



Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,
Кафедра медицинской химии и тонкого органического синтеза,
Лаборатория медицинской химии
ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Москва, Россия



Анализ способа связывания низкомолекулярных соединений с тримером белка оболочки Е вируса денге

Волков М.Б., Орлов А.А.,
Осолодкин Д.И., Палюлин В.А.,
Зефиоров Н.С.

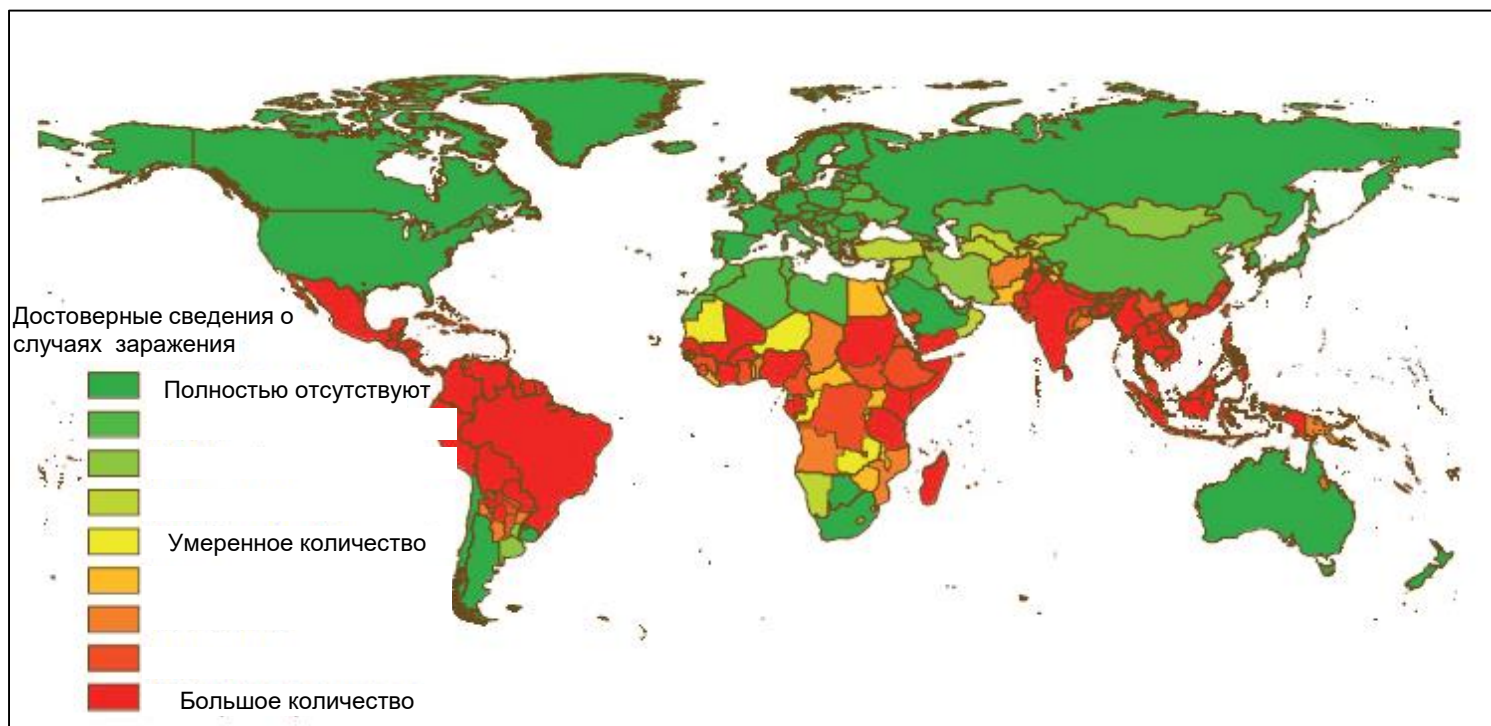
Лихорадка денге как глобальная проблема

Вирус жёлтой лихорадки (YFV)
Вирус Западного Нила (WNV)
Вирус Денге (DENV)
Вирус клещевого энцефалита (TBEV)
Вирус Омской геморрагической лихорадки (OHFV)
Вирус Повассан (POWV)

Род *Flavivirus*

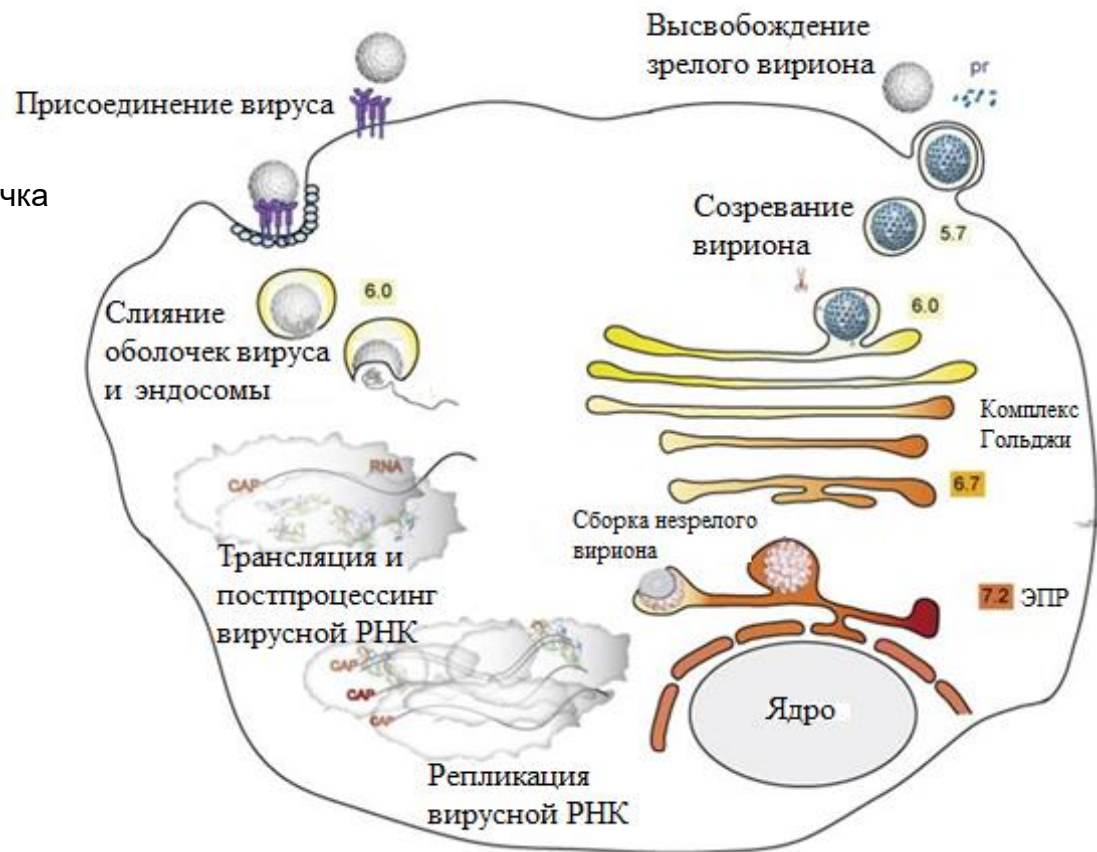
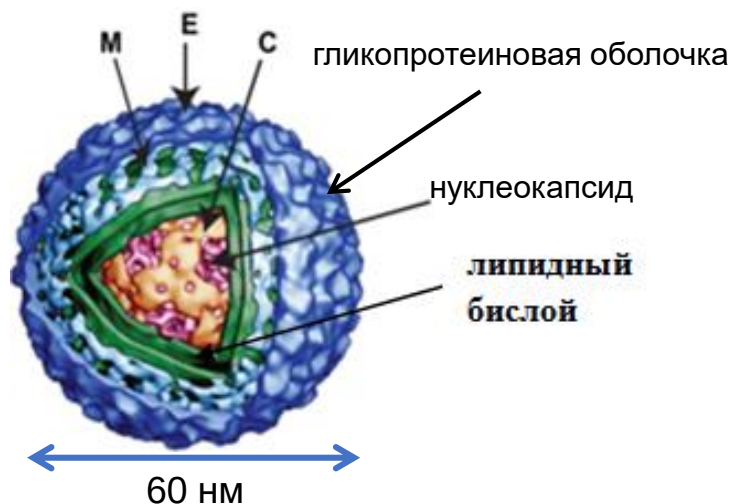
Ежегодное число случаев заболевания:

- Лихорадка денге – 100 000 000
- Жёлтая лихорадка – 200 000
- Клещевой энцефалит – 10 000
- Лихорадка Западного Нила – 10 000



Bhatt S. et al. The global distribution and burden of dengue //Nature. – 2013. – Т. 496. – №. 7446. – С. 504-507.

