

УДК 577.152.23: 577.151.02: 577.151.042:579.234

Построение полноатомной модели *L,D*-транспептидазы 2 из *Mycobacterium tuberculosis* для скрининга новых ингибиторов

С. М. Балдин^{1,2}, Н. М. Мисюра³, В. К. Швядас^{1,3*}¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 73

*E-mail: vyfas@belozersky.msu.ru

Поступила в редакцию 03.09.2016

Принята в печать 15.11.2016

РЕФЕРАТ *L,D*-транспептидаза 2-го типа из *Mycobacterium tuberculosis* играет ключевую роль в формировании неклассических 3-3 поперечных сшивок пептидогликана в клеточной стенке патогена, обуславливая его устойчивость к широкому спектру антибиотиков пенициллинового ряда. Впервые проведенное исследование взаимодействия фермента с тетрапептидным фрагментом пептидогликана клеточной стенки при помощи методов молекулярного моделирования позволило выявить особенности связывания N- и C-концевых фрагментов растущей цепи пептидогликана этим ферментом при образовании 3-3 поперечных сшивок и построить полноатомную модель LdtMt2 для скрининга и оптимизации структуры ингибиторов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА *L,D*-транспептидаза, *Mycobacterium tuberculosis*, ингибиторы, каталитический механизм, молекулярный докинг, молекулярная динамика.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ Ac – ацетил; ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения; Ldt – *L,D*-транспептидаза; LdtMt1 и LdtMt2 – *L,D*-транспептидазы *Mycobacterium tuberculosis* первого и второго типа; m-DAP – мезо-диаминопимелиновая кислота; IG – иммуноглобулин; МД – молекулярная динамика; PME – метод учета дальнедействующих кулоновских взаимодействий Particle Mesh Ewald.

ВВЕДЕНИЕ

Опасность заболевания туберкулезом непрерывно растет с появлением штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих множественной и широкой лекарственной устойчивостью. Согласно оценкам ВОЗ, в 2015 году туберкулезом заболели 10.4 миллиона человек и около 1.8 миллиона умерли [1]. Становится очевидной необходимость поиска новых противотуберкулезных препаратов и технологий лечения, а также дизайна более эффективных антибиотиков для подавления инфекции. Большой интерес представляет использование ранее не известных молекулярных мишеней, связанных с особенностями жизнедеятельности и структурной организации возбудителя туберкулеза.

Одним из существенных отличительных свойств *M. tuberculosis* является строение ее клеточной стен-

ки. В отличие от многих бактерий, в формировании клеточной стенки которых важную роль играют классические 4-3 поперечные сшивки пептидогликана (образование пептидной связи между *D*-центром мезо-диаминопимелиновой кислоты (m-DAP) и *D*-аланином), клеточная стенка *M. tuberculosis* формируется за счет образования неклассических 3-3 поперечных сшивок (до 80% в стационарной фазе). С открытием этого факта стало понятным, почему β-лактамы антибиотиков, способные инактивировать пенициллинсвязывающие ферменты *D,D*-транспептидазы, которые катализируют образование классических 4-3 поперечных сшивок пептидогликана клеточной стенки [2], малоэффективны при лечении туберкулеза. В последние годы было установлено, что образование неклассических 3-3 поперечных сшивок катализируют ранее не извест-

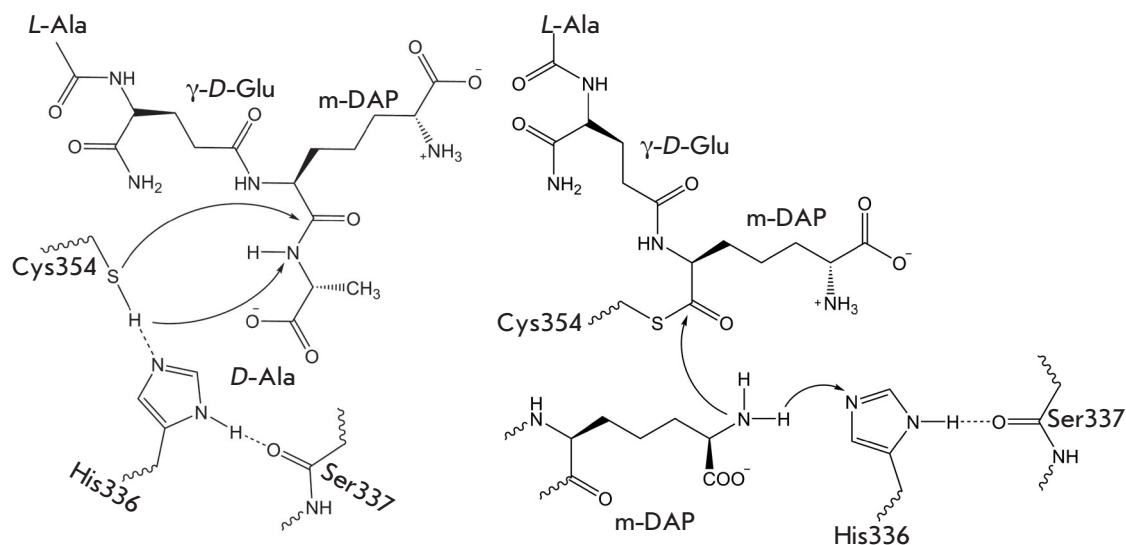


Рис. 1. Каталитический механизм LdtMt2 на примере трипептидного аналога природного субстрата. Реакция образования ацилфермента (левый рисунок) и последующая реакция переноса ацильной части на нуклеофил и образование 3-3 поперечной сшивки в пептидогликане (правый рисунок)

ные ферменты *L,D*-транспептидазы [3–6]. Действие *L,D*-транспептидаз приводит к завершению формирования поперечных сшивок в пептидогликане *M. tuberculosis* в результате образования пептидной связи между *L*-центром третьего остатка *m*-DAP одного олигопептида и *D*-центра аналогичного остатка другого (рис. 1).

