

Simulasi Doking Antibodi Monoklonal *Chimeric* dan *Humanized* dengan Reseptor HER-1 dan HER-2

Docking Simulation of Chimeric and Humanized Monoclonal Antibodies to HER-1 and HER-2 Receptors

Rustaman¹, Abdul Mutalib^{1,2}, Rustam E. Siregar³, Ukun M. Syukur S¹.

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran
email: rustaman@unpad.ac.id

¹Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka, Badan Tenaga Atom Nasional, Serpong, Tangerang Selatan.

³Jurusan Fisika FMIPA Universitas Padjadjaran

ABSTRAK

Pada dekade terakhir, pengobatan kanker memasuki era baru yang disebut terapi kanker terarah. Antibodi monoklonal (mAb) adalah salah satu jenis obat terapi terarah yang merupakan bentuk pasif dari imunoterapi. Tujuan dari penelitian ini adalah memprediksi kekuatan relatif afinitas pengikatan kompleks-kompleks yang terbentuk dari hasil simulasi docking dengan menghitung tetapan disosiasinya, menginventarisasi jenis-jenis interaksi yang dominan, dan memprediksi reaktivitas HER-1 dan HER-2 berdasarkan pemetaan potensial elektrostatik molekul. Struktur kompleks tiga dimensi kompleks antibodi monoklonal anti-HER-1 (cetuximab dan nimotuzumab) dengan reseptor HER-1 dan antibodi monoklonal anti-HER-2 (trastuzumab dan pertuzumab) dengan reseptor HER-2 ditentukan menggunakan metode docking protein-protein yang mengkombinasikan antara protokol pencarian ZDOCK dan fungsi skor ZRANK, serta protokol perbaikan pose RDOCK. Penyaringan hasil pose dilakukan berdasarkan sekuen asam-amino di daerah CDR (*Complementarity Determining regions*) dari antibodi dan sisi binding dari reseptor. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa secara umum interaksi antara antibodi monoklonal *chimeric* dan *humanized* dengan HER-1 digambarkan oleh interaksi polar-polar dari asam-asam amino lisin, asparagin, serin, arginin, dan glutamin serta keduanya berinteraksi di domain III HER-1, edangkan interaksi antara antibodi monoklonal *humanized* dengan HER-2 didominasi oleh interaksi polar-polar dari asam-asam amino aspartat, glutamat, glutamin, dan lisin di domain II dan IV HER-2.

Kata kunci : Terapi kanker terarah, simulasi docking, antibodi monoklonal (mAb), HER-1, HER-2, tetapan disosiasi.

ABSTRACT

In the last decade, cancer treatment get into a new era called targeted therapy for cancer. Monoclonal antibody (mAb) is one of the targeted therapy agents and belongs to a part of passive immunotherapy. The aim of this study is to predict the relative strength of binding affinity for several monoclonal antibodies binding to HER-1 and HER-2 receptors by calculating dissociation constants, evaluating a dominant interaction of the complexes, and predict the reactivity of HER-1 and HER-2 according to potential electrostatic map. Structures of the complexes of mAb (cetuximab and nimotuzumab) with HER-1 and anti-HER-2 (trastuzumab and pertuzumab) with HER-2 was generated by docking simulation which combine three docking protocols (ZDOCK, ZRANK, and RDOCK). Filtering the initial docked poses with CDR's (Complementarity Determining Regions) residues of antibody and the binding site of residues was done to narrow the resulted poses. The result of this study show that generally, the interaction between chimeric and humanized monoclonal antibodies with HER-1 present polar-polar interaction from lysine, asparagin, serin, arginin, and glutamin amino acids, and both of mAb interacted with domain III of HER-1, whereas, interaction between humanized monoclonal antibodies with HER-2 was dominated by polar-polar interaction from aspartic acid, glutamic acid, glutamin, and lysin amino acids with domain II and IV of HER-2.

Key words: targeted therapy for cancer, docking simulation, monoclonal antibody (mAb), , HER-1, HER-2, dissociation constant.

Pendahuluan

Penyakit kanker hingga saat ini masih merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia (13% dari seluruh penyebab kematian). Data statistik *International Agency for Research on Cancer* menyebutkan, hingga tahun 2008 ditemukan kasus kematian akibat kanker mencapai 7,6 juta jiwa. Angka ini diperkirakan akan terus meningkat hingga 11 juta jiwa pada tahun 2030. Sebanyak 72% kasus ini terjadi di negara dengan pendapatan menengah kebawah. Di kawasan Asia, khususnya di Indonesia angka kejadian dan kematian akibat kanker yang telah dilaporkan sebesar 20,44% (Ferlay *et al.*, 2008).