Жизненный цикл флавивирусов



Структурные белки			Неструктурные белки						
C	prM	E	NS1	NS2A	NS2B	NS3	NS4A	NS4B	NS5

Белок оболочки E

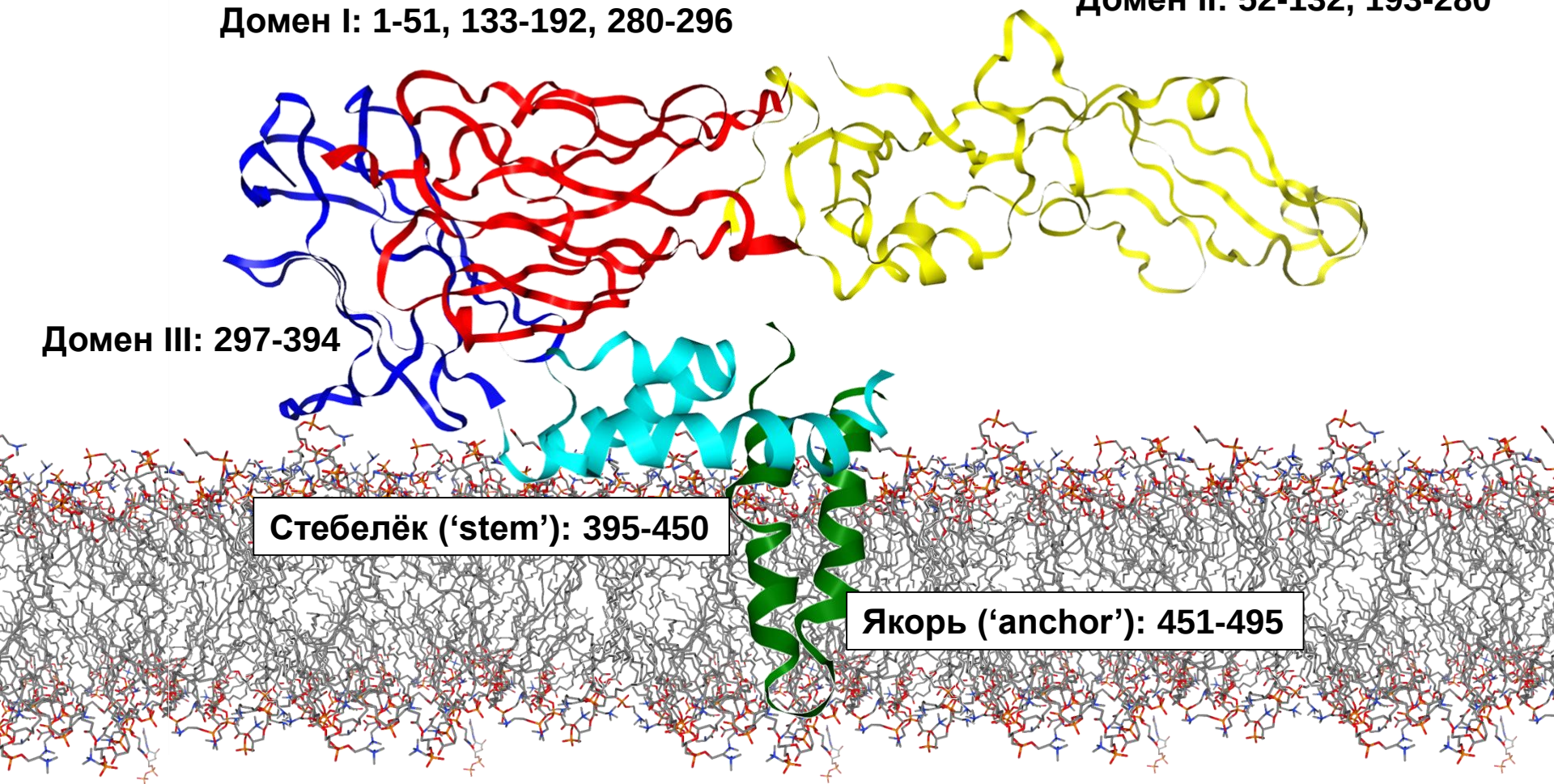
Домен I: 1-51, 133-192, 280-296

Домен II: 52-132, 193-280

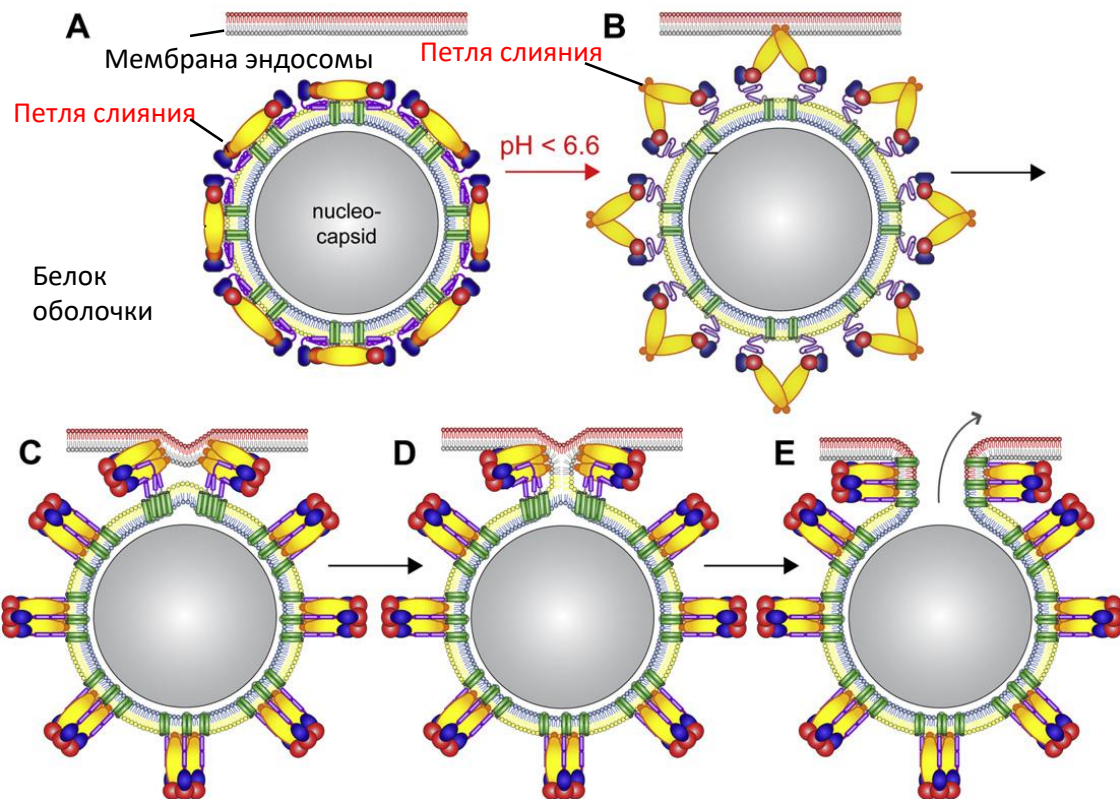
Домен III: 297-394

Стебелёк ('stem'): 395-450

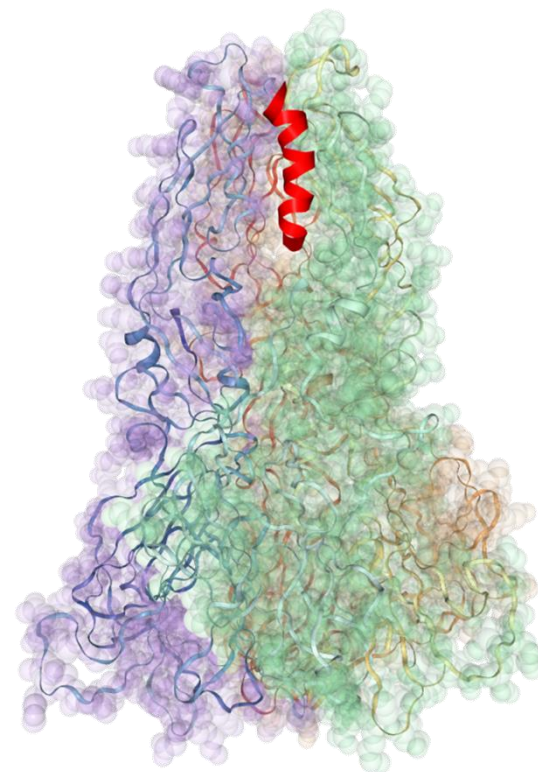
Якорь ('anchor'): 451-495



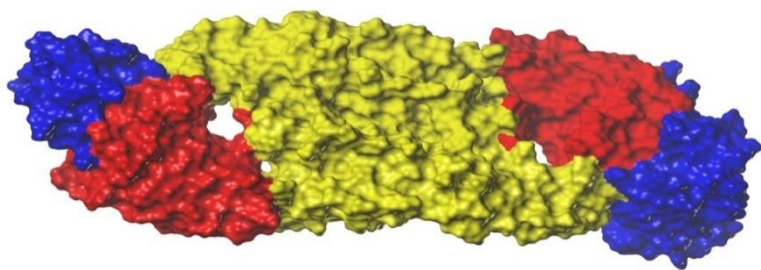
Конформационный переход белка оболочки Е



Kaufmann B., Rossmann M. G. Molecular mechanisms involved in the early steps of flavivirus cell entry //Microbes and infection. – 2011. – Т. 13. – №. 1. – С. 1-9.

