

**Hiszton-fehérje komplexek szerkezetének számítása**  
a PhD értekezés kivonata

**Bayartsetseg Bayarsaikhan**



**Témavezető**

**Dr. Habil. Hetényi Csaba**  
tszv. egyetemi docens

**Gyógyszertudományok Doktori Iskola**

A doktori iskola vezetője

**Prof. Dr. Pintér Erika**  
int. vez. egyetemi tanár

**Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet**

**Általános Orvostudományi Kar**

**Pécsi Tudományegyetem**

**2024**

## Közlemények listája

### Az értekezés alapjául szolgáló tudományos folyóiratcikkek

#### PAPER I

Zsidó BZ\*, **Bayarsaikhan B\***, Börzsei R, Hetényi C. Construction of Histone–Protein Complex Structures by Peptide Growing. International Journal of Molecular Sciences. 2023 Jan;24(18):13831. [IF: 4.9; Q1]

\*Equal contribution.

#### PAPER II

**Bayarsaikhan B**, Zsidó BZ, Börzsei R, Hetényi C. Efficient Refinement of Complex Structures of Flexible Histone Peptides Using Post-Docking Molecular Dynamics Protocols. International Journal of Molecular Sciences. 2024 Jan;25(11):5945. [IF: 4.9; Q1]

### Egyéb tudományos folyóiratcikkek

1. Zsidó BZ, **Bayarsaikhan B**, Börzsei R, Szél V, Mohos V, Hetényi C. The Advances and Limitations of the Determination and Applications of Water Structure in Molecular Engineering. International Journal of Molecular Sciences. 2023 Jan;24(14):11784. [IF: 4.9; Q1]
2. Börzsei R, **Bayarsaikhan B**, Zsidó BZ, Lontay B, Hetényi C. The Structural Effects of Phosphorylation of Protein Arginine Methyltransferase 5 on Its Binding to Histone H4. International Journal of Molecular Sciences. 2022 Sep 26;23(19):11316. [IF: 5.6; Q1]
3. Fliszár-Nyúl E, Faisal Z, Skaper R, Lemli B, **Bayartsetseg B**, Hetényi C, et al. Interaction of the Emerging Mycotoxins Beauvericin, Cyclopiazonic Acid, and Sterigmatocystin with Human Serum Albumin. Biomolecules. 2022 Aug;12(8):1106. [IF: 5.5; Q1]

**A dolgozat alapjául szolgáló folyóiratcikkek összesített impakt faktora: 9.8**

**Kumulatív impakt faktor: 25.8**

## **Bevezetés**

### **1. A hisztonok jelentősége**

Mivel az epigenetika alapvető szerepet játszik a kromatinhoz kapcsolódó kórélettani mechanizmusokban különböző betegségek esetén, az epigenetikai szabályozás megértése az egyik legnagyobb kihívás ebben az évszázadban. Az epigenetikai mechanizmusok közül a hiszton fehérjék posztranszlációs módosításai nagymértékben meghatározzák a sejt epigenetikai állapotát, és alapvető terápiás, valamint diagnosztikai jelentőséggel bírnak (1,2). Ezért a hiszton-olvasó (író) fehérje komplexek atomi felbontású szerkezetének meghatározása kulcsfontosságú az epigenetika megismerése és új gyógyszerek tervezése szempontjából. Ugyanakkor az ilyen nukleosomális komplexek szerkezetének meghatározása még a nagy áteresztőképességű krisztallográfias technikák számára is komoly kihívást jelent, tekintettel a nagyméretű komplexekre és a lehetséges szerkezeti variációk nagy számára (3). E kihívás megválaszolására gyors, kiegészítő elméleti módszerek értékes alternatívát nyújthatnak a kísérleti technikák számára. Ezek a módszerek segíthetnek áthidalni a kísérleti technikák korlátait, betekintést nyújtva és előrejelzéseket készítve olyan szerkezetekhez, amelyeket a kísérleti módszerek önmagukban nem lennének képesek rövid időn belül előállítani.

