

СТРУКТУРА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ

УДК 548.737 + 577.15 + 577.32 + 615.2

Посвящается памяти Б.К. Вайнштейна

IN SILICO АНАЛИЗ ТРЕХМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ ГОМОДИМЕРА
УРИДИНФОСФОРИЛАЗЫ ИЗ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*
В НЕЛИГАНДИРОВАННОМ СОСТОЯНИИ И ЕЕ КОМПЛЕКСА
С 5-ФТОРУРАЦИЛОМ

© 2013 г. А. А. Лашков, С. Е. Сотниченко, А. М. Михайлов

Институт кристаллографии РАН, Москва

E-mail: alashkov83@gmail.com

Поступила в редакцию 06.08.2012 г.

Псевдотуберкулез — острое инфекционное заболевание, характеризующееся поражением желудочно-кишечного тракта. Селективно подавляя активность уридинфосфорилазы возбудителя заболевания *Yersinia pseudotuberculosis*, можно добиться положительного терапевтического эффекта. В литературе описана синергия действия химиотерапевтического препарата 5-фторурацила и противомикробных препаратов, блокирующих синтез пиримидиновых оснований, на клетки патогенных простейших и бактерий. Отсутствие трехмерной структуры уридинфосфорилазы из *Yersinia pseudotuberculosis* (*YptUPh*) как в нелигандированном состоянии, так и ее комплексов с фармакологическими препаратами затрудняет поиск и конструирование селективных ингибиторов *YptUPh*. Методом молекулярного моделирования по гомологии определена пространственная структура гомодимера *YptUPh* в нелигандированном состоянии. Трехмерная структура субъединицы молекулы *YptUPh* относится к классу α/β -белков с архитектурой трехслойного $\alpha/\beta/\alpha$ -сэндвича. Мономер субъединицы молекулы *YptUPh* состоит на 38% из спиралей и на 24% из β -лент. Методом молекулярного докинга получена модель структуры гомодимера комплекса *YptUPh* с 5-FUra. Положение 5-FUra в активном центре молекулы хорошо согласуется с известными данными по другим бактериальным уридинфосфорилазам, полученными методом рентгеноструктурного анализа (комплекс уридинфосфорилазы из *Salmonella typhimurium* (*StUPh*) с 5-FUra, ID PDB: 4E1V; комплекс уридинфосфорилазы из *Escherichia coli* (*EcUPh*) с 5-FUra и рибозо-1-фосфатом, ID PDB: 1RXС).

DOI: 10.7868/S002347611302015X

ВВЕДЕНИЕ

Псевдотуберкулез — острое зоонозное инфекционное заболевание, характеризующееся поражением желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в сочетании с разнообразной токсико-аллергической и полиочаговой симптоматикой. Возбудитель псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*) открыт L.-Ch. Malasse и W. Vignal в 1888 г. В клинических проявлениях иерсиниозов (включая псевдотуберкулез) обычно наблюдают сочетание нескольких синдромов. Селективно подавляя активность важных для жизнедеятельности ферментов бактерии, в частности *Yersinia pseudotuberculosis*, можно добиться положительного терапевтического эффекта. Одним из таких ферментов является уридинфосфорилаза (UPh; E.C. 2.4.2.3), осуществляющая катализ реакции фосфорилирования пиримидиновых нуклеотидов [1–4].

В исследованиях [5–7] показана синергия действия химио-терапевтического препарата 5-фторурацила (5-FUra) и противомикробных препаратов, блокирующих синтез пиримидиновых основа-

ний, на клетки злокачественных новообразований высших организмов, клетки патогенных простейших и бактерий. Синергия в данном случае является следствием подобия механизмов действия указанных выше препаратов.

Отсутствие трехмерной структуры уридинфосфорилазы из *Yersinia pseudotuberculosis* как в нелигандированном состоянии, так и ее комплексов с фармакологическими препаратами затрудняет понимание структурно-функционального механизма перспективных методов лечения псевдотуберкулеза с помощью селективных ингибиторов энзима *YptUPh*.

Однако высокая гомология первичных структур бактериальных уридинфосфорилаз, для которых трехмерная атомная структура известна, с *YptUPh* (рис. 1) позволяет воссоздать пространственную структуру *YptUPh* как в нелигандированном состоянии, так и ее комплексов с лигандами методами молекулярного моделирования по гомологии.