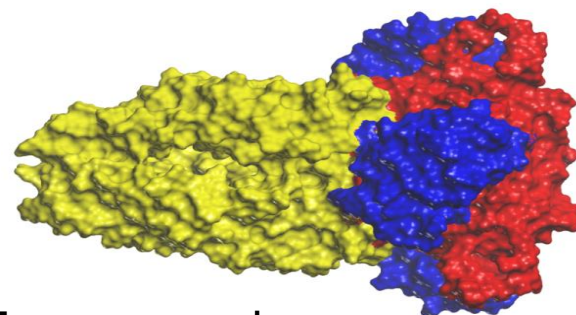


Сайт связывания стебелька
(395-450)



Димерная форма – оболочка вириона

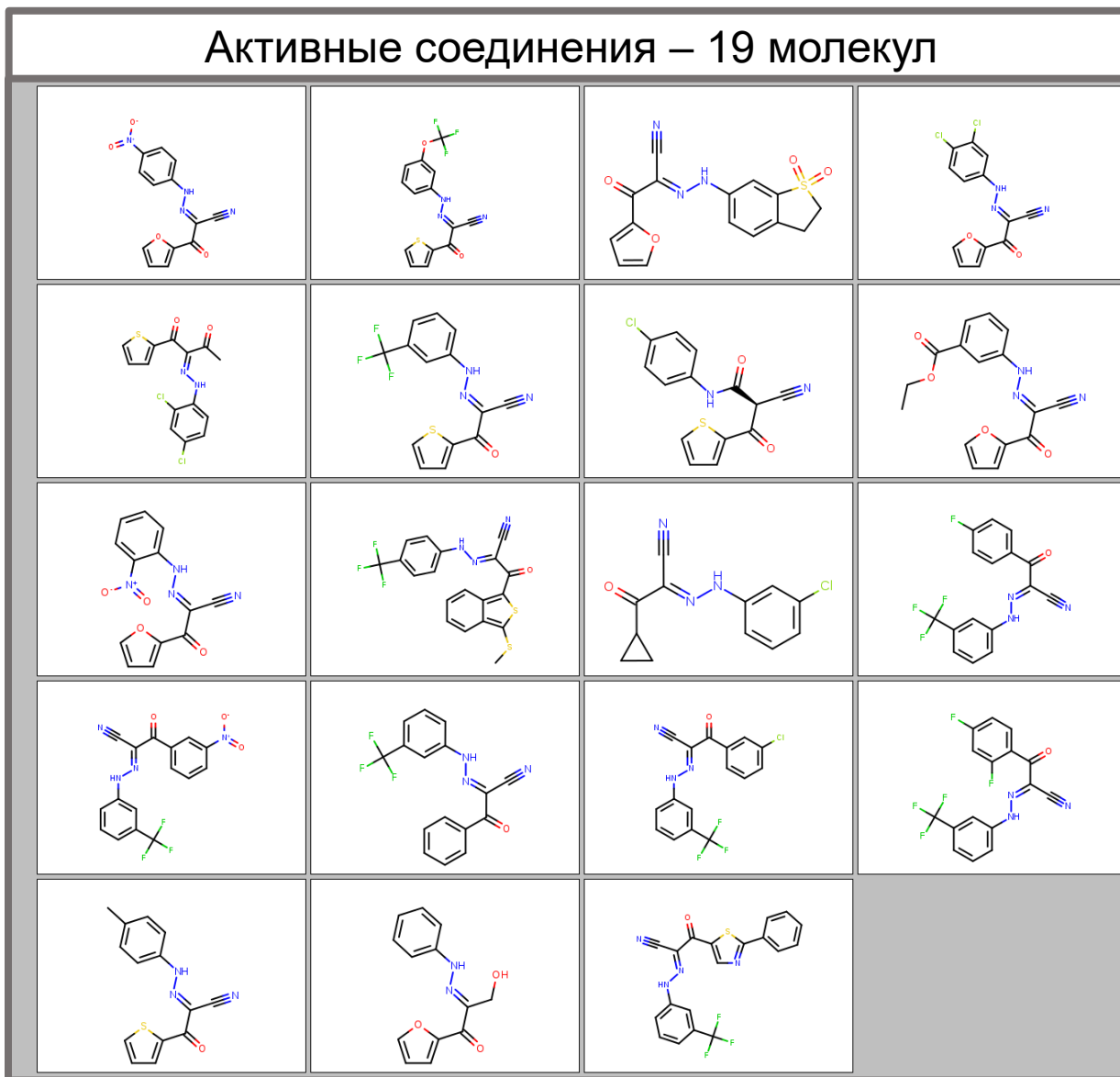
pH=6,6



Тримерная форма – эндосома

Экспериментальные данные

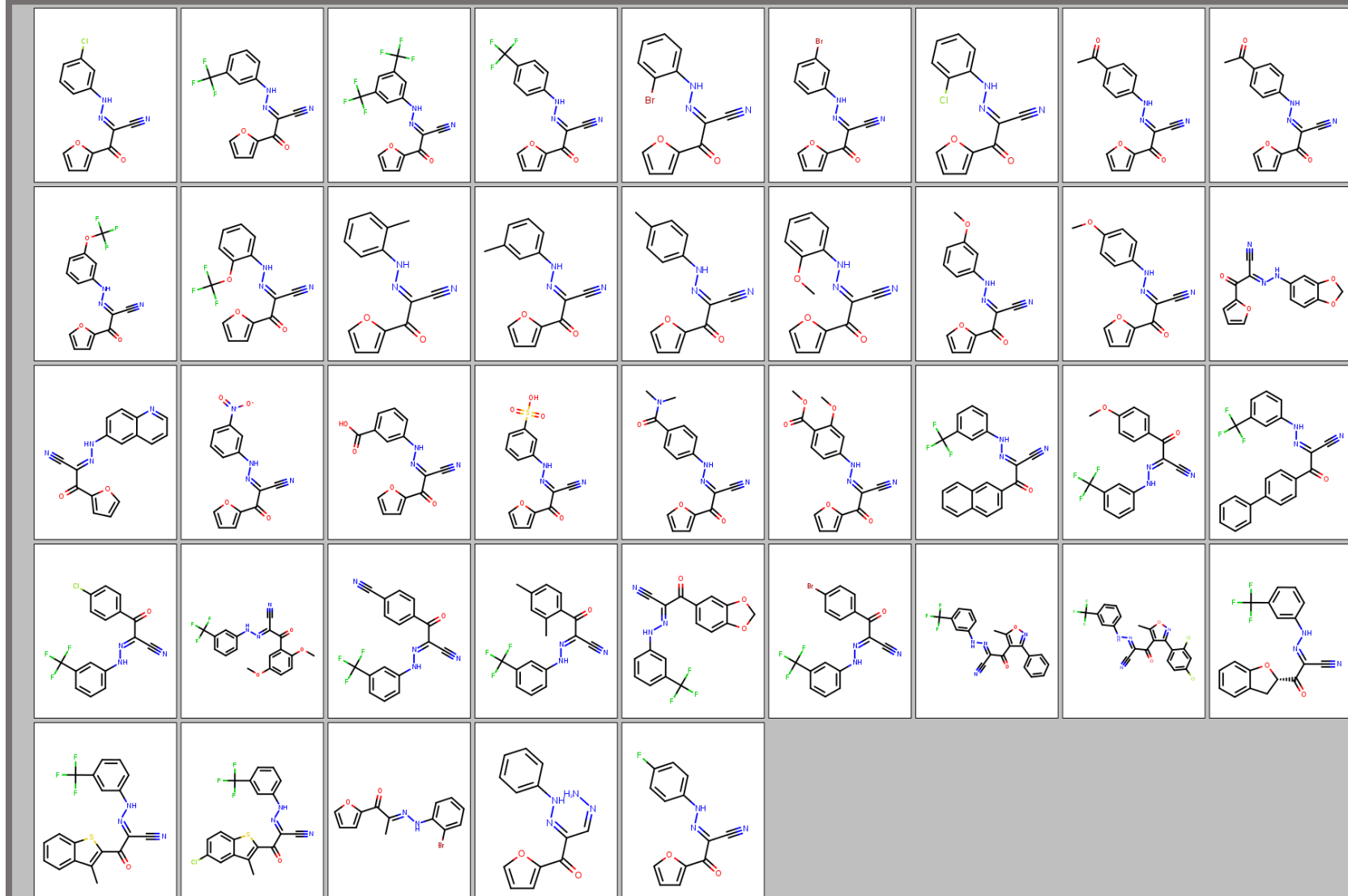
Активные соединения – 19 молекул



Schmidt A. G. et al. Small-molecule inhibitors of dengue-virus entry //PLoS Pathog. – 2012. – T. 8. – №. 4. – C. e1002627.