Sejak ditemukannya proto-onkogen dan *tumor supressor gene*, pengobatan kanker memasuki era baru yang disebut terapi kanker terarah (*targeted therapy for cancer*). Perbedaan spesifik antara sel kanker dan sel normal, menjadi bekal bagi para ilmuwan untuk menciptakan sebuah “peluru kendali” yang akan menyerang sel-sel kanker tanpa merusak sel-sel normal, sehingga meminimalkan efek samping (Zhenping, 2007). Reseptor *epidermal growth factor* (EGFR) merupakan salah satu contoh proto-onkogen yang termasuk ke dalam kelompok reseptor tirosin kinase yang berperan penting dalam proses pertumbuhan sel. Ekspresi EGFR yang tidak terkendali akibat terjadinya mutasi akan menyebabkan terjadinya perubahan dari sel normal menjadi sel kanker. Sel kanker ini tidak mengalami apoptosis, dan karena ekspresi EGFR yang berlebihan, maka pertumbuhan sel kanker akan berjalan jauh lebih cepat dibandingkan sel normal. Famili EGFR terdiri atas HER-1 (sering disebut sebagai EGFR/ ErbB-1), HER-2 (ErbB-2), HER3 (ErbB-3), dan HER4 (ErbB-4) (Normanno *et al.*, 2005). HER-1 dioverekspresikan oleh sel kanker leher dan kepala, glioma, kanker paru-

paru, kanker usus atau kolorektal, dan ovarium (Boland & Bebb, 2009), sedangkan HER-2 dioverekspresikan oleh sel kanker ovarium, lambung, paru-paru dan terutama pada kanker payudara (Kraus *et al.*, 1987; Tvogorov & Carpenter, 2004).

Hingga kini telah berhasil dikembangkan berbagai obat terapi terarah antikanker seperti inhibitor tirosin kinase (ITK) dan antibodi monoklonal (mAb). mAb memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan ITK yaitu bersifat lebih spesifik karena mAb hanya mengenali satu jenis epitop dan pengikatannya terjadi pada permukaan sel serta memiliki waktu paruh yang lebih panjang (Haley and Gullick, 2008). Tiga mAb anti-HER-1 yang telah digunakan secara klinis yaitu cetuximab, nimotuzumab, dan panitumumab (Irmer, 2008), sedangkan mAb yang spesifik terhadap reseptor HER-2 adalah trastuzumab dan pertuzumab (Han-Chung *et al.*, 2006). Cetuximab dan nimotuzumab merupakan golongan mAb jenis *chimeric* dan *humanized*, sedangkan trastuzumab dan pertuzumab keduanya merupakan mAb jenis *humanized*. Meskipun efikasi beberapa mAb sebagai antikanker tersebut telah dibuktikan secara klinis, hingga kini belum banyak dikaji bagaimana mekanisme aksi mAb-mAb tersebut dengan HER-1 dan HER-2 secara molekular.

Pada beberapa tahun terakhir, terungkap dari struktur kristal kompleks cetuximab-HER-1 hasil eksperimen bahwa cetuximab berada pada konformasi tak-aktif dan menghambat pengikatan ligan-alami serta dapat mencegah dimerisasi (Li *et al.*, 2005). Sementara pemodelan komputer struktur kompleks nimotuzumab dengan HER-1 mengusulkan mekanisme aksi baru, dimana nimotuzumab dapat menghambat pengikatan ligan-alami, sementara konformasi HER-1-nya masih

tetap aktif untuk dapat membentuk dimer dengan HER-1 lainnya (Talavera *et al.*, 2009). Meskipun demikian belum pernah terungkap dan belum pernah dipelajari bagaimana reaktifitas reseptor HER-1 dan HER-2, serta jenis interaksi yang dominan antara mAb dengan reseptor HER-1 dan HER-2 yang dapat digunakan untuk memprediksi antibodi monoklonal yang cocok untuk reseptor tersebut.

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan simulasi doking mAb anti-HER-1 dari jenis *chimeric* dan *humanized* dengan reseptor HER-1 dan mAb anti-HER-2 dari jenis *humanized* dengan HER-2 menggunakan metode kombinasi algoritma ZDOCK, RDOCK, dan ZRANK (Pierce *et al.*, 2008) untuk mempelajari struktur, reaktifitas dan interaksinya.