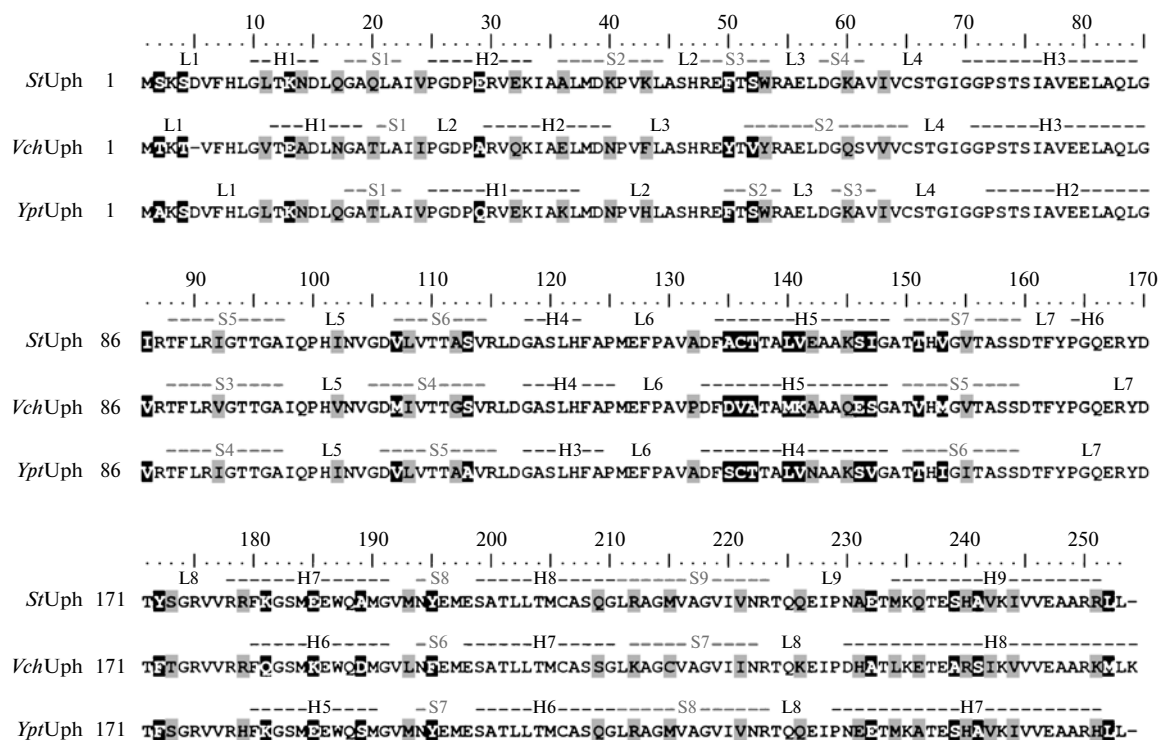


Рис. 1. Выравнивание первичных последовательностей *StUPh*, *YptUPh* и *VchUPh*. Гомология между *StUPh* и *YptUPh* – 92.9% (235 а.о.), между *VcUPh* и *YptUPh* – 76.7% (194 а.о.). Идентичные а.о. не выделены; гомологичные выделены серым цветом; негомологичные – инверсией. S_i , H_j , L_i – β -лента, спираль, петля соответственно, i – порядковый номер структурного элемента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Молекулярное моделирование гомодимера *YptUPh*.

Исходной моделью для построения трехмерной структуры гомодимера *YptUPh* в нелигандированном состоянии в качестве опорной структуры выбрана структура уридинфосфорилазы из *Salmonella typhimurium* (*StUPh*) (опорная структура; ID PDB: 3DPS), так как гомология аминокислотных последовательностей между *StUPh* и *YptUPh* (рис. 1) наиболее высокая среди бактериальных уридинфосфорилаз [8]. А именно, 92.9% аминокислотных остатков (а.о.), образующих трехмерную структуру субъединиц *StUPh* и *YptUPh*, идентичны; 4.7% а.о. – аналогичны и только 2.4% а.о. – различаются (рис. 1). Выравнивание аминокислотных последовательностей (рис. 1) проведено опцией “align2d” программы Modeller 9v8 [9–12].

