

SIMON ÁGNES

# Számítógépes gyógyszerkutató

Szervezetünk fehérjéi számos kismolekula kötésére képesek. Ide tartoznak a jelátvivő anyagok, bomlástermékek, antigének vagy éppen a gyógyszermolekulák. Az egyes fehérjéken található kötőhelyek feltérképezése lehetőséget ad arra, hogy megismerjük bennük a kismolekulák elhelyezkedését, sőt újabbakat, például új típusú gyógyszerjelölt molekulákat fejlesszünk, amelyek egy kívánt kötőhelyen hatnak.

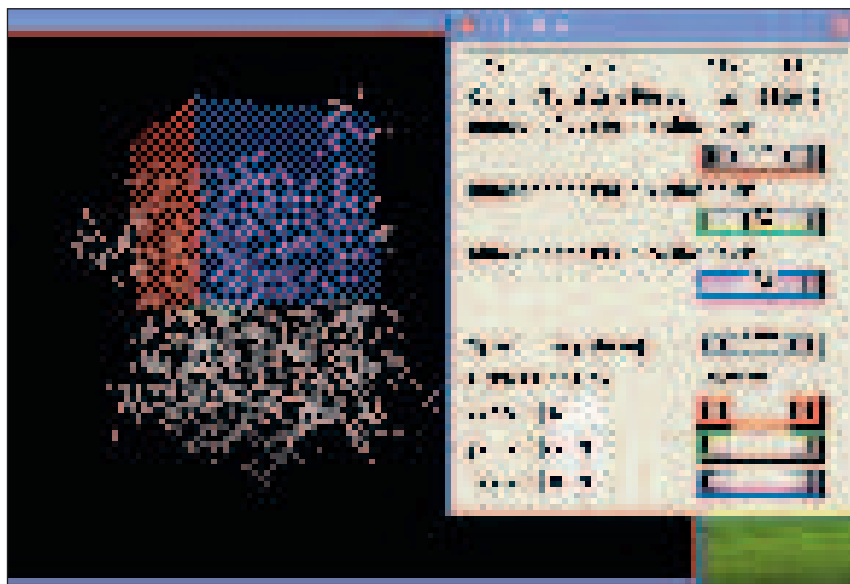
A kismolekulák illeszkedéséről akkor kapjuk a leghitelesebb képet, ha a fehérjéről és ligandumáról rendelkezésre áll röntgendiffrakcióval vagy NMR-méréssel meghatározott szerkezet. (NMR: mágneses magrezonancia spektroszkópia). Ezeknek a méréseknek az eredményeiből az egyes atomok koordinátáit kapjuk meg, így felrajzolható a teljes fehérje a beleilleszkedő ligandummal együtt.

Ha a fehérjéről csak önmagában áll rendelkezésre háromdimenziós szerkezet, akkor a hozzá kötődő kisméretű



1. ábra. Ligandum dokkolása egy fehérjéhez

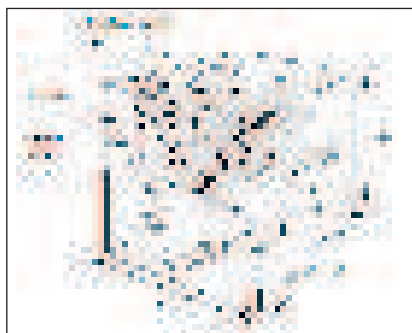
molekula helyét ún. dokkolási eljárással ismerhetjük meg (1. ábra). A dokkoló programok legegyszerűbb esetben a fehérje és a kismolekula között fellépő elektrosztatikus és van der Waals-kölcsönhatásokat, illetve hidrogénkötéseket veszik figyelembe. Ezek alapján több lehetőséget kipróbálnak, és a legkedvezőbbeket adják vissza. Az illeszkedés jóságát úgy ellenőrizhetjük, ha a fehérje-ligandum együttes röntgenszerkezetéből kivágjuk a ligandumot, majd visszailllesztjük a fehérje kötőhelyébe. Ha ebben az eljárásban a ligandum visszatalál eredeti helyére, akkor bizhatunk abban, hogy az általunk módosított, tervezett vagy egy adatbázisból nyert újabb vegyület illeszkedése is valóságos.



