

УДК: 577.3, 51-76

Метод интегральных уравнений теории жидкостей в приближении RISM для исследования термодинамики самоорганизующихся ионных пептидов

©2012 Соболев Е.В.^{*1}, Данилкович А.В.^{2,3}, Тихонов Д.А.¹

¹ Институт математических проблем биологии РАН, Пушино, Московская область, 142290, Россия

² Филиал института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пушино, Московская область, 142290, Россия

³ ГОУ ВПО Пуцинский Государственный Естественнонаучный Институт, Учебный Центр на базе ФИБХ РАН, Пушино, Московская область, 142290, Россия

Аннотация. Для изучения термодинамических характеристик комплексов самоорганизующихся ионных пептидов была применена модификация метода RISM с использованием средней матрицы внутримолекулярных корреляционных функций. Данный подход эффективен при анализе, как свободной энергии, так и структуры сольватной области макромолекул, для которых существует большие выборки конфигурационных состояний. Для расчетов свободной энергии, наряду с приближенными формулами был использован метод численного термодинамического интегрирования. Сравнение результатов расчетов свободной энергии разными способами показало, что использование метода термодинамического интегрирования позволяет получить наиболее адекватные величины энергий взаимодействия пептидных наноструктур в составе протофиламента. Сделаны выводы о применимости различных способов вычисления величин свободной энергии для изучения ионных пептидов и их комплексов.

Ключевые слова: интегральные уравнения, теория жидкостей, RISM, средняя матрица, энергия Гиббса, самоорганизующиеся структуры, ионные пептиды.

ВВЕДЕНИЕ

В задачах теоретического и практического изучения процесса комплексообразования и конформационного анализа биологических макромолекул часто возникает необходимость оценивать свободную энергию растворения изучаемого объекта в воде, для чего, в частности, важно использовать адекватные методы оценки энергии Гиббса изучаемых структур.

Доминирующий вклад в свободную энергию взаимодействий, вызванных зарядами, часто моделируют с помощью классической электростатики непрерывных сред. В рамках этого подхода растворитель представляется в виде бесструктурной диэлектрической среды и рассматривается взаимодействие зарядов на атомах растворенной молекулы с этой средой. Свободная энергия, связанная с зарядами считается пропорциональной электростатическому потенциалу молекулы. Электростатический потенциал в этой модели является решением уравнения Пуассона–Больцмана (PB – Poisson–Boltzmann) или одной из аппроксимаций решения его

* egor@impb.psn.ru

линеаризованного варианта с помощью полуаналитических функций. Среди полуаналитических методов наиболее популярным является обобщенный метод Борна (GB – generalized Born).

В эмпирическом подходе величину свободной энергии, связанной с неполярными взаимодействиями (гидрофобными взаимодействиями) между молекулами растворителя и растворённого вещества, можно считать пропорциональной числу молекул растворителя в первой сольватной оболочке молекулы растворённого вещества или же площади поверхности, доступной растворителю (SASA – Solvent accessible surface area).

Полная энергия Гиббса равна сумме молекулярно-механической энергии растворенной молекулы (ММ – Molecular mechanics), ее полярных и неполярных взаимодействий с растворителем. Соответственно эмпирические методы оценки свободной энергии обозначают в сокращённой форме как ММ/PBSA [1] или ММ/GBSA [2, 3].

Континуальные модели растворителя имеют принципиальные ограничения, которые нельзя не учитывать в задачах, связанных с изучением физических свойств биологических структур. Прежде всего, неполярные взаимодействия атомов моделируются самым грубым образом. Во-вторых, изменение микроплотности растворителя вблизи растворенной биологической молекулы, обусловленное его корпускулярной природой, фактической упаковкой молекул и т. п., приводит к возникновению важных энтропийных эффектов, которые игнорируются в рамках теорий электростатических непрерывных сред. Сольватная оболочка биологических молекул часто играет ключевую роль в стабилизации их нативной структуры и нековалентных взаимодействиях макромолекул. Теоретическими подходами, которые могут обеспечить строгую основу для включения в описание механизма сольватации всех подобных эффектов, являются теории статистической механики, формально основанные на функции распределения, в частности, интегральные уравнения теории жидкостей. Важный класс интегральных уравнений, описывающих равновесную структуру молекулярных жидкостей в терминах атом-атом парных корреляционных функций, основан на модели связанных силовых центров (RISM – Reference Interaction Site Model) [4]. Уравнения RISM успешно применяли для решения ряда биофизических задач. Например, с их помощью изучали свободную энергию белка мелитина [5], микроструктуру растворителя вокруг ДНК [6] и конформационную устойчивость пептидов мет-энкефалина и С-пептида в воде, метаноле и этаноле [7].

Для описания процесса растворения биологических молекул, которые обладают значительной конфигурационной подвижностью, необходимо усреднить решения уравнений RISM, или вычисленные по ним термодинамические функционалы, по выборке конфигурационных состояний, которая имеет распределение соответствующее заданной температуре. Для этого необходимо решить уравнения RISM для каждой жесткой мгновенной конфигурации молекулы из выборки. Требуемая выборка может быть отрезком равновесной траектории, полученной методом молекулярной динамики (МД). Ранее мы успешно применяли метод RISM для изучения термодинамики нековалентного связывания 4',6-диамидино-2-фенилиндола в малом желобе ДНК [8], и для изучения термодинамики растворения пептидного гормона «окситоцин» [9]. В этих работах учитывалось температурное движение молекул. К особенностям этих работ следует отнести значительный объем выполненных вычислений, поскольку нелинейная система интегральных уравнений, к которой сводится метод RISM, решалась для множества различных геометрий молекул. Термодинамика же при заданной температуре вычислялась как среднее от термодинамических величин всех мгновенных решений.

В работе [10] был предложен другой метод вычисления средних величин по выборке конфигурационных состояний. Суть этого метода заключается в однократном решении уравнений RISM, в которых внутримолекулярные корреляционные функции уже не задают жесткую структуру молекулы в виде дельта-функций, а рассчитываются из распределений межатомных расстояний подвижной молекулы, которые получены, например, из молекулярно-динамической траектории. Метод был назван уравнениями RISM со средней матрицей внутримолекулярных корреляционных функций, а решения уравнений со средней матрицей и рассчитанные по ним термодинамические функционалы – псевдосредними решениями и величинами, соответственно. Решение такого уравнения RISM позволяет описать распределение растворителя вокруг молекулы, подверженной температурным флуктуациям, что позволяет решать задачи, требующие при обычном подходе неприемлемо больших вычислительных мощностей. Например, метод RISM со средней матрицей был успешно применён ранее для изучения температурной зависимости энергии Гиббса пептидного гормона «окситоцин» в воде [11].