Геном *M. tuberculosis* кодирует пять белков, содержащих домен, обладающий *L,D*-транспептидазной активностью (участки Rv0116c, Rv0192, Rv0483, Rv1433 и Rv2518c) [5], среди которых наиболее активно экспрессируется *L,D*-транспептидаза второго типа (LdtMt2) Rv2518c [6]. Потеря гена *Rv2518c*, кодирующего LdtMt2, ведет к существенному изменению морфологии колоний, ослаблению роста бактерий и усилению чувствительности к классическим антибиотикам (действию комплексного препарата на основе амоксициллина и клавулановой кислоты) [3].

LdtMt2 состоит из 408 аминокислотных остатков и является липопротеином. N-Концевой фрагмент фермента погружен в липидный бислой. Полипептидная цепь содержит короткий фрагмент, экспонированный внутрь клетки (остатки 1–17), трансмембранный участок (остатки 18–34) и надмембранный участок (остатки 35–408), который, в свою очередь, можно разделить на три домена: два некаталитических IG-подобных домена А и В (остатки 55–146 и 149–250 соответственно) и каталитический домен С (остатки 251–408), который обладает транспептидазной активностью [6]. Ключевыми для катализа остатками LdtMt2 являются Cys354, His336 и Ser337, составляющие цепь переноса протона [6]. Активный центр LdtMt2 не экспонирован непосредственно в растворитель, а расположен под так назы-

ваемой «крышкой» [7] Tyr298–Trp324, формирующей три канала, по двум из которых возможна доставка субстрата в активный центр. Данный элемент вторичной структуры представляет собой антипараллельный β-лист, соединенный неупорядоченной петлей. Доступ субстрата и растворителя в активный центр фермента ограничен объемными гидрофобными остатками, образующими саму «крышку» (Tyr308 и Tyr318), а также расположенными на входе в активный центр (Tyr330, Phe334 и Trp340).

Полноразмерная структура LdtMt2 неизвестна, однако установлены кристаллографические структуры доменов А и В, а также доменов С и В (PDB 4HU2 и 4HUC соответственно) [6]. Наряду с этим определена структура комплекса с дипептидным фрагментом (N-γ-D-глутамил-*m*-DAP) пептидогликана в активном центре фермента, PDB 3TUR [5], а также получены структурные данные для ковалентных комплексов LdtMt2 с меропенемом и LdtMt1 с имипенемом [7, 8]. Обращает на себя внимание противоречивость представленных структур (рис. 2): остатки ингибиторов одного класса расположены в разных каналах, несмотря на гомологичную структуру каталитических *L,D*-транспептидазных доменов в транспептидазах 1-го и 2-го типов.

Важные данные для понимания механизма действия LdtMt2 получены при QM/MM-моделировании взаимодействия фермента с трипептидным аналогом (N-γ-D-Glu-*m*-DAP-*D*-Ala) природного субстрата – пептидогликана клеточной стенки [9]. Эта работа позволила определить энергетические профили стадии образования ацилфермента, а также последующей стадии переноса ацильной группы и образования пептидной связи между *L*-центром *m*-DAP ацилфермента и *D*-центром *m*-DAP нуклеофила (см.

Рис. 2. Наложение структур фермент-ингибиторных комплексов LdtMt2–меропенем (4GSU) и LdtMt1–имипенем (4JMX), показывающее, что остатки меропенема (бирюзовый) и имипенема (фиолетовый) расположены в разных каналах

