

Hullámvasúttal a fehérjék nyomában: a konformációs szabadentalpia-felületek feltérképezésétől a számítógépes gyógyszertervezésig

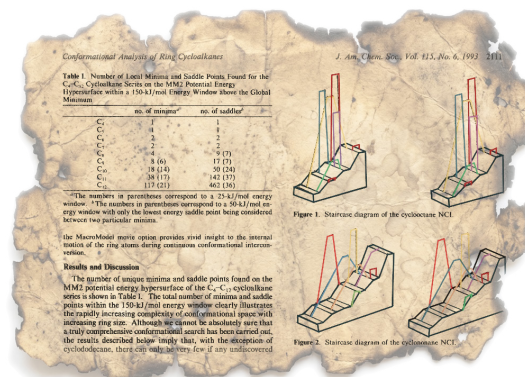
KOLOSSVÁRY István^{a,*}

^aFlagship Pioneering – Pioneering Intelligence, 55 Cambridge Pkwy, Cambridge, MA 02142, Amerikai Egyesült Államok

1. Bevezetés

Ez a rövid közlemény az MTA Nagytermében 2026. április 21-én megtartott székfoglaló előadásom kivonata.¹ A szerkezeti kémia és a molekuláris biológia egyik legfontosabb felismerése, hogy a molekulák szerkezete nem merev. A molekulaszervezeti mozgások megértése a modern originális gyógyszerkutatás alapvető feltétele. Az elméleti kémiából ismert potenciális energia (PE) felület egy rendkívül szemléletes matematikai modell, amely egy turistatérképhez hasonlóan, amely a hegyek között megbújó völgyek közötti átjárást mutatja meg a hágókon keresztül, egy molekula különböző állapotai közötti átmenetek számítógépes feltérképezését teszi lehetővé. A molekulák szerkezeti mozgásait, másszóval konformációs változásait egy hullámvasúton való utazásnak képzelhetjük el, amely a hegyek, völgyek és hágók sorát követve halad – és ez a kép végig kíséri a jelen dolgozatban összefoglalt, több mint három évtizedet átfogó kutatómunkát.

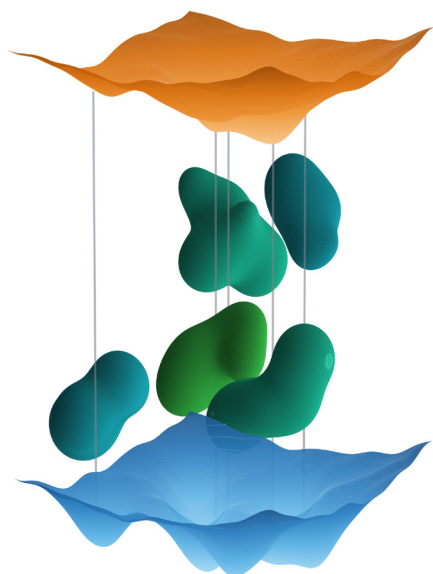
A kutatás a 4-12 szénatomos cikloalkánok konformációs analizisével kezdődött, ahogy erről az 1. ábrán bemutatott „megsárgult” különlenyomat tanúskodik. A cikloalkán gyűrűk teljes konformációs analízise során az MM2 PE felületen meghatároztuk az összes minimumot és nyeregpontot 25/50 kcal/mol energia ablakon belül, és feltérképeztük a konformációs átalakulások teljes hálózatát.² A legkisebb gáthoz tartozó átalakulási módok meglepően jól összehangolt, kollektív atomi mozgásként rajzolódtak ki (1. ábra). E munka kiterjesztéseként született meg a kisméretű, nagy amplitúdójú normálrezgések gyors számításán alapuló, hatékony konformációkeresési eljárás (*Low Mode Search*, LMOD).^{3,4} A kulcs gondolat – hogy a molekulaszervezeti mozgásokat kevés, kisméretű kollektív rezgési szabadsági fok ragadja meg – a fehérjék világában is meghatározó maradt, és így pl. elsőként tudtunk teljesen flexibilis dokkolást végezni a HIV integráz fehérjével,⁵ valamint nagyméretű fehérjehurkokat optimalni a JNK3 kinázban.⁶