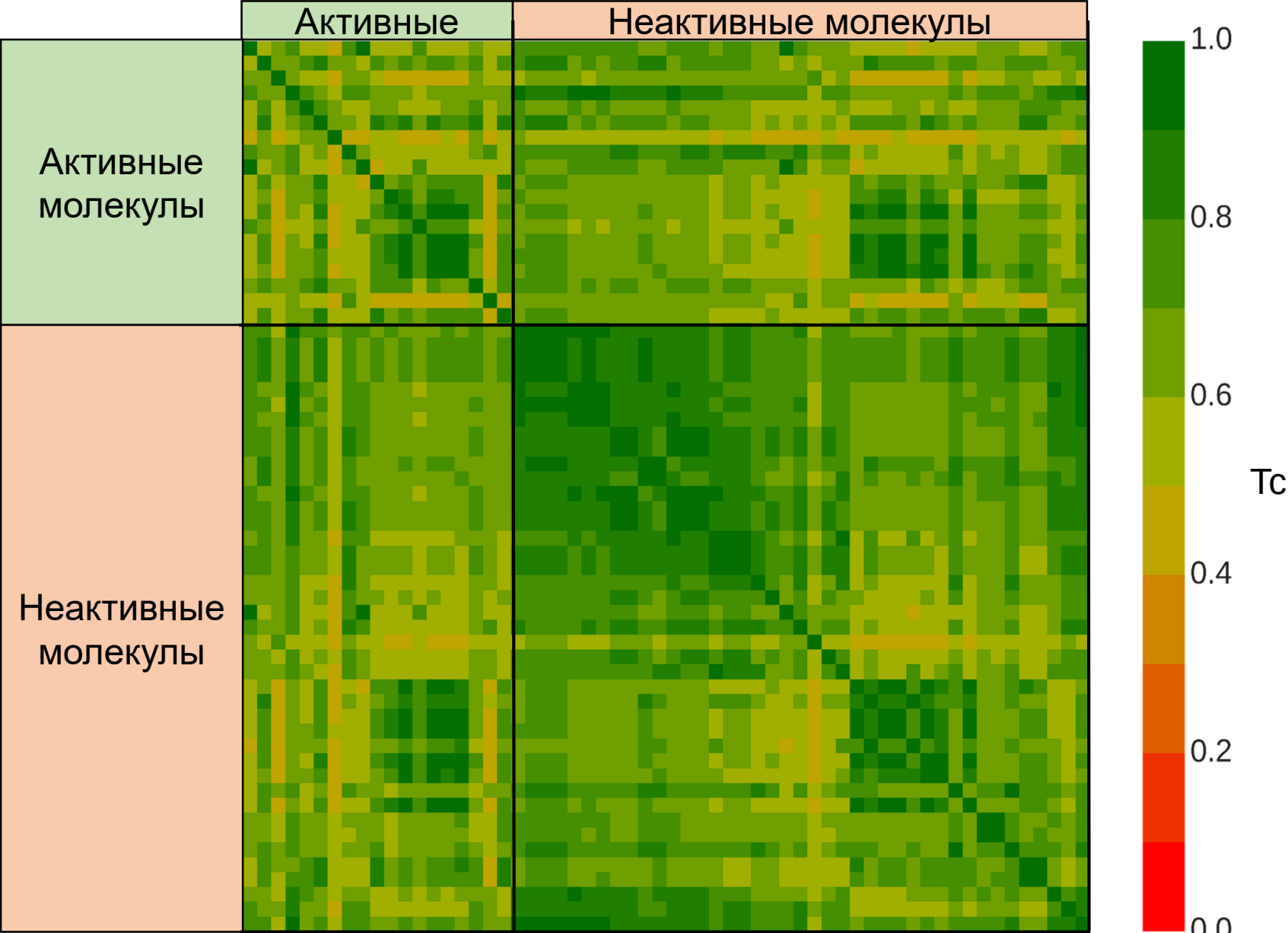
Экспериментальные данные

Неактивные соединения – 41 молекула



Schmidt A. G. et al. Small-molecule inhibitors of dengue-virus entry //PLoS Pathog. – 2012. – T. 8. – №. 4. – C. e1002627.

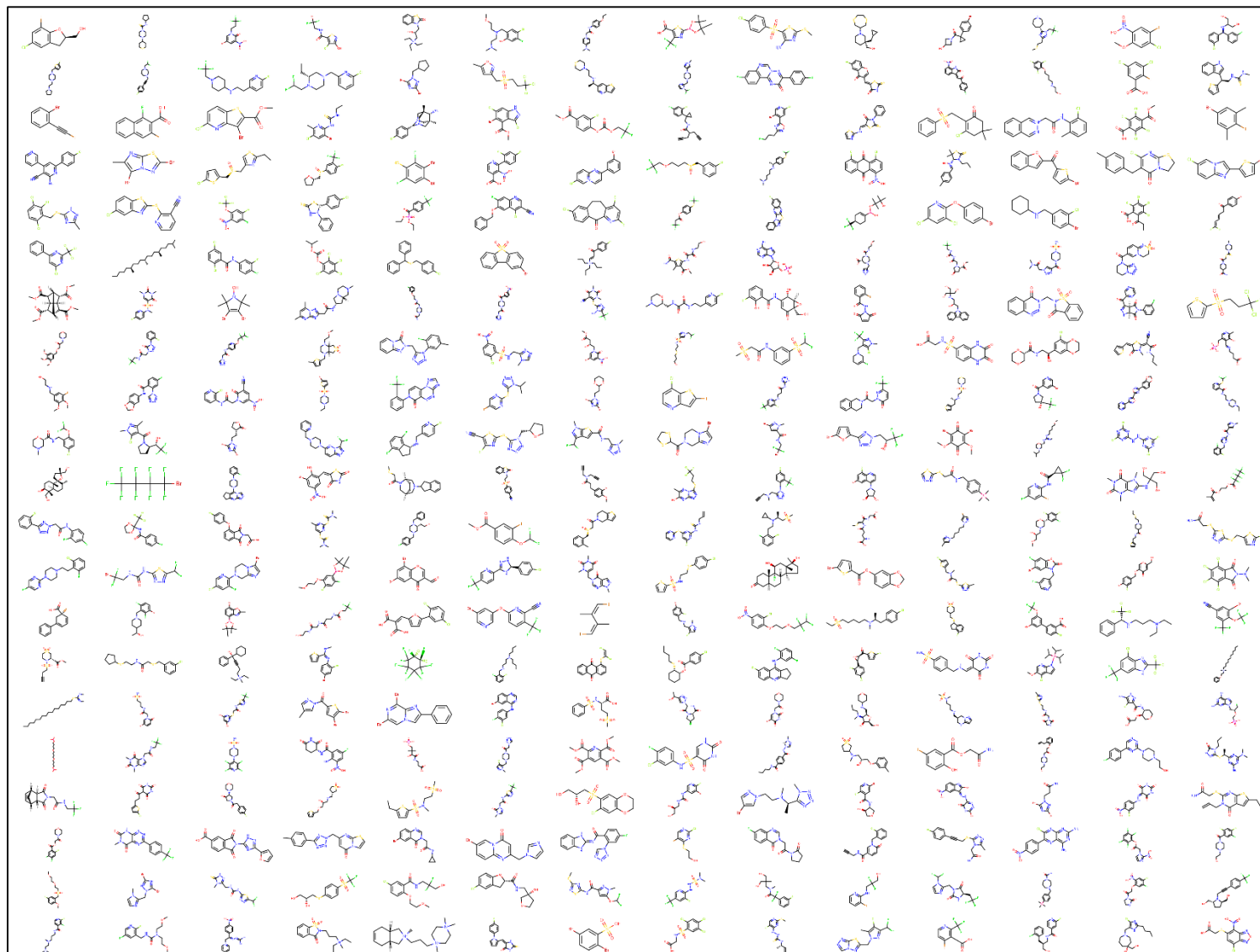
Матрица подобиya экспериментально исследованной выборки



