

## Применение метода RISM для оценки свободной энергии связывания 4',6-диамидино-2-фенилиндола в малом желобе ДНК по молекулярно-динамической траектории

Соболев Е.В.<sup>\*1</sup>, Тихонов Д.А.<sup>1</sup>, Фридман Х.<sup>2</sup>, Труонг Т.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт математических проблем биологии, Российская академия наук, Пущино, Московская область, 142290, Россия*

<sup>2</sup> *Факультет химии, Центр теоретической химии Генри Эйринга, Университет Юты, Солт-Лейк-Сити, Юта, 84112, США*

**Аннотация.** Эффективный параллельный алгоритм численного решения уравнений RISM и определения свободной энергии гидратации был применен для изучения относительной энергии связывания 4',6-диамидино-2-фенилиндола (DAPI) с двумя различными сайтами в малом желобе ДНК. Эффективность вычислительной процедуры позволила рассчитать свободную энергию гидратации в каждой точке траектории, полученной методом молекулярной динамики, и более точно описать растворенную молекулу по сравнению с традиционным применением метода RISM для замороженных конфигураций.

**Ключевые слова:** термодинамика, гидратация макромолекул, свободная энергия Гиббса, интегральные уравнения теории жидкостей, RISM, ДНК.

### ВВЕДЕНИЕ

Рост числа расшифрованных молекулярных структур, а также увеличение доступных вычислительных мощностей, позволяют находить новые лекарства с использованием количественных соотношений между структурой и функциональностью (QSAR) и при помощи рациональной разработки лекарственных препаратов. Наиболее точные предсказания сродства препаратов к связывающей их молекуле-мишени делаются на основании анализа изменений свободной энергии Гиббса в системе, поскольку такой метод учитывает все изменения, как в комплексе, так и в его окружении. Обычно окружение является водным, и поэтому полное изменение свободной энергии состоит из двух частей: изменение конформационной энергии молекулярной системы и изменение свободной энергии гидратации. Часто используют молекулярное моделирование с надлежащим выбором силового поля, которое определяет энергии молекулярного взаимодействия. Одним из примеров является пакет молекулярного моделирования AMBER, где для выбора параметров силового поля были затрачены значительные усилия, которые позволили выполнять успешные расчеты химических свойств множества систем [1-3]. Однако трудности при расчетах компонент свободной энергии гидратации исключают возможность

---

<sup>\*</sup> egor@impb.psn.ru

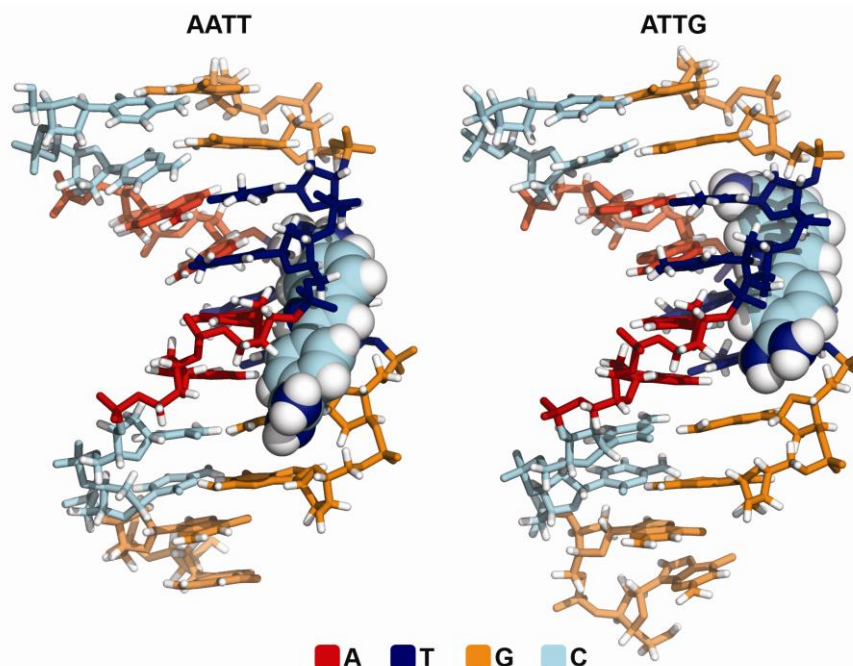
определения абсолютных свободных энергий связывания. Вместо этого могут быть вычислены относительные величины свободных энергий при помощи методов теории возмущений и метода термодинамического интегрирования по пути преобразования одной растворенной молекулы в другую.

Для получения свободной энергии гидратации нами был выбран метод интегральных уравнений теории жидкостей в приближении RISM (Reference Interaction Site Model) [4], поскольку он позволяет сразу получить атом-атомные корреляционные функции раствор-растворитель без выполнения атомистического моделирования, тем самым сильно снижаются вычислительные затраты при расчетах свободной энергии. Сама свободная энергия в методе RISM вычисляется как сумма парциальных вкладов от каждого атома раствора по известным формулам. Таким образом, метод является привлекательным для изучения специфических эффектов гидратации, например учета влияния водородных связей на термодинамику системы. Каждый парциальный вклад вычисляется независимо, исходя из атом-атомной корреляционной функции, что позволяет анализировать термодинамику удобным образом [5]. Идея использовать метод RISM для изучения гидратации биологических молекул часто обсуждалась, но попыток применения было предпринято немного [6-14]. Одна из главных причин этого – низкая скорость сходимости существующих реализаций метода для больших систем и, следовательно, большие временные затраты при расчетах. Одна из главных целей данной статьи – описание реализации метода RISM, которая позволяет быстро рассчитывать свободную энергию для молекулярных систем, состоящих из тысяч атомов.

В данной работе предложен эффективный алгоритм решений уравнений RISM, который позволил по новому рассчитывать свободную энергию гидратации. Алгоритм использует всю траекторию движения макромолекулы для получения средних свободных энергий. Предыдущие работы с применением метода RISM были ограничены единственной жесткой геометрией растворенной молекулы. В настоящей работе, обрабатывая молекулярно-динамическую траекторию, мы учитываем подвижность изучаемой молекулярной системы.

Мы применили несколько идей, позволивших уменьшить время решения системы уравнений RISM и снизить требования к памяти. Прежде всего, мы воспользовались симметрией молекулы воды и уменьшили размер вектора неизвестных на 1/3. Основу численной схемы составил метод Ньютона–Крылова, который позволил реализовать безматричный метод с модификациями, обеспечивающими экономию вычислительных ресурсов [15]. Более того, мы обрезаем матрицу внутримолекулярных взаимодействий и, сделав ее разреженной, сократили количество операций при незначительном ухудшении точности [16]. Полученный быстрый и экономный алгоритм мы сделали параллельным. В итоге был получен эффективный и скоростной инструмент для изучения гидратации макромолекул методом RISM.