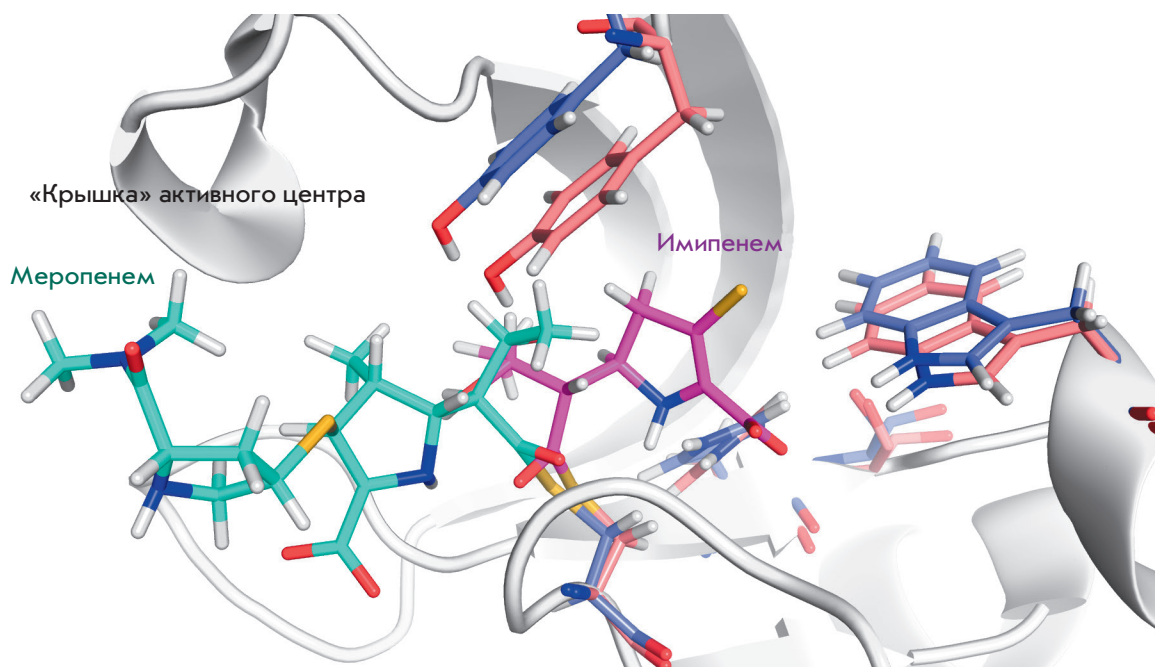


рис. 1). Методы молекулярного моделирования могут также позволить выявить особенности структурной организации активных центров *L,D*-транспептидаз, характер их взаимодействий с субстратами и существенно облегчить поиск ингибиторов. Однако для достижения этой цели необходимо иметь адекватные молекулярные модели, которые можно использовать при скрининге библиотек соединений. Целью настоящей работы было моделирование взаимодействия фермента с субстратом и β -лактамными соединениями, а также построение полноатомной модели LdtMt2 для скрининга и оптимизации структуры ингибиторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Программное обеспечение для молекулярного моделирования

Расчет ионизационных состояний аминокислотных остатков проводили с помощью программы PROPKA 3.0 [10]. Подготовку стартовой структуры к расчетам и анализ траекторий выполняли в пакете AmberTools 16 [11]. Минимизацию энергии и молекулярную динамику проводили в пакете Amber 14 [11], молекулярный докинг – с помощью программы AutoDock 4.0 [12]. Моделирование пространственных структур субстрата и ингибиторов осуществляли с помощью программы ACD/ChemSketch. Оптимизацию геометрии и расчет точечных зарядов атомов субстрата проводили с помощью программы PC GAMESS Firefly 8.1 [13] и модуля resp из пакета AmberTools

16 соответственно. Визуализацию и редактирование структур осуществляли с помощью программ VMD 1.9.2 [14] и PyMol 1.8 [15]. Параллельные вычисления молекулярно-динамических траекторий проводили с использованием суперкомпьютера МГУ «Ломоносов» [16].

Подготовка структуры

В качестве стартовых моделей фермента и фермент-субстратного комплекса LdtMt2 были выбраны две кристаллографические структуры: 4HU2 [6], содержащая координаты остатков некаталитических доменов А и В, и 3TUR [5], содержащая координаты остатков каталитического домена С и некаталитического домена В, а также дипептидный фрагмент пептидогликана клеточной стенки *M. tuberculosis* (γ -*D*-Glu-*m*-DAP). Структуры выравнивали по общему домену В, и соединяли цепи, получая полную трехдоменную структуру LdtMt2. Фрагмент пептидогликана дополняли недостающими остатками *D*-Ala и *L*-Ala, для нейтрализации заряда концевой аминокислотной группы присоединяли *N*-ацетильную группу. Точечные заряды на атомах субстрата определяли следующим образом: первоначально оптимизировали геометрию молекул на уровне теории MP2/6-31G*, затем рассчитывали электростатический потенциал по методу HF/6-31G* и определяли точечные заряды на атомах. Полученную структуру фермент-субстратного комплекса помещали в ячейку воды типа TIP3P с минимальным расстоянием 10 Å от фермента до края ячейки. Для нейтрализации суммарного за-

