

ІІТМО

А.Т. Серых, А.С. Новиков

**ПРИМЕНЕНИЕ ПРОГРАММНЫХ
ПАКЕТОВ AUTODOCK 4
И DISCOVERY STUDIO
ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО
ДОКИНГА**



**Санкт-Петербург
2026**

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

А.Т. Серых, А.С. Новиков
ПРИМЕНЕНИЕ ПРОГРАММНЫХ ПАКЕТОВ
AUTODOCK 4 И DISCOVERY STUDIO ДЛЯ
ПРОВЕДЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

РЕКОМЕНДОВАНО К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В УНИВЕРСИТЕТЕ ИТМО
по направлению подготовки 18.03.01 Химическая технология
в качестве учебного пособия для реализации основных профессиональных
образовательных программ высшего образования бакалавриата

ИТМО

Санкт-Петербург
2026

Серых А.Т., Новиков А.С., Применение программных пакетов AutoDock 4 и Discovery Studio для проведения молекулярного докинга– СПб: Университет ИТМО, 2026. – 72 с.

Рецензент(ы):

Клюкин Илья Николаевич, к.х.н., старший научный сотрудник института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН.

В данном методическом пособии кратко изложен минимальный необходимый алгоритм работы в программных пакетах AutoDock 4 и Biova Discovery Studio для проведения исследований методом молекулярного докинга, включая подготовку структур рецептора и лиганда, настройку параметров расчета и выполнение расчета энергии связывания. Также приведены основные принципы анализа результатов, включая оценку энергии связывания и визуализацию ключевых межмолекулярных взаимодействий.

Пособие предназначено для студентов бакалавриата и магистратуры направления «Инфохимия» университета ИТМО и может быть использовано для обучения в рамках дисциплин (модулей) "Компьютерные методы и моделирование", "Квантовая химия" и "Инфохимия".



ИТМО (Санкт-Петербург) — национальный исследовательский университет, научно-образовательная корпорация. Альма-матер победителей международных соревнований по программированию. Приоритетные направления: IT и искусственный интеллект, фотоника, робототехника, квантовые коммуникации, трансляционная медицина, Life Sciences, Art&Science, Science Communication.

Лидер федеральной программы «Приоритет-2030», в рамках которой реализуется программа «Университет открытого кода». С 2022 ИТМО работает в рамках новой модели развития — научно-образовательной корпорации. В ее основе академическая свобода, поддержка начинаний студентов и сотрудников, распределенная система управления, приверженность открытому коду, бизнес-подходы к организации работы. Образование в университете основано на выборе индивидуальной траектории для каждого студента.

ИТМО пять лет подряд — в сотне лучших в области Automation & Control (кибернетика) Шанхайского рейтинга. По версии SuperJob занимает первое место в Петербурге и второе в России по уровню зарплат выпускников в сфере IT. Университет в топе международных рейтингов среди российских вузов. Входит в топ-5 российских университетов по качеству приема на бюджетные места. Рекордсмен по поступлению олимпиадников в Петербурге. С 2019 года ИТМО самостоятельно присуждает ученые степени кандидата и доктора наук.

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	4
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ	7
1. Скачивание структур мишени и лиганда	9
1.1. Подготовка pdb файла мишени	15
1.2. Подготовка pdb файла лиганда.....	22
1.3. Определение активного центра	24
2. Подготовка pdbqt файла мишени	27
3. Подготовка pdbqt файла лиганда.....	36
4. Построение сетки	43
5. Расчет карт взаимодействия	47
6. Докинг.....	50
7. Анализ результатов	59
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	68

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время молекулярный докинг относится к числу наиболее распространенных и востребованных методов в современном компьютерном дизайне лекарств. Его суть заключается в предсказании наиболее вероятного положения, ориентации и конформации малой молекулы (лиганда) внутри связывающего кармана белка-мишени, а также в оценке энергии их взаимодействия [1, 2].

Для прогнозирования взаимодействия лиганда с биологической мишенью разработан ряд специализированных программных пакетов. Несмотря на общую цель, в программах реализованы различные алгоритмы поиска ориентации лиганда в мишени, которые можно классифицировать на два основных подвида: систематические и стохастические [3].

Систематические алгоритмы стремятся к полному перебору возможных конформаций лиганда в сайте связывания. Так, алгоритм систематического поиска (systematic search algorithm [4]), реализованный в коммерческом пакете программ Glide [5], перебирает все возможные значения торсионных углов вращающихся связей лиганда с заданным шагом. Хотя Glide показывает высокую точность в предсказании позы лиганда, его эффективность может снижаться для крупных и гибких молекул, поскольку вычислительная сложность алгоритма растет экспоненциально [6].

В то же время метод инкрементальной сборки (Incremental Construction [7]) характеризуется меньшей вычислительной нагрузкой, так как в основе алгоритма лежит перебор конформаций не целой молекулы, а ее фрагментов. Так, в первую очередь жесткие фрагменты молекулы лиганда размещаются в наиболее подходящие связывающие карманы. Затем к фрагментам присоединяются гибкие участки, конформация которых оптимизируется для сборки единой молекулы. Данный подход реализован в программах FlexX [8] и DOCK [9]. DOCK является одной из первых в истории программ для молекулярного докинга, доступной бесплатно для учебных целей. В сравнительных исследованиях DOCK демонстрирует надежную, но не всегда максимальную точность. FlexX – коммерческая программа, хорошо работающая в условиях моделирования гибких лигандов, однако уступает в точности воспроизведения позы таким лидерам, как Glide [6].

Стохастические алгоритмы работают не детерминированно, а вносят случайные изменения в конформационное пространство лиганда с заданной

итерацией, за которыми следует оценка энергии полученного положения. К наиболее популярным стохастическим методам, применяемым в докинге, относятся метод Монте-Карло и генетические алгоритмы.

Метод Монте-Карло в молекулярном моделировании реализуется через алгоритм Метрополиса-Гастингса (Metropolis-Hastings algorithm [10]). Так, алгоритм принимает или отвергает случайные изменения ориентации лиганда в активном центре рецептора, а затем оценивает энергию нового положения. Если энергия стала ниже по сравнению с начальной, такая конформация принимается как улучшение и далее будет претерпевать изменения. Данный метод был представлен в ранней версии программного пакета AutoDock [11], а также может использоваться в упомянутом ранее Glide для оптимизации ориентации лигандов на заключительных этапах исследования [6].

Генетический алгоритм (Genetic Algorithm [12]) вдохновлен идеей естественного отбора. В отличие от метода Монте-Карло, работающего с поиском наилучшей конформации для одного лиганда, генетический алгоритм работает с популяцией конформаций, отбирает кандидатов с лучшими показателями энергии и скрещивает их между собой. Кроме того, в генетическом алгоритме элемент случайности реализован в виде мутагенеза на старте каждого цикла селекции. Алгоритм лежит в основе таких программ, как GOLD [13] и AutoDock/AutoDock Vina [14]. Коммерческий пакет программ GOLD показывает высокую точность при работе с гидрофильными лигандами, однако при исследовании гидрофобных молекул точность падает, но остается на приемлемом для скрининга уровне. В свою очередь, AutoDock/AutoDock Vina являются бесплатными открытыми пакетами, хорошо зарекомендовавшими себя для образовательных целей. Программы показывают конкурентоспособные результаты при исследовании малых молекул, однако для работы с более крупными белками и лигандами может потребоваться дополнительная валидация [6, 15].

В данном методическом пособии для студентов Университета ИТМО представлен минимальный перечень необходимых шагов и параметров для выполнения типичной задачи по молекулярному докингу с использованием программных пакетов AutoDock 4 (ссылка для скачивания <https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/>) и Discovery Studio (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>). Рассмотрен пример стандартного рабочего процесса, который может быть легко адаптирован

студентами (и аспирантами) под их конкретные научные задачи, такие как виртуальный скрининг библиотек соединений или уточнение механизма действия биологически активных веществ.

В процессе изучения данного методического пособия и применения пакета AutoDock 4 у студентов будут сформированы базовые знания в области подготовки файлов рецептора и лиганда, настройки параметров расчета, планирования и запуска вычислительных экспериментов. Студенты приобретут умение критически анализировать полученные результаты и визуализировать ключевые межмолекулярные взаимодействия.

Пособие предназначено для студентов бакалавриата и магистратуры направления «Инфохимия» университета ИТМО и может быть использовано для обучения в рамках дисциплин (модулей) "Компьютерные методы и моделирование", "Квантовая химия" и "Инфохимия".

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ

Успех любого проекта молекулярного докинга зависит от грамотного выбора мишени. Вопреки возможному представлению о докинге как о сугубо вычислительной процедуре подбора лиганда, процесс начинается с глубокой аналитической работы. В контексте медико-биологических исследований фокус, как правило, направлен на белковые молекулы, которые выступают в качестве ключевых звеньев патогенеза различных заболеваний.

При этом стратегия поиска мишени напрямую зависит от исходных целей исследования, которые можно разделить на два основных метода:

1. **Прямой докинг.** Метод подразумевает, что исследователь прицельно работает с заранее известной мишенью. Целью докинга в данном случае является идентификация или дизайн лигандов, которые с наибольшей аффинностью (сродством) будут связываться с заданной мишенью.
2. **Обратный докинг.** В данном случае исследователь располагает химической структурой потенциального лекарственного соединения, но не знает, на какую белковую мишень в организме оно может действовать. Так, целью является проведение виртуального скрининга базы данных белковых структур, чтобы идентифицировать те из них, чей активный сайт наиболее комплементарен исследуемому лиганду [1].

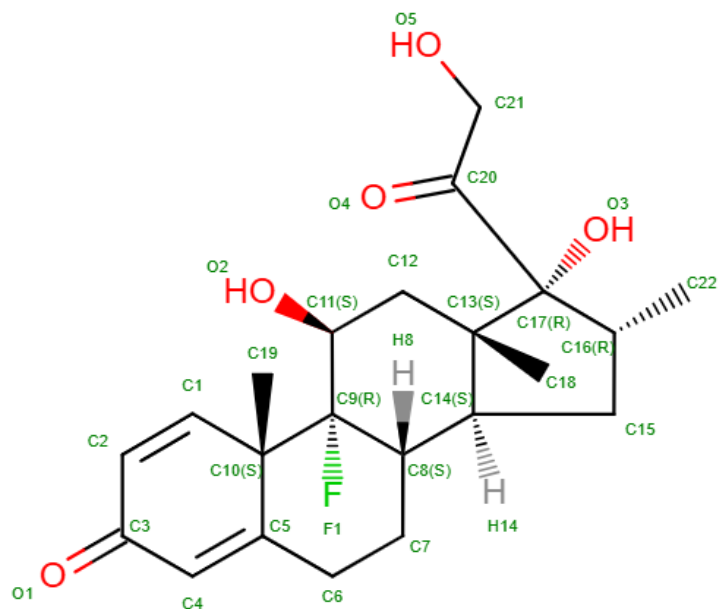
В данном пособии мы будем использовать методику молекулярного докинга на примере глюкокортикоидного рецептора (ГР).

ГР представляет собой белок, относящийся к суперсемейству ядерных рецепторов. Он регулирует работу генов, контролирующих развитие, метаболизм и иммунный ответ в клетке. В неактивном состоянии рецептор существует в комплексе с белками-шаперонами в цитоплазме. Связывание лиганда (эндогенного гормона или синтетического агониста) индуцирует конформационную перестройку рецептора, его димеризацию и транслокацию в ядро. В ядре лиганд-рецепторный комплекс связывается со специфичными участками ДНК, осуществляя регуляцию транскрипции целевых генов [16].

Для начала работы необходимо ознакомиться со структурой рецептора. Наша цель – провести молекулярный докинг между ГР и его агонистом – дексаметазоном, синтетическим глюкокортикостероидным препаратом, оказывающим мощное противовоспалительное, иммуносупрессивное и противоаллергическое действие [16]. Из литературных источников известно, что за связывание лиганда в рецепторе отвечает гидрофобная полость, специфически

распознающая структуру глюкокортикоидов. Критическую роль в ориентации и фиксации лиганда играет сеть водородных связей, формируемая между функциональными группами стероида и остатками аминокислот рецептора:

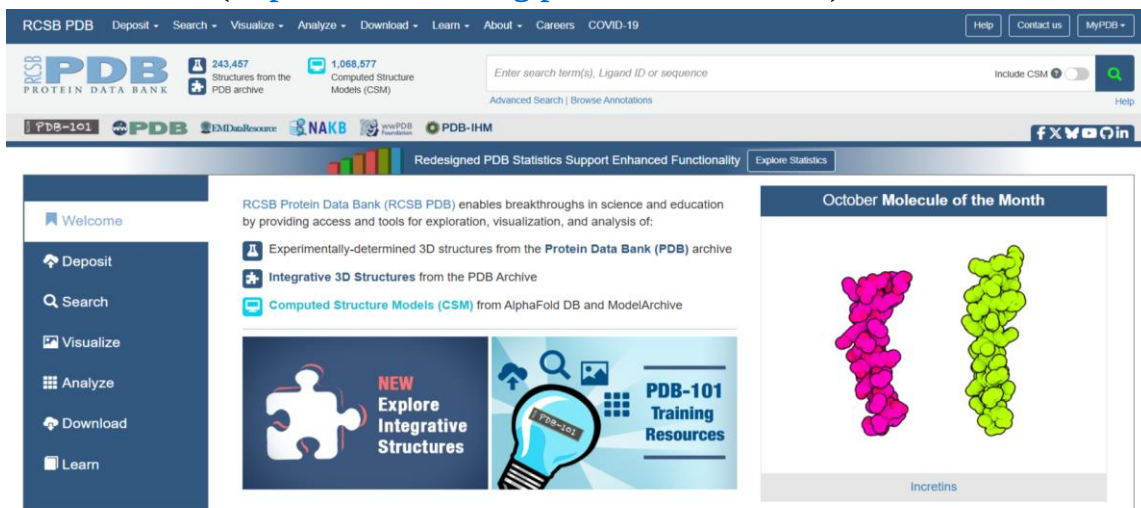
- связь Gln570 и Arg611 с карбонильной группой C3;
- связь Gln642 с гидроксильной группой C17;
- связь Asn564 с гидроксильными группами C11 и C21;
- связь Thr739 с гидроксильной группой C21 и карбонильной C20 [16].



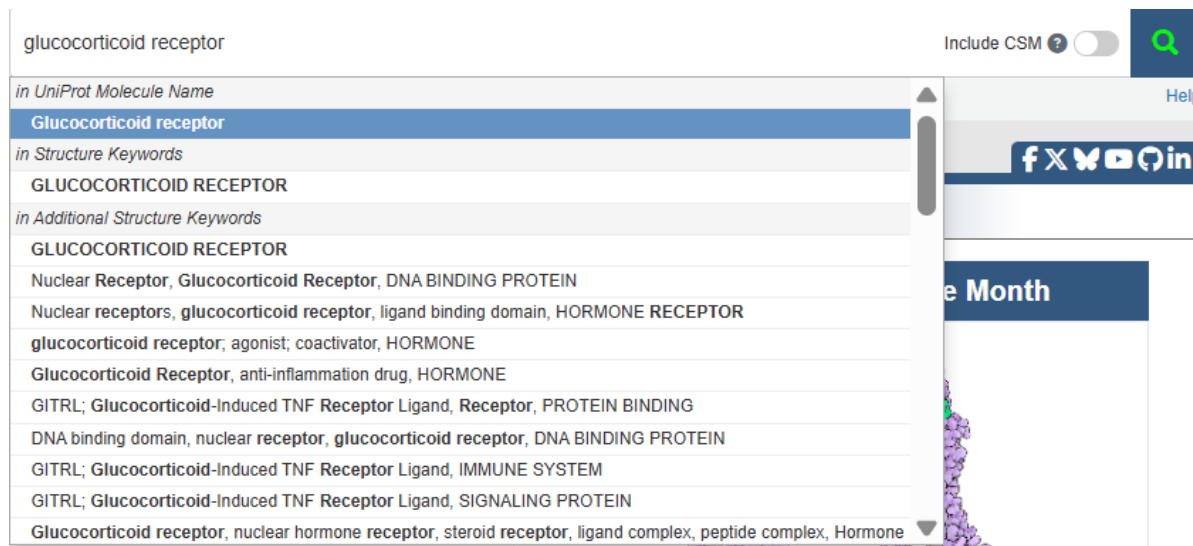
Структура дексаметазона.

1. Скачивание структур мишени и лиганда

Для работы в программах нам необходимо получить **pdb файл**, в котором будут описаны координаты всех атомов, входящих в состав молекулы, их вид, заряд и другие характеристики. Одним из важнейших ресурсов, содержащих данные о трехмерной структуре белков и нуклеиновых кислот, является RCSB Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>).



Чтобы найти интересующий нас белок, нужно воспользоваться поисковой строкой. Поиск в базе данных может производиться по названию белка, по его четырехбуквенному идентификационному коду, по лиганду, по структуре и по последовательности. Введем в окно поиска запрос **Glucocorticoid receptor** и выберем предложенную строку с названием рецептора в подпункте **in UniProt Molecule Name**.



Пролистнув поле расширенного поиска, мы увидим, что сайт выдал нам 85 структур.

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn About Careers COVID-19 Help Contact us MyPDB

Search Summary This query matches 85 Structures.

Refinements

Structure Determination Methodology

Scientific Name of Source Organism

Taxonomy

Experimental Method

Polymer Entity Type

1 to 25 of 85 Structures Page 1 of 4 25 Sort by Score

1GDC | **pdb_00001gdc**

REFINED SOLUTION STRUCTURE OF THE GLUCOCORTICOID RECEPTOR DNA-BINDING DOMAIN
Baumann, H., Paulsen, K., Kovacs, H., Berglund, H., Wright, A.P.H., Gustafsson, J.-A., Hard, T.
(1993) Biochemistry **32**: 13463-13471

Released 1994-06-22
Method SOLUTION NMR
Organisms Rattus norvegicus
Macromolecule GLUCOCORTICOID RECEPTOR (protein)
Unique Ligands ZN

1GLU | **pdb_00001glu**

CRYSTALLOGRAPHIC ANALYSIS OF THE INTERACTION OF THE GLUCOCORTICOID RECEPTOR WITH DNA
Luisi, B.F., Xu, W.X., Otwinowski, Z., Freedman, L.P., Yamamoto, K.R., Sigler, P.B.
(1991) Nature **352**: 497-505

Released 1994-01-31
Method X-RAY DIFFRACTION 2.9 Å
Organisms Rattus norvegicus
Macromolecule PROTEIN (GLUCOCORTICOID RECEPTOR) (protein)
DNA (5'-D(*CP*CP*AP*GP*AP*AP*CP*AP*TP*CP*GP*AP*TP*GP*TP*TP*CP*TP*G)-3') (nucleic acid)
Unique Ligands ZN

При выборе структур для докинга лучше отдавать предпочтение трехмерной структуре белка, к которой уже присоединен нужный лиганд или его химический аналог. Дело в том, что по модели индуцированного соответствия, предложенной Дэниелем Кошландом, предполагается, что белок — нежесткая структура, и связывание лиганда индуцирует конформационные изменения в структуре белка [17]. Поэтому воспользуемся расширенным поиском и попросим выдавать в результатах поиска только структуры, связанные с дексаметазоном. Вверху страницы расположено окно расширенного поиска. В категории **Structure Attributes** добавим уточняющую подкатегорию, нажав кнопку **Add Attribute**.

Advanced Search Query Builder

Full Text

Structure Attributes

UniProt Molecule Name x y z Glucocorticoid receptor

Add Attribute

Chemical Attributes

Sequence Similarity

Sequence Motif

Structure Similarity

Structure Motif

Chemical Similarity

Return No Grouping

В уточнении подкатегории выберем **Structure Details - Structure Title**. Теперь поиск будет выбирать структуры, содержащие в описании нужные нам слова. Впишем **Dexamethasone**.

Поиск сократился до двух структур.

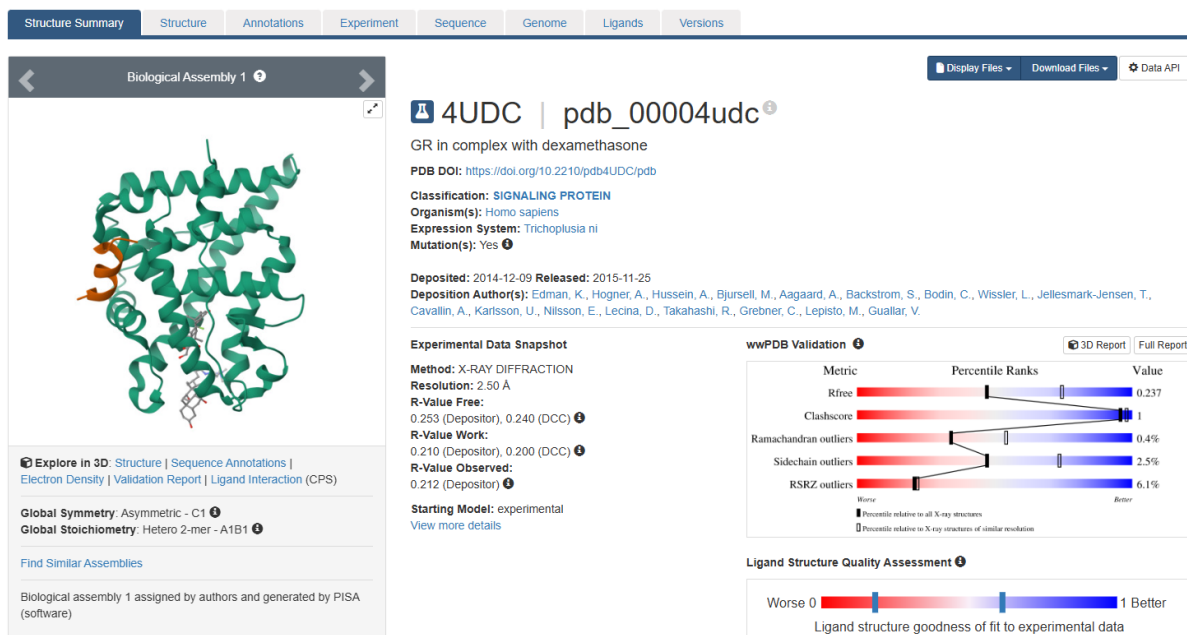
Кликнув на идентификационный номер, мы попадаем на страницу с подробной информацией о структуре. В шапке представлена основная информация: идентификационный номер, организм, из которого получен белок, метод получения, разрешение и т.д.

Особое внимание следует обратить на следующие параметры, характеризующие качество геометрии структуры:

- **Resolution** – разрешение. Это минимальное расстояние, на котором два атома в кристалле еще могут быть различимы. От 1 до 2 Å считается высоким разрешением, от 2 до 3 Å - удовлетворительным, свыше 3 Å – неудовлетворительным [18].
- **R_{free}** – R-фактор. Показывает, насколько хорошо модель может предсказать экспериментальные данные. Интерпретация R-фактора зависит от разрешения: для моделей с разрешением < 2 Å R-фактора не должен превышать 0,25; для моделей < 3 Å R-фактора не должен превышать 0,3 [19].
- **Clashscore** – счет столкновений. Показывает количество пар атомов, находящихся неприемлемо близко друг к другу. Чем меньше столкновений, тем лучше [20].
- **Ramachandran outliers** - выбросы на графике Рамачандрана. Показывает процент аминокислотных остатков, чьи торсионные углы находятся в энергетически невыгодных областях. Чем меньше процент, тем лучше, в идеале < 0.05% [20].



Лучшими характеристиками обладает структура с номером **4UDC**. Ее и выберем.



Пролистнув вниз, можно увидеть секцию Macromolecules. Из нее мы получаем информацию, что исследуемая структура состоит из двух цепей. Цепь А состоит из 280 аминокислот, содержит три мутации. Цепь В представляет собой коактиватор ядерного рецептора, необходимый ГР для реализации эффектов регуляции экспрессии ДНК. Сам он непосредственно с лигандом не взаимодействует [16].

Macromolecules

Find similar proteins by:

Sequence

 (by identity cutoff) | 3D Structure

Entity ID: 1

Molecule	Chains ⓘ	Sequence Length	Organism	Details	Image
GLUCOCORTICOID RECEPTOR	A	280	Homo sapiens	Mutation(s): 3 ⓘ	

UniProt & NIH Common Fund Data Resources

Find proteins for [P04150](#) (*Homo sapiens*)

Explore [P04150](#) ⓘ

Go to UniProtKB: [P04150](#)

PHAROS: [P04150](#)

GTEX: [ENSG00000113580](#)

Entity Groups ⓘ

Sequence Clusters

30% Identity ⓘ

50% Identity ⓘ

70% Identity ⓘ

90% Identity ⓘ

95% Identity ⓘ

100% Identity ⓘ

UniProt Group

[P04150](#) ⓘ

Sequence Annotations

Expand

Entity ID: 2

Molecule	Chains ⓘ	Sequence Length	Organism	Details	Image
NUCLEAR RECEPTOR COACTIVATOR 2	B	14	Homo sapiens	Mutation(s): 0 ⓘ	

UniProt & NIH Common Fund Data Resources

Find proteins for [Q15596](#) (*Homo sapiens*)

Explore [Q15596](#) ⓘ

Go to UniProtKB: [Q15596](#)

PHAROS: [Q15596](#) GTEX: [ENSG00000140396](#)

Entity Groups ⓘ

Sequence Clusters

[30% Identity](#) ⓘ

[50% Identity](#) ⓘ

[70% Identity](#) ⓘ

[90% Identity](#) ⓘ

[95% Identity](#) ⓘ

[100% Identity](#) ⓘ

UniProt Group

[Q15596](#) ⓘ

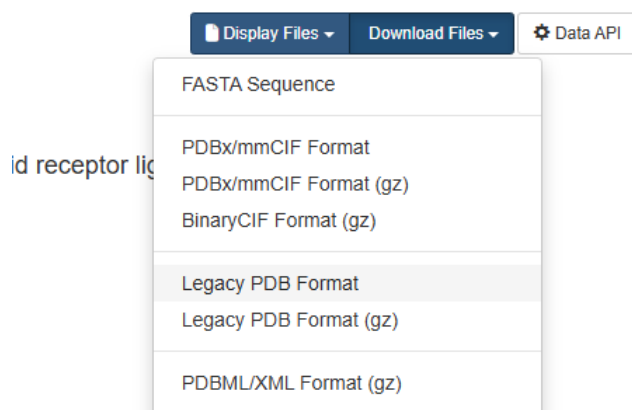
Sequence Annotations

Expand

Информация о всех лигандах представлена в секции Small Molecules. Представлен ID лиганда – трехбуквенный код, цепь к которой лиганд принадлежит, полное название и его химическая структура. Кроме того, для лигандов с экспериментально измеренными активностями представлена информация о их константе ингибирования K_i и концентрации полумаксимального ингибирования IC_{50} в секции Binding Affinity Annotations.

Small Molecules				
Ligands 2 Unique				
ID	Chains ⓘ	Name / Formula / InChI Key	2D Diagram	3D Interactions
CPS Query on CPS Download Ideal Coordinates CCD File ⓘ Download Instance Coordinates	C [auth A]	3-[(3-CHOLAMIDOPROPYL)DIMETHYLAMMONIO]-1-PROPANESULFONATE $C_{32}H_{58}N_2O_7S$ UMCMPZBLKLEWAF-BCTGSCMUSA-N		Interactions ▾ Interactions & Density ▾
DEX Query on DEX Download Ideal Coordinates CCD File ⓘ Download Instance Coordinates	D [auth A]	DEXAMETHASONE $C_{22}H_{34}F_2O_5$ UREBDLICKHIMUKA-CXSFZGCWSA-N		Interactions ▾ Interactions & Density ▾
Binding Affinity Annotations				
ID	Source		Binding Affinity	
DEX	BindingDB: 4UDC		K_i : min: 0.69, max: 2900 (nM) from 10 assay(s) K_d : min: 2, max: 19 (nM) from 3 assay(s) IC_{50} : min: 0.5, max: 22 (nM) from 33 assay(s) EC_{50} : min: 0.1, max: 30 (nM) from 22 assay(s)	

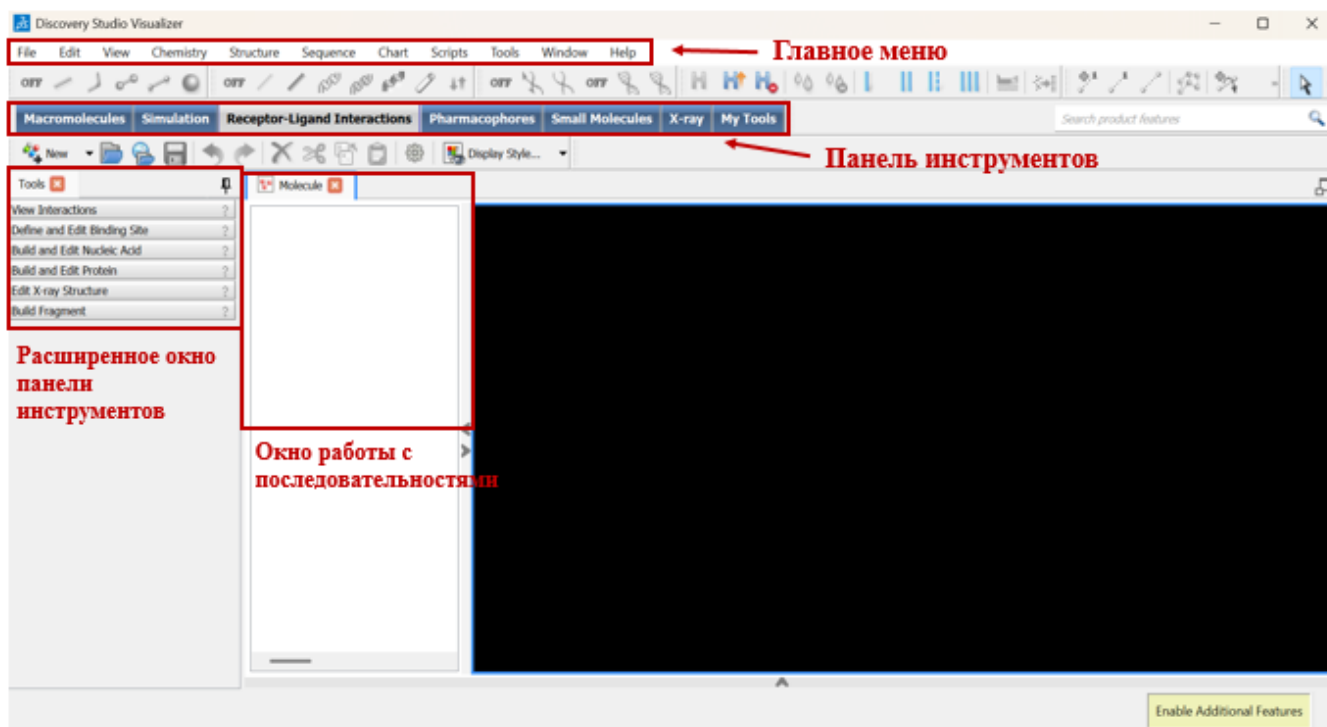
Чтобы скачать структуру на локальный компьютер, нажмем **Download Files – Legacy PDB Format** в правом верхнем углу.