$T_{c_{min}} = 0,429$

Выборка случайных соединений

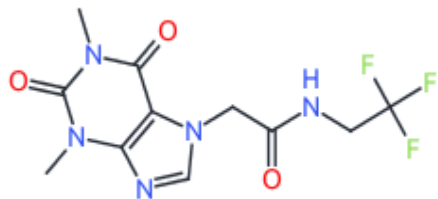
Соединения из БД ZINC 15



Количество структур - 285

Выборка случайных соединений

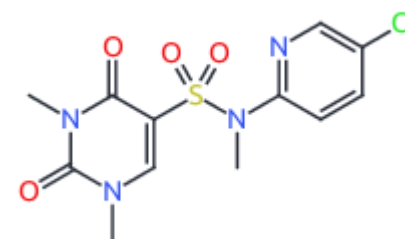
Соединения из БД ZINC 15



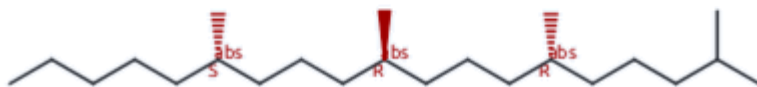
Соединение 226



Соединение 44



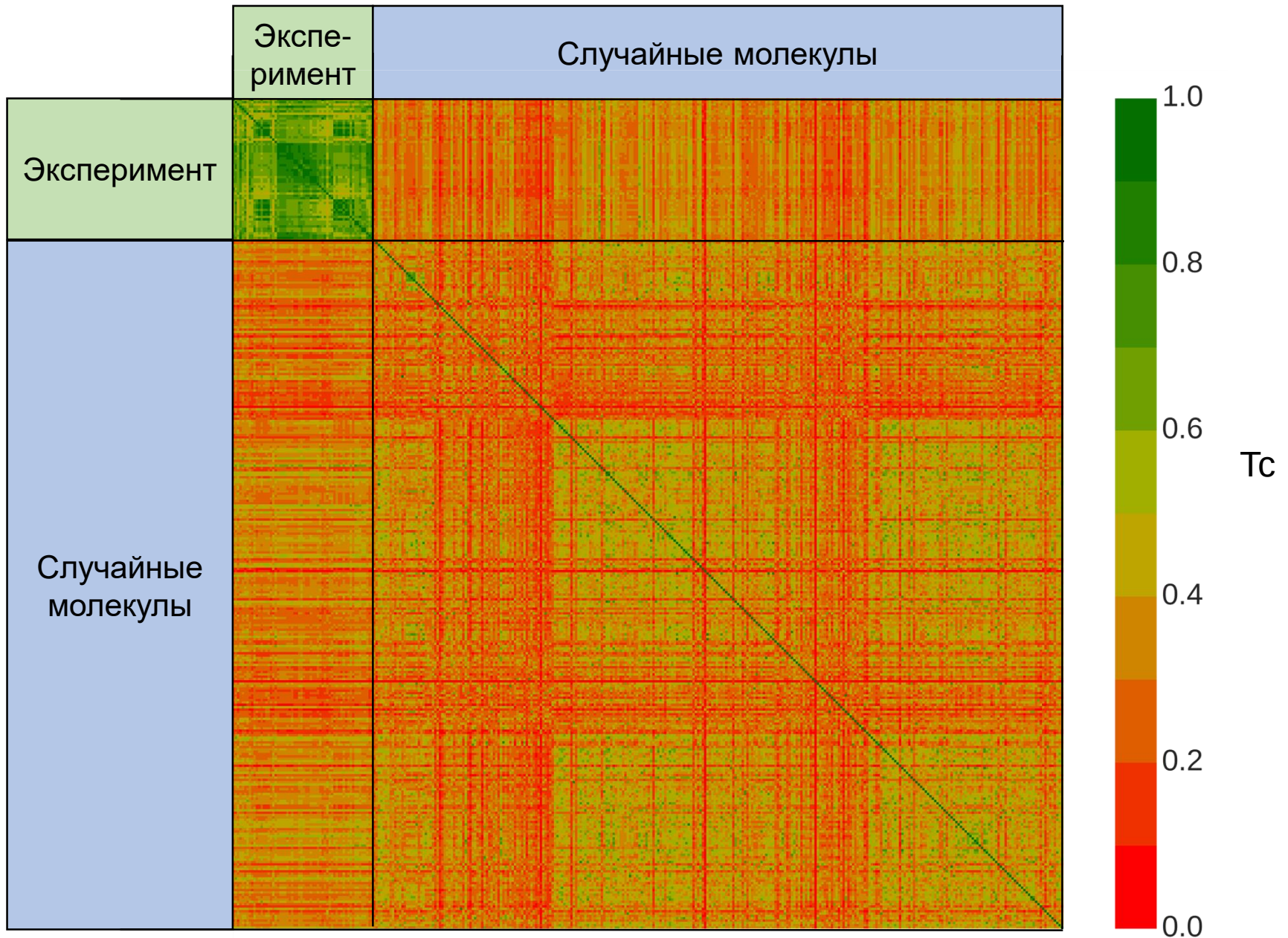
Соединение 86



Соединение 72

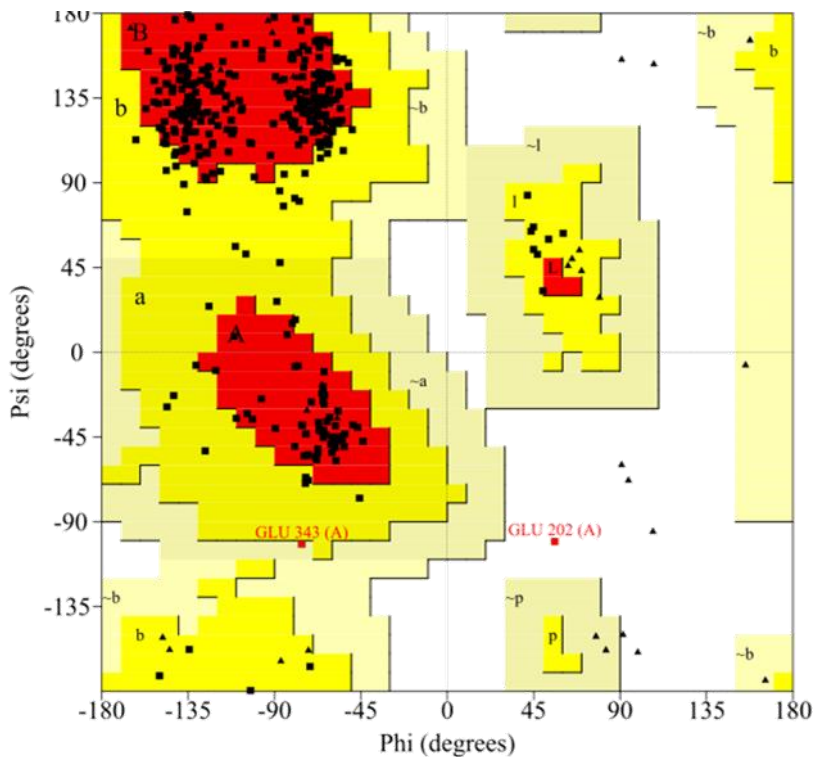
Mw мин.	244
Mw средн.	323
Mw макс.	419

Матрица подобиya полной выборки

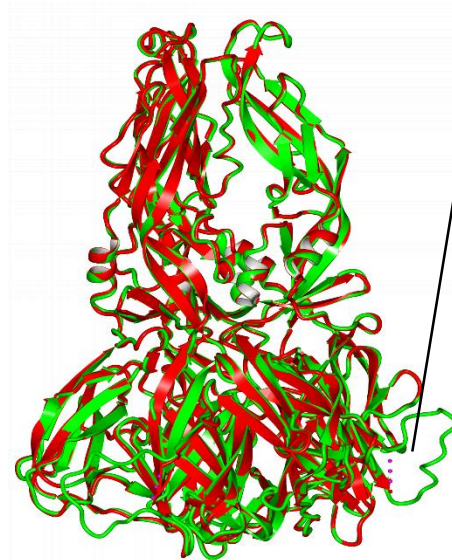


Моделирование тримера белка E

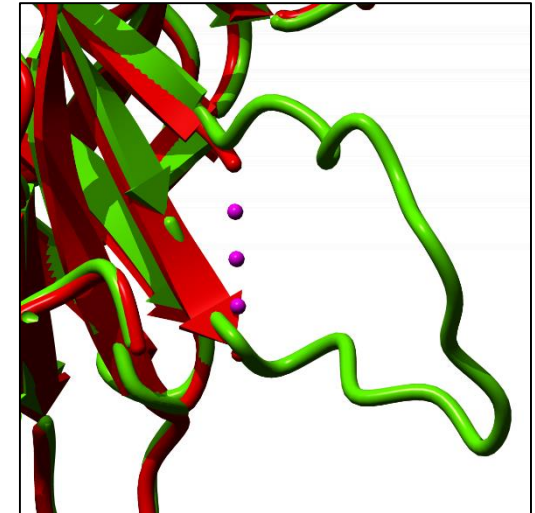
Карта Рамачандрана модели тримера белка E (1-395) вируса денге серотипа 2 штамма NGC



Неструктурированный участок – аминокислотные остатки 145-158

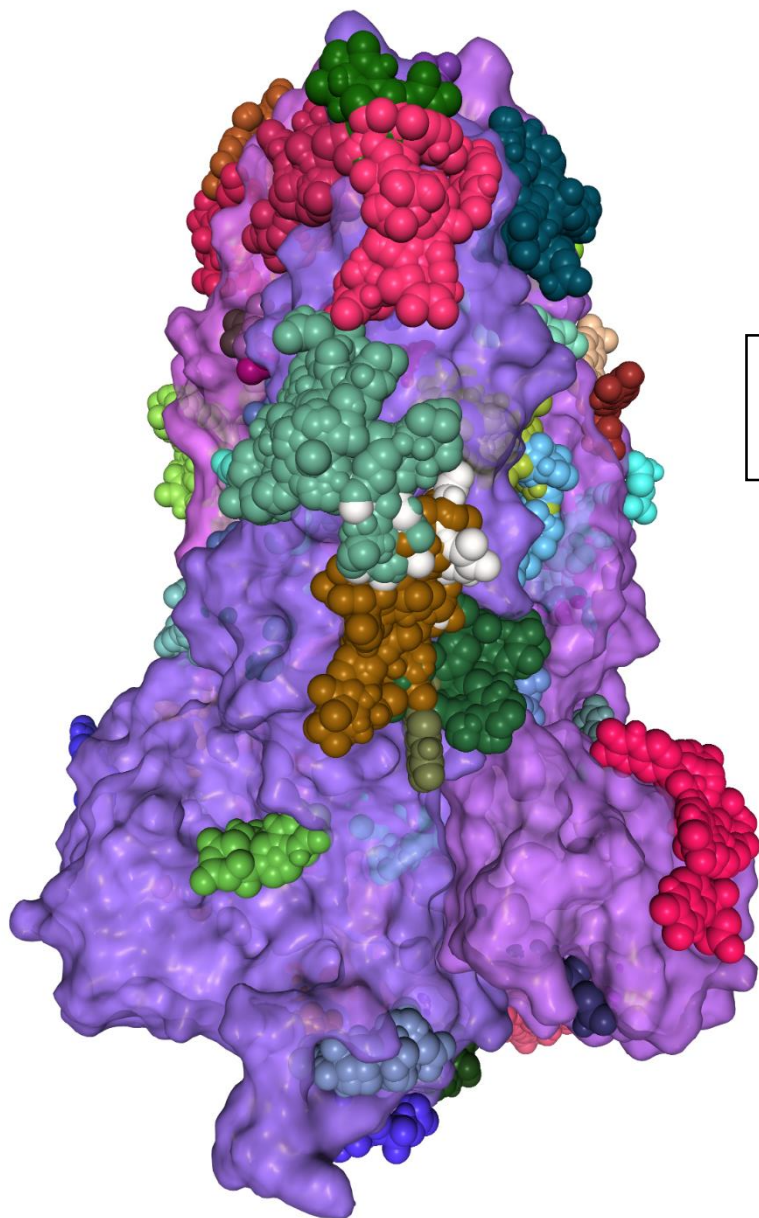


RMSD = 0,356 Å



Аминокислотная последовательность – GenBank: AНG97600.1
Шаблонная структура – PDB ID: 1OK8
Идентичность последовательностей – 98%

Докинг в эктодомен тримера белка E (1-395)



Параметры докинга

- ✓ Порог RMSD кластеризации – 8.0 Å
- ✓ Запусков генетического алгоритма – 1000
- ✓ Жёсткий рецептор, гибкие лиганды