1. ábra. A cikloalkánok konformációs átalakulási hálózatának „lépesódiagramjai” az 1993-as átfogó konformációs analizisből.² A diagramok – mint egy-egy hullámvasútpálya – a minimumokat és az őket összekötő legkisebb energiájú nyeregpontokat ábrázolják.

A fehérjék ugyanezt a hegyes-völgyes térkép logikát követik, egy lényeges különbséggel: itt a szintvonalak nem az energiát, hanem az egyes konformációk előfordulási valószínűségét jelölik. E valószínűség energia mértékegységben kifejezve kapjuk a *szabadentalpia* (SZE) felületet. A SZE felület minimumvölgyei a fehérje különböző, biológiailag releváns konformációinak felelnek meg, amelyek mindegyike más-más biológiai funkcióért felelős. Az egészséges fehérje a SZE felületen völgyről völgyre járva egyfajta táncot lejt, amit a sejt más fehérjékkel együtt az életet jelentő biokémiai körfolyamatokba koreografál össze (2. ábra). A SZE felület nézőpontjából számos betegség úgy értelmezhető, mint a hegyes-völgyes táj megváltozása (pl. mutáció hatására), ahol a módosult domborzat felborítja a fehérje gondosan koreografált táncát. A gyógyszertervezés legfőbb célja pedig az eredeti tánc helyreállítása. A 2. ábrán a kék felület az egészséges állapotot jelképezi, a narancssárga felület pedig a beteg állapotot. A két felület között jelképesen a fehérje különböző konformációit ábrázoltuk és a függőleges vonalak pedig a konformációk helyét jelölik ki a felületeken. A megváltozott domborzat megváltoztatja a konformációs valószínűségeket, és ez okozza a koreográfia felborulását.

* Levelező szerző. E-mail: ikolossvary@flagshipengineering.com



2. ábra. A fehérjekonformációk sematikus szabadentalpia-felülete mint egy 3-dimenziós térkép. Alul az egészséges felület (világoskék) a maga jól meghatározott minimumvölgyeivel; felül a megváltozott, „beteg” felület (sötét narancs) módosult domborzattal. A két felület között egy hipotetikus fehérje különböző konformációit ábrázoltuk a minimumok fölött, érzékelte a konformációs „táncot”.

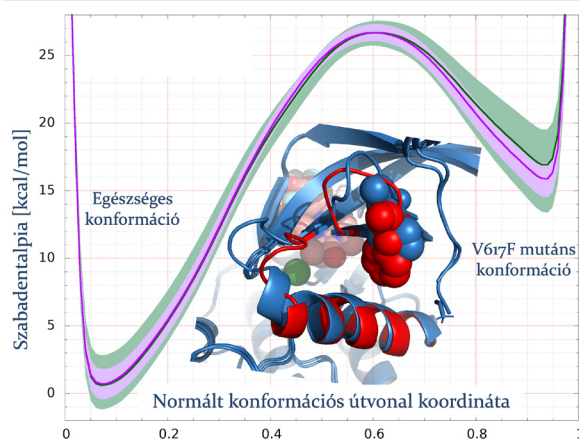
A fehérjék konformációs térképe összehasonlíthatatlanul bonyolultabb a 2. ábrán bemutatottnál, de a kísérletes szerkezetmeghatározás és az *AlphaFold*⁷ típusú szerkezetbecslés ma már bőséggel szolgáltat a minimumoknak megfelelő statikus szerkezeteket—a mozgás azonban nagyrészt rejtve marad. A hagyományos molekuladinamikai (MD) szimuláció a biológiailag fontos, mikroszekundumtól milliszekundumig (vagy tovább) tartó molekuláris folyamatok követésére általános felhasználású hardveren túlságosan lassú. E dolgozatban három, egymásra épülő megközelítést mutatunk be, amelyekkel a szabadentalpia-felület feltérképezését és a fehérjemozgás szimulációját asztali számítógépes léptékre hoztuk: (1) konformációs útvonal koordináta menti gyorsított mintavételezés; (2) a kovibrációs (együttrezgési) módok elmélete; (3) fizikai értelemmel felruházott, generatív gépi tanulás („utánégetős” molekuladinamika); és ezek gyógyszertervezési alkalmazásai.