Все термодинамические величины, в частности величину избыточного химического потенциала, необходимую для оценки энергии Гиббса, можно вычислить по набору атом-атомных корреляционных функций, которые являются решениями уравнений RISM. В процессе развития метода RISM, исходя из различных вариантов модели и различных ее корректировок, для определения величины избыточного химического потенциала были предложены различные функционалы. Некоторые из них точные, поскольку для моделей, в рамках которых они появились, можно аналитически выполнить термодинамическое интегрирование. В других моделях, когда нельзя выполнить термодинамическое интегрирование аналитически, функционалы получены в рамках термодинамической теории возмущений и являются приближенными выражениями. Одной из важных задач является определение применимости каждого функционалов при использовании метода интегральных уравнений в биофизике. Важно отметить, что метод RISM со средней матрицей позволяет выполнить численное термодинамическое интегрирование и точно вычислить даже те функционалы избыточного химического потенциала, которые не имеют точного аналитического выражения [12].

Объектом исследования свободной энергии в рамках теории RISM выбрано пять ионных пептидов. Мы продолжаем изучение особенностей самоорганизации ионных пептидов в воде, которое было начато ранее [13, 14] методом молекулярной динамики. Данные объекты важны, поскольку они позволяют изучать особенности процесса формирования пептидных наноструктур в воде, что, имеет важное значение при получении биогелей для медицины, в том числе новых материалов для тканевой инженерии [15–17]. С этой целью в данной работе метод RISM со средней матрицей был применен для оценки энергии Гиббса комплексов ионных пептидов и свободной энергии их комплексообразования в воде. В ходе исследования были рассчитаны МД траектории мономеров, димеров, тетрамеров и октамеров ряда ионных пептидов: H-(RADA)₄-OH, H-(KADA)₄-OH, H-(KAEA)₄-OH, H-(RLDL)₄-OH и H-(RAEA)₄-OH в антипараллельной β-конформации, затем проанализированы данные о конформационных состояниях исследуемых структур в явном водном окружении. По МД траекториям всех комплексов были рассчитаны средние матрицы внутримолекулярных корреляций, решены соответствующие уравнения RISM, что позволило по полученным решениям вычислить химический потенциал и свободную энергию Гиббса.

Чтобы оценить применимость метода RISM для решения задач, связанных с изучением относительно крупных пептидных комплексов, состоящих из нескольких сотен атомов, нами проведено сравнение результатов оценки свободной энергии,

полученных с использованием различных формул в рамках общего подхода RISM, а также классических методов MM/PBSA и MM/GBSA. Конкретно, для набора комплексов ионных пептидов H-(RADA)₄-OH, H-(KADA)₄-OH, H-(KAEA)₄-OH, H-(RLDL)₄-OH, H-(RAEA)₄-OH были получены величины свободной энергии соответствующих структур, а по разнице свободных энергий продукта реакции и взаимодействующих частей вычислены энергии связывания тетрамеров, являющихся протофиламентами [14], при формировании октамера.

Содержанию работы предшествует описание метода RISM с приведением формул для оценки свободной энергии. Затем описан протокол, использованный для экспериментов по молекулярному моделированию и молекулярной динамике (МД), в результате которого были получены МД траектории исследуемых объектов. Затем, используя разные способы, были вычислены величины свободной энергии самоорганизующихся пептидных структур и получены энергии связывания тетрамеров. По результатам сравнения различных методов, использованных в анализе термодинамических характеристик пептидных комплексов, сформулированы выводы, которые приведены в завершающей части работы.

1. ТЕОРИЯ

1. Уравнения RISM в пределе бесконечного разбавления

Уравнение для бесконечно разбавленного раствора [18], когда парциальной плотностью растворенного вещества можно пренебречь, связывают прямые $c_{i\alpha}(r)$ и полные $h_{i\alpha}(r)$ корреляционные функции, отражающие распределение атома α молекул растворителя ($\alpha = 1 \dots M$) вокруг атома i растворенной молекулы ($i = 1 \dots N$):

$$\mathbf{H}^{uv} = \mathbf{W}^u \mathbf{C}^{uv} (\mathbf{W}^v + \rho \mathbf{H}^{vv}), \quad (1)$$

где

$$\begin{aligned} \mathbf{H}_{i\alpha}^{uv} &= \hat{h}_{i\alpha}^u(k) = \frac{4\pi}{k} \int_0^\infty r dr \sin(kr) h_{i\alpha}^u(r), \\ \mathbf{C}_{i\alpha}^{uv} &= \hat{c}_{i\alpha}^u(k) = \frac{4\pi}{k} \int_0^\infty r dr \sin(kr) c_{i\alpha}^u(r). \end{aligned}$$

Выражение в скобках в уравнении (1) содержит матрицу внутримолекулярных корреляционных функций, задающих жесткие связи между атомами в молекуле растворителя \mathbf{W}^v , плотность растворителя ρ и матрицу полных корреляционных функций чистого растворителя \mathbf{H}^{vv} . Это выражение является константой, значение которой может быть предварительно рассчитана методом RISM, либо взято из экспериментальных данных. Остается добавить, что размерность матрицы \mathbf{W}^u равна числу атомов молекулы раствора N , а размерность матрицы \mathbf{W}^v – числу атомов молекулы растворителя M . Матрицы корреляционных функций, соответственно, прямоугольные $N \times M$. Элементы матрицы внутри молекулярных корреляционных функций $\hat{\mathbf{w}}^u$ задают жесткие связи между атомами внутри растворенной молекулы [4]:

$$\mathbf{W}_{ij}^u = \hat{w}_{ij}^u(k) = \delta_{ij} + (1 - \delta_{ij}) \frac{\sin kl_{ij}}{kl_{ij}}, \quad (2)$$

где l_{ij} – расстояние между атомами i и j , δ_{ij} – символ Кронекера.

Вторым уравнением, которое связывает корреляционные функции в координатном пространстве и обеспечивает разрешимость системы относительно корреляционных

функций, является уравнение замыкания. В настоящей работе мы использовали выражение для частично линейризованного гиперцепного замыкания (PLHNC) [19]:

$$c_{i\alpha} = \exp(-\beta u_{i\alpha}) F(\gamma_{i\alpha}) - 1 - \gamma_{i\alpha}, \quad (3)$$

где $\gamma_{i\alpha}(r) = h_{i\alpha}(r) - c_{i\alpha}(r)$ – не прямые корреляционные функции, $u_{i\alpha}(r)$ – парные потенциалы взаимодействия атома i молекулы раствора и атома α молекулы растворителя, $\beta = 1/kT$ – обратная температура, и

$$F(\gamma_{i\alpha}) = \begin{cases} \exp(\gamma_{i\alpha}), & \text{если } h_{i\alpha}(r) \leq 0, \\ 1 + \gamma_{i\alpha}, & \text{если } h_{i\alpha}(r) > 0. \end{cases}$$