### **2. A peptiddokkolás és kihívásai**

A molekuláris dokkoló eszközök előrejelzik a ligandumok (gyógyszerjelölt molekulák) célmolekulákhoz történő kötődésének módját (pozíció, orientáció és konformáció), és pontozzák, valamint rangsorolják azokat (4). A jelentős fejlődés ellenére a jelenlegi molekuláris dokkolási módszerek továbbra is számos kihívással és korlátozással szembesülnek (4,5), különösen nagy méretű, rendkívül rugalmas peptid ligandumok esetében.

A peptid ligandumok dokkolásának legfőbb korlátja azok nagy mérete és magas konformációs rugalmassága, ami növeli a lehetséges kötési módok számát és a keresési teret, ezáltal magasabb számítási költségeket és több hamis pozitív eredményt eredményezve (6). A hiszton H3 peptidek esetében az N-terminális végükön található horgonyzó aminosavak jelentősen hozzájárulnak a gyakran gyenge interakciókhoz az olvasó fehérjék sekély kötő zsebével, ami tovább nehezíti a pontos kötődési módok előrejelzését. Különböző stratégiákat dolgoztak ki ezen korlátok leküzdésére.

A fragmens alapú dokkolás az elmúlt években jelentős figyelmet kapott a gyógyszerkutatásban, és több ígéretes jelölt klinikai teszteléséhez vezetett (7). A hagyományos dokkolási módszerekkel szemben, amelyek az egész ligandum szerkezetét kezelik, a fragmens-alapú dokkolás először kisebb, alacsony molekulatömegű fragmensekre bontja a ligandumot. Ezeket a fragmenseket dokkolják a kötőhelyhez, majd kovalensen összekapcsolják vagy lépésről lépésre helyezik el, így növelve a teljes kötött ligandum szerkezetét. Azáltal, hogy kisebb fragmensekre összpontosítanak, hatékonyabban lehet feltérképezni a ligand-fehérje interakciók konformációs terét, ami pontosabb kötődési mód- és affinitás-előrejelzéseket eredményezhet (7,8).

A korábbi vizsgálatok sikerei ellenére a jelenlegi fragmens alapú dokkolási módszerek több korlátot is mutatnak. Mivel a fragmensdokkolás sikere nagymértékben függ a fragmensek kovalens összekapcsolásától (7), az elsődleges kihívás abban rejlik, hogyan lehet optimális térbeli illesztéssel összekapcsolni a fragmenseket, figyelembe véve azok formai megfelelését és a két dokkolt fragmentum közötti hézagot.

### 3. MD-alapú finomítási módszerek és korlátaik

A gyors dokkolási módszerek használhatnak dokkolás utáni finomítási lépéseket a rangsorolás előtt, így kezelve a terület kihívásait, különösen a szerkezeti rugalmasság figyelembe vételére és a kötőfelület energetikájának javításához a pontosabb pontozás érdekében (9). A finomítási eljárások az egyszerű energiainimalizálástól (amely eltávolítja a durvább térbeli ütközéseket) egészen az olyan fejlett módszerekig terjedhetnek, amelyek lehetővé teszik a kötőhely rugalmasságának kezelését a ligandum kötődése során, mint például a molekuláris dinamika (MD) vagy a Monte-Carlo szimulációk.

Az MD szimulációkat igen elterjedten alkalmazzák ilyen finomításokban, mivel képesek figyelembe venni mind a ligandum, mind a fehérje rugalmasságát, lehetővé téve a kötőhely szerkezeti adaptációját a ligandumhoz. Ezáltal erősíthetik a dokkolás során kialakult kölcsönhatásokat és újakat is létrehozhatnak (10). Továbbá az MD szimulációk különböző oldószermodellek segítségével integrálhatják a szerkezeti vízmolekulák hatásait a kötőhelyen belül. Az előnyök ellenére az MD-alapú finomítási protokollok számos kihívással szembesülnek, különösen nagy peptid ligandumok, például a H3 hiszton peptidok esetében. Az említett peptid-ligandumok rendszerint kiterjedt, víz közvetítette hidrogénkötés-hálózatokat alkotnak célfehérjéikkel, amelyek nélkülözhetetlenek a pontos kötődési módok előrejelzéséhez. Például Rastelli és munkatársai beszámoltak arról, hogy a víz közvetítette kötődési kölcsönhatások MD-alapú finomítási módszerekbe történő integrálása jelentősen javította az adenin A2A receptor esetében a dúsítási faktort a tervezés során (11). Ennek ellenére csak néhány finomítási módszer integrálja jelenleg a kristályos vagy prediktált vízmolekulákat a pontosabb kölcsönhatási számítások érdekében.