2. A szabadentalpia-felület feltérképezése: konformációs útvonal menti kollektív változók és meta-eABF

A biológiailag releváns, nagy léptékű konformációs átmenetek tanulmányozásának kulcsa a *gyorsított mintavételezés* (enhanced sampling), amely a fázistér egy vagy több alkalmasan megválasztott kollektív változó (collective variable, CV) alterében nagyságrendekkel felgyorsítja a szimulációt, és egyúttal ad egy közelítést a CV tér SZE felületének domborzati viszonyaira. Munkánkban egy többlépéses eljárást dolgoztunk ki a fizikailag értelmezhető konformációs útvonal (path collective variable, PCV)

meghatározására és optimalizására.⁸ A PCV egy fokozatosan változó, fizikailag korrekt, deformált fehérje szerkezetekből (csomópontokból) álló „animációs” (morph) útvonal, amely két pl. Röntgen szerkezeti konformációt köt össze. Az útvonalat egy általunk kifejlesztett, anizotróp rezgési hálózati modellből (smooth anisotropic network model, SANM) számított közelítő szerkezetekből indítjuk, majd a szimuláció előrehaladtával az MD-trajektóriából vett „természetes” szerkezetekkel, iteratívan finomítjuk.

A keresési teret geometriai kényszerekkel szűkítjük az útvonal környezetére. Az általánosan használt kvadratikus büntetőfüggvény helyett az általunk bevezetett, reciprokat-függvényre épülő gátkényszer (ReBaCon) alkalmazása gyakorlatilag áthatolhatatlan, „kemény falként” viselkedik, és a szimulációt egy kb. 2 Å sugarú hajlékony cső belső térré korlátozza miközben a cső közepén lévő útvonal mentén mindkét irányban megengedi a természetes mozgást. A szimulációt a metadinamika és a Lagrange-féle adaptív torzítóerőt (eABF) ötvöző, rendkívül hatékony hibrid meta-eABF módszerrel végeztük.^{8,9} Az általunk javasolt eljárást három, gyógyszerkutatási szempontból kiemelt példán mutattuk be: (1) az onkogén JAK2-V617F mutáns pszeudokináz-domén vad típusú konformációjának helyreállítása; (2) a cullin–RING fehérje óriáskomplexben lezajló ligáz ubikitinálás folyamatának vizsgálata a sejtben természetes módon elvégzett célzott fehérjelebontás területén és (3) az interferon-gének stimulátor fehérje (STING) ligandum kötés hatására kialakuló aktivált állapotának indukálása.



3. ábra. A JAK2 pszeudokináz-domén vad típusú (WT) és V617F mutáns konformációja közötti átmenet szabadentalpia-profilja, meta-eABF szimulációból, az átmeneti koordináta mentén. A sávok 10 (zöld), illetve 50 (lila) független szimuláció statisztikai hibáját, a folytonos görbék az átlagot jelölik; a molekulászerkezet a két Röntgenkonformáció egymásra illesztése.

