

УДК 577.15

## Механизмы реакций ферментативного гидролиза нуклеозидтрифосфатов по данным расчетов методом квантовой и молекулярной механики

А. В. Немухин, Б. Л. Григоренко, М. С. Шадрин

*АЛЕКСАНДР ВЛАДИМИРОВИЧ НЕМУХИН — профессор, доктор химических наук, заведующий лабораторией химической кибернетики Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, заведующий лабораторией Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН. Область научных интересов: молекулярное моделирование, квантовая химия.*

*БЕЛЛА ЛЮДВИГОВНА ГРИГОРЕНКО — доктор физико-математических наук, старший научный сотрудник Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: молекулярное моделирование, квантовая химия.*

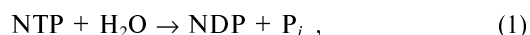
*МАРИЯ СЕРГЕЕВНА ШАДРИНА — аспирантка Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: компьютерная химия, молекулярное моделирование, биохимические реакции.*

119992 Москва, Ленинские горы, 1/3, Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, тел. (495)939-10-96, E-mail anet@icc.chem.msu.ru

119334 Москва, ул. Косыгина, 4, Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН.

### Введение

Гидролиз нуклеозидтрифосфатов представляет важнейшие реакции биохимии, ответственные в частности за преобразование энергии (гидролиз аденозинтрифосфата, АТФ) и передачу сигналов (гидролиз гуанозинтрифосфата, ГТФ) в живых системах. Несмотря на значимость процесса гидролиза нуклеозидтрифосфата (NTP), приводящего к образованию нуклеозиддифосфата (NDP) и неорганического фосфата ( $P_i$ )



механизм этой важнейшей реакции остается предметом дискуссий. Проблемным является отнесение механизма к диссоциативному или ассоциативному типу, что соответствует различным конфигурациям переходного состояния лимитирующей стадии. Знание механизма ферментативной реакции гидролиза (1) необходимо для прогнозирования влияния точечных мутаций в белковой матрице, приводящих в частности к патологическим изменениям в живых системах.

Ввиду исключительной важности гидролиза нуклеозидтрифосфатов по исследованию этой реакции проведено большое число экспериментальных и теоретических работ. В базе данных PubMed (URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov>) содержится более 10500 статей, посвященных гидролизу АТФ и почти 4000 статей, посвященных гидролизу ГТФ.

В данной статье обсуждаются результаты моделирования механизмов реакций ферментативного гидролиза АТФ и ГТФ с использованием комбинированного приближения квантовой механики и молекулярной механики (КМ/ММ).

Согласно методу КМ/ММ, энергии и силы, действующие на атомы, в небольшой центральной части большой молекулярной системы вычисляются по уравнениям квантовой химии [1], а окружающая подсистема описывается с помощью молекулярно-механических силовых полей [2]. В настоящее время этот метод является основным инструментом моделирования механизмов химических реакций в белковых матрицах, а также в растворах. В приложениях метода КМ/ММ к моделированию механизмов химических реакций энергия каждой точки на поверхности потенциальной энергии (ППЭ) складывается из энергии квантовой части в поле ММ-подсистемы и молекулярно-механической энергии. Исследование механизма реакции осуществляется путем анализа стационарных точек на ППЭ, т.е. геометрических конфигураций локальных минимумов, отвечающих реагентам, продуктам реакции, возможным интермедиатам, а также седловых точек, через которые происходят переходы между минимумами. Особое внимание уделяется расчетам энергетических барьеров на пути от реагентов к продуктам реакции. Переход к экспериментально значимым величинам, таким как константы скорости реакций, осуществляется, как правило, в рамках теории переходных состояний.

Идея метода КМ/ММ была сформулирована Варшелом и Левитом в 1976 году [3], и за 30 лет появилось несколько вариантов компьютерной реализации приближения КМ/ММ, различающихся способом учета взаимосвязи КМ- и ММ-подсистем. Далеко не все из этих вариантов адекватно передают влияние белковой матрицы на реакционный центр, что и объясняет довольно большое число публикаций, где при-

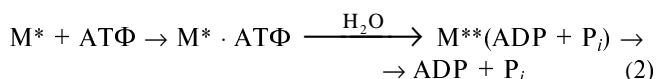
водятся нереально высокие для ферментативного катализа рассчитанные активационные барьеры (более 20 ккал/моль). В частности, такое положение весьма характерно для моделирования реакций гидролиза АТФ и ГТФ. Вариант метода КМ/ММ, используемый в работах нашей группы, основан на концепции конформационно-подвижных эффективных фрагментов [4–9], что позволяет получать результаты для всей системы (КМ+ММ) достаточно близкие к полностью неэмпирическому описанию. Для реализации данного приближения используется эффективная версия компьютерной программы GAMESS [10], а именно, PC GAMESS [11], разрабатываемая А. Грановским (URL <http://lcc.chem.msu.ru/gran/gamess>), в сочетании с комплексом программ молекулярного моделирования TINKER (URL <http://dasher.wustl.edu/tinker>).