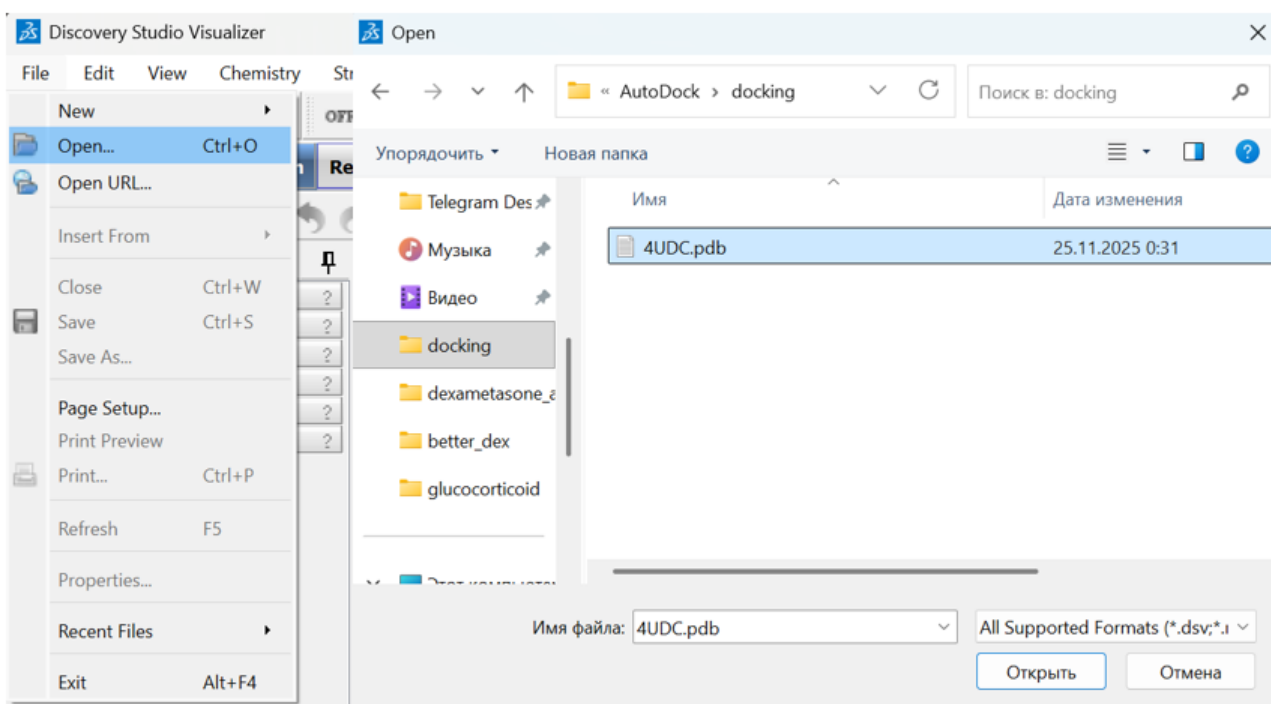
1.1. Подготовка pdb файла мишени

Для правильной работы пакета программ AutoDock 4 необходимо подготовить pdb файлы мишени и лиганда.

Скачанный файл со структурой мишени можно открыть с помощью любого доступного молекулярного редактора. В данном пособии мы воспользуемся молекулярным редактором **Discovery Studio**.

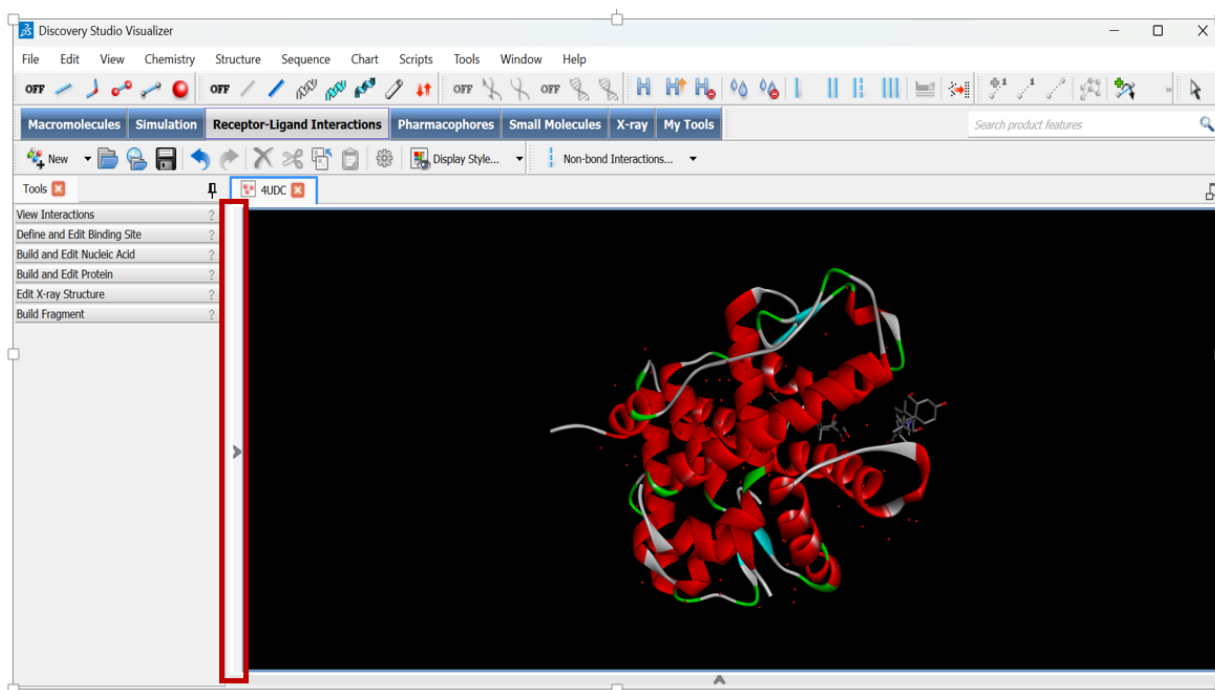


Перед докингom необходимо убедиться, что скачанная структура не содержит ошибок и включений, способных исказить результаты исследования [21]. Откроем **pdb** файл комплекса в **Discovery Studio**. Для этого можно кликнуть **File - Open...** и затем выбрать наш файл **4UDC.pdb**.

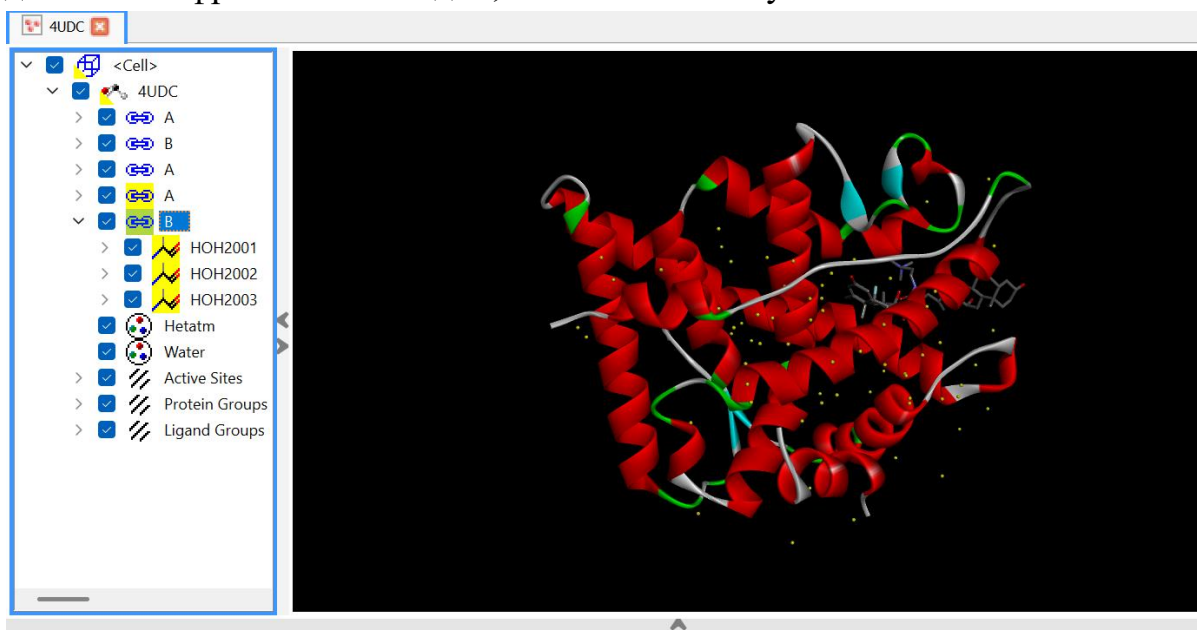


Перед размещением в базе данных Protein Data Bank трехмерная структура макромолекулы определяется экспериментальными методами. Наиболее распространенным из них является рентгеноструктурный анализ, основанный на дифракции рентгеновских лучей на кристалле белка. В силу ограничений полученные модели могут содержать неточности. К типичным артефактам относятся: отсутствие координат для высокоподвижных участков полипептидной цепи, отсутствие данных об ароматичности, некорректные валентности, разрывы в структуре белка, а также присутствие молекул воды, ионов или кофакторов [22].

Для проверки целостности белка и наличия небелковых компонентов следует обратиться к информации об аминокислотной последовательности. Откроем свернутое меню редактирования последовательностей.

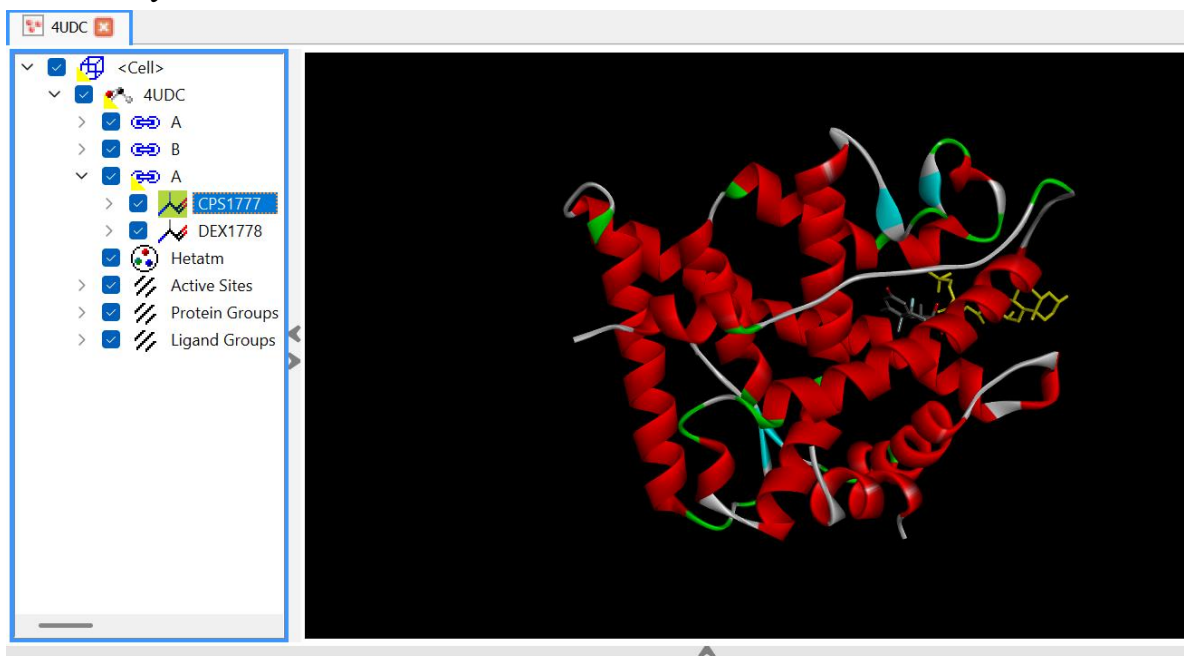


Раскроем всю информацию о структуре. Нижние цепи A и B представлены молекулами воды (НОН_номер_). Чтобы выделить фрагмент, необходимо нажать на него один раз левой кнопкой мыши, пока фрагмент не станет желтым. Чтобы выделить несколько фрагментов, необходимо зажать Ctrl. Как только мы выделили все фрагменты с водой, нажмем клавишу Delete.

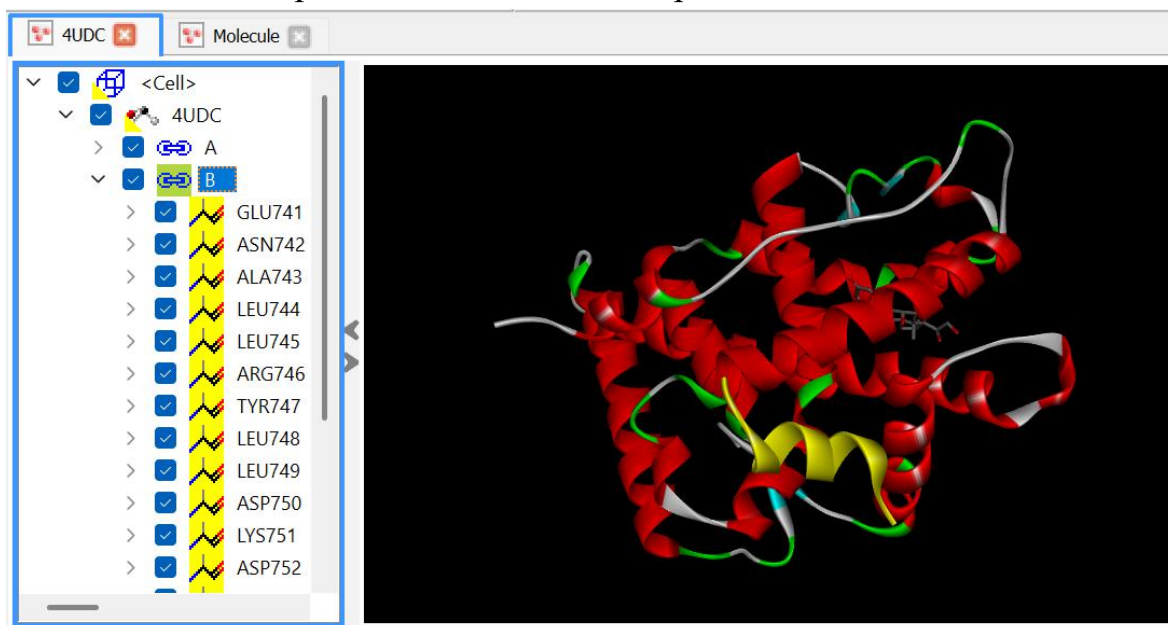


Раскроем еще одну верхнюю цепь A. В ней записана информация о лигандах. В нашем исследовании мы рассматриваем взаимодействие мишени

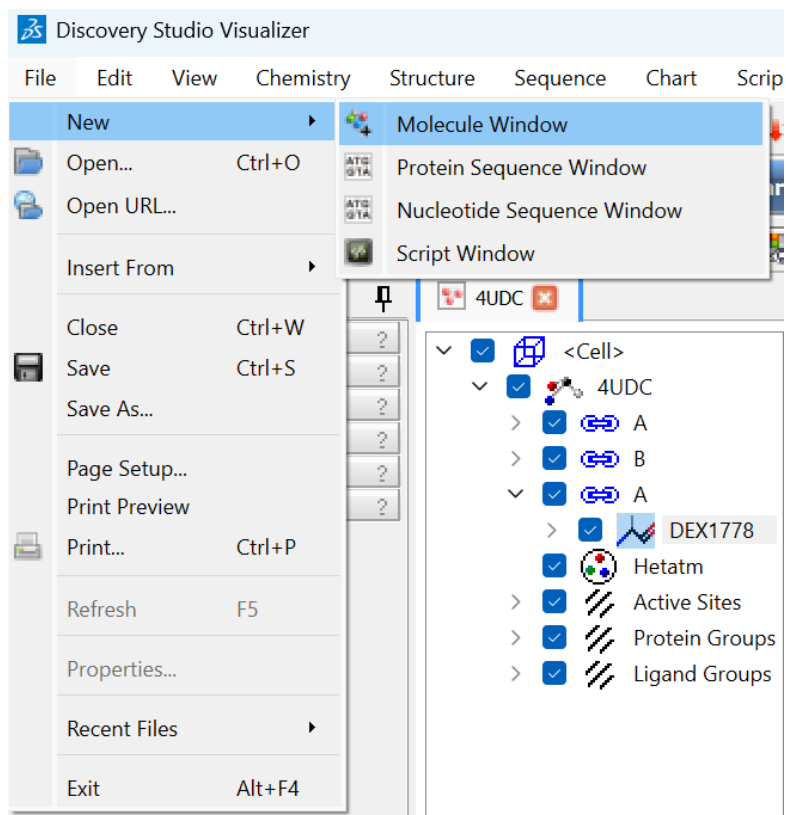
только с дексаметазоном, поэтому удалим CPS из структуры так же, как мы удалили воду.



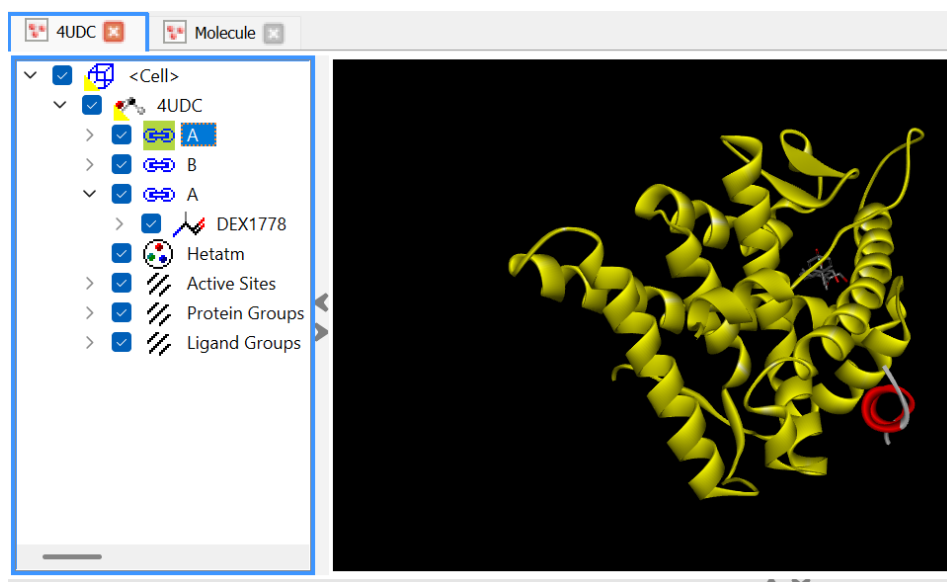
Рассмотрим цепь В. Она представлена аминокислотной последовательностью и ковалентно не связана с основной цепью А. Можно было бы предположить, что это часть основной аминокислотной цепи, претерпевшая разрыв, но это не так. В информации к структуре на Protein Data Bank было описано, что цепь В представлена коактиватором.

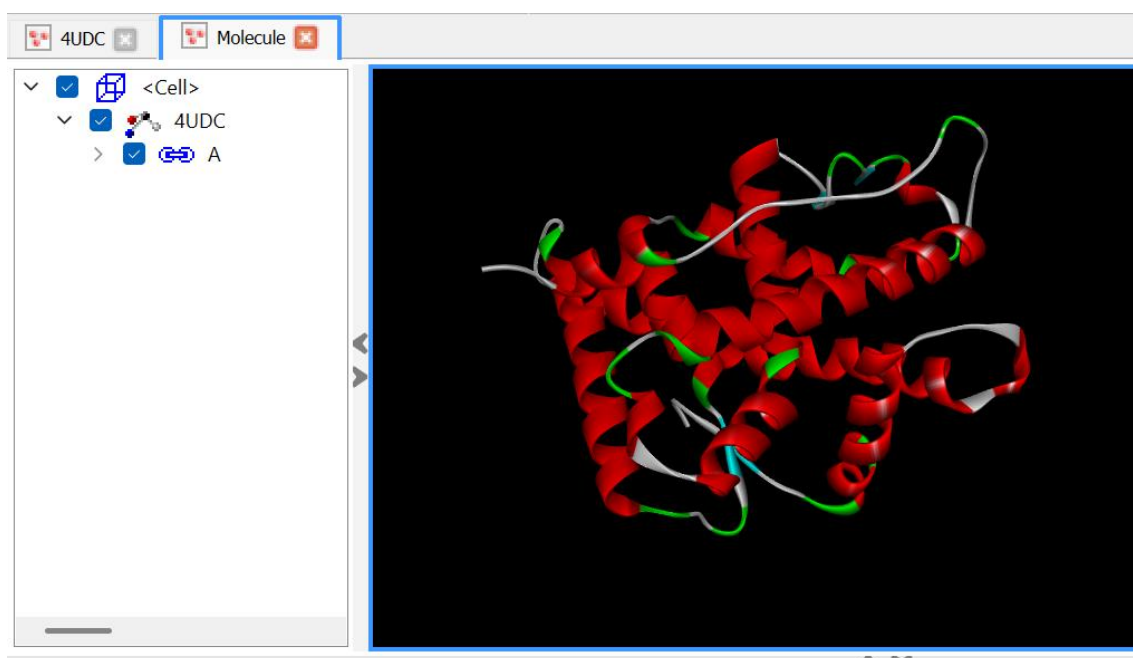


Для докинга нам необходимы отдельные файлы мишени и лиганда. Подготовим pdb файл для белка. Откроем пустое рабочее окно в Discovery Studio. Для этого нажмем **File – New – Molecule Window**.

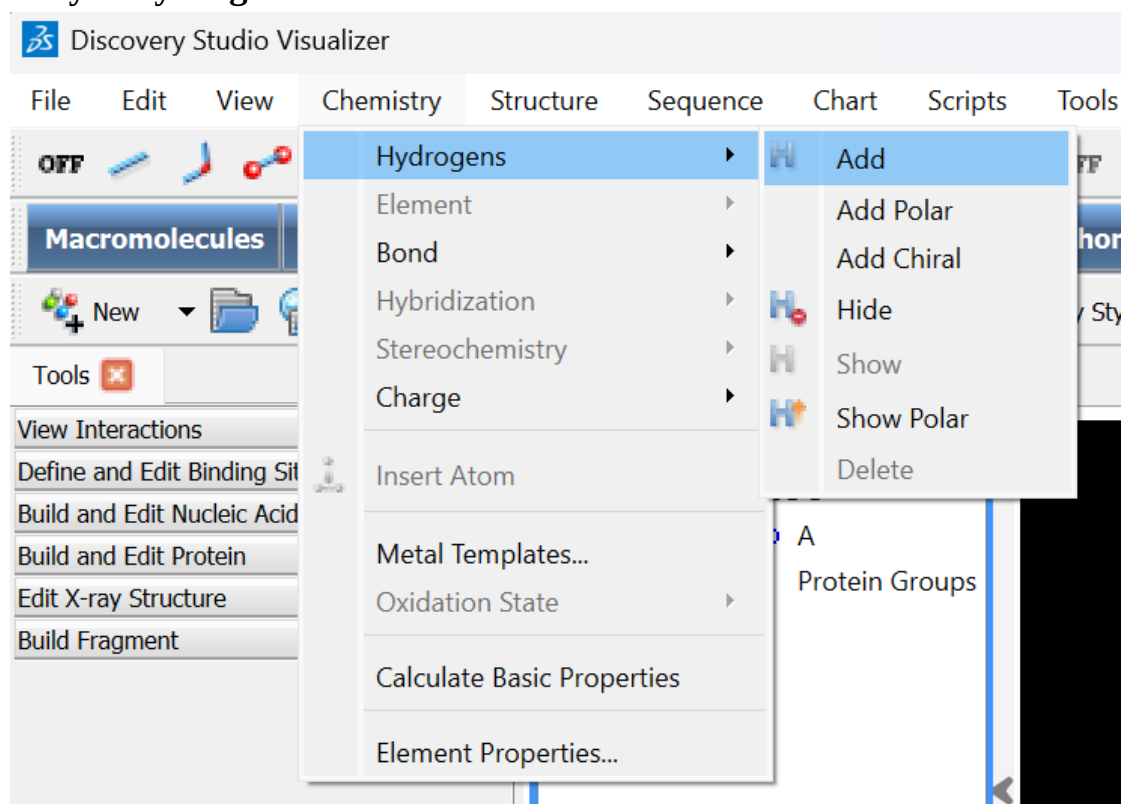


Так как цепь В непосредственно не взаимодействует с лигандом, сохраним в pdb файл мишени только информацию о цепи А. Привычным действием выделим цепь А, скопируем, нажав Ctrl+C, и вставим в новое пустое окно сочетанием Ctrl+V.

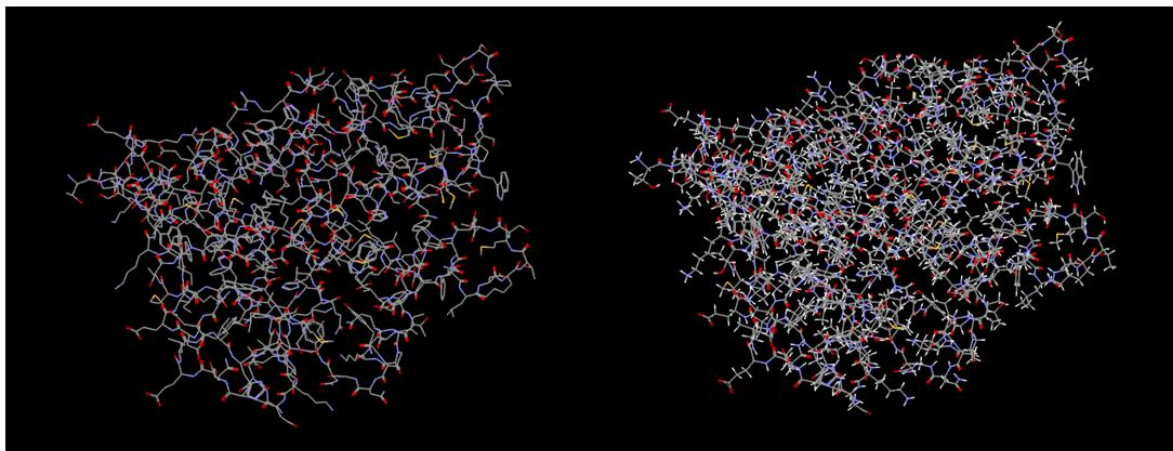




В экспериментальных данных, полученных методом рентгеноструктурного анализа, атомы водорода, как правило, не детектируются из-за малого количества электронной плотности. Однако для корректного моделирования молекулярных взаимодействий атомы водородов необходимо восстановить [22]. Нажмем **Chemistry – Hydropgens – Add**.

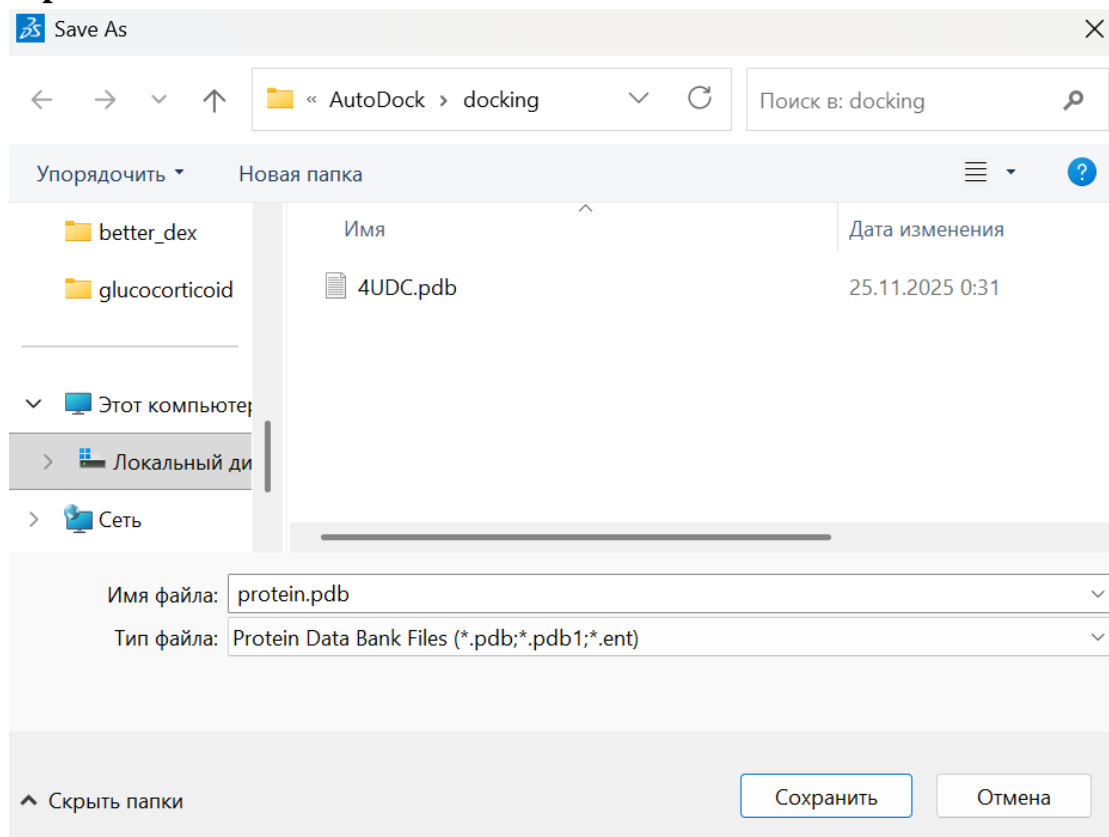


Может показаться, что ничего не произошло, но, если изменить отображение белка с лент (ribbons) на линии (lines), будут видны белые связи с водородами.



Слева изображение белка до использования функции добавления водородов, справа - после.

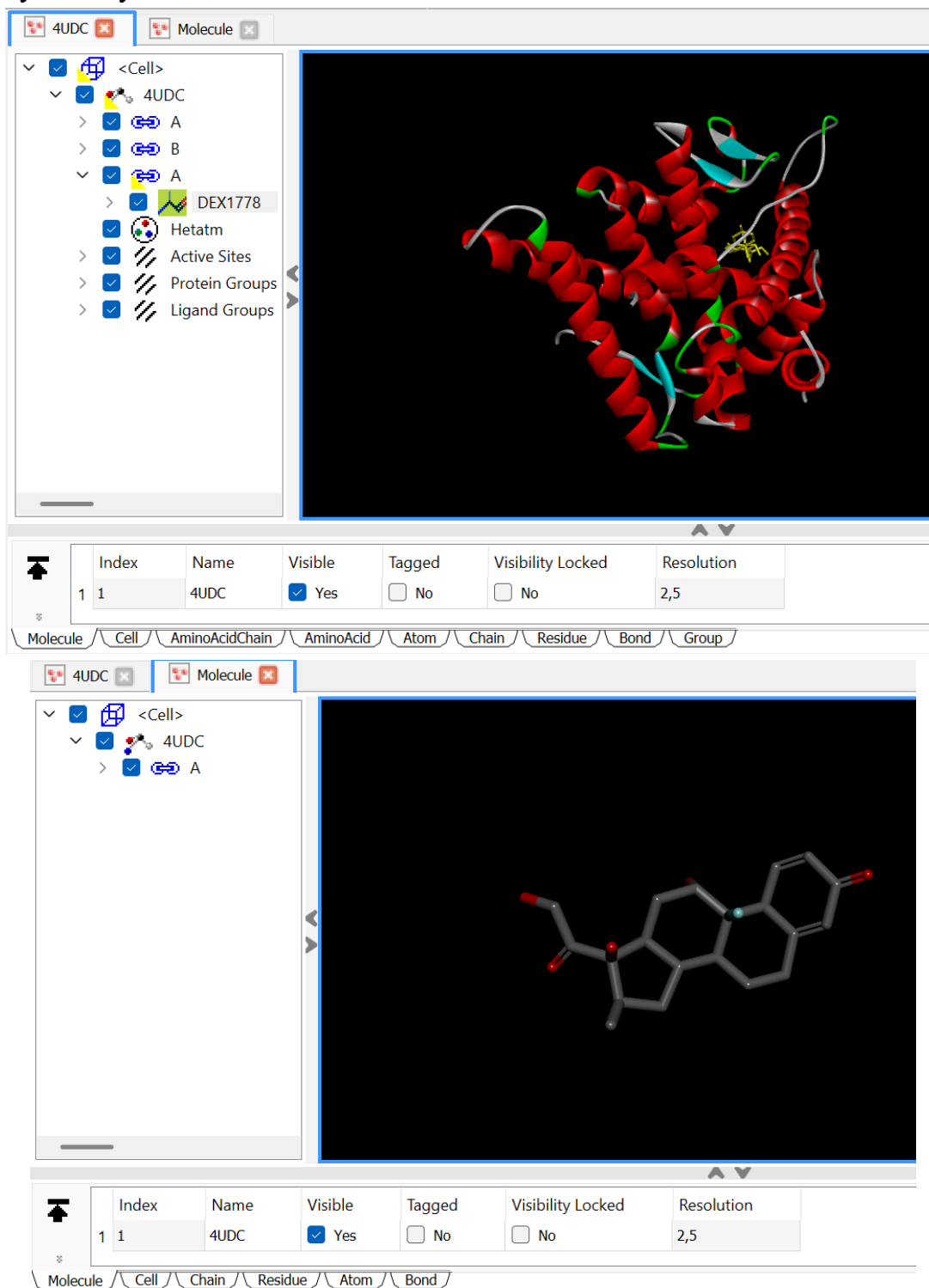
Сохраним pdb файл мишени. Кликнем **File – Save As...**, назовем файл **protein.pdb**.