Анализ результатов докинга

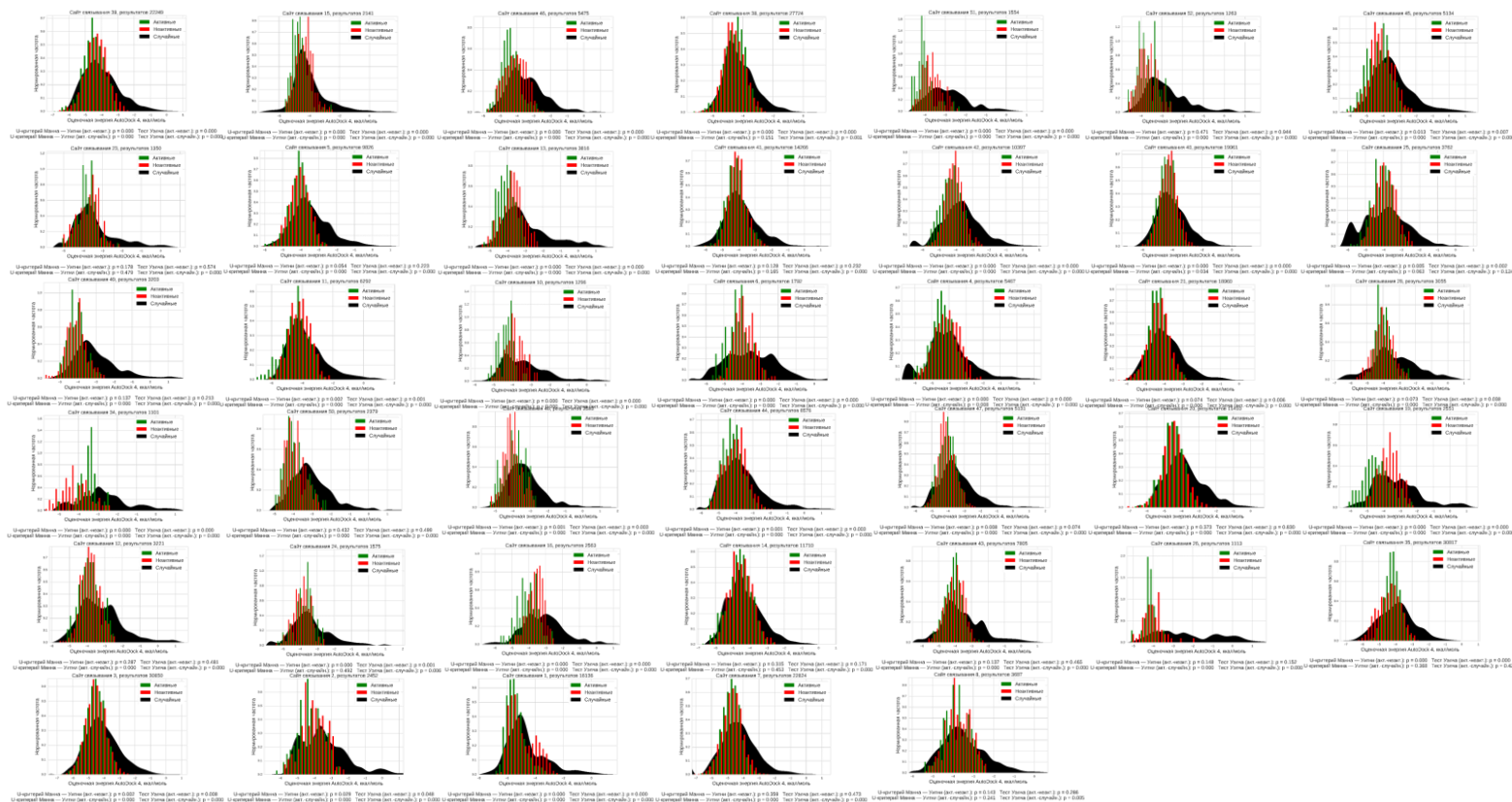
Сайты отобраны с учётом предположения о симметрии C_3 макромолекулы

Определено 87 сайтов связывания

В 69 сайтах связываются соединения, исследованные экспериментально

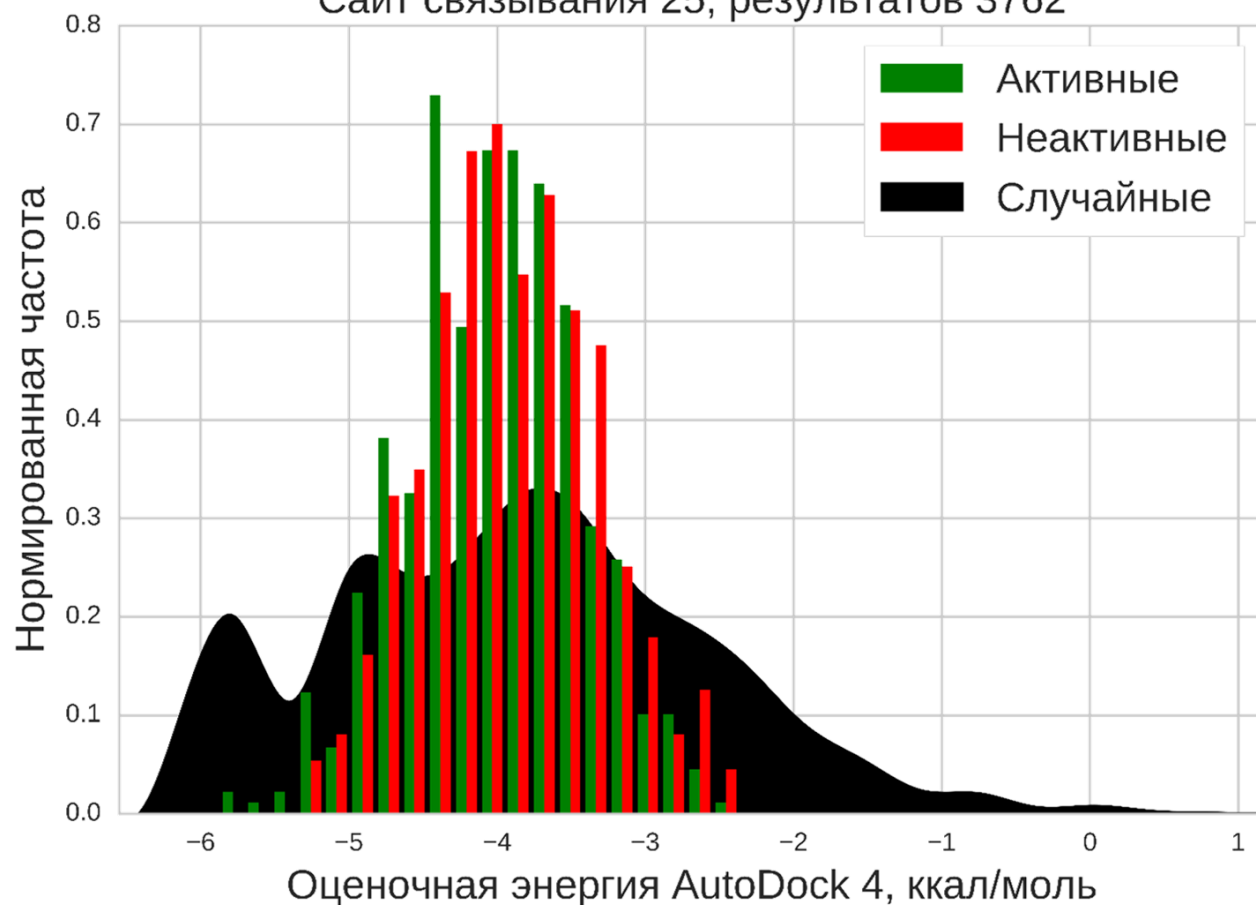
40 сайтов содержат более 1000 результатов докинга

Распределения оценок результатов докинга в населённых сайтах



Анализ сайтов связывания

Сайт связывания 25, результатов 3762



U-критерий Манна — Уитни (акт.-неакт.): $p = 0.005$ Тест Уэлча (акт.-неакт.): $p = 0.002$
 U-критерий Манна — Уитни (акт.-случайн.): $p = 0.063$ Тест Уэлча (акт.-случайн.): $p = 0.124$

p (Манна-Уитни)

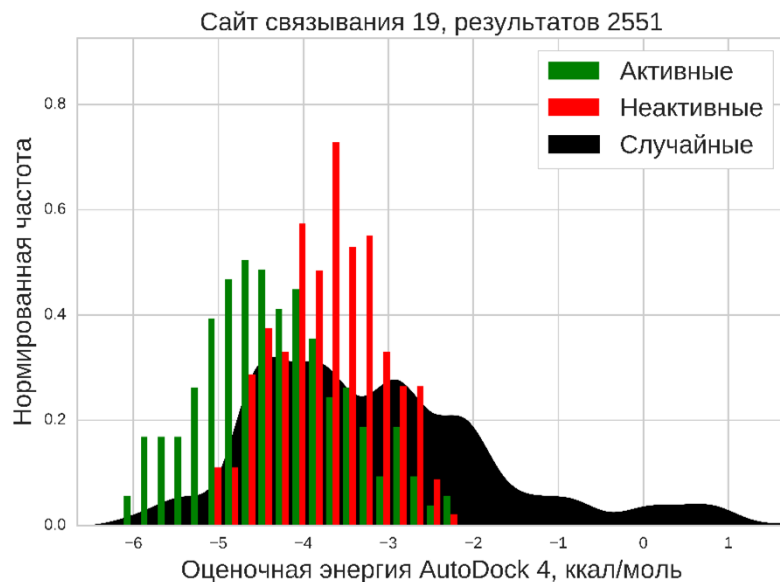
	A	H	C
A	1	0,005	0,063
H		1	0,000
C			1

p (Уэлча)

	A	H	C
A	1	0,002	0,124
H		1	0,000
C			1

Анализ сайтов связывания

Сайт специфичного связывания



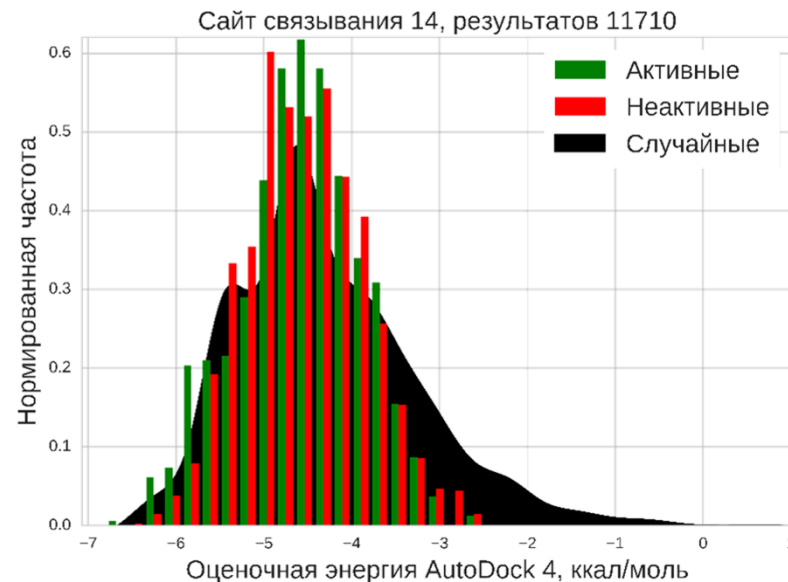
р (Манна-Уитни)