Молекулярные модели для расчета энергетических профилей реакций гидролиза нуклеозидтрифосфатов строятся на основе атомных координат белковых комплексов, содержащихся в архиве банка данных белковых структур PDB (Protein Data Bank, URL <http://www.rcsb.org.pdb>). По экспериментальным условиям (исследования рентгеноструктурными методами или методом ЯМР) структуры в базе данных PDB относятся к аналогам фермент-субстратных комплексов, чаще всего с медленно гидролизующимися аналогами молекул нуклеозидтрифосфатов. Соответственно, задачей моделирования является восстановление истинного фермент-субстратного комплекса, симуляция реакции гидролиза (1) до продуктов и сопоставление рассчитанного энергетического профиля реакционно-го пути с экспериментальными данными.

Далее обсуждаются результаты исследования, полученные методами молекулярного моделирования некоторых важных реакций гидролиза (1).

#### Гидролиз аденозинтрифосфата, катализируемый миозином

Миозин — белок, вызывающий гидролиз АТФ с освобождением запасенной в АТФ энергии, которая обеспечивает сокращение мышц. В ходе гидролиза АТФ под действием миозина происходит изменение конформации этого белка, приводящее к направленному перемещению «головки» миозина вдоль волокон актина. Весь процесс включает захват АТФ миозином в начальной конформации белка М\*, реакцию гидролиза (1), изменение конформации белка М\*\* и высвобождение продуктов — аденозиндифосфата (АДФ, ADP) и неорганического фосфата P<sub>i</sub>. Схематически этот процесс можно записать следующим образом:



Этот процесс описывается многостадийной кинетической схемой [12], из которой следует, что активационный барьер собственно химической реакции — от фермент-субстратного комплекса до комплекса фермента с продуктами — при малых конформационных изменениях белка не должен превышать значения порядка 10 ккал/моль. Однако квантовые расчеты на основе так называемого ассоциативного механизма гидролиза приводят к энергетическим профилям с барьерами по крайней мере в три раза выше [13–15].

В нашей работе [16] на основе расчетов методом КМ/ММ построена другая модель процесса, развивающая эвристическую гипотезу [17] об участии двух активных молекул воды в реакции, расчетные результаты которой полностью согласуются с экспериментальными исследованиями.

Для проведения квантовых расчетов модельной биомолекулярной системы стартовые координаты тяжелых атомов были взяты из описания кристаллической структуры с кодом 1VOM из базы данных белковых структур PDB [18] комплекса миозина с Mg<sup>2+</sup> · ADP · VO<sub>4</sub><sup>-</sup> (ванадат замещает в кристаллической структуре γ-фосфатную группу молекулы АТФ, катион магния в белковой матрице необходим для связывания отрицательно заряженных молекул АТФ и АДФ). Далее средствами молекулярного моделирования была построена реакционная молекулярная система, что включало следующие действия: вместо ванадата была введена γ-фосфатная группа PO<sub>3</sub><sup>-</sup>, добавлены отсутствующие в кристаллической структуре 1VOM атомы водорода, а также в полости структуры миозина и на его поверхности добавлены молекулы воды. К КМ-подсистеме (всего 47 атомов) построенной биомолекулярной системы были отнесены фосфатные группы молекулы АТФ, катион магния, боковые цепи аминокислотных остатков так называемого солевого мостика Arg238—Glu459 и две молекулы воды Wat1 и Wat2, зажатые в активном центре солевым мостиком (рис. 1, атомы, отнесенные к КМ-подсистеме, обозначены шарами и стержнями). ММ-подсистему, полностью захватывающую активный центр, составляли 1800 атомов белковой молекулы, сгруппированные в конформационно-подвижные эффективные фрагменты [4, 5], взаимодействующие с КМ-подсистемой. Энергии и силы, действующие в КМ-части, вычислялись методом Хартри—Фока с базисом (и псевдопотенциалом для фосфора) LANL2DZdp\_ECP [19]. Взаимодействия атомов в ММ-подсистеме описывались силовым полем AMBER [20]. Рассчитанная путем минимизации полной энергии системы равновесная геометрическая конфигурация фермент-субстратного комплекса хорошо согласуется с его кристаллической структурой [16].

В качестве координаты реакции было выбрано расстояние между атомом фосфора P<sub>γ</sub> и атомом кислорода молекулы воды Wat1, ориентированной боковыми цепями белка в подходящую позицию для нуклеофильной атаки. Постепенно уменьшают это расстояние от исходного значения в фермент-субстратном комплексе 2,70 Å и проводят для каждой точки оптимизацию всех остальных геометрических параметров. Перемещения протонов вдоль ориентированной цепи водородных связей Wat1 → Wat2 → Glu459, которые осуществляются в данном случае безбарьерно [21], завершают процесс.

