

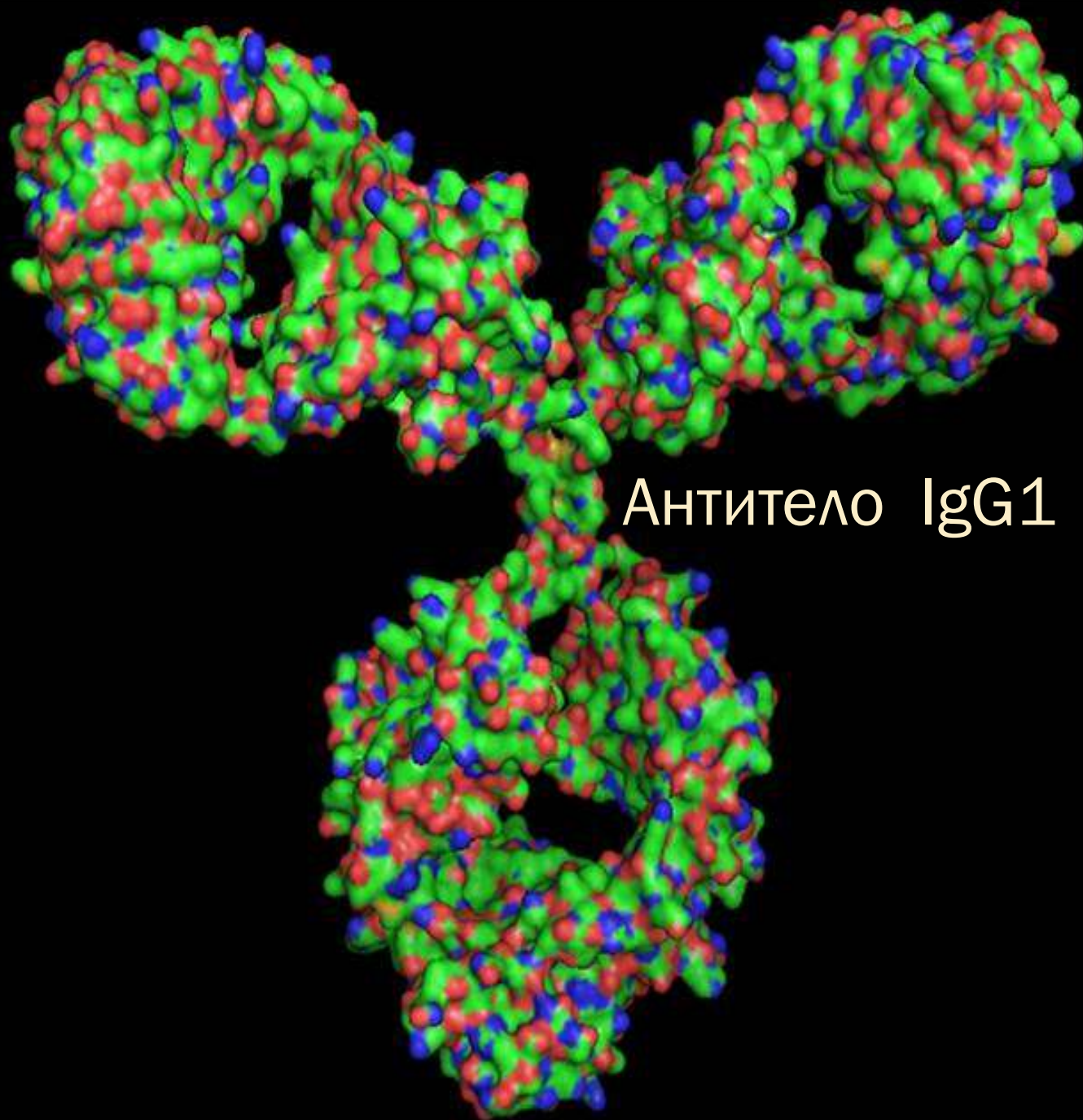
# **АВТОМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ АНТИТЕЛ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С ЛИГАНДОМ**