Metode

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah struktur tiga dimensi mAb, reseptor HER-1, dan HER-2 diunduh dalam bentuk fail komputer dari server *Protein Data Bank* (PDB), kecuali panitumumab. Fail-fail tersebut adalah fragmen Fab (*antigen binding fragment*) dari Cetuximab (kode pdb: 1YY9, resolusi 2,61 Å (Li *et al.*, 2005), fragmen Fab dari Nimotuzumab (3GKW, resolusi 2,5 Å, (Talavera *et al.*, 2009)), pertuzumab (1S78, resolusi 1,85 Å, (Zhang *et al.*, 1992)), Trastuzumab (1N8Z, resolusi 2,52 Å (Cho *et al.*, 2003)), HER-1 (1YY9), dan HER-2 (1N8Z).

Alat-alat penelitian yang digunakan terbagi ke dalam dua bagian, yaitu perangkat keras (*hardware*) dan perangkat lunak (*software*). Perangkat keras terdiri dari seperangkat Desktop-PC (*Personal Computer*) berbasis WindowsXP dengan spesifikasi sebagai berikut: Prosesor Intel Core i-7 2,6 GHz, Memori RAM DDRIII 4 GB, Hardisk SATA II Seagate 320GB, dan VGA Nvidia Quadro FX-3700 CUDA-Enabled. Perangkat lunak yang digunakan

adalah sebagai berikut: Accelrys Discovery Studio (ADS) versi 2.5 dan MS Office Excel 2007.

Tahap Penelitian

Sebelum melakukan simulasi doking mAb kepada reseptornya, terlebih dahulu dilakukan validasi metode doking dengan melakukan doking ulang (*redocking*) struktur kokristal cetuximab-HER-1 (1YY9). Struktur kokristal 1YY9 dipreparasi menggunakan fasilitas *protein preparation* yang ada di ADS untuk memperbaiki struktur kristal yang mungkin terjadi pada fail pdb hasil kristalisasi. Kemudian setelah dipreparasi, kedua protein tersebut dipisahkan antara cetuximab dengan HER-1-nya.

Kemudian pada protein cetuximab ditentukan residu-residu CDR-nya yang nanti akan digunakan sebagai saringan (filter) untuk memperkecil ruang pencarian. Begitu pula, pada reseptor HER-1 ditentukan pula residu-residu yang berada pada antarmuka pengikatan yang diperoleh dari struktur kristal. Kemudian dari residu-residu antarmuka tadi, lingkaran jangkauannya diperluas sejauh 5 Å untuk memperluas jangkauan pencarian pose. Doking protein dilakukan menggunakan kombinasi protokol pencarian ZDOCK, dan fungsi skor ZRANK. Dari pose-pose pengikatan yang diperoleh diperingkat ulang menggunakan protokol RDOCK. Kemudian dipilih satu pose yang memiliki peringkat paling tinggi, yang akan ditentukan harga RMSD (*Root Mean Square Deviation*)-nya, sebagai salah satu ukuran kelayakan atau keberhasilan metode doking yang akan digunakan.

Selanjutnya dilakukan simulasi doking terhadap mAb dengan reseptor masing-masing menggunakan metode doking yang sudah tervalidasi untuk memperoleh pose terbaik berdasarkan peringkat yang dilakukan menggunakan protokol RDOCK. Dari kompleks yang

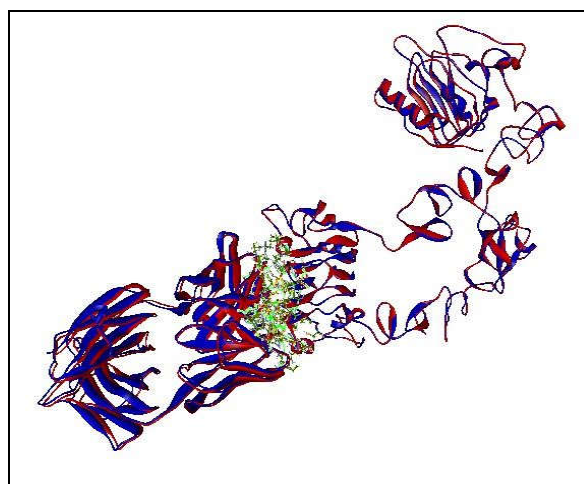
terbentuk dihitung energi bebas binding dan interaksinya, diinventarisasi jenis interaksi yang dominan, dan ditentukan reaktifitas reseptornya.