### Célkitűzések

A dolgozat elsődleges célja egy innovatív peptiddokkolási protokoll kidolgozása, amely képes hiszton-olvasó fehérje komplexek atom felbontású szerkezeteinek előállítására anélkül, hogy előzetes ismeretekre lenne szükség a kötőhelyekről. Emellett cél az MD-alapú finomítási stratégiák szisztematikus vizsgálata, összehasonlítása és a leginkább használható protokoll meghatározása, a prediktált ligandum kötődési módok pontosságának javítása céljából. A konkrét célok:

- I. A hiszton H3 peptid fragmentumok dokkolása és *in situ* megnövesztése az olvasó fehérjék kötő zsebében, majd az eredményül kapott komplex modellek pontozása és rangsorolása a kidolgozott, PepGrow nevű peptiddokkolási protokollal. A PepGrow teljesítményének értékelése tíz hiszton H3 peptid-olvasó fehérje komplex készleten és összehasonlítása tíz másik gyors dokkolási módszer teljesítményével.
- II. Az MD-szimuláció paramétereinek szisztematikus vizsgálata a PepGrow által generált kezdeti dokkolási megoldások szerkezeti pontosságának javítására. A finomítási feltételek meghatározása, amelyek elősegítik a peptid kötődési módok pontosabb előrejelzését.

## I. A PepGrow fejlesztése és értékelése (Paper I)

### Módszerek

*Fragmensek kiválasztása és dokkolása.* A PepGrow fejlesztése a magfragmens gondos kiválasztásával kezdődik. A hiszton H3 peptid és az olvasó fehérje komplexek esetében az AutoDock4, egy népszerű gyors dokkolási eszköz, a rövid (di-)peptid magfragmensek dokkolását nagy pontossággal valósította meg (12). Egy rendszer (1xwh) H3 peptidjéből minden lehetséges dipeptidet generáltunk, így kilenc különálló fragmenst kaptunk, amelyeket az AutoDock 4.2.6 segítségével dokkoltunk. Az első helyen rangsorolt kötődési módokat tovább vittük a fragmensnövesztési lépéshez.

*Fragmens növesztése.* A dokkolt fragmensek közvetlen összekapcsolása helyett a PepGrow a Modeller építő rutinját használja a fragmensek tovább növesztésére (13). Alaposan kiértékeljük a kötődésből adódó korlátokat, energiaszámolási jellemzőket és különböző magfragmens hosszak szerepét. A végleges PepGrow protokollhoz az alapértelmezett építési beállításokkal történt meg 100 modell gyors legenerálása.

*Pontozás.* A peptidok kötődési módjainak nagy halmazát az intermolekuláris kölcsönhatási energia ( $E_{\text{inter}}$ ) és annak különálló komponensei (Lennard-Jones és Coulomb tagok) alapján pontoztuk és rangsoroltuk. Megfigyeltük, hogy a legjobb kötődési mód a legjobb 1%-ban található meg. Így az eltérő energiaértékek alapján rangsorolt legjobb 1% képviselőjét választottuk az „1. helyezett”-nek. A különböző kötődési energiák által adott 1. helyezett kötődési mód RMSD-értékeinek összehasonlítása során az  $E_{\text{inter}}$  alapú képviselő kiválasztási módszer mutatta a legjobb teljesítményt.