**УСМАНОВ РУСТАМ**

**НАУЧНЫЕ РУКОВОДИТЕЛИ : АРЖАНИК ВЛАДИМИР КОНСТАНТИНОВИЧ,  
КОЛЯСНИКОВ ОЛЕГ ВЛАДИМИРОВИЧ**

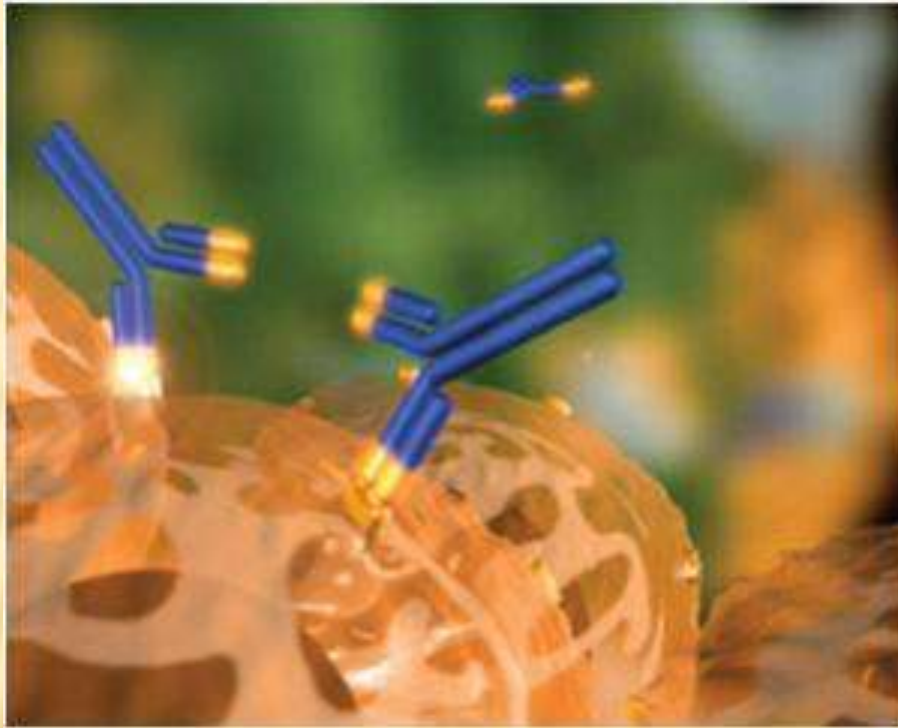
**Москва 2013**

**СУНЦ МГУ им А. Н. Колмогорова**



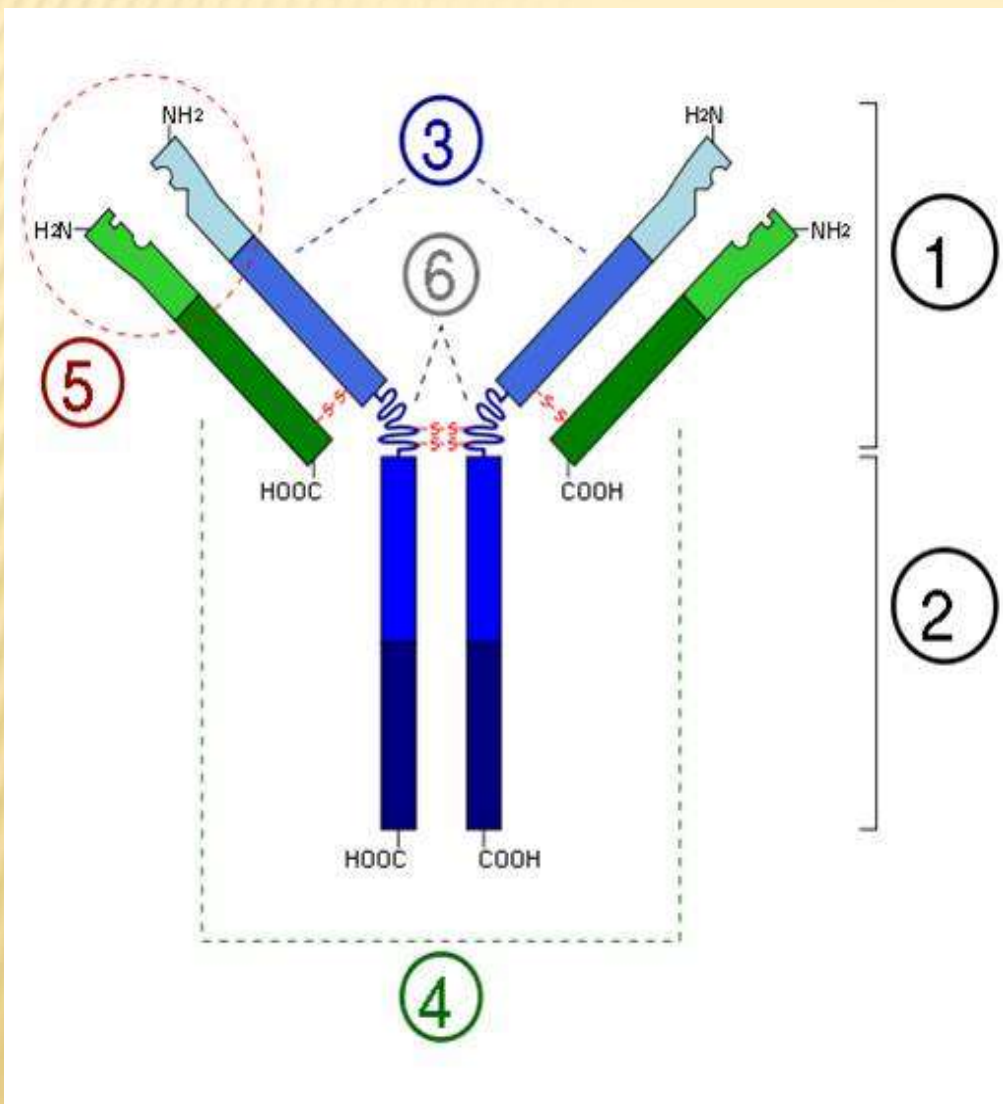
Антитело IgG1

# ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ

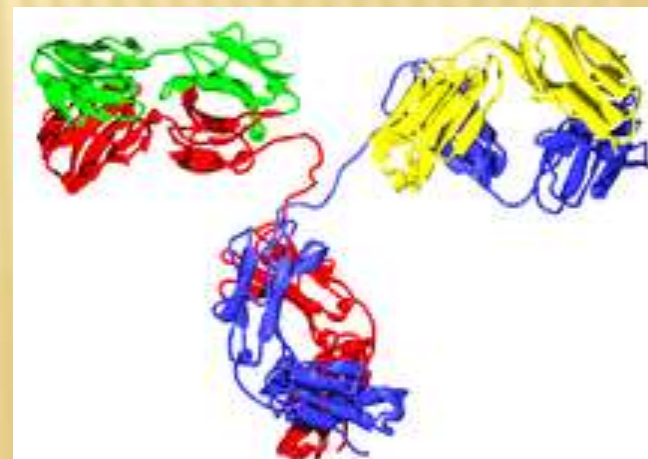


Действие терапевтических антител

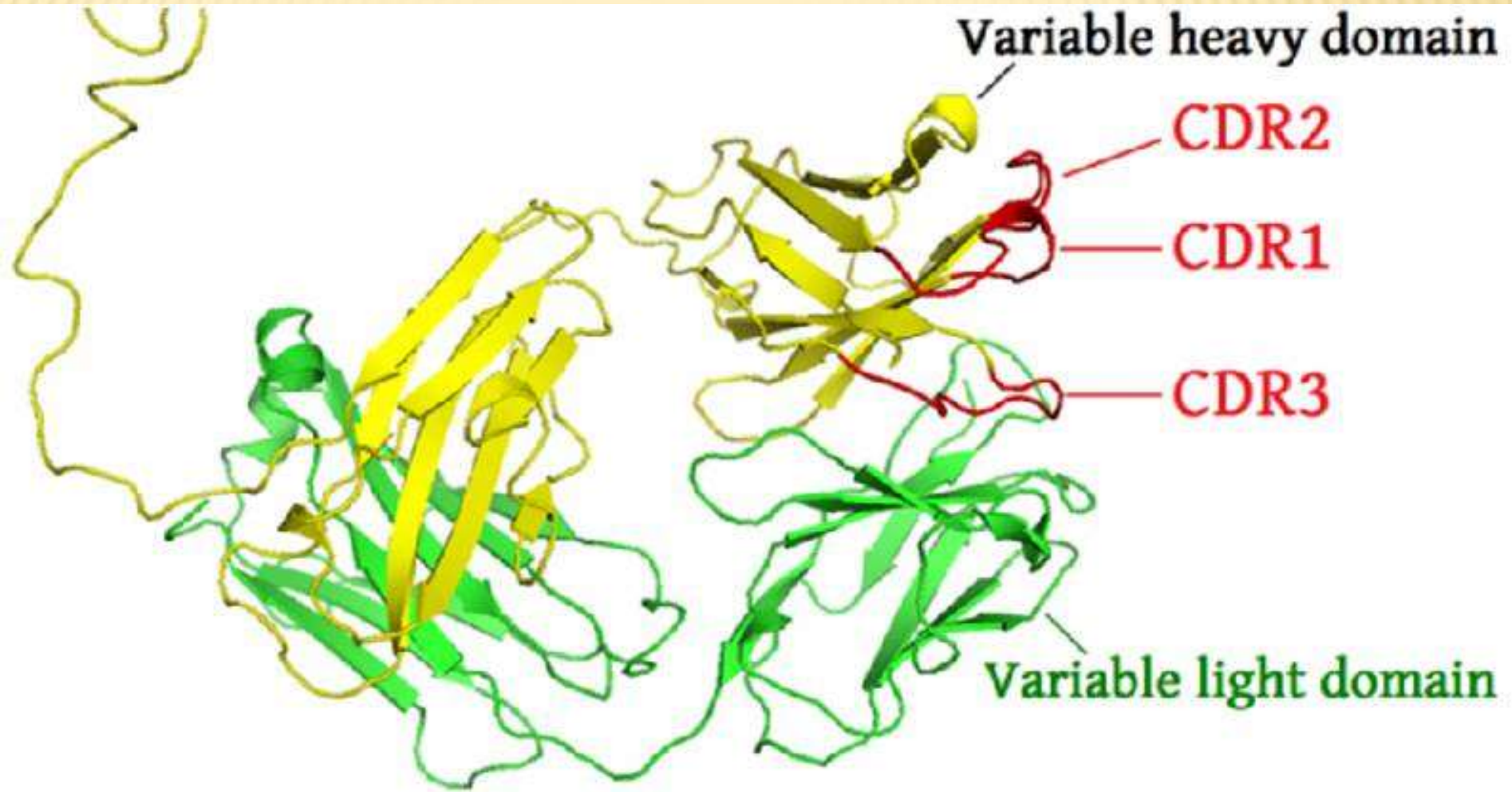
# СТРОЕНИЕ АНТИТЕЛ



- 1) Fab- фрагмент
- 2) Fc-фрагмент
- 3) Тяжелая цепь (состоит из VH, CH1, шарнирного участка, CH2 и CH3 доменов)
- 4) Легкая цепь (состоит из VL, CL доменов)
- 5) Fv-фрагмент
- 6) Шарнирный участок



# COMPLEMENTARY DETERMINING REGIONS (CDR)



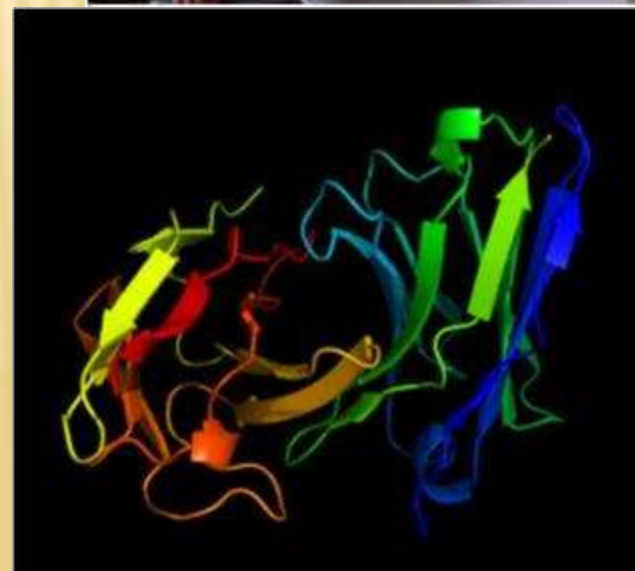
# МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ СТРУКТУРЫ АНТИТЕЛ

Рентгеновская кристаллография

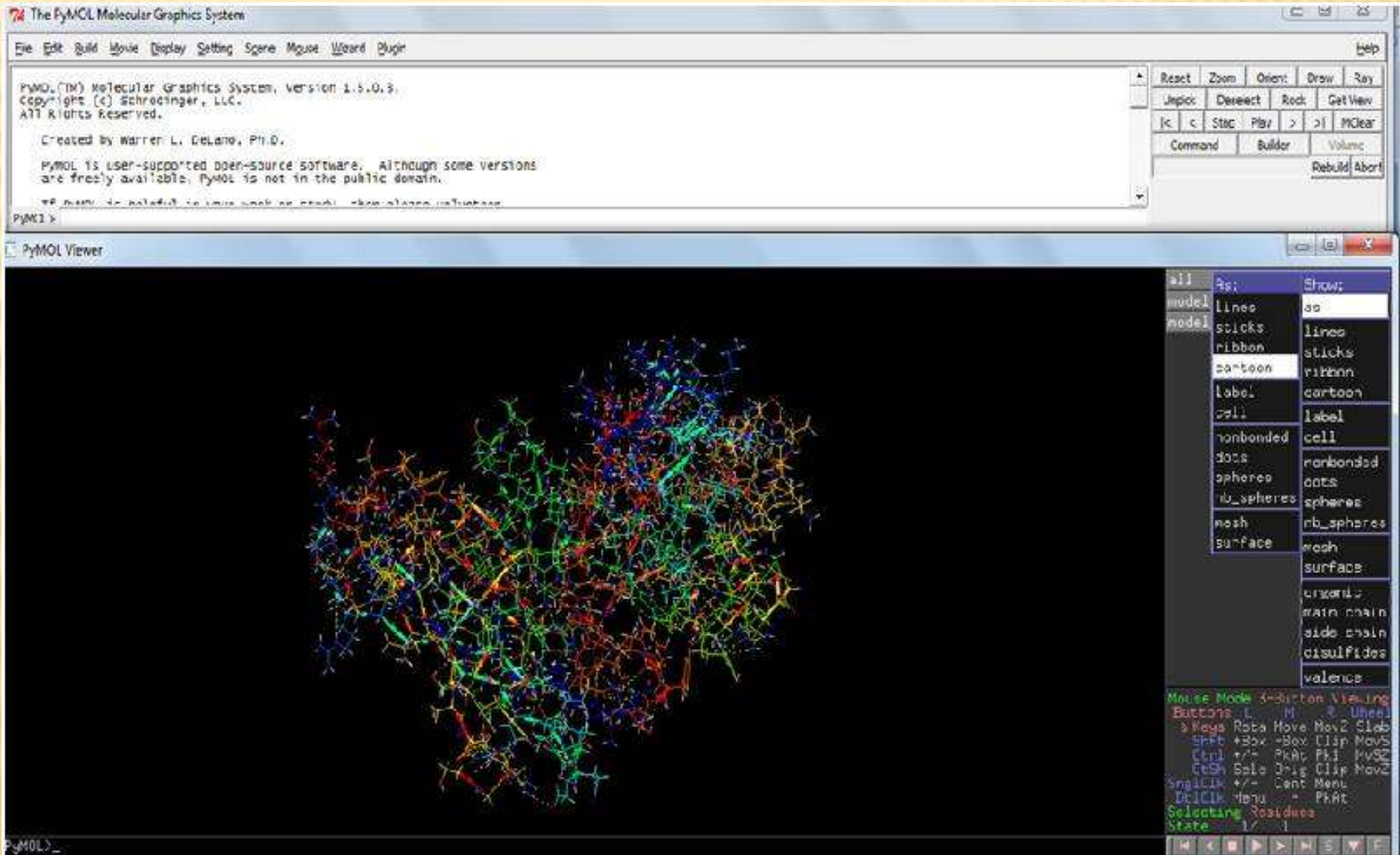
ЯМР



Компьютерное  
моделирование  
антител



# ВИЗУАЛИЗАТОР PYMOL



# МОДЕЛИРОВАНИЕ АНТИТЕЛ

<http://antibody.bath.ac.uk/>

<http://rosettadock.graylab.jhu.edu/>

Welcome to ROSIE  
Rosetta Online Server that Includes Everyone

Home News About Documentation Support Login Create an account

Recommend Share

Rosetta Protocols opened for academic users:

- [Rna\_redesign]
- [Symmetric\_docking]
- [Docking]
- [Rna\_denovo]
- [Eraser]
- [Beta\_peptide\_design]

ROSIE stats (24hrs):

Users:	1681	+3
Jobs:	5283	+22
CPU hours:	461,107	+3,421

See more about our latest stats.

