DOI: 10.22092/VJ.2018.116322.1384
شماره ۱۱۹ تابستان ۱۳۹۷
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

کاربرد دینامیک مولکولی در طراحی پیشرفته فرآورده‌های بیولوژیک و مطالعه پروتئین اجرام عفونی

• **محمد مهدی رنجبر(نویسنده مسئول)**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **علیرضا یوسفی**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **سعید عالمیان**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **مهدی احمدی**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **سید غلامرضا میرزایی**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۰۸-۰۹-۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: ۰۷-۱۱-۱۳۹۶
Email: mm.ranjbar.phd@gmail.com

چکیده

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی (MD) دانشی است که از ترکیب علوم زیستی، شیمی و روش‌ها و الگوریتم‌های متنوع رایانه‌ای-ریاضیاتی استفاده می‌کند. این تکنیک جهت طراحی پیشرفته دارو، واکسن، آنتی‌بادی، پروتئین یا پپتید و سایر ماکرو و میکرو مولکول‌های اجرام عفونی یا غیر عفونی و مواد بکار برده می‌شود. شکوفایی و تحول روزافزون این زمینه از علم بیوانفورماتیک در طراحی و ساخت فوق پیشرفته فرآورده‌های بیولوژیک و دارویی، به شبیه‌سازی برون‌تنی پدیده‌های زیستی مشابه با شرایط درون‌تنی کمک شایانی نموده است. آشنایی هر چه بیشتر با این علم از نقطه نظر کاربردی و تولیدی برای محققین شاغل در دانشگاه‌ها و پژوهشگاه‌های علوم پزشکی و دامپزشکی می‌تواند سبب آشنایی هر چه بیشتر آن‌ها با این حوزه مترقی از علم شده و در بهبود پژوهش‌ها و تولیدات مفید باشد. از سوی دیگر، به کارگیری این علم می‌تواند به صورت قابل ملاحظه‌ای موجب صرفه‌جویی در هزینه‌ها و زمان شود. در این مقاله در درجه نخست به معرفی و تقسیم‌بندی دینامیک مولکولی از دید کلی پرداخته شده است و سپس مطالب پایه‌ای و مزایای دینامیک مولکولی، روش‌ها و برنامه‌های مورد استفاده در آن مورد بررسی قرار گرفته است. در پایان به کاربرد این روش نوین در تحقیقات ایمونوانفورماتیک (طراحی واکسن، کیت، آنتی‌بادی، ادجوانت و غیره) و کموانفورماتیک (طراحی دارو) و همچنین بررسی اجرام عفونی پرداخته شده است.

کلمات کلیدی: دینامیک مولکولی، ایمونوانفورماتیک، کموانفورماتیک، بیماری‌های عفونی

Veterinary Researches & Biological Products No 119 pp: 2-16

Application of Molecular Dynamics in Professional Designing of Biological Products and Study of Infectious Agents Protein

By: Ranjbar, M. M., (Corresponding Author) Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Yousefi, A.R., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Alamian, A., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Ahmadi, M., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Mirzaei, S.G., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Email: mm.ranjbar.phd@gmail.com

Received: 2017-11-29 Accepted: 2018-01-27

Molecular dynamic (MD) simulation is a knowledge which uses combination of biological sciences, chemistry, and various computer / mathematical methods and algorithms. This technique is applied in advanced design of drugs, vaccines, antibodies, proteins/peptides, and other macro and micro molecules of infectious / non-infectious agents as well as substances. The ever-increasing progress in this field of bioinformatics for the design and manufacture of ultra-advanced biological and pharmaceutical products helps to simulate the in vitro biological phenomena similar to the in vivo conditions. Introducing this science from practical and productive points of view to researchers who are working in universities or medical and veterinary institues can make them more familiar with this progressive field of science, and is effective on improvment researchs and production. On the other hand, the use of this knowlage reduces the excess cost and time of production. This paper, firstly discusses the introduction and division of MD in a general view, and then discusses the basic content and advantages of MD, and finally discusses the methods and programs used therein. The last section of the paper has addressed the use of this new method in immunoinformatic research (design of vaccin, kit, antibody, adjuvant, etc.), chemoinformatics (drug design), and also investigation of infectious diseases..

Key words: Molecular dynamics, Immunoinformatics, Chemoinformatics, Infectious diseases

مقدمه

یکی از حوزه‌های نوین علم بیوانفورماتیک در زیرمجموعه بیوانفورماتیک ساختاری و مدل‌سازی، حوزه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی (Molecular Dynamic Simulation) است که از دهه ۷۰ میلادی شروع به شکوفایی نموده است (۱۶). این علم هم اکنون کاربرد ویژه‌ای در طراحی پیشرفته دارو، واکسن، آنتی بادی، مطالعه پروتئین/پپتیدهای اجرام عفونی و غیر عفونی دارد. دینامیک مولکولی از علوم بیولوژی (در حوزه‌های مختلف به خصوص بیوتکنولوژی، میکروبیولوژی، ایمونولوژی و داروسازی)، شیمی-فیزیک و روش‌های متنوع رایانه‌ای-ریاضی جهت نیل به اهداف خورد بهره می‌برد. امروزه استفاده از روش‌های محاسباتی برای شناخت سیستم‌های بیولوژیکی پیچیده در مقیاس اتمی رو به رشد بوده و این امر به دلیل دسترسی به اطلاعات عظیم ساختاری و توالی از مولکول‌های داروئی-شیمیایی، ایمونولوژی و امکاناتی جهت ذخیره و بررسی آن‌ها، به وجود آمدن رایانه‌های با قدرت بالای پردازش و الگوریتم‌های بهینه شده می‌باشد (۱۴, ۱۶).

روش‌های محاسباتی بیومکانیک و مدل‌سازی مولکولی

شبیه‌سازی‌های رایانه‌ای نقش مهمی در حل و تفسیر دقیق نتایج برخی مسائل مجهول در مکانیک آماری، موضوعات ساختاری و فعالیت مولکول‌های بیولوژیک ایفا می‌کنند؛ مسائلی که ممکن است با روش‌های دیگر قابل حل نبوده و یا دشوار باشد و یا فقط بتوان آن‌ها را با روش‌های تقریبی حل کرد. شبیه‌سازی‌ها از یک سو ابزاری برای سنجش درستی نظریه‌ها یا مدل مطرح شده فراهم می‌کنند و از سویی دیگر نتایج حاصل

از شبیه‌سازی‌ها به‌طور مستقیم با نتایج آزمایش‌های واقعی قابل مقایسه می‌باشند (۱۶, ۴۸).

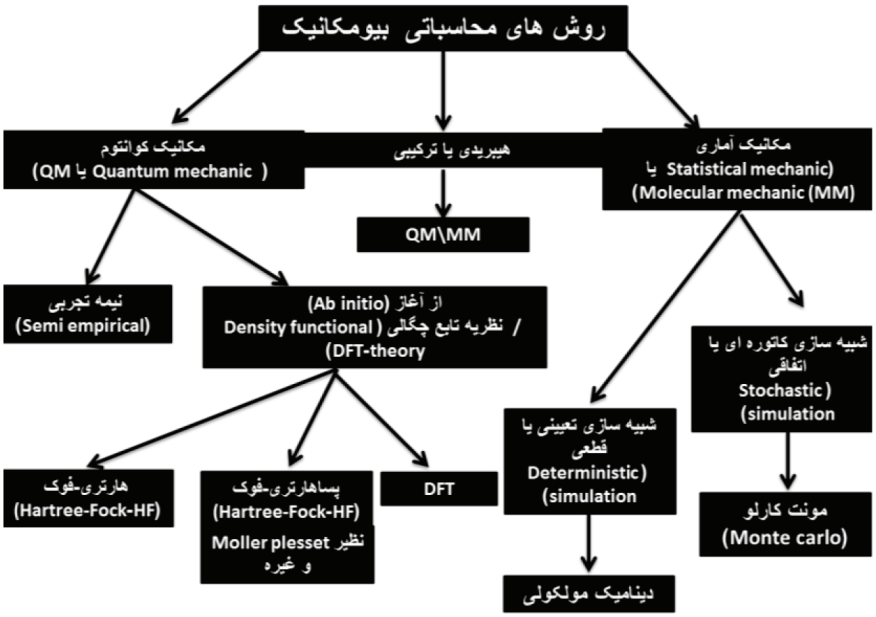
روش های بیوشیمیایی-بیوفیزیکی محاسباتی که مدل‌سازی مولکولی نیز نامیده می‌شوند، مجموعه‌ای از تکنیک‌های پیچیده هستند که جهت بررسی مسائل شیمیایی-فیزیکی با استفاده از رایانه به کار گرفته می‌شوند. مباحثی که به‌طور کلی در محاسبات در این زمینه مورد بررسی قرار می‌گیرند عبارتند از: ژئومتری مولکولی، انرژی مولکول‌ها و حالت‌های گذار آن‌ها، فعالیت شیمیایی و اثرات عوامل محیطی بر فعالیت، کانفورمیشن‌های پایدارتر مولکولی، برهمکنش یک ماده با پروتئین (آنزیم، گیرنده)، طیف‌های استرواسکوپی نظیر رزونانس مغناطیسی هسته، فرابنفش و مادون قرمز و خصوصیات فیزیکی مواد و غیره است (۴۲).

به‌طور کلی این روش‌ها را می‌توان در سه حوزه طبقه‌بندی کرد که شامل مکانیک آماری یا مکانیک مولکولی، مکانیک کوانتوم و ترکیبی از این دو (روش هیبریدی یا ترکیبی) است (شکل ۱). به دلیل سازگاری بیشتر و نزدیک‌تر بودن حوزه دینامیک مولکولی با اهداف تولید فرآورده-های زیستی، در این مقاله بیشتر بر این بخش تمرکز شده است.

خواص ترمودینامیکی، خواص قابل اندازه‌گیری یک سامانه برای توصیف آن است. برای نمونه می‌توان به مواردی مانند خواص شدتی که به مقدار ماده بستگی ندارد، نظیر رنگ، چگالی، دما و خواص مقداری که به مقدار ماده بستگی دارد، مانند جرم و حجم اشاره کرد. همچنین در بررسی انواع خواص از منظری دیگر می‌توان به خاصیت حالت که به حالت فعلی سیستم وابسته است و مستقل از مسیر می‌باشد، مانند فشار، حجم و خاصیت مسیر، که به چگونگی رسیدن به این حالت بستگی دارد، مانند گرما و کار اشاره نمود (۴۲).

روش‌های محاسباتی مکانیک آماری یا مکانیک مولکولی

مکانیک آماری، یکی از مباحث محاسباتی است که به سیستم‌هایی با تعداد متغیرهای بسیار زیاد می‌پردازد و هدف نهایی آن استخراج خواص ماکروسکوپیک (قابل مشاهده) از خواص میکروسکوپیک (غیر قابل مشاهده) است. این متغیرها می‌توانند ذراتی چون اتم‌ها، مولکول‌ها و یا ذرات بنیادی باشند که تعداد آن‌ها می‌تواند هم‌مرتبه با عدد آووگادرو باشد. در این رابطه از طریق محاسبات و روش‌های آماری و استفاده از خواص میکروسکوپی نظیر ساختار اتمی و برهم‌کنش بین آن‌ها در



شکل ۱- روش‌های محاسباتی بیومکانیک و نحوه تقسیم‌بندی آن‌ها

این ذرات، اطلاعاتی در مورد خواص ماکروسکوپی سیستم مانند فشار، انتروپی و انرژی آزاد گیبس حاصل می‌شود. مکانیک آماری خود دارای دو بخش است که شامل شبیه‌سازی تعیینی یا قطعی (Deterministic) که در برگیرنده دینامیک مولکولی بوده و کاتوره‌ای یا اتفاقی (Stochastic) که بیشتر در برگیرنده روش‌های مونت کارلو و متروپولیس است (۱۴ و ۴۷). در واقع شبیه‌سازی در مقیاس مولکولی شامل سه مرحله می‌باشد: ۱) ساختن مدل، ۲) محاسبه مسیرها و یا موقعیت‌ها و ۳) تجزیه و تحلیل مسیرها. در این میان مهمترین بخش، مرحله دوم است که شیوه محاسبه موقعیت مولکول‌های مختلف نسبت به یک مبدا را پوشش می‌دهد، تفاوت در این بخش، روش‌های مختلف شبیه‌سازی را از یکدیگر متمایز می‌کند. اگر این موقعیت ها از معادلات حرکت به دست آمده و سپس از نظر زمانی به هم مرتبط شوند، این روش را دینامیک مولکولی می‌نامند (۱۴).

روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در نگاهی عمیق‌تر از شاخه‌های محاسباتی مبتنی بر معادلات حرکت نیوتن و قوانین مکانیک آماری می‌باشد که به حرکت و توزیع اتم‌ها و مولکول‌ها مربوط و رفتار دینامیکی واقعی سیستم در آن محاسبه می‌شود. با اعمال معادلات حرکت نیوتن، مجموعه‌ای از موقعیت‌های اتمی به صورت پشت سرهم به دست می‌آید و به صورت تخمینی حالت سیستم در هر زمان آتی را می‌توان از حالت فعلی آن پیش بینی کرد. این روش تکنیکی نوین بوده که از گستره‌ای از ابزارهای محاسباتی و رایانه‌ای جهت طراحی نوین مولکول‌های واجد فعالیت زیستی و بررسی نحوه فعالیت آن‌ها استفاده می‌کند (۱۰ و ۳۰). در این شکل از شبیه‌سازی رایانه‌ای، اتم‌ها و مولکول‌ها اجازه دارند در یک بازه از زمان تحت قوانین شناخته شده فیزیک بر یکدیگر برهمکنش کنند و چشم‌اندازی از حرکت اتم‌ها را به نمایش بگذارند. این روش می‌تواند به صورت یک آزمایش عددی برای مواد، بدون سنتز مستقیم آن‌ها در آزمایشگاه به کار رود. بنابراین، شاخصه‌ی کلیدی در این روش مجازی (*in silico*) امکان تقلید شرایط آزمایشگاهی و درون‌تنی است (۳۰). برای نمونه، پروتئین، پپتید، RNA، DNA و ساکاریدها ممکن است در pHهای مختلف در حضور مولکول‌های آب و یون‌ها، با غلظت‌های مختلف یون یا نمک و یا در حضور دولایه‌ی لیپیدی غشاء و سایر ترکیبات سلولی شبیه‌سازی شوند (۱۰ و ۳۰).

از آنجا که سیستم‌های مولکولی به‌طور عمومی شامل تعداد زیادی از ذرات هستند، امکان تعیین ویژگی سیستم‌های پیچیده به طور تحلیلی وجود ندارد. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی این مسئله را با به کار بردن روش محاسباتی حل می‌کند. در واقع دینامیک مولکولی روابط بین ساختار مولکول‌ها، حرکت مولکول‌ها و توابع مولکولی را با یک روش منظم چندگانه بررسی می‌کند. با در اختیار داشتن تعداد مشخصی ذره و حل عددی معادله حرکت برای آن‌ها، محاسبه مسیرهای حرکت در گام‌های مختلف زمانی و به دست آوردن سرعت و مکان ذره در هر گام، می‌توان خواص ماکروسکوپی (خواص انتقالی و ترمودینامیکی نظیر ضریب نفوذ، گرانروی (ویسکوزیته دینامیکی)، ضریب هدایت حرارتی و ...) یک سیستم را تعیین نمود. چون خواص میکروسکوپی برای مواد غیرقابل روئیت می‌باشند، لذا دینامیک مولکولی سبب ارائه توضیحات بیشتر می‌شود (۱۶ و ۳۰). همچنین دینامیک مولکولی امکان مطالعه بر روی مواردی که انجام آن‌ها در آزمایشگاه مشکل یا غیر ممکن است (مانند شرایط با دما و فشارهای بالا) را نیز میسر می‌سازد. از طرف دیگر، شبیه‌سازی رایانه‌ای می‌تواند به عنوان یک روش مفید جهت پیشگویی رفتار خاص ماکرومولکول‌ها در شرایط مختلف به کار گرفته شود. به‌طوری که در یک سیستم با حدس برهمکنش‌های بین مولکولی می‌توان خواص توده مورد نظر را بطور دقیق پیش‌بینی کرد. افزون بر این، می‌توان با مقایسه نتایج به دست آمده از یک شبیه‌سازی و مقایسه آن با داده‌های آزمایشگاهی درستی یا نادرستی یک تئوری را اثبات کرد. در دینامیک مولکولی نیروهای بین اتمی و انرژی پتانسیل سیستم به‌وسیله میدان‌های نیروی (Force-fields) مکانیک مولکولی زیست مولکول تعریف می‌شوند. این میدان‌های نیروی بیومولکولی در جهت هماهنگ بودن با محاسبات مکانیک کوانتومی و داده‌های طیفی تجربی پارامتربندی شده‌اند. پارامتربندی شامل تعریف پیوندهای شیمیایی، زوایای اتم‌ها، زوایای چرخشی (دی هیدرال) و همراه با تعریف بار نسبی اتم‌ها برای محاسبه انرژی تداخلات الکترواستاتیک و همچنین شناسایی شعاع‌های واندروالسی مناسب اتم‌ها و غیره است (۳۰). سیستمی را در نظر بگیرید که تنها برای محاسبه دقیق خواص آن از طریق محاسبات ریاضی تنها یک راه وجود دارد و آن حل دقیق معادله شرودینگر وابسته به زمان می‌باشد. اما این معادله تنها در سیستم های بسیار ساده (چند اتمی) قابل حل خواهد بود، لیکن برای سیستم های پیچیده صادق نیست. لذا می‌بایست در جستجوی دقیق‌ترین سطح از یک سیستم یعنی مولکول‌ها بود که شبیه‌سازی مولکولی این امکان را فراهم می‌سازد (۲۸).

روش تجربی مهم آشکارسازی ساختارهای مولکولی ماکرومولکول‌ها، تاباندن اشعه X به پروتئین‌های کریستال شده می‌باشد. این تکنیک منجر به تحولی بزرگ در رشته بیولوژی ساختاری شده است، اما در بهترین حالت، کریستالوگرافی اشعه ایکس تنها یک عکس فوری و ثابت از یک لحظه حالت عملکردی کامل را نشان می‌دهد. در دهه‌های پیشین، NMR به طور روزافزونی به‌عنوان یک تکنیک مهم برای بررسی‌های ساختار پروتئین مطرح شد و امکان دسترسی به حالت انعطاف‌پذیر یک سیستم به‌واسطه آشکارسازی کانفورمیشن‌های سرهم‌بندی شده را فراهم آورد (۲۸). علیرغم گام‌های بزرگی که اخیراً در این زمینه برداشته شده است، اسپکترواسکوپی NMR همچنان برای کمپلکس‌های بزرگ پروتئینی چالش برانگیز و زمانبر است. دینامیک مولکولی یک روش مجازی است که از داده‌های ساختاری که به طور تجربی به دست آمده‌اند برای استنتاج کانفورمیشن‌های ممکن سیستم‌های مولکولی و مسیرهای مختلف بین آن‌ها استفاده می‌کند. شبیه‌سازی‌ها با استفاده از محاسبات سیستم‌های مولکولی محدود، ابتدا جهت بررسی یک تعداد محدودی از اتم‌ها استفاده شد (۲۸). اما امروزه با توجه به توسعه سریع تکنولوژی به‌طور تحسین برانگیزی امکان بررسی سیستم‌های بزرگتر، نظیر یک پروتئین کامل به تنهایی یا در حال واکنش به راحتی مهیا شده است. زمان شبیه‌سازی به طور ثابت از میکروثانیه به نانوثانیه کاهش یافته است و مطالعات اخیر توانسته‌اند این امر را در بازه زمان میکروثانیه با موفقیت انجام دهند که این مشاهده رخدادهای مرتبط به هم بیشتری در محیط

مجازی جهت منطقی‌تر کردن داده‌های تجربی را ممکن کرده است (۲۸). همچنین بررسی مقالات در چهار پنج سال اخیر نشان می‌دهد که بیش از ۱۰۰۰ تحقیق با استفاده از تکنیک‌های دینامیک مولکولی جهت مصارف فرآورده‌های بیولوژیک، داروئی و مطالعات پایه‌ای انجام شده است.

ابزارهای محاسباتی در دینامیک

به طور کلی چهار مورد پایه‌ای در مورد مدلی که باید با دینامیک مولکولی شبیه‌سازی شود، رعایت می‌شود که عبارت است از: ۱) رزولوشن (حد تفکیک) مدل ۲) تشریح میانکنش بین اتم‌ها ۳) ساخت کانفیگوریشن‌ها ۴) تعیین شرایط مرزی.

رزولوشن، ذرات ابتدائی مدل را تعریف می‌کند (۴۱). این ذرات را می‌توان به‌صورت هسته یا الکترون در شبیه‌سازی مکانیک کوانتوم، اتم‌ها در شبیه‌سازی‌های کلاسیک دینامیک مولکولی یا مهره درشت دانه (Coarse-grained (CG) beads) که چندین اتم به واسطه یک تک ذره به هم متصل می‌شوند، تعریف کرد. هر سه سطح حد تفکیک و ترکیب آن‌ها (برای مثال QM/MM یا شبیه‌سازی‌های hybrid atomistic/CG) برای طراحی رایانه‌ای دارو و فراورده‌های بیولوژیک به کار می‌روند. شبیه‌سازی‌های QM/MM امکان مطالعه واکنش‌های آنزیماتیک، مسیرهای واکنش، سدهای انرژی و تغییر مجدد (Reshuffling) پروتون و الکترون را در سیستم های بزرگ‌تر فراهم می‌کند که در آنجا جایگاه فعال پروتئین ابتدا با مکانیک کوانتوم تیمار می‌شود و سایر قسمت‌های سیستم می‌تواند در سطح اتمی با مکانیک مولکولی شبیه‌سازی شود (۴ و ۱۳). مدل‌های اتمی دانه درشت (CG) یک روش متداول جهت دسترسی به مقیاس زمانی بزرگتر در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی است.

با جایگزین کردن چندین اتم در یک CG bead منفرد، تعداد واکنش‌های ذره-ذره که می‌بایست محاسبه شود به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. در هر صورت، چندین مشکل با این تکنیک پیش می‌آید. نخست اینکه روش دانه درشت سبب از دست رفتن یکسری از اطلاعات می‌شود، از این رو تنها درجه‌های آزادی که برای بررسی کمتر مهم هستند، باید مورد استفاده در روش دانه درشت قرار گیرند. دوم، روش عمومی برای انتخاب نوع و تعداد اتم‌ها برای هر CG bead وجود ندارد که این امر منجر به تعداد زیادی از CGها برای مدل پیشنهادی می‌شود (۴)؛ به خصوص برای طراحی دارو و فرآورده‌های بیولوژیک (آنتی بادی، واکسن و غیره) که یک حد تفکیک بالا از لیگاند/پپتید و جایگاه فعال مهم است روش atomistic/CG hybrid یا مدل‌های چند مقیاسی مناسب می‌باشند (۴۱).