В качестве начального примера использования новой реализации метода мы выполним оценки относительных энергий связывания вещества 4',6-диамидино-2-фенилиндол (DAPI) с последовательностью d(CCAATTGG)<sub>2</sub>GG в специфичных сайтах связывания (см. рис. 1). Эта система изучалась несколько лет назад в работе [17]. DAPI блокирует ТАТА-бокс, используемый РНК-полимеразой для определения места начала транскрипции, поэтому препарат может быть полезен в качестве антипаразитарного, антивирусного средства, а также как антибиотик и антираковый препарат. Вдобавок он используется в качестве флуоресцентной метки для визуализации ДНК. Метод RISM был ранее применен в работе [15] для изучения гидратации фрагментов ДНК, содержащих 4 пары оснований. Было отмечено, что гидратация оснований ДНК увеличилась от концов к центру фрагмента. Стерические эффекты, казалось бы, должны приводить к обратному явлению. Таким образом, это наблюдение показывает



**Рис. 1.** Комплексы, образованные последовательностью (CCAATTGG)<sub>2</sub>GG и DAPI, взаимодействующим с сайтами связывания AATT и ATTG в малом желобе ДНК.

существенную роль организации молекул воды вдоль желобов, в дополнение к эффекту гидратации сильно заряженных гетероатомов.

Экспериментально в кристаллических структурах обнаружены два специфических сайта связывания DAPI с ДНК в малом желобе. Это сайт AATT в последовательности d(CGCGAATTCGCG)<sub>2</sub> [18] и сайт ATTG в додекамере d(GGCCAATTGG)<sub>2</sub> [19]. Так как DAPI обычно связывается с АТ-богатой последовательностью в малом желобе, где стесненное окружение стабилизирует связывание [18, 20, 21], а с GC-богатой последовательностью предпочитает взаимодействовать в большом желобе [22–24], можно было бы ожидать, что в додекамере d(GGCCAATTGG)<sub>2</sub> он будет локализован именно на AATT последовательности. Однако в эксперименте показано, что DAPI специфично взаимодействует с последовательностью ATTG в додекамере d(GGCCAATTGG)<sub>2</sub> [19]. В работе [17] высказано предположение, что это связывание в области остатка гуанина стабилизируется специфической гидратацией и водородной связью с sp<sup>3</sup>-гибридизированной аминогруппой остатка гуанина.

Сдвиг связывания DAPI с сайта AATT к сайту ATTG было бы трудно исследовать с помощью термодинамического интегрирования в рамках метода молекулярной динамики, поскольку путь мутации, преобразующий одно состояние в другое, чрезвычайно трудно сходится. В работе [17] выполнен термодинамический анализ молекулярно-динамических траекторий длиной до 7.5 нс с оценкой свободной энергии методом ММ/ПБСА [25]. Авторами работы [17] показано, что сайт связывания AATT более предпочтителен по энергии на 0.8 ккал/моль, что противоречит экспериментальным данным. Авторами был выполнен дополнительный анализ траекторий, в котором они жестко привязали к комплексу 20 молекул воды в области сайтов гидратации. При таком явном включении в рассмотрение водной оболочки предпочтительным оказался сайт ATTG на величину энергии, равную 2.4 ккал/моль. Однако произвольность выбора специфических мест связывания молекул воды, очевидно, является ограничением неявного метода учета гидратации. Таким образом, адекватный учет специфических эффектов гидратации требует альтернативных методов, таких как RISM.

При анализе молекулярно-динамических траекторий в работе [17] были найдены три различных конформационных изомера, при этом конформации комплекса быстро

переключаются между ними. Ни один из этих трех конформеров не похож на кристаллическую структуру [19], хотя средняя структура совпадает достаточно хорошо. Авторы предположили, что такие переходящие друг в друга состояния могут фактически характеризовать связывание DAPI в малом желобе *in vivo*. Также в работе [17] было продемонстрировано, что сайт связывания АТТГ характеризуется как минимум четырьмя специфическими сайтами гидратации. Обнаруженные сайты гидратации соответствуют сайтам, наблюдаемым в кристаллической структуре [19]. Некоторые из них специфичны только для определенных конформаций. Например, один из этих четырех сайтов существует только для одного состояния, а другой – имеет очень длительное время жизни и практически постоянно занят водой. Кроме того, вне зоны связывания были обнаружены несколько короткоживущих сайтов гидратации, которые также видны на кристаллической структуре. Моделирование связывания с сайтом ААТТ демонстрирует два конформационных изомера, и такое связывание также характеризуется специфическими сайтами гидратации [17]. Использование разработанной нами программы расчетов методом RISM для оценки свободной энергии гидратации вдоль молекулярно-динамической траектории позволит учесть все конформационные изменения, а также связанные с ними изменения эффектов гидратации.

## МЕТОДОЛОГИЯ

### 1. Система уравнений RISM

Интегральные уравнения теории жидкостей в приближении RISM [4] являются уравнениями на парные полные атом-атомные корреляционные функции  $h_{i\alpha}(r)$ , описывающие распределение атома  $\alpha$  молекул растворителя ( $\alpha = 1 \dots M$ ) вокруг атома  $i$  растворенной молекулы ( $i = 1 \dots N$ ). Они равны радиальной функции распределения без единицы. Эти функции представляются в виде суммы непосредственного взаимодействия атомов  $i$  и  $\alpha$ , отражаемого прямой корреляционной функцией  $c_{i\alpha}(r)$ , и вклада во взаимодействие от остальных атомов системы  $\gamma_{i\alpha}(r) = h_{i\alpha}(r) - c_{i\alpha}(r)$ . В пределе бесконечного растворения [26] такое разложение записывается в виде

$$\hat{\mathbf{h}}^{uv} = \hat{\mathbf{w}}^u \hat{\mathbf{c}}^{uv} (\hat{\mathbf{w}}^v + \rho \hat{\mathbf{h}}^{vv}), \quad (1)$$

где  $\hat{\mathbf{c}}^{uv} = \{\hat{c}_{i\alpha}(k)\}$  и  $\hat{\mathbf{h}}^{uv} = \{\hat{h}_{i\alpha}(k)\}$  – матрицы фурье-образов прямых и полных корреляционных функций. Матрица  $\hat{\mathbf{w}}^u = \{\hat{w}_{ij}(k)\}$  – матрица внутримолекулярных корреляционных функций, которые задают жесткие связи между атомами внутри растворенной молекулы [4] и зависят от расстояний  $l_{ij}$  между ее  $i$  и  $j$  атомами:

$$\hat{w}_{ij}(k) = \delta_{i,j} + (1 - \delta_{i,j}) \frac{\sin(kl_{ij})}{kl_{ij}},$$

где  $\delta_{i,j}$  – символ Кронекера.

