ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ 2008
Seria: AUTOMATYKA z. 151 Nr kol. 1797

Marcin PACHOLCZYK, Zbigniew STAROSOLSKI
Politechnika Śląska

DWUPOZIOMOWY MODEL INTERAKCJI BIAŁKO-LIGAND W DOKOWANIU MOLEKULARNYM

Streszczenie. W pracy przedstawiono ideę dwupoziomowego modelu interakcji białko-ligand w problemie dokowania molekularnego. Dokowanie molekularne może być rozpatrywane jako potencjalna metoda komputerowego wspomagania projektowania i optymalizacji działania nowych leków. Stosowana metoda symulacji, z wykorzystaniem map stochastycznych, wywodząca się z losowych metod planowania trajektorii w robotyce, może być uważana za niezwykle interesujące, nowe podejście do efektywnego próbkowania przestrzeni konformacyjnej ligandu wokół białka. Oddziaływanie białko-ligand podzielone jest na dwie części – elektrostatykę modelowaną za pomocą równania Poissona-Boltzmanna oraz oddziaływania van der Waalsa reprezentowane przez potencjał Lennarda-Jonesa. Mapa stochastyczna w połączeniu z geometrycznym modelem interakcji białko-ligand, takim jak LUDI, może dać pełny obraz procesu dokowania molekularnego, począwszy od fazy niezwiązanej, na fazie końcowej, gdy ligand wiązany jest specyficznymi dla miejsca wiążącego oddziaływaniami, skończywszy.

TWO-LEVEL MODEL OF PROTEIN-LIGAND INTERACTION FOR MOLECULAR DOCKING

Summary. In the paper we present an idea of two-level model of protein-ligand interaction for the problem of molecular docking. Molecular docking can be regarded as a potential method for computer aided drug design and optimization. We use stochastic roadmap methodology, inspired by probabilistic path planning in robotics, which can be regarded as a very interesting novel approach to effective sampling of ligand conformational space around a protein molecule. Protein - ligand interaction in divided into two parts electrostatics, modeled by the Poisson-Boltzmann equation, and van der Waals interaction represented by the Lennard-Jones potential. The stochastic roadmap combined with geometrical model of protein – ligand interaction, such as LUDI, could give full insight into the molecular docking problem from unbound phase to the final phase when a ligand is bound to the binding site of a protein.

1. Wprowadzenie

W dużym uproszczeniu problem dokowania molekularnego można sformułować jako zadanie dopasowania ligandu (np. molekuły leku) do miejsca wiążącego (w przypadku enzymów często nazywanego aktywnym lub katalitycznym) receptora (w tym przypadku dowolnego białka). Dokowanie molekularne może być rozpatrywane jako potencjalna metoda komputerowego wspomagania projektowania leków. Skuteczne dokowanie wiąże się z geometrycznym oraz energetycznym dopasowaniem ligandu do miejsca wiążącego. W literaturze można odnaleźć wiele propozycji rozwiązania problemu dokowania molekularnego [1]. Według naszej najlepszej wiedzy większość z opublikowanych metod, z uwagi na znaczną komplikację problemu, bierze pod uwagę jedynie niektóre aspekty dokowania molekularnego. Praktycznie nie istnieje metoda, która uwzględniałaby całą dynamikę procesu dokowania molekularnego, począwszy od fazy, w której niezwiązany ligand porusza się w przestrzeni wokół białka, pod wpływem pola sił generowanego przez białko i środowisko wodne, do fazy końcowej, gdy ligand utrzymywany jest w miejscu wiążącym przez specyficzne oddziaływania, takie jak wiązania wodorowe czy oddziaływania hydrofobowe. Każdy system dokowania molekularnego musi zawierać trzy kluczowe elementy, a mianowicie: reprezentację systemu (modele ligandu, białka oraz środowiska ich oddziaływania), algorytm przeszukujący przestrzeń możliwych rozwiązań oraz metodę oceny otrzymanych wyników.