Рассчитанное значение энергии образования продуктов составляет −3,5 ккал/моль по отношению к фермент-субстратному комплексу. Таким образом, химическая реакция гидролиза АТФ (2) при неизменной глобальной конформации миозина М\* протекает в одну стадию с единственным переходным состоянием, показанным на рис. 1. Протонирование остатка глутаминовой кислоты Glu459 создает предпосылки для последующего разъединения солевого мостика

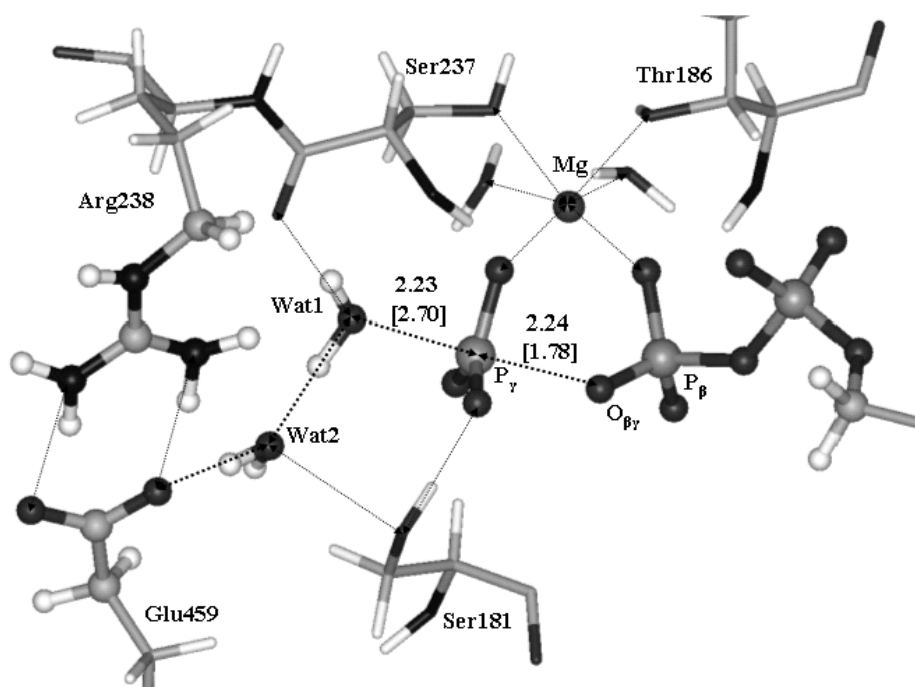


Рис. 1. Рассчитанная геометрическая конфигурация активного сайта на вершине потенциального барьера для реакции гидролиза АТФ белком миозином.

Расстояния (в Å) между фосфором  $P_\gamma$  АТФ и кислородом воды Wat1 и мостиковым кислородом  $O_{\beta\gamma}$ , указанные без скобок, относятся к переходному состоянию, в скобках — к фермент-субстратному комплексу

Arg238—Glu459 и существенных конформационных превращений в миозине. Методом КМ/ММ удалось зафиксировать конфигурацию атомов на вершине потенциального барьера (см. рис. 1). Высота активационного барьера в этой точке переходного состояния оценена в 5 ккал/моль. Для переходного состояния характерна плоская конфигурация отделившейся от АДФ  $\gamma$ -фосфатной группы. При движении по потенциальной поверхности в направлении продуктов реакции группа  $PO_3^-$  испытывает стереохимическое обращение в конфигурацию, удобную для образования связи между гидроксидом от нуклеофильной молекулы воды Wat1 и атомом фосфора  $P_\gamma$  и соответственно для формирования неорганического фосфата  $HPO_4^{2-}$ .

#### Гидролиз гуанозинтрифосфата, катализируемый белком RAS

Гуанозинтрифосфат играет важную роль при передаче регуляторного сигнала от рецепторов клеточной мембраны к ядру клетки. Фермент человека  $p21^{ras}$  (далее обозначаемый RAS) с молекулой ГТФ в активном центре выполняет роль «выключателя» при передаче сигнала. Если белок RAS связывает молекулу ГТФ, то сигналы, приходящие на рецепторы, переводят клетку в активное состояние, и она получает возможность расти и изменяться. В результате гидролиза молекула ГТФ переходит в гуанозиндифосфат (ГДФ), переводя физиологическую систему в положение «выключено» и блокируя передачу сигнала. Отметим, что при исследовании опухолей человека примерно в 30% из них найдены клетки с мутированными белками RAS, которые оказываются заблокированными в ак-

тивном состоянии. Они не способны выключать (прерывать) переносимый сигнал, что и приводит со временем к образованию опухоли.

Теоретические подходы к описанию гидролиза ГТФ под действием белка RAS были реализованы в рамках специально параметризованной эмпирической схемы метода валентных связей [22–24], методами квантовой химии [25] и молекулярной динамики [26, 27]. Были получены довольно противоречивые результаты, которые не позволяют однозначно описать механизм реакции гидролиза в белковой матрице.