Молекулярное моделирование пространственной структуры гомодимера *YptUPh* по гомологии проведено с помощью подпрограммы “automodel” программы Modeller 9v8. Возможные конформеры пространственной структуры гомодимера *YptUPh* установлены с помощью подпрограммы “automodel” программы Modeller 9v8. Параметры процедуры молекулярного моделирования по гомологии приведены в табл. 1.

Из списка предложенных решений выбран вариант с минимальным значением оценочной функции “Discrete optimized potential energy (DOPE)” Score [11]. Значение “DOPE Score” для структуры *YptUPh* составляет –27605.6.

Оптимизация геометрии структуры биомолекулы. В рентгеноструктурном анализе (РСА) для уточнения пространственной структуры биомолекулярного комплекса используется процедура минимизации свободной энергии биомолекулы [13, 14]. Аналогичная процедура является непременным условием и при решении структуры методом молекулярного моделирования по гомологии, т.е. проводится оптимизация геометрических параметров искомой модели на ее соответствие глобальному минимуму энергии.

Оптимизация геометрии полученных методами *in silico* моделей гомодимеров как нелигандированной *YpUPh*, так и ее комплекса *YpUPh* с 5-FUra проведена в комплексе программ Gromacs [15] с использованием набора силовых полей GROMOS96. При оптимизации использовался вариант минимизации энергии (ЕМ, табл. 1) с явно заданным растворителем. Для этого была выбрана ячейка в виде прямоугольного параллелепипеда со сторонами $76.02 \times 81.68 \times 78.14 \text{ \AA}$. Расстояние между поверхностью гомодимера энзима и гранями

ячейки составляло не менее 9 Å. При моделировании структуры энзима использовали трехцентровую модель воды SPC216 [15]. Протокол оптимизации, использованный при выполнении работы, отработан на структуре молекулы комплекса *StUPh* с 5-FUra, определенной методом PCA (ID PDB: 3NSR). Значения основных параметров протокола оптимизации геометрии (EM) для *YptUPh* приведены в табл. 1.

Молекулярный докинг 5-FUra в нелигандированную структуру *YptUPh*. Поиск оптимальных решений встраивания лиганда 5-FUra в сайт связывания белка-мишени *YptUPh* проводился в соответствии с протоколом, отработанным на структуре комплекса *StUPh* с 5-FUra (ID PDB: 3NSR), решенного методом PCA. Молекулярный докинг 5-FUra в область урацилсвязывающего сайта энзима *YptUPh* проведен программой AutoDock 4.2 в варианте генетического алгоритма [16].

Значения основных параметров протокола докинга приведены в табл. 1. По результатам PCA опорной структуры *StUPh* область урацилсвязывающего сайта может быть описана прямоугольным параллелепипедом с длиной сторон 15.1 × 16.4 × 13.6 Å. На основании этих данных область связывания энзимом *YptUPh* лиганда 5-FUra выбрана в форме куба с длиной ребра 22.5 Å при 60-кратной дискретности.

Группа решений докинга объединялась в кластер, если значение r.m.s.d. координат атомов выявленных конформеров 5-FUra не превышало 1.5 Å. После проведения молекулярного докинга проводилась оптимизация геометрии гомодимера комплекса *YptUPh* + 5-FUra по протоколу, описанному выше (табл. 1).

Оценка достоверности структуры. Для оценки достоверности молекулярного моделирования проведено моделирование контрольной структуры уридинфосфорилазы из *Vibrio cholerae* (*VchUPh*) (ID PDB: 3O6V) с помощью программы Modeller 9v8 [9–12] по протоколу, описанному выше. Смоделированная контрольная структура *VchUPh* сравнивалась со структурой *VchUPh*, определенной методом PCA (ID PDB: 3O6V) с разрешением 1.7 Å. Сравнение проводилось в программе SSM [17] системного пакета CCP4 [18]. Визуальное сравнение структур проводилось в программе COOT [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первичная структура. Полипептид субъединицы гомодимера *YptUPh* (рис. 1) состоит из 253 а.о. Молекулярная масса субъединицы *YptUPh* равна 27.5 kDa [8]. Гомология первичных структур *YptUPh* и *StUPh* составляет 92.9%, а *YptUPh* и *VchUPh* – 76.7% (рис. 1).