2. Dokowanie molekularne jako proces statyczny

Większość komercyjnych systemów dokowania molekularnego zostało zoptymalizowanych pod względem użyteczności w procesie wirtualnych badań przesiewowych wysokiej przepustowości (ang. Virtual High Troughput Screening). HTS to metoda pozwalająca na przebadanie tysięcy potencjalnych tzw. struktur wiodących będących podstawą do projektowania nowych leków. Podejście tego typu nie jest może najlepszą metodą modelowania interakcji białko-ligand, jednak jest dostatecznie szybkie, aby w akceptowalnym przedziale czasu przeszukać ogromne bazy potencjalnych kandydatów na nowe leki (pojedyncze minuty na jeden komponent) i uzyskać w rezultacie potencjalne struktury wiodące.

Najczęściej metody VHTS używają pewnego ogólnego modelu interakcji białko-ligand, na podstawie którego opracowuje się system punktacji w postaci funkcji kosztów, służący ocenie uzyskiwanych wyników, a co za tym idzie, oszacowaniu jakości dopasowania ligandu i miejsca wiążącego. Problem dokowania molekularnego jest często sprowadzany do poszukiwania najlepszego położenia i konformacji ligandu w miejscu wiążącym, którego lokalizacja i charakterystyka muszą być uprzednio znane. W większości obecnie stosowanych metod białko jest nieruchomą bryłą sztywną opisaną np. powierzchnią dostępną dla rozpuszczalnika (ang. Solvent Accessible Surface) [2]. Poszukiwanie właściwego położenia i konformacji ligandu w miejscu wiążącym jest zwykle przeprowadzane przez pewien algorytm starający się zoptymalizować wspomnianą funkcję kosztów (maksymalizacja lub minimalizacja funkcji kosztów przy określonych ograniczeniach). Podejście tego rodzaju nie daje odpowiedzi na pytanie, czy możliwe jest wejście ligandu do miejsca wiążącego w

określonej optymalnej konformacji lub gdzie w ogóle znajduje się miejsce wiążące, ale w połączeniu z odpowiednim modelem interakcji białko-ligand, np. LUDI [3], może być podstawą do wywiedzenia interesujących wniosków na temat zjawisk zachodzących w miejscu wiążącym. Otrzymujemy narzędzie pozwalające stwierdzić, w jakiego rodzaju interakcje wchodzi ligand z miejscem wiążącym i, co jest najbardziej interesujące, zlokalizować je w przestrzeni trójwymiarowej. Możemy odpowiedzieć np.na pytanie, które z atomów ligandu tworzą wiązania wodorowe z atomami miejsca wiążącego lub które fragmenty ligandu znajdują się pod wpływem oddziaływań hydrofobowych lub jonowych itp. Oczywiście, żadna z tych metod nie jest jeszcze w pełni doskonała. Obecnie prowadzone prace koncentrują się głównie na konstrukcji wydajnych algorytmów przeszukujących oraz budowie systemów oceny jakości otrzymywanych rozwiązań. Ciekawą dziedziną są również prace mające na celu uwzględnienie giętkości białek w miejscu wiążącym, w celu uwzględnienia ich modyfikacji pod wpływem wiązania ligandów.