Для описания процесса растворения биологических молекул, которые обладают значительной конфигурационной подвижностью, необходимо усреднить решения уравнений RISM, или вычисленные по ним термодинамические функционалы, по выборке конфигурационных состояний, которая имеет распределение соответствующее заданной температуре. Требуемая выборка может быть получена методом МД. Другой способ вычислить средние величины по выборке состояний заключается в однократном решении уравнений RISM со средней матрицей внутримолекулярных корреляционных функций [10]. В этом подходе элементами матрицы \mathbf{W}^u являются не дельта-функции, задающие жесткую конфигурацию, а корреляционные функции атомов растворенной молекулы, рассчитанные по равновесному участку молекулярно-динамической траектории:

$$\bar{W}_{ij}^u = \hat{s}_{ij}^u(k) = \delta_{ij} + (1 - \delta_{ij}) \int_0^{\infty} P_{ij}(l) \frac{\sin(kl)}{kl} dl, \quad (4)$$

где $P_{ij}(l)$ – функции плотности вероятности обнаружить атомы i и j на расстоянии l друг от друга. В численных расчетах в качестве функций $P_{ij}(l)$ используется гистограмма распределения межатомных расстояний, которая получена по равновесному участку молекулярно-динамической траектории, а их Фурье-образы обрезаются, чтобы добиться сглаживания гистограмм и компактного представления в вычислительной машине.

2. Функционалы избыточного химического потенциала в методе RISM и энергия Гиббса

Для сравнения различных состояний растворенной молекулы по энергии, необходимо найти энергию Гиббса ΔG , которая представляет из себя сумму избыточного химического потенциала $\Delta\mu$ и молекулярно-механической энергии E^{MM} :

$$\Delta G = E^{MM} + \Delta\mu.$$

Если функционалы энергии вычисляются по выборке мгновенным конфигурациям, то их необходимо усреднить:

$$\Delta G = \sum_i E_i^{MM} + \sum \Delta\mu_i$$

Формально избыточный химический потенциал $\Delta\mu$ представляет собой работу по внедрению объекта в среду. Путь внедрения частицы в среду имитируется ослаблением потенциалов взаимодействия с помощью масштабирующего параметра λ :

$$\Delta\mu = 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} \int_0^1 d\lambda \int_0^\infty dr r^2 g_{i\alpha}(r, \lambda) \frac{\partial u(r, \lambda)}{\partial \lambda}, \quad (5)$$

где $g_{i\alpha}(r, \lambda) = h_{i\alpha}(r, \lambda) + 1$ – атом-атомные радиальные функции распределения атома α молекул растворителя вокруг атома i растворенной молекулы, которые являются решениями уравнений RISM для атом-атомных потенциалов взаимодействия $u(r, \lambda)$, скорректированных по параметру λ .

В ряде случаев интегрирование (5) по λ было выполнено аналитически. Так, в работе [20] для замыканий вида

$$c_{i\alpha}(r) = \exp(-\beta u_{i\alpha}(r) + \gamma_{i\alpha}(r) + B_{i\alpha}(r)) - \gamma_{i\alpha}(r) - 1$$

по аналогии с теорией простых жидкостей аналитически была получена формула:

$$\begin{aligned} \beta\Delta\mu = & \sum_{i\alpha} \rho \int d^3r \left\{ \frac{1}{2} h_{i\alpha}^2(r) - \frac{1}{2} h_{i\alpha}(r) c_{i\alpha}(r) - c_{i\alpha}(r) + B_{i\alpha}(r) \right\} + \\ & + \sum_{i\alpha} \rho \int d^3r \frac{h_{i\alpha}(r)}{\gamma_{i\alpha}(r)} \int_0^{\gamma_{i\alpha}(r)} d\gamma' \gamma' \frac{\partial B_{i\alpha}(\gamma')}{\partial \gamma'} \end{aligned}, \quad (6)$$

где $B_{i\alpha}(r)$ – мостиковый функционал, который является бесконечным интегральным рядом. В модели связанных взаимодействующих центров мостиковый функционал неизвестен, поэтому используются замыкания из теории простых жидкостей или другие приближения, сделанные из эмпирических соображений. Из формулы (6) видно, что если можно аналитически взять интеграл от мостикового функционала по функции γ , то можно получить выражение в простых функциях. Например, если $B_{i\alpha}(\gamma') \equiv 0$, то второе слагаемое в (6) обращается в ноль. Отбросив его, получим формулу Сингера–Чандлера [21]. Аналогичная аналитическая формула для замыкания PLHNC, которое мы используем в этой работе, имеет вид [19]:

$$\Delta\mu^{SC} = 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} \int_0^\infty dr r^2 \left\{ h_{i\alpha}^2(r) H(-h_{i\alpha}(r)) - 2c_{i\alpha}(r) - h_{i\alpha}(r) c_{i\alpha}(r) \right\}. \quad (7)$$

Выражение (7) далее будем обозначать сокращением SC.

Чтобы скорректировать энтропийную составляющую энергии, в работе [12] было предложено ввести отталкивательную поправку в уравнение замыкания. Согласно этой идее, уравнение PLHNC запишем в виде:

$$c_{i\alpha} = \exp(-\beta u_{i\alpha} + b_{i\alpha}) F(\gamma_{i\alpha}) - 1 - \gamma_{i\alpha}. \quad (8)$$

Поправка $b_{i\alpha}$ в данном случае задается выражением:

$$\exp(b_{i\alpha}) = \prod_{\mu \neq \alpha} \left[\omega_{i\mu} * \exp(-\beta u_{i\mu}^{RBC}) \right],$$

где $*$ обозначает свертку в координатном пространстве.

В качестве отталкивательного потенциала $u_{i\mu}^{RBC}$ может быть выбран либо отталкивательный член r^{-12} потенциала Леннарда–Джонса:

$$u_{i\mu}^{r^{-12}}(r) = 4\epsilon_{i\mu} \left(\frac{\sigma_{i\mu}}{r} \right)^{12}, \quad (9)$$

либо отталкивательная часть потенциала Вика–Чандлера–Андерсона (WCA):

$$u_{i\mu}^{WCA}(r) = 4\varepsilon_{i\mu} \left[\left(\frac{\sigma_{i\mu}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{i\mu}}{r} \right)^6 + \frac{1}{4} \right] H(2^{1/6}\sigma_{i\mu} - r). \quad (10)$$

Для уравнений RISM с отталкивательной поправкой получить выражения избыточного химического потенциала аналитически невозможно, но можно выполнить численное интегрирование (5), решив систему уравнений (1)–(8) для выборки значений λ от 0 до 1. В нашем случае результаты численного интегрирования для учета поправки с потенциалами (9) или (10) будем, соответственно, обозначать INT(12) или INT(WCA).