Таблица 1. Значения параметров протоколов молекулярного моделирования, докинга и минимизации энергии (EM)

Моделирование пространственной структуры		
Метод оценки решений (Assess method)*		DOPE
Количество решений (Ending model)*		3
Значение оценочной функции “DOPE Score”	Решение 1	–27531.6
	Решение 2	–27605.6
	Решение 3	–27574.2
Молекулярный докинг		
Число точек по каждому пространственному направлению (npts)*		70 70 70
Расстояние между точками (spacing)*, Å		0.375
Начальные координаты трансляции (tran0)*		–10.794
		9.587
		39.089
Начальные угловая ориентация (axisangle0)*		случайная
Начальные значения двугранных углов лиганда (dihe0)*		случайная
Шаг трансляции (tstep)*		0.2
Шаг поворота (qstep)*		3.0
Шаг для торсионных углов (dstep)*		3.0
r.m.s.d, кластеризации решений (rmstol)*		1.5
Число индивидуумов в популяции (ga_pop_size)*		100
Число разных энергетических уравнений (ga_num_evals)*		1500000
Максимальное число генераций (ga_num_generations)*		25000
Уровень операций мутации (ga_mutation_rate)*		0.05
Уровень операции кроссинговера (ga_crossover_rate)*		0.6
Количество независимых запусков генетического алгоритма (ga_run)*		50
Минимизация энергии		
Набор силовых полей (force field)*		Gromos
Метод расчета электростатических взаимодействий (coulombtype)*		Быстрое суммирование по Эвальду в варианте PME
Шаг интегрирования (Dt)*, пс		0.002
Метод расчета ван-дер-ваальсовских взаимодействий (VDW _{type})*		Отсечка (Cut-off)
Число шагов интегрирования (N _{steps})*		500
Радиус отсечки для потенциала Ван-дер-Ваальсовских взаимодействий (R _{vdw})*, нм		1.4

* Обозначение параметра в программных пакетах.

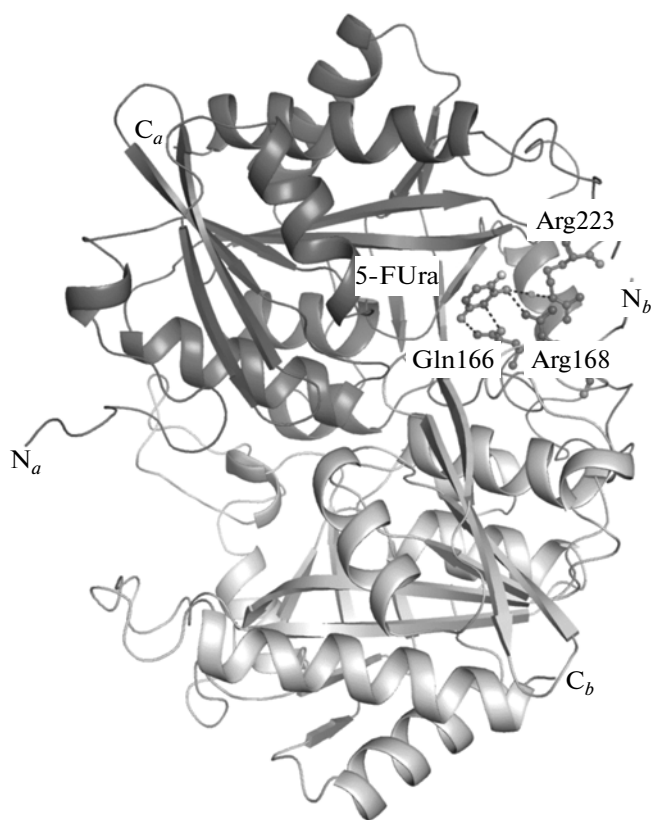


Рис. 2. Общий вид гомодимера молекулы *YptUPh*.