*Végleges protokoll.* A kilenc dipeptid közül a hiszton H3 ligandum esetében az AR fragmens hozta a legjobb eredményeket, és ezért magfragmensnek választottuk a dokkoláshoz. Az AR fragmens legjobb rangsorolt kötődési módját használtuk fel 100 modell gyors előállításához alapértelmezett építési beállításokkal. A modelleket  $E_{\text{inter}}$  szerint rangsoroltuk, és a legjobb 1%-ban rangsorolt peptidok átlagos koordinátáihoz legközelebb eső kötődési módot választottuk végleges megoldásként.

*Értékelés.* Tíz hiszton H3 peptid-olvasó fehérje komplexből álló készletet használtunk a PepGrow értékelésére. Teljesítményét tíz másik gyors dokkolási módszerrel vetettük össze egy, az objektivitás érdekében szabványosított protokoll segítségével. Minden dokkolási számításnál energiaminimalizált peptidszerkezetet és az apo (nem kötött) célfehérje szerkezeteket használtunk. A dokkolási módszereknek a célfehérje konformációváltozásaival szembeni érzékenységének értékeléséhez minden dokkolási számítást megismételtünk a holo (kötött) formájú olvasó célfehérje szerkezetekkel is.

*Értékelési kritériumok.* A dokkolási módszerek szerkezeti pontosságát a peptid prediktált és kísérleti (referencia) kötődési módjai közötti, a koordináták eltérése négyzetátlagának gyökével kifejezett mennyiség (RMSD) segítségével fejeztük ki. Az RMSD-érték 2 Å alatti értéke kiváló kötődési módot jelent (14). A hiszton H3 ligandum esetében ezt a magrégio első öt aminosavára külön is kiszámoltuk. Az összes dokkolt kötődési mód közül a legkisebb RMSD-értéket  $\text{RMSD}_{\text{best}}$ -nek nevezzük.

## Eredmények

Az összes dokkolási módszer által elért legjobb eredmények összehasonlítása azt mutatta, hogy a PepGrow felülmúlta a többi referencia (benchmark) módszert. A PepGrow átlagosan 5.36 ( $\pm 1.47$ ) Å  $\text{RMSD}_{\text{best}}$  értéket ért el a teljes hosszúságú hiszton H3 peptid esetében, és kiváló, 4.09 ( $\pm 1.18$ ) Å  $\text{RMSD}_{\text{best}}$  eredményt az első öt aminosavra vonatkozóan. Az  $\text{RMSD}_{\text{best}}$  elfogadható szintje  $4.0 \pm 3.0$  Å, a benchmark-módszerekről szóló publikációkból gyűjtött adatok alapján, amelyekben az RMSD-t kizárólag a peptid gerincére számították. Ezzel szemben ebben a vizsgálatban az oldallánc-atomokat is belefoglaltuk az RMSD-számításokba. Ezért a PepGrow teljesítménye jónak vagy az átlagnál jobbnak tekinthető a benchmark-módszerek RMSD-értékeihez viszonyítva. Továbbá, a PepGrow teljesítménye mind az apo (nem kötött), mind a holo (kötött) célfehérje szerkezetek esetében jó volt, ami a módszer robusztusságát bizonyítja.

A dokkolási módszerek szerkezeti pontossága fontos szempont, azonban a dokkolt kötődési módok pontos rangsorolási képessége ugyanolyan lényeges. Bár a PepGrow jó szerkezeti pontosságot ért el, a legjobb eredmény végső megoldásként történő rangsorolása továbbra is kihívást jelent minden módszer számára. A legjobb kötődési módok konzisztensen jobb konformációs pontosságot mutattak, mint a legjobban rangsorolt módok az összes dokkolási módszer esetében, ami kiemeli a rangsorolási módszer további fejlesztése iránti igényt. A PepGrow-ban alkalmazott  $E_{\text{inter}}$ -alapú reprezentatív kiválasztás életképes alternatívának bizonyult, de – a többi módszerhez hasonlóan - továbbra is finomításra szorul.