Аналитически для модели с отталкивательной поправкой можно получить только приближенное выражение для оценки избыточного химического потенциала, воспользовавшись термодинамической теорией возмущений [12]:

$$\Delta\mu^{TPT} = \Delta\mu^{SC} + 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} \int (h_{i\alpha}(r) + 1)(\exp(b_{i\alpha}(r)) - 1)r^2 dr \quad (11)$$

Результаты оценки величины химического потенциала по теории возмущений (11), использующие отталкивательную поправку с потенциалами (9) или (10), будем обозначать TPT(12) или TPT(WCA), соответственно.

Рассмотрим также еще два функционала избыточного химического потенциала, полученные из дополнительных соображений, которые подробно описаны в оригинальных работах. Первое выражение получено для теории Гауссовых флуктуаций плотности [22]:

$$\Delta\mu^{GF} = 4\pi \frac{\rho}{2\beta} \sum_{i\alpha} \int (-2c_{i\alpha}(r) - h_{i\alpha}(r)c_{i\alpha}(r))r^2 dr. \quad (12)$$

Наконец, одно из выражений избыточного химического потенциала, полученное в рамках метода парциальных волн [23, 24], имеет вид:

$$\Delta\mu^{PW} = \Delta\mu^{GF} + \frac{\rho^2}{2\beta(2\pi)^3} \sum_{i\alpha} \int 4\pi k^2 \hat{h}_{i\alpha}(k) \hat{\zeta}_{i\alpha}(k) dk, \quad (13)$$

где $\hat{\zeta}_{i\alpha}$ – являются элементами матрицы Z :

$$Z = \{ \hat{\zeta}_{i\alpha}(k) \} = C^{uv} (W^v + \rho H^{vv}) C^{vw}.$$

В дальнейшем функционалы (12) и (13) мы будем обозначать GF и PW, соответственно.

2. МЕТОДЫ РАСЧЕТА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТРАЕКТОРИЙ

2.1. Модельные пептиды. Подготовка проб

Для MD экспериментов использовали виртуальные мономеры, димеры, тетрамеры и октамеры ряда ионных пептидов: H-(RADA)₄-OH, H-(RADA)₂-OH, H-(KADA)₄-OH, H-(KAEA)₄-OH, H-(RLDL)₄-OH, H-(RAEA)₄-OH, H-(KLEL)₂-OH, в антипараллельной β -конформации. Соответствующие трёхмерные структуры мономеров пептидов были получены *in silico* с использованием пакета программ HyperChem 8 [25]. Молекулярный докинг модельных структур проводили аналогично тому, как это описано нами ранее [13, 14]. Использование программы HEX6.1 [26] в режиме учета геометрии модели и поверхностных зарядов, а также GRAMM-X [27] с учетом только геометрии молекулы, позволило получить идентичный результат в плане определения наиболее стабильного

комплекса взаимодействующих молекул для каждого вида пептидов. Состояние протонирования заряженных аминокислотных остатков было выбрано соответствующим значению рН 7. Файлы PDB, соответствующие полученным моделям, были в дальнейшем использованы для проведения МД-экспериментов, а полученные структуры использовали в качестве исходного объекта исследований.

2.2. Молекулярная динамика

Моделирование молекулярной динамики полипептидных комплексов и последующий анализ результатов были выполнены с использованием пакета программ AMBER 11 [28].

Моделирование динамики пептидов проводилось с явным учетом водного окружения. Для этого при подготовке исходных данных в ячейке периодических граничных условий (ПГУ) был размещен комплекс, окруженный молекулами воды. Силовые параметры молекул воды выбраны согласно модели TIP3P [29]. Моделирование осуществляли в силовых полях ff03 [30] при температуре 300К. Сначала была произведена минимизация энергии системы при фиксированном положении координат атомов растворённого объекта. Это сделано для того, чтобы упорядочить атомарные взаимодействия и возможно более равномерно распределить молекулы воды в ячейке ПГУ. Затем, в течение 10 пс был выполнен небольшой разогрев системы при постоянном объеме. Эта часть расчетов необходима для того, чтобы правильно настроить молекулы воды, окружающие модельную структуру, относительно границ ячейки ПГУ. Далее, были выполнены две последовательные стадии минимизации энергии модели с частичным ослаблением сил, фиксирующих положения атомов объекта в пространстве. На следующем этапе вся система без ограничений была разогрета до температуры 300К при постоянном объеме в течение 10 пс, затем при постоянном давлении было выполнено моделирование динамики молекулы продолжительностью 15 пс. При этом ячейка периодических граничных условий подстраивалась таким образом, чтобы получить заданную плотность среды в системе. В результате выполнения перечисленных операций систему приводили к состоянию с желаемыми параметрами, которые характеризовали начальную точку для расчёта МД траектории соответствующей пептидной структуры, продолжительностью 10 нс при постоянном давлении 1 атм.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе мы изучали особенности термодинамики процессов образования комплексов ионных пептидов в воде.

Характерным признаком объектов данного типа является наличие относительно большого числа заряженных групп атомов, наряду с обширными гидрофобными участками поверхности молекул, что по существу и определяет особенность их взаимодействия друг с другом, а также с молекулами растворителя. Ранее нами было показано [14], что молекулы двух мономеров 16-членных ионных пептидов в анти-параллельной β -конформации (рис. 1А) способны взаимодействовать друг с другом, образуя композитную структуру в виде своеобразной «пирамиды» с гидрофильным и гидрофобным основаниями. На следующей стадии процесса самоорганизации пептидов, значительная часть гидрофобных поверхностей димеров оказывается экранированной от растворителя, находясь внутри характерной структуры тетрамера, представляющего собой минимальный протофиламент (рис. 1В). Дальнейшая организация пептидных комплексов в филамент-подобную структуру происходит в результате последовательного взаимодействия структур протофиламента (рис. 1С), причем в ходе ассоциации тетрамеров друг с другом общая площадь неполярных