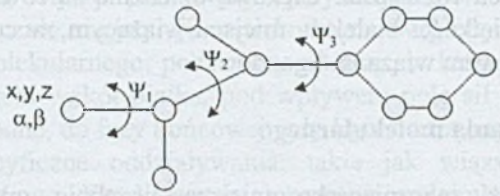
3. Dynamika dokowania molekularnego

Istnieje również znacznie skromniejsza liczebnie grupa metod, głównie teoretycznych, próbujących bezpośrednio modelować dynamikę oddziaływania białko-ligand. Klasyczna dynamika molekularna (ang. *Molecular Dynamics*) jest zwykle uważana za niepraktyczną z uwagi na gigantyczne wymagania obliczeniowe. Zazwyczaj jedynie kilka nanosekund takiej symulacji jest w zasięgu mocy obliczeniowej dzisiejszych superkomputerów. Są jednak metody pozwalające z akceptowalną dokładnością przybliżyć dynamikę interakcji białko-ligand przez efektywne próbkowanie wielowymiarowej przestrzeni konformacyjnej ligandu poruszającego się w trójwymiarowej przestrzeni wokół białka. Jedną z najnowszych metod typu Monte Carlo (MC) jest symulacja metodą map stochastycznych (ang. *Stochastic Roadmap Simulation*) [4, 5, 6], metoda wywodząca się z losowych technik planowania trajektorii w robotyce. W odróżnieniu od klasycznych metod Monte Carlo, SRS umożliwia próbkowanie wielu możliwych ścieżek, jakie może obrać ligand na drodze do miejsca wiążącego. Idea tej metody opiera się na losowaniu pewnych pośrednich konfiguracji w celu otrzymania rozkładu korzystnych energetycznie ścieżek prowadzących ligand do miejsca wiążącego. Przy użyciu oryginalnej metody SRS jesteśmy w stanie odnaleźć miejsce wiążące i niejednokrotnie odróżnić np. miejsce katalityczne enzymu od innych potencjalnych miejsc wiążących (Apaydin i wsp. proponują tutaj obliczanie tzw. czasu ucieczki z miejsca wiążącego jako miarę dopasowania energetycznego ligandu do miejsca wiążącego) [4, 5, 6]. Metoda SRS nie umożliwia jednak uzyskania informacji na temat rodzajów i charakteru interakcji pomiędzy ligandem i miejscem wiążącym (wiązania wodorowe itp.) i zdaniem autorów, powinna być powiązana z którymś ze wspomnianych w poprzednim paragrafie bezpośrednich modeli interakcji białko-ligand w miejscu wiążącym, np. LUDI [3].

4. Modele biomołekul

Modelowanie ligandu (metoda SRS)

Przez ligand będziemy rozumieli małą molekułę o niewielkiej liczbie stopni swobody (ok. 10-20). W pierwszej kolejności do jednego z wybranych atomów, tzw. atomu bazowego, przypisujemy trzy współrzędne kartezjańskie (x,y,z), które opisują położenie ligandu w przestrzeni i dwa kąty (α, β) opisujące orientację wiązania bazowego, następnie przypisujemy każdemu wiązaniu niekońcowemu jeden kąt dihedralny (dwuścienny), tworząc w ten sposób konformacyjne stopnie swobody (rys. 1). Wewnętrzne oddziaływania pomiędzy atomami ligandu podzielone są na część Coulombowską i van der Waalsa [4].



Rys. 1 Stopnie swobody hipotetycznego ligandu

Pole sił wokół białka (metoda SRS)

Środowisko wokół białka modelowane jest jako oddziaływania elektrostatyczne i van der Waalsa. Oddziaływania te generują siły przyciągające i odpychające, wywołujące w konsekwencji ruch molekuł [4]. Część elektrostatyczna modelowana jest za pomocą równania Poissona-Boltzmanna (PBE) [7]

$$\nabla\left[\varepsilon(r)\nabla\phi(r)\right]-\varepsilon(r)\kappa^2\sinh\left[\phi(r)\right]+4\pi\rho(r)=0 \qquad (1)$$

gdzie: ε - przenikalność dielektryczna, ϕ - potencjał elektrostatyczny, ρ - gęstość ładunku, κ - odwrotna długość Debye'a-Hueckela, r – wektor położenia w przestrzeni trójwymiarowej.