## II. MD-alapú finomítási protokollok fejlesztése és értékelése (Paper II)

### Módszerek

A korábbi kutatások és a PepGrow előbbiekben vázolt eredményei azt mutatják, hogy peptid-ligandumok esetében a gyors dokkolási módszerek mérsékelt szerkezeti pontosságot mutatnak, amely dokkolás követő finomítási lépésekkel javítható. Ebben a tanulmányban hat MD-alapú finomítási protokollt vizsgáltunk meg a PepGrow által előállított dokkolási megoldások szerkezeti pontosságának javítására.

Mivel a gyógyszerfejlesztési eljárásokban általában a legelőre rangsorolt dokkolási megoldásokat választják végső megoldásként, a PepGrow legelőre rangsorolt dokkolási megoldásait használtuk kiindulási pontként ezen protokollok teszteléséhez az apo célstruktúrák felhasználásával. A finomítási protokollok két fő lépésből állnak: (i) pre-MD hidratáció: **Az interfész vízmentes hidratációs szerkezetének felépítése, majd a prediktált hidratációs szerkezet ötlépéses finomítása**, (ii) konsekutív MD szimulációk. Az MD futtatások előkészítése során a célfehérje-peptid interfészek hidratációs szerkezeteit a MobyWat identitás-alapú predikációs algoritmusával (15,16) állítottuk elő. Az hidratált szerkezet egy ötlépéses, a HydroDock protokollból (17) adaptált robusztus finomításon esett át, amelynek fő célja az előre jelzett vízmolekulák hidrogénatom-orientációjának optimalizálása volt, elősegítve a vízhálózat kialakulását. A szimulációk során a paramétereket szisztematikusan változtattuk, beleértve az összetételt, a hőmérsékletet, a trajektória hosszúságot, a pozíciós mozgási korlátozásokat és a peptid ligandum hosszát.

### Eredmények

Az MD-alapú finomítási protokollok teljesítményét az alapján értékeltük, hogy mennyire közelítik meg a ligandum kötődési módjai az experimentális (referencia) kötődési módokat a PepGrow által előállított kezdeti konformációkból kiindulva. Az összes protokoll javította a PepGrow által generált kezdeti konformációkat, és a P4 protokoll mutatta a legjobb eredményeket. A P4 32%-os (4,6 Å) medián javulást ért el a kezdeti dokkolt szerkezetek RMSD-jében a kísérleti referenciákhoz viszonyítva képest, és szinte minden esetben meghaladta az 1 Å-os javulást. A maximális javulás elérte a 84%-ot. A P4 robusztus teljesítményt mutatott apo struktúrák esetében, és felülmúlta a holo struktúrákkal elért eredményeket, ami a módszer változó célfehérje konformációk kezelésére való alkalmasságát bizonyítja.

Az MD paraméterek elemzése azt mutatta, hogy a szimulációs idő meghosszabbítása vagy a szimulált hőmérséklet növelése bizonyos határokon túl nem javította jelentősen a finomítási pontosságot. Megállapítottuk, hogy a kötődési hely rugalmas korlátozásai (ahogy a P4 és P6 protokollokban alkalmazzuk) javították a célfehérje szerkezeti adaptációját a peptid kötődési módokhoz anélkül, hogy destabilizálták volna a komplexet. Továbbá, az H3 peptid nem kölcsönható C-terminális régióinak kizárása elősegítette az erősebb peptid-célfehérje interakciókat és stabilabb komplexeket eredményezett.

A horgonyzó aminosavak (például az R2 az H3 peptidben) pontos kezdeti pozícionálása is kritikusan bizonyult, mivel ez fenntartotta az erős cél-ligandum interakciókat az MD során. Ezenkívül a pre-MD hidratációs lépés kulcsszerepet játszott a kötődési interfészek pontos

hidratációs szerkezeteinek kialakításában, lehetővé téve az optimális célfehérje-peptid interakciókat a finomítás során.