Вторичная и третичная структуры нелигандированной *YptUPh*. Определенная методом компьютерного моделирования по гомологии трехмерная структура субъединицы гомодимера *YptUPh* (рис. 2) в нелигандированном состоянии, как и для решенных ранее методом PCA бактериальных уридинфосфорилаз из *Salmonella typhimurium*, уридинфосфорилазы из *Escherichia coli* (*EcUPh*) и уридинфосфорилазы из *Vibrio cholerae* [20–22], относится к классу α/β -белков с архитектурой трехслойного $\alpha/\beta/\alpha$ -сэндвича. Мономер молекулы *YptUPh* состоит на 38% из спиралей и на 24% из β -лент (рис. 1, 2).

Сравнение, проведенное программой SSM [17] пакета CCP4 [18], координат атомов а.о. гомодимера смоделированной *YptUPh* в нелигандированном состоянии (рис. 2) с координатами атомов гомодимера *StUPh* в нелигандированном состоянии, решенного методом PCA, свидетельствует о достаточно высокой гомологии пространственных структур субъединицы молекулы этих ферментов. О чем свидетельствует значение среднеквадратичного отклонения координат соответствующих атомов мономера для этих энзимов – r.m.s.d. = = 0.42 Å.

Элементы вторичной структуры субъединицы молекулы как по типу, так и по их числу эквивалентны тем, что наблюдаются и в субъединице молекулы *StUPh* (рис. 1). Однако в структуре *YptUPh* отсутствует спираль, соответствующая спирали *H1* в структуре *StUPh* (рис. 1). Петля *L1* в *YptUPh* длиннее по сравнению с соответствующей петлей *StUPh*. β -лента (*S2*), составленная а.о. с 39 по 47 молекулы *StUPh*, отсутствует в *YptUPh*. Петля *L2* в *YptUPh* длиннее соответствующей петли *L2* структуры *StUPh* (рис. 1). Следует отметить, что функционально значимая петля *L8* в *YptUPh*, исполняющая роль “шламбаума” для молекул лигандов и растворителя при их вхождении в каталитический центр энзима, короче на 5 а.о. по сравнению с эквивалентной ей петлей *L9* в *StUPh* (рис. 1).

Взаимодействие между субъединицами гомодимера нелигандированной *YptUPh* охарактеризовано с помощью программного пакета CCP4 [18]. Результаты анализа приведены в табл. 2.

Структура комплекса *YptUPh* с 5-FUra. Структура гомодимера комплекса *YptUPh* с 5-FUra решена методом молекулярного докинга 5-FUra в гомодимер нелигандированной молекулы *YptUPh* с последующей оптимизацией геометрии комплекса гомодимера (параметры протоколов приведены в табл. 1).

Следует обратить внимание на изменение характера межсубъединичного взаимодействия в гомодимере комплекса *YptUPh* с 5-FUra по сравнению с нелигандированной его формой. Так, в нелигандированном состоянии отсутствуют по сравнению со структурой комплекса следующие водородные связи между а.о. *A*- и *B*-субъединиц соответственно: 119–160, 122–116, 122–160, 122–160, 160–119, 160–122, 160–119, 160–122, 163–168. В то же время в комплексе *YptUPh* с 5-FU отсутствуют водородные связи, наблюдаемые в нелигандированном состоянии гомодимера между а.о. соответственно *A*- и *B*-субъединиц: 47 с 29, 48–30, 122–177, 163–83, 170–83, 173–79, 173–79, 175–208, 175–208, 177–123, 177–122, 208–175, 208–177.

Число межсубъединичных контактов в гомодимере комплекса *YptUPh* с 5-FUra по сравнению со структурой комплекса *StUPh* с 5-FUra практически одинаково – 23 контакта в *YptUPh* + 5-FU и 21 контакт в *StUPh* + 5-FU.

5-FUra в урацилсвязывающем сайте *YptUPh*. По результатам молекулярного докинга 5-FUra в область активного центра *YptUPh* рассматриваемый лиганд связан с остатками активного центра *YptUPh* следующими водородными связями: O4_5-FUra – 2.7 Å – NH1_Arg 168/A; N3_5-FUra – 2.9 Å – OE1_Gln166/A; O2_5-FUra – 2.7 Å – NE2_Gln166/A (рис. 3). Через молекулу воды атом O4_5-FUra связан с остатком Arg223 (аналог Arg222 в *StUPh*).