	A	H	C
A	1	0,000	0,000
H		1	0,017
C			1

р (Уэлча)

	A	H	C
A	1	0,000	0,000
H		1	0,000
C			1

Сайт неспецифичного связывания



р (Манна-Уитни)

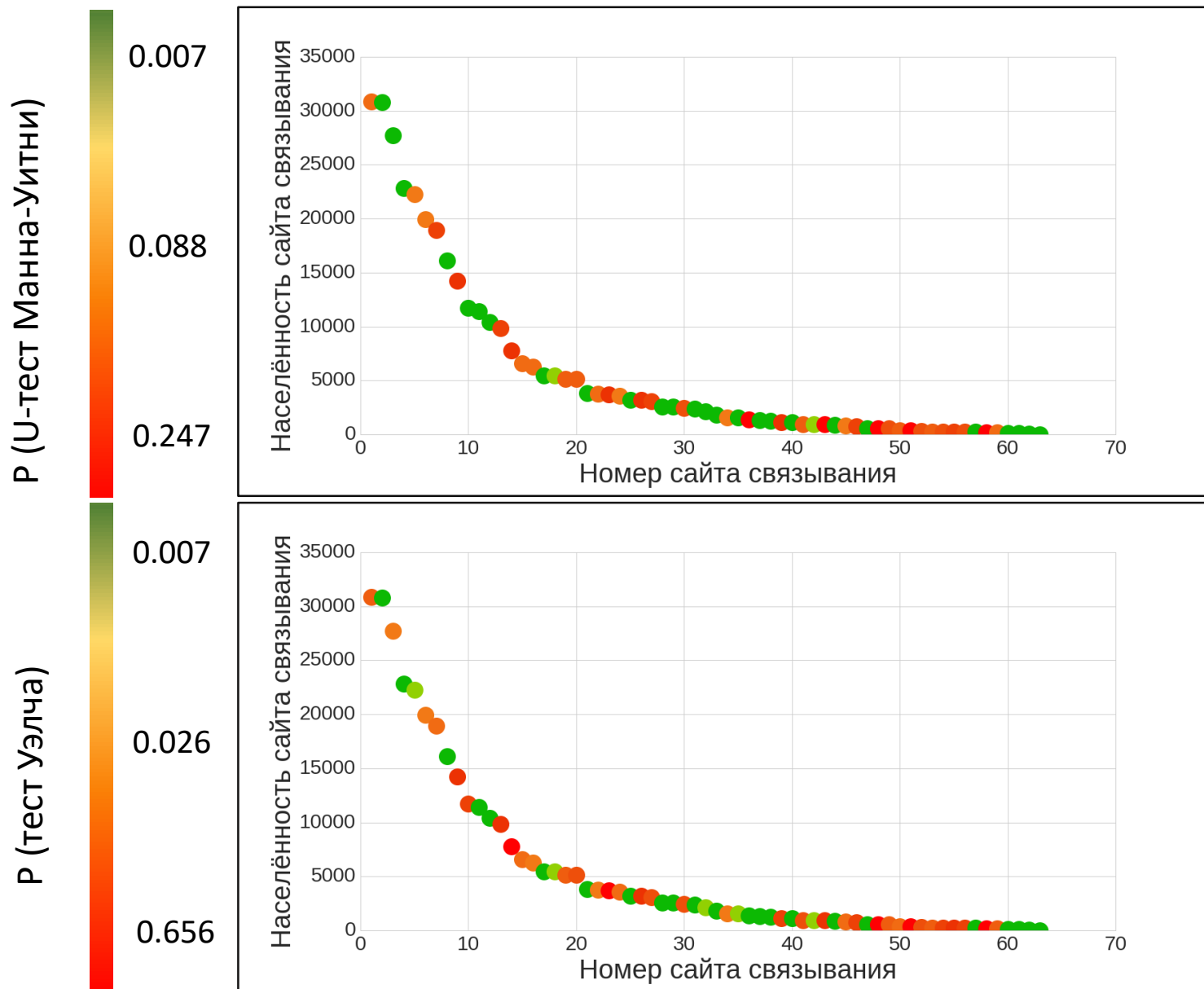
	A	H	C
A	1	0,315	0,453
H		1	0,176
C			1

р (Уэлча)

	A	H	C
A	1	0,171	0,000
H		1	0,003
C			1

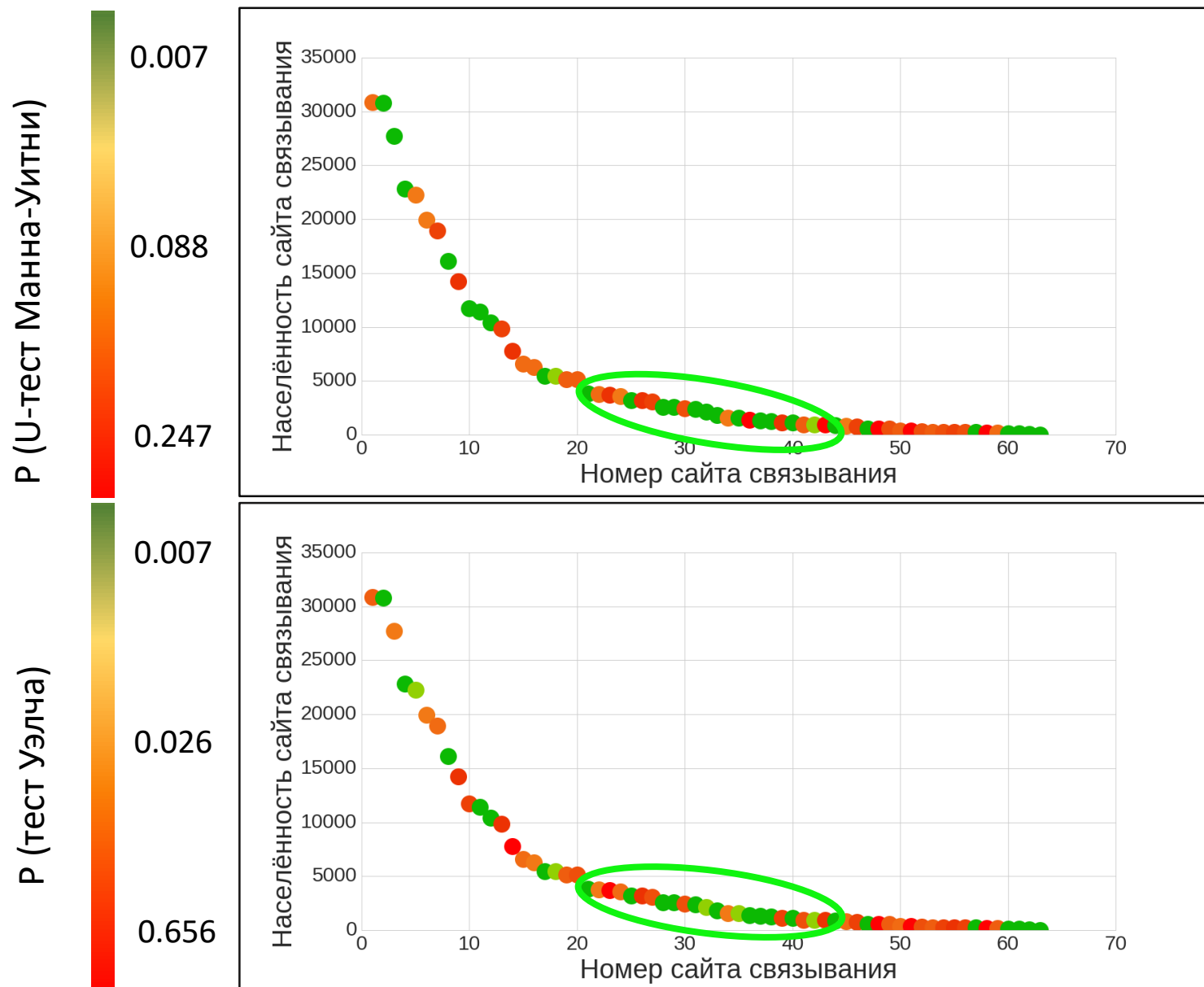
Анализ распределения заселённости сайтов связывания

Сравнение средних оценок докинга выборок активных и неактивных молекул по критериям Манна-Уитни и Уэлча