Выражение в скобках в уравнении (1) – это статическая восприимчивость растворителя. Она включает в себя матрицу внутримолекулярных корреляционных функций, задающих жесткие связи между атомами в молекуле растворителя  $\hat{\mathbf{w}}^v$ , плотность растворителя  $\rho$  и матрицу полных корреляционных функций чистого растворителя  $\hat{\mathbf{h}}^{vv}$ . Диагональные элементы статической восприимчивости равны статическому структурному фактору. Это выражение является константой и может быть либо предварительно рассчитано методом RISM, либо взято из экспериментальных данных. Размерность матрицы  $\hat{\mathbf{w}}^u$  равна числу атомов молекулы

раствора  $N$ , и размерность матрицы  $\hat{\mathbf{w}}^v$  – числу атомов молекулы растворителя  $M$ . Матрицы корреляционных функций, соответственно, прямоугольные  $N \times M$ .

Корреляционные функции в теории жидкостей связаны диаграммным разложением, которое в приложениях теории аппроксимируют конечным выражением, называемым уравнением замыкания. В методе RISM уравнение замыкания взято без изменений из теории простых жидкостей. Одно из уравнений замыкания, гиперцепное (HNC) замыкание, часто используется и дает хорошие результаты в задачах с дальнедействующими потенциалами взаимодействия [27]. В этой работе мы будем использовать модифицированную версию этого замыкания, называемую частично-линеаризованным гиперцепным (PLHNC) [28] замыканием:

$$c_{i\alpha} = \exp(-\beta u_{i\alpha}) F(\gamma_{i\alpha}) - 1 - \gamma_{i\alpha}, \quad (2)$$

где  $u_{i\alpha}(r)$  – парные потенциалы взаимодействия атома  $i$  молекулы раствора и атома  $\alpha$  молекулы растворителя,  $\beta = 1/kT$  – обратная температура,

$$F(\gamma_{i\alpha}) = H(-h_{i\alpha}) (\exp(\gamma_{i\alpha}) - 1 - \gamma_{i\alpha}) + 1 + \gamma_{i\alpha}$$

и  $H(x)$  – функция Хевисайда:

$$H(x) = \begin{cases} 0, & \text{если } x < 0 \\ 1, & \text{если } x \geq 0 \end{cases}.$$

## 2. Эффективная численная схема

Решая задачу гидратации, воспользуемся симметрией молекулы воды и запишем уравнения RISM в следующей форме:

$$\begin{pmatrix} \hat{\mathbf{h}}_H \\ \hat{\mathbf{h}}_O \end{pmatrix} = (\hat{\mathbf{v}} \otimes \hat{\mathbf{w}}^u) \begin{pmatrix} \hat{\mathbf{c}}_H \\ \hat{\mathbf{c}}_O \end{pmatrix}, \quad (3)$$

где

$$\hat{\mathbf{v}} = \mathbf{q}(\hat{\mathbf{w}}^v + \rho \hat{\mathbf{h}}^{vv}) \mathbf{p}$$

и

$$\mathbf{q} = \begin{pmatrix} 1/2 & 1/2 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \mathbf{p} = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix}.$$

В уравнении (3) мы воспользовались прямым произведением  $\otimes$ , чтобы представить матрицу неизвестных в виде вектора. Аппроксимируя корреляционные функции дискретным набором их значений на некоторой равномерной сетке с шагом  $\Delta k$ , перейдем к системе нелинейных алгебраических уравнений. Пусть  $L$  – количество точек сетки, и  $N$  – количество атомов растворенной молекулы, тогда  $\mathbf{x}$  будет  $2NL$ -компонентным вектором:

$$\mathbf{x}^T = (\hat{\gamma}_{1H}(\Delta k), \dots, \hat{\gamma}_{1H}(L\Delta k), \dots, \hat{\gamma}_{NO}(L\Delta k)).$$

Выразив  $\mathbf{c}$  как функцию от  $\mathbf{x}$  с помощью уравнения замыкания (2) и подставив определения в (3), получим замкнутую систему нелинейных алгебраических уравнений размерностью  $2NL$ :

$$\mathbf{x} - \mathbf{Z}[\mathbf{x}] = 0, \quad (4)$$

где  $\mathbf{Z}$  – заданный в работе [15] нелинейный оператор.

Чтобы численно решить систему (4), воспользуемся методом Ньютона–Крылова [29]. В рамках метода Ньютона–Крылова численное решение находится итерационно, начиная с некоторого  $\mathbf{x}^{(0)}$ , по схеме:

$$\begin{aligned}\mathbf{x}^{(n+1)} &= \mathbf{x}^{(n)} + \Delta\mathbf{x}^{(n)}, \\ \Delta\mathbf{x}^{(n)} &= \mathbf{J}^{-1} \left( \mathbf{Z}[\mathbf{x}^{(n)}] - \mathbf{x}^{(n)} \right),\end{aligned}\quad (5)$$

пока  $\|\mathbf{Z}[\mathbf{x}^{(n)}] - \mathbf{x}^{(n)}\| > \varepsilon$ , где  $\varepsilon$  – наперед заданная требуемая точность.

В схеме (5) наиболее трудоемкой в вычислительном плане является операция обращения матрицы Якоби  $\mathbf{J}$ . Для ускорения этой операции зададимся некоторым целым числом  $m$  и определим сетку с шагом  $m\Delta k$  и количеством точек  $L/m$ . Обозначим матрицу Якоби системы (4) для новой сетки как  $\mathbf{J}_m = \{\partial Z_{mi} / \partial x_{mj} : i, j = 1, \dots, L/m\}$ , и найдем решение по схеме:

$$\begin{aligned}\mathbf{x}^{(n+1)} &= \mathbf{x}^{(n)} + \Delta\mathbf{x}^{(n)}, \\ \Delta x_j^{(n)} &= \delta_{j,im} a_i^{(n)} + (1 - \delta_{j,im}) c_j^{(n)}, \\ \mathbf{a}^{(n)} &= \mathbf{J}_m^{-1} \mathbf{b}^{(n)}, \\ \mathbf{b}^{(n)} &= \{b_i^{(n)} : b_i^{(n)} = c_{mi}^{(n)}, i = 1, \dots, L/m\}, \\ \mathbf{c}^{(n)} &= \mathbf{Z}[\mathbf{x}^{(n)}] - \mathbf{x}^{(n)},\end{aligned}\quad (6)$$

где буквами с нижним индексом обозначены элементы одноименных векторов.

