempenho) high performance platform.

GMMSB
Grupo de Modelagem Molecular e Simulação

SINAPAD

LNCC

INCT
Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia

FAPERJ
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação

BRASIL
PAÍS DA QUALIDADE E DA INOVAÇÃO

Docking com o Portal DockThor

- ▶ Roteiro para 1º Dia: (1CAQ.pdb)
- ▶ Abrir arquivo Curso_Docking_2014.pdf
 1. Preparação dos arquivos da proteína e do Ligante
 - Visualizar a estrutura 1CAQ.pdb com pymol e gedit
 - Separar o arquivo do ligante (DPS)

Preparação da Proteína

- ▶ Questões importantes:
 - Resolução das estruturas (arquivo .pdb)
 - Inclusão de moléculas de água
 - Protonação dos resíduos:
 - Atenção especial para HIS, CYS, ASP e GLU

Preparação da Proteína

► Arquivos Gerados:

Arquivos	Descrição
resumo.out	Contém informações sobre a preparação da proteína.
*.in	Coordenadas atômicas, cargas parciais e tipo dos átomos da proteína.
*_prep.pdb	Proteína preparada no formato PDB (sem HETATM).
*.A	Gerado por cadeia (identificada na extensão do arquivo), possui os tipos de resíduos de aminoácidos da proteína e é utilizado para alterar os estados de protonação.

Preparação do Ligante

► Arquivos Gerados:

Arquivos	Descrição
*.pdb	Arquivo original do ligante.
*.pdb.top	Possui as coordenadas internas, cargas parciais, tipos de átomos e outras informações do ligante. Será usado para o <i>docking</i> .
new_*.pdb	Arquivo do mesmo formato do original contendo o ligante preparado. Este arquivo só é gerado quando se usa a opção para adicionar hidrogênios.

Dockthor

► Arquivos Gerados:

Arquivos	Descrição
dockthor.out	Armazena todo o log do programa, incluindo o tempo de execução.
parameters.txt	Arquivo dos parâmetros utilizados no <i>docking</i> .
*_diedral.inf	Possui as informações dos diedros do ligante de acordo com os parâmetros definidos no arquivo de topologia .top.
*_run_X.pdb	Soluções líderes de cada <i>cluster</i> obtido na execução X.
*_run_X.log	Resumo das energias dos líderes de cada <i>cluster</i> da execução X.
*.top	Arquivo de topologia do ligante preparado.
*.in	Arquivo da proteína preparada utilizada no <i>docking</i> .

Dockthor

► Arquivos Gerados:

reference_*.format	Arquivo do ligante de referência utilizado para o cálculo do RMSD (<i>format</i> corresponde ao formato do arquivo – <i>pdb</i> , <i>mol2...</i>).
results.out	Arquivo de log do programa dtstatistic.
success_*.log	Taxas de sucesso com relação à energia e RMSD (arquivo gerado apenas se for utilizado um ligante de referência – <i>redocking</i>).
out.mol2	Soluções líderes de cada <i>cluster</i> dentre todas as execuções do AG.
out.log	Resumo das energias dos líderes de cada <i>cluster</i> .

Docking com Dockthor

PARTE 2

**Objetivo: Alterando os Parâmetros
do Docking (1HXW.pdb)**

Seguir o Tutorial!

