

Válasz

Oláh Julianna
az MTA doktora

MTA doktori értekezésemre adott bírálatára

Szeretném megköszönni Oláh Julianna bírálónak, az MTA doktorának, az értekezésemre adott pozitív véleményét. Külön köszönöm, hogy keletkezésük folyamatát áttekintve értékelte a bemutatott eredményeket és a területen aktív kutatóként emlékezett az elmúlt két évtized tudományos környezetére is, hogy az egyes eredmények megszületésekor mi is volt az akkori fejlettségi szint és a rendelkezésre álló eszközök.

1) Munkám során alapértelmezésben egyensúlyi MD szimulációkat alkalmazok, amelyekkel izoterm-izobár (N, T, p) sokaságok állíthatók elő. A hidrátszerkezet számítása esetén, a vízmolekulák nagy mozgékonyasága miatt már egész rövid (néhány 100 ps ... 1 ns) számítások elegendő mintát szolgáltatnak a vízpozíciók feltérképezéséhez és kinetikai vagy termodinamikai stabilitásának értékeléséhez. Ez az alapértelmezett MD a víznél nagyobb, de még kisméretű ligandumok esetén is jól alkalmazható, ha nem várható drámai mértékű indukált illeszkedés és a ligandum kiindulási pozíciója nem esik túl messze a kötőzsebtől. Az egyensúlyi szimulációk akkor is érdekesek, ha valós időben kívánom követni az asszociáció/disszociáció folyamatát, mert például kíváncsi vagyok a kötődés kinetikus stabilitását jellemző (k_{on} , k_{off} , tartózkodási idő) paraméterekre. Amennyiben a ligandum mérete a 2-3 aminosav hosszúságú peptidekét meghaladja és a célpont konformációs változása várható a kötődés során, valamint a kötődés valós idejű követése nem célom: azaz „csak” be szeretném dokkolni a ligandumot MD segítségével, akkor nagyon jól jönnek az említett, nem-egyensúlyi technikák. Mi az egyszerűbb alkalmazhatósága és költséghatékonysága miatt a szimulált annellációt alkalmaztuk többször és jó eredménnyel. Ugyanakkor a replika kicserélődés is igen hatékony eszköz, főleg nagyobb/teljes konformációs terek feltérképezéséhez. A kódok párhuzamosításának köszönhetően és a HPC erőforrás bővülésével szerencsére a költséghatékonysági tényezőt egyre kevésbé kell figyelembe

vennünk, így a replika kicserélődést is egyre gyakrabban tervezem bevetni a fent említett komplikáltabb esetekben.

2) Az említett kereskedelmi dokkoló szoftverek (Gold, Glide) a kereső motor tekintetében nem nyújtanak értékelhető többletet a nyílt forráskódú módszerekhez képest. Általában (részben) heurisztikus keresőket (Monte-Carlo, genetikus algoritmus) alkalmaznak. A pontozás tekintetében sem nyújtanak annyival többet, amint ez elvárható lenne tőlük. A kezdő felhasználó számára annyi könnyebbséget adnak, hogy alapvetően grafikus felülettel rendelkeznek és a ligandum könyvtárakat elvileg gyorsabban és automatizáltan készítik fel a dokkolásra, de sajnos ezt is számos hibával teszik, így folyamatos felhasználói ellenőrzés szükséges. Ahol előnyöket érzékelek, az a kovalens dokkolás területe, amelyekre az ingyenes programok talán még kevésbé vannak felkészítve. De itt is elmondható, hogy vannak olyan jól karban tartott szoftverek, mint például a Fitted, amely felveszi a versenyt a kereskedelmi versenytársaival akár használhatóságot, akár precizitást tekintve. A Fittedet tervezzük továbbra is egyre kiterjedtebben alkalmazni főleg kovalens dokkolásra (remélhetőleg kutatók részére ingyenes marad, bár sajnos nem nyílt forráskódú). Online (*blind*) dokkoló szervert (EADock) a [D2] tanulmányban alkalmaztam kiterjedtebben, amelyet egy svájci csoport üzemeltetett, de most hogy rákerestem a weboldalukra, éppen nem érhető el. Ez egyébként a legnagyobb baj a webserverekkel: nagyon sok esetben tiszavirág életűek, mert fenntartásuk igen sok költség és/vagy idő ráfordítást igényel, amit egy átlag kutató sokszor nem tud garantálni. A kérdésben szereplő CB-Dock2 a honlap szerint AutoDock Vina-t alkalmaz egy gyors kötőzseb-keresés után (ez volt az EADock módszere is). A *blind docking* esetében szerencsére a Wrap 'n' Shake [D4] módszerünk „az idők végezetéig” megoldást nyújt, mert kizárólag nyílt forráskódú szoftverekre épül. A Wrap 'n' Shake emellett pontosabb munkát végez, mint a fent említett előzetes zsebkeresésre épülő eljárások, mert az összes ligandum kötési módot megtalálja: nem szorítkozik néhány kötőzseb előzetes detektálására, tehát a sekélyebb felszíneken is teljesen feltérképezi a kötési módokat, függetlenül a felszín geometriájától. Hamarosan a GitHub-ra is fel fogom tenni a teljes anyagát, így mirror site-on is elérhető lesz.