Теперь линеаризованная система решается только на некотором подмножестве пространственной размерности. Предложенный метод представляет сетку дискретизации в координатном пространстве как объединение «грубого» и «точного» подмножества точек. На «грубом» подмножестве подсистема нелинейных уравнений решается методом Ньютона–Крылова, а на «точном» – методом Пикара. Похожая идея впервые была предложена Гиланом [30] для решения более простого уравнения Орнштейна–Цернике. Однако он искал грубое решение методом Ньютона–Рафсона на разряженной сетке, а затем уточнял решение на плотной сетке методом простых итераций. Правильно подобрав значение числа  $m$ , мы можем добиться наилучшей скорости сходимости.

Для решения линеаризованной системы будем использовать один из нестационарных итерационных методов подпространств Крылова [29]. Таким методам не требуется хранить матрицу Якоби в явном виде, достаточно задать процедуру произведения этой матрицы на произвольный вектор, что позволяет уменьшить время вычислений и требуемую память при решении системы уравнений RISM. Матрица Якоби системы  $\mathbf{J}_m$  является произведением простых по структуре разреженных матриц. Для вычисления их произведения можно использовать специальные эффективные методы, такие как быстрое преобразование Фурье.

Нет необходимости решать линеаризованную систему точно, потому что найденная поправка не приведет к точному решению системы, особенно на начальных итерациях. Достаточно, чтобы эта линейная поправка была точнее невязки самой системы. Задавшись некоторым  $\eta$ , будем искать такое  $\mathbf{a}^{(n)}$ , которое удовлетворяет условию

$$\|\mathbf{b}^{(n)} - \mathbf{J}_m \mathbf{a}^{(n)}\| \leq \eta \|\mathbf{b}^{(n)}\|.$$

Множитель  $\eta$  должен выбираться исходя из баланса скорости сходимости процедуры Ньютона–Крылова и затрат на решение линеаризованной системы.

Предыдущие модификации касались огрубления матрицы Якоби, что влияло лишь на скорость сходимости. Следующая модификация, предложенная в работе [16], затрагивает саму систему уравнений RISM и приводит к некоторому ее приближенному аналогу. Однако мы модифицируем систему так, что решение приближенной системы и термодинамические величины, полученные из решений, изменяются незначительно,

при существенном сокращении времени вычислений и используемой памяти. Идея приближения заключается в том, чтобы ослабить внутримолекулярные корреляционные функции для далеких друг от друга атомов. В импульсном пространстве это означает, что внутримолекулярная корреляционная функция для такой пары атомов становится короткой. Таким образом, мы делаем матрицу  $\hat{\mathbf{w}}^u$  разреженной, ее элементы будут иметь вид:

$$\hat{\omega}_{ij}^*(k) = \delta_{ij} + \left( H(k_{tr} - k) + H(R_{tr} - l_{ij}) - H(k_{tr} - k)H(R_{tr} - l_{ij}) \right) (1 - \delta_{ij}) \frac{\sin(kl_{ij})}{kl_{ij}}, \quad (7)$$

где  $R_{tr}$  – минимальное расстояние между атомами, для которых ослабляются корреляции;  $k_{tr}$  – точка сетки, в которой обрезается функция.

### 3. Параллельный алгоритм

Параллельный алгоритм полностью сохраняет все описанные выше модификации и, таким образом, является параллельной версией быстрого и экономичного последовательного алгоритма. Он позволяет применять суперкомпьютеры для больших задач гидратации, чтобы уменьшить время расчетов и использовать память нескольких компьютеров для размещения большой системы. Идея алгоритма основана на свойстве интегральных уравнений, которые кроме атомной размерности самой системы, дополнительно имеют ортогональную ей, функциональную размерность. Как в непрерывной системе, так и в дискретном аналоге, операции интегрирования выполняются независимо по каждой входящей в уравнение функции, а алгебраические операции – независимо по точкам сетки дискретизации функций. Такая же ситуация возникает, например, в двумерном преобразовании Фурье, где операции преобразования одной размерности независимы по точкам ортогональной размерности. Поэтому мы применили аналогичный подход, разделив всю задачу на этапы, в рамках которых вычисления производятся только по одной размерности. При переходе к следующему этапу происходит параллельное транспонирование матрицы неизвестных, которое связано с перераспределением частей вектора неизвестных между процессами. Параллельные транспонирования выполняются дважды при нахождении невязки и дважды в расчете произведения матрицы Якоби на вектор неизвестных линеаризованной системы.

Параллельное транспонирование выполняется по расписанию парных межпроцессовых взаимодействий, которое разбивает все множество пар процессов на минимальное количество таких подмножеств, что один процесс встречается в подмножестве не более одного раза. В предположении, что в суперкомпьютере процессы могут обмениваться данными попарно без коллизий, такое расписание позволяет за пропорциональное количеству процессов число шагов провести количество взаимодействий, пропорциональное квадрату взаимодействующих процессов.

Обозначим время выполнения последовательного алгоритма как  $T_1$ , а время выполнения параллельного алгоритма на  $p$  процессорах –  $T_p$ . Тогда

$$T_p = \frac{T_1}{p} + T_p^* + T_0$$

где  $T_0$  – время выполнения операций, повторяемых всеми процессами (проверка условий, передача управления и т.п.),  $T_p^*$  – время выполнения параллельного транспонирования. Нижняя и верхняя оценка сделаны в предположении, что процессы попарно взаимодействуют независимо и последовательно, соответственно,

$$(p-1)\alpha + \frac{64NL}{p\beta} \leq T_p^* \leq (p-1)\alpha + \frac{64NL}{2\beta}$$

**Таблица 1.** Параметры параллельного алгоритма решения уравнений RISM в пределе бесконечного разбавления, выполненные на вычислительном кластере университета Юты

| Система | $\rho$ | $N$  | $T_p$ , с | $S_p$ | $E_p$ , % |
|---------|--------|------|-----------|-------|-----------|
| 1ICH    | 16     | 1443 | 189       | 13.4  | 83.8      |
| 1AXN    | 64     | 5124 | 1351      | 49.0  | 76.7      |

где  $16NL$  – размер вектора неизвестных в байтах,  $\alpha$  – время подготовки данных к передаче,  $\beta$  – пропускная способность канала передачи данных.

Из оценки видно, что при бесконечном увеличении числа процессоров время выполнения параллельного алгоритма асимптотически стремится к линейному росту с коэффициентом  $\alpha$ . Однако при фиксированном числе процессоров накладные расходы растут линейно с ростом размера системы, в то время как сложность задачи в лучшем случае растет квадратично. Как результат, для любого количества процессоров можно обеспечить определенный уровень эффективности использования каждого процессора  $E_p = T_1 / (pT_p)$  путем соответствующего выбора сложности задачи, т.е. алгоритм обладает свойством масштабируемости. Входящие в уравнение постоянные матрицы и векторы, как и промежуточные неизвестные векторы, делятся между процессами без повторения. Таким образом, алгоритм также масштабируем по оперативной памяти. В таблице 1 приведены параметры тестовых расчетов гидратации белков 1ICH и 1AXN по номенклатуре PDB на кластере университета Юты (Солт-Лейк-Сити, Юта, США). Ускорение было рассчитано по формуле  $S_p = T_1 / T_p$ .