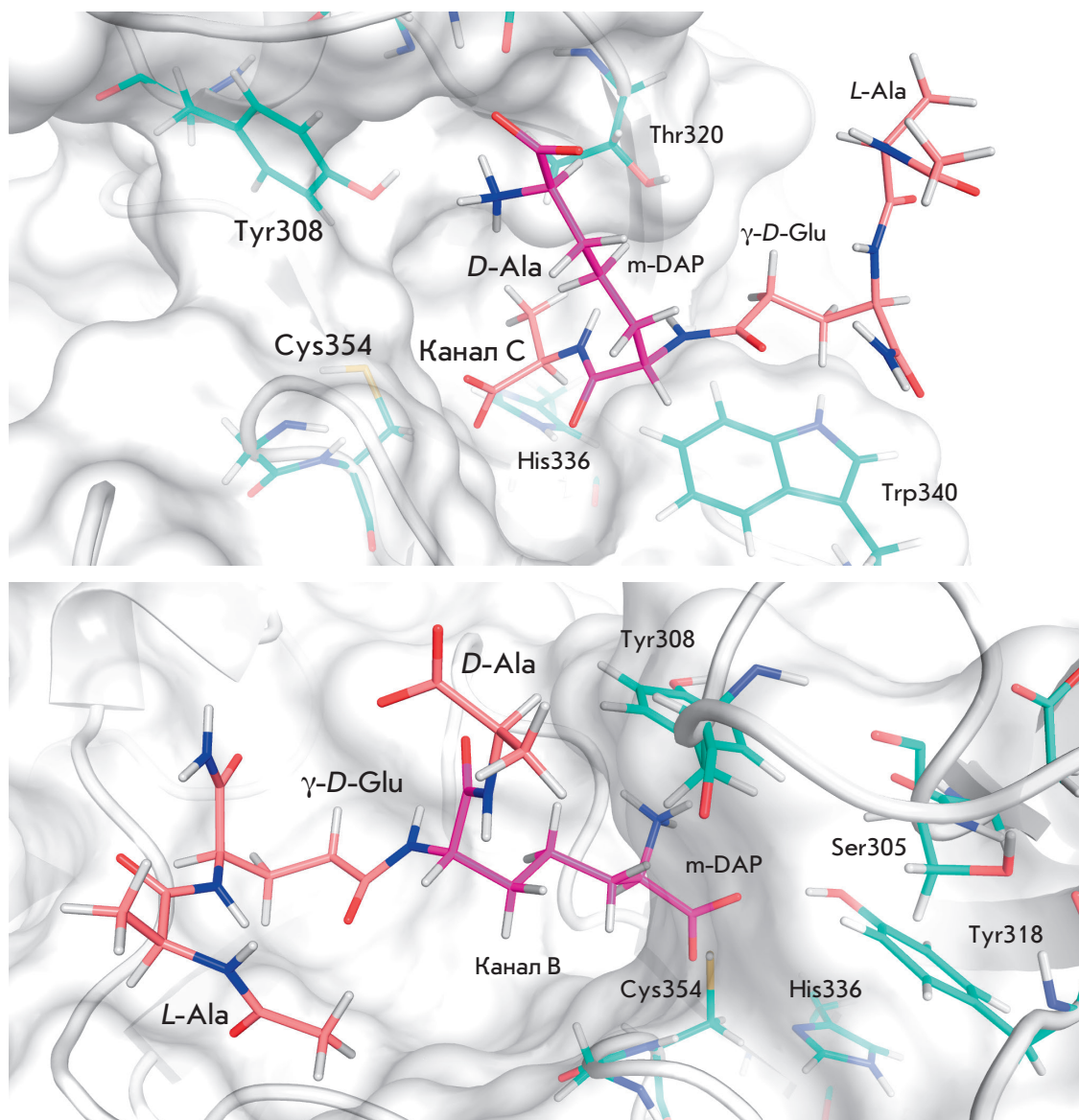


Рис. 3. Взаимодействие тетрапептидного фрагмента пептидогликана с аминокислотными остатками активного центра LdtMt2 в канале С (верхний рисунок) и в канале В (нижний рисунок)

ряда системы добавляли ионы натрия. Расчет молекулярно-динамических траекторий проводили в силовом поле AMBER ff14SB [17]. Силовые константы для связей, углов и двугранных углов субстрата брали из силового поля ff14SB, недостающие параметры из поля GAFF.

Минимизация энергии системы и молекулярная динамика

Модели фермент-субстратного комплекса и фермента LdtMt2 уравнивали и рассчитывали молекулярно-динамическую траекторию по следующему протоколу. Первоначально проводили двухстадийную минимизацию энергии системы. Минимизацию остатков растворителя осуществляли сначала по алгоритму наискорейшего спуска (2000 шагов), затем

по алгоритму сопряженных градиентов (2000 шагов). Дальнейшее уравнивание системы проводили следующим образом. При постоянном объеме разогревали систему от 0 до 310 К в течение 50 пс, затем проводили уравнивание при постоянном давлении в течение 1000 пс. Шаг интегрирования составлял 0.002 пс. При уравнивании системы и получении молекулярно-динамических траекторий использовали периодические граничные условия и метод учета дальнедействующих кулоновских взаимодействий PME. Радиус отсечения несвязанных кулоновских взаимодействий составлял 8 Å.

Молекулярный докинг

Модель LdtMt2 для проведения молекулярного докинга β-лактамовых соединений различной природы

получали следующим образом. Из сольватированной структуры фермент-субстратного комплекса, полученного в процессе минимизации энергии системы, удаляли молекулы растворителя, ионы натрия и субстрат – фрагмент пептидогликана. Затем в области активного центра рассчитывали карту потенциала взаимодействия. В активный центр фермента с помощью генетического алгоритма Ламарка докировали потенциальные ингибиторы LdtMt2 – β -лактамы соединения различной природы. Выполняли от 50 до 100 запусков докинга. Полученные фермент-ингибиторные комплексы кластеризовали и анализировали особенности строения комплекса в каждом кластере. В качестве критерия продуктивного связывания ингибитора в активном центре фермента и образования реакционноспособного фермент-ингибиторного комплекса, приводящего к образованию стабильного ацилфермента, рассматривали следующие показатели:

1. Существование водородных связей ингибитора с оксианионным центром (образование водородных связей между N-атомами основной цепи остатков Glu353 и Cys354 с карбонильным кислородом ингибиторов);

2. Расстояние между атакующим атомом серы S^γ остатка Cys354 каталитического цистеина и атакующим карбонильным углеродом β -лактамы ядра, не превышающее 5 Å.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Молекулярное моделирование альтернативного связывания пептидогликана в активном центре LdtMt2

Сложность в изучении расположения субстрата в активном центре L,D-транспептидаз обусловлена тем, что необходимо рассматривать связывание двух молекул одного соединения – одной молекулы в качестве ацильного донора, что в дальнейшем приводит к образованию промежуточного ацилфермента, другой – в качестве нуклеофила, что приводит к образованию комплекса ацилфермент-нуклеофил, последующему переносу на нуклеофил ацильного остатка и формированию поперечной 3-3 сшивки в пептидогликане клеточной стенки. Противоречивость данных о локализации субстратоподобных ингибиторов в активном центре фермента может быть обусловлена недостаточным вниманием к возможностям двух разных способов связывания природного субстрата. При поиске оптимальной структуры ковалентных ингибиторов фермента, какими являются β -лактамы соединения карбопеномного ряда, необходимо иметь адекватную структуру фермент-субстратного комплекса, в котором молекула субстрата

занимает положение ацильного донора, способного образовать ацилфермент. Для дискриминации двух разных способов локализации субстрата на основе структуры 3TUR созданы модели альтернативного связывания фрагмента пептидогликана в активном центре LdtMt2 и изучено их поведение при помощи молекулярной динамики. В одной модели фермент-субстратного комплекса N-Ac-L-Ala- γ -D-Glu-m-DAP-D-Ala фрагмент пептидогликана располагали в канале С, в альтернативной модели субстрат был локализован в канале В (рис. 3).

При связывании фрагмента пептидогликана в канале В основными остатками, образующими водородные связи с субстратом, являются His352, Ser331, Tyr308 и Tyr318. В модели фермент-субстратного комплекса с локализацией субстрата в канале С тетрапептидный фрагмент пептидогликана образует лабильные водородные связи с остатками Asn356, Trp340, His352 и Tyr318, подобно связыванию более короткого трипептидного аналога природного субстрата [9]. Проведенное моделирование показало, что остаток L-Ala в тетрапептидном фрагменте пептидогликана не играет определяющей роли при связывании субстрата как в канале С, так и в канале В и значительную часть времени экспонирован в растворитель, хотя способен образовать кратковременные водородные связи с N- и O-атомами пептидных связей основной цепи, образованных остатками Arg319 и Thr320. Данный факт позволяет предположить, что остатки N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, следующие за L-Ala в структуре пептидогликана, не участвуют или играют минорную роль в процессе узнавания ацильного донора активным центром фермента.

При связывании субстрата в канале С образуется реакционноспособный фермент-субстратный комплекс: S^γ-атом каталитического остатка Cys354 находится на благоприятном для образования ацилфермента расстоянии 3.1–5.7 Å от карбонильного углерода пептидной связи между остатками m-DAP-D-Ala по всей траектории (рис. 4, оранжевая линия). Интересно отметить, что в модели фермент-субстратного комплекса, в которой фрагмент пептидогликана связан в канале В, субстрат расположен по-другому и не способен образовать ацилфермент. Расстояние между S^γ-атомом каталитического остатка Cys354 и карбонильным углеродом пептидной связи, образованной остатками m-DAP-D-Ala по всей MD-траектории (рис. 5, оранжевая линия), изменяется в интервале 8.1–12.3 Å, что исключает возможность этой молекулы субстрата служить ацильным донором. В то же время ориентация молекулы субстрата в канале В соответствует возможности этой молекулы субстрата выполнять роль нуклеофила