## Összefoglalás

Ez a dolgozat a hiszton H3 peptidek különböző olvasófehérjékkel alkotott komplex szerkezeteinek pontos előrejelzésével kapcsolatos nehézségeket és azok megoldásait tárgyalja számítógépes megközelítésekkel. A hiszton peptidek jelentős kihívást jelentenek a gyors dokkolási módszerek számára, mivel a nukleoszóma szerkezetéből kilógó N-terminális részük lineáris szerkezete nagyfokú konformációs rugalmasságot mutat (18). A hisztonokhoz hasonló, kiterjedten hidratált peptidek jól ismert problémás esetek a gyors dokkolási módszerek számára, mivel azokból rendszerint hiányoznak az explicit vízmodellek (18). E korlátok leküzdése érdekében fejlesztettük ki a PepGrow eljárást, amely egy fragmens-alapú dokkolási protokoll, és amely az AutoDock 4.2 és a Modeller gyors modellépítési képességeit kombinálja. A PepGrow teljesítményét tíz hiszton H3 peptid-olvasó komplexen értékeltük, és összehasonlítottuk tíz másik, fehérje-peptid dokkolásra alkalmas benchmark módszerrel. Az eredmények azt mutatják, hogy a PepGrow felülmúlja ezeket a benchmarkokat, különösen két fő előnyének köszönhetően: (i) a kezdeti dokkolási lépésben egy dipeptid mag használata, valamint (ii) a fennmaradó peptid fragmensek növesztése a Modeller robusztus építési rutinjával.

A jó szerkezeti eredmények mellett a legjobb megoldások végső eredményként való rangsorolása továbbra is kihívást jelent minden vizsgált módszer esetében. A legjobb kötődési mód konformációs pontossága jelentősen meghaladta a legjobban rangsorolt kötődési mód RMSD értékét az összes dokkolásnál, ami gyenge rangsorolási pontosságra utalt. Az eredmények azt is megmutatták, hogy az  $E_{inter}$ -alapú reprezentatív kiválasztás, amelyet a PepGrow-ba implementáltunk, életképes alternatívát jelent a rangsorolás során.

A vizsgálatban elemzett hiszton komplexek tehát különösen nehéz tesztelésnek bizonyultak minden dokkolási módszer számára, amelyek mérsékelt vagy gyenge pontosságot értek el a szerkezeti helyesség szempontjából. A pontosság tovább csökken, amikor a legjobban rangsorolt megoldásokat vesszük figyelembe. Ilyen esetekben a dokkolás utáni finomító módszerek alkalmazhatók a megjósolt célfehérje-ligandum komplex szerkezetek pontosságának javítása érdekében. Ezt vizsgálva hat MD finomítási protokollt állítottunk össze azzal a céllal, hogy javítsuk a PepGrow által generált legjobban rangsorolt dokkolási eredmények pontosságát. A P4 protokoll mutatta a legjobb teljesítményt, amely medián értékben 32%-os (4,6 Å) javulást ért el a dokkolt szerkezetekkel szemben a kísérleti referenciákhoz viszonyított RMSD változásában. Az eredmények azt mutatták, hogy az MD előtti hidratációs lépés, a szimulált hőkezelés beépítése az MD protokollba, valamint a kötőhely régió teljes rugalmassága biztosítják a P4 protokollt robusztusságát a széles minőségi skálán mozgó kezdeti konformációk finomításakor. Az MD előtti hidratációs lépés pontosan megjósolt, üregek nélküli hidratációs szerkezetet eredményezett az interfészen, ami kulcsfontosságú a megfelelő célfehérje-peptid interakciók kialakításához az MD során. Továbbá, az induló peptid konformációkban az rögzítő (horgonyzó) aminosavak (például az H3 peptidek R2 aminosava) pontos pozíciója jelentősen befolyásolta az MD finomítás hatékonyságát.