در شبیه‌سازی‌های کلاسیک دینامیک مولکولی، عملکرد پتانسیل انرژی معمولا دلالت بر میدان نیرو دارد و به صورت میانکنش بین اتم‌ها تعریف می‌شود. این عبارت حالت پیوندی بین اتم‌ها به‌صورت اتصال کووالان یعنی پیوند، زوایا، پیچش و حالت‌های غیر متصل (از جمله تعاملات واندروالس و تعاملات الکترواستاتیک) را توضیح می‌دهد. پارامترهای میدان نیرو به‌طور معمول برای تولید داده‌ها از محاسبات سطح بالا و آزمایشات مناسب است. برای بیشتر مولکول های زیستی مانند پروتئین، DNA، لیپیدها و قندها، تعداد کمی از واحدهای ساختمانی می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد و تنها یک بار تنظیم در مورد آن‌ها کافی است (۴۷). تعدادی از میدان‌های نیروی در دسترس برای شبیه‌سازی عبارتند از: CHARM، AMBER و GROMOS. میدان‌های نیرو بیومولکولی مرسوم CHARM، OPLS، AMBER و GROMOS در طول زمان به‌طور مداوم بهبود یافته‌اند و در طی سال‌ها مورد آزمون قرار گرفته‌اند (۴۷). در مقابل تنوع مولکول‌های آلی کوچک، از استفاده‌ی بلوک‌های ساختمانی و لیگاندهایی که باید به صورت جداگانه پارامتر شوند جلوگیری می‌کند. پارامترها برای حالت متصل و میانکنش‌های واندروالسی عموماً از یک میدان نیروی عمومی شده (Generalized Forcefield) گرفته می‌شوند، در صورتی‌که بار جزئی اتمی از یک محاسبه QM مشتق می‌شود. میدان‌های نیرویی که به‌طور رایج برای این هدف استفاده می‌شوند عبارتند از: AMBER، میدان نیروی تمام اتم OPLS (OPLS- all-atom)، میدان نیروی معمول GROMOS، CHARMM و برخی دیگر که کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرند یا فاقد نتایج قابل ملاحظه می‌باشند (۴۷). تراجکتوری (یا فایل مسیر) حاصل از دینامیک مولکولی یک کمپلکس لیگاند-پروتئین، مورد آنالیز قرار می‌گیرد تا اطلاعاتی نظیر فواصل و میانکنش‌های بین اتم‌ها یا باقیمانده‌های مورد نظر از آن استخراج شود.

مقادیر اضافی برای کنترل پایداری کلی کمپلکس، مانند انحراف جذر میانگین مربعات (RMSD-Root-mean-square deviations) از یک کانفیگوریشن مرجع، نوسانات مربع میانگین ریشه-موقعیت (RMSF- the atom-positional root-mean-square fluctuations) یا توزیع زاویه پیچشی ستون فقرات پروتئین نیز اندازه‌گیری می‌شوند. علاوه بر این، یک کاربرد مهم از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، برآورد تفاوت های انرژی آزاد یا همان ΔG است. انرژی آزاد اتصال، ΔGbind، تفاوت بین انرژی آزاد لیگاند آزاد در محلول و متصل به پروتئین است و به طور مستقیم با ثابت اتصال، Ki ارتباط دارد. از آنجا که تخمین مستقیم ΔG از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی دشوار است، تفاوت در ΔGbind بین دو لیگاند A و B اغلب محاسبه می‌شود. اگر چه روش‌های دیگر محاسبه انرژی آزاد با استفاده از دینامیک مولکولی مانند اینتگرشن ترمودینامیکی اختلال انرژی آزاد (Free energy perturbation-FEP) و نسبت پذیرش Bennett (Bennett acceptance ratio) دقیق‌تر اما وقت گیرتر هستند. از میان روش‌ها، اینتگرشن ترمودینامیکی محبوب‌ترین و قوی ترین روش است.

رویکردهای جایگزین که کارآمدترند، اما تقریبی هستند عبارتند از انرژی متقابل خطی (Linear interaction energy -LIE) و ترکیب محاسبات مکانیک مولکولی (MM) و مدل‌های حل پیوسته (Continuum solvation models) مانند سطح بالایی پواسون-بولتزمن (PBSA) و Generalized Born surface area (GBSA). روش‌های MM / PBSA و MM / GBSA علاوه بر نیاز کمتر به محاسبات، امکان تخمین مستقیم ΔGbind را فراهم می‌آورد (۱۲ و ۲۲).

چون در بیشتر روش‌های دینامیک مولکولی سیستم را در حالت تعادل فرض می‌کنند، ناکافی بودن متعادل‌سازی پیش از انجام شبیه‌سازی می‌تواند اثرات شدیدی روی دقت نتایج بدست آمده داشته باشد. این امر به ویژه در زمینه کمپلکس‌های دارو-گیرنده که تمایل به بزرگ شدن دارند و می‌توانند حرکات طولانی مدت را شامل شوند، حائز اهیمت می‌باشد. به طور مشابه، نمونه‌برداری کافی در طول شبیه‌سازی برای تولید نتایج با کیفیت عالی ضروری است، که منجر به توسعه انواع مختلفی

از روش‌های افزایش نمونه‌گیری (Sampling enhancement techniques) برای غلبه بر موانع و افزایش کارایی نمونه‌گیری می‌شود.

برتری روش‌های رایانه‌ای

پیش‌بینی خواص فیزیکی و شیمیایی مواد مختلف و بررسی پدیده‌های متفاوت با استفاده از روش آزمایش تجربی و بررسی نتایج آن هزینه بر بوده و نیاز به زمان، امکانات و مواد دارد، ولی شبیه‌سازی رایانه‌ای به خوبی زمان و منابع را ذخیره کرده و اعمال تغییرات نامحدود در شرایط مدل‌سازی را نیز ممکن می‌سازد. در حال حاضر برنامه‌های شبیه‌سازی بدون نیاز به کد نویسی طاقت فرسا و زمان‌بر و استخراج داده‌های تجربی باعث سریع شدن مدل‌سازی گردیده است. از جمله نرم افزارهای معروف شبیه‌سازی دینامیک مولکولی می‌توان به DL-، DL-Poly، GROMACS، VMD، AMBER، CHARMM، NAMD، Meso و غیره اشاره کرد (جدول ۱). البته برای استفاده از آن‌ها باید به پارامترهای کنترل‌کننده شبیه‌سازی مانند شرایط عملیاتی، میدان‌های نیرو، الگوریتم‌های کوپل (کنترل)، الگوریتم‌های کمینه نمودن انرژی و ... تسلط کافی داشت. اگرچه میدان‌های نیروی بیومولکولی در روش‌های پارامتربندی با یکدیگر متفاوت‌اند، ولی نتیجه حاصل از آنها در کل شبیه یکدیگر است. از سوی دیگر، ممکن است هر کدام از این نرم افزارها برای تحقق اهداف ویژه‌ای برنامه‌ریزی شده و محدوده پاسخ آن‌ها تنها برای سیستم‌های به‌خصوصی قابل اطمینان باشد. از این رو باید نگرش جامعی نسبت به سیستم مورد مطالعه داشت و به فراخور آن شبیه‌ساز مناسب را انتخاب کرد. در بعضی موارد لازم است به‌طور همزمان از قابلیت‌های چند شبیه‌ساز استفاده شود تا نتیجه مطلوب حاصل گردد. همچنین انجام برخی پژوهش‌ها نیاز به کدنویسی در بسته‌های شبیه‌ساز دارد چرا که دستورات پیش فرض این نرم افزارها با وجود این که طیف وسیعی از خواص را در بر می‌گیرند، ممکن است در بعضی مواقع پاسخگو نباشند (۵, ۹, ۲۵).

نرم افزار گرومکس که توسط دانشگاه گرونینگن هلند در سال ۱۹۹۰ ارائه شد، از قابلیت های بالا و عملکرد خوب همراه با الگوریتم‌های بهینه‌سازی برای محاسباتِ سنگین شبیه‌سازی با سرعت بالا برخوردار است. از این نرم‌افزار غالباً برای مطالعه سیستم‌های مایع و محلول‌های واقعیِ دارای مولکول‌هایی با ابعاد بزرگ مثل پروتئین یا DNA استفاده می‌شود (۵ و ۲۵). یکی از ویژگی های GROMACS محدود نبودن به معادلات و بسته‌های نرم افزاری میدان‌های نیرو و استفاده از مجموعه معادلات و تئوری‌های موجود مانند AMBER، OPLS، GROMOS و ENCAD می‌باشد. این قابلیت یکی از برجستگی‌های این نرم افزار است که به آسانی کاربرد آن را قابل ارتقا و تکامل می نماید.

در آغاز این برنامه به زبان C نوشته شد، اما بعدها بیشتر قسمت‌های آن با زبان برنامه نویسی فورترن (Fportran) ارتقاء یافت. همچنین این برنامه به کمک نرم افزار VSP (Visual Studio Project) موجود در سایت اینترنتی گرومکس قابل نصب بوده و در سیستم عامل مایکروسافت ویندوز نسخه ۷ نیز اجرا می‌شود. در واقع نرم افزار گرومکس یک ماشین برای اجرای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و تحلیل پارامترهای مختلف سیستم (بعد از شبیه‌سازی) است. این نرم افزار از الگوریتم های بی‌شماری برای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده می‌کند. از محاسن دیگر گرومکس، نصب آسان آن بر روی سیستم عامل لینوکس می‌باشد. از آنجا که گرومکس تحت پوشش برنامه‌نویسی متخصصین لینوکس قرار داشته است، روش برنامه نویسی آن با ویندوز کاملاً متفاوت و در

جدول ۱- نرم افزارهای اصلی و پرکاربرد در حوزه‌ی دینامیک مولکولی و میدان‌های نیروی مورد استفاده در آن‌ها

گروه توسعه دهنده نرم افزار	مجموعه MD	میدان نیرو
گرونینگن	GROMACS	GROMOS
هاروارد	CHARMM	CHARMM
سانفرانسیسکو	AMBER	AMBER
زوریخ	GROMOS	GROMOS
پوردو/ییل آمریکا	-	OPLS
اوربان آمریکا	NAMD	-
بارسلون	ACEMD	-
نیویورک	DESMOND	-

نتیجه دارای دو قابلیت مهم سرعت در واحد عملیات و نداشتن اشکال ساختاری می‌باشد، لذا سرعت اجرای آن نسبت به نرم افزارهای مشابه، به خصوص در محیط ویندوز به طور معنی‌داری بیشتر است. نرم افزار نمد (NAMD) نخستین نرم‌افزاری بود که توانست مولکول‌هایی با ابعاد بزرگ را شبیه‌سازی کند، اما توانایی محاسبه خواص ترمودینامیکی را با استفاده از رفتار مولکولی ندارد. قدرت گرومکس در این دو حوزه یعنی تعیین خواص ترمودینامیکی سیستم (به خصوص درشت مولکول‌ها) با استفاده از مکانیک آماری و در نتیجه امکان پیش‌بینی و محاسبه رفتار مولکول‌ها به خوبی محسوس است (۵، ۹ و ۲۵).

تفکیک‌پذیری فاصله زمانی (The spatiotemporal resolution) در یک زمان‌بندی (Timescale) به‌خصوص به دست می‌آید و فرآیندهای بیومولکولی که از این طریق به دست می‌آیند، ملاحظات مهمی در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی می‌باشند. شبیه‌سازی یک سیستم در زمانبندی ۹-۱۰ تا ۱۰-۱۲ ثانیه (پیکوثانیه تا نانوثانیه) می‌تواند حرکاتی را نظیر نوسانات اتمی (Atomic fluctuations)، تغییرات فضایی در زنجیره‌های جانبی و حرکات لوپ‌ها را شناسایی کند. در هر صورت، جهت فهم وقایع بیومولکولی پیچیده‌تر نظیر حرکات دامنه (Domain motions)، تا خوردگی پروتئین، اتصال پروتئین-لیگاند و انتقال مولکول‌ها از طریق غشاها شبیه‌سازی میکروثانیه تا میلی ثانیه نیاز است (۹).

درجه وضوح فضایی که در یک زمان خاص و درجه زیست مولکولی حاصل می‌شود، جزء ملاحظات مهم در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی است. با شبیه‌سازی یک سیستم زمانی در مقیاس پیکو ثانیه تا نانو ثانیه می‌توان حرکاتی مثل نوسانات اتمی، تغییرات ساختاری در زنجیره‌های آمینواسید و حرکات لوپ را بررسی کرد. با این وجود، برای درک بهتر مسائل زیست مولکولی پیچیده مثل حرکات بزرگ دامنه، فولدینگ پروتئین، اتصال لیگاند پروتئین و انتقال مولکول در عرض غشا، زمان شبیه‌سازی بایستی میکرو ثانیه تا میلی ثانیه باشد.