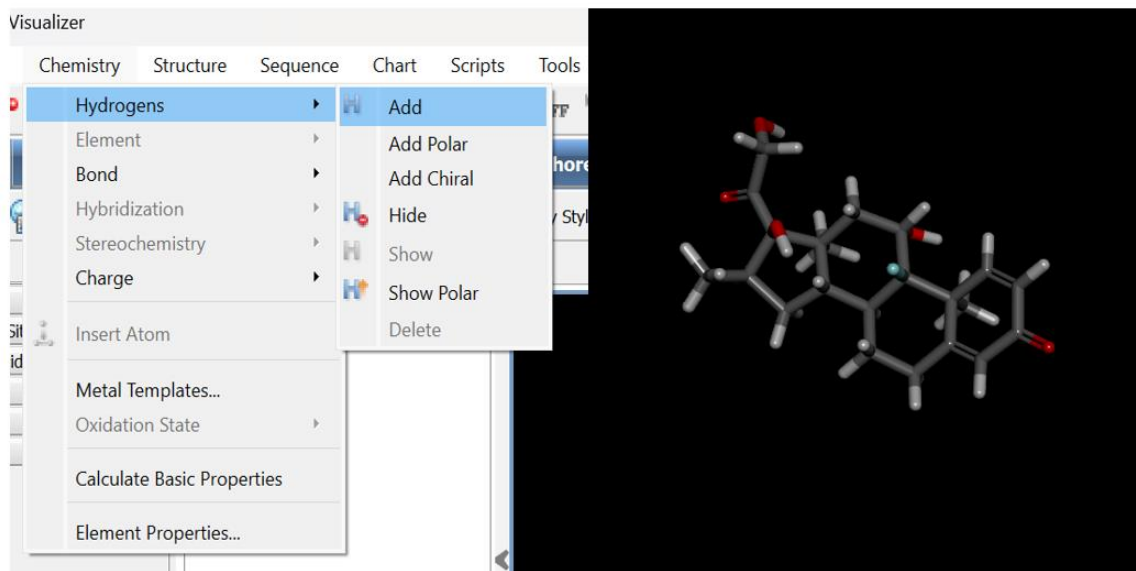
Примечание: AutoDockTools работает, мягко говоря, проблемно, поэтому будет полезным всегда прописывать расширение файла при сохранении.

1.2. Подготовка pdb файла лиганда

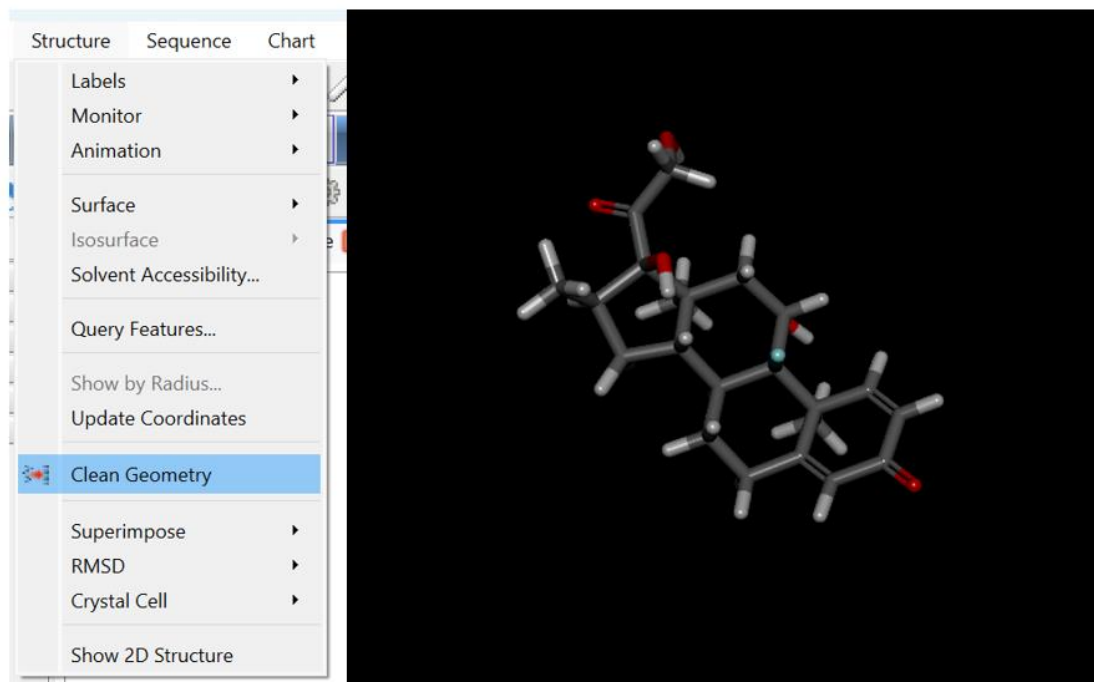
Подготовим pdb файл лиганда. Вернемся к комплексу мишени и лиганда, скопируем структуру лиганда в пустое окно, аналогично копированию белка в предыдущих пунктах.



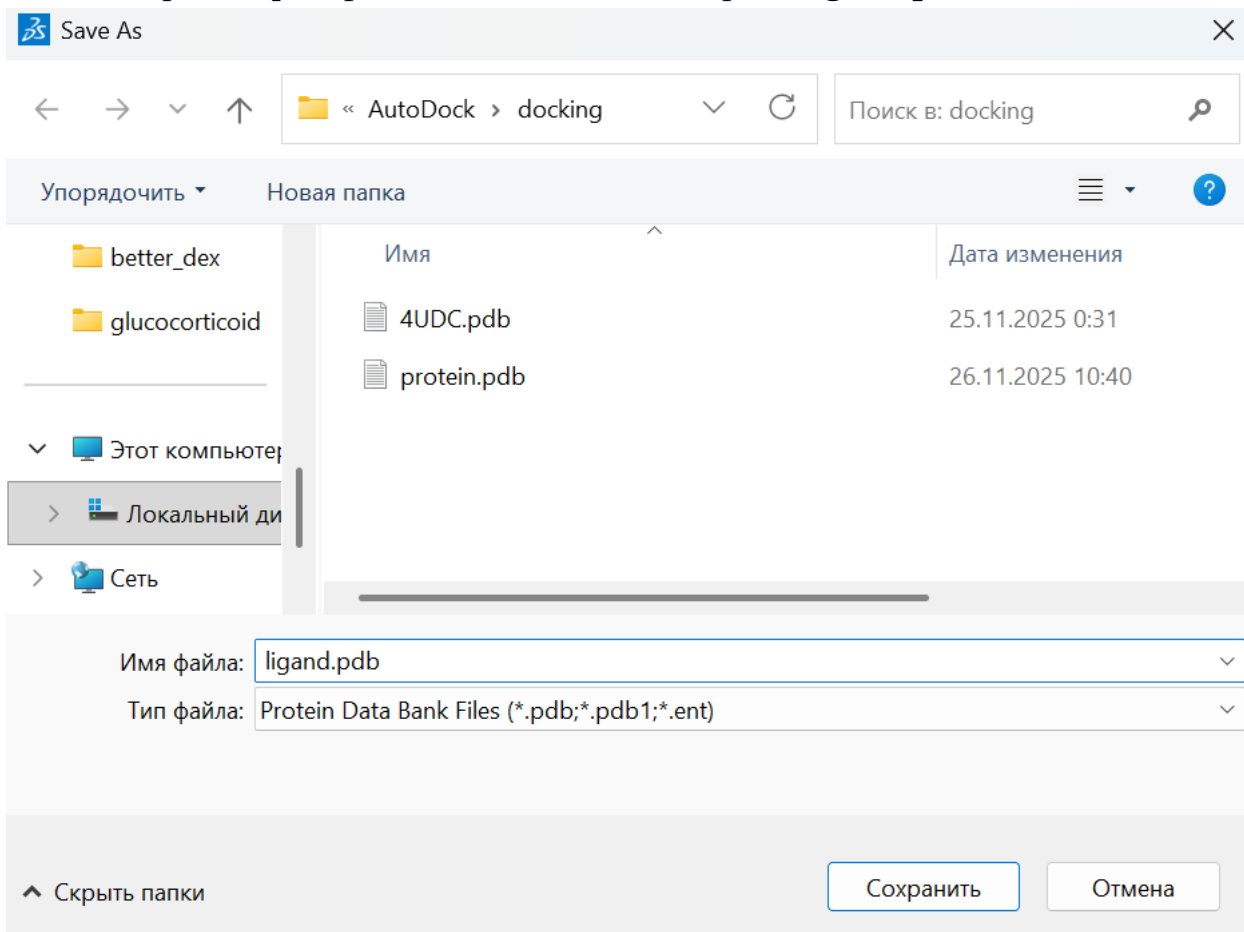
Добавим водороды, кликнув **Chemistry – Hydrogens – Add**. На данном этапе важно проверить правильность протонирования. Если в структуре лиганда присутствуют функциональные группы, которые при нормальном pH имеют заряд, следует вручную изменить положения водородов. К таким группам относятся: карбоксильная, амидная и аминокгруппа [21]. К счастью, молекула дексаметазона не содержит таких групп.



Воспользуемся встроенной функцией по оптимизации геометрии. Нажмем **Structure – Clean Geometry**.



Сохраним pdb файл лиганда. Назовем файл **ligand.pdb**.

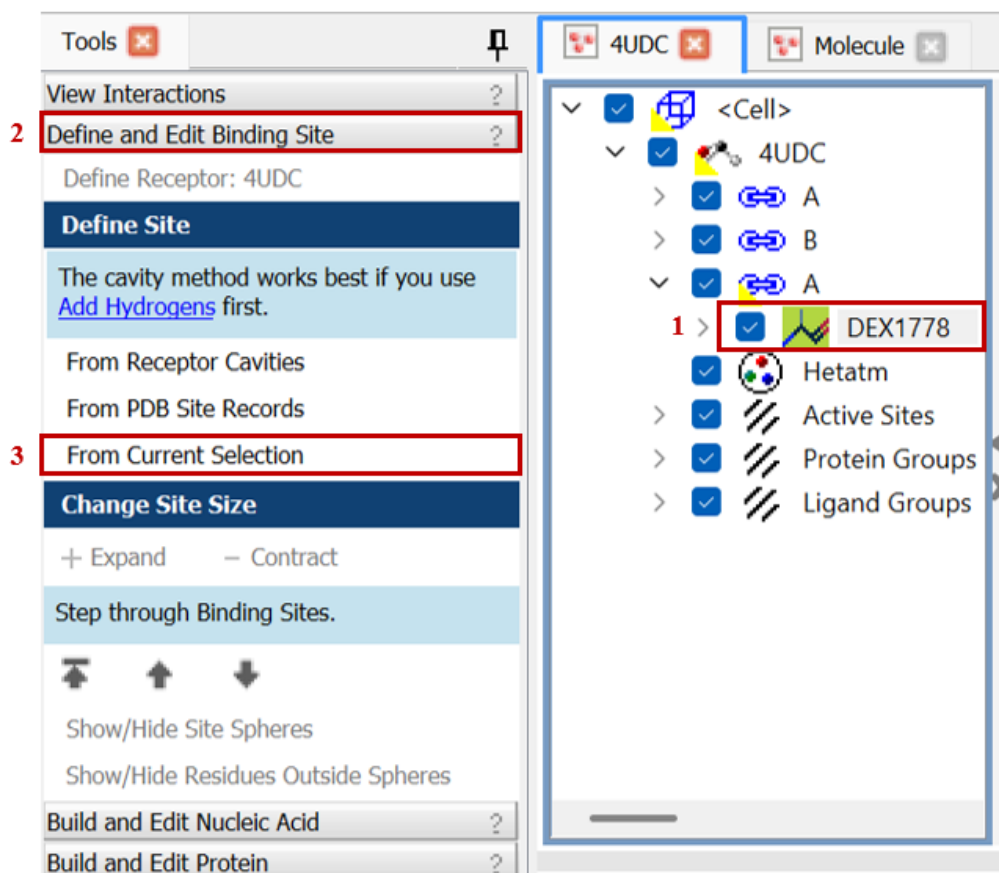


1.3. Определение активного центра

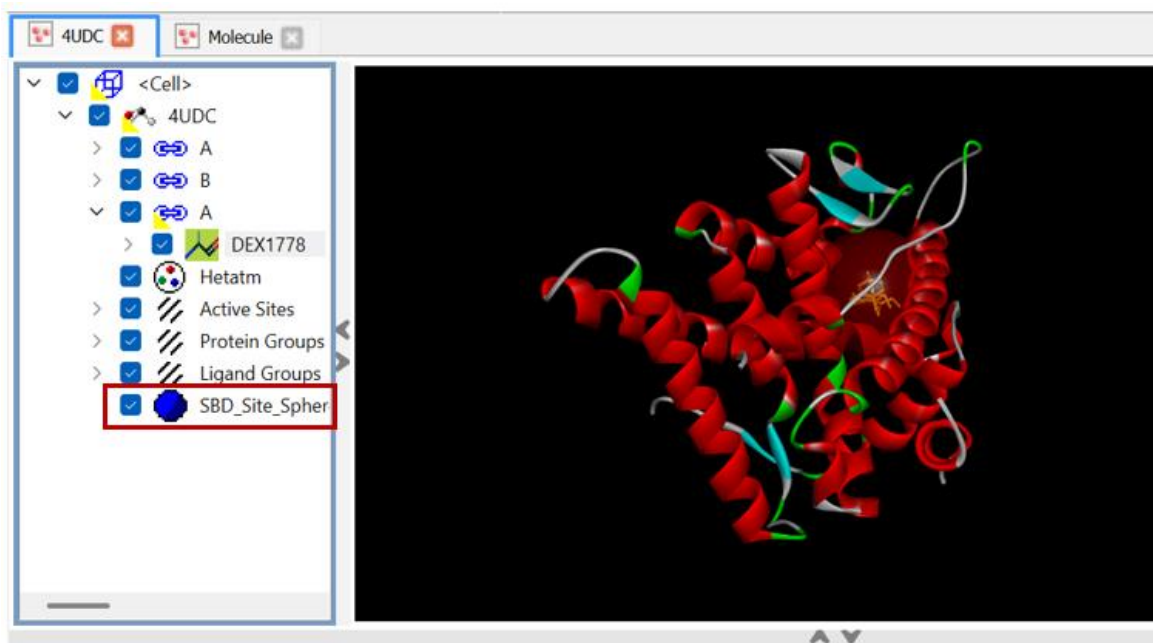
Поскольку лиганд из раствора в процессе кристаллизации обычно занимает место в активном центре, его геометрический центр можно принять за центр сайта связывания для последующих расчетов. Получим координаты лиганда из кристалла.

Примечание: если вы изучаете взаимодействие мишени с лигандом, с которым нет комплекса в protein data bank, придется искать сведения об аминокислотах, формирующих активный центр, в литературе или проводить слепой докинг, о котором мы поговорим ниже.

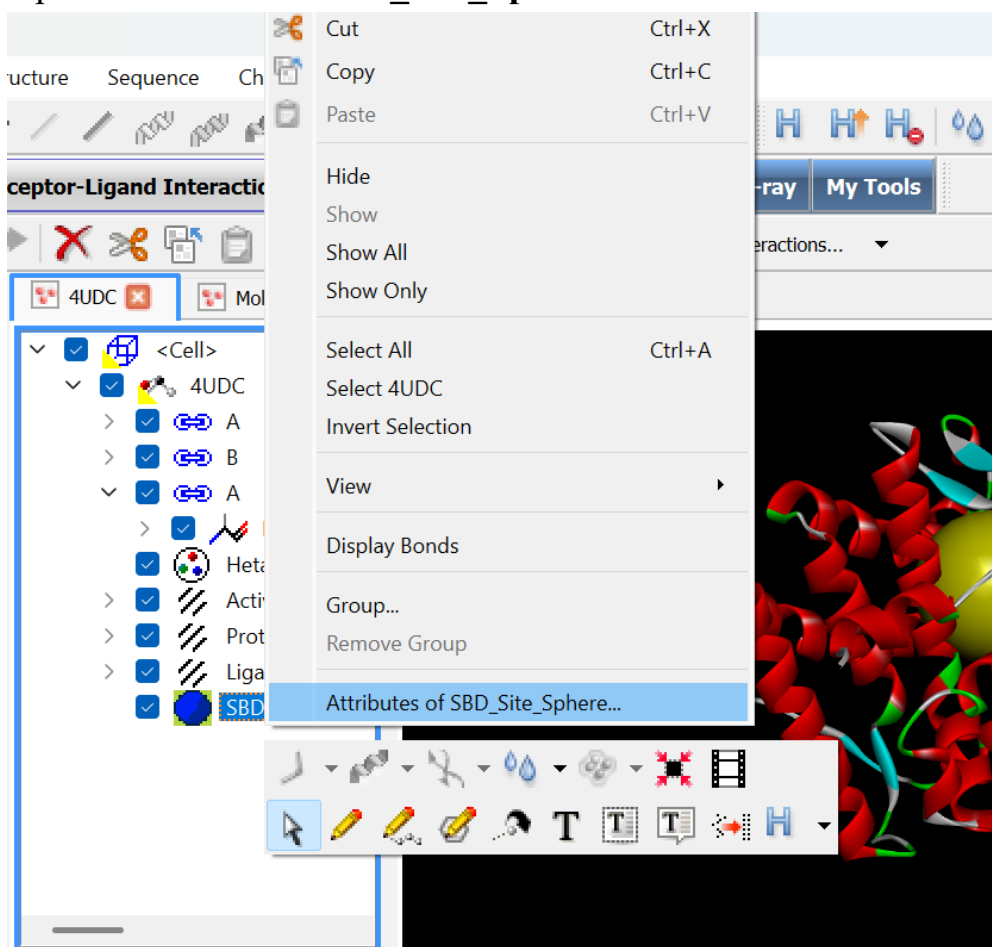
Выделим лиганд. Находясь в меню **Receptor-Ligand Interactions**, раскроем **Define and Edit Binding Site** (если кнопки с меню нет, можно воспользоваться **Tools – Receptor-Ligand Interactions – Define and Edit Binding Site**).



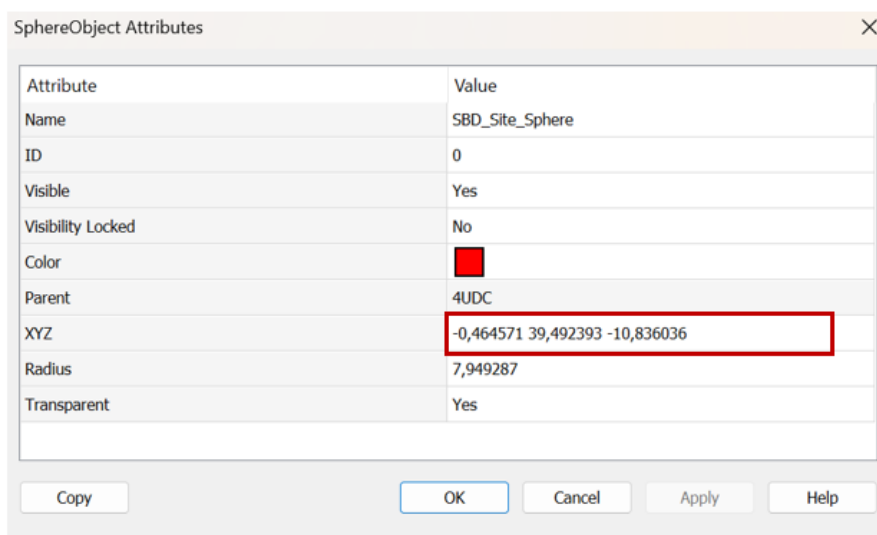
Вокруг выделенного лиганда появилась сфера. Узнаем координаты ее центра. Кликнем один раз левой кнопкой мыши на **SBD_Site_Sphere**, чтобы сфера стала желтого цвета.



Затем там же кликнем один раз правой кнопкой мыши. В открывшемся меню выберем **Attributes of SBD_Site_Sphere....**



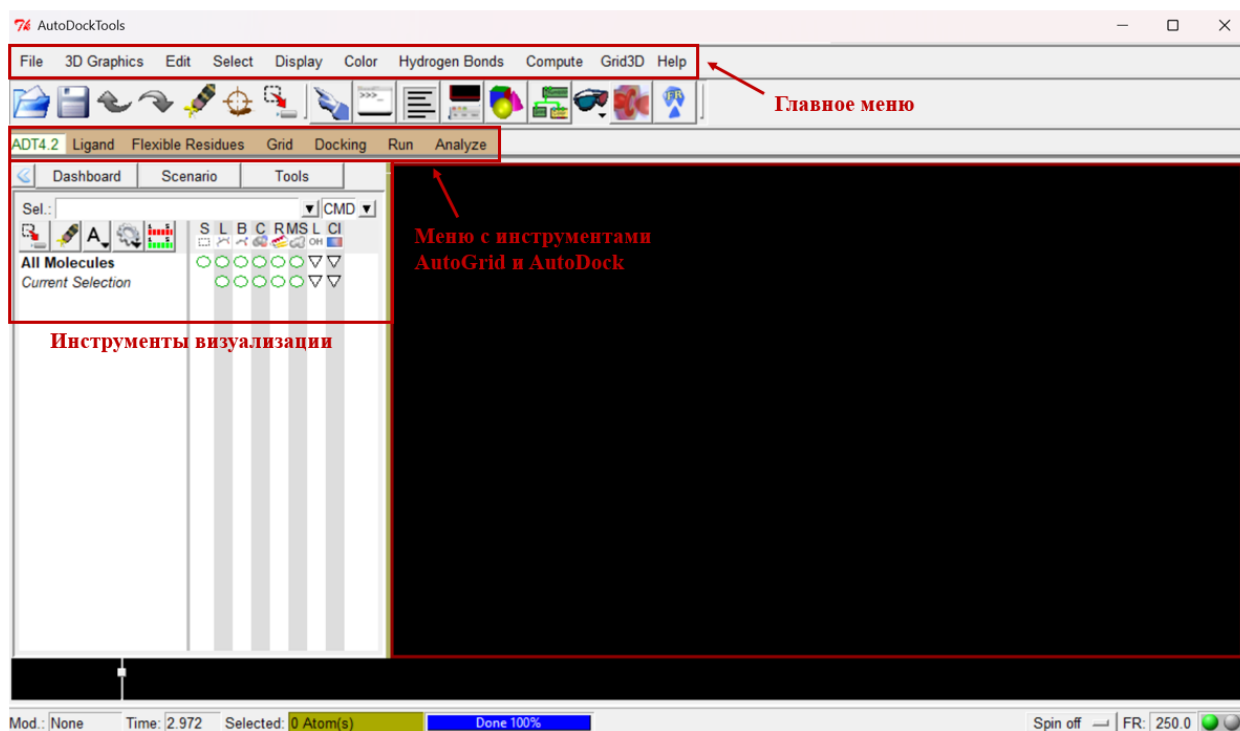
Из нового окна скопируем себе координаты центра сфера в каком-нибудь текстовом документе.



2. Подготовка pdbqt файла мишени

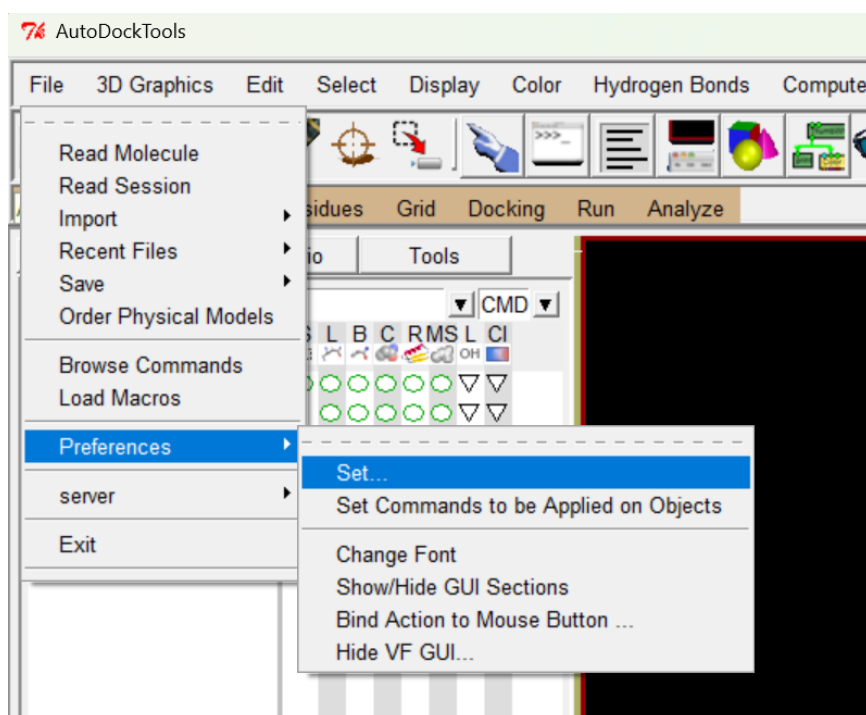
Первым делом для докинга необходимо подготовить **pdbqt файлы** лиганда и мишени, в которых будут отображены координаты атомов водорода, связанных с атомами элементов с большой электроотрицательностью (O, N, S) частичные заряды, типы атомов и информация о гибкости молекул. Начнем с белка.

Большую часть работы мы будем проводить в программе AutoDockTools. Это графический интерфейс, позволяющий проводить подготовку структур к докингу, запуск расчета в AutoGrid и AutoDock и анализ результатов (ссылка для скачивания <https://autodocksuite.scripps.edu/ad/>).

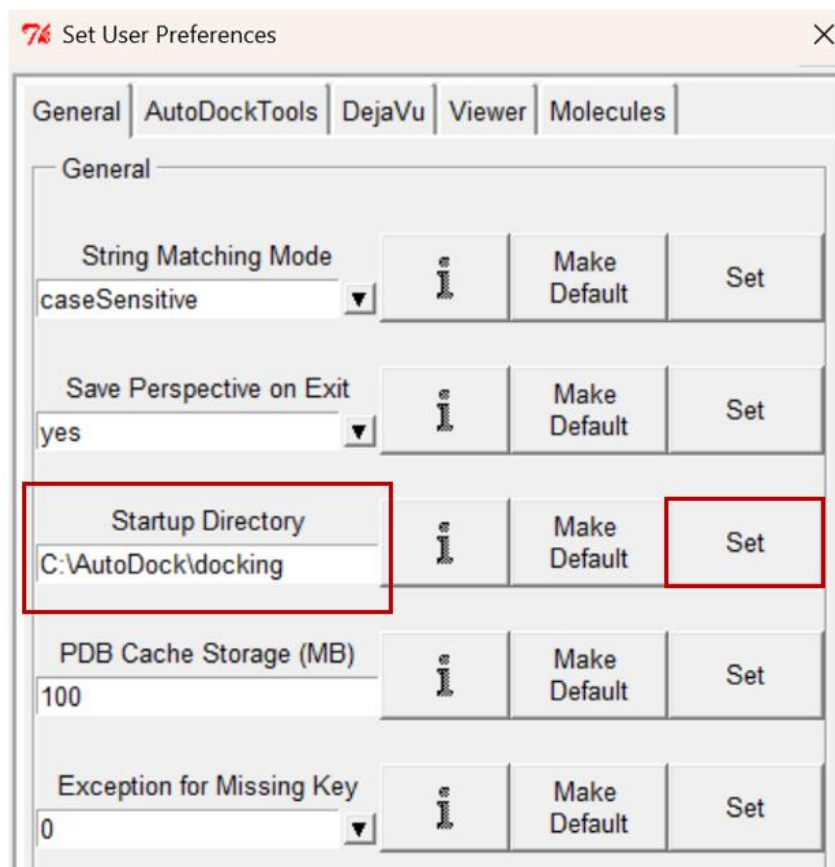


0. Задать путь к рабочей папке.

Для начала зададим путь к рабочей папке, в которой будут расположены все файлы, связанные с докингом. Кликнем **File – Preferences – Set....**



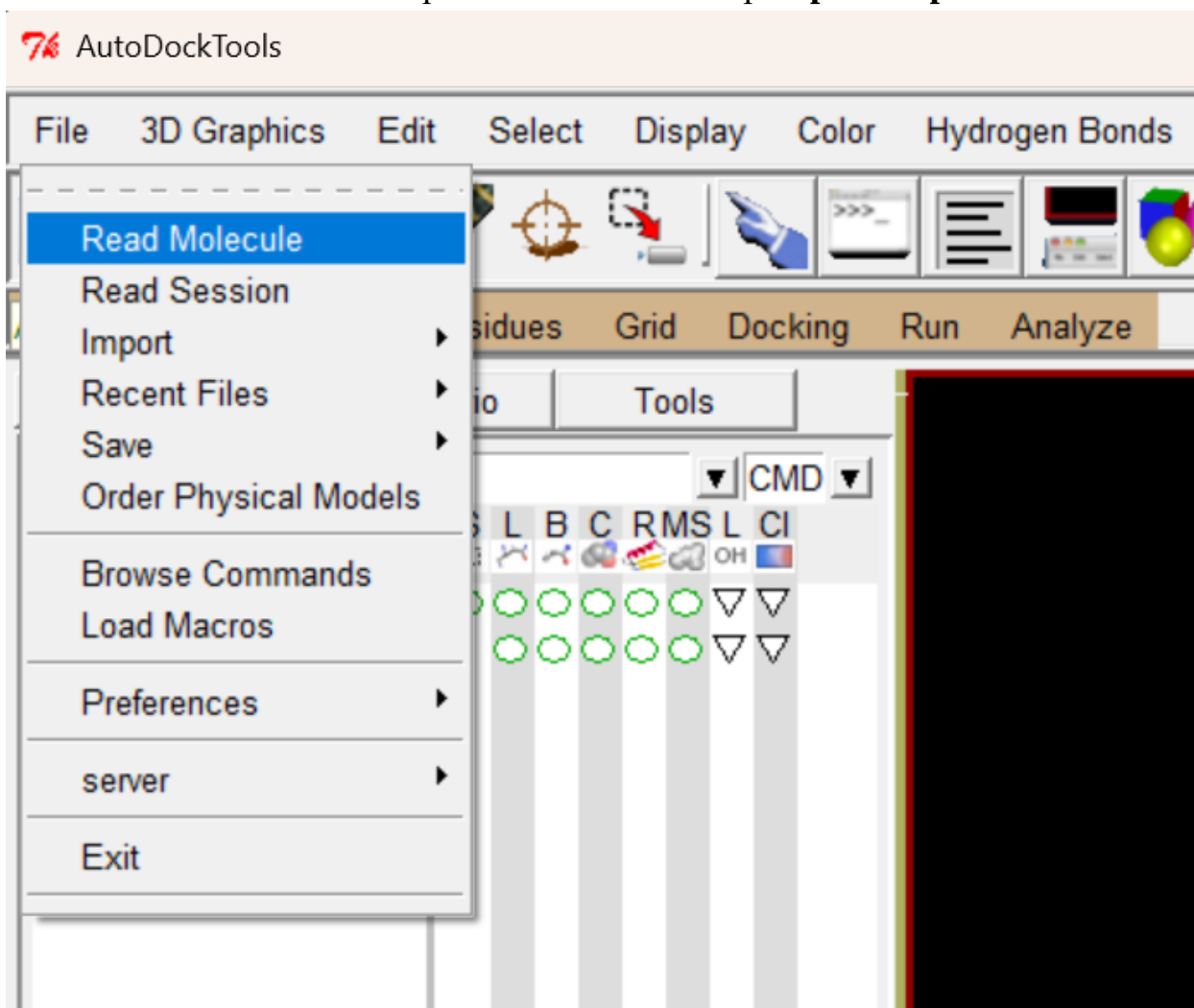
В новом окне в пункте **Startup Directory** необходимо задать путь к рабочей папке и нажать **Set**.