Ez a tanulmány bemutatja, hogy egy megfelelő MD-alapú finomítási protokoll nemcsak a célfehérje-ligandum komplexek szerkezeti pontosságát javítja, hanem növeli a jelenlegi gyors dokkolási módszerek hatékonyságát és megbízhatóságát is. Az előre jelzett kötődési módok pontosságának javítása pozitívan befolyásolja a kötődési affinitások becslését, így potenciálisan növeli a ligandumok rangsorolásának pontosságát. Ez az előrelépés elősegítheti az új epigenetikai gyógyszerek felfedezését vagy bármely peptidligandumokkal dolgozó tervezési projektet.

## Az új eredmények összefoglalása

A kutatás célkitűzéseivel és a disszertációban részletezett eredményekkel összhangban doktori munkám legfontosabb megállapításai az alábbiakban foglalhatók össze:

- A hiszton H3 peptidek és az azokhoz kötődő olvasó fehérjék komplexei különösen nagy kihívást jelentő teszt készletnek bizonyultak a meglévő dokkolási módszerek számára. A fehérje-peptid vagy makromolekuláris komplex dokkolására tervezett benchmark módszerek (kivéve az AutoDock4-et) mérsékelt vagy gyenge szerkezeti pontosságot mutattak, a pontosság jelentős csökkenésével, ha a legjobban rangsorolt megoldásokat vették figyelembe.
- Egy új, fragmentum-alapú dokkolási protokollt, a PepGrow-t fejlesztettük ki. Ahelyett, hogy az összes peptidfragment egyszerre kapcsolná össze, a PepGrow egy hiszton fragment magot dokkol, majd a teljes peptid farokrészt az olvasó fehérje kötő zsebében növeszti ki. Ez az *in situ* növesztési megközelítés szerkezeti pontosság tekintetében felülmúlta az összes benchmark módszert.
- A legjobb kötődési módok pontos rangsorolása továbbra is kihívást jelent minden dokkolási módszer számára. Bár a PepGrow-ban alkalmazott  $E_{inter}$ -alapú reprezentatív kiválasztás ígéretes alternatívát jelentett, további fejlesztésekre van szükség a rangsorolás megbízhatóságának javítása érdekében.
- Dokkolás utáni MD finomítási protokollokat dolgoztunk ki a PepGrow dokkolási eredmények szerkezeti minőségének javítása érdekében. Az elemzett protokollok közül a P4 protokoll mutatta a legjobb teljesítményt, medián értékben 32%-os javulást (a legnagyobb javulás 84% volt) érve el a kiinduló dokkolt szerkezetekhez képest.
- Az MD szimulációs paraméterek szisztematikus vizsgálata azt mutatta, hogy a szimulációs idő meghosszabbítása vagy a maximális hőmérséklet bizonyos küszöbértékek fölé emelése nem eredményezett jelentős javulást a finomítás hatékonyságában.
- Az olyan horgonyzó aminosavak, mint például az H3 peptidekben található R2, pontos kezdeti pozicionálása jelentősen javította az MD finomítások hatékonyságát és pontosságát, biztosítva a stabil kölcsönhatásokat a szimuláció során.
- Az MD előtti hidratációs lépés kritikus szerepet játszott a kötőfelületen pontos, üregmentes hidratációs szerkezetek létrehozásában. Ez a lépés elősegítette az optimális célfehérje-peptid interakciókat, és elengedhetetlen volt a megbízható és pontos MD finomítási eredmények eléréséhez.

Ezek az eredmények rávilágítanak arra, hogy a PepGrow és az MD finomítási protokollok képesek kezelni a peptid dokkolás területén régóta meglévő kihívásokat, ezáltal utat nyitva a precízebb és hatékonyabb számítógépes megközelítések előtt a szerkezeti biológia és gyógyszertervezés területén.

## **Köszönetnyilvánítás**

A kutatást a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatta. Köszönetünket fejezzük ki a Kormányzati Informatikai Fejlesztési Ügynökség HPC támogatásáért is.

Mindenekelőtt szeretném kifejezni szívből jövő hálámat témavezetőmnek, Dr. Hetényi Csabának. Fáradhatatlan támogatása, ragyogó és kreatív ötletei számtalan alkalommal inspiráltak ezen az úton. Mélyen értékelem alaposágát és türelmét, és szerencsésnek érzem magam, hogy az ő irányítása alatt dolgozhattam.