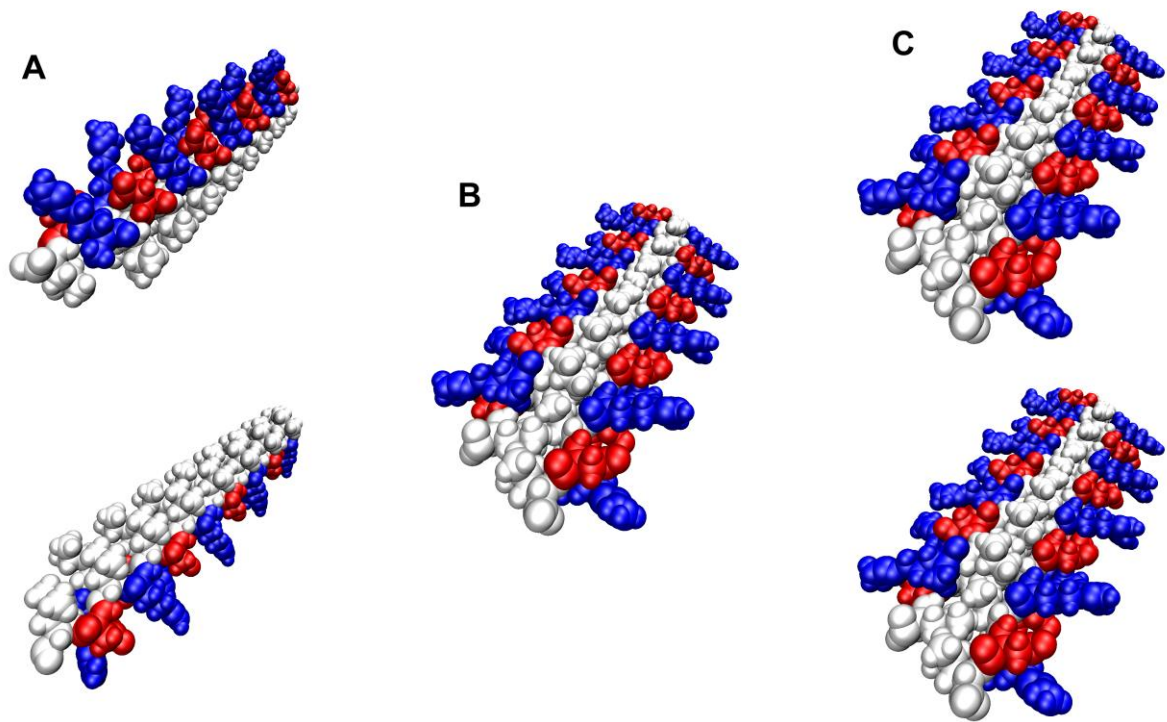


Рис. 1. Схема взаимодействия комплексных структур пептида H-(RLDL)₄-ОН при формировании протофиламента. Серым цветом показана гидрофобная поверхность, образуемая боковыми заместителями остатков лейцина. Синим цветом обозначены остатки аргинина. Красным цветом выделены остатки аспарагиновой кислоты. Видно, что гидрофобная поверхность димеров (А) в составе тетрамера (В) уменьшается. Справа (С) показана схема взаимодействия тетрамеров между собой.

поверхностей конечной структуры уменьшается почти в два раза, относительно характеристик поверхностей изолированных комплексов тетрамеров.

Методом МД были получены траектории движения мономеров, димеров, тетрамеров и октамеров ионных пептидов. Для каждой структуры были рассчитаны равновесные траектории длиной 10 нс с шагом по времени 0.2 пс.

Для оценки отличий в значениях свободной энергии при переходе от усреднения мгновенных значений к методу RISM со средней матрицей по траекториям молекулярной динамики комплексных структур пептидов H-(KAEA)₄-ОН и H-(RLDL)₄-ОН были решены уравнения RISM для мгновенных конфигураций с шагом 2 пс и рассчитаны свободные энергии по формулам Сингера–Чандлера (SC), Гауссовых

Таблица 1. Сравнение средних и псевдосредних величин энергии Гиббса комплексных структур пептида H-(KAEA)₄-ОН, ккал/моль

комплекс	средние	GF	PW	SC	TPT(12)	TPT(WCA)
мономер	Псевдо	-785.8	-584.5	-65.6	-595.6	-393.5
	95% ДИ	-819.9±0.7	-602.3±0.8	-40.2±0.4	-575.2±0.4	-371.9±0.4
	Разница	34.1(4%)	17.9(3%)	-25.5(63%)	-20.5(4%)	-21.6(6%)
димер	Псевдо	-1809.1	-1443.9	-63.7	-1125.5	-724.3
	95% ДИ	-1880.4±0.6	-1458.9±0.6	18.3±0.6	-1054.5±0.6	-652.1±0.6
	Разница	71.3(4%)	15.0(1%)	-82.0(447%)	-71.0(7%)	-72.3(11%)
тетрамер	Псевдо	-4264.6	-3506.4	205.9	-2005.6	-1185.7
	95% ДИ	-4391.0±0.6	-3459.5±0.8	452.7±1.0	-1768.5±1.2	-952.9±1.1
	Разница	126.4(3%)	-46.9(1%)	-246.8(55%)	-237.2(13%)	-232.8(24%)
октамер	Псевдо	-9845.4	-8054.7	1374.2	-3474.5	-1707.4
	95% ДИ	-10228.8±2.6	-7820.6±2.0	2213.2±5.6	-2719.0±4.7	-947.4±4.8
	Разница	383.4(4%)	-234.1(3%)	-839.0(38%)	-755.5(28%)	-760.0(80%)

Таблица 2. Сравнение средних и псевдосредних величин энергии Гиббса комплексных структур пептида H-(RLDL)₄-OH, ккал/моль

комплекс	средние	GF	PW	SC	TPT(12)	TPT(WCA)
мономер	Псевдо	-1250.0	-1105.5	-257.4	-928.7	-673.0
	95% ДИ	-1295.5±0.8	-1130.6±0.8	-225.6±0.4	-899.9±0.4	-643.8±0.4
	Разница	45.5(4%)	25.2(2%)	-31.8(14%)	-28.8(3%)	-29.2(5%)
димер	Псевдо	-2960.6	-2687.7	-287.0	-1657.0	-1147.6
	95% ДИ	-3049.7±0.5	-2669.6±0.6	-129.8±0.8	-1506.8±0.9	-1000.0±0.8
	Разница	89.1(3%)	-18.1(1%)	-157.2(121%)	-150.2(10%)	-147.5(15%)
тетрамер	Псевдо	-6379.3	-5823.1	-366.6	-3233.1	-2172.0
	95% ДИ	-6620.3±1.4	-5754.0±1.0	77.7±1.8	-2834.7±1.8	-1770.7±1.7
	Разница	241.0(4%)	-69.0(1%)	-444.3(572%)	-398.4(14%)	-401.2(23%)
октамер	Псевдо	-14658.6	-13271.6	538.9	-5909.1	-3563.1
	95% ДИ	-15310.6±2.4	-12950.2±1.9	1822.1±4.3	-4814.7±4.0	-2440.7±3.9
	Разница	652.0(4%)	-321.4(2%)	-1283.2(70%)	-1094.5(23%)	-1122.3(46%)

флуктуаций (GF), парциальных волн (PW) и по приближенным формулам с учетом отталкивательных поправок TPT(R12) и TPT(WCA) в рамках термодинамической теории возмущений. Мгновенные значения усредняли. Те же самые величины были найдены в результате решения уравнений RISM со средней матрицей. Для расчета внутримолекулярных корреляционных функций использовали траектории длиной 10 нс и шагом 0.2 пс, Фурье-образы внутримолекулярных корреляционных функций обрезали, сохраняя 99% площади под кривой. Результаты приведены в Таблицах 1 и 2. Энергии, рассчитанные усреднением мгновенных конфигураций, приведены с 95% доверительным интервалом. В строке «Разница» указано абсолютное и относительно изменение при переходе к методу RISM со средней матрицей.