*Примечание: обратите внимание, что в папке должны находиться файлы **autoigrid.exe**, **autodock.exe**, **AD4_parameters.dat** и **AD4.1_bound.dat**. Эти файлы загружаются в процессе установки программы, поэтому их необходимо найти и скопировать в рабочую папку.*

1. Открыть pdb файл мишени в AutoDockTools.

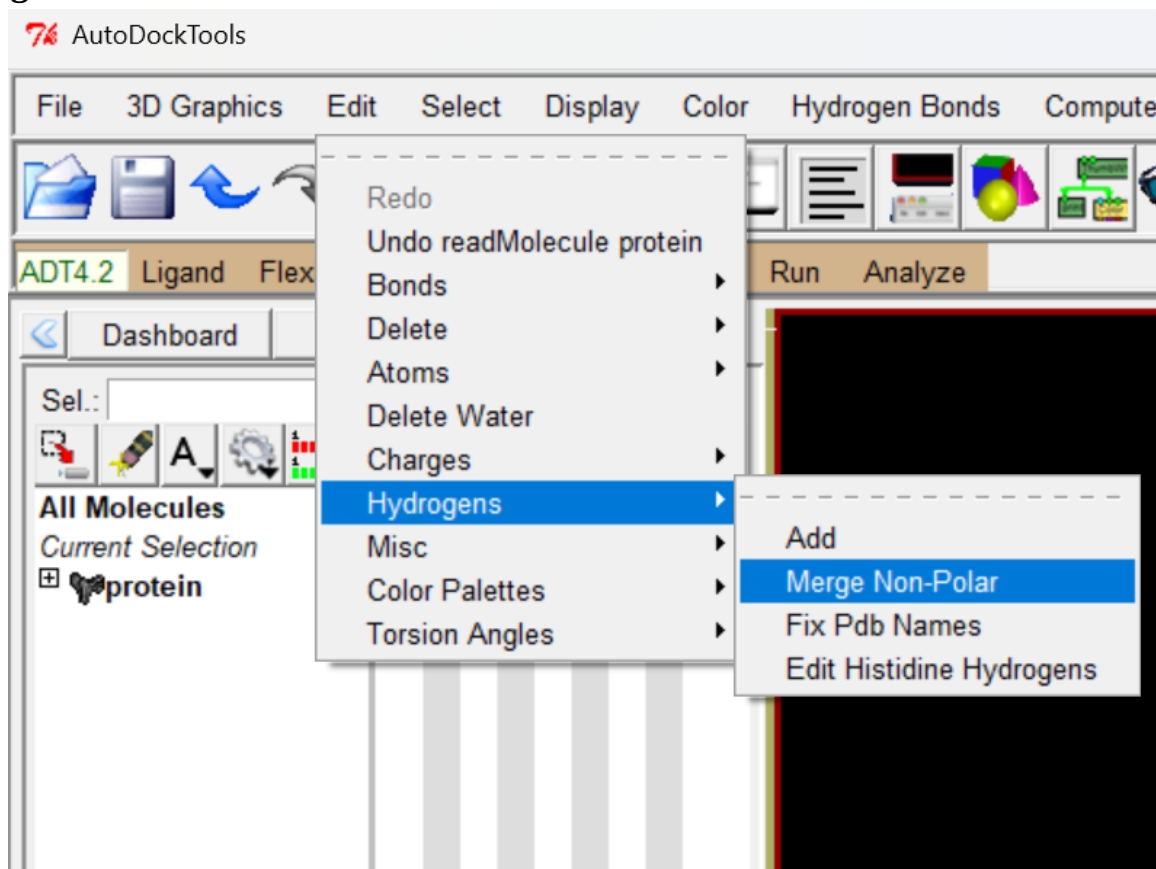
В программе AutoDockTools откроем pdb файл белка, для этого кликнем **File - Read Molecule**. В открывшемся окне выберем **protein.pdb**.



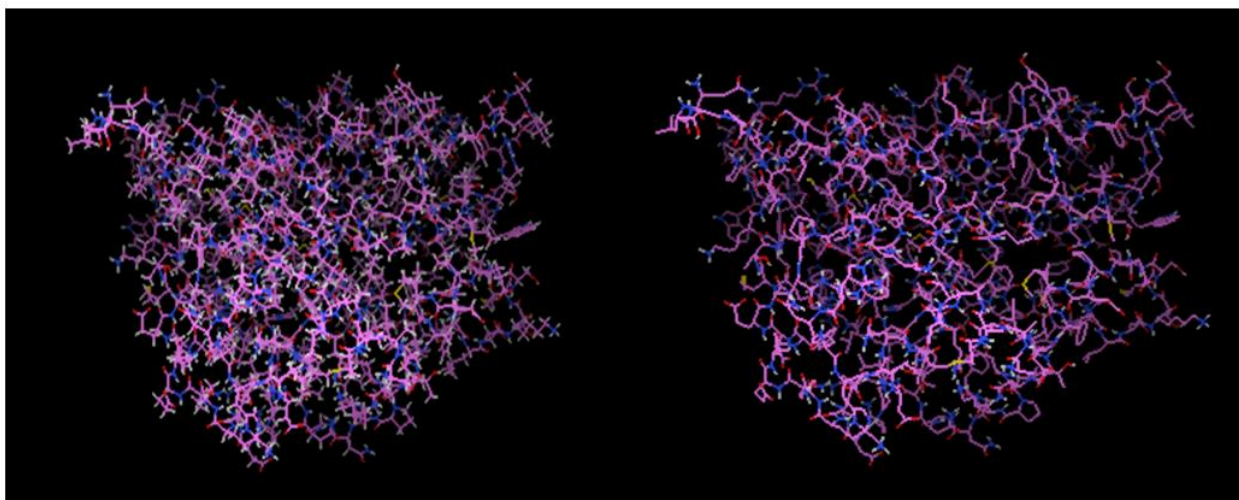
2. Объединить водороды.

Ранее при подготовке pdb файла в Discovery Studio мы восстанавливали связи с атомами водорода. Однако добавление водорода к неполярным функциональным группам, не участвующим в специфических взаимодействиях, приводит только к неоправданному увеличению вычислительной сложности задачи функцией **Merge Non-Polar Hydrogens**, позволяющей объединить параметры атомов водорода, связанных неполярной связью с соответствующими

атомами углерода. Так, программа не удаляет из структуры, а использует в расчетах атомы при связи С-Н как единый параметр. Нажмем **Edit - Hydrogens – Merge Non-Polar**.



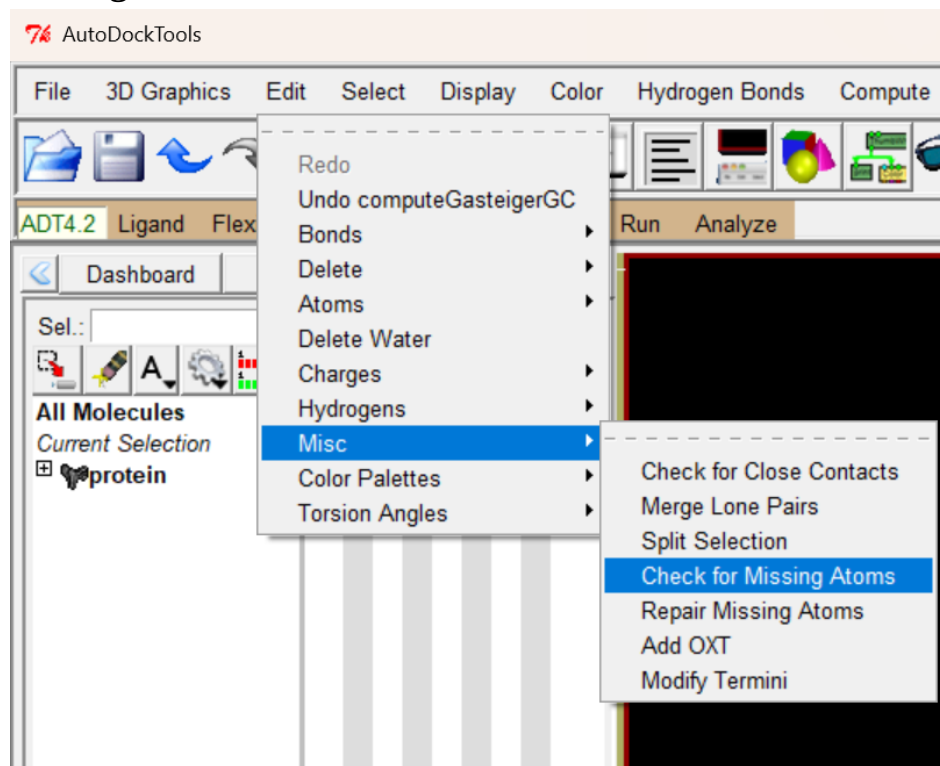
В результате в молекуле должно стать меньше белых хвостиков.



Слева изображение до использования функции Merge Non-Polar Hydrogens, справа - после.

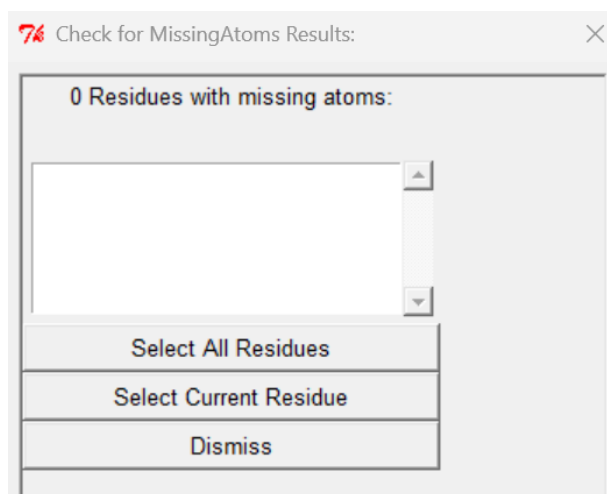
3. Проверить наличие пропущенных атомов.

Как мы обсуждали ранее, структура белка может содержать неточности. Попросим программу проверить: все ли атомы на месте? Нажмем **Edit – Misc – Check for Missing Atoms**.



AutoDockTools не нашел некорректных аминокислотных остатков, кликом **Dismiss**.

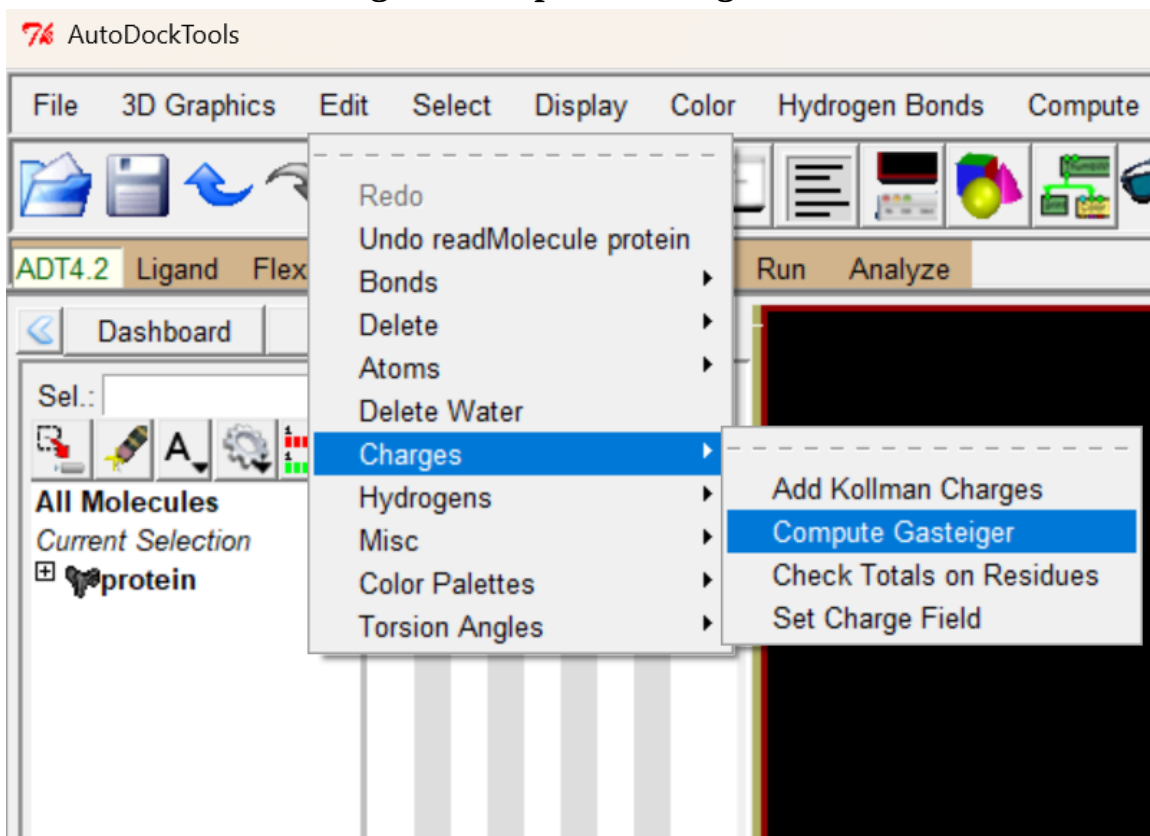
*Примечание: если бы программа обнаружила выпавшие атомы, их можно было бы поправить, нажав **Edit – Misc – Repair Missing Atoms**.*



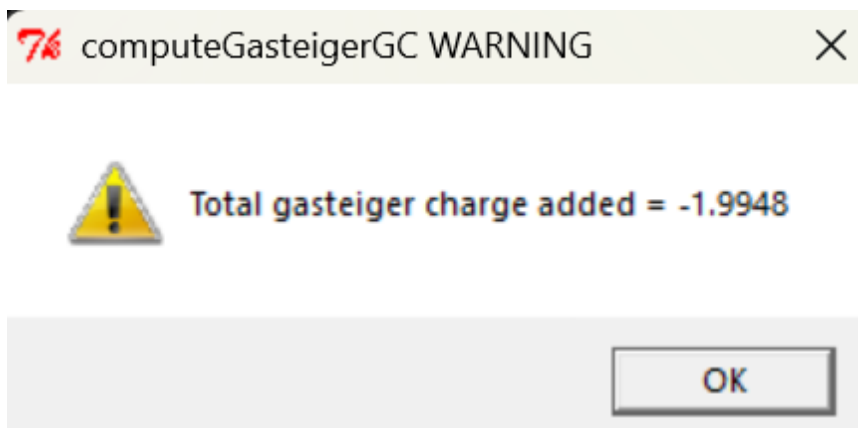
4. Добавить частичные заряды.

Теперь нам необходимо назначить атомам заряды. В AutoDockTools для этого чаще всего применяются заряды по Гастейджеру (Gasteiger charges). Метод вычисляет частичные атомные заряды через суммирование электронных плотностей атомов. Подходит для большинства задач докинга благодаря скорости и удовлетворительной точности для широкого круга соединений [23].

Кликнем **Edit – Charges – Compute Gasteiger**.

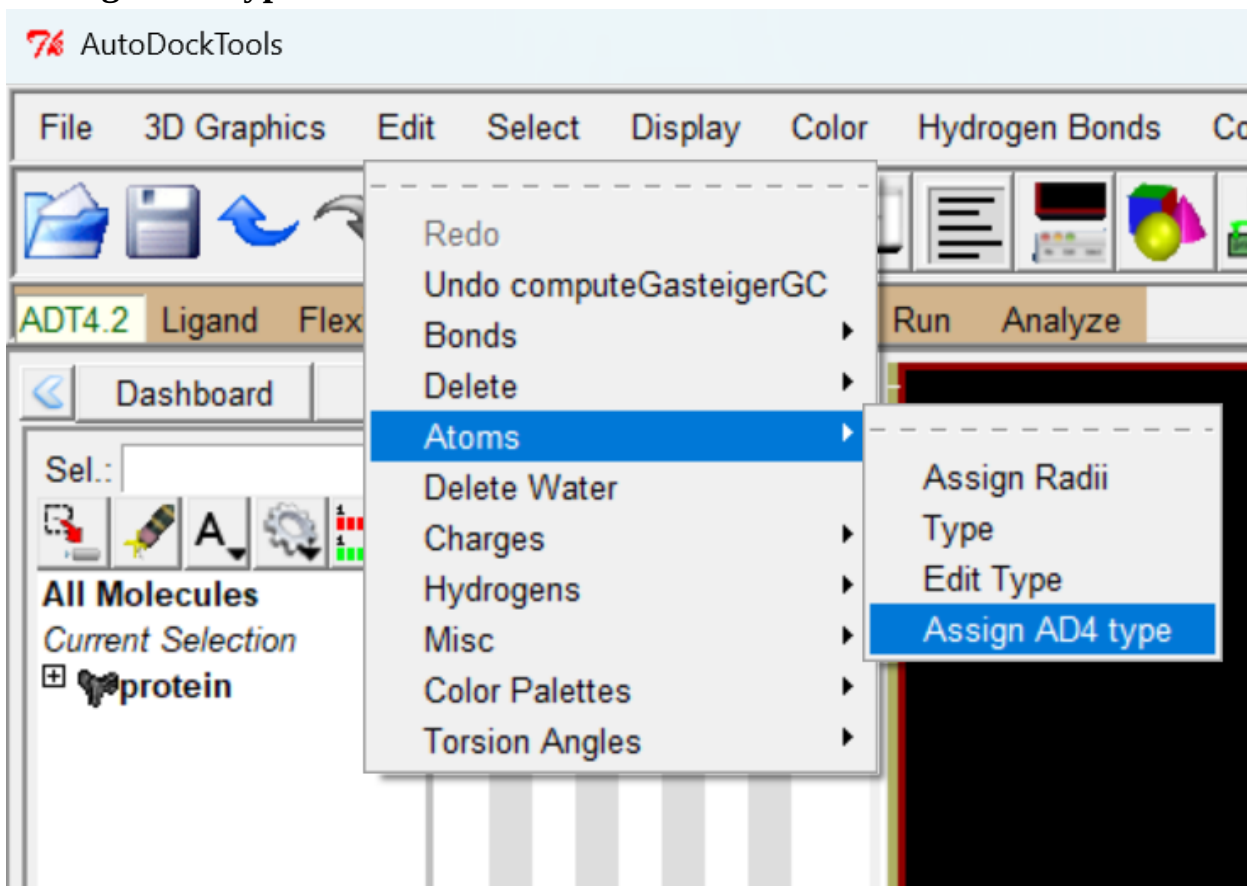


AutoDockTools отчитался по добавленным зарядам. Безразлично кликаем **ОК**.



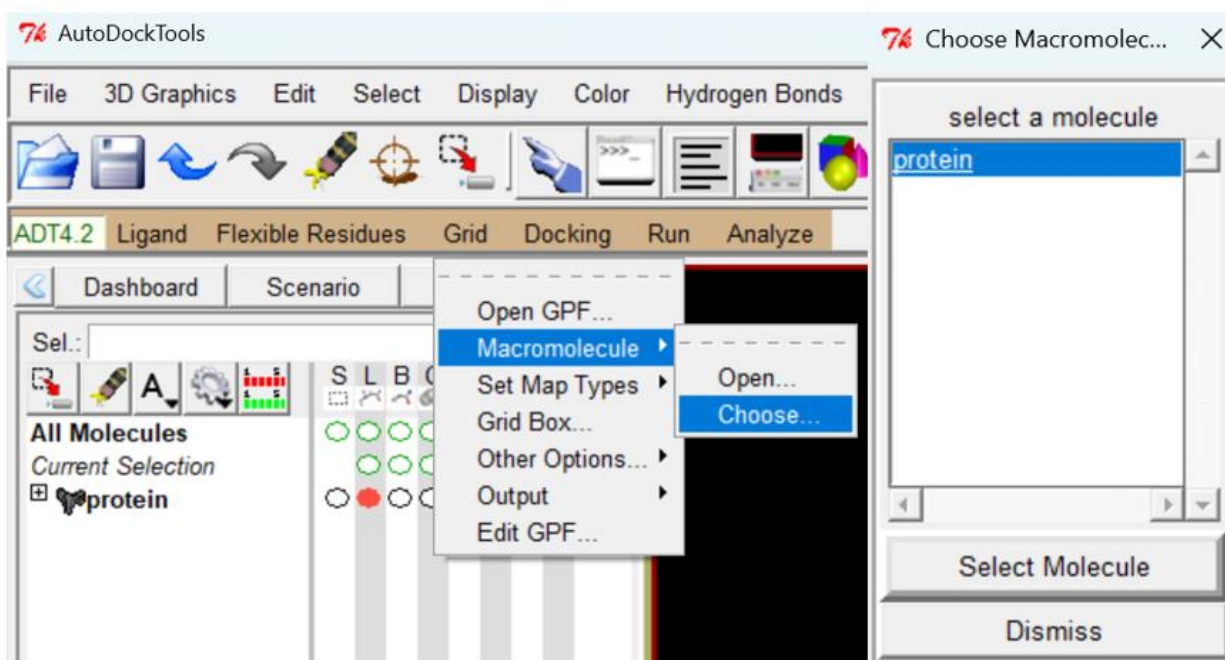
5. Назначить типы атомов.

Для правильной работы AutoDock4 программе нужно, чтобы каждому атому в молекуле, в зависимости от его свойств, был присвоен конкретный тип. Без этого шага программа не сможет построить тар файлы. Нажмем **Edit – Atoms – Assign AD4 type**.

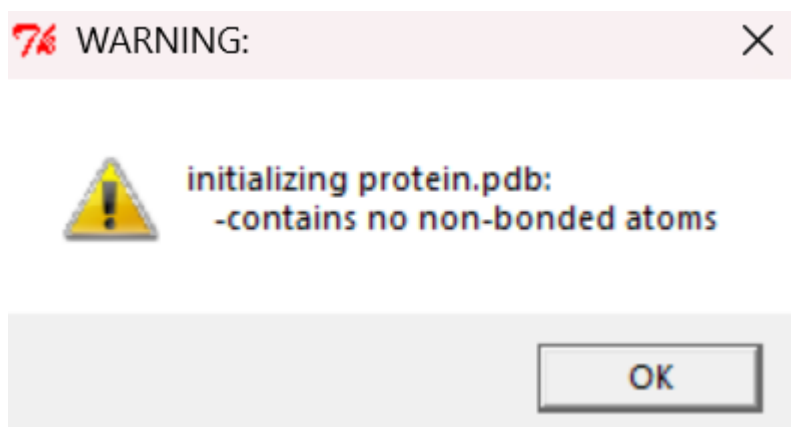


6. Назначить мишень и сохранить pdbqt файл.

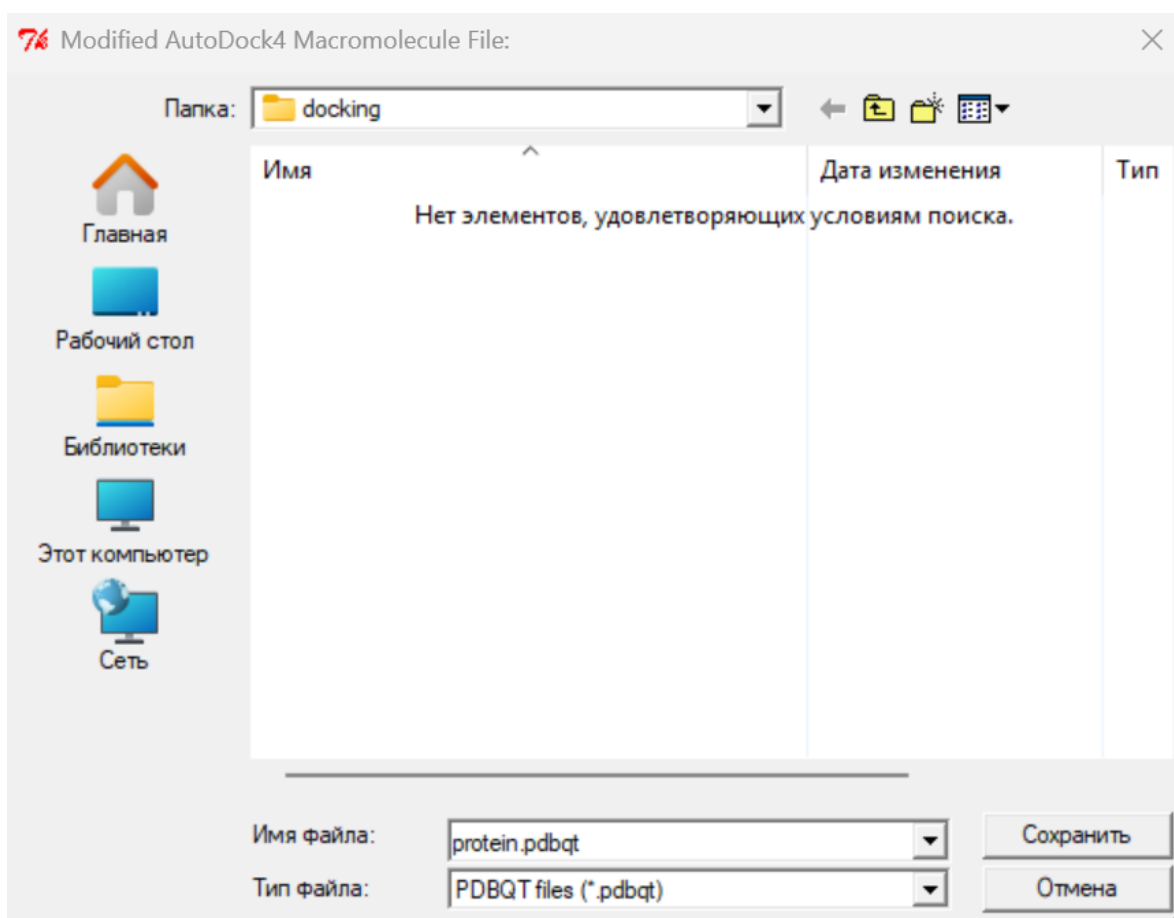
Мы практически у цели! Осталось только назначить наш белок макромолекулой. Зайдем в **Grid – Macromolecule – Choose....** Выберем белок, кликнем **Select Molecule**.



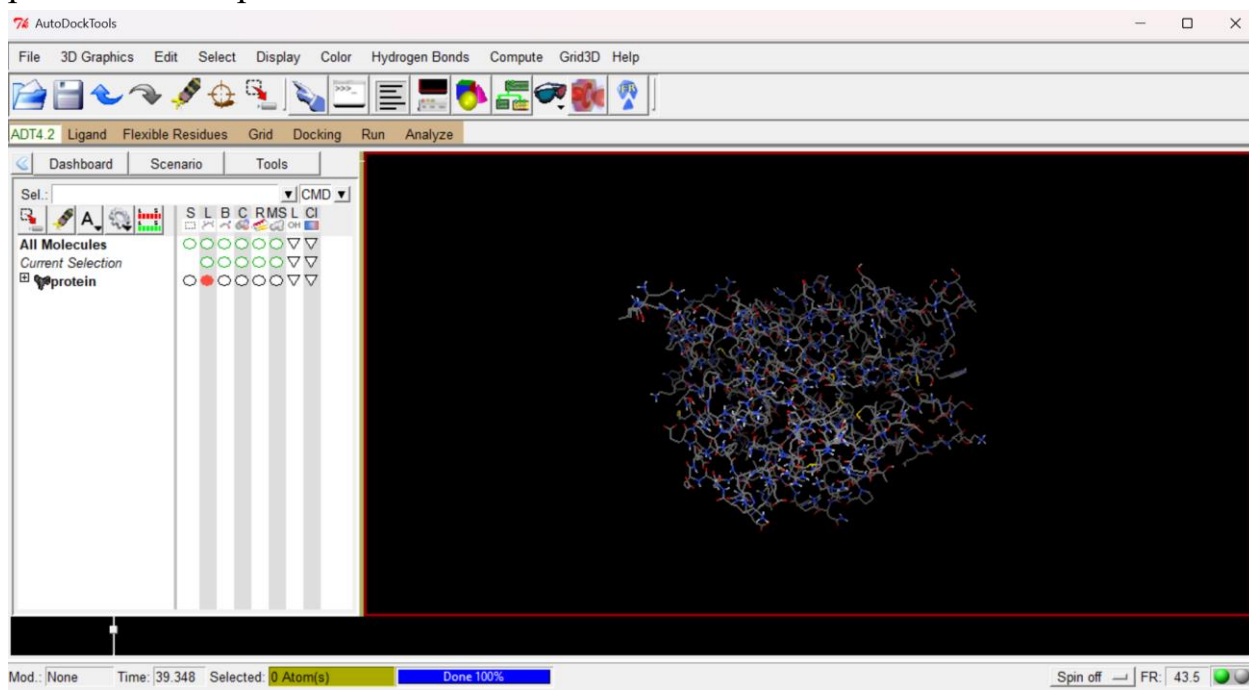
AutoDockTools держит нас в курсе, что белок не содержит несвязанных атомов. Спасибо, AutoDockTools. ~~Делать с этой информацией мы ничего не будем.~~



Автоматически появится окошко для сохранения **pdbqt** файла. Сохраним файл с предложенным именем и расширением.



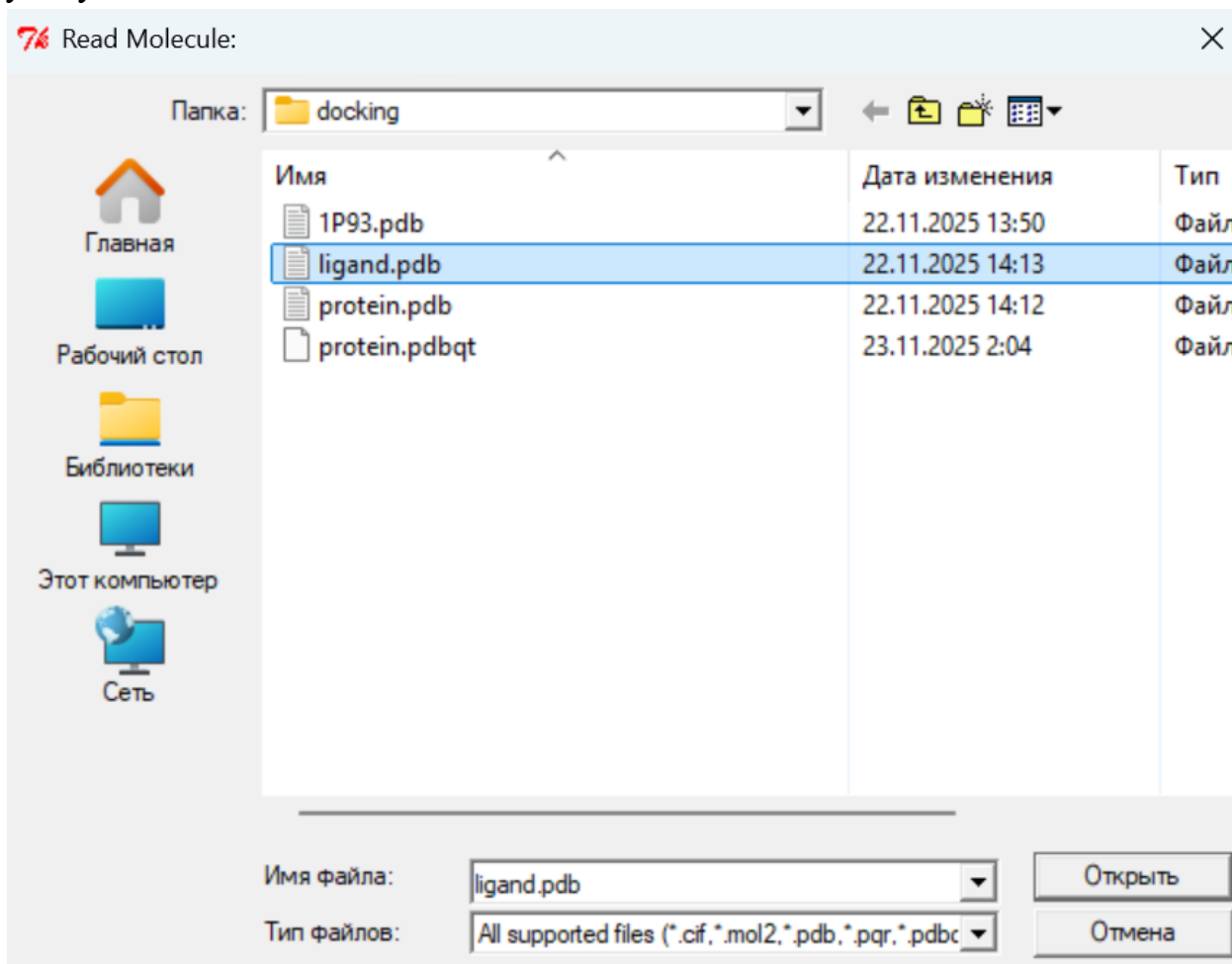
Подготовка мишени завершена, связи в белке изменили цвет с фиолетово-розового на серый.