Hasil dan Pembahasan

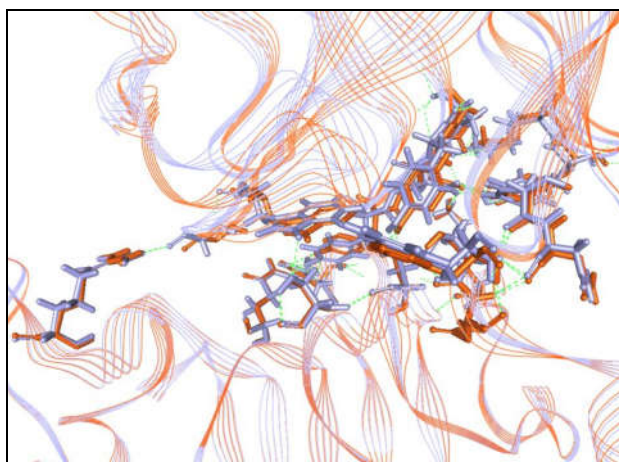
Validasi metode doking protein-protein

Pada penelitian ini, validasi metode doking molekul dilakukan dengan mendocking ulang (*redocking*) struktur ko-kristal kompleks protein 1YY9. Docking ulang dapat memberikan jawaban apakah metode doking yang dipilih dapat menemukan pose yang sesuai dengan struktur rujukan.

Ukuran keberhasilan validasi metode doking adalah nilai *root mean square deviation* (RMSD) antara struktur kompleks model hasil redocking dengan struktur ko-kristal rujukan. Selain itu secara kasar dapat dilihat secara visual kesesuaian antara struktur model dengan struktur rujukan. Metode dikatakan valid jika nilai RMSD antara ligan hasil docking ulang dengan ligan ko-kristal bernilai kurang dari 2 Å, sehingga metode yang dipilih dapat digunakan untuk sistem molekul mAb lain dengan reseptornya.



Gambar 1. Struktur tiga dimensi kompleks cetuximab-HER-1 hasil redocking (merah) dihipitkan (*superimpose*) dengan struktur kompleks kristal rujukan (biru, 1YY9).



Gambar 2 Perbesaran pada daerah antarmuka pengikatan (*interface binding*) model cetuximab-HER-1 dihipitkan dengan model kristal 1YY9.

Validasi doking ulang 1YY9 (struktur kristal kompleks cetuximab-HER-1) menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,458 Å, dan secara visual, nampak bahwa model struktur kompleks cetuximab dengan HER-1 hasil redocking saling berhimpit dengan struktur kristal hasil eksperimen seperti ditunjukkan pada Gambar 1. Berdasarkan interaksi ikatan

hidrogen intermolekul yang merupakan salah satu interaksi yang paling kuat pada penempelan CDR (*complementarity determining regions*) cetuximab pada daerah spesifik EGFR. Jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk pada struktur kristal rujukan adalah 11 ikatan.

Tabel 1 Atom-atom dari residu asam amino cetuximab dan HER-1 yang membentuk ikatan hidrogen pada kompleks rujukan cetuximab-HER-1 (1YY9).

No.	Rantai:residu:jenis atom	Jarak (Å)	Donor Proton	Akseptor Proton
1	A:ARG353:HH12 - D:GLY54:O	2,12	HH12	O
2	A:GLN384:HE21 - D:TYR102:OH	1,98	HE21	OH
3	A:GLN408:HE22 - D:TYR102:OH	2,21	HE22	OH
4	A:LYS465:HZ2 - D:ASP103:OD2	1,86	HZ2	OD2
5	A:SER468:HN - C:ASN91:O	2,01	HN	O
6	A:SER468:HN - C:ASN92:O	2,43	HN	O
7	A:ASN469:HN - C:ASN92:O	2,42	HN	O
8	A:ASN469:O - C:TRP94:HN	1,84	HN	O
9	A:SER418:OG - D:TRP52:HE1	2,48	HE1	OG
10	A:GLN408:OE1 - D:TYR102:HH	2,02	HH	OE1
11	A:SER440:OG - D:TYR104:HH	2,16	HH	OG

Residu-residu asam amino dari reseptor HER-1 yang berperan membentuk ikatan hidrogen adalah arginin353, glutamin384, glutamin408, serin440, lisin443, lisin465, serin468, asparagin469, dan serin418 yang terletak pada domain III. Adapun nama-nama residu yang berasal dari cetuximab yang

membentuk ikatan hidrogen berasal dari residu glisin54, tirosin102, tirosin104, asam aspartat58, asam aspartat 103, asparagin91, asparagin92, triptofan52, dan tirosin102 yang terletak pada daerah CDR. Secara lengkap nama residu, nomor dan jarak ikatannya ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 2. Atom-atom dari residu asam amino cetuximab dan HER-1 yang membentuk ikatan hidrogen pada kompleks model cetuximab-HER-1.