#### 4. Функционалы свободной энергии

Сайты связывания сравнивались по значениям свободной энергии Гиббса, вычисленным отдельно для соответствующих вариантов комплекса. Свободная энергия Гиббса есть сумма свободной энергии гидратации  $\Delta\mu$  и молекулярно-механической энергии  $E_{MM}$ :

$$\Delta G(t) = E_{MM}(t) + \Delta\mu(t),$$

где  $t$  – время.

В методе RISM предложено несколько выражений для функционала свободной энергии гидратации, которые были получены в рамках различных приближений. Простейшим выражением является приближение гауссовых флуктуаций (GF) [31]:

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

Выражение для свободной энергии гидратации Сингера–Чандлера (SC) [32–34] получено аналитически без каких-либо уточняющих поправок:

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

Одно из выражений для свободной энергии, недавно полученное в методе парциальных волн, имеет вид:

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

где  $\hat{\zeta}_{i\alpha}$  – элементы матрицы  $\mathbf{Z}$ :

$$\mathbf{Z} = \{\hat{\zeta}_{i\alpha}(k)\} = \hat{\mathbf{c}}^{uv} (\hat{\mathbf{w}}^v + \rho \hat{\mathbf{h}}^{vv}) \hat{\mathbf{c}}^{vv}.$$

Пояснения к этому выражению можно найти в оригинальных работах [35, 36].

В рамках метода отталкивательной поправки бридж-функционала функционал свободной энергии гидратации будет иметь вид [37]:

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

Для поправки  $b_{i\alpha}$  принимается следующее выражение:

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

где \* обозначает свертку в координатном пространстве. Отталкивательный потенциал  $u_{i\mu}^{RBC}$  может быть выбран различным образом. Это может быть отталкивательный член  $r^{-12}$  потенциала Леннарда–Джонса:

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

либо он может быть выбран в форме отталкивательной части потенциала Вика–Чандлера–Андерсона (WCA):

$$u_{i\mu}^{WCA}(r) = (u_{i\mu}^{LJ}(r) + \epsilon_{i\mu}) H(2^{1/6}\sigma_{i\mu} - r),$$

где

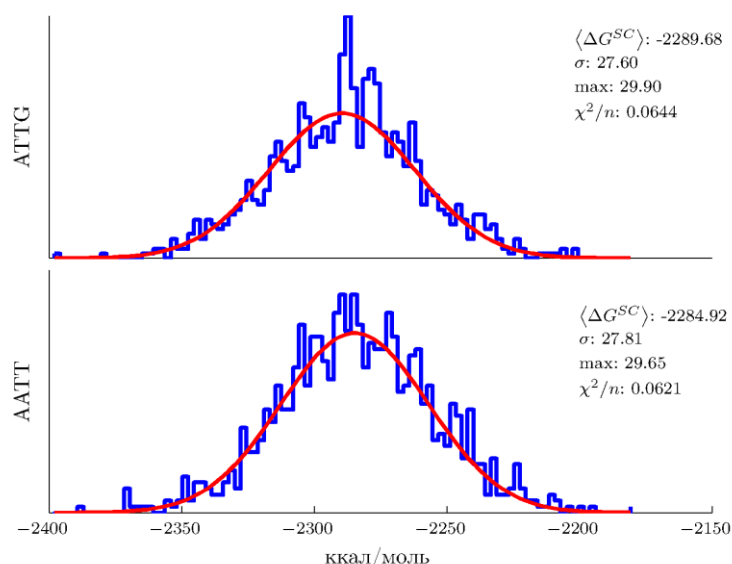
$$u_{i\mu}^{LJ}(r) = 4\epsilon_{i\mu} \left[ \left( \frac{\sigma_{i\mu}}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{i\mu}}{r} \right)^6 \right].$$

## 5. Детали вычислений

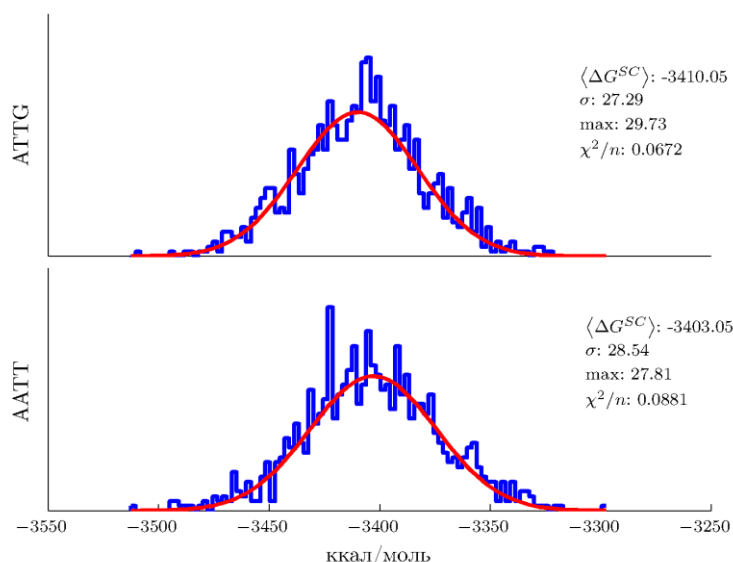
Каждый из двух рассмотренных в работе комплексов ДНК/DAP1 содержит 624 атома, включая 14 противоионов  $\text{Na}^+$ , компенсирующих заряд на ДНК (см. рис. 1). Мы использовали молекулярно-динамические траектории длиной до 7.5 нс, любезно предоставленные нам авторами работы [17]. Эти траектории и соответствующие временные ряды молекулярно-механической энергии были получены программными пакетами AMBER 5 и 6 [1], с использованием силового поля Корнелла [2] и модели воды TIP3P [38]. Расчеты методом RISM проводили с использованием тех же параметров силового поля, что и в программе AMBER. Температура была равна 300 К, плотность воды выбирали равной  $0.03333 \text{ \AA}^{-3}$ . Пространственный шаг дискретизации при решении уравнений RISM был равен  $0.056 \text{ \AA}$ , число точек сетки равно 2048. Были выполнены две независимые серии расчетов методом RISM: первую серию расчетов проводили с учетом противоионов натрия, во второй ионы были исключены из системы. Всего было рассчитано по 1000 конфигураций для каждого комплекса. Общее время расчетов на компьютерном кластере университета Юты составляло примерно 20 часов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Чтобы точно определить относительную свободную энергию двух комплексов, было необходимо проанализировать все полученные данные, поскольку свободная энергия гидратации, рассчитанная методом RISM, варьировалась в широком диапазоне значений для разных точек траектории. Для оценок средних величин, мы использовали нелинейные методы, аппроксимируя гистограммы функцией гауссового распределения. На рисунках 2 и 3 в качестве примера показаны гистограммы распределения свободной энергии Гиббса, рассчитанной по выражению SC с ионами и без них. Гистограммы получены по серии значений энергии Гиббса, рассчитанной в каждой точке траектории с пикосекундным интервалом. Также были подобраны параметры распределения Гаусса, наиболее точно соответствующие гистограммам. На графиках приведена