3. Подготовка pdbqt файла лиганда

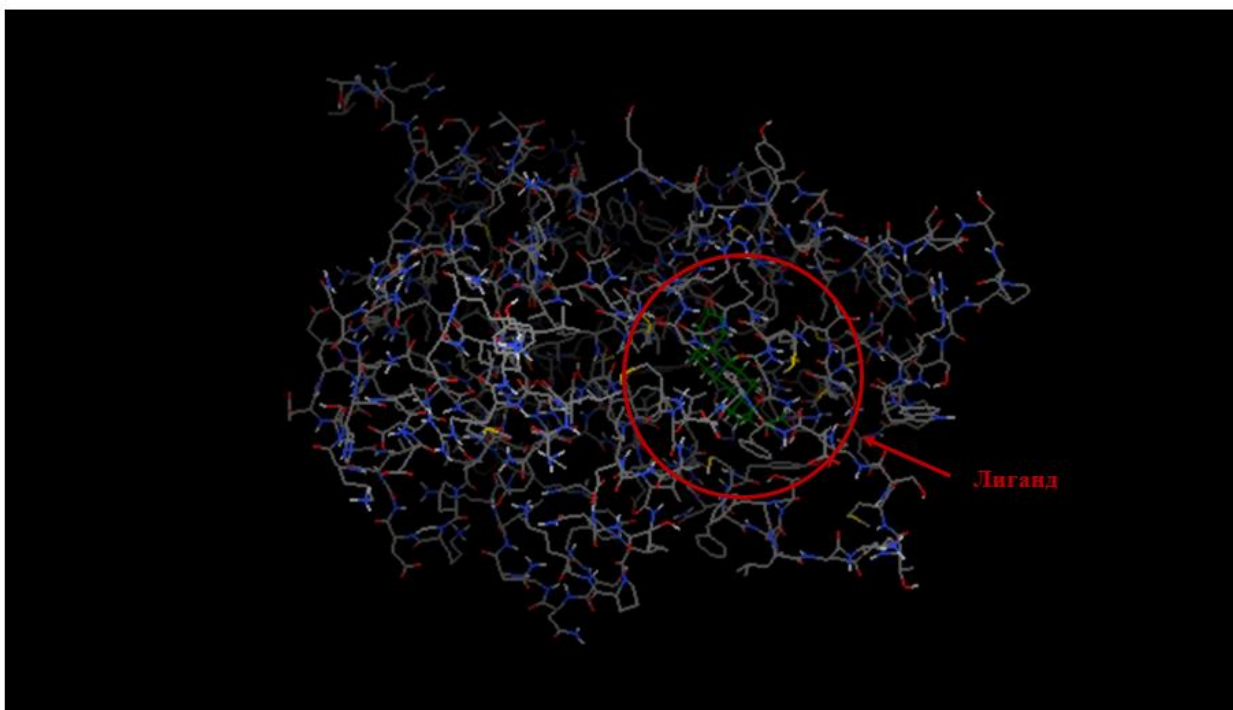
1. Открыть pdb файл лиганда в AutoDockTools.

Чтобы белку не было одиноко, откроем файл **ligand.pdb**, аналогично пункту 2.1.



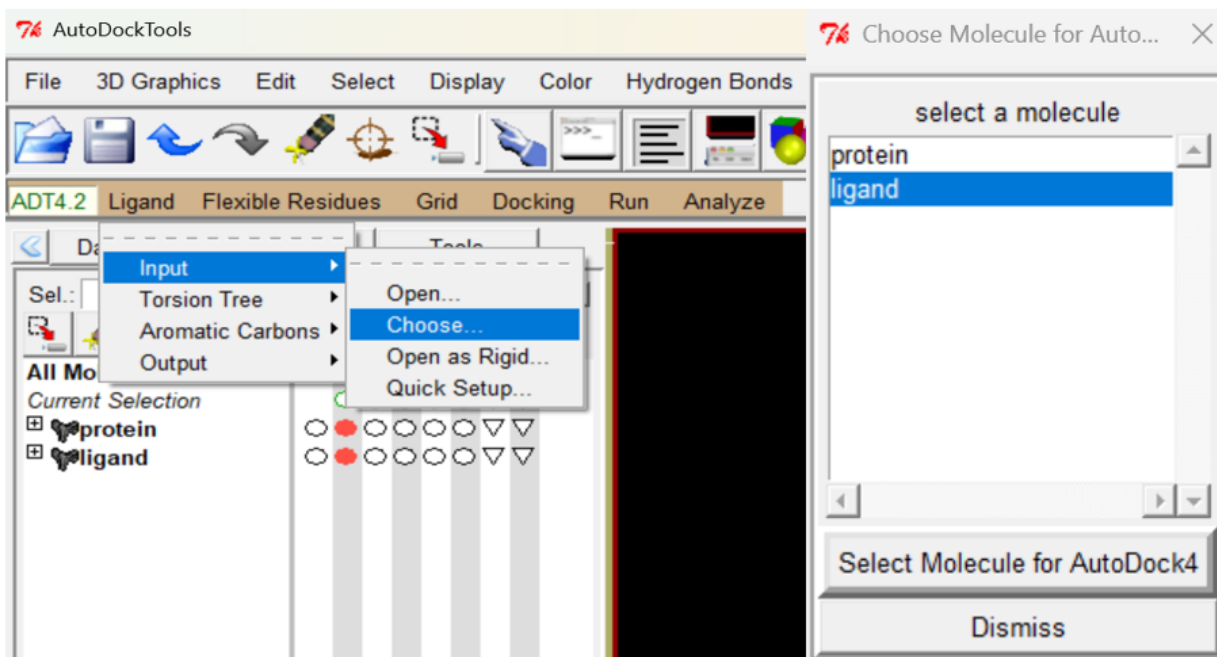
После загрузки лиганд автоматически появится в окне просмотра вместе с белком-мишенью, и его связи будут выделены зеленым цветом.

Примечание: в нашем случае лиганд занял правильное положение в активном центре, так как оба pdb файла были получены из одной кристаллической структуры. Однако, если вы загружаете лиганд из сторонней базы данных, он, скорее всего, окажется в произвольном месте, например, сбоку от белка. Пугаться этого не нужно. На следующем этапе мы вручную укажем область докинга, куда программа поместит лиганд для расчета.

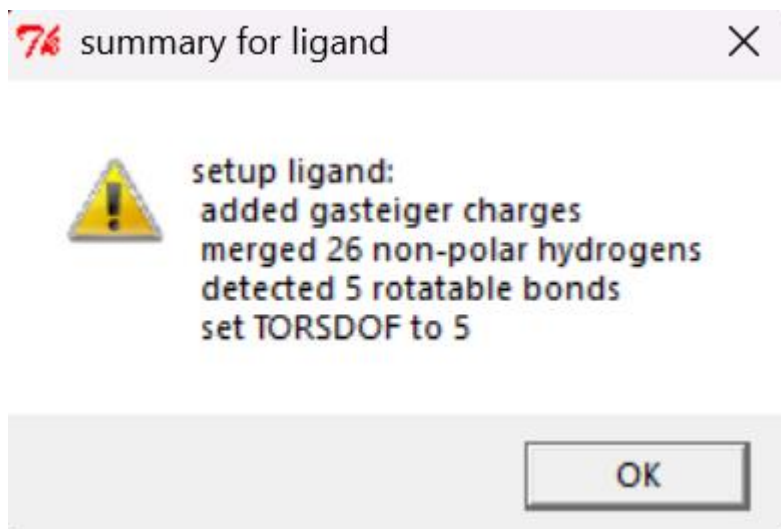


2. Назначить лиганд.

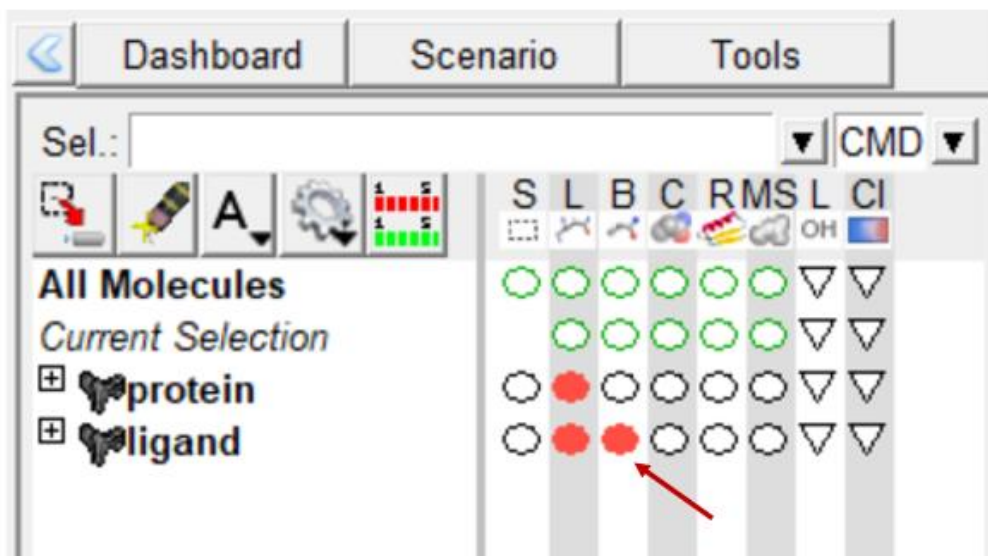
Теперь необходимо обозначить нашу молекулу в качестве лиганда. Нажмем **Ligand – Input – Choose....** В открывшемся окне выберем **ligand**, кликнем **Select Molecule for AutoDock4** и затем **Dismiss**.



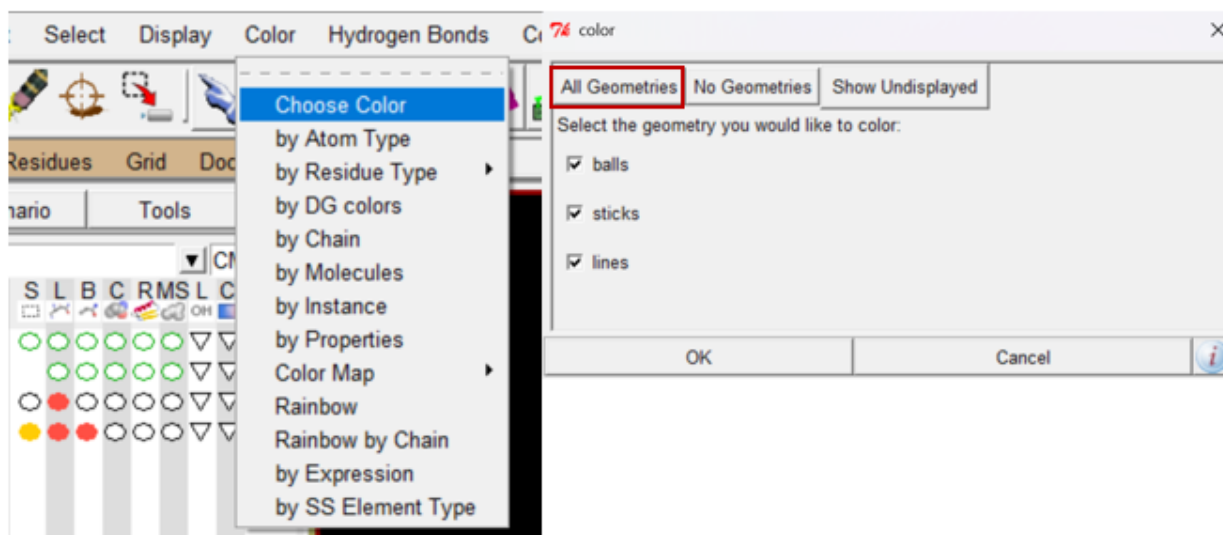
AutoDockTools продолжает держать нас в курсе проделанной работы и отчитывается, что добавил заряды по Гастейджеру, объединил 26 водородов и обнаружил 5 связей, вокруг которых возможно вращение.



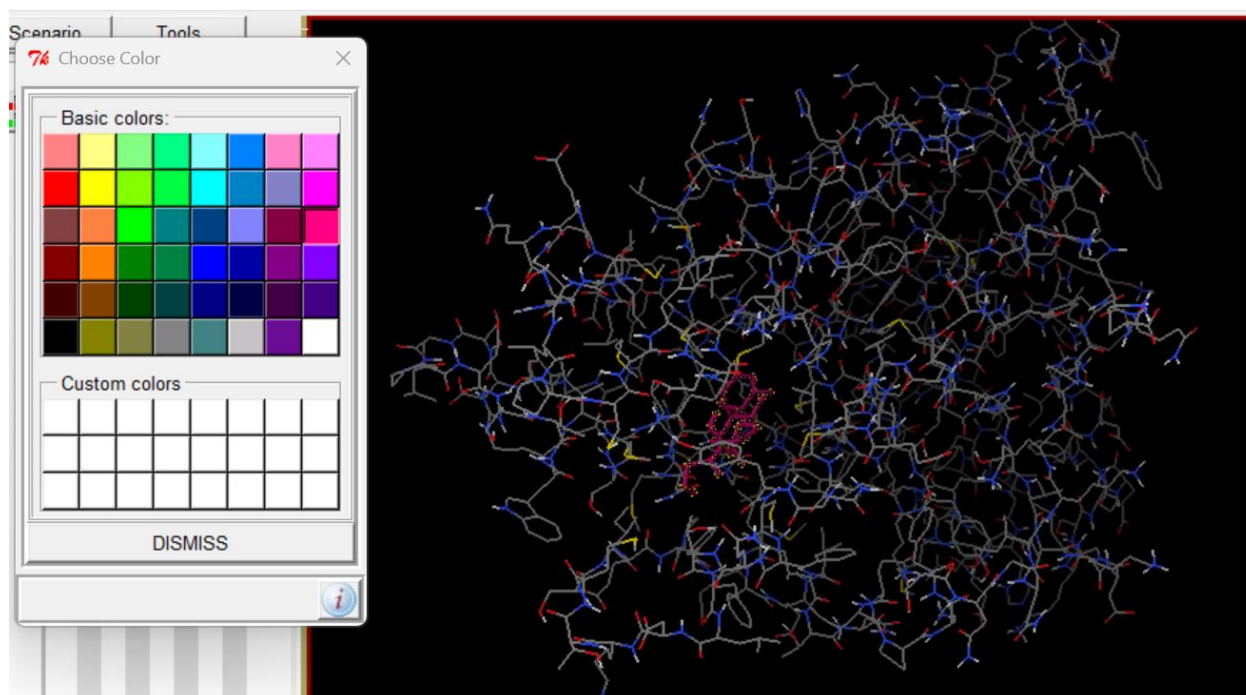
*Примечание: связи в лиганде приобрели серый цвет, и внутри структуры мишени его можно легко потерять. Чтобы немного упростить себе жизнь, можно воспользоваться меню с инструментами визуализации. Нажмем на овал в столбике **B (Sticks and Balls)**, чтобы структура лиганда была представлена в виде шаростержневой модели.*



*Чтобы точно не потерять лиганд, покрасим его в яркий цвет. Нажмем на овал в столбике **S (Select)** напротив позиции лиганда, чтобы его выделить. Кликнем **Color – Choose Color**, в открывшемся окне выберем **All Geometries**, затем **OK**.*



*Выберем любой понравившийся цвет, например, ярко-розовый, и нажмем **DISMISS**.*

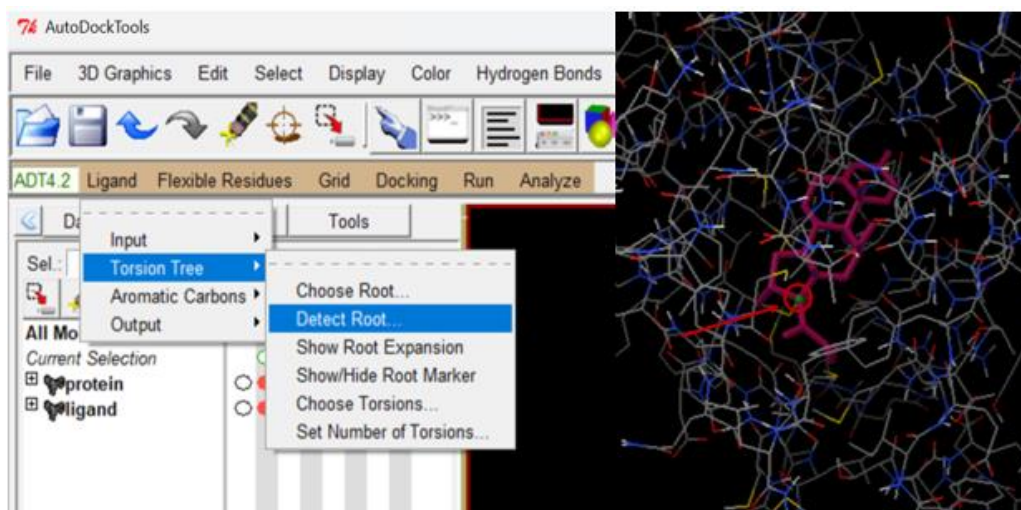


3. Настроить гибкость лиганда

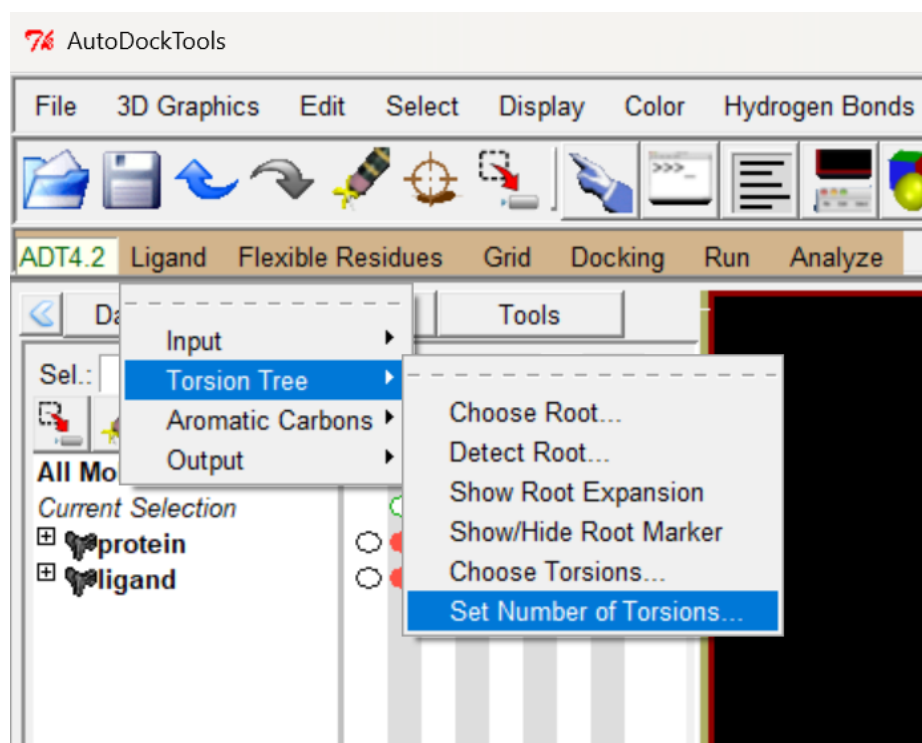
Функционал AutoDock 4 позволяет проводить докинг с гибким лигандом. Чтобы задать вращающиеся связи лиганда, необходимо сначала определить его опорный атом.

Для этого зададим связи лиганда, вокруг которых может происходить свободное вращение. Нажмем **Ligand – Torsion Tree – Detect Root....** На одном из атомов появилась зеленая горошинка – это и есть опорный атом. Алгоритм выбирает его, руководствуясь принципом центральности и жёсткости

молекулярного фрагмента. Корень служит точкой отсчёта, от которой будет построено дерево конформационных изменений лиганда.

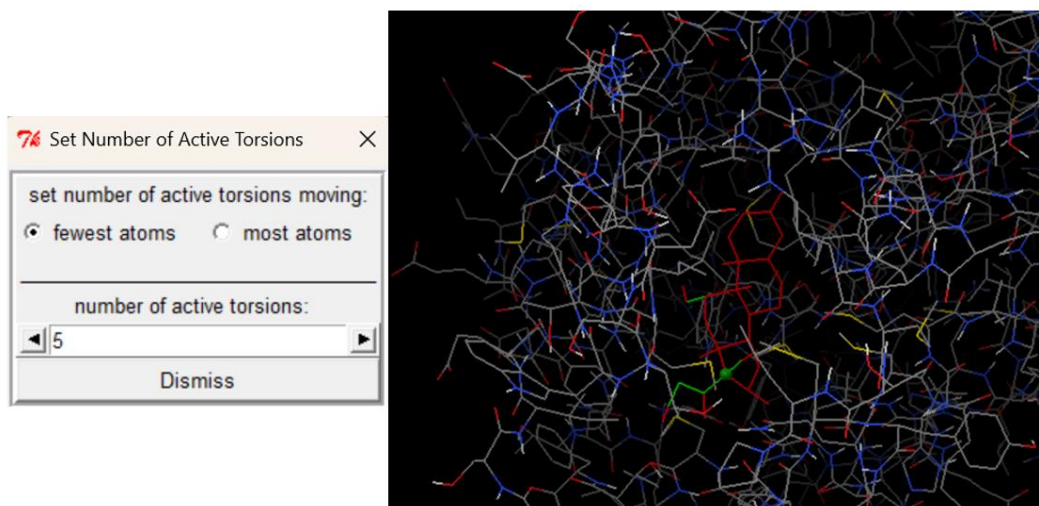


Теперь мы можем выбрать связи, вокруг которых будет разрешено вращение (конформационно подвижные связи). Для этого нажмем **Ligand – Torsion Tree – Set Number of Torsions**.



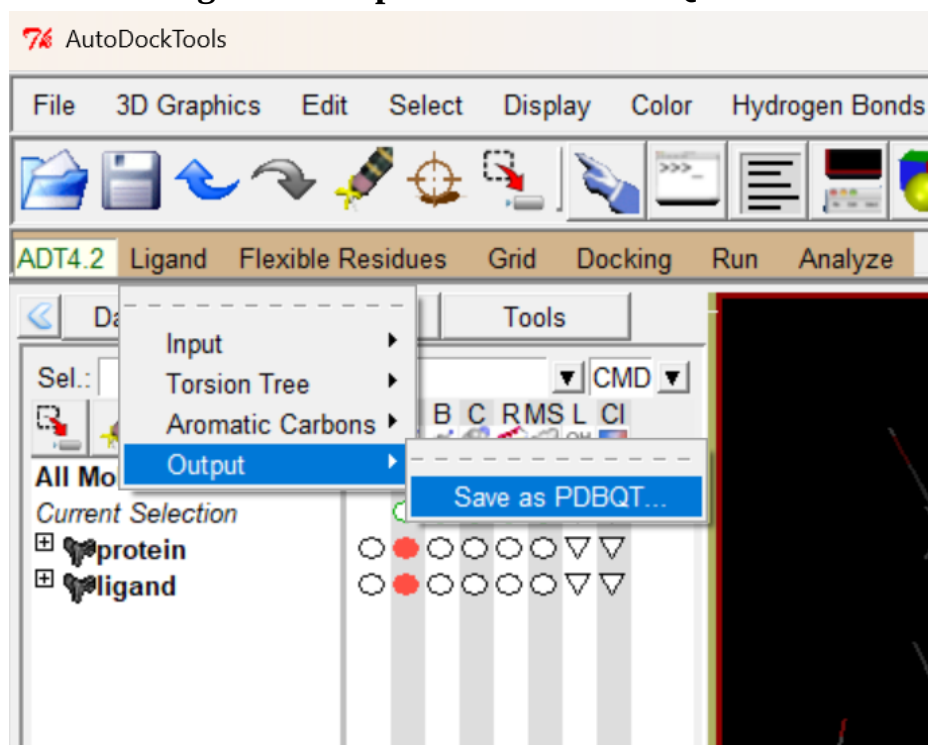
Высветится окно, в котором мы можем задать количество вращающихся связей от 0 до 5. Чем большее число связей мы поставим, тем более гибким будет наш лиганд. В молекуле зеленым подсвечиваются связи, вокруг которых разрешено вращение, ярко-розовым – связи, которые вращаться не будут. Пять

подвижных связей персональный компьютер переживет, так что оставим максимальное количество.

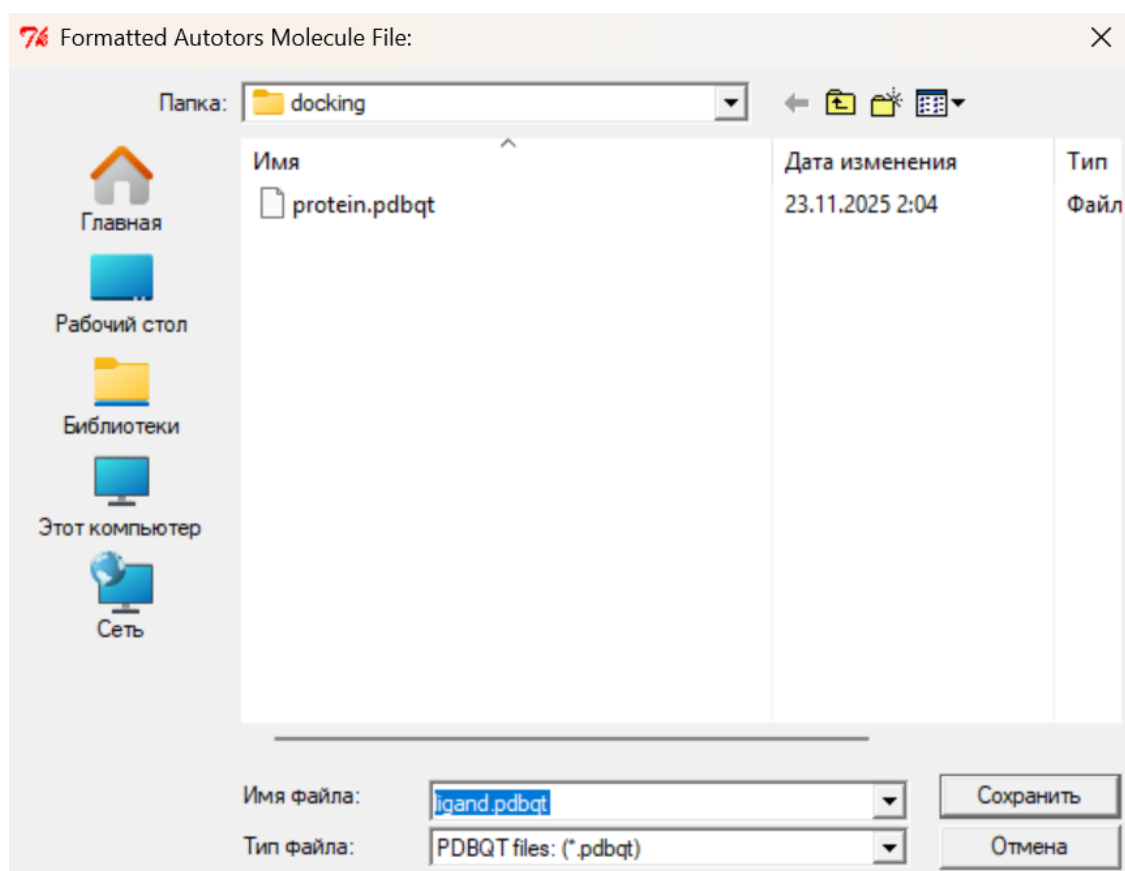


4. Сохранить pdbqt файл.

Финишная прямая, мы закончили с подготовкой лиганда, осталось только сохранить. Кликом **Ligand – Output – Save as PDBQT**.



Автоматически появится окошко для сохранения **pdbqt** файла. Сохраним файл с предложенным именем и расширением.



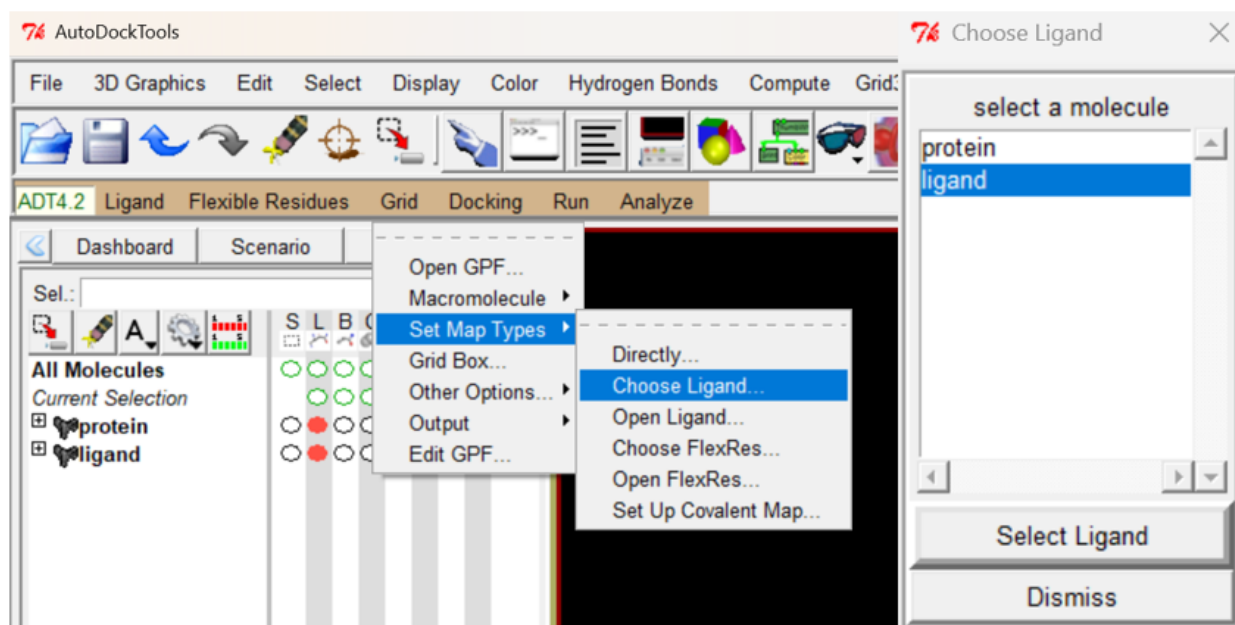
4. Построение сетки

Теперь, когда подготовка мишени и лиганда завершены, программе нужно предварительно рассчитать карты энергетики взаимодействия (energy interaction maps). Они позволяют эффективно оценить, насколько прочно лиганд связывается с рецептором [24].