Для моделирования реакции гидролиза ГТФ белком RAS в нашей работе [28] была использована похожая стратегия, что и для системы АТФ—миозин, описанной выше. В качестве исходных координат тяжелых атомов рассматривалась структура комплекса ГТФ (GTP) ·  $Mg^{2+}$  · RAS из архива PDB с кодом 1QRA, отвечающая предгидролизному состоянию системы при низких температурах [29]. Уточнение положения молекулы субстрата в белке проведено путем молекулярного докинга [30]. Были добавлены недостающие атомы водорода, а также молекулы воды. Безусловной минимизацией энергии в рамках метода КМ/ММ с выделением конформационно-подвижных эффективных фрагментов определена конфигурация фермент-субстратного комплекса. В расчетах использовано приближение Хартри—Фока с базисом (и псевдопотенциалом для фосфора) LANL2DZdp\_ECP [19] и силовое поле AMBER [20]. К квантовой подсистеме были отнесены фосфатные группы молекулы ГТФ, ион магния, боковая цепь аминокислотного остатка Gln61, ключевая роль которого отмечается в экспериментальных исследованиях, и две молекулы воды W1

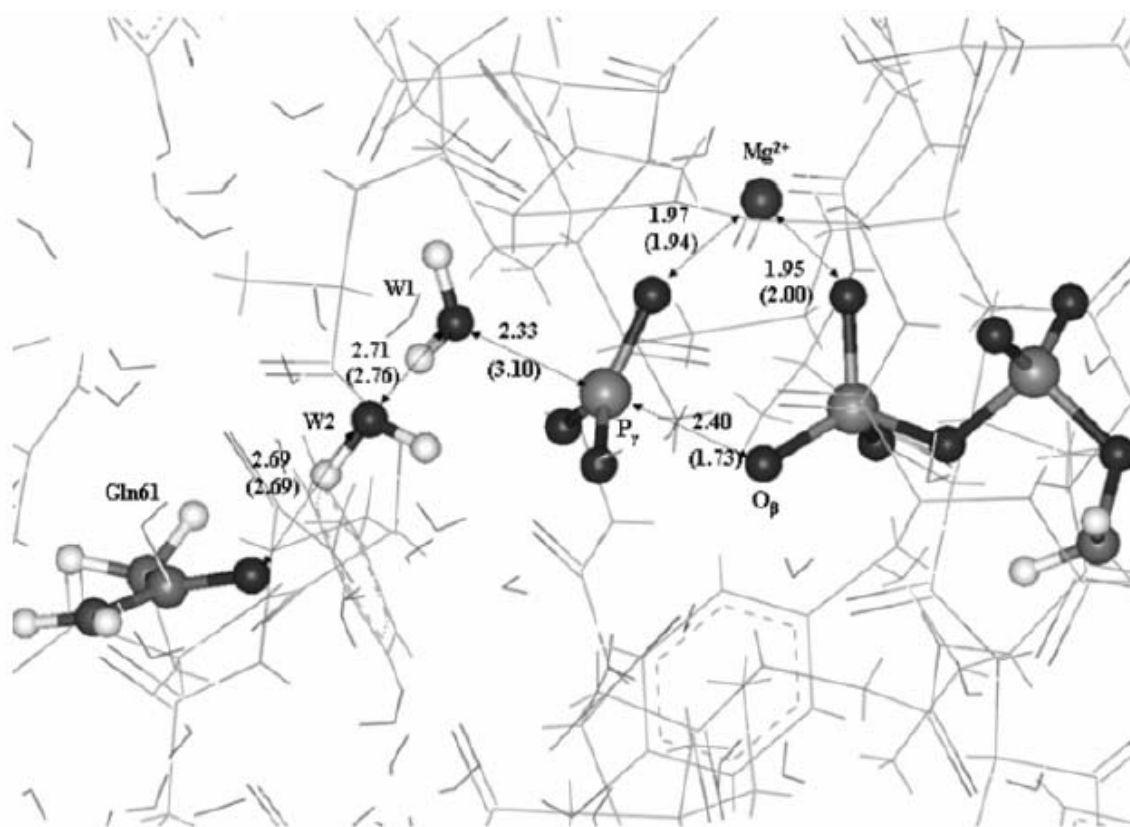


Рис. 2. Рассчитанная геометрическая конфигурация активного сайта на вершине потенциального барьера для реакции гидролиза ГТФ белком RAS.

Расстояния (в Å), указанные без скобок, относятся к переходному состоянию, в скобках — к фермент-субстратному комплексу

и W2 (рис. 2, квантовая подсистема обозначена шарами и стержнями).

На рис. 2 показана конфигурация активного центра на вершине потенциального барьера, полученная при движении вдоль координаты реакции, выбранной как расстояние между атомом фосфора  $P_\gamma$  и атомом кислорода молекулы воды, ориентированной водородными связями окружающих молекулярных групп в подходящую позицию для нуклеофильной атаки.