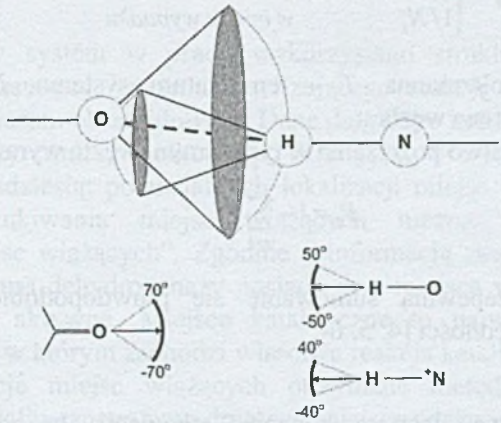
Model w postaci PBE (1) znacznie lepiej odzwierciedla rzeczywistą sytuację niż proste prawo Coulomba i zawiera takie składniki, jak zależną od położenia w przestrzeni przenikalność dielektryczną (jako że ta zmienia się istotnie w przestrzeni i wynosi 80 dla wody i ok. 2 dla białka) [7] oraz wpływ na potencjał elektrostatyczny ładunków mobilnych jonów (naturalne dla białka środowisko to słony roztwór wodny). Białko jest modelowane jako bryła sztywna opisana powierzchnią SAS [2]. Analityczne rozwiązanie PBE istnieje jedynie dla systemów o prostej geometrii (powierzchnia białka jest niezwykle złożona), tak więc w praktyce stosuje się rozwiązania numeryczne otrzymane np. metodą różnic skończonych. W celu rozwiązania PBE w trzech wymiarach autorzy wykorzystują dwa programy komputerowe DelPhi [8] oraz APBS [9]. Oba programy posiadają znaczne możliwości konfiguracji zarówno parametrów równania, jak i samej metody obliczeniowej. Dodatkowo APBS posiada znakomite oprogramowanie wizualizacyjne VMD [10]. Oddziaływania van der Waalsa modelowane są za pomocą potencjału Lennarda-Jonesa (2) wyliczonego dla tej samej co PBE trójwymiarowej siatki:

$$E_v = \epsilon_0 \left[\left(\frac{r}{r_0} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r}{r_0} \right)^{6} \right] \quad (2)$$

gdzie: r – odległość od rozpatrywanego atomu (euklidesowa), r_0, ϵ_0 – stałe zależne od środowiska.

Powierzchnie interakcji (model LUDI)

Jako model interakcji białko-ligand w miejscu wiążącym w pracy wykorzystano model LUDI wprowadzony po raz pierwszy przez H.-J. Bohma [3] i zaadaptowany do postaci powierzchni interakcji przez M. Rareya i wsp. [11]. Model uwzględnia kilka możliwych typów interakcji, np. wiązania wodorowe czy oddziaływania jonowe. Sama interakcja modelowana jest za pomocą centrum interakcji i powierzchni interakcji. Aby doszło do interakcji, centrum interakcji związane z atomem ligandu musi leżeć na powierzchni interakcji związanej z atomem białka i odwrotnie. Powierzchnia interakcji modelowana jest za pomocą dyskretnych punktów w przestrzeni trójwymiarowej. Dzięki takiej reprezentacji biochemiczne reguły dotyczące preferowanych geometrii modelowanych interakcji, można zapisać w kompaktowej formie geometrycznej łatwej do przechowywania i obróbki w pamięci komputera. Rysunek 2 przedstawia ideę modelu i kilka przykładowych powierzchni interakcji. Informacje dotyczące innych typów interakcji czytelnik odnajdzie w literaturze [3,11]. Autorzy używają własnej implementacji modelu LUDI w systemie Matlab 7.



Rys. 2. Idea modelu LUDI i przykładowe powierzchnie interakcji

5. Symulacja z wykorzystaniem map stochastycznych

Symulacja z wykorzystaniem map stochastycznych (ang. *Stochastic Roadmap Simulation*) [4, 5, 6] jest metodą efektywnego przeszukiwania przestrzeni konformacyjnej ligandu wokół białka. *SRS* jest inspirowana technikami losowego generowania trajektorii w robotyce [12].