Őszinte köszönetemet szeretném kifejezni PhD társaimnak, kollégáimnak és társszerzői mnek, Dr. Zsidó Balázsnak, Dr. Börzsei Ritának és Szél Viktornak. Különösen hálás vagyok Dr. Zsidó Balázs termékeny együttműködéséért, akinek rendíthetetlen támogatása felbecsülhetetlen értékű volt közös munkánk során. Hálámat fejezem ki továbbá Prof. Pintér Erikának és a PTE Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet teljes csapatának.

Végül, de nem utolsósorban, szeretném kifejezni legmélyebb köszönetemet családomnak és barátaimnak az irántam tanúsított rendíthetetlen hitükért és folyamatos érzelmi támogatásukért. Az ő biztatásuk és támogatásuk nélkül ez az út nem lett volna lehetséges.

## Irodalomjegyzék

1. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol.* 2010 Oct;28(10):1057–68.
2. Rodenhiser D, Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CMAJ.* 2006 Jan 31;174(3):341–8.
3. Zsidó BZ, Hetényi C. Molecular Structure, Binding Affinity, and Biological Activity in the Epigenome. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 10;21(11).
4. Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules.* 2015 Jul 22;20(7):13384–421.
5. Huang SY. Comprehensive assessment of flexible-ligand docking algorithms: current effectiveness and challenges. *Brief Bioinformatics.* 2018 28;19(5):982–94.
6. Ciemny M, Kurcinski M, Kamel K, Kolinski A, Alam N, Schueler-Furman O, et al. Protein-peptide docking: opportunities and challenges. *Drug Discov Today.* 2018;23(8):1530–7.
7. Bian Y, Xie XQS. Computational Fragment-Based Drug Design: Current Trends, Strategies, and Applications. *AAPS J.* 2018 Apr 9;20(3):59.
8. Lamoree B, Hubbard RE. Current perspectives in fragment-based lead discovery (FBLD). *Essays Biochem.* 2017 Nov 8;61(5):453–64.
9. Guterres H, Im W. Improving Protein-Ligand Docking Results with High-Throughput Molecular Dynamics Simulations. *J Chem Inf Model.* 2020 Apr 27;60(4):2189–98.
10. Huo S, Wang J, Cieplak P, Kollman PA, Kuntz ID. Molecular dynamics and free energy analyses of cathepsin D-inhibitor interactions: insight into structure-based ligand design. *J Med Chem.* 2002 Mar 28;45(7):1412–9.
11. Anighoro A, Rastelli G. Enrichment factor analyses on G-protein coupled receptors with known crystal structure. *J Chem Inf Model.* 2013 Apr 22;53(4):739–43.
12. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem.* 2009 Dec;30(16):2785–91.
13. Fiser A, Do RK, Sali A. Modeling of loops in protein structures. *Protein Sci.* 2000 Sep;9(9):1753–73.
14. Kramer B, Rarey M, Lengauer T. Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein–ligand docking. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.* 1999 Nov;37(2):228–41.
15. Jeszenői N, Bálint M, Horváth I, van der Spoel D, Hetényi C. Exploration of Interfacial Hydration Networks of Target-Ligand Complexes. *J Chem Inf Model.* 2016 Jan 25;56(1):148–58.
16. Jeszenői N, Horváth I, Bálint M, van der Spoel D, Hetényi C. Mobility-based prediction of hydration structures of protein surfaces. *Bioinformatics.* 2015 Jun 15;31(12):1959–65.
17. Zsidó BZ, Börzsei R, Szél V, Hetényi C. Determination of Ligand Binding Modes in Hydrated Viral Ion Channels to Foster Drug Design and Repositioning. *J Chem Inf Model.* 2021 Aug 23;61(8):4011–22.
18. Bálint M, Horváth I, Mészáros N, Hetényi C. Towards Unraveling the Histone Code by Fragment Blind Docking. *Int J Mol Sci.* 2019 Jan 19;20(2):422.