Сопоставление структур, представленных на рис. 1 и рис. 2, показывает, что переходные состояния для реакции гидролиза АТФ миозином и ГТФ белком RAS достаточно близки. В отличие от гидролиза АТФ миозином гидролиз ГТФ протекает в две стадии. На первой стадии отщепляется  $\gamma$ -фосфатная группа  $PO_3^-$  под действием окружения активного центра белка и молекул воды. Вместе с отщеплением фосфатной группы наблюдается стереохимическая инверсия фосфата. На следующих стадиях молекула воды реагирует с  $\gamma$ -фосфатной группой  $PO_3^-$ , при этом происходит перенос двух протонов: с реагирующей молекулы воды на соседнюю молекулу воды и далее на аминокислотный остаток Gln61. На промежуточной стадии образуется  $HPO_4^{2-}$ . В завершение реакции протон от аминокислотного остатка Gln61 по цепочке водородных связей переходит на  $HPO_4^{2-}$ , образуя продукт реакции  $H_2PO_4^-$ . Рассчитанный методом КМ/ММ активационный барьер первой стадии (отрыв  $\gamma$ -фосфатной группы)

составляет 16 ккал/моль, второй стадии (формирование неорганического фосфата) — 5 ккал/моль [28].

#### Гидролиз гуанозинтрифосфата, катализируемый белковым комплексом RAS-GAP

В живых системах скорость гидролиза ГТФ существенно увеличивается (на пять порядков), если в реакции белок RAS выступает в виде комплекса с другим белком  $p120^{GAP}$  (GAP), относящимся к категории ускорителей действия ГТФаз. В белковом комплексе RAS-GAP молекула субстрата зажимается пептидными цепями внутри полости комплекса, а не располагается на поверхности сольватированного белка, как в случае гидролиза ГТФ под действием свободного белка RAS. Соответственно, в активном центре фермента (белкового комплекса) имеется место лишь для одной нуклеофильной молекулы воды (рис. 3). Выяснению механизма реакции гидролиза ГТФ в этой системе посвящено большое число экспериментальных и теоретических работ [31—36], но однозначных выводов о механизме реакции сделано не было.

В наших работах [37—39] моделирование реакции гидролиза ГТФ белковым комплексом RAS-GAP было выполнено для реального белкового окружения методом КМ/ММ с выделением конформационно-подвижных эффективных фрагментов.

Молекулярная модель для расчетов КМ/ММ методом была построена на основе атомных координат

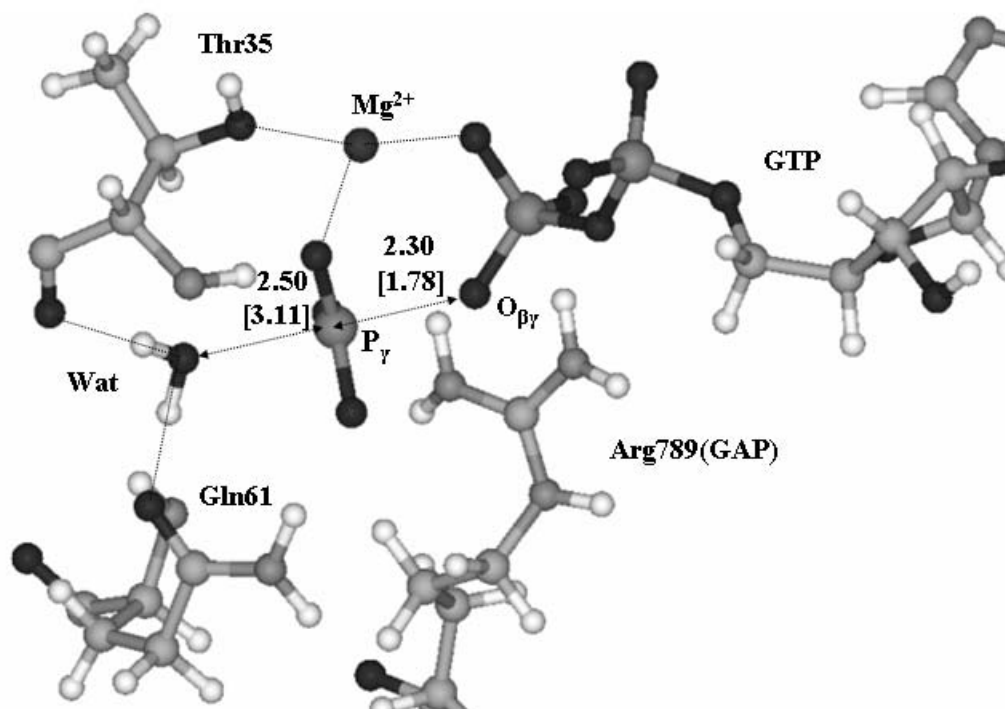


Рис. 3. Рассчитанная геометрическая конфигурация активного сайта на вершине потенциального барьера для реакции гидролиза ГТФ белковым комплексом RAS-GAP.