A JAK2 V617F nyereség-funkciós mutációja számos vérképzőszervi daganat és gyulladásos állapot hátterében áll. McNally és munkatársai kimutatták, hogy bizonyos, a pszeudokináz-domén ATP-zsebébe kötődő ligandumok a mutáns domént a vad típusú konformáció felé tolják.¹⁰ A meta-eABF szimulációk ezzel összhangban azt mutatták, hogy a McNally-féle 2-es vegyület a szabadentalpia profilt

a vad típusú konformáció irányába billenti (3. ábra) és így valóban egy gyógyszerkutatási projekt alapját képezheti. Ez egy tipikus példája annak, amikor a gyógyszermolekula egy mutáns fehérjével alkotott komplexe a fehérje konformációját visszaállítja a vad típusú állapotba, és így helyreáll a tánc koreográfia.

3. Kovibrációs (együttrezgési) módok: fehérjedinamika két statikus szerkezetből

A normálrezgés-analízis (NMA) a számítási kémia születése óta a fehérjedinamika egyik alapeszköze. Legfontosabb tanulsága, hogy a legkisebb frekvenciájú, nagy kilengésű normálrezgések gyakran biológiai funkcióhoz köthetők. Ha két, eltérő funkcionális állapotot megtestesítő szerkezetet (pl. *apo* és *holo*, vad típusú és mutáns) egymásra illesztünk, az őket összekötő (lineáris morph) vektor – az ún. *funkcionális mód* – sok esetben hasonlít valamelyik kisfrekvenciás normálrezgéséhez. A gyakorlatban azonban egyetlen normálrezgés ritkán fed le jól a funkcionális módot.

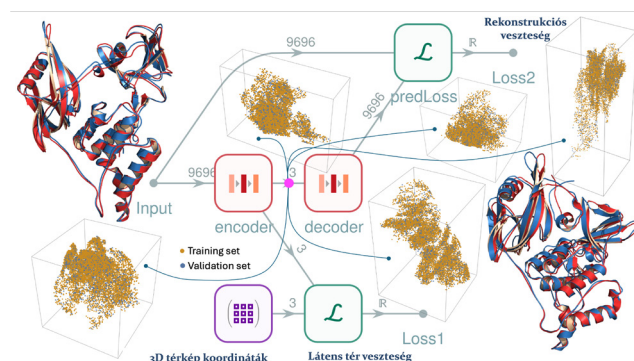
Erre kínál megoldást az általunk bevezetett *kovibrációs* (együttrezgési, „covib”) módok elmélete.¹¹ Egyetlen rezgés helyett a kisfrekvenciás módok *súlyozott szuperpozícióját* tekintjük, ahol az egyes módok súlyát a funkcionális módnak a különböző normálrezgés-sajátvektorokra vett vetülete adja. A JAK2 példáján az első 500 normálrezgés közül egyedül a harmadik mód mutatott mérsékelt átfedést a V617F→WT funkcionális móddal. Ezzel szemben M=20–100 normál módból kikevert kovibrációs módok aszimptotikusan közelítik a funkcionális módot, és már M=50 esetén is tökéletesen megjelenítik a biológiailag releváns „libikóka” hélix mozgást (lásd a videót),¹¹ amelyet egyetlen önálló normálrezgés sem tartalmaz. Fontos megemlíteni, hogy a normál módvektorokhoz hasonlóan a kovib módvektorok is összehangolt *lineáris* atomi elmozdulásokat definiálnak, és ezért közvetlen alkalmazásuk csak nagyon rövid amplitúddal lehetséges súlyos geometriai deformációk nélkül. E probléma megoldására dolgoztuk ki az eredetileg az LMOD-ba beépített ZIG-ZAG algoritmust,¹¹ amely a lineáris atomi mozgást görbevonalúvá transzformálja, és így akár 4-5 Å hosszúságú elmozdulást is lehetővé tesz a görbevonaltól mentén. Az algoritmus rövid, egyenes módirányú lépéseket (ZIG) és részleges energia-minimalizálási lépéseket (ZAG) váltogat, és így módon az egyensúlyi értékek közelében tartja a kemény szabadsági fokokat (kötéshossz, kötőszög) miközben hagyja, hogy a puha szabadsági fokok (torziós szög) mentén a fehérjeszerkezet jelentősen megváltozzon anélkül, hogy atomok egymásba ütköznenek. A kovib módszer tehát képes fehérjedinamikai mozgásokat modellezni mindösszesen két statikus (pl. Röntgen-) szerkezetből.