Get Started with ROSIE

- [Quick documentation](#) - Janer, latest documentation and info.
- [Support Center](#) - This is a list of forums for Rosetta users to discuss problems with running Rosetta and is monitored by Rosetta developers.

Using ROSIE:

- [Rosetta Online User Rosetta User Guide](#)



Home

Background

Submit!

WAMpredict

Download

History

Links

References

Help

CPAD home

Web Antibody Modelling  
Home

## IMPORTANT WAM NEWS

The server has been brought back up, please let us know of any problems. Any queries please contact Tony Rees  
[anthony.rees@miptechnologies.com](mailto:anthony.rees@miptechnologies.com)

Welcome to the home page of WAM - Web Antibody Modelling, the Centre for Protein Analysis and Design at the University of Bath's



# ROISE

## Welcome to ROSIE

Rosetta Online Server that Includes Everyone

### Inputs

#### [Light Chain]

DIELTQSPSSLASLGERVSLTCRSSQDIGSSLHWFQES  
DGTIKRLIYATYNLD SGVPKRFSGSRSGSDYSLTISLES  
EDFVDYYCLQYASFPYTFGGGTKLEIKR

#### [Heavy Chain]

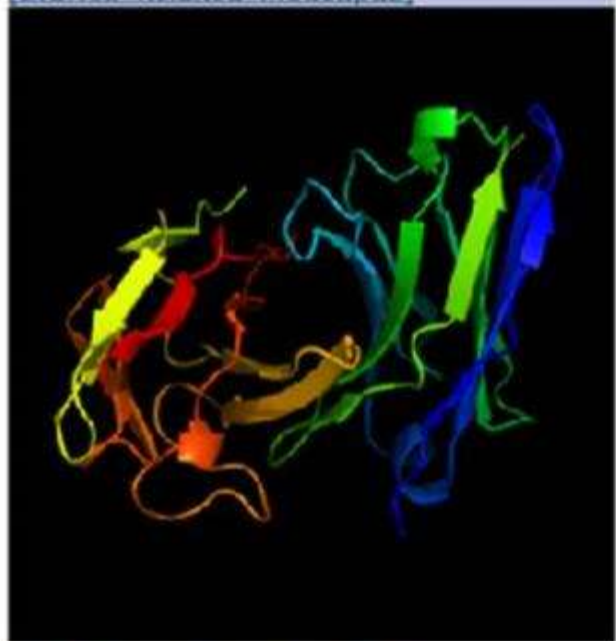
QVQLQQSGPELVKPGTSVKMSCKASGHTFTVYVISWVKQR  
TGQGLEWIGE IYPGRGSIYYNEKFRDKATLTVDKSSTTVY  
MQLSSELTSEDSAVYFCVITYGYAFAYWGQGTTVTVSS

### Status

Job ID	4444
Job Name	qwr
Visibility	<b>PUBLIC</b>
Protocol	antibody
CPU hours used	0.210000000021
user	Guest
Status	<b>Finished</b>
Description	ewg
Model H3 loop	False
Submitted time	2013-10-19 06:39
Start time	2013-10-19 07:21
End time	2013-10-19 07:35
Daemon	Graylab.Jazz

# Results:

[Grafted-Relaxed-Model.pdb]



FASTA sequence of F<sub>V</sub> Light Chain (V<sub>L</sub>) with CDR L1, CDR L2, CDR L3 regions:  
DIELTQSPSSLSASLGERVSLTC **RSSQDIGSSLH** WFQQESDGTIKRLIY ATYNLDS  
GVPKRFSGSRSGSDYSITISSI ESEDFVDYYC **LQYASEPYT** FGGGTKI FIKR

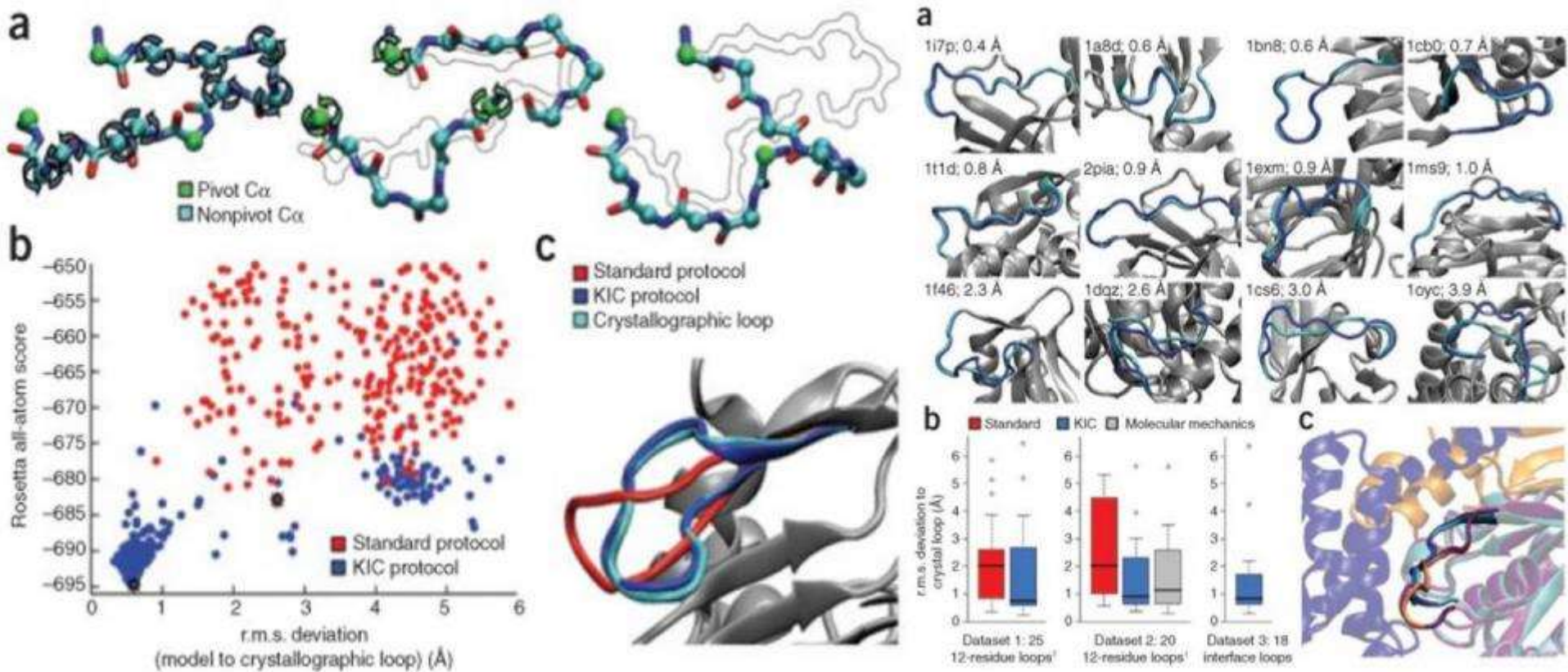
FASTA sequence of Heavy Chain (V<sub>H</sub>) with CDR H1, CDR H2, CDR H3 regions:  
QVQLQQSGPELVKPGTSVKMSCKAS **GHTFTVYVIS** WVKORTGOGLEWIG EIYPGRGSIYNEKFRD  
KATLTVDKSSTVYMQLSLTSSESAVYFCVT YGYAFAY WGQGTTVTVSS

## Antibody segment templates

summary L1 L2 L3 H1 H2 H3 FRL FRH light heavy light\_heavy

subject-id	resolution	%-identity	alignment-length	mismatches	gap-opens	q.start	q.end	s.start	s.end	evalue	bit-score
FRL.pdb	1.6	94.83	58	3	0	1	58	1	58	1e-36	113
FRH.pdb	2.7	88.89	63	7	0	1	63	1	63	6e-38	117
light.pdb	1.6	84.54	97	15	0	5	101	1	97	5e-55	164
heavy.pdb	2.8	80.95	105	17	1	5	109	1	102	7e-58	172
L1.pdb	2.0	63.64	11	4	0	1	11	1	11	0.026	18.5
L2.pdb	2.1	71.43	7	2	0	1	7	1	7	25	10.8
L3.pdb	2.7	77.78	9	2	0	1	9	1	9	0.021	18.5
H1.pdb	2.0	60.0	10	4	0	1	10	1	10	0.38	15.9
H2.pdb	2.1	70.59	17	5	0	1	17	1	17	2e-05	28.6
H3.pdb	2.3	71.43	7	2	0	1	7	1	7	2.2	10.4
light_heavy.pdb	1.6	74.04	209	51	2	5	210	1	207	7e-104	298

# KIC (KINEMATIC CLOSURE) – НОВЫЙ АЛГОРИТМ ROSIE



**KIC** предсказывает структуры антител на порядок точнее чем **классический алгоритм ROSIE**. (эталон - кристаллографическая структура)

# МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

## Identification of Monoclonal Antibodies against 2,4-D Herbicide by ELISA and DNA Sequencing

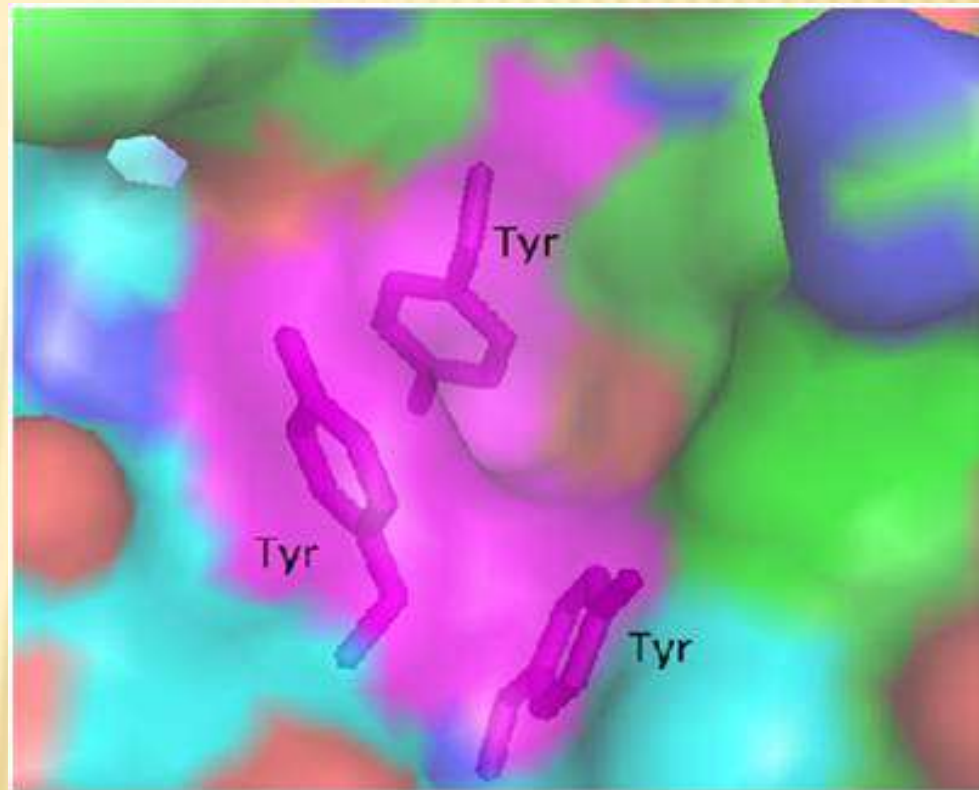
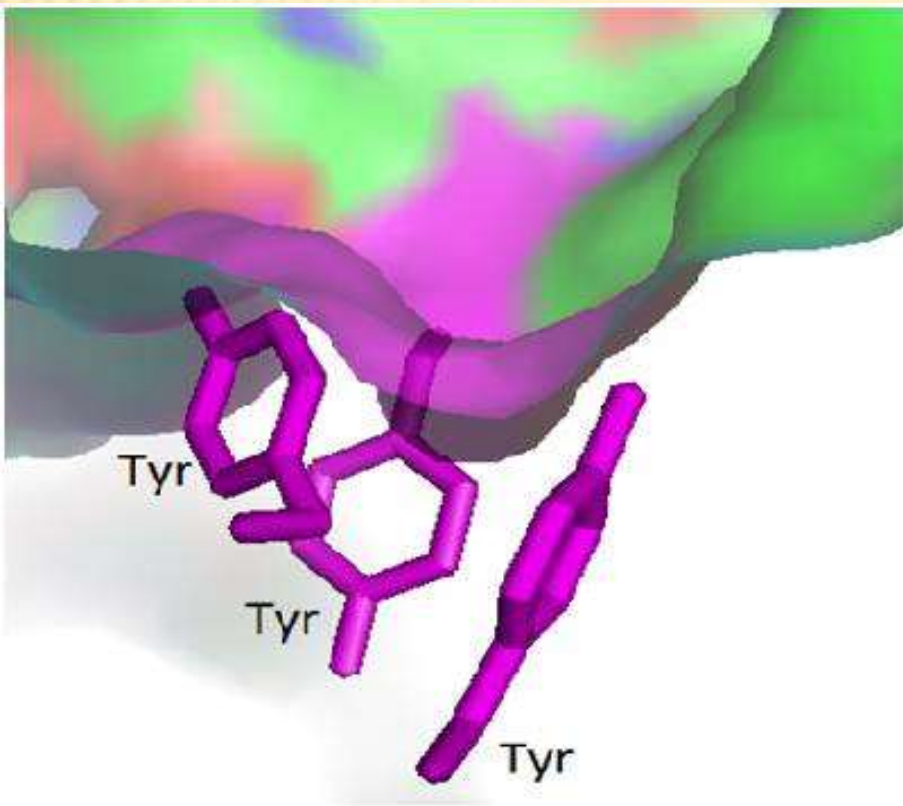
JIRI BRICHTA AND MILAN FRÁNEK\*

	CDR 1			CDR2			CDR3			
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
E2/G2	DIELTQSPSS	LSASLGERVS	LTCRSSODIGS	SLHWFPQESD	GTIKRLIY	<u>ATYN LDSGVPKRFS</u>	GSRSGSDYSL	TISSLESEDF	<u>VDYYCLOQYAS FPYTFGGG</u>	LEIK
E2/B5	DIELTQSPSS	LSASLGERVS	LTCRSSODIGS	SLHWFPQESD	GTIKRLIY	<u>ATYN LDSGVPKRFS</u>	GSRSGSDYSL	TISSLESEDF	<u>VDYYCLOQYAS FPYTFGGG</u>	LEIK
E4/C2	DIELTQSPSS	LSASLGERVS	LTCRASODIGN	SLHWLQQEPD	GTIKRLIY	<u>ATSG LDSGVPKRFS</u>	GSRSGSDYSL	TISSLESEDF	<u>VDYYCLOQYAS YPFTFGGG</u>	LEIK
B5/C3	DIELTQSPSS	LSASLGERVS	LTCRASODIGS	SLHWFPQEPD	GTIKRLIY	<u>ATSSL DSGVPKRFSG</u>	SRSGSDYSL	TISSLESEDF	<u>VDYYCLOQYAS FPYTFGGG</u>	LEIK
B7	DIELTQSPSS	LSASLGERVS	LTCRASODIGS	SLHWLQQGPD	GTIKRLIY	<u>ATYSL DSGVPKRFSG</u>	SRSGSEYSL	TISSLESEDF	<u>VDYYCLOQYAS LPYTFGGG</u>	LEIK

	CDR1			CDR2			CDR3					
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	
1	QVQLQQSGPE	LVEPGTSVKM	SCKASGHTFT	<u>YYVISWVKQR</u>	TGQGLEWIGE	<u>IYPGRGSIY</u>	NEKFRDKATL	TADISSNIAH	MQLSSLISDD	SAVYI	<u>CAAYN RYGAYWGQGIT</u>	VTVSS
	QVQLQQSGPE	LVEPGTSVKM	SCKASGHTFT	<u>YYVISWVKQR</u>	TGQGLEWIGE	<u>IYPGRGSIY</u>	NEKFRDKATL	TADISSNIAH	MQLSSLISDD	SAVYI	<u>CAAYN RYGAYWGQGIT</u>	VTVSS
	QVQLQQSGPE	LVEPGTSVKM	SCKASGHTLA	<u>YFILSWVKQR</u>	SGQGLEWIGE	<u>IYPCSGRVFY</u>	NENFRGKATL	TVDKSSSTTVY	MQLSSLTSED	SAVYF	<u>CVTYG YAFAYWGQGIT</u>	VTVSS
	QVQLQQSGPE	LVEPGTSVKM	SCKASGYRVT	<u>DELISWVKQR</u>	TGQGLEWIGE	<u>IYPCSGTIVY</u>	NENFRGKATL	TADKSSNTAY	MQLSSLTSED	SAVYF	<u>CASYG YAFAYWGQGIT</u>	VTVSS
	QVQLQQSGPE	RVKPGASVKM	SCKASGHTFT	<u>YYVISWVKQR</u>	TGQGLEWIGE	<u>IYPCSGSNEY</u>	NEKFRDKATL	TADKSSNTAY	MQLSSLTSED	SAVYF	<u>CVTYG YAFAYWGQGIT</u>	VTVSS