1. Выбрать лиганд.

Файл мишени уже был задан в качестве макромолекулы на этапе подготовки pdbqt-файла, повторно назначать его не нужно, сразу перейдем к лиганду.

Обозначим лиганд. Кликнем **Grid – Set Map Types – Choose Ligand....**

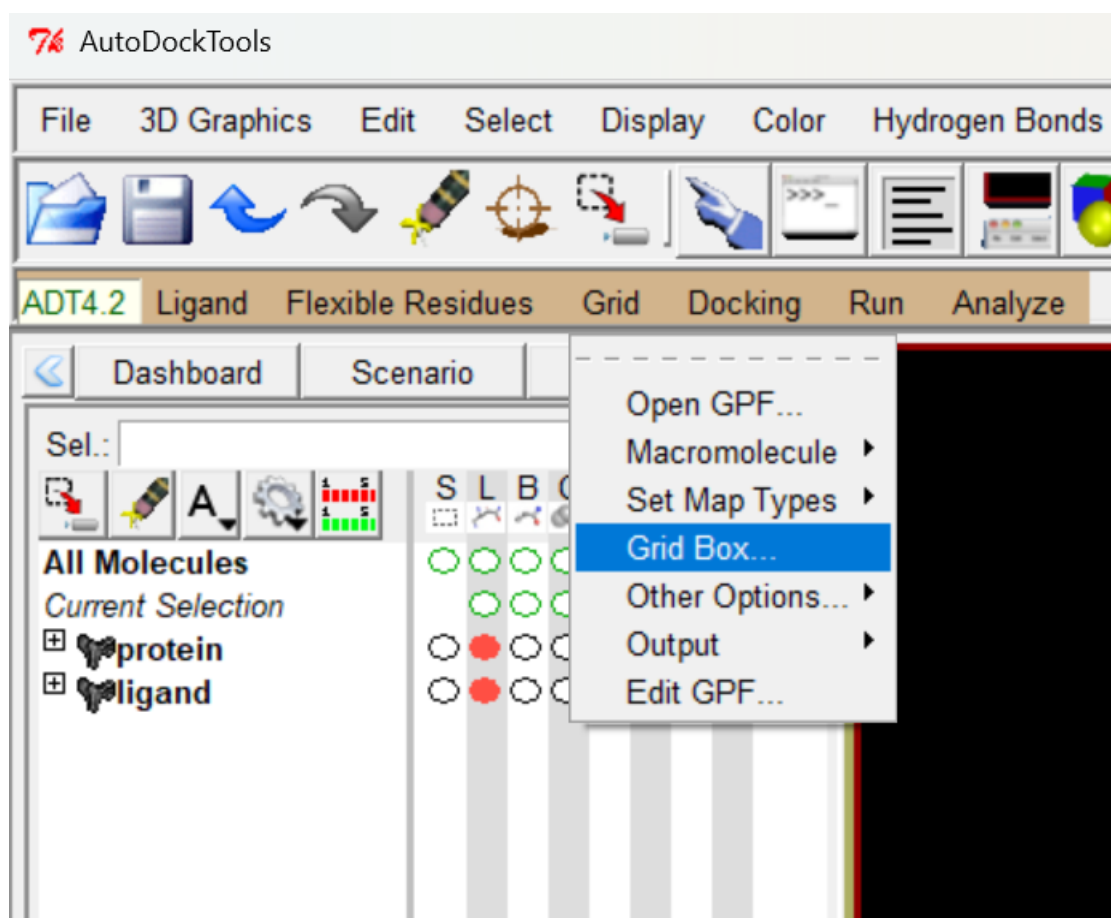


2. Построить сетку области докинга.

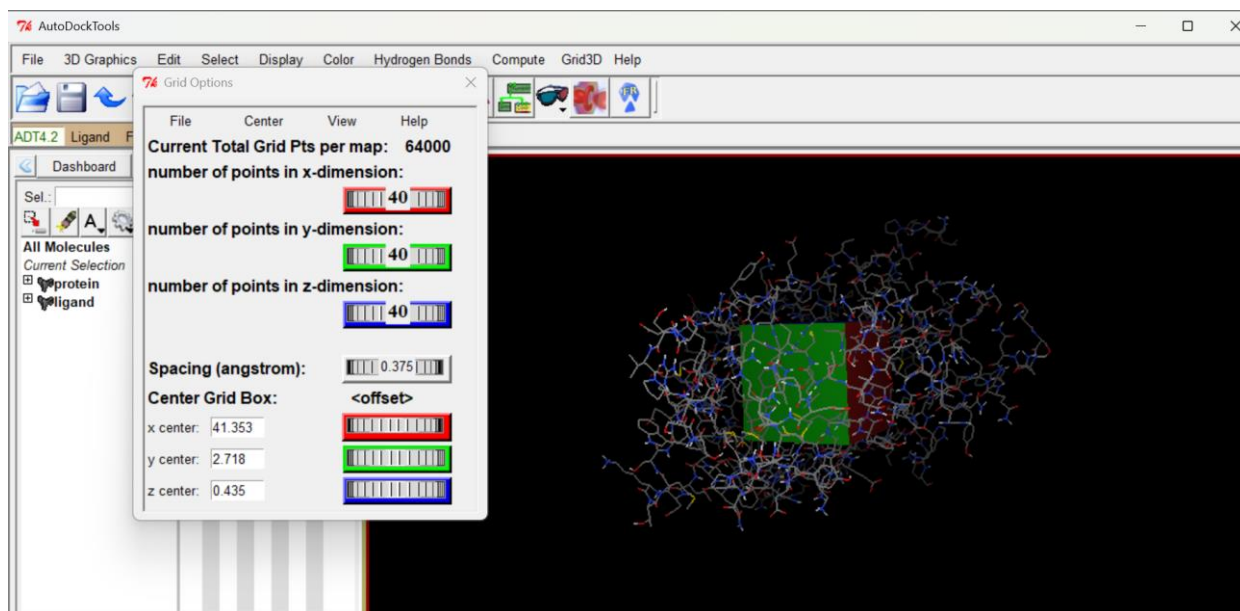
Теперь необходимо указать конкретный участок для докинга.

В случае отсутствия информации о мишени применяют **слепой докинг**, при котором лиганд-связывающие карманы ищутся по всей поверхности белка [1]. Этот подход требует больших вычислительных мощностей и оправдан для слабоизученных белков. ГР, напротив - хорошо исследованный белок, и его активный центр известен и описан.

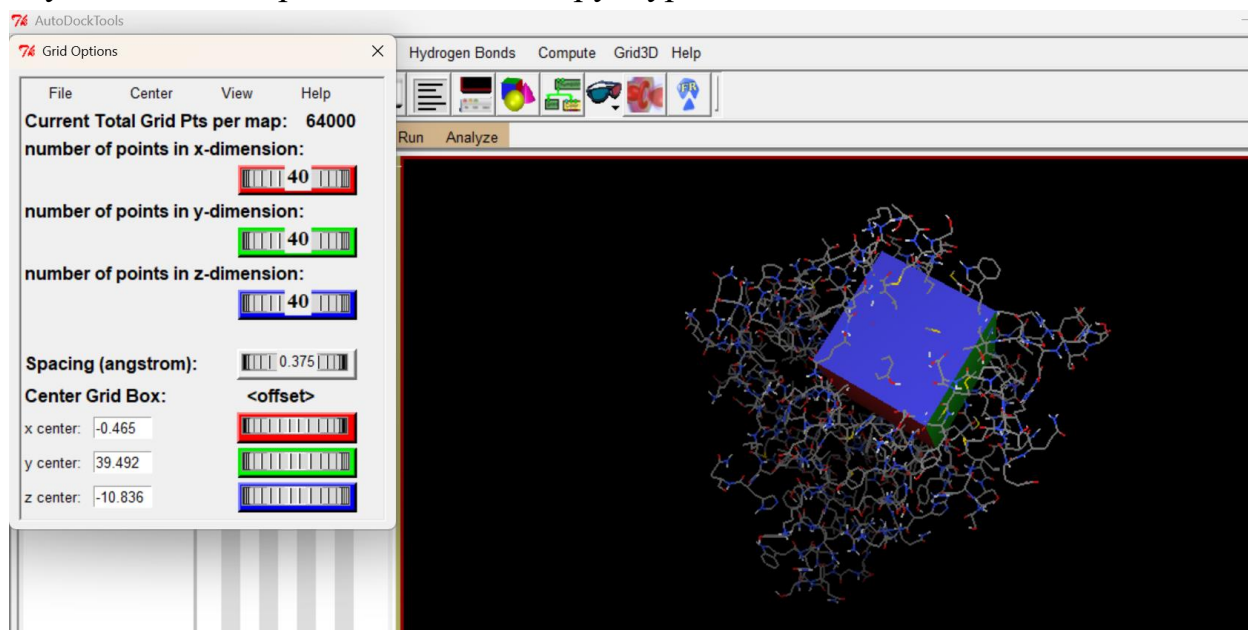
Для генерации области докинга нажмем **Grid – Grid Box.**



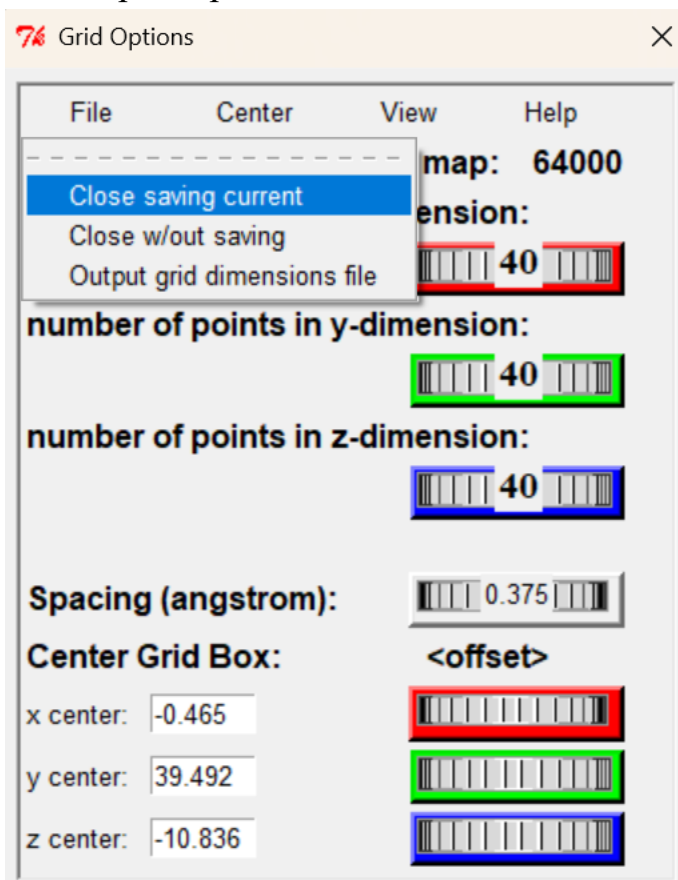
Появится кубик, очерчивающий границы области докинга. В открывшемся окне мы можем изменить положение кубика и его размер, воспользовавшись колесиками.



Поставим центр области докинга в соответствии с координатами, полученными из кристаллической структуры.



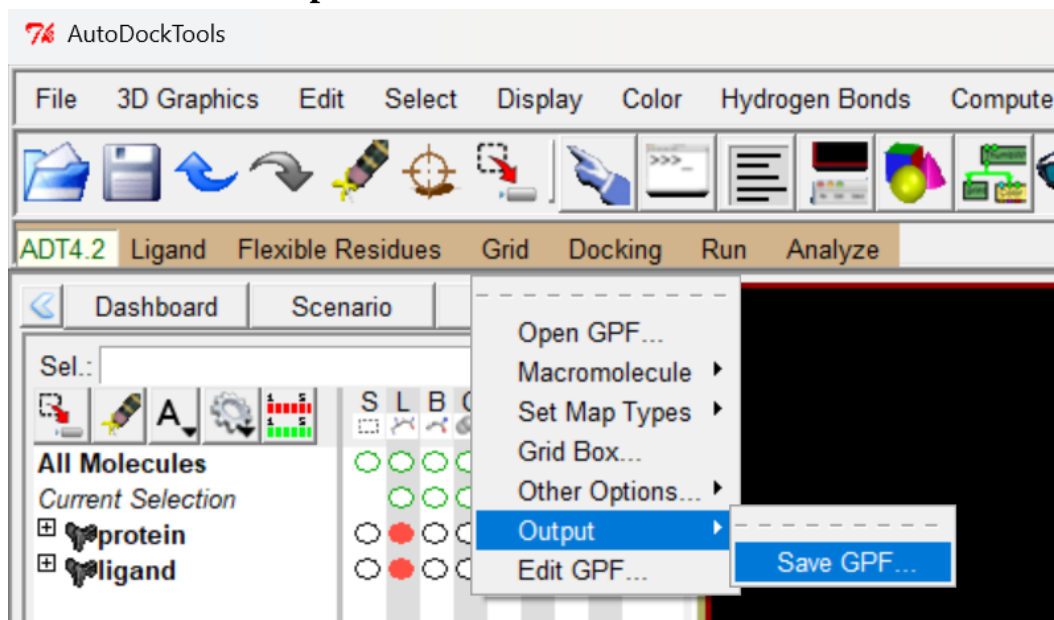
Чтобы сохранить параметры сетки, кликнем **File – Close saving current**.



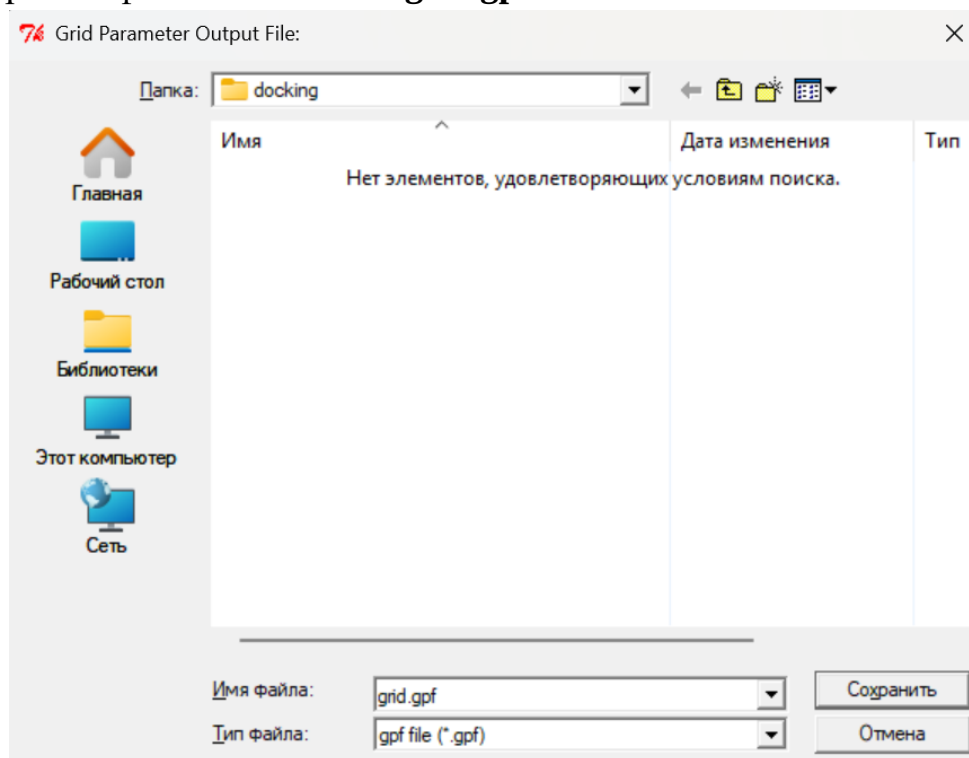
3. Сохранить grf файл с информацией о сетке.

Результатом данного этапа должен получиться **gpf** файл, содержащий все настройки, необходимые для построения карт, а именно: параметры рецептора и лиганда, размеры бокса и расстояние между точками сетки.

Зайдем в **Grid – Output – Save GPF....**



Сохраним файл с названием **grid.gpf**.



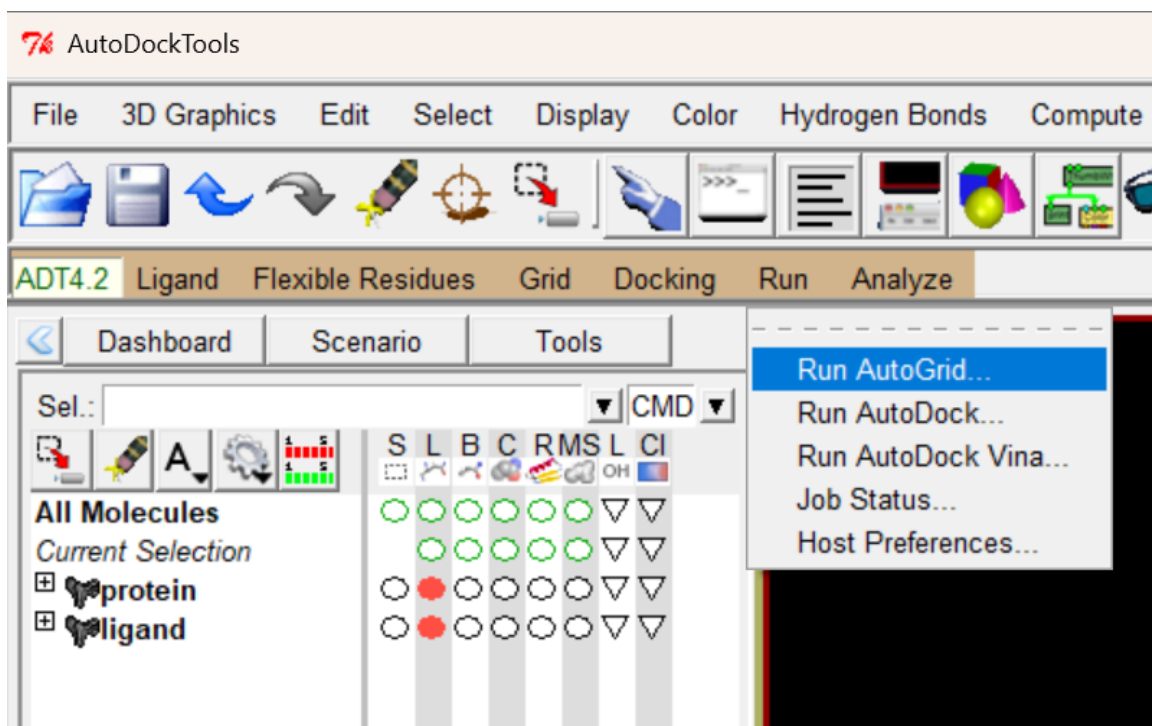
5. Расчет карт взаимодействия

Следующим важным шагом перед началом докинга будет расчет карт взаимодействия (grid maps), которые описывают потенциал взаимодействия лиганда с мишенью в каждой точке пространства. Эти карты заранее вычисляют энергию связывания для различных типов атомов, что значительно ускоряет последующий поиск положений лиганда. Хотя расчет можно выполнить непосредственно из командной строки, в рамках данного руководства мы будем использовать графический интерфейс AutoDockTools для большей наглядности и удобства.

Убедимся, что в рабочей папке лежат полученные нами файлы **protein.pdbqt**, **ligand.pdbqt** и **grid.gpf**. Кроме того, необходимо проверить наличие файлов **autoigrid.exe**, **autodock.exe**, **AD4_parameters.dat** и **AD4.1_bound.dat**, если они не были добавлены в самом начале.

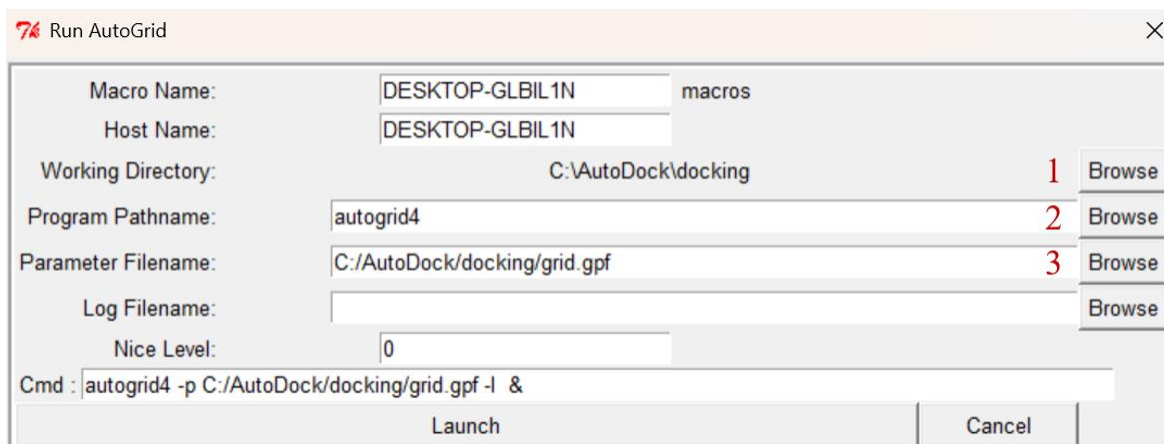
1. Запустить AutoGrid.

Кликнем **Run – Run AutoGrid....**

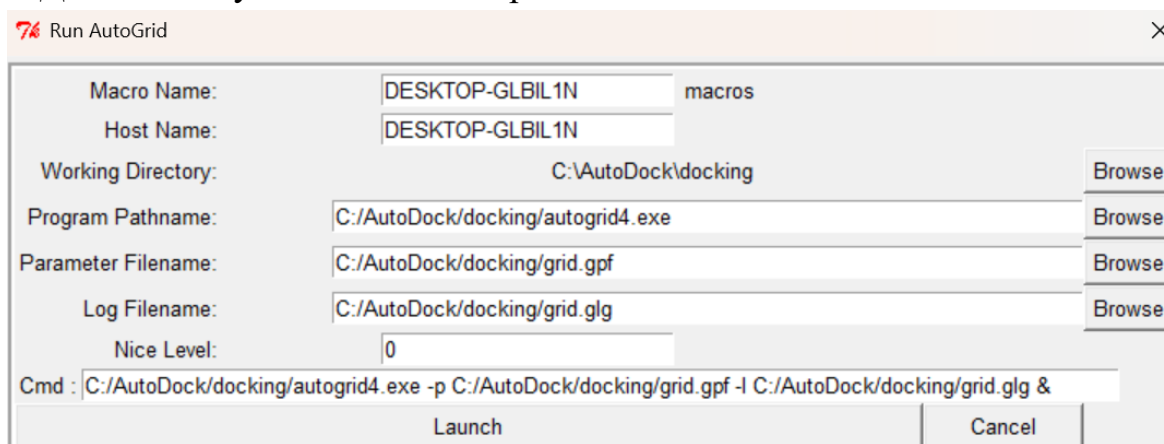


На данном этапе нам нужно объяснить программе, где у нас что лежит. Если в пункте **Working Directory** указан неправильный путь к рабочей папке, исправим его через **Browse**. Прodelываем аналогичную процедуру с пунктами **Program Pathname** и **Parameter Filename**, указываем расположение **autogrid4.exe** и **grid.gpf** соответственно (в случае **Parameter Filename** не стоит

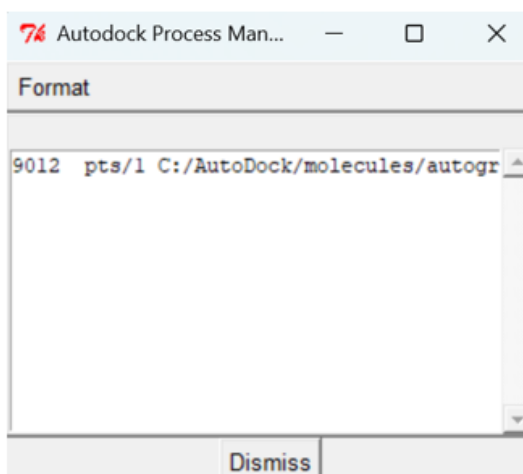
верить прописанному пути, его необходимо указать принудительно, чтобы автоматически добавилась информация в пункт Log Filename).



Должно получиться как на скриншоте ниже. Нажмем **Launch**.



Процесс пошел! Если все хорошо, должно появиться и повисеть небольшое окошко. В результате в рабочей папке должны появиться **map** файлы.



- protein.C.map
- protein.d.map
- protein.e.map
- protein.F.map
- protein.HD.map
- protein.maps.fld
- protein.maps.xyz
- protein.OA.map

Кроме того, должен родиться **grid.glg** файл. Откроем его в блокноте и пролистаем до конца. Если видим фразу **Successful Completion**, то это победа. В случае поражения completion будет **unsuccessful**.

Grid Map	Atom Type	Minimum Energy (kcal/mol)	Maximum Energy (kcal/mol)	
1	A	-0.67	2.01e+005	
2	C	-0.75	2.01e+005	
3	HD	-0.71	1.06e+005	
4	OA	-1.64	2.00e+005	
5	F	-0.56	2.00e+005	
6	e	-18.31	1.29e+001	Electrostatic Potential
7	d	0.00	1.43e+000	Desolvation Potential

* Note: Every pairwise-atomic interaction was clamped at 100000.00

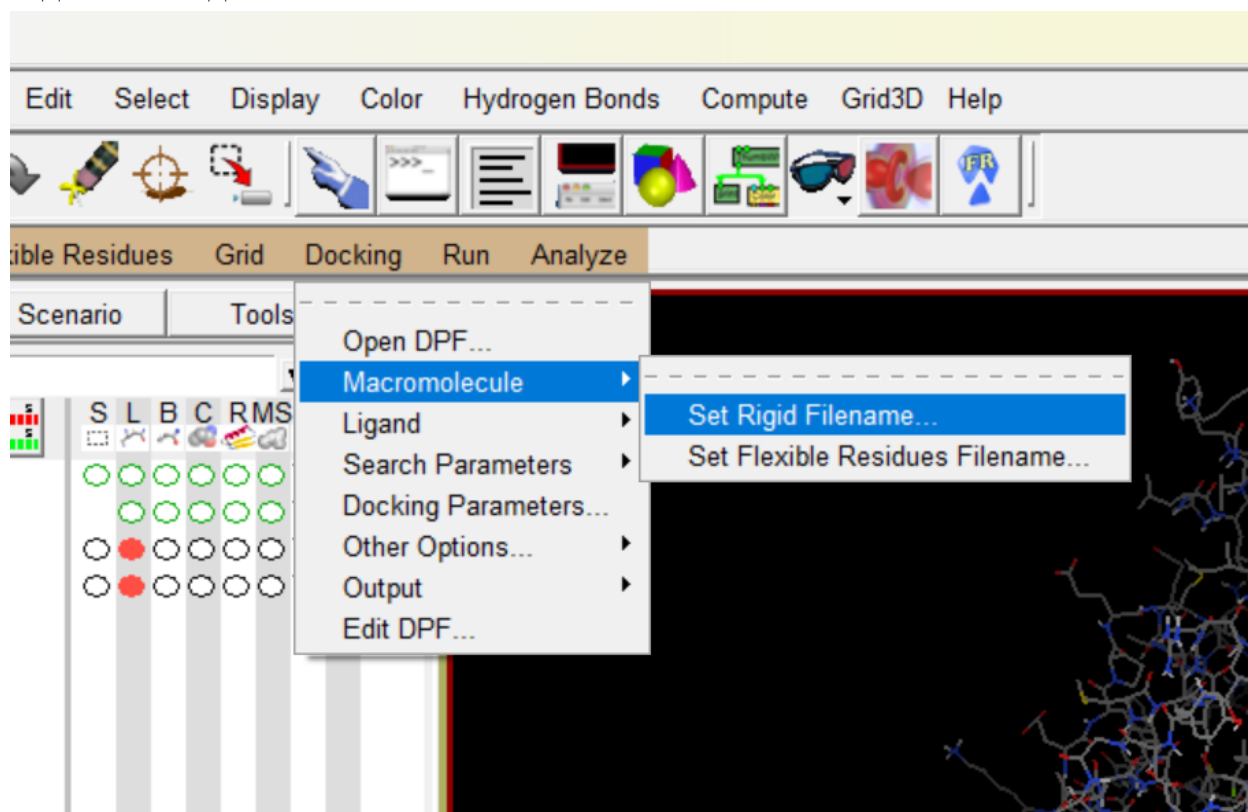
C:/AutoDock/dock/better_dex/autogrid4.exe: **Successful Completion.** **Ура!**
 Real= 5.49s, CPU= 5.41s, System= 0.08s

6. Докинг

Большая часть предварительных приготовлений закончена, мы наконец-то сможем оправдать название методички и займемся докингом. После - еще нескольких подготовительных операций ☺.

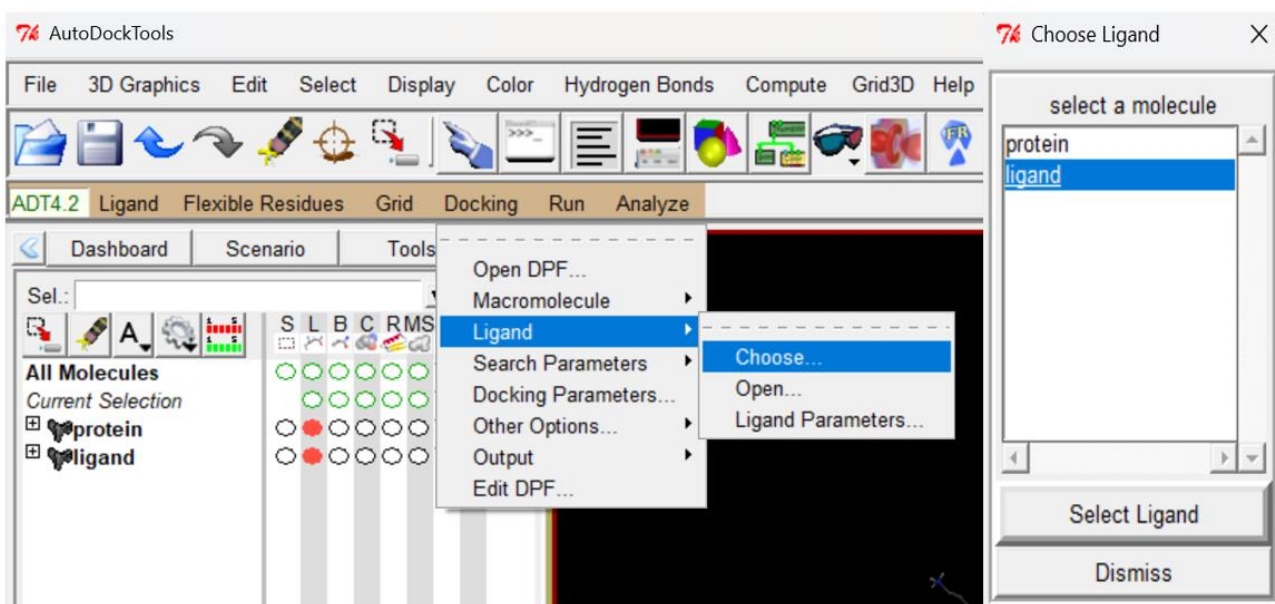
1. Загрузить pdbqt файл мишени.

Кликнем на вкладку **Docking – Macromolecule – Set Rigid Filename....** Выберем **pdbqt** файл белка. В рамках данного руководства мы рассматриваем докинг с полностью жестким белком и гибким лигандом, что является стандартным и наиболее распространенным подходом [25]. Хотя AutoDock4 поддерживает расчеты с гибкими боковыми цепями аминокислот, это требует дополнительной подготовки - создания отдельного pdbqt файла с координатами заданных подвижных остатков.