**Рис. 2.** Распределение свободной энергии Гиббса, рассчитанной по функционалу SC в 1000 точках траектории движения комплекса DAPI/d(CCAATTGG)<sub>2</sub>GG без ионов, для сайтов связывания ATTG и AATT. Гистограмма (100 интервалов) и подобранная кривая Гаусса.



**Рис. 3.** Распределение свободной энергии Гиббса, рассчитанной по функционалу SC в 1000 точках траектории движения комплекса DAPI/d(CCAATTGG)<sub>2</sub>GG с ионами, для сайтов связывания ATTG и AATT. Гистограмма (100 интервалов) и подобранная кривая Гаусса.

полуширина, положение и значения максимумов гауссовых кривых. Параметры гауссового распределения для всех используемых функционалов свободной энергии приведены в таблице 2 для обоих комплексов с учетом ионов и без. Там же указаны оценки качества аппроксимации по критерию хи-квадрат. В последней колонке этой таблицы приведены разности свободных энергий комплексов.

Полученные разности свободных энергий различны для разных способов оценки свободной энергии. Видно, что оценки разности четко группируются. В первой группе, для которых разница отрицательна, и, следовательно, предпочтительным по энергии является комплекс с сайтом связывания ATTG, находятся функционал SC и его модификации с учетом отталкивательных поправок, учтенных по теории возмущений. Оценки с помощью этих функционалов согласуются с экспериментальными данными. Вторую группу оценок, которые дают положительную разность энергий комплексов на величину примерно 10 ккал/моль, составляют функционалы GF и PW. Такое же

**Таблица 2.** Параметры гауссовых распределений свободной энергии Гиббса, рассчитанной в 1000 точках траектории движения комплекса DAPI/d(CCAATTGG)<sub>2</sub>GG, для сайтов связывания ATTG и AATT. Параметры подобраны по гистограммам со 100 интервалами

|                  | ATTG                     |          |       |          | AATT                     |          |       |          | $\Delta\Delta G$ |
|------------------|--------------------------|----------|-------|----------|--------------------------|----------|-------|----------|------------------|
|                  | $\langle\Delta G\rangle$ | $\sigma$ | max   | $\chi^2$ | $\langle\Delta G\rangle$ | $\sigma$ | max   | $\chi^2$ |                  |
| без ионов        |                          |          |       |          |                          |          |       |          |                  |
| SC               | -2289.68                 | 27.60    | 29.90 | 64.21    | -2284.92                 | 27.81    | 29.65 | 61.88    | <b>-4.76</b>     |
| GF               | -5742.04                 | 31.27    | 24.59 | 56.41    | -5751.85                 | 29.61    | 24.83 | 93.03    | <b>9.81</b>      |
| PW               | -4892.90                 | 28.74    | 23.84 | 69.96    | -4901.72                 | 27.69    | 23.78 | 100.06   | <b>8.82</b>      |
| TPT( $r^{-12}$ ) | -3934.82                 | 29.19    | 29.12 | 64.04    | -3931.28                 | 29.91    | 28.41 | 70.98    | <b>-3.54</b>     |
| TPT(WCA)         | -3337.68                 | 27.40    | 30.19 | 67.75    | -3333.66                 | 28.32    | 29.20 | 65.04    | <b>-4.02</b>     |
| с ионами         |                          |          |       |          |                          |          |       |          |                  |
| SC               | -3410.05                 | 27.29    | 29.73 | 67.00    | -3403.05                 | 28.54    | 27.81 | 87.87    | <b>-7.00</b>     |
| GF               | -6969.10                 | 31.70    | 24.81 | 90.92    | -6986.13                 | 29.90    | 26.30 | 91.73    | <b>17.03</b>     |
| PW               | -6359.92                 | 28.77    | 25.71 | 92.73    | -6378.89                 | 29.08    | 26.24 | 58.09    | <b>18.96</b>     |
| TPT( $r^{-12}$ ) | -5095.10                 | 31.07    | 26.87 | 90.01    | -5092.43                 | 30.82    | 27.62 | 70.23    | <b>-2.67</b>     |
| TPT(WCA)         | -4486.57                 | 28.81    | 28.22 | 80.51    | -4484.24                 | 29.06    | 28.21 | 69.29    | <b>-2.32</b>     |

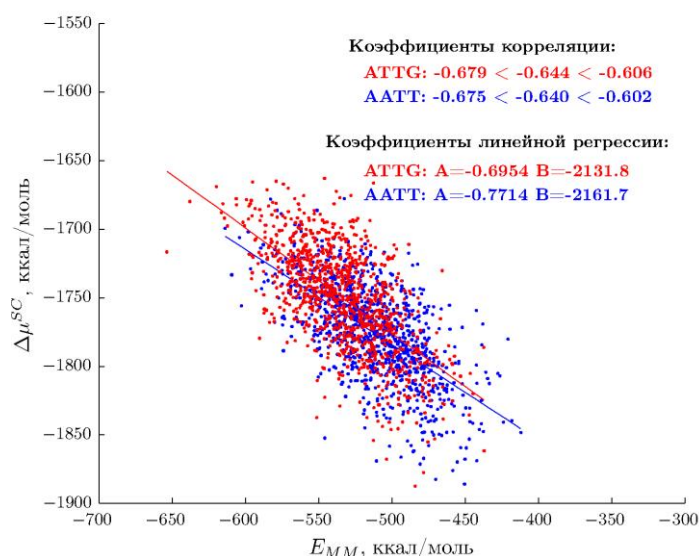
поведение разности первоначально получено в работе [17] с использованием метода ММ/PBSA. Положительная разность означает, что предпочтительным сайтом связывания является AATT, и противоречит эксперименту.

Картина не меняется принципиально с учетом противоионов, кроме того, что разница между различными методами оценок свободной энергии становится еще более выраженной.