Сравнение результатов показывает, что функционалы GF и PW хорошо совпадают в обоих подходах. Остальные функционалы, по-видимому, зависят от размера исследуемой системы, при этом отличия результатов достигают значительных величин. Заметим, что наименьшие среди этих функционалов отличия при переходе к методу со средней матрицей дает приближенная формула учета поправки в виде отталкивательного члена в потенциале Леннарда–Джонса TPT(12). Как будет показано дальше, аккуратный учет этой поправки с помощью термодинамического интегрирования позволяет получить наиболее разумные величины значений энергии комплексообразования. Ранее в работах [10, 11] по изучению термодинамики растворения гормона «окситоцин» мы отметили, что разница между значениями энергии Гиббса при переходе к методу со средней матрицей сравнима с температурным разбросом самой величины. Следует подчеркнуть, что отличие данной работы заключается в том, что здесь рассмотрены объекты разных размеров с разделенными зарядами. Оказалось в частности, что относительная разница энергии Гиббса при переходе к методу со средней матрицей может быть значительно больше, чем в случае гормона «окситоцин». Тем не менее, направление изменений свободной энергии при образовании комплексов в обоих методах полностью совпадают по всем функционалам свободной энергии, поэтому мы можем уверенно применить этот метод для изучения термодинамики комплексообразования. Заметим, что только в рамках метода со средней матрицей можно выполнить термодинамическое интегрирование и учесть отталкивательные поправки точно.

Таблица 3. Величины свободной энергии, полученные с использованием различных подходов при изучении самоорганизующихся ионных пептидов, ккал/моль

Объект*	GF	PW	SC	TRP(R12)	TRP(WCA)	INT(R12)	INT(WCA)	PB	GB
8×(KADA) ₄ ×1	-5159.6	-3839.3	789.7	-3231.5	-1702.1	-2954.9	-3218.5	-1996.9	-1901.1
4×(KADA) ₄ ×2	-5656.5	-4397.6	910.9	-3103.6	-1584.9	-3077.7	-3325.4	-2066.2	-1985.4
2×(KADA) ₄ ×4	-6831.0	-5593.1	1423.5	-2752.1	-1195.1	-3305.0	-3508.2	-2228.6	-2154.7
1×(KADA) ₄ ×8	-8415.7	-6708.0	2798.9	-1890.3	-194.4	-3389.8	-3500.3	-2293.9	-2288.3
8×(KAEA) ₄ ×1	-6286.4	-4675.7	-525.1	-4765.1	-3148.1	-3957.0	-4252.4	-2995.7	-2862.8
4×(KAEA) ₄ ×2	-7236.2	-5775.5	-254.8	-4502.0	-2897.4	-4287.2	-4529.3	-3211.1	-3118.5
2×(KAEA) ₄ ×4	-8529.2	-7012.8	411.8	-4011.2	-2371.4	-4486.3	-4675.7	-3400.3	-3305.0
1×(KAEA) ₄ ×8	-9845.4	-8054.7	1374.2	-3474.5	-1707.4	-4591.2	-4713.6	-3449.2	-3391.7
8×(RADA) ₄ ×1	-9612.5	-8257.2	-3538.4	-7713.1	-6108.7	-7511.5	-7769.6	-6407.9	-6320.2
4×(RADA) ₄ ×2	-10375.1	-9155.0	-3408.3	-7589.5	-5995.0	-7759.5	-7986.6	-6555.3	-6493.6
2×(RADA) ₄ ×4	-11449.4	-10182.4	-2947.5	-7283.2	-5637.5	-7923.6	-8115.8	-6665.4	-6607.2
1×(RADA) ₄ ×8	-13111.7	-11440.5	-1554.6	-6361.3	-4589.2	-8080.9	-8177.9	-6797.2	-6797.1
8×(RAEA) ₄ ×1	-10000.3	-8419.1	-4068.7	-8456.4	-6764.3	-7822.8	-8104.7	-6642.7	-6493.4
4×(RAEA) ₄ ×2	-11259.5	-9850.3	-3667.2	-8067.1	-6396.7	-8199.6	-8408.4	-6939.2	-6836.7
2×(RAEA) ₄ ×4	-12353.5	-10889.1	-2957.1	-7537.1	-5817.1	-8368.4	-8522.1	-7108.0	-7000.0
1×(RAEA) ₄ ×8	-13478.4	-11871.8	-2160.9	-7088.1	-5260.9	-8398.3	-8505.6	-7053.6	-6980.0
8×(RLDL) ₄ ×1	-9999.8	-8843.7	-2058.9	-7429.7	-5384.0	-7718.5	-7977.4	-6256.0	-6147.0
4×(RLDL) ₄ ×2	-11842.5	-10750.9	-1148.1	-6628.0	-4590.4	-8081.1	-8250.8	-6560.2	-6518.4
2×(RLDL) ₄ ×4	-12758.6	-11646.1	-733.3	-6466.1	-4343.9	-8131.6	-8289.5	-6618.9	-6577.1
1×(RLDL) ₄ ×8	-14658.6	-13271.6	538.9	-5909.1	-3563.1	-8212.9	-8288.3	-6767.0	-6761.1

* эквивалентная сумма энергий Гиббса для комплексов пептидов (ΔG) с разным уровнем организации ($N \times \Delta G \times M$), где N – количество структурных единиц, содержащих число молекул пептида M , в составе октамера, т.е. $N=1$ и $M=8$ характеризуют октамеры соответствующих пептидов.

Таблица 4. Энергия взаимодействия ΔG тетрамеров 16-членных пептидов при формировании комплекса октамера (протофиламент), ккал/моль

Объект	GF	PW	SC	TPT(R12)	TPT(WCA)	INT(R12)	INT(WCA)	PB	GB
(KADA) ₄	1583.3	1114.9	-1375.4	-861.8	-1000.7	84.8	-7.9	65.3	133.6
(KAEA) ₄	1316.2	1041.9	-962.4	-536.7	-664.0	104.9	37.9	48.9	86.7
(RADA) ₄	1662.3	1258.1	-1392.9	-921.9	-1048.3	157.3	62.1	131.8	189.9
(RAEA) ₄	1124.9	982.7	-796.2	-449.0	-556.2	29.9	-16.5	-54.4	-20.0
(RLDL) ₄	1900.0	1625.5	-1272.2	-557.0	-780.8	81.3	-0.8	148.1	184.0

Для комплексов ионных пептидов H-(RADA)₄-OH, H-(KADA)₄-OH и H-(RAEA)₄-OH энергию Гиббса вычисляли только методом RISM со средней матрицей. Используя этот метод, мы дополнительно можем выполнить термодинамическое интегрирование численно, чтобы получить точные энергии для модели с отталкивательными поправками. Эти величины будем обозначать INT(12) и INT(WCA). Также мы провели сравнение метода RISM с континуальными подходами учета растворителя. Для этого по траекториям молекулярной динамики длиной 10 нс для мгновенных конфигураций с шагом 2 пс вычисляли энергию Гиббса обобщенным методом Борна (GB) или решением уравнения Пуассона–Больцмана (PB), а затем усредняли полученные величины. Результаты расчетов по каждому объекту, полученные с использованием всех перечисленных методов, приведены в Таблице 3.