A kovibrációs módok egy másik természetes alkalmazása, amikor egyetlen statikus szerkezetből kiindulva „felrázzuk” vagy „megrezgetjük” a fehérjeszerkezetet úgy, hogy a ZIG-ZAG deformációt a leginkább flexibilis normálrezgések véletlen keverékéből előállított kovib mód mentén

végezzük. Ilyen módon a kovib algoritmus segítségével felszínre kerülhetnek az ún. *kriptikus* (rejtett) zsebek, amelyek a Röntgen-szerkezetekben zártak, de a fehérje természetes mozgása során feltárnak, és értékes gyógyszer-támadáspontok lehetnek. Ez a folyamatban lévő munka a HUNREN TTK Gyógyszerkémiai Kutatócsoportjával való együttműködés keretében zajlik.

4. Egy újszerű neurális hálózat: az rMD „utánégetős” molekuladinamika

A fehérjeszerkezet-becslés gépi tanulási forradalma (*AlphaFold*, *RoseTTAFold*, *ESMFold*, *OpenFold*, *Boltz*, *Chai*, *Pearl* és társaik) ellenére a mesterséges intelligencia alapú molekuladinamikai szimulációk még gyerekcipőben járnak. A szerkezetbecslési neurális hálózatok legegyszerűbb változatainak közös eleme az *autoenkóder*, amely fehérjeszerkezeteket a *kódoló* hálózati rétegeken keresztül egy alacsony dimenziós *látens térbe* tömöríti, majd onnan azonos struktúrájú *dekódoló* rétegeken keresztül állítja vissza. Az egyszerű autoenkóderrel a betanítás után a látens tér tetszőlegesen választott pontjaiból fehérjeszerű szerkezetek generálhatók, amelyek azonban fizikai szempontból teljesen önkényesek, mert a látens tér nem bír semmilyen fizikai értelemmel.



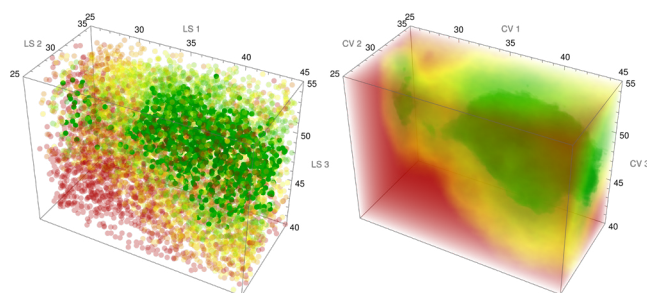
4. ábra. A fizikailag „informált” rMD autoenkóder-hálózat felépítése.¹²

A kódoló a két független meta-eABF szimulációból elmentett fehérjeszerkezetek Descartes-koordinátáit a háromdimenziós látens térbe tömöríti, a dekódoló pedig innen rekonstruálja az eredeti (kék) szerkezeteket a kimeneti oldalon (predLoss/Loss2, piros szerkezet). A látens tér-vesztesség (latentLoss/Loss1) a látens koordinátákat a kollektív változókhoz (colVars) kapcsolja, és a tanulás során a két veszteségfüggvényt együttesen optimalizáljuk. A rekonstrukciós veszteség (Loss2) a be- és kimenet közötti eltérést, a látens tér-vesztesség (Loss1) pedig a látens koordináták és az MD trajektória CV-koordinátái közötti eltérést minimalizálja. További részletek a szövegben találhatók.