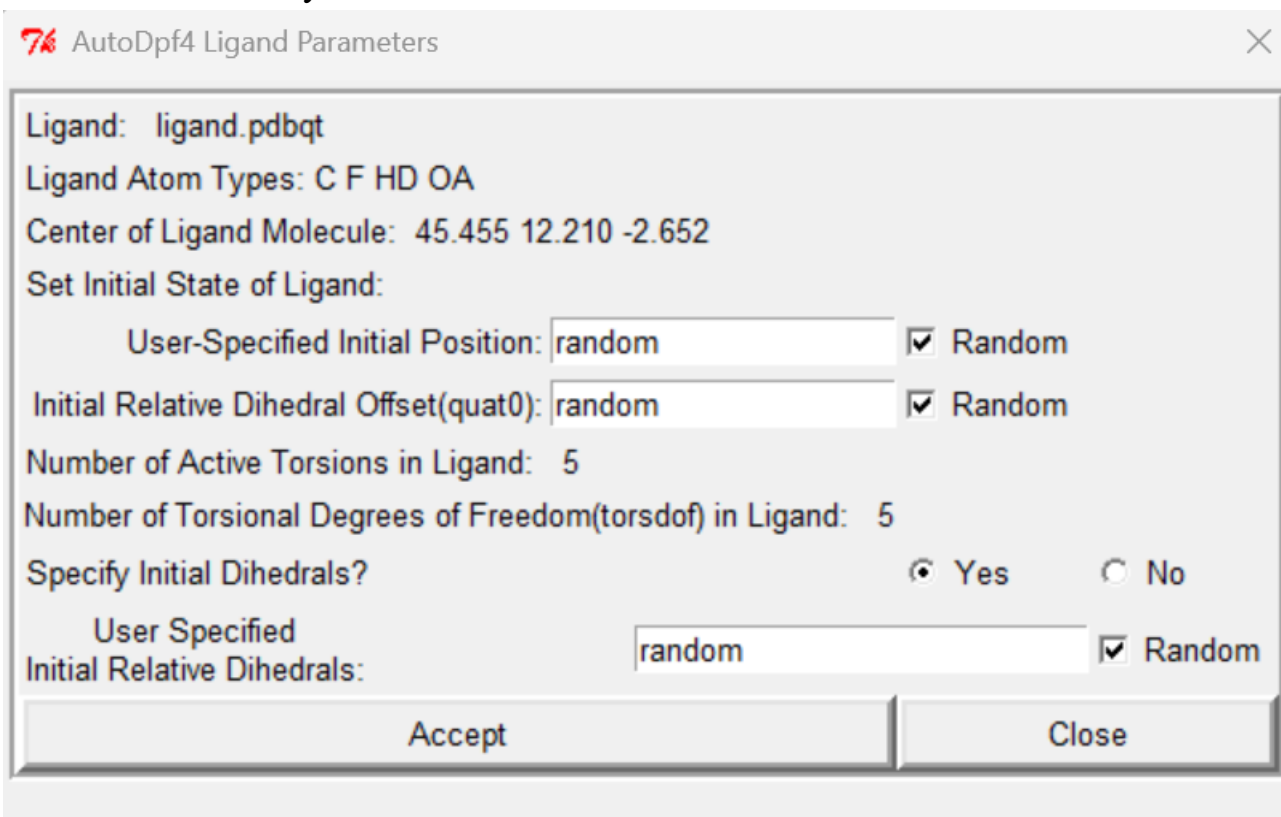


2. Загрузить pdbqt файл лиганда.

Аналогично проделываем с лигандом: **Docking – Ligand – Choose....** В открывшемся окне выбираем лиганд и кликаем **Select Ligand**.

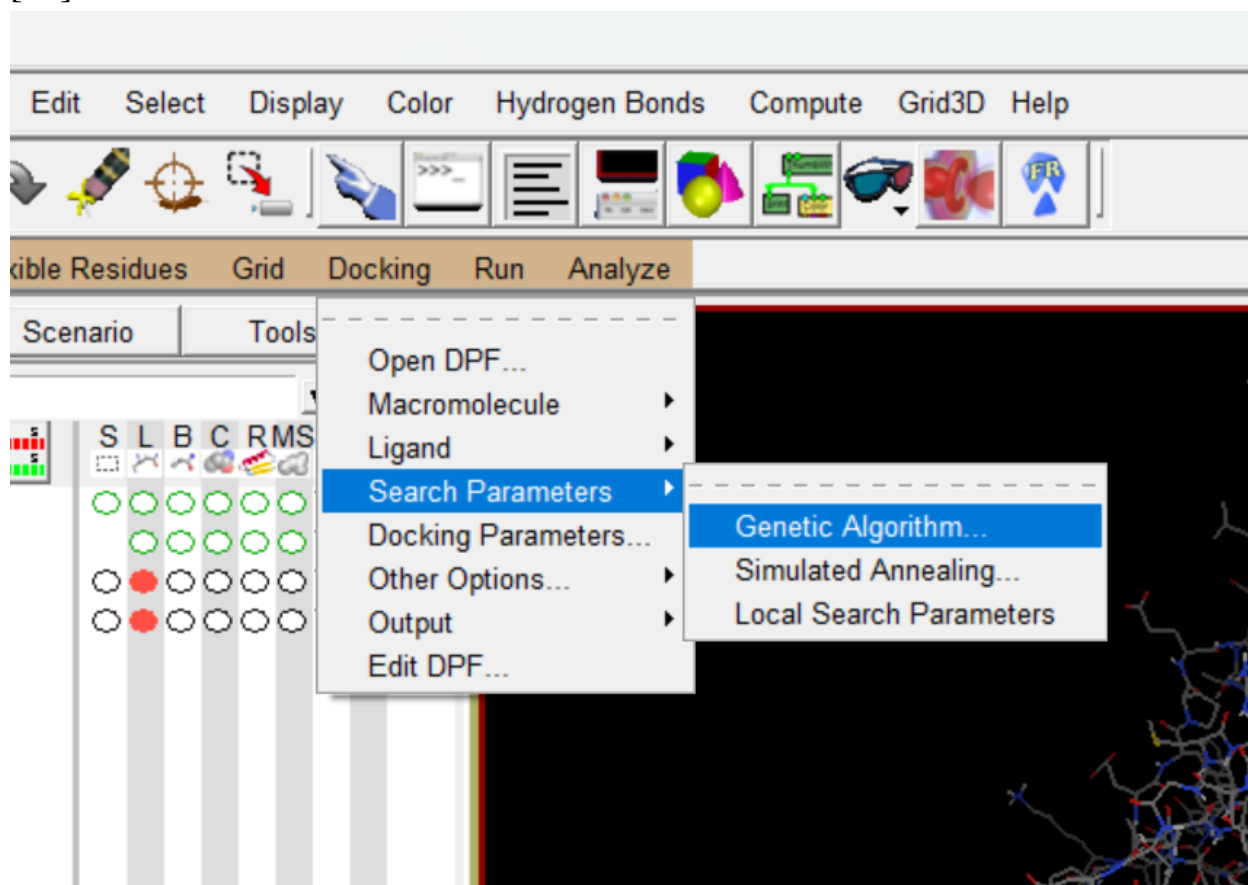


В появившемся окне не будем ничего менять и нажмем **Accept**. Здесь содержится общая информация о лиганде, которую мы вводили, а также можно задать настройки начального состояния. По нашим настройкам положение лиганда в начале каждого запуска и начальные углы вращения вокруг гибких связей задаются случайно.



3. Настроить параметры поиска.

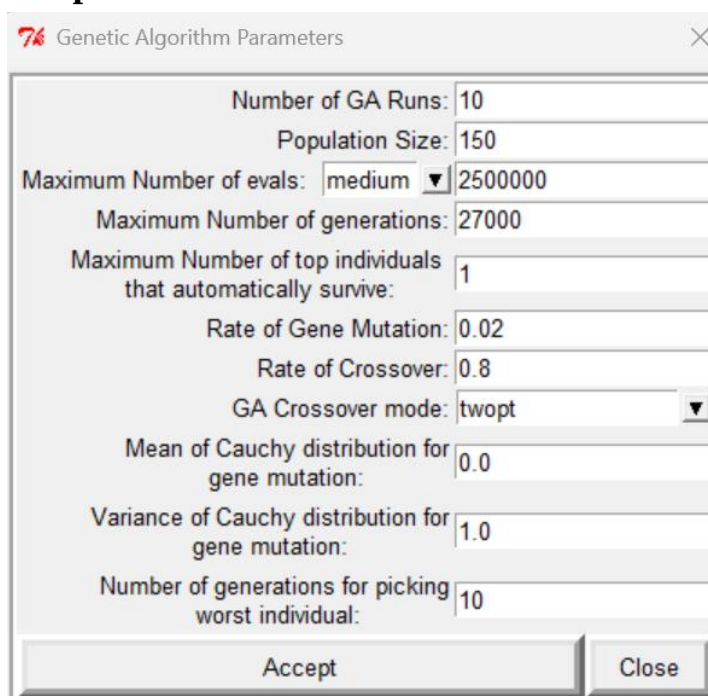
Зададим алгоритм, по которому программа будет искать положение лиганда в активном центре белка. Кликнем **Docking - Search Parameters – Genetic Alorythm....** В основном используется генетический алгоритм Ламарка [26].



В открывшемся окне можно изменить параметры поиска. Особо значимыми являются:

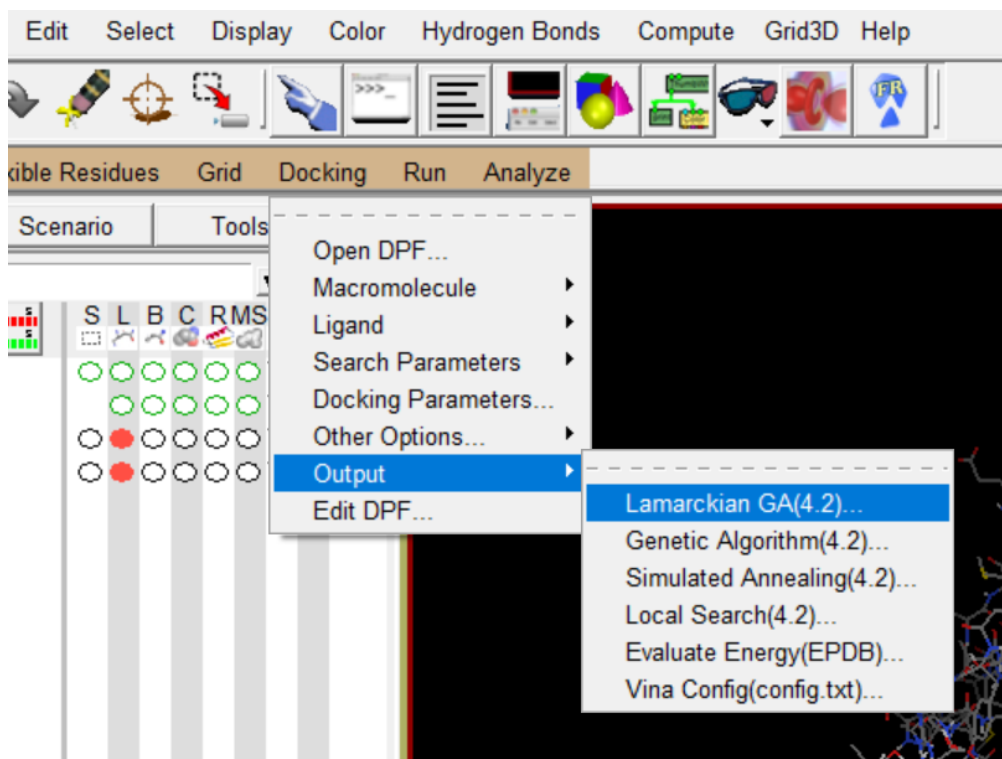
- **Number of GA Runs** - количество запусков генетического алгоритма и, как результат, количество положений лиганда, которое будет найдено. Чем больше конформаций с нуля найдет алгоритм, тем точнее можно о них судить.
- **Size of Population** - количество конформаций лиганда, которые конкурируют и скрещиваются внутри одного запуска.
- **Maximum Number of evals.** Каждый раз, когда алгоритм проверяет новую конформацию, он дает ей оценку. Параметр задает предельное количество расчетов энергии, которое алгоритм выполнит в рамках одного запуска. Для более серьезных и надежных расчетов обычно задается значение порядка нескольких десятков миллионов (например, 25 000 000).

Для нашей задачи достаточно установленных по умолчанию параметров, поэтому нажмем **Accept**.



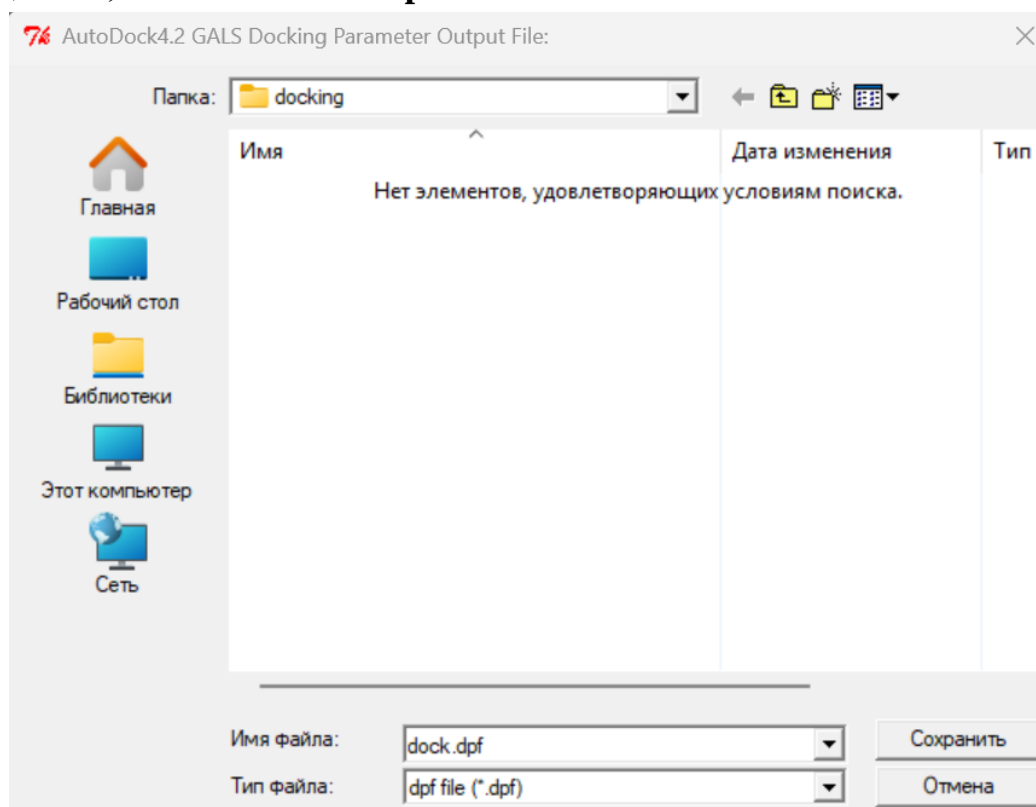
4. Выбрать алгоритм докинга.

Кликнем **Docking – Output – Lamarckian GA(4.2)....**



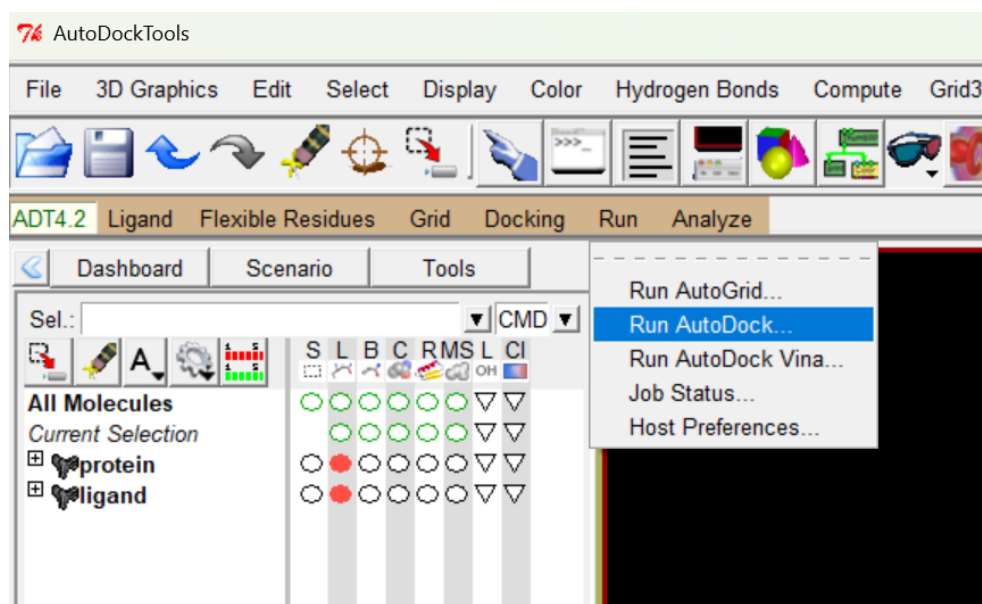
5. Сохранить dpf файл с параметрами докинга.

Автоматически программа предложит сохранить dpf файл в рабочей папке. Так и сделаем, назвав его **dock.dpf**.



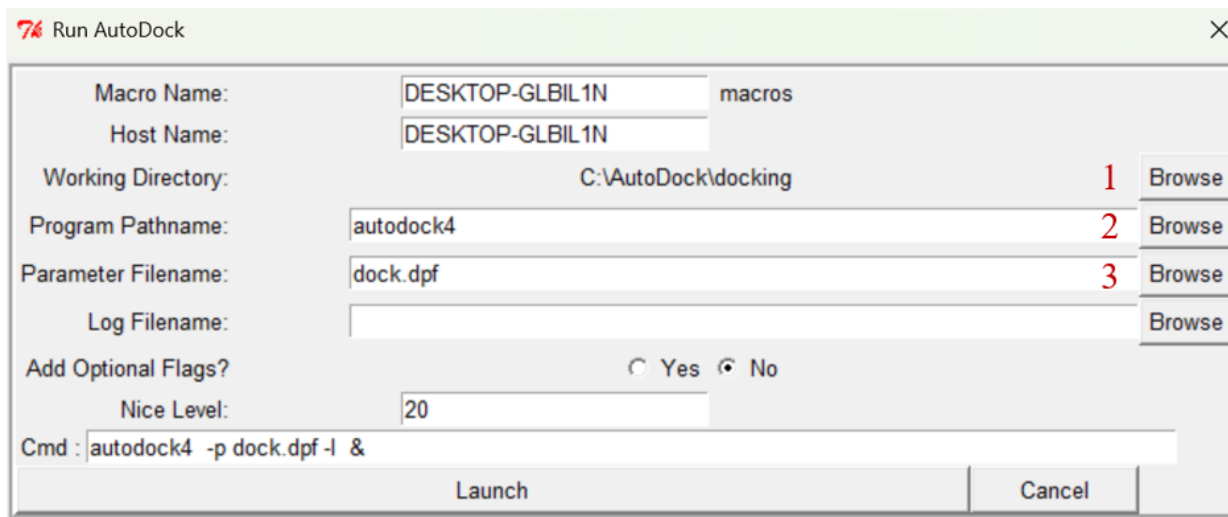
6. Запустить AutoDock.

Самая финальная прямая из всех прямых! Осталось пара кликов, и мы у цели. Кликнем **Run – Run AutoDock....**

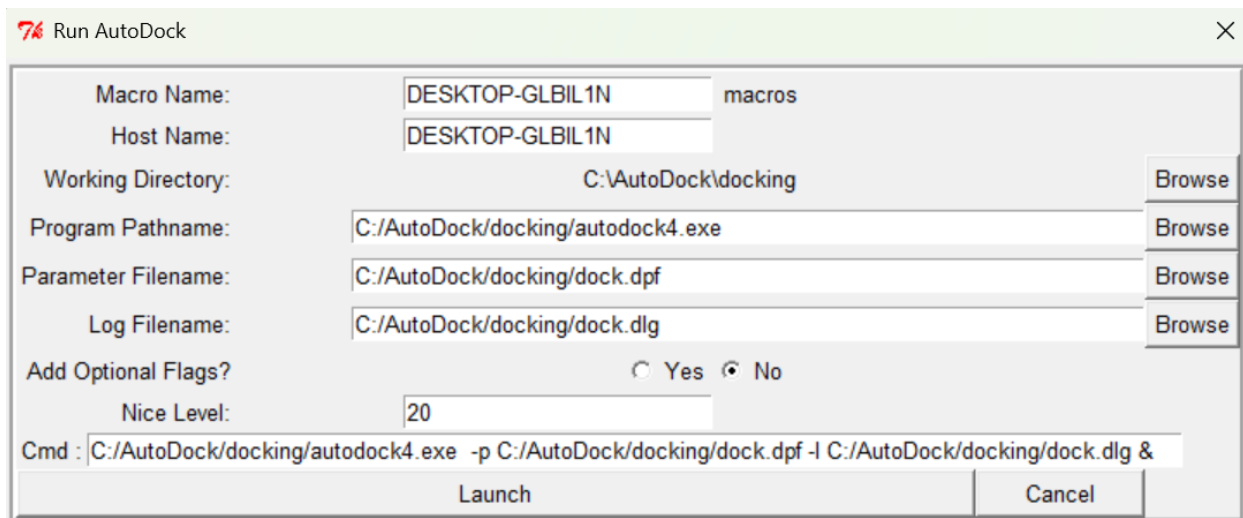


Никогда такого не было - и вот опять. Проверяем путь в **Working Directory**. В **Program Pathname** и **Parameter Filename**, указываем расположение

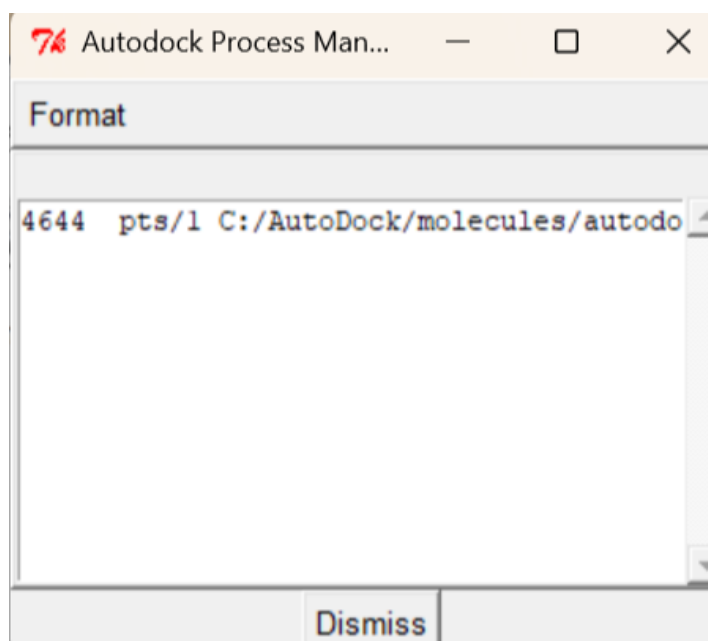
autodock4.exe и **dock.dpf** соответственно (в Parameter Filename, как и в прошлый раз, расположение файла указываем принудительно).



Кликнем **Launch**.



Снова перед нами висит небольшое окошко. Как только процесс закончится, окошко автоматически закроется.



Окошко закрылось. И что дальше? Ищем новорожденный файл в рабочей папке, конечно! Нас интересует **dock.dlg**. Откроем его в блокноте. Пропролистим до конца, в надежде увидеть уже знакомое **Successful Completion**.

```
C:/AutoDock/docking/autodock4.exe: Successful Completion on "DESKTOP-GLBIL1N"  
Real= 4m 54.20s, CPU= 4m 53.06s, System= 0.30s
```

Поднимемся выше в файле, пока не найдем раздел **Cluster Analysis of Conformations** с таблицей **RMSD Table**, ради которой и проводились все манипуляции. Здесь представлены результаты поиска конформации лиганда с минимумом энергии, ранжированные по величине свободной энергии связывания (ΔG). Четкой шкалы оценки ΔG в докинге нет, достоверность данного параметра очень сильно зависит от качества структуры белка. В общем, более отрицательный результат энергии связывания соответствует более стабильному комплексу мишень-лиганд, однако параметр очень относителен и разница в 1-2 ккал/моль может быть в действительности незначительна.

Итак, наименьшей энергией обладает конформация лиганда, полученная при пятом запуске докинга.

RMSD TABLE						
Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	5	-12.73	0.00	0.77	RANKING
1	2	8	-12.71	0.08	0.76	RANKING
1	3	9	-12.67	0.74	0.86	RANKING
1	4	10	-12.67	0.73	0.84	RANKING
1	5	4	-12.38	0.60	0.80	RANKING
1	6	6	-12.38	0.69	0.86	RANKING
1	7	7	-12.33	0.59	0.82	RANKING
1	8	2	-12.07	0.78	0.87	RANKING
1	9	1	-12.05	0.77	0.86	RANKING
1	10	3	-12.03	0.78	0.88	RANKING

Ориентироваться только на конформацию с самой низкой энергией ненадежно, так как она может быть артефактом, найденным случайно. Поэтому следует оценивать результаты кластерами. Обратимся к таблице **Clustering Histogram**, группирующей структурно похожие конформации. Так, анализ показал, что все полученные конформации принадлежат одному кластеру, на основании чего можно с большей уверенностью судить о достоверности результата.

CLUSTERING HISTOGRAM											
Clus-ter Rank	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num in Clus	Histogram						
35					5	10	15	20	25	30	
					___:___	___:___	___:				
1	-12.73	5	-12.40	10	#####						

Number of multi-member conformational clusters found = 1, out of 10 runs.

Примечание: даже при четком соблюдении инструкций данного методического пособия в рамках молекулярного докинга невозможно

достигнуть полного соответствия результатов. С этим нужно смириться и лишний раз не переживать, главное, что значения сопоставимы [27].

Создадим **pdb** файл, в который перенесем всю информацию из **dlg** от Cluster Analysis of Conformations и до конца.

best_ligands.pdb

×

+

—

□

×

Файл

Изменить

Просмотр

⚙

CLUSTER ANALYSIS OF CONFORMATIONS

Number of conformations = 10

RMSD cluster analysis will be performed using the ligand atoms only (31 / 31 total atoms).

Outputting structurally similar clusters, ranked in order of increasing energy.

Number of distinct conformational clusters found = 1, out of 10 runs,
Using an rmsd-tolerance of 2.0 Å

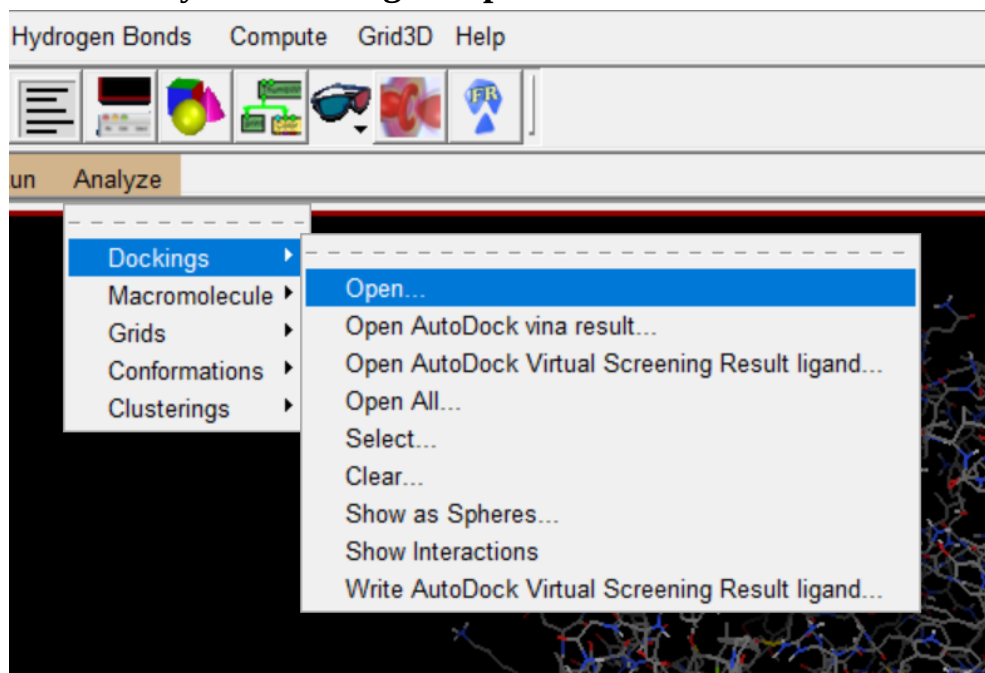
CLUSTERING HISTOGRAM

Clus-ter Rank	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num in Clus	Histogram
					5 10 15 20 25 30 35
1	-12.73	5	-12.40	10	#####

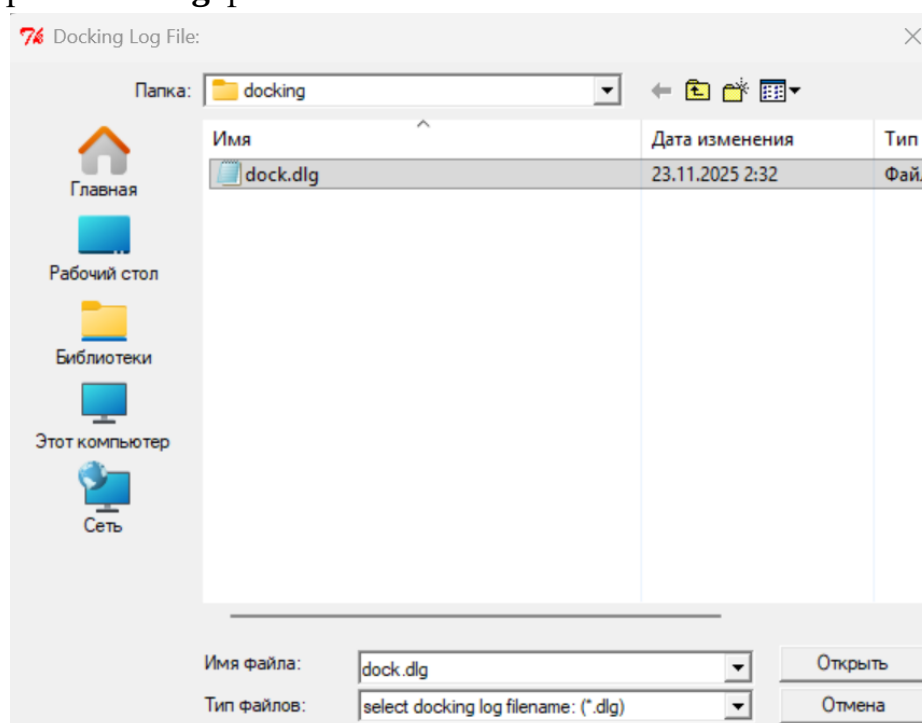
7. Анализ результатов

Красивые циферки – это здорово, но ими сыт не будешь. Хочется воочию увидеть положения лиганда в макромолекуле. Для начала воспользуемся разделом **Analyze** в AutoDockTools.

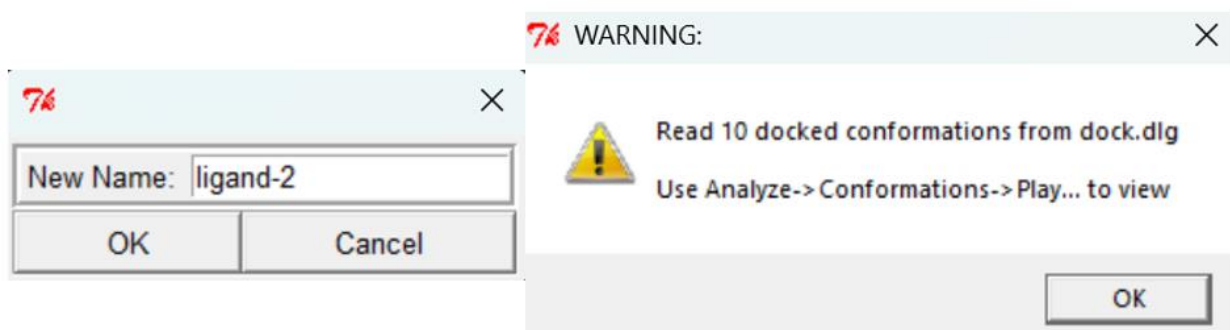
Кликнем **Analyze – Dockings – Open....**



Выберем **dock.dlg** файл.