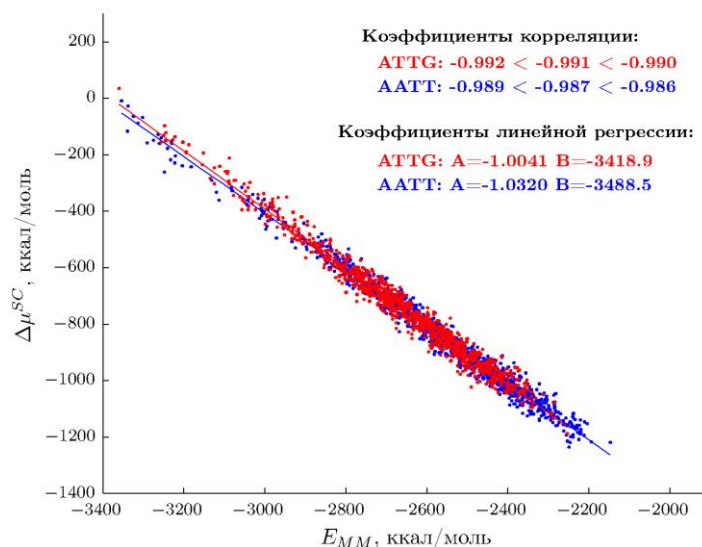
Мы сделали интересное наблюдение, что свободная энергия гидратации почти линейно коррелирует с молекулярно-механической энергией (см. рис. 4, 5). Это ведет к неожиданной компенсации и уменьшению флуктуаций в полной энергии. В таблице 3 приведены оценки коэффициентов корреляции для всех методов вместе с их границами для 95% доверительного интервала. Также мы привели коэффициенты линейной регрессии для зависимости избыточного химического потенциала от молекулярно-механической энергии.

Сравнивая данные с учетом ионов и без него, отметим ослабление линейной корреляции, если избыточный химический потенциал гидратации рассчитан без учета компенсирующих ионов. Отсюда следует, что корреляции, возможно, проистекают из флуктуаций в разделении энергии между заряженной ДНК и отделенными большими расстояниями зарядами. Это разделение связано с увеличением энергии гидратации и одновременным уменьшением энергии притяжения между ионами и ДНК.

Отметим также возрастание коэффициентов корреляции по данным без учета ионов в тех случаях, когда результаты получены по методу гауссовых флуктуаций или парциальных волн. В эти два выражения для избыточного химического потенциала не входит явно член, пропорциональный квадрату полной корреляционной функции. Можно предположить, что такие выражения будут вести себя симбатно феноменологическим теориям гидратации, например обобщенному методу Борна. В обобщенном методе Борна следует ожидать коэффициента корреляции близкого к единице, поскольку само выражение для избыточного химического потенциала в этой теории является лишь незначительной модификацией выражения для молекулярно-механической энергии. В целом, основным недостатком феноменологических методов является то, что они принципиально не учитывают энтропийный вклад реорганизации воды вблизи комплекса. Чтобы преодолеть этот недостаток и получить согласующееся с экспериментом предсказание, авторы работы [17] явно добавили ближайшее водное окружение и тем самым вручную внесли в рассмотрение энтропийный вклад. В методе RISM структурированным является все водное окружение, а не только ближайший к



**Рис. 4.** Линейная корреляция молекулярно-механической энергии комплекса DAPI/d(CCAATTGG)<sub>2</sub>GG без ионов и его свободной энергии гидратации по функционалу SC для сайтов связывания АТТГ и ААТТ.



**Рис. 5.** Линейная корреляция молекулярно-механической энергии комплекса DAPI/d(CCAATTGG)<sub>2</sub>GG с ионами и его свободной энергии гидратации по функционалу SC для сайтов связывания АТТГ и ААТТ.

растворенной молекуле слой, соответственно энтропийный вклад в реорганизацию растворителя учитывается изначально.

Выражения для свободной энергии в методе RISM, которые дают согласующиеся с экспериментом предсказания, содержат член, пропорциональный квадрату полной корреляционной функции. Считается, что именно он отвечает за энтропийный вклад в энергию гидратации. Результаты расчетов показывают, что наличие этого вклада совершенно необходимо для правильного предсказания сайтов связывания. Авторы работы [37] утверждают, что энтропийный вклад в гидратацию по формуле SC даже переоценивается. В своей работе они делают попытку уменьшить его за счет введения дополнительного отталкивания, которое не позволяло бы молекулам воды жестко «залипать» на определенные сайты растворенной молекулы, приводя к значительным пикам полной корреляционной функции, часто наблюдаемым в расчетах методом RISM. Из таблицы 2 видно, что разность энергий комплексов с учетом

**Таблица 3.** Коэффициент корреляции  $C$  молекулярно-механической энергии и свободной энергии гидратации комплекса DAPI/d(CCAATTGG)<sub>2</sub>GG для сайтов связывания АТТГ и ААТТ, 95% доверительный интервал ( $L$ ,  $H$ ) и параметры линейной регрессии  $A$  и  $B$

|                  | АТТГ             |        |        |                 |       | ААТТ             |        |        |                 |       |
|------------------|------------------|--------|--------|-----------------|-------|------------------|--------|--------|-----------------|-------|
|                  | Коэф. корреляции |        |        | Коэф. регрессии |       | Коэф. корреляции |        |        | Коэф. регрессии |       |
|                  | $L$              | $C$    | $H$    | $A$             | $B$   | $L$              | $C$    | $H$    | $A$             | $B$   |
| без ионов        |                  |        |        |                 |       |                  |        |        |                 |       |
| SC               | -0.679           | -0.644 | -0.606 | -0.695          | -2132 | -0.675           | -0.640 | -0.602 | -0.771          | -2162 |
| GF               | -0.752           | -0.724 | -0.693 | -1.029          | -5755 | -0.716           | -0.685 | -0.650 | -0.921          | -5707 |
| PW               | -0.773           | -0.747 | -0.718 | -1.007          | -4895 | -0.735           | -0.705 | -0.672 | -0.926          | -4861 |
| TPT( $r^{-12}$ ) | -0.672           | -0.636 | -0.598 | -0.758          | -3809 | -0.658           | -0.621 | -0.582 | -0.774          | -3811 |
| TPT(WCA)         | -0.680           | -0.645 | -0.608 | -0.729          | -3197 | -0.668           | -0.632 | -0.593 | -0.763          | -3206 |
| с ионами         |                  |        |        |                 |       |                  |        |        |                 |       |
| SC               | -0.992           | -0.991 | -0.990 | -1.004          | -3419 | -0.989           | -0.987 | -0.986 | -1.032          | -3489 |
| GF               | -0.990           | -0.989 | -0.987 | -0.948          | -6835 | -0.987           | -0.985 | -0.984 | -0.959          | -6875 |
| PW               | -0.992           | -0.990 | -0.989 | -0.934          | -6192 | -0.989           | -0.987 | -0.985 | -0.952          | -6251 |
| TPT( $r^{-12}$ ) | -0.991           | -0.990 | -0.988 | -1.018          | -5139 | -0.988           | -0.986 | -0.984 | -1.037          | -5189 |
| TPT(WCA)         | -0.992           | -0.991 | -0.989 | -1.011          | -4513 | -0.989           | -0.987 | -0.985 | -1.031          | -4566 |