نخستین شبیه‌سازی دینامیک مولکولی که برای یک هدف درمانی ماکرومولکولی صورت پذیرفت حدود چهار دهه پیش منتشر شد. این شبیه‌سازی در خلا با پارامترهای مکانیک مولکولی ساده برای زمان کوتاه ۹/۲ پیکو ثانیه اجرا شد. از آن زمان به بعد پیشرفت‌های متعددی در زمینه قدرت کامپیوتر و الگوریتم‌ها رخ داده است. برای نمونه، شبیه‌سازی اخیر دینامیک مولکولی، به مدت ۲ میلی ثانیه با استفاده از Exacycle cloud-computing platform منجر به درک مشروحی از راه‌های فعال‌سازی چندگانه و برهمکنش‌های متفاوت از اگونیست‌ها و آنتاگونیست ها شده است (۲۰) که نشان دهنده‌ی کاربرد شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای بررسی پدیده‌های زیست شناختی پیچیده است.

اهمیت تکنیک‌های شبیه‌سازی ناشی از این حقیقت است که ماکرومولکول‌های زیستی مثل پروتئین‌ها در محیطی پویا وجود دارند. این حرکات پویا برای عملکردهای اختصاصی ماکرومولکول‌های زیستی مثل برهمکنش اتصالات بین مولکولی پروتئین‌ها و یا پیام رسانی پائین دستی ضروری هستند. به علاوه، حرکات پویا بین مولکول‌ها نیرو محرکه اصلی برای مسائل زیست مولکولی مثل خود تجمعی، دیمریزاسیون، الیگومریزاسیون، تغییرات اکتسابی ساختاری اتصالات لیگاند یا انتقال داروها و یون‌ها در طول کانال‌ها و غشاهای سلولی می‌باشد. اگرچه تکنیک‌های تجربی مختلفی به فهم ویژگی‌های ساختاری زیست مولکول‌ها کمک می‌کنند، اما از مشخص کردن حرکات پویا ناتوان هستند. شبیه سازی دینامیک مولکولی، وسیله‌ای برای مدل کردن انعطاف و تغییرات ساختاری در مولکول‌ها در سطح اتمی فراهم می‌آورد و بدین گونه قسمت‌هایی را کاوش می‌کند که مشخص کردن آن‌ها به صورت تجربی دشوار می‌باشد.

در این مطالعه برای آشنایی بیشتر با کاربرد دینامیک مولکولی، استفاده از این روش در مقالات چاپ شده اخیر در زمینه‌های مختلفی مانند میکربیولوژی، ایمونولوژی، پروتئومیکس و دارویی مرور شده است. با تجزیه و تحلیل این یافته‌ها خواننده درک بهتری نسبت به انواع زمینه‌های کاربرد دینامیک مولکولی و اطلاعات برجسته و کلیدی که این روش ارائه می‌دهد، پیدا می‌کند.

دینامیک مولکولی در طراحی واکسن، آنتی‌بادی و پروتئین‌ها/پپتیدهای ایمونوژنیک

طراحی و مهندسی پیشرفته واکسن، کیت‌های تشخیصی، آنتی‌بادی و بررسی پروتئین‌های اجرام بیماری‌زا جهت ایمن‌سازی و یا از نظر آلرژنسیتی با به کارگیری علم ایمونوانفورماتیک و ایمونولوژی محاسبه‌ای یکی از حوزه‌هایی است که امروزه قلمرو علم ایمونولوژی را متحول کرده و راهکارهای جدید را به محققین برای بررسی پدیده‌های سلولی و مولکولی حین پاسخ ایمنی عرضه داشته است (۳۱، ۳۶ و ۳۹) تائید و اعتبارسنجی میانکنش‌های بین مولکولی پس از داکینگ آن‌ها (داکینگ پروتئین-پروتئین (برای نمونه گیرنده شبه تول با فلاژل باکتری) یا پپتید-پروتئین (اپی‌توپ با آنتی بادی، MHC یا گیرنده سلول B و T در حالت متصل و غیر متصل) از موارد مهم کاربرد دینامیک مولکولی در علم ایمونوانفورماتیک است و بدین صورت سطح واکنش‌گر مولکولی، نوای بسیار متغیر و آمینواسیدهای کلیدی در تماس، و از سوی دیگر اپی-توپ‌های متصل‌شونده و انرژی ترمودینامیک را می‌توان پس از مدل‌سازی در انسان و حیوانات دقیق‌تر مطالعه کرد (۲۶، ۳۴ و ۳۵). ساختار شیار متصل شونده آنتی‌بادی و MHC، انعطاف پذیری فضایی بسیار زیادی داشته و از این رو به پپتیدهای متنوعی می‌تواند متصل شود. همچنین، نحوه حرکت دامنه‌های پذیرنده حین شناخت و تنظیم ایمنی، بررسی پروتئین‌های سیستم ایمنی (نظیر کمپلمان، سایتوکاین‌ها و غیره) و کمک پذیرنده‌ها، به تعادل‌رسانی و بهینه‌سازی انرژی ساختارهای کریستالوگرافی و مدل‌سازی شده پذیرنده‌ها و پروتئین‌های سیستم ایمنی، بررسی ساختار و حرکت فضایی پپتیدهای اپی توپیک یا ایمونوژنیک، ارزیابی پروتئین‌های ایمونوژنیک مورد نظر از اجرام پاتوژن، بهینه-سازی ساختارهای مدل سازی شده آنتی بادی معمولی و نوترکیب و مطالعه نحوه حرکت لوپ‌ها حین شناسایی و اتصال آنتی ژن‌ها، بررسی ساختار نهایی و پویایی سازه‌های پلی‌توپی پس از طراحی واکسن و سازه‌های ایمونوژنیک، بررسی تاثیر دما بر پایداری پروتئین (به خصوص آنتی‌بادی‌ها و قطعات نوترکیب مستخرج از آن) و حلالیت آن، تاثیر جهش‌ها بر عملکرد پروتئین و افزایش یا کاهش ایمونوژنسیتی و میانکنش آن‌ها و غیره (۱۹، ۲۶ و ۴۵) از موارد استفاده از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در حوزه های مرتبط با واکسن، کیت و آنتی‌بادی است.

کاربرد دینامیک مولکولی در طراحی دارو

دینامیک مولکولی و مکانیک سیستم‌های زیست‌شناختی کاربرد بسیار وسیعی در زمینه طراحی دارو دارد. امروزه طراحی دارو و بهینه‌سازی ساختار به طور وسیعی مبتنی بر علم کموانفورماتیک است (۳۵). این حوزه از علم عبارت است از استفاده از کامپیوتر و تکنیک‌های محاسباتی جهت حل مسائل مرتبط با علم شیمی است و در برگیرنده چندین شاخه مهم از جمله غربالگری مجازی (Virtual screening)، جستجوی فارماکوفور (Pharmacophore search)، کیوسار یا ارتباط کمّی عملکرد-ساختار (Quantitative structure–activity relationships)، طراحی دنوو یا کشف قطعه‌ای ترکیب رهبری کننده (de novo design/fragment-based lead discovery) و روش‌های ترکیبی (۳۸) است. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی یکی ارکان اصلی در طراحی‌های نوین دارو است.

به عنوان یک روش کلی، زمانی که میان یک ترکیب مولکولی کوچک (داروئی/لیگاند) با ماکرومولکول دیگر مانند پروتئین (که می‌تواند آنزیم، پذیرنده و غیره باشد)، RNA، DNA و غیره (و یا حتی با پپتید یا مولکول کوچک دیگری میانکنش (داکینگ) صورت گیرد (مثلاً میانکنش COX-۲ / LOX-۵ با ترکیب شیمیایی Alpha-amyrins) (۳۷)، باید پس از بررسی انرژی واکنش و پیوندهای هیدروژنی، آبگریز، کوالانسی و غیره، بررسی انرژی و پیوندهای تشکیل شده و همچنین طرز برقراری و حرکت عناصر واکنش دهنده در محل اتصال، جهت تائید و اعتبارسنجی این میانکنش، از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی بهره برد. در واقع این جنبه از کاربرد دینامیک مولکولی معادل تست‌های تائید تشخیص در آزمایشگاه است.

در سال‌های اخیر، طراحی منطقی (Rational design) بر اساس ساختار پروتئین‌های هدف یک استراتژی موفق در کشف دارو بوده است. روش معمول طراحی دارو بر اساس ساختار شامل طراحی مولکول‌هایی است که می‌توانند به صورت اختصاصی به یک دامنه ساختاری پروتئین هدف، نظیر پاکت اتصالی با قصد تنظیم فعالیت پروتئین متصل شوند و به این ترتیب پیشرفت بیماری را متوقف و یا کند نماید (۷). برای نمونه، طراحی مولکول‌هایی که بر همکنش مکمل را در جایگاه فعال پذیرنده‌ی هدف به حداکثر برساند، می‌تواند به عنوان یک استراتژی مفید در طراحی ساختار مهاری استفاده شود (۷). به هر حال مطالعات اخیر اهمیت شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در مشخص کردن انعطاف پذیری زیست مولکول های متصل شونده به لیگاند را نشان می‌دهد (۳۰). مطالعه انعطاف‌پذیری گیرنده‌ی هدف باعث بهبود طراحی دارو بر روی حالت‌های متغیر پاکت اتصالی می‌شود. همچنین شبیه‌سازی دینامیک مولکولی می‌تواند باعث کاوش جایگاه‌های احتمالی دیگر اتصال دارو بر روی گیرنده هدف شود؛ بدیهی است این جایگاه‌ها تنها با بررسی ساختارهای تجربی حاصل از روش‌هایی مثل بلورشناسی پرتو ایکس (X-ray crystallography) قابل شناسایی نیستند (۱۱).

برای مثال اسکامس و همکاران (۴۳) با استفاده از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، موفق به شناسایی یک محل اتصال جدید در HIV اینتگراز (HIV integrase) شدند که نهایتاً منجر به کشف داروی Raltegravir، به عنوان نخستین دارو از کلاس جدید داروهای ضد ایدز شد. به طور مشابه، یک جایگاه اتصال در دسترس متغیر به وسیله شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در پروتئین P۵۳ شناسایی شد که پتانسیل کاربرد در طراحی داروهای ضد سرطان را دارد (۴۹). شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی همچنین باعث شناسایی شباهت بین جایگاه‌های فعال گیرنده‌های آدرنرژیکB۱ و B۲ شد (۱۸). دینامیک مولکولی امکان بررسی رفتار پویایی مولکول‌های کوچک (لیگاندها) و جایگاه‌های اتصال پروتئین‌ها را به تنهایی از نظر عملکردی، ساختاری و در فضای چند بعدی و از سوی دیگر نحوه حرکت زنجیره‌های جانبی و غیره را مهیا می‌کند. همچنین، می‌توان به بررسی جهش پروتئین‌های هدف و تاثیر آن در مقاومت داروئی و عرضه جایگاه فعال پروتئین پرداخت. بررسی شیوه اتصال و میزان اشغال کنندگی گیرنده هدف توسط لیگاند و قدرت اتصال نیز از دیگر کاربری‌های این روش می‌باشد. در ادامه مقاله در این رابطه بیشتر صحبت خواهد شد.