No.	Rantai:residu:jenis atom	Jarak (Å)	Donor Proton	Akseptor Proton
1	A:GLN408:HE22 - D:TYR102:OH	2,46	HE22	OH
2	A:SER440:HG - D:TYR104:OH	2,69	HG	OH
3	A:LYS443:HZ1 - D:ASP58:OD1	2,98	HZ1	OD1
4	A:LYS443:HZ1 - D:TYR59:O	2,84	HZ1	O
5	A:LYS443:HZ2 - D:ASP58:OD1	2,60	HZ2	OD1
6	A:LYS443:HZ3 - D:TYR59:O	2,55	HZ3	O
7	A:LYS465:HZ1 - D:ASP103:OD2	2,66	HZ1	OD2
8	A:LYS465:HZ2 - D:ASP103:OD2	1,86	HZ2	OD2
9	A:SER468:HN - C:ASN91:O	2,10	HN	O

10	A:SER468:HN - C:ASN92:O	2,45	HN	O
11	A:ASN469:HN - C:ASN92:O	2,45	HN	O
12	A:ASN469:O - C:TRP94:HN	1,88	HN	O
13	A:SER418:OG - D:TRP52:HE1	2,93	HE1	OG
14	A:GLN408:OE1 - D:TYR102:HH	2,16	HH	OE1
15	A:SER440:OG - D:TYR104:HH	1,87	HH	OG

Sedangkan pada struktur kompleks model cetuximab-HER-1 terdapat 15 ikatan hidrogen. Atom-atom dan residu-residu asam amino yang berinteraksi serta jarak ikatannya ditunjukkan pada Tabel 2. Secara umum, dilihat dari harga RMSD dan visualisasi daerah pengikatannya, hasil redocking ini dianggap sesuai dengan struktur rujukan.

Tabel 3. Harga tetapan disosiasi hasil perhitungan berbeda jauh dengan harga eksperimen. Tetapan disosiasi hasil eksperimen memiliki harga antara 10^{-8} M sampai 10^{-10} M, sedangkan data hasil perhitungan menghasilkan harga tetapan disosiasi antara 10^{-15} M sampai dengan 10^{-38} M. Hal ini diduga disebabkan oleh kondisi kompleks yang berbeda antara Kd eksperimen yang berada pada lingkungan berair sedangkan kondisi kompleks hasil perhitungan dihitung

Prediksi kekuatan afinitas ikatan mAb-reseptor

Harga tetapan disosiasi (K_d) keempat kompleks protein pasangan mAb dengan reseptornya yang dihitung dari harga energi bebas binding hasil simulasi doking ditunjukkan pada keadaan hampa (vacuum). Oleh karena itu, perlu dicoba dilakukan penambahan parameter solvasi secara eksplisit dalam perhitungannya. Hal ini belum dapat dilakukan karena keterbatasan parameter yang disediakan oleh program ADS yang digunakan. Meskipun demikian kekuatan ikatan (*binding affinity*) hasil perhitungan menunjukkan kekuatan yang sebanding bahwa cetuximab lebih kuat dibandingkan dengan nimotuzumab dan pertuzumab, kecuali untuk trastuzumab yang memperlihatkan hasil yang sebaliknya.

Tabel 3. Harga tetapan disosiasi beberapa kompleks mAb-reseptor hasil perhitungan menggunakan program doking molekul dan hasil eksperimen. K_d = tetapan disosiasi (dalam Molar). Cetuximab dan nimotuzumab dari (Arteaga *et al.*, 2007), Pertuzumab, dan trastuzumab (Shih-Juan, 2004).

Nama kompleks	$K_d(M)^*$ eksperimen	$K_d(M)^*$ perhitungan	Jumlah Ikatan hidrogen
Cetuximab-HER-1	1×10^{-10}	$1,84 \times 10^{-31}$	15
Nimotuzumab-HER-1	11×10^{-8}	$1,09 \times 10^{-17}$	4
Pertuzumab-HER-2	$1,8 \times 10^{-9}$	$8,35 \times 10^{-15}$	3
Trastuzumab-HER-2	1×10^{-9}	$4,34 \times 10^{-38}$	9