A hagyományos autoenkóderek csak a predLoss/Loss2 veszteségfüggvényt (lásd a 4. ábrán) használják, amelynek az a sajátossága, hogy a hálózat inicializálásától függően a látens térben a pontfelhő eloszlása teljesen önkényes. A 4. ábrán 5 lényegesen különböző látens teret mutatunk be, amelyek 5 különböző inicializálásból erednek. Ezek a látens terek különböző lokális minimumoknak felelnek meg a hálózat optimalizálásában, de a végeredmény szempontjából lényegében egyenértékűek, azaz bármelyik optimált

modell hasonló pontossággal reprodukálja a bemeneti fehérjeszerkezeteket, azonban a látens tér egy tetszőleges pontjának dekódolása teljesen önkényes „fehérjeszerű” szerkezetet eredményez a kimeneti oldalon, aminek erősen limitált a gyakorlati haszna.

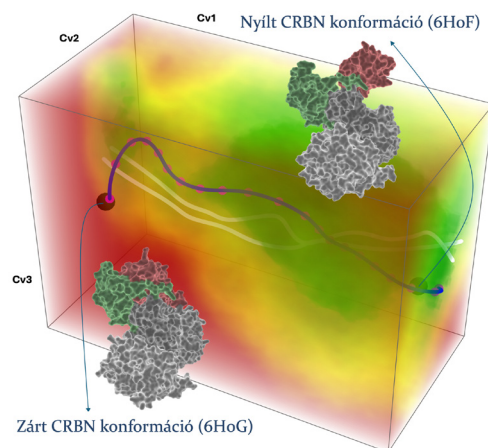
Az általunk javasolt újszerű neurális hálózat lényege az, hogy a látens teret egy *fizikai* térrel – a kollektív változók terében számolt szabadentalpia-térképpel – helyettesítjük.¹² A hálózat részleteit az 4. ábrán mutatjuk be. A kulcsfontosságú elem két veszteségfüggvény egyidejű optimalizálása, amelynek eredményeként a betanított hálózatban a látens koordináták közel egy-egyértelmű megfeleltetésbe kerülnek a CV-koordinátákkal. Az 5. ábrán egymás mellett ábrázolt látens tér pontfelhője a baloldalon (a jelen esetben 2 független szimulációból elmentett 10 ezer kódolt fehérjeszerkezettel) és a CV-térben meta-eABF-el számolt szabadentalpia-térkép szerkezete a jobboldalon feltűnően hasonlóak, és pontosan ez az, ami fizikai tartalommal „itatja át” a látens teret, ugyanis így a szerkezetgeneráláshoz közvetlenül a szabadentalpia-térkép használható.



5. ábra. A betanított látens tér (bal, Ls) és a kollektív változók terében számolt szabadentalpia-térkép (jobb, Cv) összehasonlítása.¹² A 10 000 MD trajektória szerkezet látens térben elfoglalt pontjai (baloldal) és a nagy felbontású szabadentalpia-térkép (jobboldal) szerkezete feltűnően hasonló. A zöld-sárga-piros színskála 0–15 kcal/mol relatív szabadentalpia értékeket jelöl; a biológiailag releváns konformációk a zöld tartományba esnek.

A módszert a célzott fehérjelebontás (molekuláris ragasztók, pl. a pomalidomid) szempontjából központi jelentőségű cereblon (CRBN) fehérje – az E3 ligáz szubsztátfelismerő alegysége – nyílt→zárt konformációs átmenetén mutatjuk be. Három kollektív változó mentén meta-eABF szimulációval háromdimenziós szabadentalpia-térképet készítettünk,¹¹ majd a hálózatot betanítottuk a szimulációs adatokkal. Egy Nvidia RTX 4080-as GPU-val ellátott asztali számítógépen a két, egyenként 1 mikroszekundumos szimuláció egy hétig tartott, a hálózat betanítása pedig mindössze 2 órát vett igénybe. A betanított hálózati modell a későbbiekben az „utánégetés” folyamán lehetővé teszi, hogy a SZE térképen tetszőleges útvonalakat jelöljünk ki, amelyek mentén a modell néhány másodperc alatt generálja a kijelölt útvonalhoz tartozó konformációs átmenetet (6. ábra). Az rMD tehát mesterséges intelligencia alapon egy már lefutott MD-szimuláció „utánégetőjeként” olyan konformációs mechanizmusokat képes feltárni, amit maga az MD-szimuláció elkerült. A 6. ábrán a vastag kék vonal mutat