При открытии dlg файла AutoDockTools предложит добавить его как новый лиганд. Согласимся с условиями, нажав **ОК**.



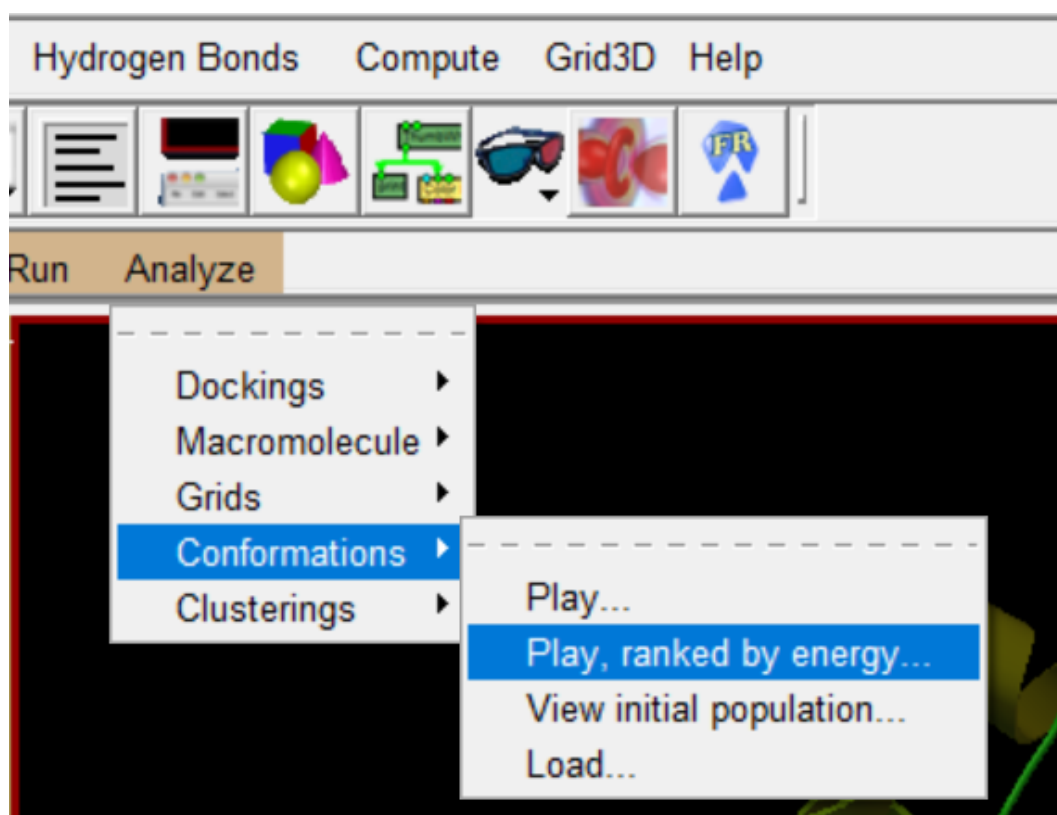
Чтобы лиганд лучше различался, попросим программу выдавать нам изображение белка в ленточном виде, нажав на овал в столбце R (Ribbons).

Примечание: чтобы было не так грустно смотреть на серый белок, его можно покрасить. Достаточно популярным способом визуализации является окраска с радужным градиентом.

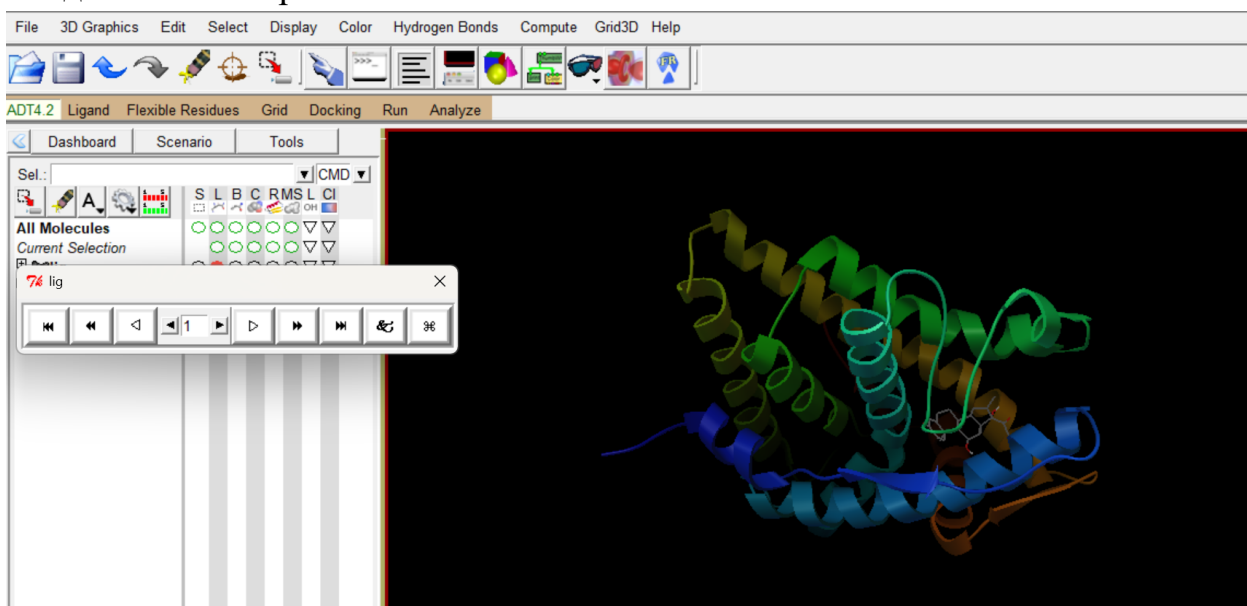
Выделим только белок, нажав овал в столбце **S (Select)**, затем **Color – Rainbow**.



Для визуализации положений лиганда кликнем **Analyze – Conformations – Play, ranked by energy....**



Откроется небольшое окошко, с помощью которого можно переключаться между полученными конформациями лиганда. Теперь можно посмотреть на плоды наших стараний.

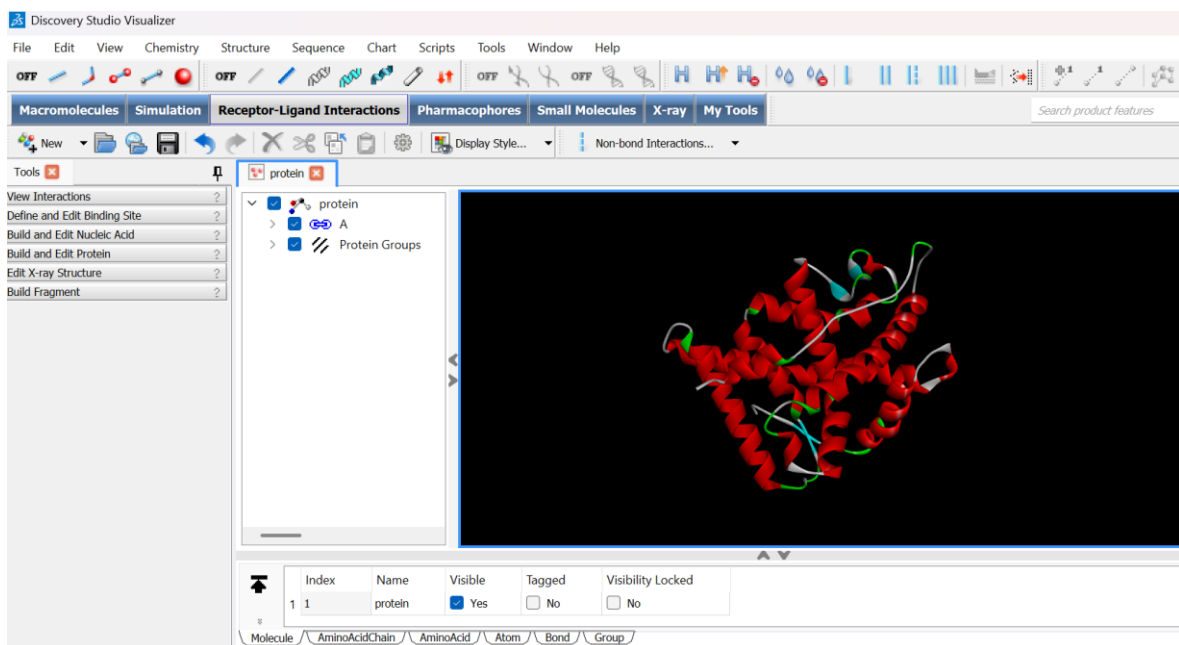
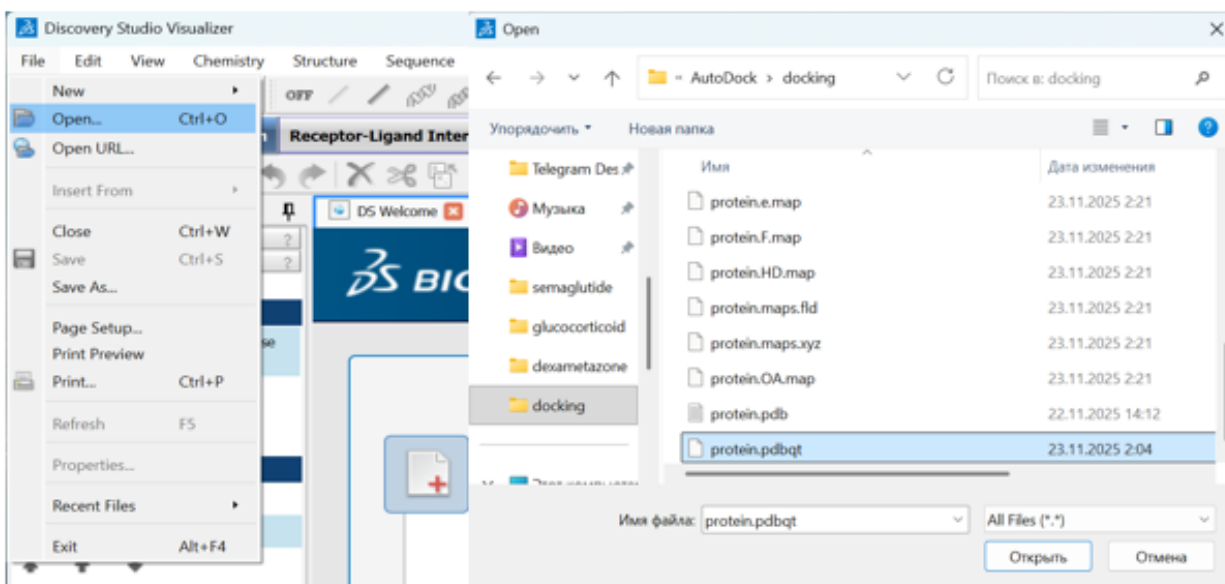


Вдоволь налюбовавшись, внимательнее рассмотрим взаимодействия лиганда и мишени в **Discovery Studio**.

1. Открыть pdbqt файл белка в Biova Discovery Studio.

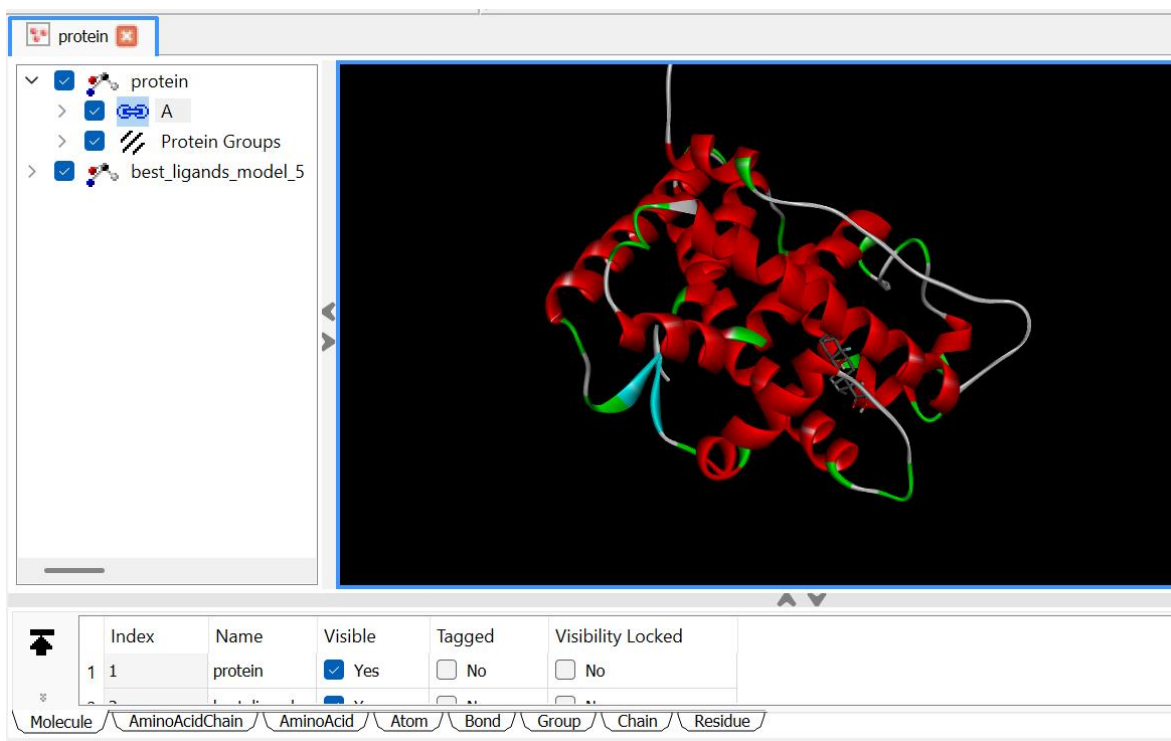
Кликнем **File – Open...** и выберем файл **protein.pdbqt**.

*Примечание: pdbqt - нестандартный формат для Discovery Studio, поэтому нужно поставить в фильтре **All Files**, чтобы найти искомый файл.*



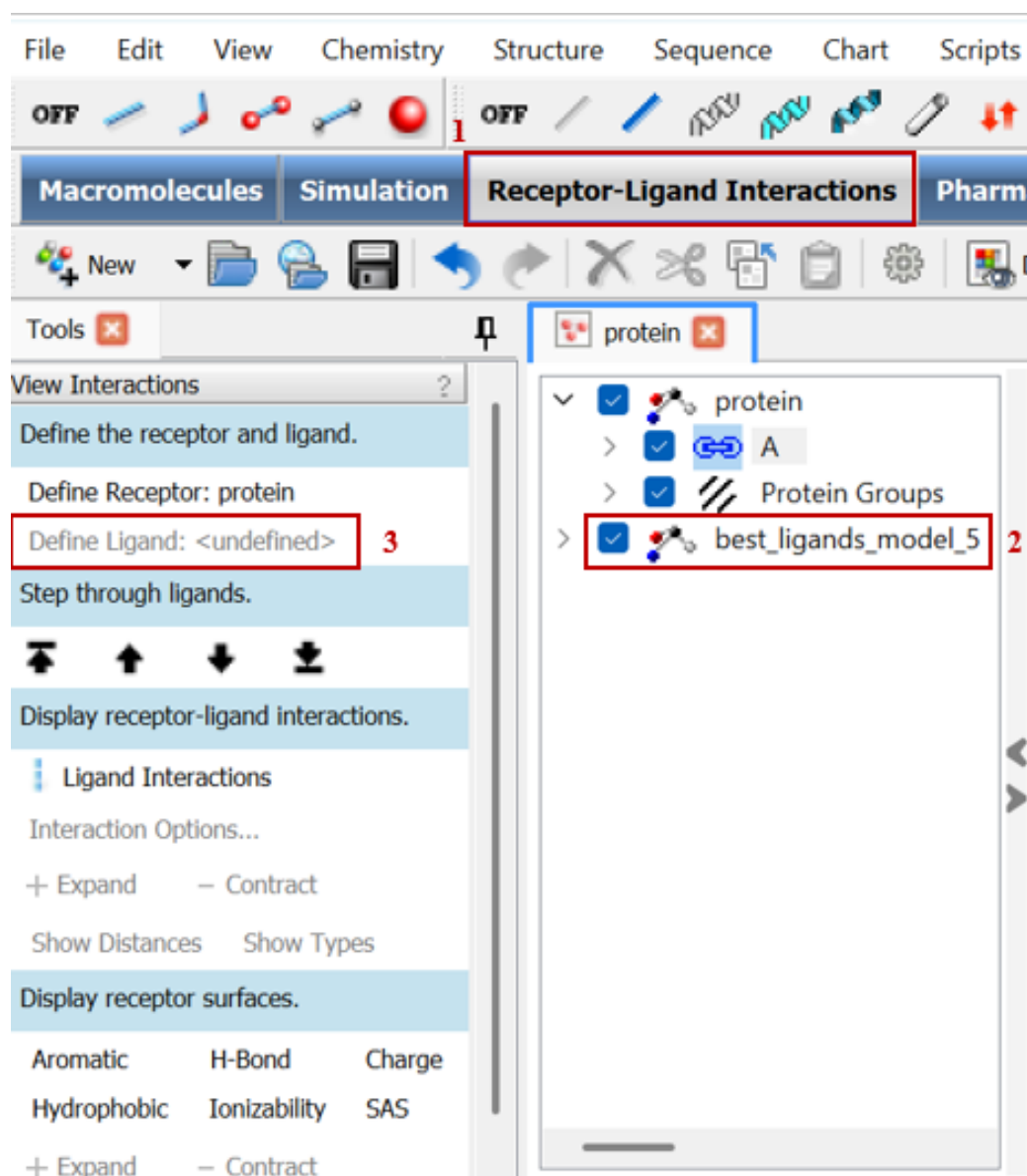
2. Перенести pdb файл с результатами докинга в окно Biova Discovery Studio.

Для визуализации конформаций лиганда в активном центре мишени недостаточно просто открыть pdb-файл с результатами, так как он отобразится в отдельном окне. Чтобы совместить структуры, необходимо перетащить pdb-файл левой кнопкой мыши в основное окно с белком. В результате будет автоматически добавлена конформация лиганда с наименьшей энергией связывания.

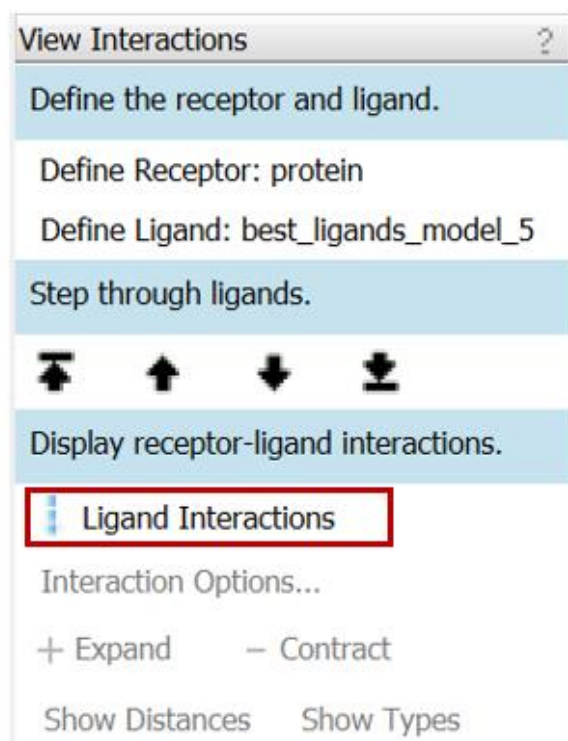


Покажем взаимодействия лиганда и аминокислотных остатков белка. Находясь во вкладке Receptor-Ligand Interactions зайдем в меню **View Interactions** (Tools – Receptor-Ligand Interactions – View Interactions).

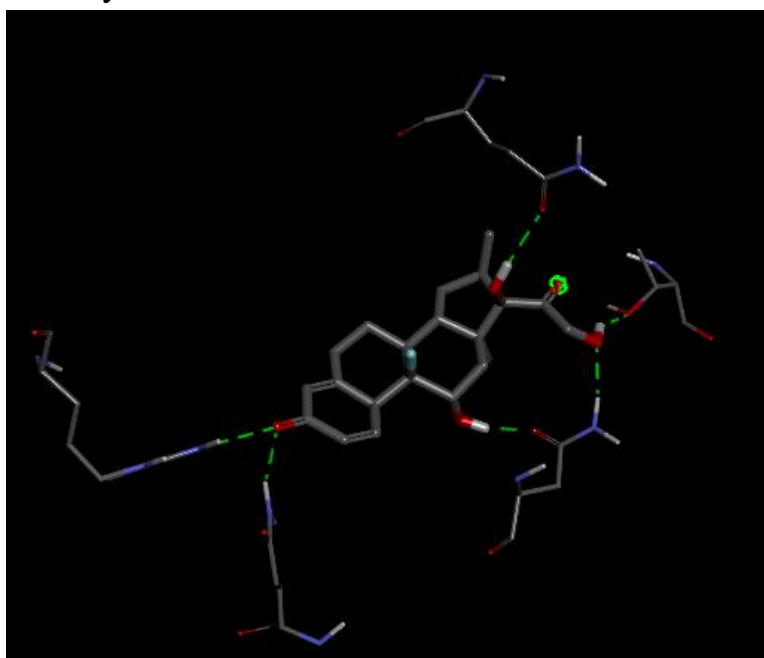
Сверху в меню в пункте **Define the receptor and ligand** должны быть определены белок и лиганд. Белок определен автоматически, чтобы определить лиганд, необходимо нажать левой кнопкой мыши один раз на лиганд - **best_ligands_model_5** и затем один раз нажать левой кнопкой мыши на **Define Ligand: <undefined>**.



Теперь, когда и белок, и лиганд определены, открылась кнопка **Ligand Interactions**. Нажмем на нее.



Большая часть белка скрылась, остались видны только аминокислотные остатки, взаимодействующие с лигандом.



Трехмерное изображение выглядит солидно, но, чтобы в нем разобраться, придется долго его крутить. Попросим показать нам двухмерное изображение связей лиганда и белка, нажав **Show 2D Diagram** в том же меню **View Interactions**.

Display receptor surfaces.

Aromatic	H-Bond	Charge
Hydrophobic	Ionizability	SAS
+ Expand		- Contract

Change the visibility of the receptor and ligand.

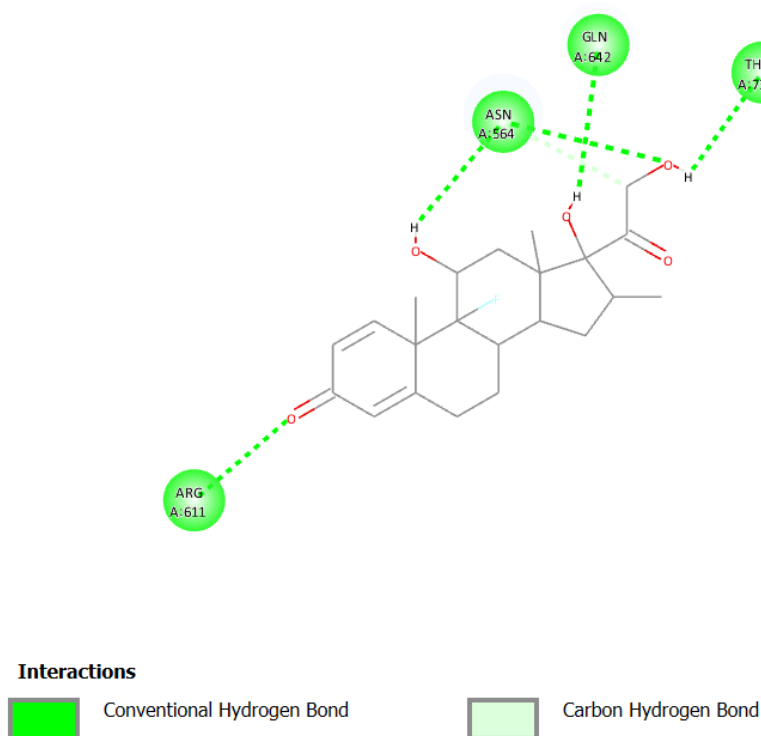
Receptor	Ligand
Interacting Atoms	Pocket Atoms

Show receptor-ligand interactions on a 2D diagram.

Show 2D Diagram

Define and Edit Binding Site	?
Build and Edit Nucleic Acid	?
Build and Edit Protein	?
Edit X-ray Structure	?
Build Fragment	?

Победа! Открылось окно с двухмерным изображением, на котором отражены связи лиганда и мишени, которые удивительно здорово совпадают с данными из литературы.



Таким образом, молекулярный докинг является важным инструментом структурной биологии для решения задач на начальных этапах дизайна лекарственных средств. В рамках данного методического пособия был успешно выполнен докинг исследуемого лиганда, продемонстрировавший высокое согласование с экспериментальными данными. Однако при работе с другими мишенями и соединениями, особенно со слабым сродством, итоги докинга могут быть менее однозначными. Для точной интерпретации результаты докинга требуют дальнейшей верификации более точными вычислительными и экспериментальными методами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A Review on Molecular Docking / K. M. Dnyandev, G. V. Babasaheb, K. V. Chandrashekhar [и др.] // International Research Journal of Pure and Applied Chemistry. – 2021. – С. 60-68.
2. Paggi, J. M. The Art and Science of Molecular Docking / J. M. Paggi, A. Pandit, R. O. Dror // Annual Review of Biochemistry. – 2024. – Vol. 93. – № 1. – P. 389-410.
3. Martis, E. A. F. Ten quick tips to perform meaningful and reproducible molecular docking calculations / E. A. F. Martis, S. Téletchéa // PLOS Computational Biology. – 2025. – Т. 21. – № 5. – С. e1013030.
4. Systematic search in conformational analysis : Conformational Analysis / D. D. Beusen, E. F. Berkley Shands, S. F. Karasek [и др.] // Journal of Molecular Structure: THEOCHEM. – 1996. – Т. 370. – № 2. – С. 157-171.
5. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking Accuracy / R. A. Friesner, J. L. Banks, R. B. Murphy [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. – 2004. – Vol. 47. – Glide. – № 7. – P. 1739-1749.
6. Pagadala, N. S. Software for molecular docking: a review / N. S. Pagadala, K. Syed, J. Tuszynski // Biophysical Reviews. – 2017. – Vol. 9. – Software for molecular docking. – № 2. – P. 91-102.
7. Dias, R. Molecular Docking Algorithms / R. Dias, W. De Azevedo Jr. // Current Drug Targets. – 2008. – Vol. 9. – № 12. – P. 1040-1047.
8. A Fast Flexible Docking Method using an Incremental Construction Algorithm / M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, G. Klebe // Journal of Molecular Biology. – 1996. – Vol. 261. – № 3. – P. 470-489.
9. DOCK 6: Impact of new features and current docking performance / W. J. Allen, T. E. Balius, S. Mukherjee [et al.] // Journal of Computational Chemistry. – 2015. – Vol. 36. – DOCK 6. – № 15. – P. 1132-1156.
10. Chib, S. Understanding the Metropolis-Hastings Algorithm / S. Chib, E. Greenberg // The American Statistician. – 1995. – Т. 49. – № 4. – С. 327-335.

11. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility / G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom [et al.] // Journal of Computational Chemistry. – 2009. – Vol. 30. – AutoDock4 and AutoDockTools4. – № 16. – P. 2785-2791.
12. A new Lamarckian genetic algorithm for flexible ligand-receptor docking / J. Fuhrmann, A. Rurainski, H. Lenhof, D. Neumann // Journal of Computational Chemistry. – 2010. – Vol. 31. – № 9. – P. 1911-1918.
13. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking 1 Edited by F. E. Cohen / G. Jones, P. Willett, R. C. Glen [et al.] // Journal of Molecular Biology. – 1997. – Vol. 267. – № 3. – P. 727-748.
14. Trott, O. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading / O. Trott, A. J. Olson // Journal of Computational Chemistry. – 2010. – Vol. 31. – AutoDock Vina. – № 2. – P. 455-461.
15. Assessing the accuracy of binding pose prediction for kinase proteins and 7-azaindole inhibitors: a study with AutoDock4, Vina, DOCK 6, and GNINA 1.0 / A. Tripathi, K. Suri, S. K, N. A. Murugan // RSC Advances. – 2025. – Vol. 15. – Assessing the accuracy of binding pose prediction for kinase proteins and 7-azaindole inhibitors. – № 55. – P. 47051-47065.
16. Frank, F. Structural insights into glucocorticoid receptor function / F. Frank, E. A. Ortlund, X. Liu // Biochemical Society Transactions. – 2021. – Vol. 49. – № 5. – P. 2333-2343.
17. Koshland, D. E. Correlation of Structure and Function in Enzyme Action: Theoretical and experimental tools are leading to correlations between enzyme structure and function. / D. E. Koshland // Science. – 1963. – Vol. 142. – Correlation of Structure and Function in Enzyme Action. – № 3599. – P. 1533-1541.
18. Lee, S. Benchmarking applicability of medium-resolution CRYO-EM protein structures for structure-based drug design / S. Lee, C. Seok, H. Park // Journal of Computational Chemistry. – 2023. – Vol. 44. – Benchmarking applicability of medium-resolution structures for structure-based drug design. – № 14. – P. 1360-1368.

19. Brünger, A. T. Free R value: a novel statistical quantity for assessing the accuracy of crystal structures / A. T. Brünger // *Nature*. – 1992. – Vol. 355. – Free R value. – № 6359. – P. 472-475.
20. MolProbity: More and better reference data for improved all-atom structure validation / C. J. Williams, J. J. Headd, N. W. Moriarty [et al.] // *Protein Science*. – 2018. – Vol. 27. – MolProbity. – № 1. – P. 293-315.
21. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management / P. C. Agu, C. A. Afiukwa, O. U. Orji [et al.] // *Scientific Reports*. – 2023. – Vol. 13. – № 1. – P. 13398.
22. Maveyraud, L. Protein X-ray Crystallography and Drug Discovery / L. Maveyraud, L. Mourey // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – № 5. – P. 1030.
23. Shaimardanov, A. R. Do electrostatic interactions make a difference in physics-based AUTODOCK4 scoring function? / A. R. Shaimardanov, D. A. Shulga, V. A. Palyulin // *Journal of Computational Chemistry*. – 2024. – Vol. 45. – Do electrostatic interactions make a difference in physics-based scoring function. – № 21. – P. 1806-1820.
24. Bitencourt-Ferreira, G. Docking with AutoDock4 / G. Bitencourt-Ferreira, V. O. Pinto, W. F. De Azevedo. – Text : electronic // *Docking Screens for Drug Discovery : Methods in Molecular Biology* / ed. W. F. De Azevedo. – New York, NY : Springer New York, 2019. – Vol. 2053. – P. 125-148. – URL: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-9752-7_9 (date accessed: 04.12.2025).
25. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery / X.-Y. Meng, H.-X. Zhang, M. Mezei, M. Cui // *Current Computer Aided-Drug Design*. – 2011. – Vol. 7. – Molecular Docking. – № 2. – P. 146-157.
26. Chalmers, G. Introducing ligand GA, a genetic algorithm molecular tool for automated protein inhibitor design / G. Chalmers // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 20877.
27. Fan, J. Progress in molecular docking / J. Fan, A. Fu, L. Zhang // *Quantitative Biology*. – 2019. – Vol. 7. – № 2. – P. 83-89.

Серых Анастасия Тимофеевна
Новиков Александр Сергеевич

Применение программных пакетов AutoDock 4 и Discovery Studio для проведения молекулярного докинга

Учебное пособие

В авторской редакции

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО

Зав. РИО

Н.Ф. Гусарова

Подписано к печати

Заказ №

Тираж

Отпечатано на ризографе

Редакционно-издательский отдел
Университета ИТМО
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, литер А