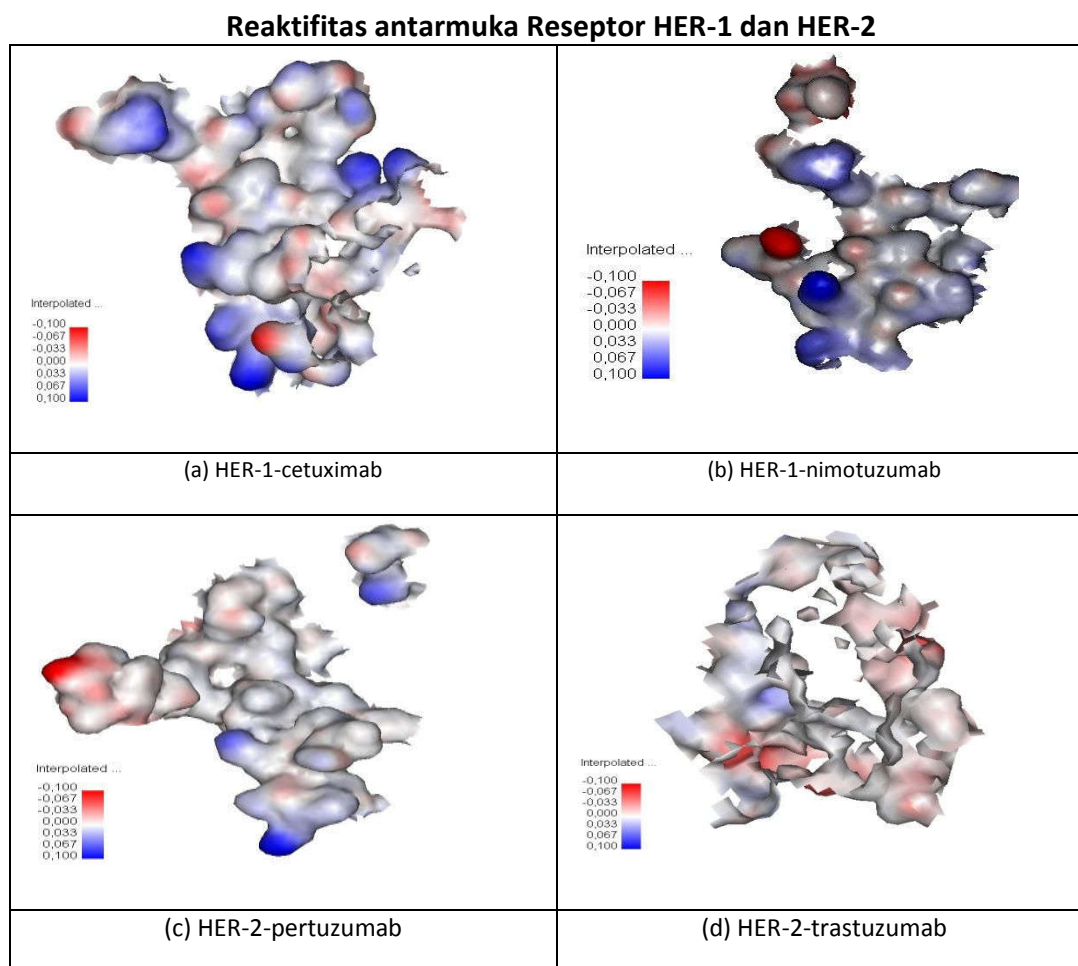
Perbedaan kekuatan relatif ini diduga berkaitan dengan data jumlah interaksi ikatan hidrogen yang memperlihatkan bahwa kompleks cetuximab memiliki jumlah ikatan hidrogen yang lebih banyak, yaitu 15 ikatan dibandingkan dengan kompleks nimotuzumab yang hanya memiliki 4 ikatan hidrogen.

Sedangkan pertuzumab memiliki jumlah ikatan hidrogen 3 buah.

Hasil pemetaan potensial elektrostatik menggunakan protokol perhitungan potensial elektrostatik DelPhi untuk keempat pasangan kompleks cetuximab-HER-1, nimotuzumab-HER-1, pertuzumab-HER-2, dan trastuzumab-HER-2 ditunjukkan pada Gambar 3 Peta

potensial elektrostatik tersebut menunjukkan bahwa permukaan reseptor yang berinteraksi didominasi oleh residu-residu asam amino

yang bersifat polar seperti yang ditunjukkan dengan skala warna pada permukaan reseptor tersebut.



Gambar 3. Peta potensial elektrostatik permukaan reseptor HER-1 (a dan b) dan HER-2 (c dan d) yang berinteraksi dengan antibodi monoklonal.

Simpulan

- 1 Secara umum interaksi antara antibodi monoklonal *chimeric* dan *humanized* dengan HER-1 digambarkan oleh interaksi polar-polar dari asam-asam amino lisin, asparagin, serin, arginin, dan glutamin serta keduanya berinteraksi di domain III HER-1, sedangkan interaksi antara antibodi monoklonal *humanized* dengan HER-2 didominasi oleh interaksi polar-polar dari asam-asam amino aspartat, glutamat, glutamin, dan lisin,
- 2 Antibodi *chimeric* dan *humanized* terbukti berinteraksi dengan domain III dari HER-

1, sedangkan antibodi *humanized* berinteraksi dengan domain II dan IV, sehingga hipotesis untuk HER-2 tidak terbukti.