Расстояния (в Å) между фосфором  $P_\gamma$  ГТФ и кислородом молекулы воды и мостиковым кислородом  $O_{\beta\gamma}$ , указанные без скобок, относятся к переходному состоянию, в скобках — к фермент-субстратному комплексу

структуры 1WQ1 из архива PDB для комплекса RAS-GAP с включенным аналогом ГТФ, а именно, с молекулой ГДФ с группой  $AlF_3$  вместо  $\gamma$ -фосфата [40]. Считается, что данная модельная структура [40] соответствует переходному состоянию в реакции гидролиза (1), поскольку плоская группа  $AlF_3$ , замещающая в кристаллической структуре  $\gamma$ -фосфат, имитирует предполагаемую конфигурацию  $\gamma$ -фосфатной группы ГТФ на вершине энергетического барьера. Как показано в работе [41], более вероятно, что на самом деле имитирующей группой в структуре PDBID:1WQ1 является  $MgF_3^-$ , что не меняет качественную интерпретацию рентгеноструктурных данных.

В нашей модели в квантовую подсистему (43 атома) включены фосфатные группы ГТФ, молекула воды, катион магния, фрагмент Gln61 от белка RAS, фрагмент Arg789 от ускорителя GAP (так называемый «аргининовый палец»). Именно эти аминокислотные остатки считаются ключевыми при функционировании всего ферментного комплекса. Для расчетов использован неэмпирический метод Хартри—Фока с базисом (и псевдопотенциалом для фосфора) LANL2DZdp\_ECP [19] и силовое поле AMBER [20]. На рис. 3 изображена геометрическая конфигурация переходного состояния для первой стадии реакции — отщепления  $\gamma$ -фосфатной группы. Реакция гидролиза ГТФ, катализируемая комплексом RAS-GAP, проходит через те же стадии, что и в случае свободного белка RAS за исключением того, что активное участие в перераспределении протонов для формирования

неорганического фосфата принимает аминокислотный остаток Gln61.

Расчеты энергетического профиля КМ/ММ методом предсказывают величину активационного барьера на первой стадии (отрыв  $\gamma$ -фосфатной группы) в 4 ккал/моль, на второй стадии (формирование неорганического фосфата) — в 10 ккал/моль, что полностью согласуется со степенью ускорения гидролиза комплексом RAS-GAP по сравнению с реакцией, катализируемой белком RAS. Эвристические предположения о возможности подобного механизма высказывались в работе [42]. Роль ключевых аминокислотных остатков Gln61(RAS) и Arg789(GAP) вполне ясна, и понятно, что мутации по этим позициям должны приводить к возрастанию активационного барьера реакции или полностью менять механизм катализа.

#### Гидролиз метилтрифосфата в воде

Анализ реакции гидролиза полностью депротонированного метилтрифосфата  $[CH_3-O-(PO_3)_3]^{4-}$  в водных растворах дает реперные данные для выяснения каталитического эффекта белковых матриц в ферментативных превращениях АТФ и ГТФ. Измерения констант скорости гидролиза метилмонофосфата в воде при различных значениях pH [43] позволили оценить [35, 44] активационные барьеры на поверхности свободной энергии от 27 до 31 ккал/моль, но не позволили прояснить детали механизма реакции. Теоретический подход к моделированию механизма гидролиза метилтрифосфата в водных кластерах  $(H_2O)_n$  с

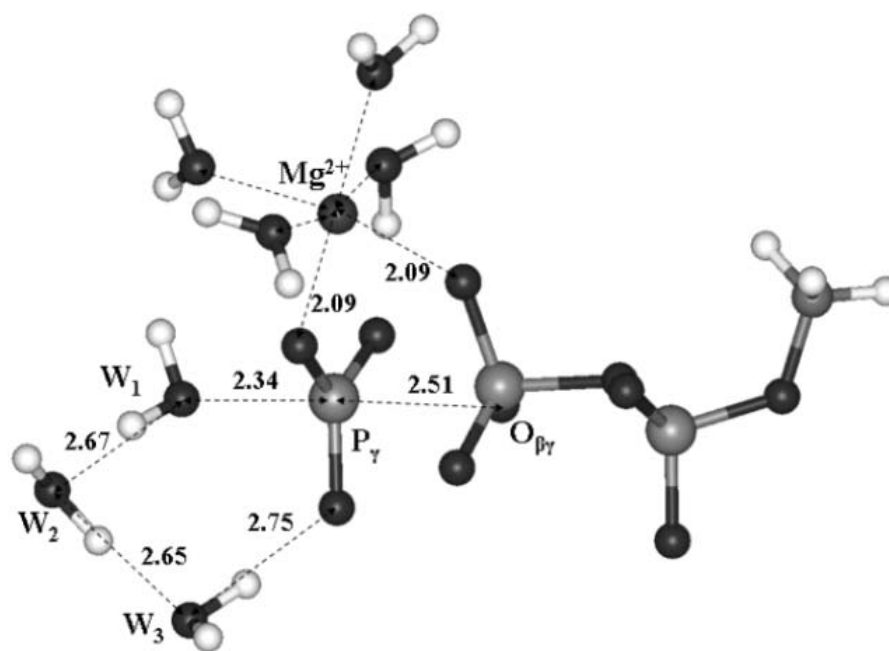


Рис. 4. Рассчитанная геометрическая конфигурация активного сайта на вершине потенциального барьера для реакции гидролиза метилтрифосфата в водных кластерах.