Budowa mapy stochastycznej

Apaydin i wsp. [4, 5, 6] definiują mapę jako dyskretną reprezentację ruchów molekularnych. Każdy węzeł na mapie reprezentuje określoną konformację ligandu

znajdującego się w pewnym położeniu i posiadającego określoną orientację w przestrzeni trójwymiarowej. Formalnie reprezentacją konformacji, opisanej za pomocą n parametrów, jest n-wymiarowy wektor $q = [q_1, q_2, ..., q_n]$. Współrzędnymi tego wektora są również położenie i orientacja ligandu w przestrzeni trójwymiarowej. Zbiór wszystkich możliwych konformacji tworzy przestrzeń konformacyjną C. W metodzie *SRS* interakcja białko-ligand charakteryzowana jest za pomocą funkcji energii $E(q)$, której wartość zależy wyłącznie od konformacji oraz położenia i orientacji ligandu w przestrzeni trójwymiarowej. Nie zakłada się żadnej szczególnej postaci tej funkcji. Ścieżka w przestrzeni C reprezentuje ruch ligandu w przestrzeni wokół białka, przy jednoczesnej możliwej zmianie konformacji ligandu. Mapa może być rozpatrywana jako graf skierowany G reprezentujący wiele ścieżek molekularnych w przestrzeni C. Każdemu z węzłów mapy odpowiada losowo wybrana konformacja oraz położenie i orientacja ligandu w przestrzeni wokół białka, którym odpowiada energia $E(q)$. Każdy ze skierowanych łuków pomiędzy węzłami v_i i v_j posiada skojarzoną wagę P_{ij}, równą prawdopodobieństwu przejścia pomiędzy tymi dwoma węzłami. W celu stworzenia mapy należy losowo i niezależnie wybrać k węzłów w przestrzeni C. Następnie dla każdego węzła v_i należy odnaleźć N_i najbliższych, w myśl zastosowanej miary (np. RMSD lub euklidesowej w przestrzeni C), sąsiadów. Prawdopodobieństwo P_{ij} jest obliczane dla każdej pary sąsiadujących węzłów. Kalkulacja P_{ij} bazuje na różnicy energii w węzłach v_i i v_j zgodnie z zależnością:

$$P_{ij} = \begin{cases} 1/N_i \exp(-\Delta E_{ij}/k_B T) & if \quad \Delta E_{ij} > 0 \\ 1/N_i & w\ innym\ wypadku \end{cases} \tag{3}$$

gdzie: k_B – stała Boltzmanna, T – temperatura systemu, N_i – liczba węzłów w najbliższym sąsiedztwie węzła v_i.

Prawdopodobieństwo pozostania w tym samym węźle wyrażone jest wzorem:

$$P_{ii} = 1 - \sum_{j \neq i} P_{ij} \tag{4}$$

Powyższa formuła zapewnia sumowanie się prawdopodobieństw przejścia dla dowolnego węzła do jedności [4, 5, 6].

Symulacja

Chociaż możliwe jest wykonanie symulacji bezpośrednio na mapie stochastycznej, co odpowiada dyskretnej wersji klasycznej metody Monte Carlo (dyskretyzację definiuje w tym przypadku sama mapa stochastyczna), Apaydin i wsp. [4, 5, 6] sugerują brak konieczności dokonywania jakichkolwiek symulacji polegających na wyznaczaniu konkretnych trajektorii molekularnych i proponują wyliczanie interesujących parametrów. Jako przykład podawany jest czas ucieczki (w krokach symulacji) z leja energetycznego w okolicach miejsca wiążącego, mogący być miarą dopasowania ligandu do miejsca wiążącego. Lej energetyczny F_i zdefiniowany jest jako zbiór konformacji w promieniu 10 Å RMSD od konformacji ligandu w stanie związanym. Czas ucieczki może być w łatwy sposób obliczony z wykorzystaniem metody pierwszego kroku (ang. *first step analysis*) [13] z teorii łańcuchów Markowa, przez rozwiązanie układu równań [4, 5, 6]:

$$\tau_i = 1 + \sum_{v_j \in F_i} P_{ij} \cdot \tau_j \tag{5}$$

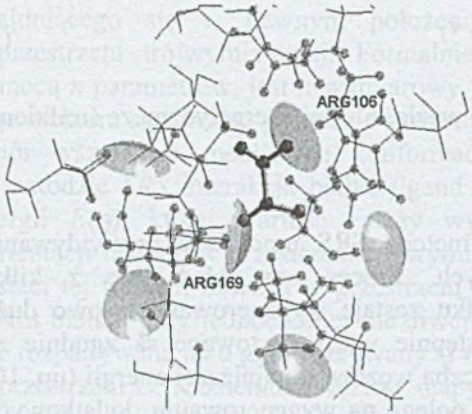
gdzie: τ_i – czas ucieczki począwszy od i-tego węzła, F_i – lej energetyczny ze środkiem w węźle i, v_i – i-ty węzeł.

