

PB1.3. Interakce mezi proteiny (PPI) jako cíl výpočetního návrhu léků pomocí fragmentů (Hobza)

Cíle výzkumu

- Analyzovat konformační flexibilitu komplexu insulinu s jeho receptorem na základě publikovaných struktur z krystalografie a výpočetních metod.
- Prozkoumat dynamiku CTSK a GlpG v komplexu se známými inhibitory.
- Vypočítat příspěvky k vazebné energii na úrovni SQM pro rezidua insulinu; identifikovat “horká místa” (angl. “hotspots”) pro návrh peptidomimetik.
- Zahrnout nové motivy PPI získané ze studovaných systémů do nové databáze nekovalentních interakcí a spočítat referenční energie.
- Použít tyto referenční energie pro ověření a korekce SQM a MM metod.
- Virtuální prohledávání knihoven fragmentů s cílem najít takové, které by se vázaly k “horkým místům” insulinového receptoru (bude následovat experimentální ověření).
Iterativní návrh nových ligandů proteinů pomocí strategie spojování či zvětšování fragmentů (bude následovat experimentální ověření).

Výzkumný plán a metodologie

Naším náročným cílem je výpočetní studium PPI, které jsou důležité ve farmaceutickém výzkumu, např. insulin a jeho receptor, CTSK a jeho inhibitory a intramembránová proteasa GlpG v komplexu s peptidy. Budeme se věnovat dynamice biomolekulových struktur a energetickým příspěvkům k vazbě. Tato znalost nám umožní virtuálně prohledávat knihovny fragmentů a snažit se najít části nových silných ligandů s farmaceutickým potenciálem.

Na tyto otázky můžeme odpovědět, pouze když budeme mít v ruce spolehlivý výpočetní arzenál. Proto budeme potřebovat sestavit nové databáze nekovalentních motivů přítomných v PPI. Tyto budou vypočítány na přesné úrovni CCSD(T)/CBS a budou sloužit jako referenční hodnoty pro parametrizaci SQM a MM metod. Množství struktur v okolí rovnovážných geometrií (distanční a angulární skeny) budou použity a tím bude mimikována dynamika interakčních motivů. Tento projekt bude využívat ve velké míře superpočítačů a výsledky budou sloužit spolupracujícím experimentálním skupinám.

V prvním kroku budeme potřebovat porozumět dynamice studovaných PPI. K tomu využijeme naši rozsáhlou expertízu s klasickou molekulovou dynamikou (MD)¹⁻⁴ a v případě primárního vazebného místa (“Site 1”) pro insulin na IR též zkušenosti s metodou “MD-based flexible fitting”.⁵ Ve vazebných konformacích budou hledány nové interakční motivy, které pak budou přidány do databáze nekovalentních interakcí. Na ně bude aplikována vysoce přesné metody QM včetně CCSD(T)/CBS.⁶ Tato data poslouží pro ověření a další vývoj přibližných metod, které se dají použít pro větší systémy, jako např. semiempirické QM metody (SQM). Solvatace bude řešena implicitním modelem COSMO (spojením vzniká účinná metoda SQM/COSMO⁷). V nutných případech přistoupíme též k zahrnutí termodynamiky explicitních molekul vod na hranici interakce mezi proteiny.⁸

S touto výpočetní výbavou budeme dokovat nepeptidové peptidomimetické fragmenty do několika konformerů vazebných míst insulinového receptoru (pouze primární vazebné místo bylo popsáno krystalograficky), CTSK a GlpG (u GlpG budeme hledat pouze v podmístech S1'-Sn', protože podmísta pozice substrátu/inhibitoru v Sn-S1 jsou známy krystalograficky³). Budeme používat naši přesnou a rychlou skórovací funkci SQM/COSMO.^{7,8} Vybereme vazebná “horká místa” a poté budeme postupovat návrhem léků s použitím fragmentů – buď metodou zvětšování fragmentů či spojování (v případě více “horkých míst”).