Межатомные расстояния указаны в Å

использованием метода молекулярной динамики Кара—Парринелло, приводящего в данном случае к существенно завышенным значениям активационных барьеров, описан в работе [45].

В наших работах [46, 47] было проведено расчеты энергетического профиля реакции гидролиза метилтрифосфата ( $\text{MTP}^{4-}$ ) до метилдифосфата ( $\text{MDP}^{3-}$ ), в окружении молекул воды:



Рассматривались две модельные молекулярные системы, различающиеся прежде всего наличием или отсутствием катиона магния. В модели I в КМ-подсистему включен четырехзарядный анион метилтрифосфата и пять молекул воды. Еще 75 молекул воды, описываемых эффективными фрагментами, отнесены к ММ-части. В модели II КМ-часть включает анион МТР, катион  $\text{Mg}^{2+}$  и семь молекул воды. К ММ-части отнесены 73 молекулы воды (эффективные фрагменты). Данные молекулярные кластеры были построены последовательным добавлением молекул воды к реакционным частицам ( $\text{MTP}^{4-} + \text{H}_2\text{O}$ ) с оптимизацией на каждом шаге геометрических параметров всей системы так, чтобы поддерживалась сетка водородных связей. Выбранного числа молекул воды (всего 80) достаточно для полного окружения реакционной части  $\text{MTP}^{4-} + \text{H}_2\text{O}$  молекулами растворителя.

Энергии и градиенты энергии в КМ-подсистеме вычислялись методом Хартри—Фока и методом теории функционала плотности с известным функционалом B3LYP в рамках пакета программ PC GAMESS [11]. Был использован базисный набор LANL2DZdp\_ECP с псевдопотенциалом для фосфора.

Активационный барьер в приближении Хартри—Фока для модели I на первой стадии (отщепление

$\gamma$ -фосфатной группы) оценен в 20 ккал/моль, на второй стадии (формирование неорганического фосфата) — в 14 ккал/моль. Эти данные четко демонстрируют каталитический эффект в реакциях гидролиза АТФ и ГТФ белкового окружения в миозине и в белках RAS и RAS-GAP: по сравнению с реакцией в водных кластерах активационные барьеры снижены.

Рассчитанная в рамках модели II геометрическая конфигурация переходного состояния (рис. 4) напоминает переходные состояния для гидролиза АТФ и ГТФ, что свидетельствует об общем механизме реакции во всех случаях.

### Заключение

Молекулярное моделирование становится все более распространенным инструментом для изучения биомолекулярных процессов, включая реакции ферментативного катализа. Компьютерно-ориентированные исследования оказывают заметную поддержку экспериментальным работам, существенно снижая временные и материальные затраты проектов. Более того, надежные результаты молекулярного моделирования позволяют окончательно установить и сделать наглядным механизм сложных химических превращений в ферментных системах. Все экспериментальные подходы к исследованию механизма сложных химических превращений обеспечивают хотя и важные, но косвенные данные по детальному ходу реакций, и моделирование предоставляет дополнительную и весьма существенную информацию. В данном обзоре на примере реакции гидролиза нуклеозидтрифосфатов продемонстрированы успехи современного молекулярного моделирования на основе квантовой теории.

Следующие этапы развития компьютерного моделирования могут быть связаны с развитием и приме-

нением комбинированного метода квантовой механики и молекулярной динамики (КМ/МД). Такой подход позволит учитывать большие конформационные превращения в ходе химических реакций в белковых системах. Первые шаги в этом направлении уже сделаны — метод КМ/МД успешно реализован в представленной работе.

Другое перспективное развитие молекулярного моделирования — создание информационных баз данных по интермедиатам и переходным состояниям для элементарных стадий реакций ферментативного катализа. Накопленный опыт по моделированию реакций гидролиза нуклеозидтрифосфатов под действием различных ферментов позволяет делать первые шаги в этом направлении.