3. ábra. Az Autodock-program felhasználói felülete. A fehérje pálcikaábrázolásban látható, a késsel jelzett dobozban keressük a ligandum helyét, amelynek méretét a jobb oldali dobozban állítjuk be a középpont és a méret feltüntetésével. Ugyanitt állítjuk be a rács távolságot is angströmben (spacing)

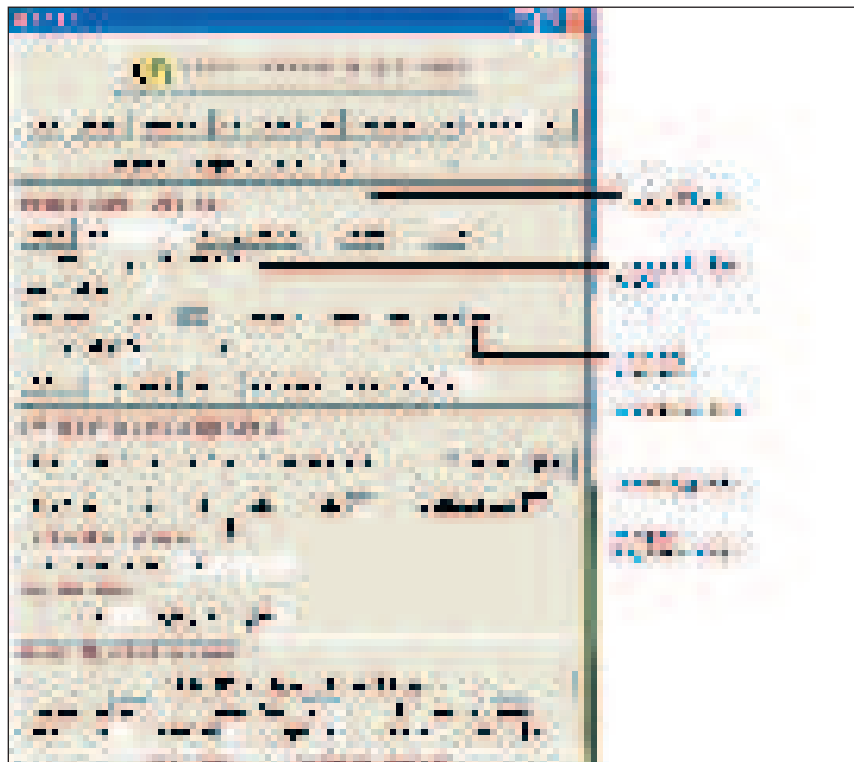
A dokkoláshoz számos kereskedelmi program áll rendelkezésre. Az egyik legelterjedtebb az Autodock, amely ingyenesen letölthető és futtatható akár otthon is. Az Autodock-program a fehérjét vagy egy részét egy ráccsal helyettesíti, amelynek rácspontjaiban kiszámítja a képzeletbeli atomra ható erőteret, majd ezt elvégzi a ligandum összes atomtípusára (2.

2. ábra. A ligandum elhelyezése a rácsban ([http://www.csb.yale.edu/userguides/datamanip/autodock/html/Using\\_AutoDock\\_305.9.html](http://www.csb.yale.edu/userguides/datamanip/autodock/html/Using_AutoDock_305.9.html))



ábra). Tehát kiszámítja, milyen teret érezne egy nitrogénatom, oxigénatom, vagy kénatom egy adott pontban. A program a ligandumot többféleképpen helyezi el, majd a kapott illeszkedéseket pontozza aszerint, mennyi kedvező kölcsönhatást képes kialakítani a ligandum. Az így kapott értéket „kötési energiaként” adja vissza, azaz minél alacsonyabb negatív értéket kapunk, annál kedvezőbb az illeszkedés (3. ábra). Természetesen, az így kapott érték csak közelítés, a tényleges kötési energia értékét nem kapjuk meg, de a dokkolás jó orientációt jelenthet a ligandum kedvező illeszkedésére, illetve az egyes ligandumok közötti rangsor felállítására.

Egy másik, kedvelt, bár fizetős program a GOLD (4. ábra), amelynek hangzatos neve rövidítést takar (Genetic Optimisation for Ligand Docking). A genetikus algoritmus kifejezés arra utal, hogy a molekula egyes konformereit „kromoszómák” írják le, amelyben a gének jelentik a molekula transzlációs és rotációs, valamint belső (torziós) szabadsági fokait. Ezek keresztezésével számítják ki egy új konformáció kötődési szabad-



4. ábra. A GOLD dokkoló program menüje. Az ábrán látható példán a human GABA transzporter (hGAT-1) fehérjéhez 21 ligandumot dokkolunk ugyanabba a kötőhelybe. A kapott találatokat a GOLDScore pontozófüggvénnyel értékeljük

entalpiáját. A GOLD-program használata egyszerű, a fehérje és a ligandum megadásán kívül a kötőhely középpontját kell megadnunk, vagy azokat az aminosavakat, amelyek a kötőhelyet képezik.