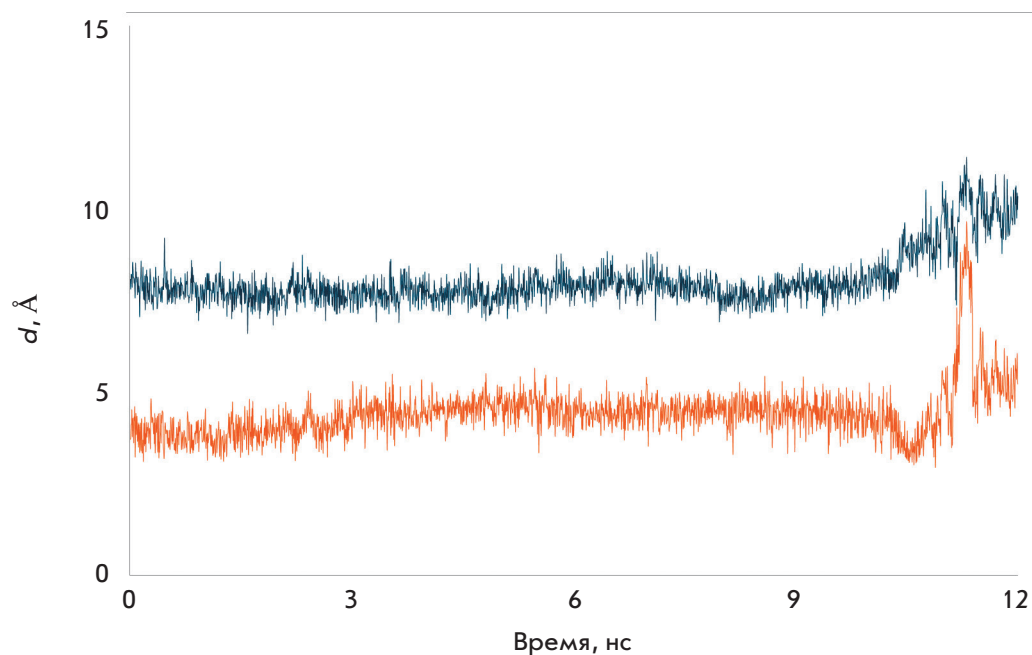


Рис. 4. Изменение характеристических расстояний между S^{γ} -атомом Cys354 и C-атомом пептидной связи m-DAP–D-Ala (оранжевая линия), а также N-атомом D-центра m-DAP (синяя линия) в ходе молекулярно-динамической траектории при связывании тетрапептидного фрагмента природного пептидогликана в канале C LdtMt2

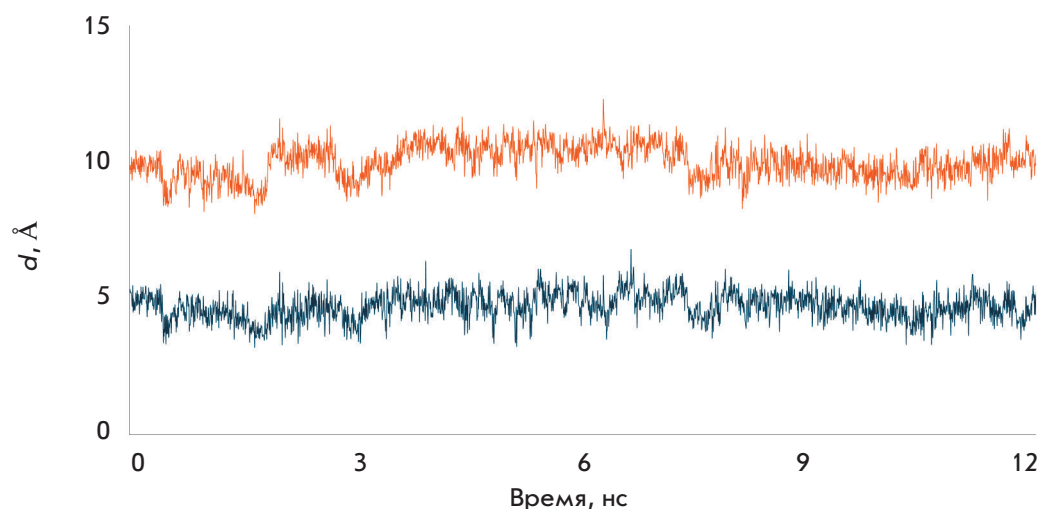


Рис. 5. Изменение характеристических расстояний между S^{γ} -атомом Cys354 и N-атомом D-центра m-DAP (синяя линия), а также C-атомом пептидной связи m-DAP–D-Ala (оранжевая линия) в ходе молекулярно-динамической траектории при связывании тетрапептидного фрагмента природного пептидогликана в канале B LdtMt2

в реакции формирования поперечной сшивки 3-3: расстояние между N-атомом D-центра m-DAP и каталитическим цистеином по всей траектории (рис. 5, синяя линия) находится в диапазоне 3.2–6.8 Å.

Проведенное моделирование также показало, что возможность выполнения альтернативной роли для каждой молекулы субстрата практически исключена: молекула субстрата, связанная в канале С, не может быть нуклеофилом (рис. 4, синяя линия), а молекула субстрата, связанная в канале В, не может быть ацильным донором (рис. 5, оранжевая линия). Установление этого факта важно как для понимания полного каталитического цикла

действия фермента, так и для поиска его ингибиторов. Так при оптимизации структуры β -лактамных соединений, способных ингибировать фермент с образованием стабильного ацилфермента, необходимо учитывать связывание ингибитора в канале С, т.е. на месте связывания молекулы субстрата, выполняющей роль ацильного донора при образовании поперечной 3-3 сшивки пептидогликана.

Моделирование взаимодействия LdtMt2 с β -лактамными соединениями

В двух известных структурах ацилферментов (4JMX, образованной при взаимодействии LdtMt1

с имипенемом, и 4GSU, образованной при взаимодействии LdtMt2 с меропенемом), остатки ингибиторов локализованы в разных каналах. Остаток меропенема в активном центре LdtMt2 расположен в канале В на входе в активный центр и экспонирован в растворитель, в то время как тиазوليновое кольцо имипенема в структуре LdtMt1 целиком погружено в канал С.