egy ilyen útvonalat, amely a nyílt és a zárt CRBN Röntgen-szerkezeteket köti össze. Jól lehet látni, hogy a konformációs átmenet termodinamikailag csak egy szűk csatornán keresztül valósulhat meg a zöld tartományon belül. Az rMD hálózat a lila pontoknak megfelelő CRBN szerkezeteket generálta, amelyek animációja¹¹ három dimenzióban jeleníti meg a kék vonalnak megfelelő konformációs átmenetet. Referenciaként a két fehér görbével két független, a 2. pontban tárgyalt konformációs útvonal szimuláció (meta-eABF PCV) nyomvonalait ábrázoltuk.



6. ábra. A CRBN nyílt→zárt konformációs átmenetének feltételezett, alacsony szabadentalpia gáttal rendelkező útvonala a háromdimenziós szabadentalpia-térképen.¹¹ A vastag kék vonal a nyílt (6H0F) és a zárt (6H0G) Röntgen-szerkezeteket összekötő útvonalat mutatja, amelynek mentén az rMD hálózat mesterséges intelligencia alapon generálta a feltételezett átmeneti mechanizmust megőrkítő pszeudo-trajektóriát. További részletek a szövegben találhatóak.

5. Összefoglalás

Székfoglaló előadásunkban bemutattuk, hogyan készítsünk térképet fehérjék konformációs tájegységeinek bejárásához. Az útvonal menti kollektív változók és a meta-eABF a nagy léptékű átmenetek szabadentalpia-profilját adják; a ko-vibrációs módok két statikus szerkezetből nyernek dinamikai információt és kriptikus zsebek feltárására is alkalmazhatóak, az „utánégetős” rMD molekuladinamika pedig fizikai tartalommal felruházott generatív hálózati modell alkalmazásával kapcsolja össze a mesterséges intelligencia alapú statikus fehérje szerkezetbecslést a mozgásalapú fehérjedinamikával. A bemutatott eljárások asztali számítógépes környezetben teszik lehetővé biológiailag releváns szimulációk hatékony alkalmazását a gyógyszertervezésben.

Köszönetnyilvánítás

Negyvenéves kutatópályám elképzelhetetlen lenne szüleim, családom, barátaim, tanítóim és tanárain, valamint számos munkatársam nélkül, akiknek hálás köszönetemet fejezem ki.