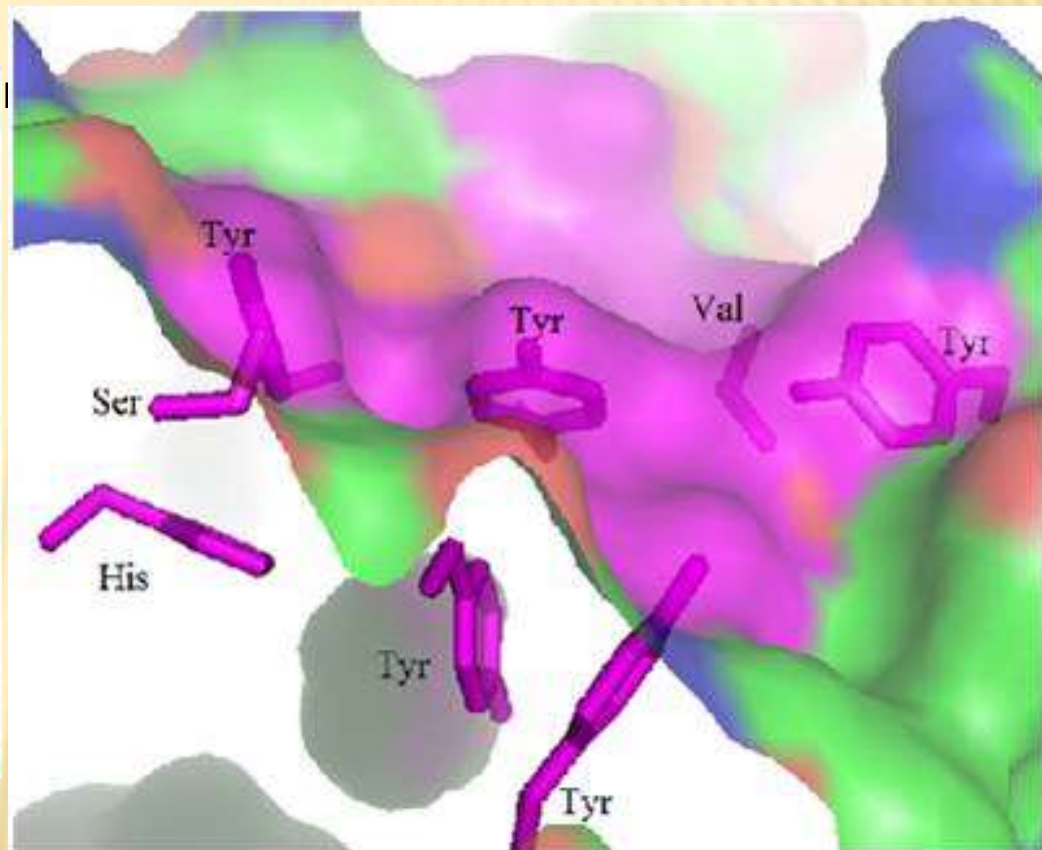
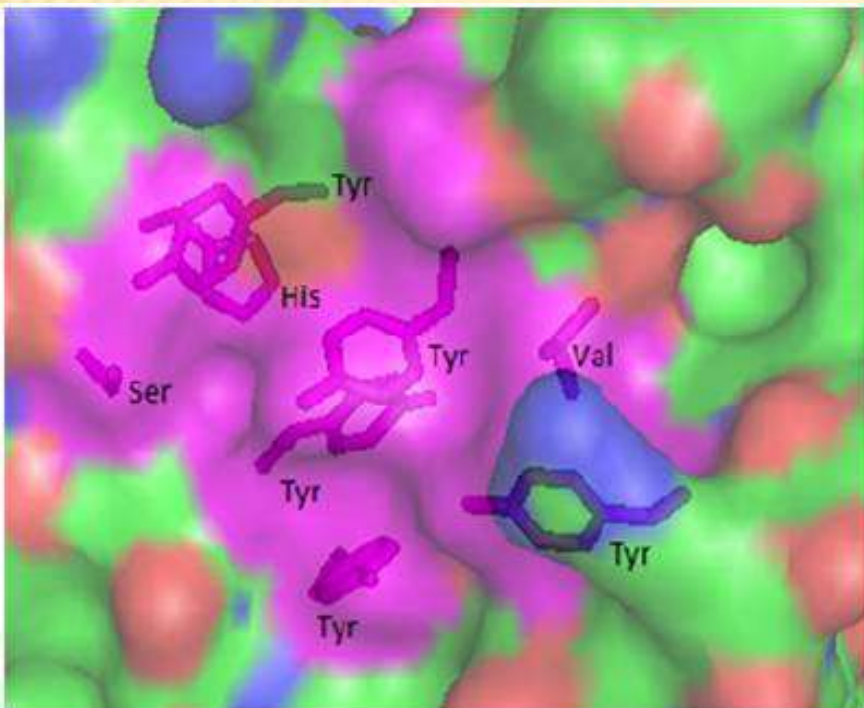
# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ

## Сайт связывания антитела E2/G2



Аминокислоты, формирующие сайт связывания	Местоположения в антителе
Tyr H 95	CDR-H3
Tyr L 91	CDR-L3
Tyr L 96	CDR-L3

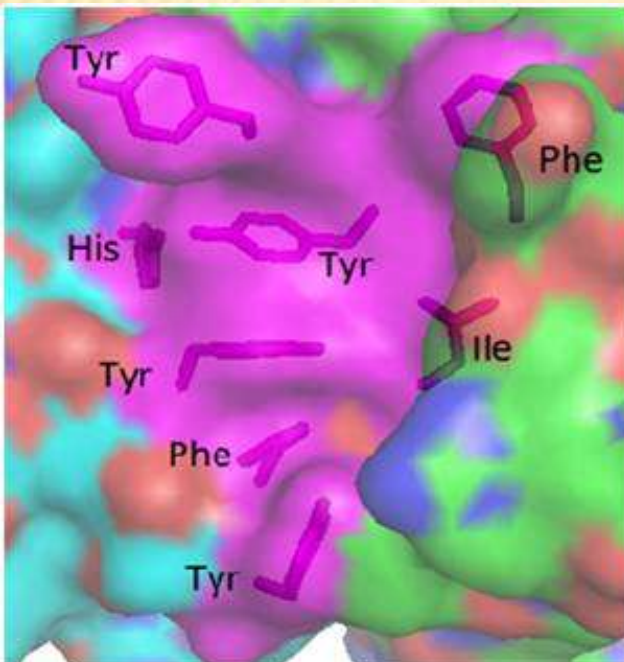
# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ



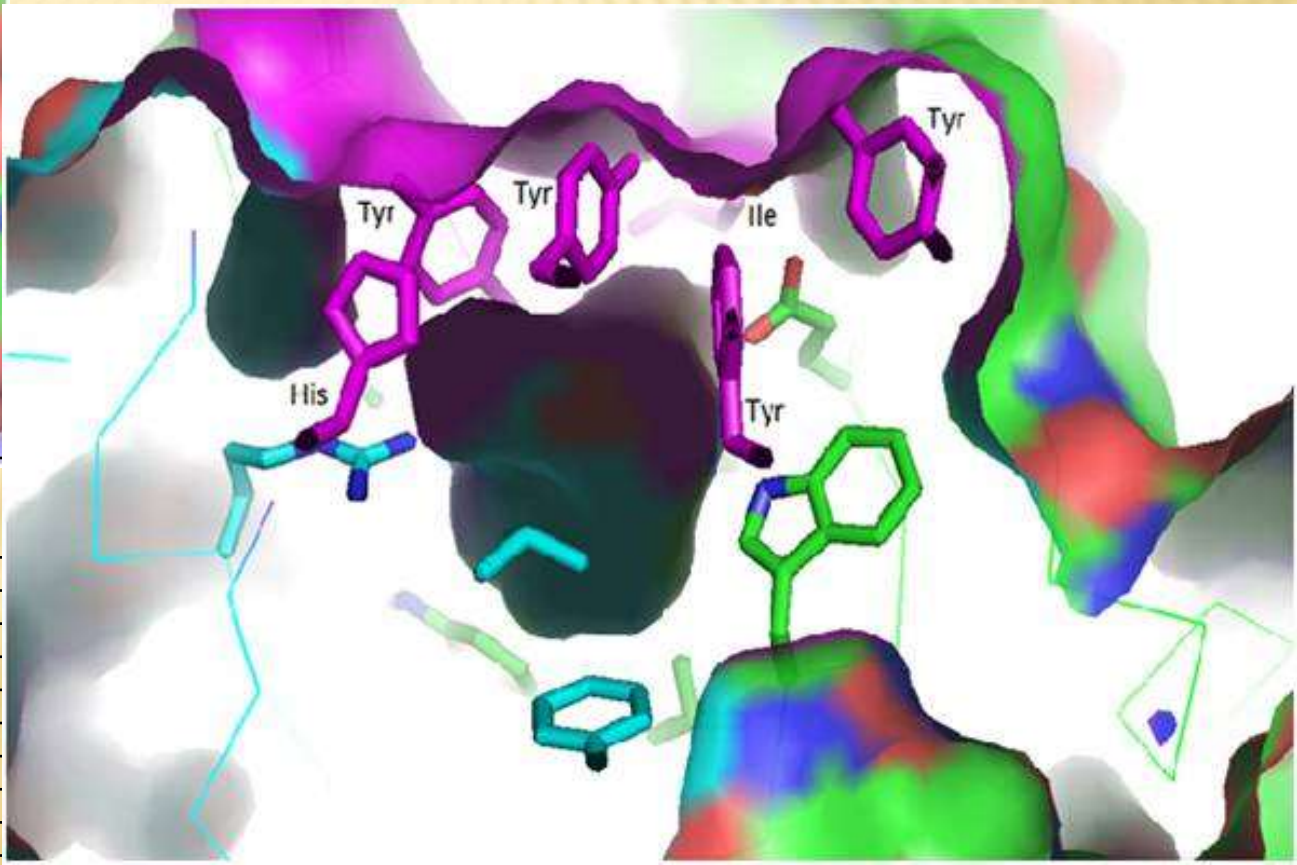
Аминокислоты, формирующие сайт связывания	Местоположения в антителе
Val H 33	CDR-H1
Tyr H 52	CDR-H2
Tyr H 95	CDR-H3
Tyr H 98	CDR-H3
Ser L 32	CDR-L1
His L 33	CDR-L1
Tyr L 91	CDR-L3
Tyr L 96	CDR-L3

# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ

## Сайт связывания антитела E4/C2

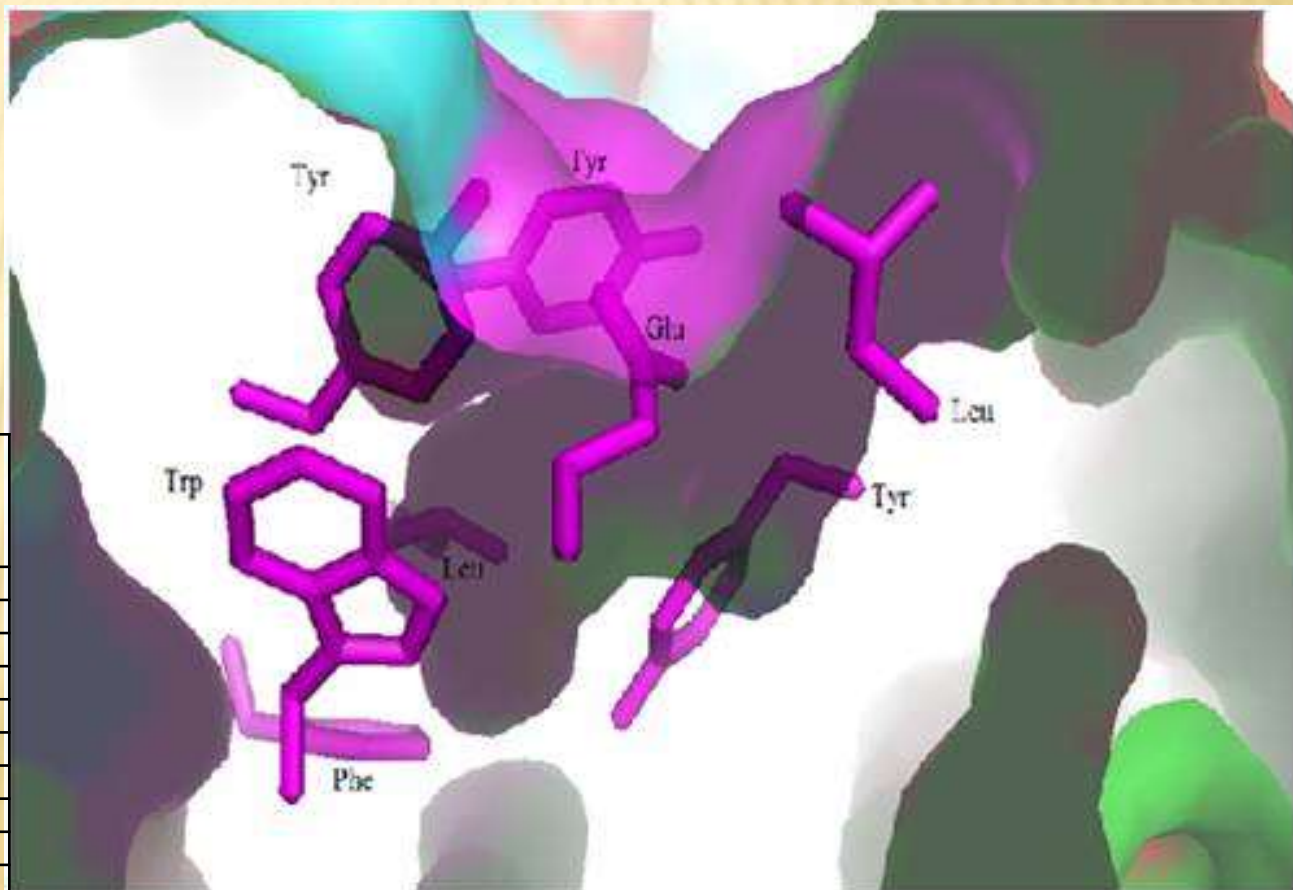


Аминокислоты, формирующие сайт связывания	Местоположения в антителе
Phe H 32	CDR-H1
Ile H 33	CDR-H1
Tyr H 95	CDR-H3
Glr H 96	CDR-H3
Tyr H 97	CDR-H3
Ser L 32	CDR-L1
His L 43	Каркасные участки Fv
Tyr L 91	CDR-L3
Tyr L 94	CDR-L3



# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ

## Сайт связывания антитела B5/C3



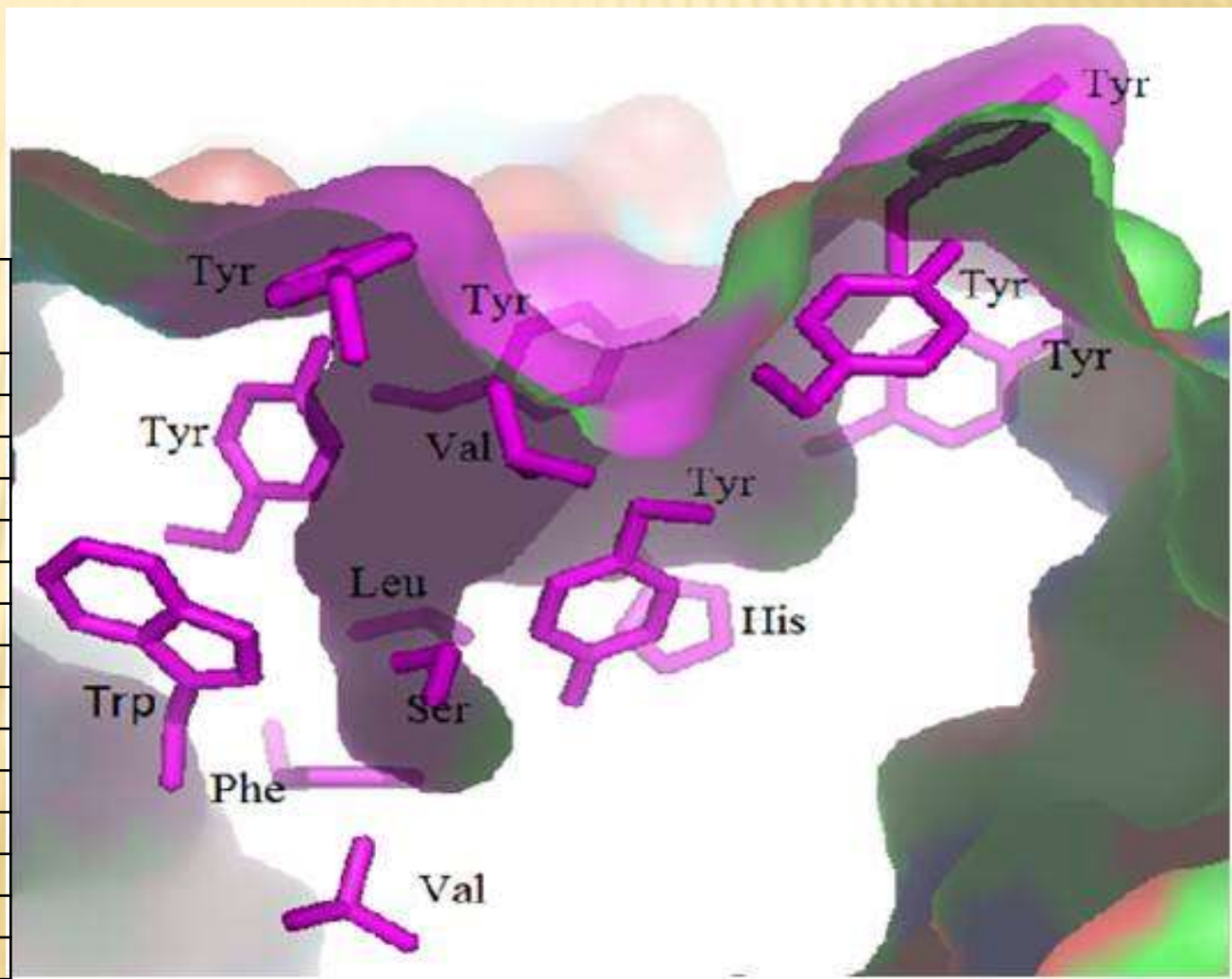
Аминокислоты, формирующие сайт связывания	Местоположения в антителе
Phe H 32	CDR-H1
Ile H 33	CDR-H1
Tyr H 95	CDR-H3
Glu H 96	CDR-H3
Tyr H 97	CDR-H3
Ser L 32	CDR-L1
His L 43	Каркасные участки Fv
Tyr L 91	CDR-L3
Tyr L 94	CDR-L3
Phe L 96	CDR-L3



# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ САЙТА СВЯЗЫВАНИЯ

## Сайт связывания антитела В7

Аминокислоты, формирующие сайт связывания	Местоположения в антителе
Tyr H 32	CDR-H1
Val H 33	CDR-H1
Ser H 35	CDR-H1
Val H 37	CDR-H1
Trp H 47	Каркасные участки вар. домена
Glu H 50	CDR-H2
Tyr H 52	CDR-H3
Tyr H 95	CDR-H3
Tyr H 97	CDR-H3
His L 34	CDR-L1
Tyr L 49	CDR-L2
Leu L 89	CDR-L3
Tyr L 91	CDR-L3
Tyr L 96	CDR-L3
Phe L 98	CDR-L3

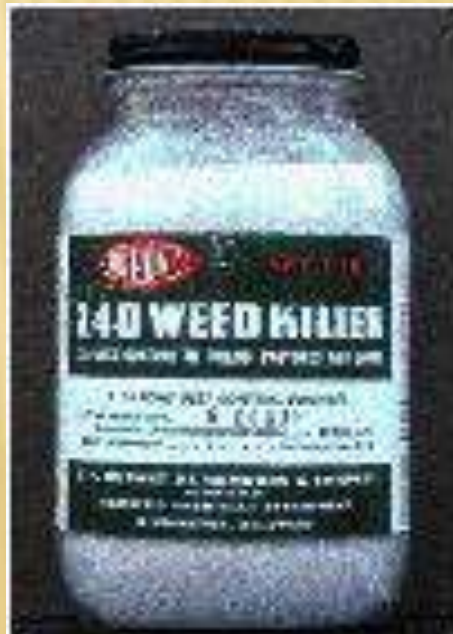
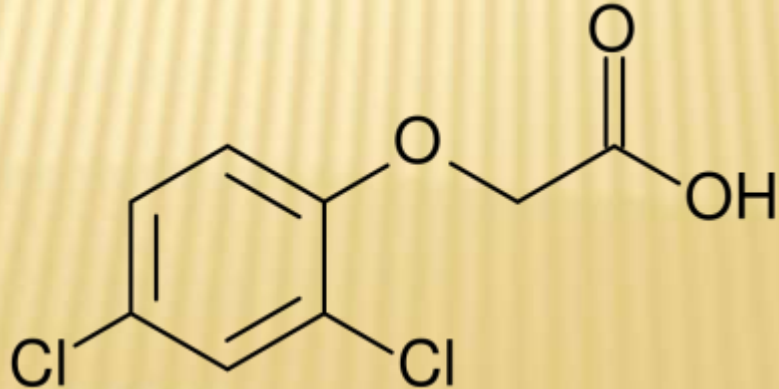
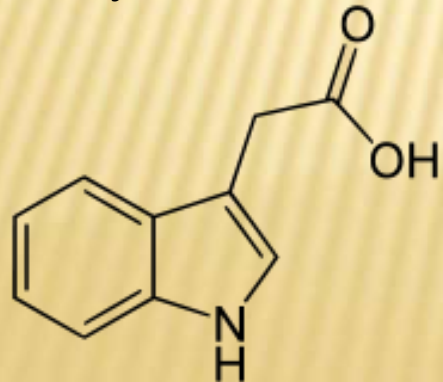