- 3 Interaksi yang paling dominan antara reseptor HER-1 dan HER-2 dengan antibodi monoklonal *chimeric* dan *humanized* adalah interaksi polar-polar.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perhitungan harga energi bebas *binding* kompleks-kompleks mAb dengan reseptor kelompok HER/EGFR dengan memasukkan parameter pelarut secara eksplisit

dan menggunakan metode mekanika kuantum agar memperoleh harga perhitungan tetapan disosiasi yang mendekati harga hasil eksperimen serta mempelajari korelasi antara harga tetapan disosiasi hasil eksperimen dengan hasil perhitungan yang dapat digunakan untuk memprediksi kekuatan relatif interaksi antara mAb dengan reseptornya sebelum dilakukan uji laboratorium.

Pustaka

- American Cancer Society. 2011. *History of cancer*.
<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002048-pdf>.
 diakses tahun 2011.
- Arteaga M. E., N. Ledón, A. Casacó, B. Pardo, M. García, M. Boleda, L. Viña, R. Orphee, O. Hernández, C. González, D. Fuentes, V. Rodríguez, L. Charro, F. Baro, A. Macías, A. Pérez, Y. Morales, N. Subirós, B. González, M. Ramos, L. Rodriguez, A. Ballester-Labrada, T. Crombet. 2007. Systemic and skin toxicity in *Cercopithecus aethiops sabaeus* monkeys treated during 26 weeks with a high intravenous dose of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody Nimotuzumab. *Cancer Biology & Therapy*. 6, 9, 1390-1395.
- Boland, W. K. & G. Bebb. 2009. Nimotuzumab: a novel anti-EGFR monoclonal antibody that retains anti-EGFR activity while minimizing skin toxicity. *Expert opin. Biol. Ther.* 1-8.
- Brodowicz, T., Kandioler, D., Tomek, S., C Ludwig, M Rudas, R Kunstfeld, W Koestler, M Hejna, A Budinsky, M Krainer, C Wiltschke and CC Zielinski. 2001. Anti-Her-2/neu antibody induces apoptosis in Her-2/neu overexpressing breast cancer cells independently from p53 status. *British Journal of Cancer*. 85. 11. 1764–1770.
- Carraway, K. L. & Coralie A. Carothers Carraway. 2003. Singnalling by tyrosine kinases. In Malcolm R. Alison Edition. *The Cancer Handbook*. Nature Publishing Group.
- Chen, R. and Weng, Z. A. 2003. Novel shape complementarity scoring function for protein-protein docking. *Proteins*, 51, 397-408
- Chen, R., Li, L., Weng, Z. P. 2003. ZDOCK: An initial-stage protein-docking algorithm. *Proteins*, 52(1), 80-87
- Cho, H.-S., Mason, K., Ramyar, K.X., Stanley, A.M., Gabelli, S.B., Denney Jr., D.W., Leahy, D.J. 2003. Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the Herceptin Fab. *Nature* 421: 756-760
- Ferguson, K. M. 2004. Active and inactive conformations of the epidermal growth factor receptor. *Biochemical Society Transactions*. 32, 742-745.
- Ferlay J., H. R. Shin, F. Bray, D. Forman, C. Mathers, & D.M. Parkin. 2008. *GLOBOCAN 2008, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC*. <http://globocan.iarc.fr>.
- Gray, J. J., S. Moughon, Chu Wang, O. Schueler-Furman B. Kuhlman, C. A. Rohl & D. Baker. 2003. Protein-protein docking with simultaneous optimization of rigid-body displacement and side-chain conformation. *J. Mol. Biol.* 331, 281-299.
- Haley, J. D. & W. J. Gullick. 2008. *EGFR Signaling Networks in Cancer Therapy*. Humana Press. New York.
- Han-Chung W., De-Kuan C., and Chia-Ting H. 2006. Targeted Therapy for Cancer, *Institute of Cellular and Journal of Cancer Molecules* 2(2): 57-66.
- Holtje, H. D. Sippl, W. Rognan, D. And Folkers, G. 2008. *Molecular Modeling: Basic Principles and Applications*. 3rd ed. Wiley-VCH. Weinheim. Germany.
- Hwang, H., Pierce, B., Mintseris, J., Janin, J., & Weng, Z. 2008. Protein-Protein Docking Benchmark Version 3.0. *Proteins*, In press.
- Irmer, D. J. 2008. Molecular analyses of resistance and sensitivity mechanisms to anti-EGFR directed tumor therapy. Doctoral Desertation, Fakultät für