Hivatkozások

- Kolossváry, I.; <https://www.flickr.com/photos/mtasajto/albums/72177720333225106>
- Kolossváry, I.; Guida, W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2107–2119. <https://doi.org/10.1021/ja00059a003>
- Kolossváry, I.; Guida, W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5011–5019. <https://doi.org/10.1021/ja952478m>
- Kolossváry, I.; Guida, W. C. *J. Comp. Chem.* **1999**, *20*, 1671–1684. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19991130\)20:15<1671::AID-JCC7>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19991130)20:15<1671::AID-JCC7>3.0.CO;2-Y)
- Keserű, G. M.; Kolossváry, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12708–12709. <https://doi.org/10.1021/ja0160086>
- Kolossváry, I.; Keserű, G. M. *J. Comp. Chem.* **2001**, *22*, 21–30. [https://doi.org/10.1002/1096-987X\(20010115\)22:1<21::AID-JCC3>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1096-987X(20010115)22:1<21::AID-JCC3>3.0.CO;2-I)
- Jumper, J.; Evans, R.; Pritzel, A.; et al. *Nature* **2021**, *596*, 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Kolossváry, I.; Sherman, W. *J. Phys. Chem. B* **2023**, *127*, 5214–5229. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.3c02028>
- Fu, H.; Zhang, H.; Haochuan, C.; Shao, X.; Chipot, C.; Cai, W. *J. Phys. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 4738–4745. <https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.8b01994>
- McNally, R.; Li, Q.; Li, K.; Dekker, C.; Vangrevelinghe, E.; Jones, M.; Chéne, P.; Machauer, R.; Radimerski, T.; Eck, M. *J. ACS Chem. Biol.* **2019**, *14*, 587–593. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.8b00722>
- Kolossváry, I. *JACS Au* **2024**, *4*, 1303–1309. <https://doi.org/10.1021/jacsau.4c00109>
- Kolossváry, I. *PNAS Nexus* **2026**, *5*, pgaf408. <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgaf408>

On the trail of proteins on a roller coaster: from mapping conformational free-energy surfaces to computational drug design

Molecular structures are not static; they explore vast conformational space. One of the most successful models in computational chemistry, the potential-energy surface and free-energy landscape, lets researchers study conformational dynamics on maps that resemble a tourist's guide. This short note traces four decades of my roller-coaster ride across this molecular landscape, from small-ring conformational analysis to protein dynamics and drug discovery. A foundational study mapped the full network of interconversion pathways of the C4–C12 cycloalkanes² and led to Low Mode Search,^{3–6} based on using a few low-frequency normal modes that capture biologically relevant protein motions.

On the “proteographical” map, contours represent the probability of different conformations, expressed in energy units as the free energy. Minimum-free-energy valleys correspond to distinct, biologically relevant conformations, and proteins perform the dance of life by moving from valley to valley choreographed by cell's biochemical pathways. Many diseases arise from altered terrain that disrupts this choreography, and drug discovery aims to restore the original dance.

Molecular dynamics simulations are essential for understanding free-energy landscapes, but conventional MD is too slow on commercial hardware for practical drug discovery. Biased MD addresses this limitation by accelerating dynamics in a small subspace defined by a few biologically relevant collective variables. In this CV space, hundreds of microseconds of hypothetical unbiased simulations can be replaced by hundreds of nanoseconds of biased simulations, yielding a three-order-of-magnitude speedup on GPU desktop computers. We applied one-dimensional path-

CV simulations in the meta-eABF framework^{8,9} to study conformational transitions in several systems, including the oncogenic JAK2-V617F pseudokinase domain.¹⁰

A different approach, our co-vibrational modes theory, extracts dynamic information from two static X-ray structures through a weighted superposition of low-frequency normal modes.¹¹ Using covib modes, we reproduced the seesaw helix motion that dominates the conformational transition between wild-type and mutant JAK2-V617F structures, which no single mode captured. Covib modes can also “shake” a single protein structure to expose cryptic pockets that are closed in X-ray structures but may open during natural protein motion and serve as drug targets.

Finally, although machine learning methods such as AlphaFold⁷ have transformed protein structure prediction, AI-based simulation of protein motion remains in its infancy. Our reinforced molecular dynamics (rMD)¹² method was designed to give the otherwise physics-agnostic latent space of neural networks real physical meaning. We showed that a network can be trained by optimizing two loss functions simultaneously, so the latent space can be replaced by the free-energy map obtained from meta-eABF simulation. We demonstrated rMD on the open-to-closed transition of cereblon (CRBN), central to molecular-glue degraders. rMD acts as an afterburner for a completed simulation: one can draw an arbitrary path on the free-energy map and generate the corresponding conformational transition in seconds. Together, these methods bring large-scale exploration of biologically relevant protein motions into computational drug discovery on affordable GPU-enabled desktop computers.