کمپلکس‌های لیگاند-ماکرومولکول

عموماً مطالعات دینامیک مولکولی که در مقالات گزارش می‌شوند بر روی کمپلکس‌های دارو-هدف تمرکز می‌کنند که از روش‌های بیوانفورماتیک جهت روشن کردن نحوه اتصال یک لیگاند به خصوص به هدف بیولوژیک آن استفاده می شود (۲۸). تمامی مقالات چاپ شده در این زمینه را می توان به دو بخش مقالات بررسی کننده‌ی پروتئین‌های سیتوپلاسمی انسان و مقالات بررسی کننده پروتئین‌های غشایی انسان تقسیم کرد. همچنین برخی مقالات نیز به بررسی نوکلئیک اسیدها و پروتئین‌های ویروسی و باکتریایی می‌پردازند. با این وجود، در این مقاله تنها مطالعات صورت گرفته بر اجرام عفونی بررسی شده است.

ویروس‌ها، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و کمپلکس‌های دارو-هدف

علاوه بر توصیف حالت اتصال لیگاند به پذیرنده، تحقیقات ساختاری رایانه‌ای می‌تواند به درک بهتر علل مقاومت مکانیکی که از طریق پروتئین‌های ویروسی و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا ایجاد می‌شود، کمک کنند. با این حال، دینامیک مولکولی به طور گسترده‌ای توسط شیمیدان‌های دارویی جهت بررسی پروتئین‌های هدف از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مورد استفاده قرار می‌گیرد. در ادامه به بررسی آخرین کاربردهای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در مورد پروتئین‌های هدف از باکتری‌ها، ویروس‌ها و پروتوزئرها پرداخته شده است.

مطالعات انجام شده بر روی برخی ویروس های طیور

در مطالعه بررسی اثر ضد برونشیت عفونی cineole-۱,۸ با تاثیر بر پروتئین نوکلئوکپسید (N)، پس از انجام آزمایش MTT، داکینگ و دینامیک مولکولی صورت گرفت. نتایج داکینگ و تائید دینامیکی آن نشان داد که محل اتصال دارو در سمت انتهای N پروتئین نوکلئوکپسید بوده و انرژی مناسب اتصال می‌باشد. همچنین باقیمانده های TyrA۹۲، ProA۱۳۴، PheA۱۳۷، AspA۱۳۸ و TyrA۱۴۰ نقش مهمی در طی فرآیند اتصال داشته و تقریباً به طور کامل در سویه‌های مختلف IBV حفاظت شده است (۵۱). همچنین ساختار گلیکوپروتئین الحاقی ویروس بیماری نیوکاسل (خانواده پارامیکسوویریده)، برای بررسی سازوکار عملکردی آن با ارزیابی‌های دینامیکی و مدلینگ، مورد بررسی قرار گرفته و نتایج این مطالعه رهنمودهایی برای کشف راه‌های مقابله کارا تر و درک

بهتر فیزیولوژی ویروس ارائه داد (۵۱). در پژوهشی دیگر، خصوصیات دینامیکی پوشش ویروس نیوکاسل و ارتباط با گلیکوپروتئین های غشایی هماگلوتینین و نورامینیداز مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تحقیقاتی بر روی اثرات پپتیدها بر فیوژن پروتئین ویروس نیوکاسل پرندگان انجام شده است (۵۲). در یک پژوهش دیگر نیز آثار مهاری مشتقات دی هیدروپریمیدین و 5H-thiazolo با روش های QSAR، داکینگ و دینامیک مولکولی علیه پروتئین‌های هماگلوتینین و نورآمینیداز ویروس نیوکاسل مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که مشتقات ۴b و ۶b اثرات بهتری دارند (۲).

ویروس‌های خانواده نقصان ایمنی انسانی و دامی

مبارزه با HIV-1 و ویروس‌های هم خانواده آن در حیوانات (مانند ویروس نقصان اکتسابی ایمنی گاو (BIV) و ویروس نقصان اکتسابی ایمنی گربه (FIV) چالشی همیشگی برای برای محققین شاغل در حوزه‌های پزشکی و دامپزشکی است. در ادامه چندین مثال از کاربرد دینامیک مولکولی در زمینه طراحی راهبردهای درمانی علیه HIV-1 شرح داده است که در آنها پروتئین پروتئاز (HIV Protease) HIV-1، پروتئین رونوشت‌بردار معکوس (HIV reverse transcriptase) HIV و پروتئین اینتگراز HIV (HIV IN) در میان سایر پروتئین‌ها مورد هدف قرار گرفته‌اند.

HIV PR

مهار آنزیم پروتئازHIV می‌تواند توانایی ویروس را برای تکثیر و آلوده کردن سایر سلول‌ها مختل کند. Indinavir، Durenavir و Saquinavir داروهای ضد HIV هستند که HIV PR را هدف قرار می‌دهند. در مطالعه‌ی مهارگرهای جدید، ترکیبات جدید بر پایه فولرین طراحی و به صورت مورد بررسی قرار گرفتند. سپس ساختار مهارگر به صورت جزئی با Darunavir جهت مقایسه مکانیسم اتصال و نفوذپذیری غشاء سلول ارزیابی شد. محققین از دینامیک مولکولی جهت شناسایی حالت‌های مختلف اتصالی Darunavir که می‌تواند دایمریزه شدن HIV PR را مهار کند، استفاده کردند. همچنین دینامیک مولکولی به منظور درک سازوکارهای مقاومت HIV PR، موتانت‌های آنزیم و تاثیر جهش‌های آن بر روی مهار اتصال به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات بسیاری جهش‌های تکی، دوتایی و سه‌تایی و ترکیب‌های داروئی را گزارش کرده‌اند. برای نمونه می‌توان در بین این تحقیقات به مطالعات داروهای Indinavir و Saquinavir اشاره کرد (۳).

HIV RT

این پروتئین برای تکثیر HIV مورد نیاز است و بنابراین مهارگرهای آن به طور گسترده‌ای به عنوان داروهای ضد رتروویروسی استفاده می‌شوند. بررسی موشکافانه مکانیسم مهار HIV RT و تاثیر اتصال مهارگرهای RT غیر نوکلئوزیدی بر حرکت دامنه نشان داد که نمونه‌ای از صورت‌بندی‌ها در حالت‌های باز و بسته زمانی‌که آنزیم به Efavirenz متصل می‌شود باید وجود داشته باشد. همچنین سایر کلاس‌های مهارگرهای RT (مهارگرهای نوکلئوزیدی RT) در مطالعات محاسباتی مورد بررسی قرار گرفتند. مطالعات از دو رهیافت متفاوت مبتنی بر دینامیک مولکولی شامل روش Free-energy perturbation (FEP) و روش مسیر (Pathway) که لیگاند از جایگاه فعال کنار گذاشته شود استفاده کردند؛ بنابراین پتانسیل نیروهای متوسط (Potential of Mean Forces) برای روند اتصال ارائه شد (۳).

HIV IN

مهار یکپارچه شدن DNA ویروسی به درون DNA کروموزومی سلول میزبان زمینه مهم و جدید دیگری را در تحقیقات درمان HIV-۱ به وجود آورده است. محققان یک مدل سه بعدی کامل به روش هومولوژی از پروتئین HIV از ویروس IN ساختند. سپس برای مطالعات بیشتر DNA ژنومی ویروس، یون منگنز و مهارگر Raltegravir در جایگاه اتصال IN با روش دینامیک مولکولی انطباق داده شد، که این امر در نهایت منجر به پیشنهاد مکانیسم جدیدی برای نحوه اثر مهارگری این لیگاند گردید (۳). جهت تعیین مکانیسم مهاری IN توسط ترکیب شیمیایی Diketo acid (DKA)، شبیه‌سازی‌های مقایسه‌ای دینامیک مولکولی با سه مهارگر برگزیده DKA انجام شد. میانکنش‌های اختصاصی لیگاند-پروتئین مشخص شده و ارتباط ساختار-فعالیت آن بوسیله محققین مورد بحث قرار گرفت (۳). همانند HIV PR، شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی چندگانه جهت بررسی تاثیر جهش‌های مقاومت‌زا بر اتصال مهارگرهای IN نظیر Elvitegravir، Raltegravir و Dolutegravir انجام گرفت (۳).

پروتئین‌های سطحی ویروس‌ها

گلیکوپروتئین‌های سطحی ویروس و شرکای واکنشگر آن‌ها در میزبان که درگیر مکانیسم ورود ویروس به سلول می‌شوند، به جهت پتانسیل بالقوه آنها به عنوان اهداف مناسب ضد HIV مورد بررسی قرار گرفته‌اند. به عنوان مثال، حالت اتصالی و میانکنش‌های پپتید مهارگر VIR۱۶۵ بر روی پروتئین فیوژن gp۴۱ (FP) با روش دینامیک مولکولی ارزیابی شد (۳). این کار منجر به غربالگری مجازی یک کتابخانه مجازی ساخته شده از ۲۱ واریانت پپتید جدید و کشف مهارگرهای FP HIV-1 gp۴۱ با فعالیت ضد ویروسی بهینه‌تر شد. همچنین دانشمندان به سبب فقدان داده‌های کریستالوگرافی با کیفیت بالا از کپسید HIV-1 جهت بررسی ساختار و دینامیک آن از روش دینامیک مولکولی استفاده کردند. این مطالعه یک مثال جالب از این مورد است که چگونه از روش تناسب انعطاف‌پذیر دینامیک مولکولی (Flexible fitting) که شامل اضافه کردن نیروها در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی است می‌توان بر محدودیت‌های نسبی مربوط به گرادیان نقشه چگالی به دست آمده با روش‌های آزمایشگاهی غلبه کرد (۳).

آنفولانزا

داروهای ضد ویروسی علیه ویروس‌های آنفولانزا به‌طور کلی به دو دسته مهارگرهای نورآمینیداز (NA) مانند Zanamivir و Oseltamivir و کانال پروتونی M۲ مانند مشتقات داروی آمانتان، تقسیم می‌شوند. متاسفانه، دریفت آنتی‌ژنیک ویروس مکرراً جهش‌های ژنتیکی را در جایگاه اتصال NA ایجاد می‌کند که منجر به مقاومت داروئی در میان سویه‌های ویروسی در طیور و انسان می‌شود. همانند بسیاری از تحقیقات ضد ویروسی، روند فعلی در تحقیقات داروهای ضد آنفولانزا استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای بررسی جهش در اسیدهای آمینه و تاثیر آن‌ها بر اتصال

مهار کننده است. همین روند در سرطان‌ها نیز انجام می شود (۴۰).
چندین مطالعه نیز از شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی جهت بررسی تاثیر جهش‌های جایگاه فعال بر روی کارائی مهارگر در ساب‌تایپ‌های مختلف NA به کار گرفته شد و بدین ترتیب قادر به ردیابی نواحی حساس به جهش شدند. به علاوه، به کاربردن دینامیک مولکولی در بررسی پروتئین NA سبب شناخت نحوه شکل‌گیری پل نمکی که ممکن است کانفورمیشن‌های جایگاه فعال را پایدار کند، یا روش‌سازی تاثیر کوفاکتورهای غیر ارگانیک نظیر منیزیم، می‌شود (۳۳). همچنین در یک مطالعه جالب توجه، از روش دینامیک مولکولی جهت ساخت شبیه‌سازی‌های چندگانه با زمان اجرای ۵۰۰ در مقیاس نانوثانیه برای پروتئین NA ویروس پاندمیک آنفولانزا H۱N۱ سال ۲۰۰۹، در کمپلکس با مهارگر اسلتامی‌ویر (Oseltamivir) استفاده شد. در طول این شبیه‌سازی‌ها، رخدادهای اتصال و جدا شدن دارو مشاهده شده و مولکول های آب در ناحیه اتصال لیگاند- پذیرنده مشخص گردید و این مولکول‌ها پایدار شدن دارو در جایگاه فعال را تقویت می‌کردند (۳). مهار کانال‌های تراغشائی استراتژی دیگری جهت مقابله با آنفولانزا است. بهترین مهارگرهای کانال پروتون M۲ ویروس A آنفولانزا آمانتادین و ریمانتادین هستند. بلوکه شدن این کانال از اسیدی شدن هسته داخلی ویریون جلوگیری کرده و بنابراین ویروس تجزیه نمی‌شود (در نتیجه تکثیر ویروس مختل می شود). همچنین در مطالعه مشابه دیگری، مکانیسم بلوک کانال‌های M۲ با مشتقات آمانتان و نیز اثر جهش‌های کانال آنیونی بر روی اتصال آن‌ها با استفاده از روش دینامیک مولکولی مورد بررسی قرار گرفت (۲۳).
پیشگویی ترجیحات اتصال آنفولانزای پرندگان A به رسپتور انسانی با استفاده از آنالیز کانفورمیشنال اتصال رسپتور به هماگلوتینین نشان داد که جهش در قسمت هماگلوتینین به رسپتور به چه صورت می‌تواند سبب تغییر میزبان ویروس شود.