- Chemie und Pharmazie, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Karlin, J.D., Nguyen, D., Sherry, X., & Lipkowitz, Y. S. 2005. Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 23. 31. 8118-8141
- Koolman, J. & Klaus-Heinrich Roehm. 2005. *Color Atlas of Biochemistry*. Second Edition. Thieme Stuttgart. New York.
- Kranjc, A., S. Bongarzone, G. Rossetti, Xevi B., Andrea C., M. L. Bolognesi, M. Roberti, G. Legname & P. Carloni. 2009. Docking Ligands on protein surfaces: the case study of prion protein. *J. Chem. Theory Comput.* 5, 2565–2573.
- Kraus, M.H, Popescu, N.C, Amsbaugh, S.C. & King, C.R (1987) Overexpression of the EGF receptor-related proto-oncogene erbB-2 in human mammary tumor cell lines by different molecular mechanisms. *EMBO Journal* 6: 605–610
- Lewars, E. G. 2010. *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics*. 2nd Ed. Springer. Canada.
- Li, L., Chen, R., Weng, Z. P. 2003. RDOCK: Refinement of rigid-body protein docking predictions. *Proteins*, 53, 693-707.
- Li, S., Schmitz, K.R., Jeffrey, P.D., Wiltzius, J.J.W., Kussie, P., Ferguson, K.M. 2005. Structural basis for inhibition of the epidermal growth factor receptor by cetuximab. *Cancer Cell*. 7, 301-311
- MacCallum, R. M., Martin, A. C. R. and Thornton, J. T. Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography. *J. Mol. Biol.* 262, 732-745
- National Cancer Institute. 2011. Targeted Cancer Therapies. <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Therapy/targeted>.
- National Cancer Institute. 2011. Types of treatment. <http://www.cancer.gov/cancertopics/treatment/types-of-treatment>.
- Normanno N, Bianco C, Strizzi L, Mancino M, Maiello MR, & De Luca A, 2005. The ErbB receptors and their ligands in cancer: an overview. *Curr. Drug Targets*; 6: 243–57.
- Ogiso, H., R. Ishitani, O. Nureki, S. Fukai, M. Yamanaka, Jae-Hoon K., K. Saito, A. Sakamoto, M. Inoue, M. Shirouzu & S. Yokoyama. 2002. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell*. 110, 775-787.
- Palmieri, D., Julie L. Bronder, Jeanne, M. Herring, Toshiyuki Y., Robert, J. Weil, Andreas, M., Stark, Raffael K., Eleazar V., Feigenbaum L., Halverson, Vortmeyer A. O., Steinberg S. M., Aldape K., & Patricia S. S. 2007. Her-2 Overexpression Increases the Metastatic Outgrowth of Breast Cancer Cells in the Brain. *Cancer Res*; 67: 4190-4198.
- Pierce B., & Weng Z. 2008. A combination of rescoring and refinement significantly improves protein docking performance. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 72, 1, 270–279
- Rivera, F., M. E. Vega-villegas, M. F. Lopez-brea, & R. Marques. 2008. Current situation of Panitumumab, Matuzumab, Nimotuzumab and Zalutumumab. *Acta Oncologica*. 47, 9-19.
- Schmitz, K. R., & Ferguson, K.M. 2011. Interaction of antibodies with ErbB receptor extracellular regions. *Experimental Cell Research*, 3. 15, 659-670.
- Shih-Jiuan Chiua, Naoto T. Uenob and Robert J. Lee. 2004. Tumor-targeted gene delivery via anti-HER-2 antibody (trastuzumab, Herceptin®) conjugated polyethylenimine. *Journal of Controlled Release* .97, 2, 357-369.
- Smith, G.R., and Sternberg, M.J.E. 2002. Prediction of protein–protein interactions by docking methods. *Current Opinion in Structural Biology*, 12:28–35

Talavera, A., R. Friemann, S. Go´mez-Puerta, C. Martinez-Fleites, G. Garrido, A. Rabasa, A. Lo´pez-Requena, A. Pupo, R. F. Johansen, O. Sa´nchez, U. Krengel & E. Moreno. 2009. Nimotuzumab, an antitumor antibody that targets

the epidermal growth factor receptor, blocks ligand binding while permitting the active receptor conformation. *Cancer Research*. 14, 5851-5859.