В данном случае важно установить первичное расположение ингибиторов β-лактамной природы в активном центре фермента, которое бы соответствовало реакционноспособному состоянию комплексов фермента с ингибиторами, приводящему к образованию ацилферментов. В соответствии с критериями теоретической химии и с учетом механизма действия LdtMt2 нуклеофильная атака тиолят-иона каталитического остатка цистеина, приводящая к раскрытию β-лактамного кольца, может осуществляться при удалении атома серы каталитического цистеина на 3.5–4.0 Å и расположении кислорода карбонильной группы β-лактамного кольца в области оксианионного центра. Опираясь на результаты моделирования

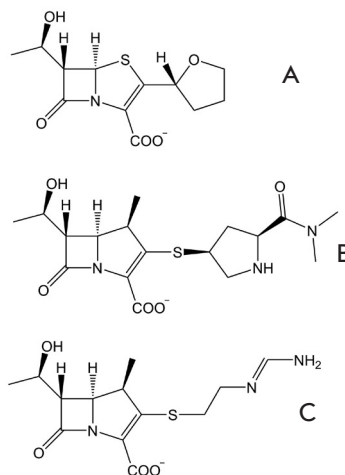


Рис. 6. Структуры β-лактамных антибиотиков, докированных в активный центр LdtMt2. А – фаропенем, В – меропенем, С – имипенем

взаимодействия LdtMt2 с тетрапептидным фрагментом природного пептидогликана, проведен молекулярный докинг трех β-лактамных соединений, ингибирующая способность которых по отношению к LdtMt2 описана в литературе, и исследована их способность образовывать реакционноспособные ком-

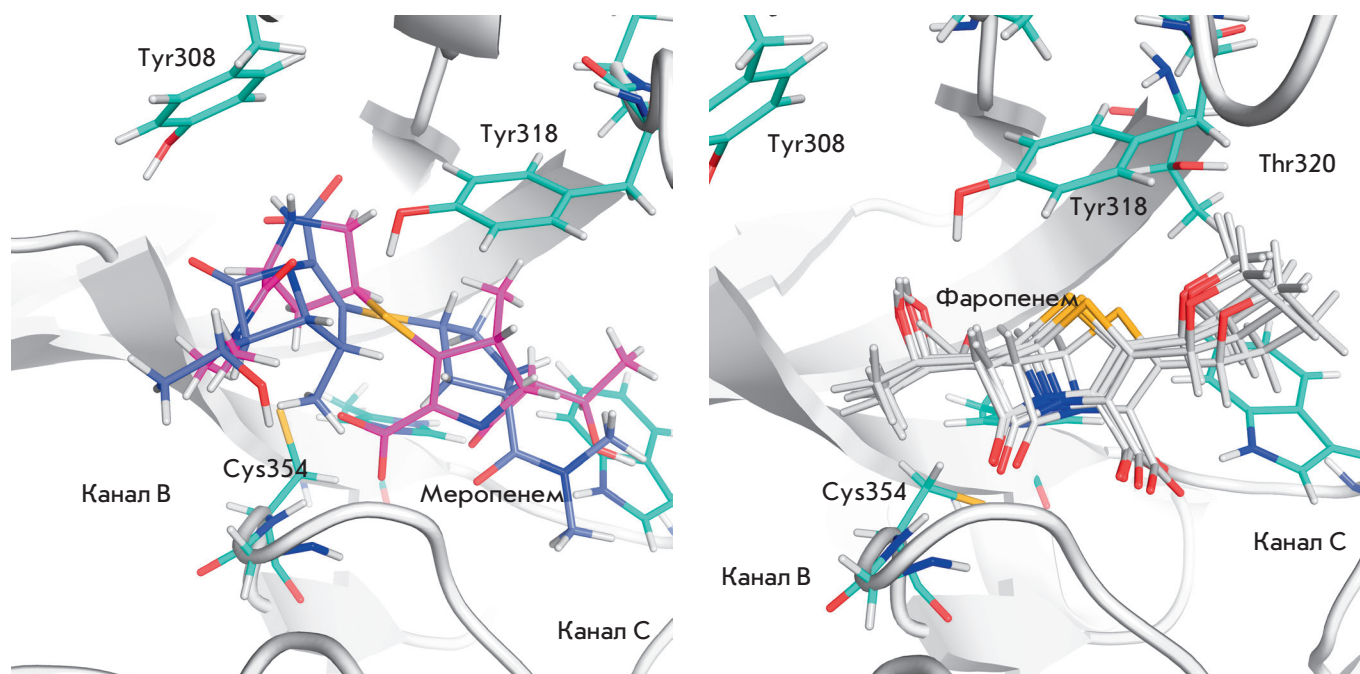


Рис. 7. Локализация β-лактамных антибиотиков в активном центре LdtMt2 при моделировании связывания меропенема в канале В (левый рисунок) и фаропенема в канале С (правый рисунок) с использованием докинга. В случае меропенема нет четкого места связывания ингибитора, ни одна из структур не отвечает требованиям образования реакционноспособного фермент-ингибиторного комплекса, а расстояние от S^γ-атома каталитического остатка Cys354 до С-атома β-лактамного кольца не оптимально для нуклеофильной атаки. При связывании фаропенема в канале С (правый рисунок) все докированные структуры образуют единый кластер, образуется реакционноспособный комплекс фермента с ингибитором, в котором расстояние от S^γ-атома каталитического остатка Cys354 до карбонильного С-атома β-лактамного кольца оптимально для нуклеофильной атаки каталитического цистеина, а кислород β-лактамного ядра образует водородные связи в оксианионном центре

плексы (рис. 6). Как и в случае природного субстрата, рассматривали возможность связывания ингибиторов в канале В и в канале С.