ویروس‌های خانواد هپاتیت C

برای درک تاثیر جهش‌های باقیمانده کلیدی و تاثیر متقابل در توسعه مقاومت دارویی، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با سرین پروتئازهایی از ویروس هپاتیت (C HCV) که می‌تواند مدلی برای سایر ویروس‌های حیوانی نیز باشد، انجام شده است. برای نمونه، اتصال کوتیمایدها در سایت فعال از نوع V۵۵ سرین پروتئاز NS۳ مورد بررسی قرار گرفت. همچنین دینامیک مولکولی می‌توان به عنوان روش تکمیل‌گر بررسی پروتئین های سطحی ایمونوژن گونه‌های مختلف ویروس‌های عامل هپاتیت کمتر شناخته شده، استفاده شود (۳۸). HCV RNA پلیمراز NS۵B یکی دیگر از پروتئین‌هایی است که برای درمان ضد ویروسی مورد هدف قرار گرفته است. باراکت و همکاران (۳) یک کلاس از مولکول‌های نوکلئوزید / نوکلئوتید را درون سایت فعال شش ژنوتیپ اصلی HCV NS۵B را ارزیابی کرده و تعاملات متقابل و حالت مهارکننده‌های NS۵B-نوکلئوتیدی با ترکیب شبیه‌سازی دینامیک مولکولی با روش MM-PBSA را مورد بررسی قرار دادند. RNA پلی مراز NS۵B ویروس HCV پروتئین دیگری است که برای درمان ضد ویروسی مورد هدف قرار گرفته است. باراکت و همکاران (۳) یک کلاس از مقلدهای نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی را در جایگاه فعال شش ژنوتیپ اصلی HCV از NS۵B را مطالعه کردند. همچنین میانکنش‌های اتصالی و حالت مهاری مهارگرهای نوکلئوتیدی NS۵B مورد بررسی قرار گرفت و شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی با روش MM-PBSA ترکیب گردید.

باکتری‌های گرم منفی

آمینوگلیکوزیدها آنتی بیوتیک‌هایی هستند که به طور ویژه‌ای به RNA ناحیه A رمزگشا (decoding A-site RNA) در واحد کوچک ریبوزومی باکتری متصل می‌شوند و به طور گسترده‌ی برای درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده شده است. با این وجود، باکتری بیماری‌زا یک مکانیسم مقاومت را با سم‌زدایی آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق تغییر کووالان توسعه داده‌اند. غیرفعال‌سازی آمینوگلیکوزیدی می‌تواند با ANT(۴درصد) که انتقال یک گروه آدنیل را از ATP به ناحیه O-۴ از بخش آمینوگلوکز کاتالیز می‌کند، واسطه‌گری شود. جهت درک مکانیسم‌های پس از عملکرد بی قائده سوبسترا، در یک آنالیز جامع تجربی و نظری فرآیند شناسایی مولکولی که منجر به غیرفعال‌سازی آنتی بیوتیک به‌وسیله این نوکلئوتیدیل ترانسفراز می شود را دنبال کردند (۱).
نگرشی به مکانیسم مقاومت داروئی باکتری‌های گرم منفی در مطالعه کمپلکس تریمریک AcrB–ToIC که مهمترین ناقل باکتری‌های گرم منفی است، گزارش شده است. این مطالعه یک اساس ساختاری را برای حرکت دودی AcrB مهیا کرد که برای اتصال چند ناحیه‌ای دارویی آن مهم است (۹). علاوه بر این، یک مطالعه تجربی اندازه‌گیری کمّی خروج فعال سفالوسپورین‌ها توسط AcrB در باکتری اشرشیا کلی را گزارش می‌دهد که حضور همزمان سوبسترای دیگری مانند کلرامفنیکل می‌تواند به طور قابل توجهی خروج آن‌ها را افزایش دهد (۲۸). فرضیه محققین این بود که AcrB برای پمپاژ سریع مولکول‌های حلال یا کلرامفنیکول به خارج ساخته شده است و بنابراین خروجی سفالوسپورین‌ها، که احتمالاً به زیرواحدهای مختلف درون پاکت بزرگ اتصالی AcrB متصل می‌شوند، می‌تواند تسهیل شود. شبیه‌سازی‌های اتصال لیگاند به AcrB به روش داکینگ و دینامیک مولکولی می‌تواند جهت تقویت نتایج تجربی و گسترش این فرضیه هدایت شود.

باکتری بروسلا

باکتری بروسلا (Brucella) بیماری زئونوتیک (مشترک بین انسان و دام) بسیار مهمی در سراسر دنیا به حساب می‌آید. از این رو شناسایی، ساخت واکسن، کیت و دارو علیه این ارگانیسم (به خصوص بروسلا ملی‌تنسیس (*Brucella melitensis*) و بروسلا آبورتوس (*Brucella abortus*) برای انسان و دام بسیار مهم است (۱) این ارگانیسم واجد پروتئین‌هایی جهت اهداف ایمونولوژیک (واکسنی) و داروئی می‌باشد. جایگاه فعال آنزیم نوکلئیک هیدرولاز بروسلا سوئیس یکی از اهداف دینامیک مولکولی است (۲۷) و فعالیت مهاری گروهی از ترکیبات علیه آنها مورد بررسی قرار گرفته است. همین عملیات بر روی آنزیم Phosphoribosyl-AMP cyclohydrolase (HisI) از بروسلا ملیتنسیس انجام شد و در نهایت پس از غربالگری ۵۰۰ ترکیب مستخرج از پایگاه داده Zinc ترکیبات با انرژی اتصال بهتر در داکینگ جهت ارزیابی پایداری و نحوه نوسان لیگاند در پاکت آنزیم HisI مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵).

از تکنیک دینامیک مولکولی برای ارزیابی افکتور رونویسی rho نیز در بروسلا ملیتنسیس استفاده شده است (۳۲).

باکتری‌ها گرم مثبت

پپتیدوگلایکان که یک پلیمر حاوی قند است، با تشکیل یک سد از باکتری در مقابل تجاوزات خارجی محافظت کرده و به‌طور قابل توجهی در باکتری‌های گرم مثبت ضخیم‌تر است. لیگاز MurD به دلیل شرکت در گردهمآیی درون سلولی پپتیدوگلیکان، هدف مهمی برای عوامل بالقوه جدید ضد باکتریایی است. با استفاده از اطلاعات دینامیک ساختاری که با شبیه‌سازی هدفمند دینامیک مولکولی (targeted molecular dynamic) به دست آمد و تکنولوژی‌های Offpath simulation (OPS)، رهیافت طراحی دارو برای طراحی مهارگرهای لیگاز MurD حاصل شد (۲۸). در این پروژه، دینامیک مولکولی تکنیک شاخصی بود که برای جستجوی فضای کانفورمیشنال هدف استفاده شد و انعطاف‌پذیری آن بررسی و این امر منجر به شناسایی ترکیبات جدید با پتانسیل بالقوه مهاری بر علیه لیگاز Mur شد.

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس

Enoyl acyl protein carrier reductase InhA یک آنزیم کلیدی درگیر در مسیر سنتز زیستی نوع ۲ اسیدهای چرب باکتری گرم مثبت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (*Mycobacterium tuberculosis*) است. لی و همکاران (۲۴) پس از اثبات این که مهار آرام InhA با حرکات یک حلقه اتصال دهنده بستر substrate-binding loop (BSL) در نزدیکی مرکز فعال ارتباط دارد (۲۴)، این آنزیم را کریستاله کرده و به بررسی آن با دینامیک مولکولی پرداختند تا ساختار و تغییرات انرژتیک SBL که در طی مهار آنزیمی رخ می‌دهد، نقشه یابی کنند. چندین کانفورمیشن باز و بسته که درون SBL با موفقیت قرار گرفتند، سبب ارائه فرضیه‌ای برای نشان دادن حالت‌های متمایز به صورت دو مرحله‌ای در مختصات واکنش القایی برای مهار آنزیم شد. این حالت‌ها به عنوان نقطه پایانی برای شبیه‌سازی دینامیک مولکولی استفاده شد که منجر به ایجاد پروفایل‌های انرژی بالقوه دو بعدی (۲D) می‌شود. در این پژوهش، نویسندگان مانع انرژی بین کمپلکس‌های مختلف آنزیم-لیگاند را نشان داده و کینتیک‌های اتصال مشاهده شده با مهار کننده‌های مختلف به طور منطقی مورد توجیه و تفسیر قرار دادند. آنزیم مهم دیگر مایکوباکتریوم توبرکلوزیس که در مطالعات جدید طراحی دارو با شرکت روش دینامیک مولکولی مورد هدف قرار گرفته، آنزیم Trans-enoyl-acyl carrier protein reductase-۲ است. کمپلکس غیر ارگانیک (Pentacyano(isoniazid) ferrate(II) (PIF)، که آنزیم ردوکتاز مایکوباکتریوم را مهار می‌کند، موضوع تحقیقات کوستا و همکاران (۶) بود. این پژوهشگران حالت اتصال PIF مطالعه شده و تغییرات کانفورمیشنال آنزیم حاصل از آن مورد بررسی قرار گرفت.

کلستریدیوم بوتولینوم

باکتری کلستریدیوم بوتولینوم پروتئینی تولید می‌کند که توکسین بوتلونیوم نامیده می‌شود. برای معرفی مهارگرهای جدید با خاصیت قرارگیری در خارج از ناحیه پاکت متالوپروتئیناز روی نوروتوکسین بوتولینوم سروتایپ A (BoNT/A)، هو و همکاران (۱۷) آنالیزهای محاسباتی گسترده‌ای را با استفاده از مهارگرهای شناخته شده lomofungin و D-chicoric acid انجام دادند. این مطالعات ساختاری، منجر به ایجاد زیرساخت-های انجام غربالگری مجازی شده است که بهره‌گیری از آن شناسایی و توسعه‌ی روش‌های جدید درمانی علیه مسمومیت BoNT/A را به دنبال داشته است.

پرتوزوآ

تریپانوزوم بروسئی

عامل مسبب بیماری خواب که توسط پشه تسه تسه منتقل می‌شود را می‌توان با هدف قرار دادن یکی از اجزای ماشین ادیتوزوم سلولی آن ارگانیسم به نام RNA editing ۳' terminal uridylyl transferase ۲ مهار کرد. با بکارگیری روش All-atom explicitly solvated MD simulations توسط دمیر و امارو (۸) اثر اتصال نوکلئوتیدی بر ساختار و دینامیک RET۲ مطالعه شد. سوبستراهای نوکلئوزید تری فسفات متفاوتی مورد بررسی قرار گرفتند و نشان داده شده که UTP ناحیه اتصالی را از طریق Extensive water-mediated H-bonding network از پیش طوری سازماندهی می‌کند که با Cytidine ۵-triphosphate و نه ATP قابل دسترسی نباشد. به علاوه، نحوه اتصال به لیگاند RET۲ آن بر مبنای سرهم‌بندی‌های کانفورمیشنال دینامیک مولکولی و نقشه‌یابی محاسباتی قطعه به دست آمد. RET۲ تریپانوزوم بروسئی (*Trypanosoma brucei*) پاکت اتصالی متفاوتی را در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی اتصال apo و UTP نشان داد و نویسندگان این امر را به عنوان هدفی برای طراحی داروهای آینده برای این عامل عفونی مطرح کردند.