Tento projekt bude realizován v úzké spolupráci se skupinami Dr. Jiráčka, Dr. Majera, Dr. Mareše, Dr. Vondráška a Dr. Stříšovského. Syntetická/biologická a bioinformatická expertíza v těchto skupinách bude klíčová pro získání navržených látek a testování jejich účinnosti na cíle. V tomto kroku budou látky syntetizovány (skupina Dr. Jiráčka pro IR; Dr. Majer pro CTSK a GlpG). Poté budou následovat biologické testy (Dr. Jiráček pro IR, Dr. Mareš pro CTSK, Dr. Stříšovský pro GlpG). Skrze iterativní optimalizaci bychom měli dospět k látkám s farmaceutickým významem.

[1] van Maarseveen, N.M.; Andersson, D.; Lepsik, M.; Fun, A.; Schipper, P.; de Jong, D.; Boucher, C.A.B.; Nijhuis, M., *Retrovirology* **2012**, 9, 29.

- [2] Zakova, L.; Kletvikova, E.; Veverka, V.; Watson, C. J.; Turkenburg, J. P.; Jiracek, J.; Brozowski, A. M. *J Biol Chem* 2013, 288 (15), 10230-10240
- [3] Zoll, S.; Stanchev, S.; Began, J.; Skerle, J.; Lepsik, M.; Peclinovska, L.; Majer, P.; Strisovsky, K., *EMBO J.* 2014 33 (20), 2408-2421.
- [4] Dolezal, M.; Zabransky, A.; Dostal, J.; Vanek, O.; Brynda, J.; Lepsik, M.; Hadravova, R.; Pichova, I. *Retrovirology* 2016, 13, 2. DOI: 10.1186/s12977-015-0235-8
- [5] Strohalmova-Bohmova, K.; Spiwok, V.; Lepsik, M.; Hadravova, R.; Krizova, I.; Ulbrich, P.; Pichova, I.; Bednarova, L.; Ruml, T.; Rumlova, M., *J. Virol.* 2014, 88, 14148-14160.
- [6] Rezac, J.; Hobza P., *Chem. Rev.* 2016, in press.
- [7] Pecina, A.; Meier, R.; Fanfrlík, J.; Lepšík, M.; Řezáč, J.; Hobza, P.; Baldauf, C. *Chem. Commun.*, 2016, 52, 3312-3315.
- [8] Vorlová, B.; Nachtigallová, D.; Jirásková-Vaníčková, J.; Ajani, H.; Jansa, P.; Řezáč, J.; Fanfrlík, J.; Otyepka, M.; Hobza, P.; Konvalinka, J.; Lepšík, M. *Eur. J. Med. Chem.* 2015, 89, 189-197.

Časový plán

2018-2018/19

- MD insulinového receptoru, CTSK a GlpG v komplexu se známými ligandy.
- Výpočet příspěvků k vazebné energii na úrovni SQM; identifikace “horkých míst” pro návrh.
- Identifikace nekovalentních interakčních motivů; jejich přidání do databází.

2019-2020/21

- Vytvoření databáze důležitých interakčních motivů v PPI.
- Ověření SQM a MM metod.
- Odvození korekcí pro nekovalentní interakce v SQM a MM metodách.

2019/20-2022

- Virtuální prohledávání knihoven fragmentů, které by se vázaly do “horkých míst” a ověření vazby experimentem.
- Návrh a předpověď nových proteinových ligandů pro insulinový receptor, CTSK a GlpG s použitím fragment.
- Iterativní optimalizace návrhu ligandů po jejich ověření syntézou a měřením aktivity.

Plánované publikace a patenty

Publikace (Jimp)

	Jimp	<i>J. Chem. Theory Comput.</i> <i>J. Comput. Chem.</i> <i>J. Phys Chem. B</i> <i>J. Biol. Chem.</i> <i>J. Mol. Biol.</i> <i>J. Virol.</i>
2018	6	
2019	8	
2020	8	
2021	9	
2022	9	
Celkem	40	

Zahraniční spolupráce

- Dr. Carsten Baldauf z Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft in Berlin,
- prof. S. Grimme, University of Munster, Germany,
- prof. Gregory J.O. Beran, University of California, U.S.A.,
- Prof. M. Becucci, University of Firenze, Italy
- prof. Klaus Mueller-Dethlefs, University of Manchester, U.K.