Przewidywanie miejsc wiążących

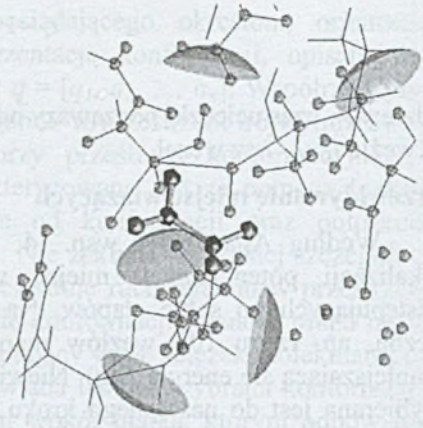
Według Apaydina i wsp. [4, 5, 6] metoda SRS umożliwia przewidywanie lokalizacji potencjalnych miejsc wiążących. Proces ten składa się z kilku następujących po sobie etapów. Na początku zostaje wygenerowana losowo duża liczba, np. rzędu 10^8, węzłów mapy. Następnie węzły sortowane są zgodnie ze zmniejszającą się energią $E(q)$. Niewielka liczba węzłów o najniższej energii (np. 10) wybierana jest do następnego kroku, który polega na wygenerowaniu dodatkowych węzłów w bezpośrednim sąsiedztwie węzłów wybranych wcześniej. Chodzi tutaj o wyznaczenie minimów lokalnych wielowymiarowej funkcji energii $E(q)$, której postać analityczna jest, oczywiście, nieznaną, metodą losową. W końcowym etapie węzły o najniższej energii filtrowane są ze względu na wzajemną odległość, która, dla uniknięcia wielokrotnej reprezentacji tego samego miejsca wiążącego, musi być większa od 10 Å oraz ze względu na odległość od powierzchni białka nie większa niż 5 Å (miejsce wiążące powinno się znajdować na powierzchni białka lub bardzo blisko tej powierzchni).

6. Wyniki i dyskusja

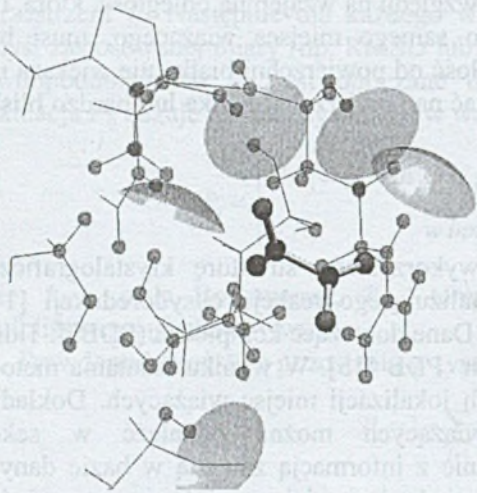
Jako modelowy system w pracy wykorzystano strukturę krystalograficzną dehydrogenazy mleczanowej, enzymu katalizującego reakcję oksydoredukcji [14], wraz z ligandem – kwasem oksamidowym. Dane dotyczące kompleksu (PDBid: 1ldm) zostały pobrane z bazy struktur białkowych PDB [15]. W wyniku działania metody SRS otrzymano kilkadziesiąt potencjalnych lokalizacji miejsc wiążących. Dokładny opis techniki poszukiwania miejsc wiążących można odnaleźć w sekcji „Przewidywanie miejsc wiążących". Zgodnie z informacją zawartą w bazie danych PDBSum [16], struktura dehydrogenazy posiada dwa miejsca wiążące, w tym jedno katalityczne miejsce aktywne. Miejsce katalityczne to najważniejszy region na powierzchni enzymu, w którym zachodzi właściwa reakcja katalizowana przez enzym. Potencjalne lokalizacje miejsc wiążących otrzymane metodą SRS skupiają się w rejonie miejsca katalitycznego oraz drugiego miejsca wiążącego wskazanego przez strukturę krystalograficzną można dostrzec również dwa inne potencjalne miejsca wiążące (rys. 3). Celem pracy było m.in. wykazanie, czy za pomocą modelu LUDI będzie można wykryć istotne interakcje pomiędzy ligandem a proponowanymi przez metodę SRS miejscami wiążącymi. W przypadku miejsca katalitycznego wykryto wiązania wodorowe pomiędzy ligandem i aminokwasami ARG106 oraz ARG169, wykryto również wiązanie wodorowe w drugim z miejsc wiążących wskazanym przez strukturę krystalograficzną. W przypadku dwóch pozostałych miejsc wiążących, przewidywanych metodą SRS, pomimo istnienia donorów wiązania wodorowego, zgodnie z modelem LUDI, żadne istotne interakcje nie występują.