\* \* \*

При написании данной статьи использованы работы, поддержанные РФФИ (проект № 07-03-00060) и РАН (программа № 10 Отделения химии и наук о материалах).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Минкин В.И., Симкин Б.Я., Миняев Р.М. Теория строения молекул. Ростов-на-Дону: Феникс, 1997, 560 с.
2. Буркерт У., Эллинджер Н. Молекулярная механика. М.: Мир, 1986, 364 с.
3. Warshel A., Levitt M. J. Mol. Biol., 1976, v. 103, p. 227.
4. Немухин А.В., Григоренко Б.Л., Епифановский Е.М., Московский А.А. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2006, т. 50, с. 45–52.
5. Grigorenko B.L., Nemukhin A.V., Topol I.A., Burt S.K. J. Phys. Chem. A, 2002, v. 106, p. 10663–10672.
6. Nemukhin A.V., Grigorenko B.L., Topol I.A., Burt S.K. J. Comp. Chem., 2003, v. 24, p. 1410–1420.
7. Nemukhin A.V., Grigorenko B.L., Vochenkova A.V. e. a. Struct. Chem., 2004, v. 15, p. 3–9.
8. Немухин А.В., Григоренко Б.Л., Князева М.А. Ж. физич. химии, 2004, т. 78, с. 1028–1035.
9. Nemukhin A.V., Grigorenko B.L., Rogov A.V. e. a. Theor. Chem. Acc., 2004, v. 111, p. 36–48.
10. Schmidt M.W., Baldrige K.K., Voatz J.A. e. a. J. Comput. Chem., 1993, v. 14, p. 1347.
11. Немухин А.В., Григоренко Б.Л., Грановский А.А. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2, Химия, 2004, т. 45, с. 75–102.
12. Trentham D.R., Eccleston J.F., Bagshaw C.R. Q. Rev. Biophys., 1976, v. 9, p. 217–281.
13. Okimoto N., Yamanaka K., Ueno J. e. a. Biophys. J., 2001, v. 81, p. 2786–2794.
14. Li G., Cui Q. J. Phys. Chem. B, 2004, v. 108, p. 3342–3357.
15. Schwarzl S., Smith J.C., Fisher S. Biochemistry, 2006, v. 45, p. 5830–5847.
16. Grigorenko B.L., Rogov A.V., Topol I.A. e. a. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, v. 104, p. 7057–7061.
17. Onishi H., Mochizuki N., Morales M.F. Biochemistry, 2004, v. 43, p. 3757–3763.
18. Smith C.A., Rayment I. Ibid., 1996, v. 35, p. 5405–5417.
19. Hay P.J., Wadt W.R. J. Chem. Phys., 1985, v. 82, p. 270–283.
20. Cornell W.D., Cieplak P., Bayly C.I. e. a. J. Am. Chem. Soc., 1995, v. 117, p. 5179–5197.
21. Nemukhin A.V., Topol I.A., Grigorenko B.L., Burt S.K. J. Phys. Chem. B, 2003, v. 107, p. 2958–2965.
22. Langen R., Schweins T., Warshel A. Biochemistry, 1992, v. 31, p. 8691–8696.
23. Schweins T., Langen R., Warshel A. Nature Struct. Biol., 1994, v. 1, p. 476–484.
24. Schweins T., Warshel A. Biochemistry, 1996, v. 35, p. 14232–14243.
25. Futatsugi N., Hata M., Hoshino T., Tsuda M. Biophys. J., 1999, v. 77, p. 3287–3292.
26. Futatsugi N., Tsuda M. Ibid., 2001, v. 81, p. 3483–3488.
27. Cavalli A., Carloni P. J. Am. Chem. Soc., 2002, v. 124, p. 3763–3768.
28. Grigorenko B.L., Shadrina M.S., Topol I.A. e. a. Proteins: Struct. Funct. Bioinf., 2007, v. 66, p. 456–466.
29. Scheidig A.J., Burmester C., Goody R.S. Structure, 1999, v. 7, p. 1311–1324.
30. Шадрина М.С., Рогов А.В., Бравая К.Б., Немухин А.В. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2, Химия, 2005, т. 46, с. 363–369.
31. Vetter I.R., Wittinghofer A. Science, 2001, v. 294, p. 1299–1304.
32. Kosloff M., Selinger Z. Trends Biochem. Sci., 2001, v. 26, p. 257–262.
33. Li G., Zhang X.C. J. Mol. Biol., 2004, v. 340, p. 921–932.
34. Wittinghofer A. Trends Biochem. Sci., 2006, v. 31, p. 20–23.
35. Glennon T.M., Villa J., Warshel A. Biochemistry, 2000, v. 39, p. 9641–9651.
36. Shurki A., Warshel A. Proteins, 2004, v. 55, p. 1–10.
37. Topol I.A., Cachau R.E., Nemukhin A.V. e. a. Biochem. Biophys. Acta, 2004, v. 1700, p. 125–136.
38. Grigorenko B.L., Nemukhin A.V., Topol I.A. e. a. Proteins: Struct. Funct. Bioinf., 2005, v. 60, p. 495–503.
39. Григоренко Б.Л., Рогов А.В., Князева М.А., Исаева Е.В., Немухин А.В. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2, Химия, 2005, т. 46, с. 19–23.
40. Scheffzek K., Ahmadian M.R., Kabsch W. e. a. Science, 1997, v. 277, p. 333.
41. Grigorenko B.L., Nemukhin A.V., Cachau R.E. e. a. J. Molec. Modeling, 2005, v. 11, p. 503–508.
42. Sondek J., Lambright D.G., Noel J.P. e. a. Nature, 1994, v. 372, p. 276.
43. Bunton C.A., Llewellyn D.R., Oldham K.G., Vernon C.A. J. Chem. Soc., 1958, p. 3574.
44. Hu C.H., T. Brinck T.J. J. Phys. Chem. A, 1999, v. 103, p. 5379.
44. Akola J., Jones R.O. J. Phys. Chem. B, 2003, v. 107, p. 11774.
45. Grigorenko B. L., Rogov A.V., Nemukhin A.V. Ibid., 2006, v. 110, p. 4407.
46. Рогов А.В., Григоренко Б.Л., Боченкова А.В. и др. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2, Химия, 2007, т. 48, с. 152–156.