3) Sajnos a WaterMap-pel egyelőre még nem sikerült személyes kapcsolatba kerülnöm, tekintve, hogy horror licensz díjat kérnek érte. A WaterFLAP-pet vizsgáljuk, ezzel pár hónapja

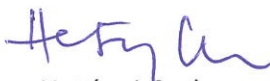
dolgozunk, így még végleges véleményem nincs róla. A gridSolvate-t még nem használtam, de ezt is érdemes lesz megnéznünk, szépen dokumentált program. Az utóbbiak grid alapú eljárások, az előbbi MD alapú. Az MD alapú eljárásoknak, mint pl. a MobyWat-nak is megvan az az előnyük, ha explicit vízmodellt alkalmaznak az MD során, akkor a víz-víz kölcsönhatásokat (ezek változásait) is figyelembe tudják venni, valamint a vízpozíciók kinetikus stabilitását (tartózkodási idő vagy mobilitás) is nyomon lehet követni velük, nem csak a termodinamikait, tehát elméletileg (és az eddigi eredményeink szerint gyakorlatilag is) részletgazdagabbak és pontosabbak is a grid alapúaknál.

4) Köszönöm értékelését és örülök, hogy ez a statisztikus megközelítés elnyerte tetszését. Az említett [D30] tanulmányban mérésekből származó ΔG_b értékeket használtunk a gyógyszer/nem gyógyszer sokaságok összehasonlításához és ezek nem mutattak normális eloszlást. Várhatóan a (helyesen) számított ΔG_b mint valószínűségi változó esetében is hasonló eloszlás várható, de ez elmondható a deskriptorok jó része esetében is. A relatív molekulatömegre például a Gumbel eloszlást tudtuk illeszteni. A hatékonysági indexeknél és a különböző, pl. kvantumkémiai deskriptoroknál is érdemes az ilyen jellegű statisztikai vizsgálatokat (e tapasztalataink szerint) mindig egy normalitásvizsgálattal kezdeni, majd a döntésben a nem-parametrikus tesztek is alkalmazni, ha az eloszlások megkívánják.

5) Az AlphaFold2-ért időközben megosztott kémiai Nobel-díjat ítélték oda Demis Hassabis és John Jumper részére. Az indoklás szerint nagy áttörést jelentett a fehérjeszerkezetek kutatásában. Az én szakterületem a célpont-ligandum kölcsönhatások számítására szorítkozik és ezen a területen a tisztán tudás alapú módszerek korábban nem tudtak igazán átütő eredményeket hozni. A jövő kérdése még, hogy ez általánosságban megváltozik-e. Jelenleg, ha egy gyógyszercég új gyógyszert akar kifejleszteni, akkor először is kiméri az apo, valamint ha már rendelkezik ligandummal, akkor a holo célpont (fehérje) szerkezeteket is és az újabb ligandumokat a disszertációban is ismertetésre került eljárásokkal építi/tervezi meg: az ő eljárásukat tartom ésszerűnek. Ez persze nem jelenti azt, hogy akár pár év múlva ne változhatna meg a jelenlegi gyakorlat. A kérdésre válaszolva tehát a jóslt szerkezetek megbízhatóságát minden esetben a direkt/indirekt kísérleti eredmények tudják csak eldönteni, adott konkrét fehérje esetében, így *általánosságban* az AlphaFold adatokról nincs véleményem. A módszer rengeteg hiányosságát és korlátját az értekezésben idézett cikkek is

érintik, különösen a vízszerkezet és a ligandum kötés esetében. De maguk a generált fehérjeszerkezetek is mindig korlátozottan lesznek csak használhatók (elméletileg is), amennyiben olyan rosszul viselkedő (misbehaving) fehérjéről van szó, ahol egy szekvenciához több szerkezet is rendelhető. Az adott *in vivo* (sokmolekulás) mátrix hatást pedig nyilvánvalóan nem tudják ezek a módszerek teljes mértékben figyelembe venni, ami a membránfehérjéknél, ioncsatornáknál, stb. jelent egy örökös gondot. *Nota bene*, ezeket a kísérletes szerkezetmeghatározási eljárások is csak korlátozottan tudják figyelembe venni (valójában modellezni). Mivel pedig az AlphaFold a kísérletes adatbázison kerül betanításra, a kísérletes szerkezetek ilyen típusú korlátaiból fakadó szerkezeti hibáinak mértéke elméletileg is csak tovább növekedhet (hibaterjedés). Ha pedig esetleg már nem csak kísérletes, hanem korábban prediktált szerkezeteket is bevonnak az újabb betanítási körökbe, akkor attól tartok, hogy a helyzet tovább fog romlani.

Pécs, 2025. 03. 11.


Hetényi Csaba