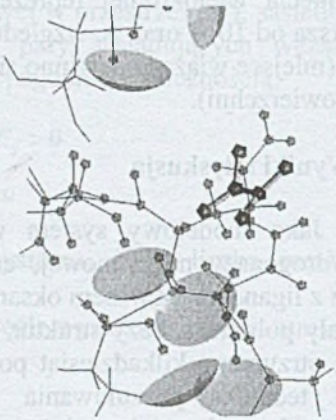
Rys. 3. Miejsce katalityczne 1ldm



Rys. 4. Miejsce wiążące wskazane przez strukturę krystalograficzną



Rys. 5. Potencjalne miejsce wiążące



Rys. 6. Potencjalne miejsce wiążące

7. Wnioski

W pracy zaprezentowano połączenie dwóch modeli interakcji białko-ligand. Za pomocą geometrycznego modelu miejsca wiążącego LUDI starano się wykryć istotne interakcje w potencjalnych miejscach wiążących wskazanych przez metodę SRS. Z przeprowadzonych badań wynika, iż za pomocą takiego połączenia możliwe jest zarówno prawidłowe przewidywanie położenia miejsca wiążącego, jak i wykrywanie interakcji typu wiązania wodorowe, co zostało pokazane dla dwóch miejsc wiążących zgodnych ze strukturą krystalograficzną. Dla dwóch innych propozycji wskazanych przez metodę SRS nie udało się wykryć bezpośrednich interakcji, pomimo istnienia donorów wiązania wodorowego w obu miejscach wiążących. Autorzy sugerują tu zastosowanie pewnego rodzaju optymalizacji położenia ligandu w miejscu wiążącym

(według kryterium geometrycznego lub energetycznego), np. metodą klasteryzacji położeń [11], co powinno zwiększyć dopasowanie ligandu do białka i umożliwić wykrycie istotnych interakcji. Podsumowując, należy wspomnieć, że metoda polegająca na połączeniu dwóch modeli o różnych stopniach szczegółowości posiada ogromne potencjalne możliwości charakteryzowania interakcji białko-ligand, wymaga jednak dogłębnego przebadania i oceny właściwości na większym zbiorze kompleksów białko-ligand.

***

Prezentowana praca naukowa jest finansowana ze środków na naukę w latach 2007/2008 jako projekt badawczy promotorski N N519 2358 33.