Таблица 2. Межсубъединичные контакты диапазона (2.7–3.4 Å) в нелигандированном *YptUPh* АВ-гомодимере

Атом	Остаток	Номер а.о./Субъ-единица	Расстояние, Å	Атом	Остаток	Номер а.о./Субъ-единица
ND1	His	1047/A	2.94	NE2	Gln	1029/B
N	Arg	1048/A	3.03	OD1	Asp	1027/B
NH2	Arg	1048/A	3.26	NH2	Arg	1030/B
OE2	Glu	1049/A	2.97	N	Ile	1069/B
OE2	Glu	1079/A	3.01	N	Phe	1172/B
OE2	Glu	1080/A	2.59	OH	Tyr	1163/B
O	Leu	1116/A	3.12	NE2	His	1122/B
O	His	1122/A	3.05	N	Val	1177/B
ND1	His	1122/A	2.69	OG1	Thr	1161/B
OG1	Thr	1161/A	2.78	ND1	His	1122/B
OH	Tyr	1163/A	3.29	NE2	Gln	1083/B
OH	Tyr	1163/A	2.75	OE2	Glu	1080/B
O	Asp	1170/A	2.80	OE1	Gln	1083/B
N	Phe	1172/A	3.10	OE2	Glu	1079/B
N	Ser	1173/A	2.76	OE2	Glu	1079/B
OG	Ser	1173/A	3.33	OE2	Glu	1079/B
O	Arg	1175/A	3.24	O	Phe	1123/B
NE	Arg	1175/A	2.75	OG	Ser	1208/B
NH2	Arg	1175/A	2.98	O	Ser	1208/B
NH2	Arg	1175/A	3.05	OE1	Gln	1209/B
N	Val	1177/A	3.37	O	Phe	1123/B
N	Val	1177/A	2.81	O	His	1122/B
O	Ser	1208/A	3.32	NH1	Arg	1175/B
OG	Ser	1208/A	3.18	NE	Arg	1175/B

А именно, O4_5-FUra – 2.7 Å – H₂O – 2.8 Å – NE_Arg 223/A. Наблюдается Ван-дер-ваальсово взаимодействие (рис. 3а) между F_5-FUra и карбоксильной группой остатка Thr95/A (расстояние 3.6 Å).

В комплексе *YptUPh* + 5-FUra, несмотря на то, что типы остатков, участвующих во взаимодействии лиганд–белок, такие же, что и в других структурах уридинфосфорилаз (*StUPh* + 5-FUra, *EcUPh* + 5-FUra и *VchUPh* + 5-FUra) [20, 23], конформации остатков Arg168 и Arg223 различаются (рис. 3а, 3б). Это не обусловлено ошибкой моделирования, так как в структуре *VchUPh* (ID PDB: 3PNS) визуальный анализ электронной плотности для Arg168 показывает двойное положение: одно из которых соответствует положению остатка, полученному методом PCA в структуре

StUPh, а другое – положению остатка, полученному методами молекулярного моделирования в структуре *YptUPh* (рис. 3а).

Сравнение положения лиганда в области активного центра *YptUPh* с положением, полученным методом PCA в активном центре *StUPh* [23] и с полученным молекулярным докинггом в *VcUPh* [23], показывает, что данный лиганд занимает во всех трех структурах одинаковое положение. Никаких специфических для *YptUPh* контактов белок–лиганд в ходе моделирования обнаружено не было.

Гидрофобное окружение пиримидинового кольца лиганда формируется остатками: в *YptUPh* – Ile220 и Val221; в *StUPh* – Ile220, Val221; в *VchUPh* – а.о. Ile219 и Val220.