Из данных в таблице 3 видно, что с ростом уровня организации пептидных комплексов растет стабильность составляющих его мономеров. Следует отметить, что абсолютные величины свободной энергии, полученные разными способами, значительно различаются, как, например, в случаях использования методов GF, PW и GB или PB.

Неожиданными оказались результаты использования методов SC, TPT(12) и TPT(WCA), которые совершенно выпадают из общей логики процесса самоорганизации ионных пептидов в водных растворах. В этой связи следует отметить, что выражения для вычисления свободной энергии растворения по методу SC и выражения с учетом отталкивательной поправки в методе RISM, как было показано ранее, согласуются с данными эксперимента по исследованию термодинамики для случая комплекса ДНК и 4',6-диамидино-2-фенилиндола [8]. Также было показано, что использование тех же функционалов свободной энергии дало ожидаемый результат и при моделировании МД малых пептидов в различных вариантах учета среды. Причём важно, что использование метода термодинамического интегрирования и учёт отталкивательной поправки позволили при анализе сравнительно небольших объектов получить значения свободной энергии, которые были вполне сравнимы с величинами свободной энергии молекул, полученных в результате использования неявных методов [10].

Как следует из полученных в данной работе результатов, для комплексов ионных пептидов наблюдается совершенно иная картина. Можно заметить (табл. 3, 4), что наиболее адекватно изменение свободной энергии комплексов ионных пептидов всех рассмотренных типов отражено в результатах применения метода термодинамического интегрирования с учётом отталкивательного члена из потенциала Леннарда–Джонса INT(12). Действительно, в случае использования отталкивательной поправки WCA, в рамках метода RISM не удаётся охарактеризовать процесс филаментобразования, что видно из величин свободных энергий тетрамеров и октамеров пептидов KLEL8, RLDL16 и RAEA16 (табл. 3), а также RLDL16 и RAEA16 (табл. 4).

Таким образом, полученные величины свободной энергии пептидных комплексов позволяют оценить эффективность связывания компонентов протофиламента. В частности, разница величин свободной энергии октамера и двух свободных тетрамеров

отражает энергию взаимодействия двух тетрамеров в составе октамера. Сравнение величин энергии взаимодействия различных пептидных структур, в свою очередь, позволяет не только исследовать применимость каждого конкретного метода вычисления энергии Гиббса, но, кроме того, указать на различие характеристик однотипных пептидов с разной последовательностью аминокислотных остатков (табл. 4). Наконец, величина энергии взаимодействия тетрамеров пептидов может в целом отражать стабильность формируемых наноструктур.

Несмотря на то, что для некоторых пептидных комплексов в результате применения традиционно используемых неявных методов анализа биологических макромолекул: GB и PB были получены близкие по значениям величины энергии Гиббса (ΔG), очевидно, что в случае пептида H-(RAEA)₄-OH эти два метода оказались малопригодны (табл. 4), что особенно проявляется при попытке охарактеризовать процесс взаимодействия тетрамеров и формирования структуры протофиламента. В этой связи можно предположить, что увеличение алифатической цепочки в составе бокового радикала аминокислотного остатка глутаминовой кислоты по сравнению с остатком аспарагиновой кислоты приводит к такому изменению величины гидрофобной поверхности пептидных комплексов и, возможно, реорганизации поверхностных зарядов в структуре комплекса, что в конечном итоге приводит к проявлению недостаточной точности описания гидрофобных эффектов, полученных стандартным методом вычисления доступной растворителю площади поверхности (SASA), который задействован в методах GB и PB.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что использование численного термодинамического интегрирования для учета поправки в виде отталкивательного члена в потенциале Леннарда–Джонса INT(12) позволяет получить наиболее адекватные величины свободной энергии комплексов ионных пептидов. При этом численно термодинамическое интегрирование можно выполнить только в рамках метода RISM со средней матрицей, так как при данном подходе требуется решать уравнения RISM только один раз для всей траектории.

Сделан вывод, что ряд методов вычисления термодинамических характеристик макромолекул, а именно SC, TPT(R12) и TPT(WCA), неприменим для исследования комплексных структур, содержащих заряженные группы атомов.

Отмечено, что функционалы GF и PW, несмотря на подтверждение общей тенденции самоорганизации структур протофиламентов, по мнению авторов, показали существенно завышенные по абсолютной величине свободные энергии исследуемых объектов, что ограничивает их применимость для анализа самоорганизующихся ионных пептидов.