BIBLIOGRAFIA

1. Perola E., Walters W.P. and Charifson P.S.: A detailed comparison of current docking and scoring methods on systems of pharmaceutical relevance. Proteins, 56, 2004, p. 235-249.
2. Conolly M.L.: Solvent-accesible surfaces of proteins and nucleic acids. Science, 1983, 221(4612), p. 709-713.
3. Böhm H-J.: LUDI: rule-based automatic design of new substituents for enzyme inhibitor leads. Journal of Computer Aided Molecular Design, 6, 1992, p. 593-606.
4. Apaydin M. S., Brutlag D. L., Guestrin C. E., Hsu D., Latombe J-C., Varma C.: Stochastic Roadmap Simulation: An Efficient Representation and Algorithm for Analyzing Molecular Motion. Journal of Computational Biology, 10 (3-4), 2003, p. 257-281.
5. Apaydin M. S., Guestrin C. E., Varma C., Brutlag D. L., Latombe J-C.: Stochastic roadmap simulation for the study of ligand-protein interactions. Bioinformatics, 18 sup. 2, 2002, S18-S26.
6. Apaydin M.S.: Stochastic Roadmap Simulation: An Efficient Representation and Algorithm for Analyzing Molecular Motion. Ph. D. thesis, Stanford University, 2004.
7. Sharp K.A., Honig B.: Electrostatic interactions in macromolecules: Theory and applications. Annual Reviews of Biophysics and Biophysical Chemistry, 19, 1990, p. 301-332.
8. Rocchia W., Alexov E., Honig B.: Extending the applicability of the nonlinear Poisson-Boltzmann equation: Multiple dielectric constants and multivalent ions. Journal of Physical Chemistry B, 105, 2001, p. 6507-6514.
9. Holst M. J., Saied F.: Numerical solution of the nonlinear Poisson-Boltzmann Equation: Developing more robust and efficient methods. Journal of Computational Chemistry, 16 (3), 1995, p. 337-364.
10. Humphrey W., Dalke A. and Schulten K. VMD - Visual Molecular Dynamics, Journal of Molecular Graphics, vol. 14, 1996, p. 33-38.

11. Rarey M., Wefing S., Langauer T.: Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins. Journal of Computer Aided Molecular Design, 10, 1996, p. 41-54.
12. Singh A.P., Latombe J.C. and Brutlag D.L.: A motion planning approach to flexible ligand binding. In Proceedings of the 1999 International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology (Heidelberg, Germany, Aug. 6-10), 1999, p. 252–261.
13. Taylor H., Karlin S.: An introduction to stochastic modeling. Academic Press, San Diego 1998.
14. Abad-Zapatero C., Griffith J.P., Sussman J.L., Rossmann M.G.: Refined crystal structure of dogfish M4 apo-lactate dehydrogenase. Journal of Molecular Biology, 198, 1987, p. 445-67.
15. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E.: The Protein Data Bank. Nucleic Acids Research, 28, 1992, p. 235-242.
16. Laskowski R. A., Chistyakov V. V., Thornton J. M.: PDBsum more: new summaries and analyses of the known 3D structures of proteins and nucleic acids. Nucleic Acids Res., 33, 2005, D266-D268.

Recenzent: Prof. dr hab. inż. Jacek Błażewicz

Abstract

In the paper we present an idea of two-level model of protein-ligand interaction for the problem of molecular docking. Molecular docking can be regarded as a potential method for computer aided drug design and optimization. We use stochastic roadmap methodology, inspired by probabilistic path planning in robotics, which can be regarded as a very interesting novel approach to effective sampling of ligand conformational space around a protein molecule. Protein - ligand interaction in divided into two parts electrostatics, modeled by the Poisson-Boltzmann equation, and Van der Waals interaction represented by the Liennard-Jones potential. The stochastic roadmap combined with geometrical model of protein – ligand interaction, such as LUDI, could give full insight into the molecular docking problem from unbound phase to the final phase when a ligand is bound to the binding site of a protein. Clearly our method is capable of detecting significant protein-ligand interactions (like hydrogen bonds) what has been shown for the catalytic site. However, in case of putative binding sites in two out of three cases we were unable to detect any direct protein-ligand interactions even though there exist potential hydrogen bond donors in all the binding sites. We suggest that a kind of optimization of the placement of the ligand inside putative binding site (whether energy or geometry based, i.e. pose clustering proposed in [11]) would improve the ligand binding affinity and probably reveal additional protein-ligand interactions. We conclude that our approach has a great potential of characterization of protein-ligand interactions however more research is needed concerning another protein examples and different binding sites configurations.