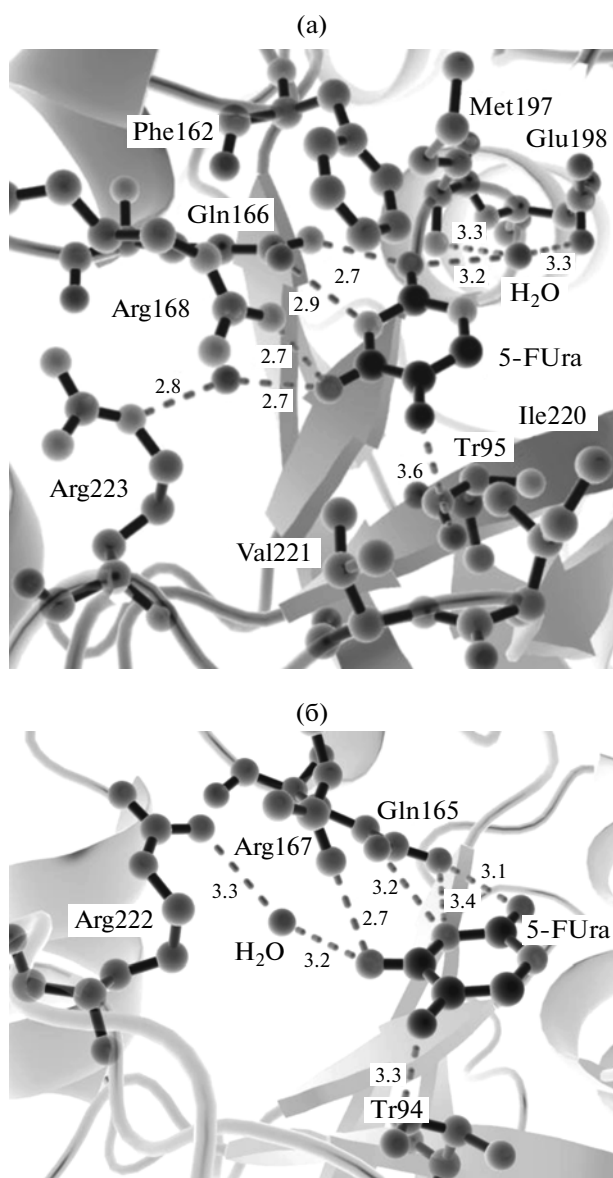


Рис. 3. Активные центры молекул комплексов *YptUPh* с 5-FUra (а) и *VchUPh* с 5-FUra (б). Длины связей указаны в ангстремах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вопрос достоверности методов *in silico* является одним из самых острых при молекулярном моделировании. Критерием достоверности решения в общем случае считается значение так называемой оценочной функции, которая позволяет быстро сравнивать разные решения по принципу наименьшей свободной энергии. Однако, как и в процедуре молекулярного докинга, применение оценочных функций без дополнительных проверок достоверности решения и без сравнения результатов с гомологичными структурами может привести к ложным результатам, так как не все

слагаемые свободной энергии системы учитываются в оценочных функциях [24, 25].

Моделирование структуры неизвестного белка будет наиболее достоверным, если известна структура гомологичного с ним белка (так называемого контрольного белка), определенная методом PCA. Для оценки достоверности и компьютерного моделирования *YptUPh* в качестве контрольной структуры была выбрана структура *VchUPh*, гомология первичной структуры которой с *YptUPh* составляет 76.7% и ее пространственная структура решена методом PCA (*VchUPh*, ID PDB: 3O6V). Моделирование “расчетной структуры” *VchUPh* осуществлялось по протоколу, описанному в разд. “Оптимизация геометрии структуры биомолекулы”.

Согласно теоретическим представлениям, после операции молекулярного моделирования с последующей оптимизацией геометрии структура модели должна оказаться в глобальном минимуме энергии [12]. Процедура уточнения структуры по рентгеновским данным также приводит структуру белка к минимуму энергии, значит, будет вполне корректно сравнить смоделированную структуру, полученную методами *in silico*, со структурой, полученной методом PCA из Protein Data Bank.

Сопоставление структур показало, что *r.m.s.d.* между *VchUPh* (PCA) и *VchUPh* (методы *in silico*) по всей структуре составляет 0.778 Å. *R.m.s.d.* по аминокислотным остаткам активного центра (Gln165, Arg167 и Arg222) равняется 0.61 Å.

Моделирование считается корректно проведенным, если *r.m.s.d.* между контрольной структурой и структурой, полученной методом PCA, составляет менее 1 Å для консервативных областей. Визуальный анализ показал идентичность смоделированной структуры *VchUPh* и структуры *VchUPh*, полученной методом PCA. Что касается петли L8, то вследствие ее значительной подвижности (согласно экспериментально определенным температурным факторам) высокое значение *r.m.s.d.* = 2.5 Å только подтверждает факт значительной подвижности данного участка белковой молекулы.