پلاسمودیوم فلسی پاروم

فلسیپائین ۲ (FP۲) (Falcipain-2) یک پروتئاز از پلاسمودیوم فلسیپاروم (*Plasmodium falciparum*) است که در تخریب هموگلوبین نقش دارد و به عنوان یک هدف ارزشمند برای توسعه داروهای ضد مالاریا جدید مطرح است. چون دانسته‌ها در مورد مهار FP۲ محدود است، با بهره‌گیری از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی، مهار FP۲ بوسیله اپوکسی سوکسینات E64 انجام شد تا تصویر کاملی از مسیرهای ممکن واکنش‌های انرژی آزاد به دست آید. دومین رهیافت درمانی علیه مالاریا، مهار انتخابی مولکول چاپرون Hsp۹۰ پاتوژن پروتئوزوئری پلاسمودیوم فلسی‌پاروم است. با استفاده از دینامیک مولکولی، مشخص شد که پاکت اتصال به ATP آنزیم در پلاسمودیوم فلسی‌پاروم دارای فرمت خاصی است که توالی پوشاننده با Hsp۹۰ انسانی مشابه است، ولی از نظر ساختار سه بعدی و دینامیک متفاوت است. با استفاده از این بینش‌ها برای غربالگری داروئی مبتنی بر ساختار، یک ترکیب جدید azaindole-۷ کشف گردید که به‌طور اختصاصی به انتهای N دومین نوترکیب Hsp۹۰ از پلاسمودیوم فلسی‌پاروم متصل می‌شد، بدون اینکه به دومین Hsp۹۰ انسانی متصل شود (۵۰). فارغ از نوع انگل که تک یاخته‌ای باشد یا کرم یا کنه، اپی توپ‌های به دست آمده از روش‌های ایمونوانفورماتیک یا سازه‌های واکسنی و ایمونوژن حاصل از آن‌ها در انگل‌ها در گام پایانی برای تکمیل مراحل طراحی و اعتبار سنجی جهت ارزیابی کنفورماسیون فضایی باید مورد بررسی دینامیک مولکولی

و خواص فیزیکی شیمیایی آنها در محیط آبی قرار گیرند (۳۸ و ۳۹).

چالش‌های آینده دینامیک مولکولی

علی رغم امکان استفاده از دینامیک مولکولی در مراحل مختلف یک پروژه کشف دارو، با این وجود محدودیت‌های این تکنیک را می توان در هنگام مواجهه مولکول‌های کوچک در هنگام اتصال به یک هدف بیولوژیک مشاهده کرد. محدودیت عمده دینامیک مولکولی مقیاس زمان شبیه‌سازی است (به طور کلی از ۱۰-۹ ثانیه به ۱۰-۶ ثانیه) که در مقایسه با مقیاس زمان واقعی آزمایش به شدت کاهش یافته است. توسعه سخت افزار ویژه برای شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی که امکان افزایش زمان شبیه‌سازی را با استفاده از محاسبات سریع‌تر فراهم می‌کند، امکان پیشگیری از این مشکل را فراهم می‌کند.

ساخت کانفورمیشن‌های گوناگون، مرتبط و به خوبی توزیع شده‌ی لیگاند، حوزه دیگری از دینامیک مولکولی است که در حال توسعه مستمر است. کمپلکس پروتئین لیگاند شامل هزاران درجه آزادی است که منجر به یک سطح پتانسیل پیچیده با حوزه‌های چندگانه انرژی می‌شود. از این رو، جستجوی کارآمد و نمونه‌برداری از فضاهای کانفورمیشنال می‌تواند بسیار دشوار باشد؛ بنابراین، دقت شبیه‌سازی دینامیک مولکولی را محدود می‌کند. چندین روش برای افزایش میزان نمونه‌گیری پیشنهاد شده است (۲۱, ۴۶). این روش‌ها را می‌توان به چهار دسته تقسیم‌بندی کرد ۱) اصلاح سطح انرژی بالقوه؛ ۲) جستجوی چندگانه و نمونه برداری؛ ۳) مقیاس پارامترهای سیستم و ۴) کاهش تعداد درجه‌های آزادی.

نمونه‌هایی از دسته اول عبارتند از AMD ،SMD ،TMD که در بعضی از مقالات مورد بحث، قبلاً مورد استفاده قرار گرفته است و همچنین ارتفاع محلی (Local elevation)، که در آن چاهک‌های انرژی بالقوه سطح جهت فعال کردن عبور از موانع انرژی بالا برده یا پر شده است. همچنین روش دانه درشت متعلق به روش‌های نمونه‌گیری پیشرفته است چون سبب کاهش تعداد درجه آزادی شده و سطح انرژی بالقوه را مسطح می‌کند (۲۹ و ۵۳).

هنگامی که با قطعات مولکولی برخورد می‌کنید، تغییرات ظریفی در ساختار تعادلی به سبب مقدار کم میانکنش‌های موجود، چالش برانگیز می‌شود. یک روش کاری جدید محاسباتی که "شناسایی سایت با اشباع رقابتی لیگاند (Site identification by ligand-competitive Saturation SILCS) نامیده می‌شود و در طراحی قطعه‌ای دارو استفاده شده است، با هدف شناسایی نواحی جدید اتصالی برای قطعات معرفی شده است. این روش از شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی اجسام حل شده و پروتئین مورد نظر جهت ساخت الگوهای افینیتی روی سطح هدف استفاده می‌کند و FragMaps نامیده می‌شود. ویژگی‌های FragMap سه بعدی می‌تواند به صورت ویژگی‌های فارماکوفوری عمل کند که این امر قابلیت استفاده در غربالگری مجازی را دارد (۲۹ و ۵۳).

یک نکته مهم در زمینه میدان‌های نیروئی بیومولکولی که معمولاً استفاده می‌شود، عدم توجه به اثرات قطبش الکترونیک به علت بارهای دائمی ثابت جزئی اتم است. سه روش متفاوت جهت معرفی قطبش‌پذیری به سه میدان نیروی کلاسیک پیشنهاد شده است: ۱) استفاده از نقاط دو قطبی قابل القا، ۲) استفاده از بارهای نوسان‌دار، و ۳) استفاده از ذره با بار اضافی متصل شده با یک پیوند هارمونیک، برای نمونه Drude oscillator، مدل شل (Shell model) یا Charge-on-spring (COS) model (۲۸). نمونه‌هایی از میدان‌های نیروی قطبش‌پذیر در مقالات AMOEBA (atomic multi-pole optimized energetics for Biomolecular applications) است که از رویکرد دوقطبی القاء متقابل (Interactively induced dipoles approach) استفاده می‌کند (۴۴). همچنین میدان نیروی مبتنی بر CHARMM از بارهای نوسان‌دار استفاده می‌کند و میدان‌های نیروی جدیدتر از Drude oscillator سنتی استفاده می‌کند. با این وجود، فرمول‌بندی یک میدان نیروی کارآمد و قطبش‌پذیر عمومی، با اهمیت بوده و پیشرفت در این زمینه نسبتاً کند است.

بحث و نتیجه‌گیری

در طول دو دهه اخیر درک و فهم چشمگیری نسبت به روند بیماری‌ها و هدف‌های درمانی رخ داده است. با ابزارهای موجود بیوانفورماتیک و توالی‌یابی داده‌ها، احتمالاً این روند افزایش هدف‌های دارویی در سال‌های آینده ادامه خواهد داشت، آن‌گونه که در مورد گیرنده‌های G-Protein متصل به گیرنده، این امر رخ داده است. با افزایش قدرت محاسبه و ادامه یافتن پیشرفت‌ها در کارایی کدهای شبیه سازی و الگوریتم های سریعتر آینده‌ی روش‌های *in silico* درخشان خواهد بود. شبیه‌سازی های دینامیک مولکولی احتمالاً نقش مهم فزاینده‌ای در فهم ارتباط ساختار و عملکرد هدف‌های دارویی و توسعه درمان‌های جدید بازی خواهند کرد. از نقطه نظر هدف، دینامیک مولکولی امکان بررسی فضای کانفورمیشنال آن و مکانیسم کاتالیتیک پروتئین/DNA، که اطلاعات کلیدی برای درک اتصال دارو به هدف می‌دهد را فراهم می‌آورد. همچنین پیش‌بینی سایت‌های آلوستریک اطلاعات ارزشمندی را برای طراحی مهارکننده-های جدید برای پروتئین‌های هدف مهیا می‌کند که در نهایت انتخابی بودن را در مقایسه با اتصال لیگاند به مرکز فعال یک هدف افزایش می‌یابد (۲۸). تأثیر یک جهش در تاخوردگی پروتئین یا نحوه اتصال یک لیگاند در مطالعات متعدد در زمینه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا یا سرطان (۴۰)، منجر به درک بهتر مکانیسم‌های مقاومت و راهبردهای بالقوه برای غلبه بر آن‌ها می‌شود، مورد بررسی قرار گرفته است. از دیدگاه لیگاند، بیشتر مطالعات در این زمینه بر حالت اتصال و انتخابیت هدف آن متمرکز شده است (۲۸). دینامیک مولکولی می‌تواند به شیوه-ای منطقی کمک به درک حالت عمل (Mode of action) و ساختارهای شیمیایی با توجه به اثر بیولوژیکی آن‌ها بهبود بخشد. همچنین، برخی از محققان فرایند ورود و خروج لیگاندها در محل اتصال آنها را بررسی کردند، که منجر به نتایج قابل توجهی گردید که با پشتیبانی منابع محاسباتی فوق العاده کارآمد جمع آوری شده است (۲۸).

گروه‌های پژوهشی زیادی که در حوزه بیوانفورماتیک فعالیت دارند، رویکردهایی را برای پیش‌بینی پاسخ‌های بیولوژیکی لیگاندها توسعه داده‌اند و استراتژی آنها را اعتبار بخشیده‌اند. یک بررسی مقایسه‌ای با مطالعاتی که محاسبات و داده‌ها از سایر تکنیک‌های تجربی به دست آمده، نشان می‌دهد که چگونه دینامیک مولکولی عمیقاً نقش بلقوه‌ای در استراتژی طراحی داروهای فعلی دارد (۲۸). همچنین، ترکیب نتایج تجربی معتبر با دینامیک مولکولی می‌تواند بینشی را نسبت به دینامیک یک هدف درمانی در یک سطح مولکولی سبب شود، که به نوبه خود این

موضوع می‌تواند اطلاعات مهمی را در مورد نحوه عمل یک پروتئین یا مکانیسم مهار لیگاند را آشکار کند. دینامیک مولکولی در حال حاضر یک روش کلیدی برای درک مکانیسم‌های آنزیمی و طراحی قوی و انتخاب عناصر با قابلیت اتصال به هدف مورد استفاده است. علیرغم چالش‌های اصلی نظیر توسعه دقیق‌تر میدان‌های نیرو و گسترش زمان شبیه‌سازی که دینامیک مولکولی با آن مواجه است، آینده بسیار امید بخشی برای این فناوری در زمینه تولید فرآورده‌های بیولوژیک، واکسن، آنتی بادی، ادجوانت و دارو را می‌توان متصور بود.

منابع مورد استفاده

1- Alamian, S., M. Esmaelizad, T. Zahraei, A. Etemadi, M. Mohammadi, D. Afshar and S. Ghaderi. 2017. A Novel PCR Assay for Detecting *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. *Osong Public Health and Research Perspectives* 8,65.

2- Babu, K.R., V.K. Rao, Y.N. Kumar, K. Polireddy, K.V. Subbaiah, M. Bhaskar, V. Lokanatha and C.N. Raju. 2012. Identification of substituted [3, 2-a] pyrimidines as selective antiviral agents: Molecular modeling study. *Antiviral Research* 95: 118-127.