# МАТЕРИАЛ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ КОМПЛЕКСА АНТИГЕН-АНТИТЕЛО

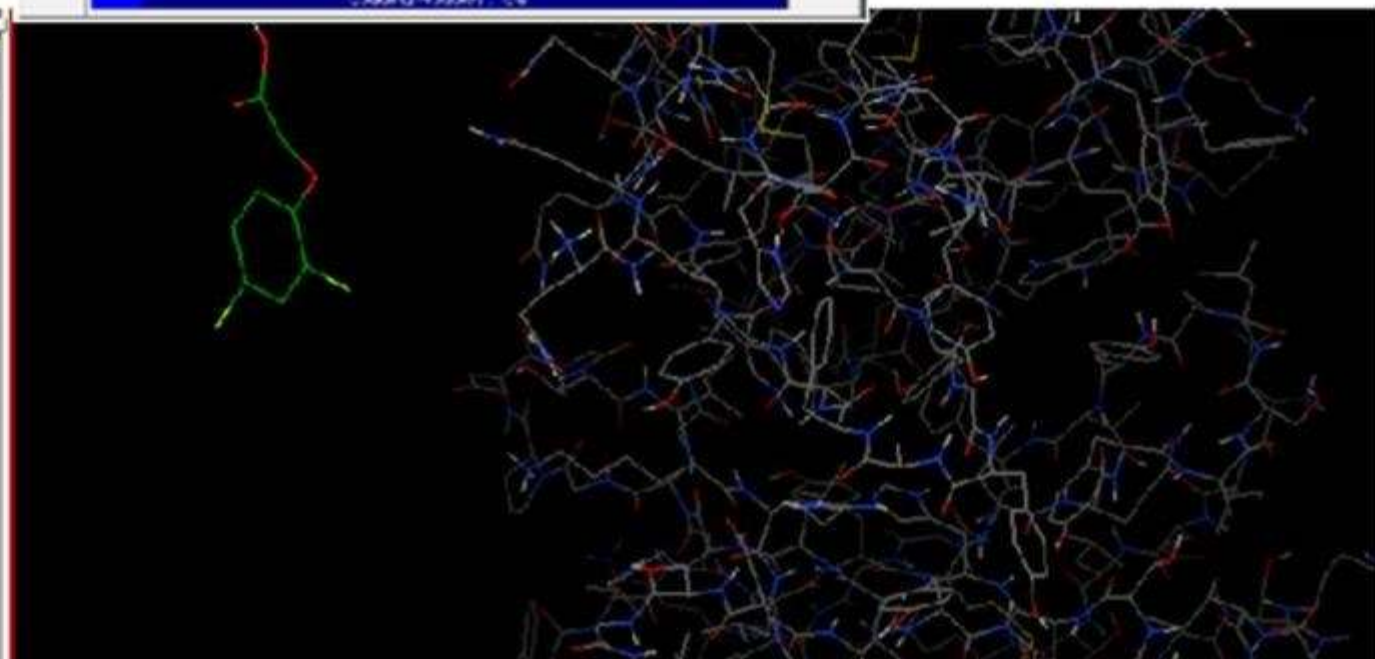
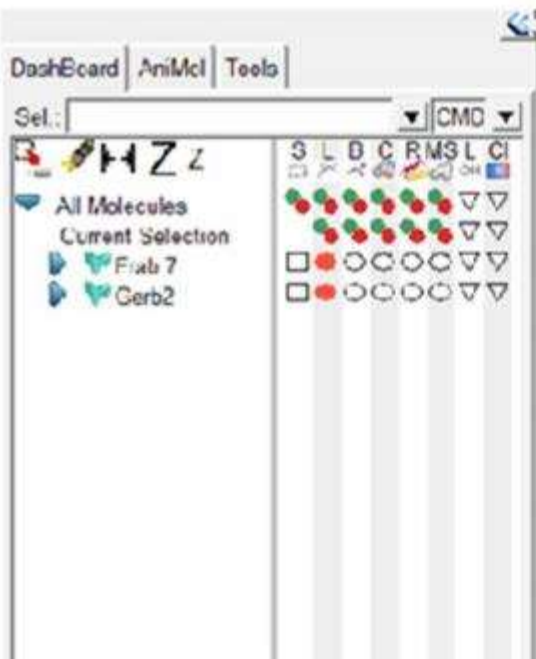


2,4D-Herbicide

Ауксин

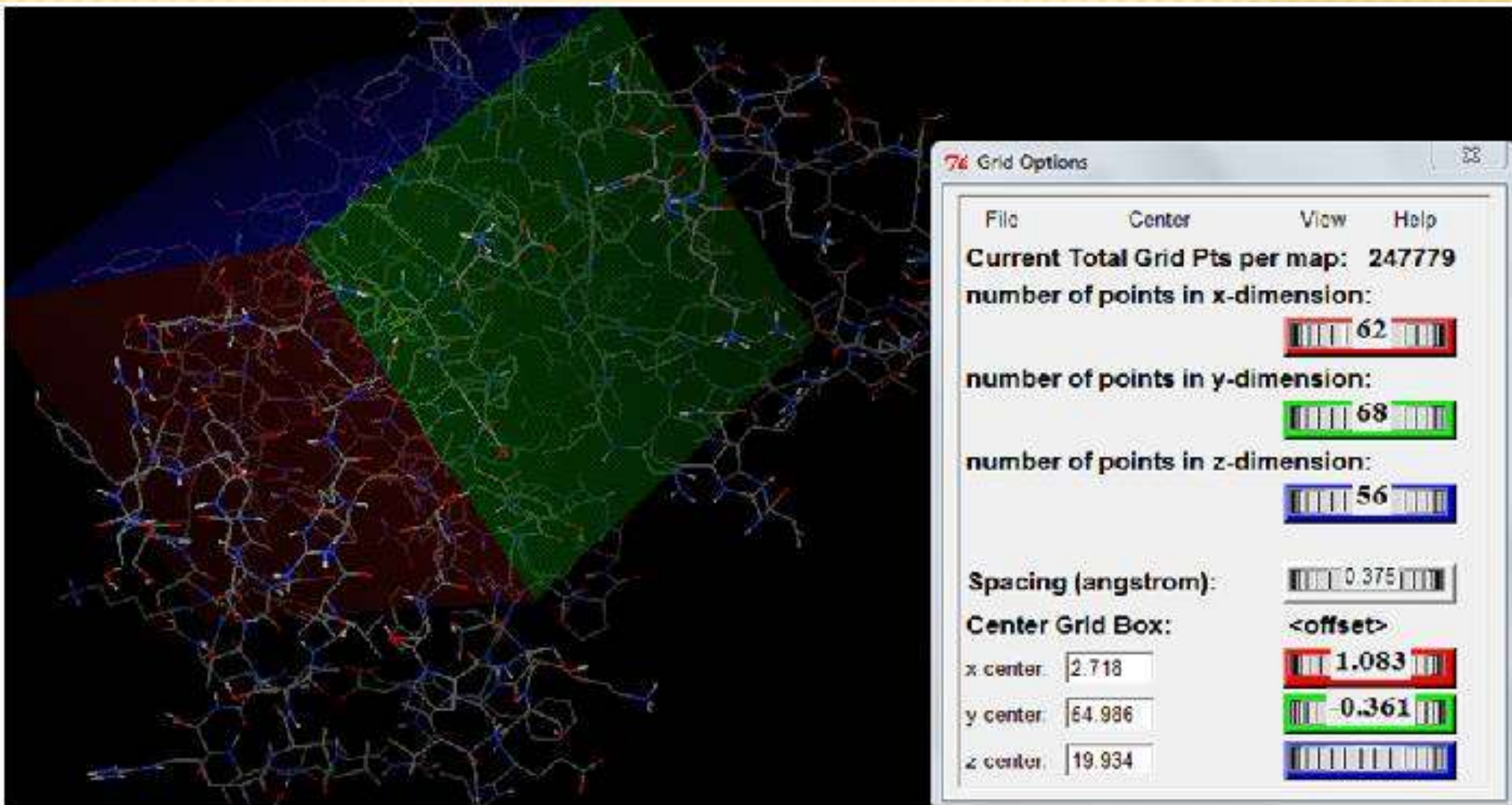


# МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ



# МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ

Счетная сетка для определения суммарной энергии в каждой из множества элементарных ячеек



# МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ АНТИТЕЛА В5/С3 С ГЕРБИЦИДОМ 2,4-D

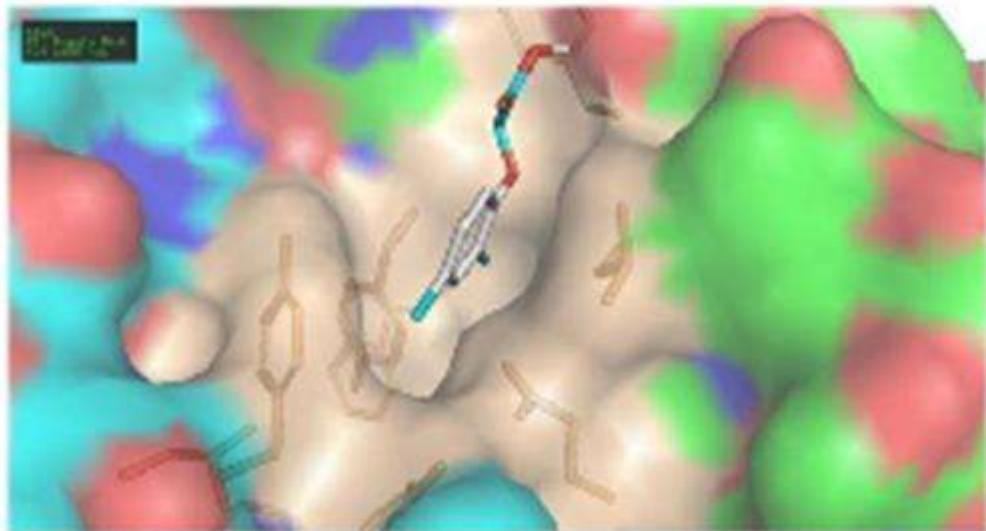
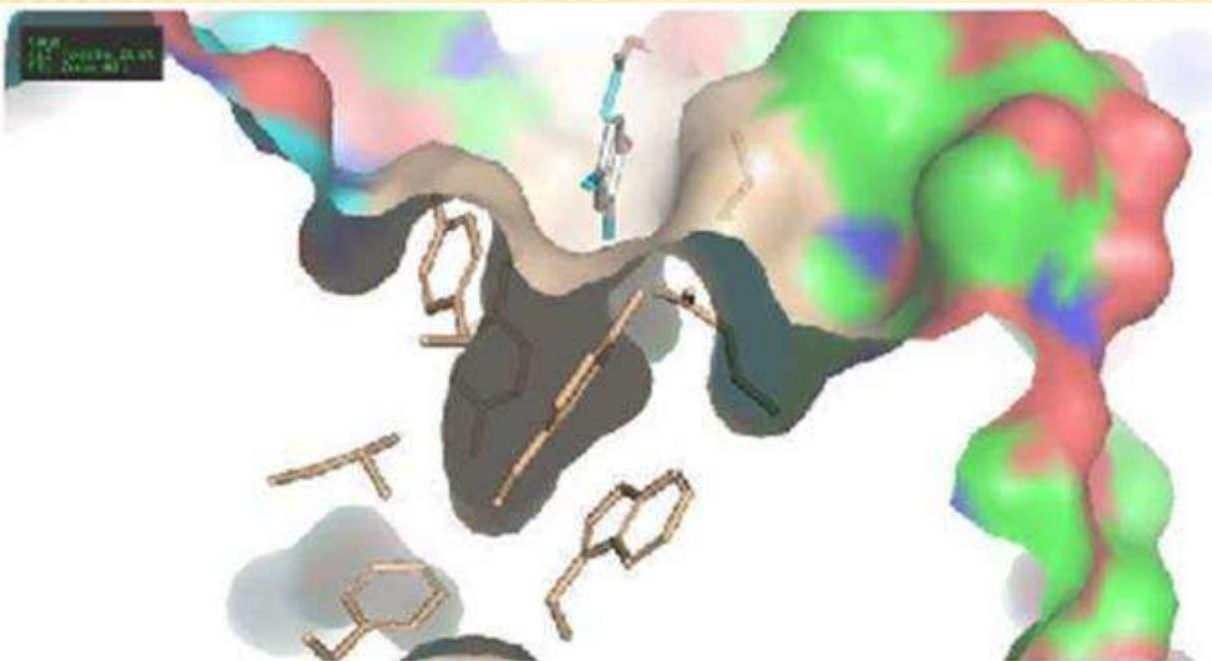
CLUSTERING HISTOGRAM