При моделировании связывания соединений в канале В ни для одного докированного ингибитора не наблюдали образования реакционноспособного комплекса с ферментом. Характерный пример меропенема показан на рис. 7 (левый рисунок). Расстояние от S^γ-атома каталитического остатка Cys354 LdtMt2 до карбонильного С-атома β-лактаманного кольца у всех лигандов превышало 5 Å во всех докированных состояниях. Такое связывание не могло также обеспечить взаимодействие карбонильного кислорода β-лактаманного кольца с оксианионным центром фермента (атомами азота остатков Cys354 и Gly353 полипептидной цепи). Таким образом, сделан вывод о том, что достижение реакционноспособного состояния при связывании ингибитора в канале В невозможно.

При альтернативном связывании β-лактаманых соединений в канале С ингибиторы были способны образовать реакционноспособный комплекс с ферментом. Расстояние от S^γ-атома каталитического остатка Cys354 LdtMt2 до карбонильного С-атома β-лактаманного кольца составляло 3.5–4 Å, и во всех фермент-ингибиторных комплексах карбонильный кислород β-лактаманного кольца находился в оксианионном центре, сформированном атомами азота основной цепи остатков Cys354, Gly353 и His352. Таким об-

разом, проведенное моделирование взаимодействия фермента с β-лактаманными соединениями подтвердило, что реакционноспособные комплексы с ингибитором, как и с субстратом, образуются лишь при их связывании в канале С.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цель данной работы состояла в изучении особенностей связывания природного субстрата – пептидогликана клеточной стенки в активном центре LdtMt2 и в построении полноатомной модели фермент-субстратного комплекса, которая позволила бы вести поиск и оптимизацию структуры субстратоподобных необратимых ингибиторов. Проведенное молекулярное моделирование показало, что связывание N- и С-концевых фрагментов растущей цепи пептидогликана в разных каналах обеспечивает протекание различных стадий формирования клеточной стенки с образованием поперечных 3-3 связей. Для адекватного моделирования взаимодействия LdtMt2 с ингибиторами семейства β-лактаманых соединений, способных инактивировать фермент в результате образования стабильного ацилфермента, необходимо рассматривать связывание ингибиторов в канале С.

*Работа выполнена при финансовой поддержке
Российского научного фонда
(грант № 15-14-00069).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHO. Global Tuberculosis Report; Geneva, 2016.
2. Fisher J.F., Meroueh S.O., Mobashery S. // Chem. Rev. 2005. V. 105. № 2. P. 395–424.
3. Gupta R., Lavollay M., Mainardi J., Arthur M., Bishai W., Lamichhane G. // Nat. Med. 2010. V. 16. № 4. P. 466–469.
4. Jankute M., Cox J.A., Harrison J., Besra G.S. // Ann. Rev. Microbiol. 2015. V. 69. P. 405–423.
5. Erdemli S., Gupta R., Bishai W.R., Lamichhane G., Amzel M., Bianchet M. // Structure. 2012. V. 20. № 12. P. 2103–2115.
6. Bøth D., Steiner E.M., Stadler D., Lindqvist Y., Schnell R., Schneider G. // Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr. 2013. V. 69. № 3. P. 432–441.
7. Kim H.S., Kim J., Im H.N., Yoon J.Y., An D.R., Yoon H.J., Kim J.Y., Min H.K., Kim S.J., Lee J.Y., et al. // Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr. 2013. V. 69. № 3. P. 420–431.
8. Correale S., Ruggiero A., Capparelli R., Pedone E., Berisio R. // Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr. 2013. V. 69. P. 1697–1706.
9. Silva J.R.A., Roitberg A.E., Alves C.N. // J. Chem. Inf. Model. 2014. V. 54. № 9. P. 2402–2410.
10. Li H., Robertson A.D., Jensen J.H. // Proteins. 2005. V. 61. № 4. P. 704–721.
11. Case D.A., Berryman J.T., Betz R.M., Cerutti D.S., Cheatham T.E., III, Darden T.A., Duke R.E., Giese T.J., Gohlke H., Goetz A.W., et al. // AMBER 2015, University of California, San Francisco, 2015.
12. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. // J. Comput. Chem. 2009. V. 30. № 16. P. 2785–2791.
13. Granovsky A.A. Firefly version 8. <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>
14. Humphrey W., Dalke A., Schulten K. // J. Mol. Graphics. 1996. V. 14. P. 33–38.
15. The PyMOL Molecular Graphics System. Version 1.8 Schrödinger, LLC.
16. Воеводин В., Жуматий С., Соболев С., Антонов А., Брызгалов П., Никитенко Д., Стефанов К., Воеводин В. // Открытые системы. 2012. № 7. С. 36–39.
17. Maier J.A., Martinez C., Kasavajhala K., Wickstrom L., Hauser K.E., Simmerling C. // J. Chem. Theory Comput. 2015. V. 11. № 8. P. 3696–3713.