### Hogy néz ki az eredmény?

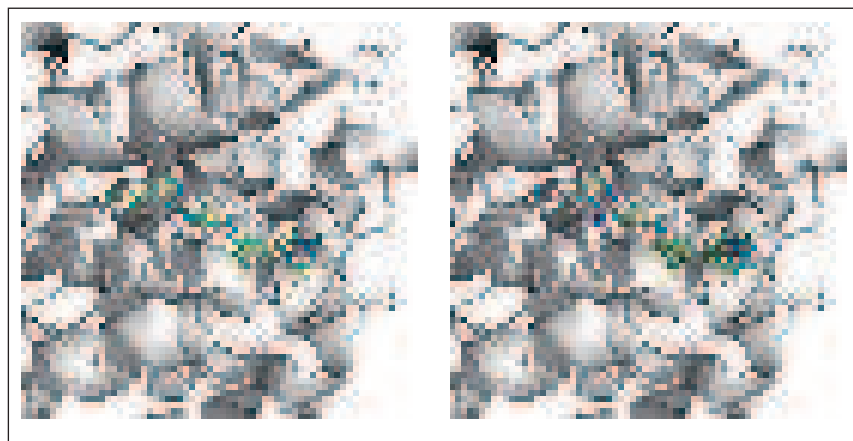
Az egyik első gyógyszer, amely számítógépes tervezéssel készült, egy rákellenes szer, a Bcr Abl kinázon ható imatinib (Gleevec) volt. Ennek a példáján nézzünk meg egy illeszkedést. Az imatinib dokkolását bármelyik programmal kipróbálhatjuk és ellenőrizhetjük, hiszen rendelkezésre áll a Bcr-Abl kináz röntgendiffrakcióval meghatározott szerkezete és az imatinibé is, valamint a kettő együtt. Ha „kivesszük” az imatinib-molekulát a fehérjéből, majd visszadokkoljuk, akkor az 5. ábrán láthatjuk, mennyire ad pontos illeszkedést a dokkolás a GOLD-programmal.

A kinázok vízoldható fehérjék, tehát nem a sejtmembránban helyezkednek el. Az ilyen fehérjéket bejárattott kísérleti körülmények között jól tudják kristályosítani, ami a röntgendiffrakciós szerkezet-meghatározás előfeltétele. A legtöbb gyógyszer-molekula azonban membránba ágyazott fehérjéken hat, amelyekből sokszor nagy erőfeszítések árán sem sikerül kristályt ké-

szíteni. Ezek szerkezete többnyire nem ismert, így modelleket kell létrehozni. Az emberi fehérjék sokszor jól modellezhetők baktériumból származó, hasonló fehérjékből kiindulva, amelyekről viszont már rendelkezésre áll a röntgendiffrakcióval meg-

musoknak a fehérjei a kristályosítás körülményeit is jól bírják. A bakteriális és a humán fehérjék között úgy létesíthetünk megfeleltetést, hogy azokat a szakaszokat illesztjük egymáshoz, amelyek azonos vagy hasonló aminosavakat tartalmaznak. Ha van egy megfeleltetésünk, akkor az ismert szerkezetre számítógépes modellező programokkal „ráhúzzhatjuk” a modellezni kívánt fehérje szekvenciáját. Erre a feladatra számítógépes modellező programok állnak rendelkezésre. Közülük a legismertebb, ingyenesen hozzáférhető program a Modeller vagy Swiss PDB Viewer. Ezek a programok a bakteriális fehérje röntgenszerkezetére mintegy ráhúzzák a modellezendő fehérje szekvenciáját, majd egy rövid minimalizálással eligazítják az egymással ütköző oldalláncokat. Az ütközés abból ered, hogy a modellezni kívánt fehérje hosszabb, vagy rövidebb, mint a referenciafehérje, így egyes szakaszokon betoldások vagy kivágások szükségesek.

Az OTKA-pályázat keretében a központi idegrendszer egyik membránfehérjéjét, a gamma-aminovajsav (GABA) transzporter szerkezetét modelleztük egy hőtűrő baktériumból származó hasonló fehérje szerkezete alapján Modeller-programmal. Jelenleg egy belga kutatócsoport bevonásával folyik az az izgalmas munka, amelynek során potenciális gátlószereket fejlesztünk a GABA transzporterek egyes altípusaira. Mivel a GABA a központi idegrendszer fő, gátló jelátvivő anyaga, a gátlás következtében több GABA marad a szinaptikus résben, így terveink szerint ezek az anyagok potenciális antiepileptikumok is lehetnek. ✨



5. ábra. Bal oldal: az imatinib rákellenes gyógyszer a bcr-abl kináz kötőhelyében (zöld váz – röntgenszerkezeti kép). Jobb oldal: színnel a számítógéppel dokkolt találatok. Látható, hogy a dokkolás jól eltalálja az imatinib kötőhelyét a fehérjén

határozott szerkezet. A baktériumok közül néhány ugyanis szélsőséges körülményeket is hajlandó elviselni (ilyenek a hő- és sótűrő baktériumok). Ezeknek az organiz-

*Az írás az OTKA 102166 számú pályázata alapján készült.*