Cluster	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num in Cluster	Histogram
1	-4.32	15	-4.08	5	#####
2	-3.95	7	-3.95	1	#
3	-3.81	13	-3.81	1	#
4	-3.69	8	-3.68	10	#####

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	15	-4.32	0.00	61.10	RANKING
1	2	11	-4.24	0.17	61.14	RANKING
1	3	1	-3.99	1.91	61.22	RANKING
1	4	3	-3.98	1.90	61.21	RANKING
1	5	5	-3.88	0.84	60.93	RANKING
2	1	7	-3.95	0.00	60.00	RANKING
3	1	13	-3.81	0.00	60.19	RANKING
4	1	8	-3.69	0.00	60.21	RANKING
4	2	16	-3.69	0.04	60.18	RANKING
4	3	9	-3.69	0.03	60.22	RANKING
4	4	4	-3.69	0.10	60.18	RANKING
4	5	17	-3.68	0.04	60.21	RANKING
4	6	2	-3.68	0.08	60.19	RANKING
4	7	6	-3.68	0.05	60.23	RANKING
4	8	10	-3.68	0.09	60.19	RANKING
4	9	12	-3.68	0.05	60.22	RANKING
4	10	14	-3.68	0.10	60.21	RANKING



# МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ АНТИТЕЛА В5/С3 С ГЕРБИЦИДОМ 2,4-D



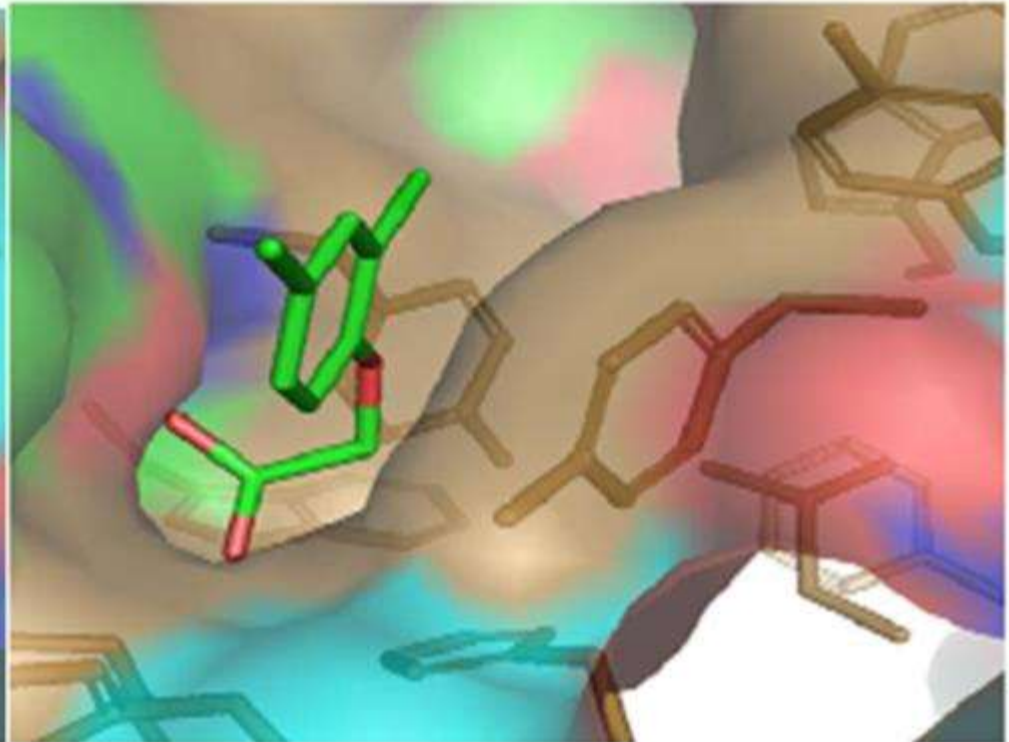
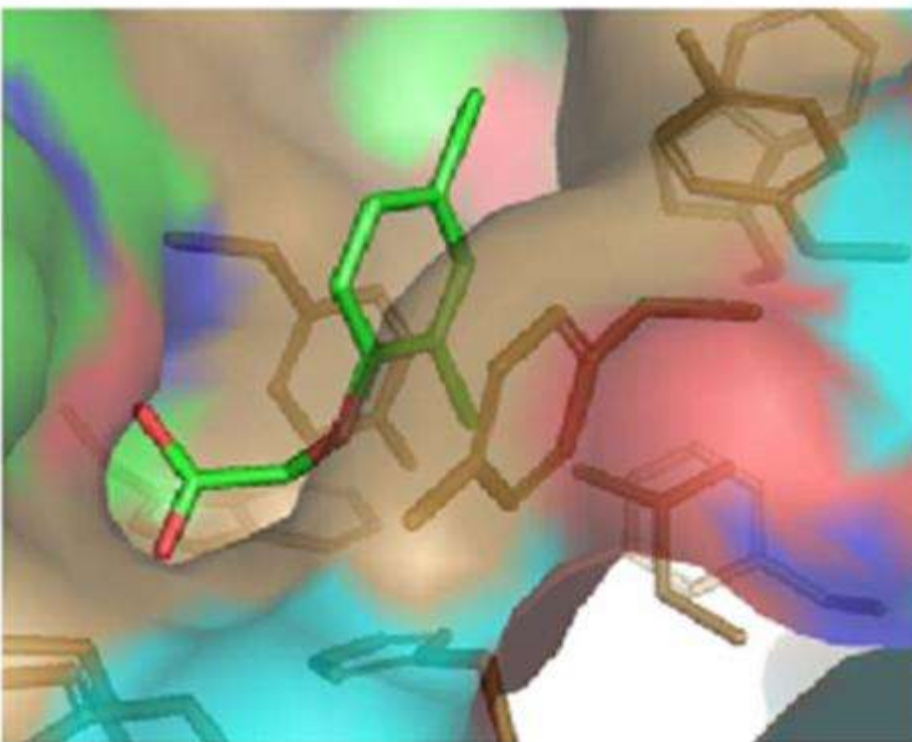
# МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ АНТИТЕЛА В7 С ГЕРБИЦИДОМ 2,4-D

CLUSTERING HISTOGRAM

Clus	Lowest	Run	Mean	Num	Histogram
-ter	Binding		Binding	in	
Rank	Energy		Energy	Clus	5 10 15 20 25 30 35
					:   :   :   :   :   :   :
1	-5.92	17	-5.60	11	*****
2	-5.44	11	-5.24	6	*****

Кластерная представительная структура № 1

Кластерная представительная структура № 2



# ВЫВОДЫ

---

- Смоделировано 5 структур антител
- Описаны сайты связывания для каждой из структур
- Проведено автоматическое моделирование комплекса с лигандом для двух структур



# ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

## Литература

•Brichta J., Fránek M. *Identification of monoclonal antibodies against 2, 4-D herbicide by ELISA and DNA sequencing*  
//*Journal of agricultural and food chemistry*. – 2003. – Т. 51. – №. 21. – С. 6091-6097

•<http://en.wikipedia.org/wiki/Antibody>

•[http://autodock.scripps.edu/faqs-help/tutorial/using-autodock-4-with-autodocktools/2012\\_ADTtut.pdf](http://autodock.scripps.edu/faqs-help/tutorial/using-autodock-4-with-autodocktools/2012_ADTtut.pdf)

•<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.22309/abstract>

•<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0063906>

# ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

- × The PyMOL Molecular Graphics System
- × AutoDockTools (NBCR, The Scripps Research Institute)
- × Brichta J., Fránek M. Identification of monoclonal antibodies against 2, 4-D herbicide by ELISA and DNA sequencing //Journal of agricultural and food chemistry. – 2003. – Т. 51. – №. 21. – С. 6091-6097
- × Google images
- × <http://en.wikipedia.org/wiki/Antibody>
- × <http://rosettadock.graylab.jhu.edu/>
- × <http://en.wikipedia.org/wiki/Antibody>
- × [http://autodock.scripps.edu/faqs-help/tutorial/using-autodock-4-with-autodocktools/2012\\_ADQtut.pdf](http://autodock.scripps.edu/faqs-help/tutorial/using-autodock-4-with-autodocktools/2012_ADQtut.pdf)
- × <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.22309/abstract>
- × <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0063906>

# БЛАГОДАРНОСТИ

---

- ✘ Научным руководителям: Аржанику Владимиру Константиновичу, Колясникову Олегу Владимировичу
- ✘ Программе “Научные лаборатории для школьников, STEM-центры” (<http://stemcentre.ru/>) за поддержку в ходе выполнения проекта.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