Традиционные методы GB и PB дали противоречивые результаты. С одной стороны они верно обозначили тенденцию к самоорганизации в воде пептидов H-(RADA)₄-OH, H-(KADA)₄-OH, H-(KAEA)₄-OH, H-(RLDL)₄-OH, но, в то же время, не позволили подтвердить способность к самоорганизации комплексов пептида H-(RAEA)₄-OH. Этот вывод лишь подчёркивает преимущество использования метода RISM со средней матрицей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 12-07-31085. Работа частично поддержана грантами № 14.740.11.0170 и № 16.512.11.2066 Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» и Программой Российской академии наук по молекулярной и клеточной биологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Honig B., Sharp K., Yang A.S. Macroscopic models of aqueous solutions: biological and chemical applications. *The Journal of Physical Chemistry*. 1993. V. 97. P. 1101–1109.
2. Still W.C., Tempczyk A., Hawley R.C., Hendrickson T. Semianalytical treatment of solvation for molecular mechanics and dynamics. *Journal of the American Chemical Society*. 1990. V. 112. P. 6127–6129.
3. Onufriev A., Bashford D., Case D.A. Modification of the Generalized Born Model Suitable for Macromolecules. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2000. V. 104. P. 3712–3720.
4. Chandler D., Andersen H.C. Optimized Cluster Expansions for Classical Fluids. II. Theory of Molecular Liquids. *Journal of Chemical Physics*. 1972. V. 57. P. 1930–1937.
5. Kitao A., Hirata F., Go N. Effects of solvent on the conformation and the collective motions of a protein. 3. Free energy analysis by the extended RISM theory. *The Journal of Physical Chemistry*. 1993. V. 97. P. 10231–10235.
6. Tikhonov D.A., Polozov R.V., Timoshenko E.G., Kuznetsov Yu.A., Gorelov A.V., Dawson K.A. Hydration of a B–DNA fragment in the method of atom–atom correlation functions with the reference interaction site model approximation. *Journal of Chemical Physics*. 1998. V. 109(4). P. 1528–1539.
7. Kinoshita M., Okamoto Y., Hirata F. Solvent effects on conformational stability of peptides: RISM analyses. *Journal of Molecular Liquids*. 2001. V. 90. P. 195–204.
8. Соболев Е.В., Тихонов Д.А., Фридман Х., Труонг Т. Применение метода RISM для оценки свободной энергии связывания 4',6-диамидино-2-фенилиндола в малом желобе ДНК по молекулярно-динамической траектории. *Математическая биология и биоинформатика*. 2010. Т. 5. С. 98–113. URL: [http://www.matbio.org/downloads/Sobolev2010\(5_98\).pdf](http://www.matbio.org/downloads/Sobolev2010(5_98).pdf) (дата обращения 03.08.2012).
9. Тихонов Д.А., Соболев Е.В. Оценки энергии Гиббса гидратации по молекулярно-динамическим траекториям методом интегральных уравнений теории жидкостей в приближении RISM. *Журнал физической химии*. 2011. Т. 85. С. 732–738.
10. Тихонов Д.А., Соболев Е.В. Усредненный по молекулярным траекториям метод интегральных уравнений в приближении RISM. *Математическая биология и биоинформатика*. 2010. Т. 5. С. 188–201. URL: [http://www.matbio.org/downloads/Tikhonov2010\(5_188\).pdf](http://www.matbio.org/downloads/Tikhonov2010(5_188).pdf) (дата обращения 03.08.2012).
11. Тихонов Д.А., Соболев Е.В. Метод псевдосредних функций в теории RISM. Температурная зависимость гидратации пептида окситоцина. *Математическая биология и биоинформатика*. 2010. Т. 5. С. 202–214. URL: [http://www.matbio.org/downloads/Tikhonov2010\(5_202\).pdf](http://www.matbio.org/downloads/Tikhonov2010(5_202).pdf) (дата обращения 03.08.2012).
12. Kovalenko A., Hirata F. Hydration free energy of hydrophobic solutes studied by a reference interaction site model with a repulsive bridge correction and a thermodynamic perturbation method. *Journal of Chemical Physics*. 2000. V. 113. P. 2793–2805.
13. Данилкович А.В., Тихонов Д.А., Соболев Е.В., Шадрин Т.Е., Удовиченко И.П. К вопросу о выборе потенциальных полей для изучения молекулярной динамики ионных пептидов и их димеров. *Математическая биология и биоинформатика*. 2011. Т. 6. С. 53–62. URL: [http://www.matbio.org/2011/Danilkovich2011\(6_53\).pdf](http://www.matbio.org/2011/Danilkovich2011(6_53).pdf) (дата обращения 03.08.2012).
14. Danilkovich A. V., Sobolev E. V., Tikhonov D. A., Udovichenko I. P., Lipkin V. M. Distinctive H–(RLDL)₄–OH Peptide Complexes Potentiate Nanostructure Self-Assembling in Water. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2012. V. 443. P. 96–99.
15. Zhang S. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. *Nature Biotechnology*. 2003. V. 21. P. 1171–1178.

16. Hsieh P. C. H., Davis M. E., Gannon J., MacGillivray C., Lee R. T. Controlled delivery of PDGF-BB for myocardial protection using injectable self-assembling peptide nanofibers. *Journal of Clinical Investigations*. 2006. V. 116. P. 237–248.
17. Ellis-Behnke R. G., Liang Y.-X., You S.-W., Tay D. K. C., Zhang S., So K-F, Schneider G. E. Nano neuro knitting: Peptide nanofiber scaffold for brain repair and axon regeneration with functional return of vision. *Proceedings of National Academy of Sciences of the USA*. 2006. V. 103. P. 5054–5059.
18. Hirata F., Rossky P.J., Pettitt B.M. The interionic potential of mean force in a molecular polar solvent from an extended RISM equation. *Journal of Chemical Physics*. 1983. V. 78. P. 4133–4144.
19. Kovalenko A., Hirata F. Self-consistent description of a metal–water interface by the Kohn–Sham density functional theory and the three-dimensional reference interaction site model. *Journal of Chemical Physics*. 1999. V. 110. P. 10095–10112.
20. Lue L., Blankshtein D. Liquid-State Theory of Hydrocarbon-Water Systems: Application to Methane, Ethane, and Propane. *The Journal of Physical Chemistry*. 1992. V. 96. P. 8582–8594.
21. Singer S.J., Chandler D. Free energy functions in the extended RISM approximation. *Molecular Physics*. 1985. V. 55. P. 621–625.
22. Chandler D., Singh Y., Richardson D.M. Excess electrons in simple fluids. I. General equilibrium theory for classical hard sphere solvents. *Journal of Chemical Physics*. 1984. V. 81. P. 1975–1982.
23. Ten-no S., Iwata S. On the connection between the reference interaction site model integral equation theory and the partial wave expansion of the molecular Ornstein–Zernike equation. *Journal of Chemical Physics*. 1999. V. 111. P. 4865–4868.
24. Ten-no S. Free energy of solvation for the reference interaction site model: Critical comparison of expressions. *Journal of Chemical Physics*. 2001. V. 115. P. 3724–3731.
25. *HyperChem® Computational Chemistry. Practical Guide – Theory and Method, HC 70-00-04-00*. Gainesville: Hypercube Inc, 2002. 350 p.
26. Macindoe G., Mavridis L., Venkatraman V., Devignes M.-D., Ritchie D. W. HexServer: an FFT-based protein docking server powered by graphics processors. *Nucleic Acids Research*. 2010. V. 38. P. 445–449.
27. Tovchigrechko A., Vakser I. A. Development and testing of an automated approach to protein docking. *Proteins*. 2005. V. 60. P. 296–301.
28. Case D. A., Cheatham T. E. III., Darden T., Gohlke H., Luo R., Merz K. M., Onufriev A., Simmerling C., Wang B., Woods R. J. The Amber biomolecular simulation programs. *Journal of Computational Chemistry*. 2005. V. 26. P. 1668–1688.
29. Jorgensen W. L., Chandrasekhar J., Madura J. D., Impey R. W., Klein M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *Journal of Chemical Physics*. 1983. V. 79. P. 926–935.
30. Duan Y., Wu C., Chowdhury S., Lee M. C., Xiong G., Zhang W., Yang R., Cieplak P., Luo R., Lee T., Caldwell J., Wang J., Kollman P. A point-charge force field for molecular mechanics simulations of proteins based on condensed-phase quantum mechanical calculations. *Journal of Computational Chemistry*. 2003. V. 24. P. 1999–2012.

Материал поступил в редакцию 02.07.2012, опубликован 20.08.2012.