3- Barakat, K.H., J. Law, A. Prunotto, W.C. Magee, D.H. Evans, D.L. Tyrrell, J. Tuszynski and M. Houghton. 2013. Detailed computational study of the active site of the hepatitis C viral RNA polymerase to aid novel drug design. *Journal of Chemical Information and Modeling* 53: 3031-3043.

4- Brini, E., E.A. Algaer, P. Ganguly, C. Li, F. Rodríguez-Ropero and N.F. van der Vegt. 2013. Systematic coarse-graining methods for soft matter simulations–a review. *Soft Matter* 9, 2108-2119.

5- Childers, M.C. and V. Daggett. 2017. Insights from molecular dynamics simulations for computational protein design. *Molecular Systems Design & Engineering* 2: 9-33.

6- da Costa, A.L., I. Pauli, M. Dorn, E.K. Schroeder, C.-G. Zhan and O.N. de Souza. 2012. Conformational changes in 2-trans-enoyl-ACP (CoA) reductase (InhA) from *M. tuberculosis* induced by an inorganic complex: a molecular dynamics simulation study. *Journal of Molecular Modeling* 18: 1779-1790.

7- De Vivo, M., M. Masetti, G. Bottegoni and A. Cavalli. 2016. Role of molecular dynamics and related methods in drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry* 59: 4035-4061.

8- Demir, O.z. and R.E. Amaro. 2012. Elements of nucleotide specificity in the *Trypanosoma brucei* mitochondrial RNA editing enzyme RET2. *Journal of Chemical Information and Modeling* 52:1308-1318.

9- Dror, R.O., R.M. Dirks, J. Grossman, H. Xu and D.E. Shaw. 2012. Biomolecular simulation: a computational microscope for molecular biology. *Annual Review of Biophysics* 41: 429-452.

10- Durrant, J.D. and J.A. McCammon. 2011. Molecular dynamics simulations and drug discovery. *BMC Biology* 71: 1-9.

11- Frembgen-Kesner, T. and A.H. Elcock. 2006. Computational sampling of a cryptic drug binding site in a protein receptor: explicit solvent molecular dynamics and inhibitor docking to p38 MAP kinase. *Journal of Molecular Biology* 359: 202-214.

12- Genheden, S. and U. Ryde. 2015. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opinion on Drug Discovery* 10: 449-461.

13- Gogonea, V., D. Suárez, A. van der Vaart and K.M. Merz. 2001. New developments in applying quantum mechanics to proteins. *Current Opinion in Structural Biology* 11: 217-223.

14- Groenhof, G. 2013. Introduction to QM/MM simulations. Biomolecular Simulations: *Methods in Molecular Biology* 924:43-66.

15- Gupta, M., Y. Prasad, S.K. Sharma and C.K. Jain. 2017. Identification of Phosphoribosyl-AMP cyclohydrolase, as drug target and its inhibitors in Brucella melitensis bv. 1 16M using metabolic pathway analysis. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 35: 287-299.

16- Hospital, A., J.R. Goñi, M. Orozco and J.L. Gelpí. 2015. Molecular dynamics simulations: advances and applications. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*: AABC 8: 37-47.

17- Hu, X., P.M. Legler, N. Southall, D.J. Maloney, A. Simeonov and A. Jadhav. 2014. Structural insight into exosite binding and discovery of novel exosite inhibitors of botulinum neurotoxin serotype A through in silico screening. *Journal of Computer-aided Molecular Design* 28: 765-778.

18- Ivetac, A. and J. Andrew McCammon. 2010. Mapping the Druggable Allosteric Space of G-Protein Coupled Receptors: a Fragment Based Molecular Dynamics Approach. *Chemical Biology & Drug Design* 76: 201-217.

19- Kass, I., A.M. Buckle and N.A. Borg. 2014. Understanding the structural dynamics of TCR-pMHC interactions. *Trends in Immunology* 35: 604-612.

20- Kohlhoff, K.J., D. Shukla, M. Lawrenz, G.R. Bowman, D.E. Konerding, D. Belov, R.B. Altman and V.S. Pande. 2014. Cloud-based simulations on Google Exacycle reveal ligand modulation of GPCR activation pathways. *Nature Chemistry* 6:15-21.

21- Lei, H. and Y. Duan. 2007. Improved sampling methods for molecular simulation. *Current Opinion in Structural Biology* 17: 187-191.

22- Leimkuhler, B. and C. Matthews. 2015. Molecular Dynamics: With Deterministic and Stochastic Numerical Methods. Springer International Publishing, Springer.

23- Leonov, H., P. Astrahan, M. Krugliak and I.T. Arkin. 2011.

How do aminoadamantanes block the influenza M2 channel, and how does resistance develop? *Journal of the American Chemical Society* 133: 9903-9911.

24- Li, H.-J., C.-T. Lai, P. Pan, W. Yu, N. Liu, G.R. Bommineni, M. Garcia-Diaz, C. Simmerling and P.J. Tonge. 2014. A structural and energetic model for the slow-onset inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* enoyl-ACP reductase InhA. *ACS chemical biology* 9: 986-993.

25- Maithri, G., B. Manasa, S. Vani, A. Narendra and T. Harshita. 2016. Computational Drug Design and Molecular Dynamic Studies-A Review. *Biomedical Data Mining* 5:123-132.

26- Mallik, B. and D. Morikis. 2006. Applications of molecular dynamics simulations in immunology: a useful computational method in aiding vaccine design. *Current Proteomics* 3: 259-270.

27- Mancini, D.T., K.S. Matos, E.F. da Cunha, T.M. Assis, A.P. Guimaraes, T.C. Franca and T.C. Ramalho. 2012. Molecular modeling studies on nucleoside hydrolase from the biological warfare agent Brucella suis. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 30: 125-136.

28- Mortier, J., C. Rakers, M. Bermudez, M.S. Murgueitio, S. Riniker and G. Wolber. 2015. The impact of molecular dynamics on drug design: applications for the characterization of ligand–macromolecule complexes. *Drug Discovery Today* 20: 686-702.

29- Mortier, J., C. Rakers, R. Frederick and G. Wolber. 2012. Computational tools for *in silico* fragment-based drug design. Current Topics in Medicinal Chemistry 12: 1935-1943.

30- Nair, P.C. and J.O. Miners. 2014. Molecular dynamics simulations: from structure function relationships to drug discovery. *In SilicoPharmacology* 2: 1-4.

31- Pappalardo, F., V. Brusic, M. Pennisi and G. Zhang. 2015. Advances in computational immunology. *Journal of Immunology Research* 2015: 1-3.

32- Pradeepkiran, J.A., K.K. Kumar, Y.N. Kumar and M. Bhaskar. 2015. Modeling, molecular dynamics, and docking assessment of transcription factor rho: a potential drug target in *Brucella melitensis* 16M. Drug design, *Development and Therapy* 9: 1897-1912.

33- Rakers C., S.-M. Schwerdtfeger, J. Mortier, S. Duwe, T. Wolff, G. Wolber and M.F. Melzig. 2014. Inhibitory potency of flavonoid derivatives on influenza virus neuraminidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 24: 4312-4317.

34- Ranjbar, M., Ataei Kachooei, S., Matin, M. 2017. Study of structural variations and phylogeny of DQA from MHC class II in cattle. *Veterinary Researches & Biological Products. Veterinary Researches and Biological Products* 30: 34-42 (In Farsi).

35- Ranjbar, M., S. Ataei, G. Nikbakht and S. Golabdar. 2017. Analysis of variations, structures, and phylogenic characteristics of bovine leukocyte antigen DRB3 exon2. *Archives of Razi Institute* 72,147-157.

36- Ranjbar, M., D. Mosavi Nasab, A. Ghelian chian, A. Nazoktabar, M. Ahmadi, R. Khoshnevisan, S. Esfandiari, J. Vafaee Manesh and A. Akbari. 2013. Immnoinformatics and epitope prediction methods dynamic science with promising achievements. *Journal of Ilam University* 21: 300-309.

37- Ranjbar, M.M., V. Assadolahi, M. Yazdani, D. Nikaein and B. Rashidieh. 2016. Virtual dual inhibition of COX-2/5-LOX enzymes based on binding properties of alpha-amyrins, the anti-inflammatory compound as a promising anti-cancer drug. *Excli Journal* 15: 238-245.

38- Ranjbar, M.M., S. Golabdar and M. Khajoei. 2014. Chemoinformatic: An effective and strong knowledge in designing of new drugs. *Pejvad* 3,45-49 (In farsi).

39- Ranjbar, M.M., A. Nayeb Ali, K. Ghorban, A. Ghalyanchi Langeroudi, M. Dadmanesh, H.-R. Amini and B. Sedighi Moghaddam. 2015. Immnoinformatics: Novel view in understanding of immune system function, databases and prediction of immunogenic epitopes. *Koomesh*,18-26 (In Farsi).

40- Rashidieh, B., M. Valizadeh, V. Assadollahi and M.M. Ranjbar. 2015. Molecular dynamics simulation on the low sensitivity of mutants of NEDD-8 activating enzyme for MLN4924 inhibitor as a cancer drug. *American Journal of Cancer Research* 5: 3400-3406.

41- Riniker, S., J.R. Allison and W.F. van Gunsteren. 2012. On developing coarse-grained models for biomolecular simulation: a review. *Physical Chemistry Chemical Physics* 14:12423-12430.

42- Satoh, A. 2010. Introduction to practice of molecular simulation: molecular dynamics, Monte Carlo, Brownian dynamics, Lattice Boltzmann and dissipative particle dynamics. Elsevier, London.

43- Schames, J.R., R.H. Henchman, J.S. Siegel, C.A. Sotriffer, H. Ni and J.A. McCammon. 2004. Discovery of a novel binding trench in HIV integrase. *Journal of Medicinal Chemistry* 47:1879-1881.

44- Shi, Y., Z. Xia, J. Zhang, R. Best, C. Wu, J.W. Ponder and P. Ren. 2013. Polarizable atomic multipole-based AMOEBA force field for proteins. *Journal of Chemical Theory and Computation* 9: 4046-4063.

45- Stavrakoudis, A. 2010. Conformational flexibility in designing peptides for immunology: the molecular dynamics approach. *Current Computer-aided Drug Design* 6: 207-222.

46- Tai, K. 2004. Conformational sampling for the impatient. *Biophysical Chemistry* 107: 213-220.

47- Vanommeslaeghe, K. and O. Guvench. 2014. Molecular me-

chanics. *Current pharmaceutical design* 20: 3281-3292.

48- Vlachakis, D., E. Bencurova, N. Papangelopoulos and S. Kossida. 2014. Current state-of-the-art molecular dynamics methods and applications. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* 94: 269-313.

49- Wassman, C.D., R. Baronio, Ö. Demir, B.D. Wallentine, C.-K. Chen, L.V. Hall, F. Salehi, D.-W. Lin, B.P. Chung and G.W. Hatfield. 2013. Computational identification of a transiently open L1/S3 pocket for reactivation of mutant p53. *Nature Communications* 4: 1407.

50- Welsch, C., S. Schweizer, T. Shimakami, F.S. Domingues, S. Kim, S.M. Lemon and I. Antes. 2012. Ketoamide resistance and hepatitis C virus fitness in val55 variants of the NS3 serine protease. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56:1907-1915.

51- Yang, Z., N. Wu, Y. Fu, G. Yang, W. Wang, Y. Zu and T. Efferth. 2010. Anti-infectious bronchitis virus (IBV) activity of 1, 8-cineole: Effect on nucleocapsid (N) protein. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 28: 323-330.

52- Young, J.K., D. Li, M.C. Abramowitz and T.G. Morrison. 1999. Interaction of peptides with sequences from the Newcastle disease virus fusion protein heptad repeat regions. *Journal of Virology* 73: 5945-5956.

53- Yu, W., S.K. Lakkaraju, E.P. Raman and A.D. MacKerell. 2014. Site-identification by ligand competitive saturation (silcs) assisted pharmacophore modeling. *Journal of Computer-aided Molecular Design* 28: 491-507.