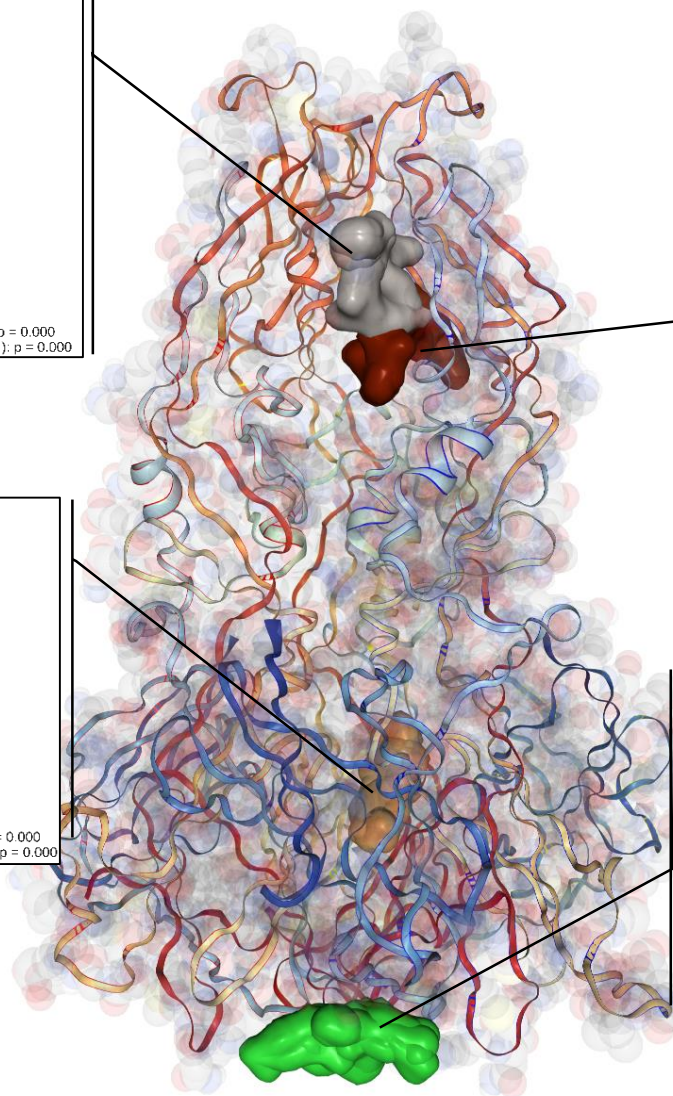
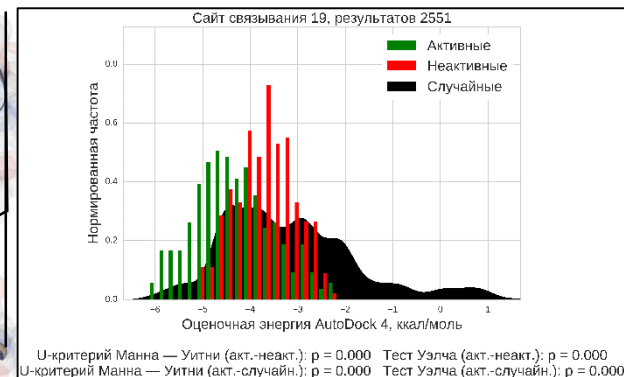
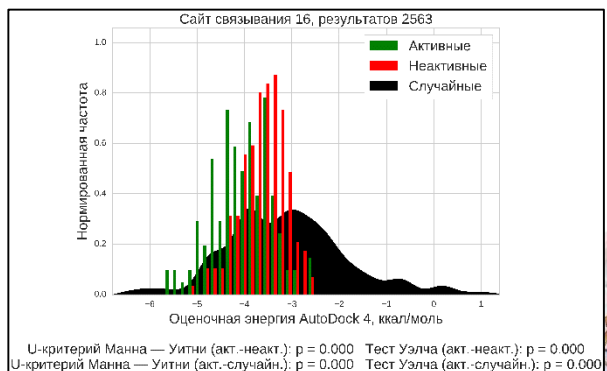
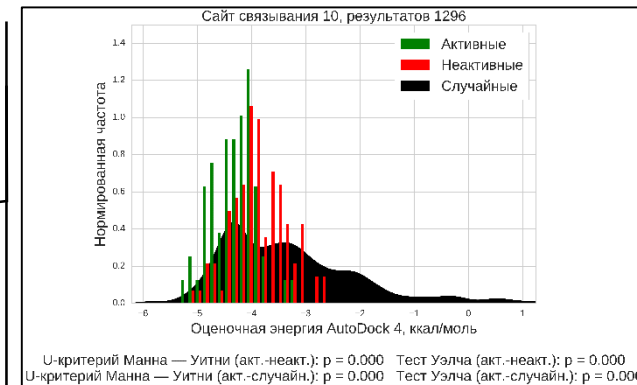
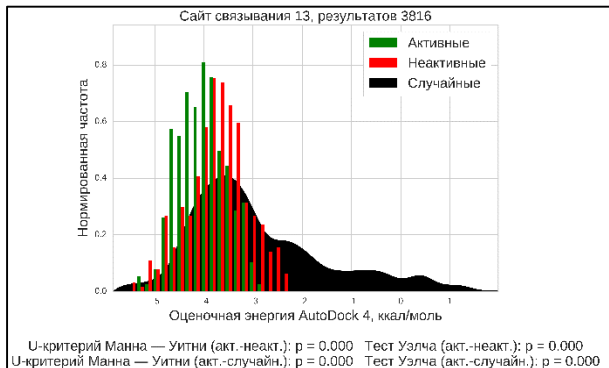


Анализ распределения заселённости сайтов связывания

Сравнение средних оценок докинга выборок активных и неактивных молекул по критериям Манна-Уитни и Уэлча

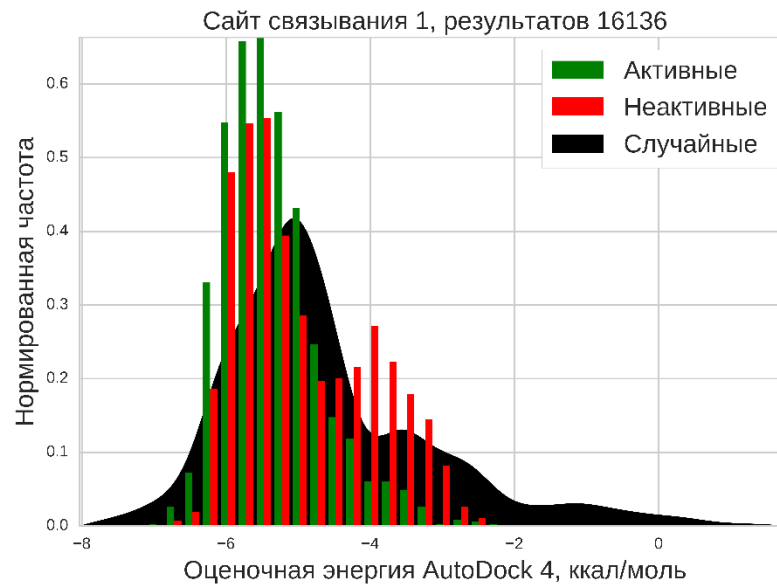


Выбор оптимальных сайтов связывания

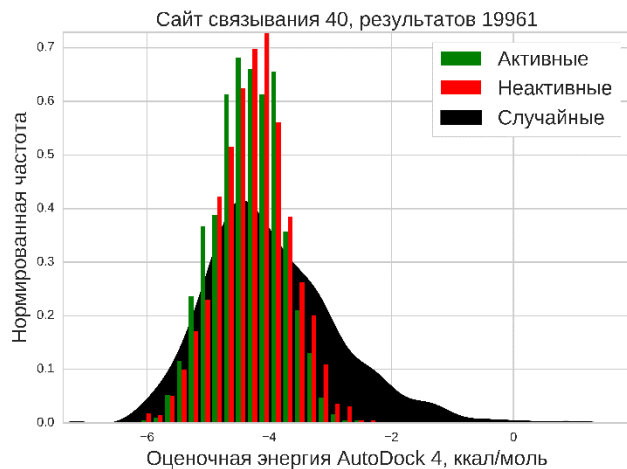


Выводы

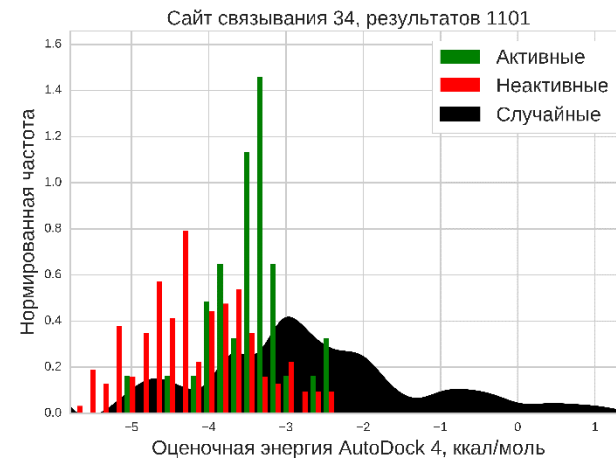
- ✓ Построена модель тримера белка E (1-395) ДЕНВ 2 (штамм NGC)
- ✓ Разработана методика анализа сайтов связывания низкомолекулярных соединений на поверхности молекулы белка E и отбора хорошо дискриминирующих сайтов
- ✓ На основе анализа результатов докинга предложены сайты связывания молекул, которые могут быть использованы для виртуального скрининга



U-критерий Манна — Уитни (акт.-неакт.): $p = 0.000$ Тест Уэлча (акт.-неакт.): $p = 0.000$
 U-критерий Манна — Уитни (акт.-случайн.): $p = 0.000$ Тест Уэлча (акт.-случайн.): $p = 0.000$



U-критерий Манна — Уитни (акт.-неакт.): $p = 0.000$ Тест Уэлча (акт.-неакт.): $p = 0.000$
 U-критерий Манна — Уитни (акт.-случайн.): $p = 0.034$ Тест Уэлча (акт.-случайн.): $p = 0.000$



U-критерий Манна — Уитни (акт.-неакт.): $p = 0.000$ Тест Уэлча (акт.-неакт.): $p = 0.000$
 U-критерий Манна — Уитни (акт.-случайн.): $p = 0.000$ Тест Уэлча (акт.-случайн.): $p = 0.000$