Согласно полученным данным, моделирование структуры *VchUPh* выполнено корректно. Так как гомология по первичной последовательности у *YptUPh* с опорной структурой выше, чем у *VchUPh*, то моделирование *YptUPh* будет более корректным, чем моделирование *VchUPh*.

Отметим, что методы компьютерного моделирования и рентгеноструктурного анализа, взаимно дополняя друг друга, существенно расширяют информативность исследований структурно-функциональной взаимозависимости биомолекулярных комплексов, привнося в статиче-

скую структуру молекулы ее динамическую составляющую.

Работа выполнена за счет базового бюджетного финансирования РАН и при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (ГК № 16.512.11.2235).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *De Clercq E.* // *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1980. V. 2. I. 5. P. 253.
2. *el Kouni M.H., Naguib F.N., Niedzwicki J.G. et al.* // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 6081.
3. *Jimenez B.M., Kranz P., Lee C.S. et al.* // *Biochem. Pharmacol.* 1989. V. 38. P. 3785.
4. *Paege L.M., Schlenk F.* // *Arch. Biochem. Biophys.* 1952. V. 40. P. 42.
5. *Jacobs J.Y., Michel J., Sacks T.* // *Antimicrob Agents Chemother.* 1979. V. 15. P. 580.
6. *Michel J., Jacobs J.Y., Sacks T.* // *Antimicrob Agents Chemother.* 1979. V. 16. P. 761.
7. *Nyhlen A., Ljungberg B., Nilsson-Ehle I. et al.* // *Chemotherapy.* 2002. V. 48. P. 71.
8. *Zolotukhina M., Ovcharova I., Eremina S. et al.* // *Res. Microbiol.* 2003. V. 154. P. 510.
9. *Eswar N., Webb B., Marti-Renom M.A. et al.* // *Current protocols in bioinformatics* / Ed. Baxevanis A.D. et al. 2006. Ch. 5. Unit 5 6.
10. *Fiser A., Do R.K., Sali A.* // *Protein science : a publication of the Protein Society.* 2000. V. 9. P. 1753.
11. *Marti-Renom M.A., Stuart A.C., Fiser A. et al.* // *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 2000. V. 29. P. 291.
12. *Sali A., Blundell T.L.* // *J. Mol. Biol.* 1993. V. 234. P. 779.
13. *Brunger A.T., Karplus M., Petsko G.A.* // *Acta Cryst. A.* 1989. V. 45. P. 50.
14. *Brunger A.T., Krukowski A., Erickson J.W.* // *Acta Cryst. A.* 1990. V. 46. P. 585.
15. *Van Der Spoel D., Lindahl E., Hess B. et al.* // *J. Comput. Chem.* 2005. V. 26. P. 1701.
16. *Morris G.M., Huey R., Lindstrom W. et al.* // *J. Comput. Chem.* 2009. V. 30. P. 2785.
17. *Krissinel E., Henrick K.* // *Acta Cryst. D.* 2004. V. 60. P. 2256.
18. CCP4 // *Acta Cryst. D.* 1994. V. 50. P. 760.
19. *Emsley P., Lohkamp B., Scott W.G. et al.* // *Acta Cryst. D.* 2010. V. 66. P. 486.
20. *Caradoc-Davies T.T., Cutfield S.M., Lamont I.L. et al.* // *J. Mol. Biol.* 2004. V. 337. P. 337.
21. *Ealick S.E., Babu Y.S., Bugg C.E. et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991. V. 88. P. 11540.
22. *Timofeev V.I., Lashkov A.A., Gabdoulkhakov A.G. et al.* // *Acta Cryst. F.* 2007. V. 63. P. 852.
23. *Lashkov A.A., Sotnichenko S.E., Prokofev I.I. et al.* // *Acta Cryst D.* 2012. V. 68. P. 968.
24. *Ferrara P., Gohlke H., Price D.J. et al.* // *J. Med. Chem.* 2004. V. 47. P. 3032.
25. *Kellenberger E., Rodrigo J., Muller P. et al.* // *Proteins.* 2004. V. 57. P. 225.