отталкивательных поправок уменьшилась в сравнении с теми же разностями, полученными по функционалу SC без учета поправки. Если считать, что уменьшение свободной энергии комплекса АТТГ в сравнении с комплексом ААТТ будет тем больше, чем больше оценен энтропийный вклад в функционале свободной энергии, то отталкивательные поправки действительно снижают энтропийную часть свободной энергии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы получили широкий разброс значений величин избыточного химического потенциала комплексов ДНК/DAPI, рассчитанных методом RISM по молекулярно-динамической траектории. Поэтому способность использованной реализации метода обрабатывать всю молекулярно-динамическую траекторию, благодаря высокоскоростной численной схеме решения системы уравнений RISM, была ключевой в исследовании. Нам впервые удалось использовать теоретический метод статистической физики для изучения термодинамики связывания лекарства с биологической молекулой, заменив применяемые в настоящее время феноменологические континуальные методы.

Метод RISM учитывает структуру растворителя, в отличие от континуальных методов, что позволило отказаться от явного учета первой водной оболочки в рамках феноменологического метода и исключить произвол в выборе сайтов связывания молекул воды. Вообще говоря, на данный момент моделирование сложных систем и исследование их термодинамики требует поиска баланса в используемом наборе феноменологических методов и поправок к ним. Так, авторы работы [17], которая послужила основой для описанного здесь исследования, сделанное ими моделирование называют искусством. Теоретический метод, примененный в настоящей статье, позволяет в какой-то мере сделать изучение связывания лекарств на субстрате более технологичным.

Рассмотренная в данной статье задача является одной из типичных для вычислительной молекулярной биологии и фармацевтики. Другими примерами могут служить задачи подбора вещества для блокировки активного центра фермента или изучения мутаций в биологической молекуле. Их объединяет то, что геометрия и атомный состав исследуемой системы меняются незначительно. Можно ожидать, что применение метода RISM в таких случаях, как и в исследовании комплекса ДНК/DAPI, окажется успешным, так как в этих системах компенсируются известные погрешности

метода RISM, связанные с зависимостью свободной энергии гидратации от числа атомов в растворенной молекуле.

Чтобы модель лучше описывала конкретную исследуемую систему, можно также корректировать функционалы свободной энергии. В настоящей работе мы сравнили относительную энергию связывания, полученную по нескольким предложенным в методе RISM функционалам свободной энергии гидратации. Анализ результатов привел к предположению, что различие функционалов для расчетов свободной энергии, а также их отличие от феноменологических методов заключается в степени учета энтропийного вклада. Предсказания по функционалам, в которых присутствует член, пропорциональный квадрату полной корреляционной функции, как считается, отвечающий за энтропийный вклад, согласуются с экспериментом. А функционалы, в которых этот член отсутствует, приводят к противоположному результату. Однако сделать более точные выводы о поведении функционалов можно будет только после накопления опыта применения теории RISM к сложным молекулярным системам. И, возможно, потребуются определенные эмпирические модификации функционалов, чтобы получать не только качественные, но и количественные результаты.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Расчеты термодинамики методом RISM выполнены на вычислительном кластере Центра высокопроизводительных вычислений университета Юты (Солт-Лейк-Сити, Юта, США). Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проекты № 10-07-00112-а, 09-07-12073-офи\_м).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pearlman D.<sup>o</sup>A., Case D.<sup>o</sup>A., Caldwell J.<sup>o</sup>W. et al. AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. *Computational Physics Communications*. 1995. V. 91. P. 1–41.
2. Cornell W.<sup>o</sup>D., Cieplak P., Bayly C.<sup>o</sup>I. et al. A second generation force field for the simulation of proteins and nucleic acids. *Journal of the American Chemical Society*. 1995. V. 117. P. 5179–5197.
3. Case D.<sup>o</sup>A., Darden T.<sup>o</sup>A., Cheatham T.<sup>o</sup>E. et al. *AMBER 8*. San Francisco: University of California, 2004.
4. Chandler D., Andersen H.<sup>o</sup>C. Optimized cluster expansions for classical fluids. II. Theory of molecular liquids. *Journal of Chemical Physics*. 1972. V. 57. P. 1930–1937.
5. Hansen J.<sup>o</sup>P., McDonald I.<sup>o</sup>R. *Theory of simple liquids*. London: Academic Press, 1986.
6. Kitao A., Hirata F., Go N. Effects of solvent on the conformation and the collective motions of a protein. 3. Free energy. *Journal of Physical Chemistry*. 1993. V. 97. P. 10231–10235.
7. Imai T., Hiraoka R., Kovalenko A., Hirata F. Water molecules in a protein cavity detected by a statistical-mechanical theory. *Journal of the American Chemical Society*. 2005. V. 127. P. 15334–15335.
8. Imai T., Kovalenko A., Hirata F. Partial molar volume of proteins studied by the three-dimensional reference interaction site model theory. *Journal of Physical Chemistry B*. 2005. V. 109. P. 6658–6665.
9. Imai T., Kovalenko A., Hirata F. Solvation thermodynamics of protein studied by the 3D-RISM theory. *Chemical Physics Letters*. 2004. V. 395. P. 1–6.
10. 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.

11. Kinoshita M., Okamoto Y., Hirata F. Peptide conformations in alcohol and water: Analyses by the reference interaction site model theory. *Journal of the American Chemical Society*. 2000. V. 122. P. 2773–2779.
12. Kinoshita M., Okamoto Y., Hirata F. Analysis on conformational stability of C-peptide of ribonuclease a in water using the reference interaction site model theory and Monte Carlo simulated annealing. *Journal of Chemical Physics*. 1999. V. 110. P. 4090–4100.
13. Kinoshita M., Okamoto Y., Hirata F. First-principle determination of peptide conformations in solvents: Combination of Monte Carlo simulated annealing and RISM theory. *Journal of the American Chemical Society*. 1998. V. 120. P. 1855–1863.
14. Svensson B., Woodward C. E. Integral equation theory for proteins: Application to Ca<sup>2+</sup> binding in Calbindin D9k. *Journal of Physical Chemistry*. 1995. V. 99. P. 1614–1618.
15. Tikhonov D.<sup>°</sup>A., Polozov R.<sup>°</sup>V., Timoshenko E.<sup>°</sup>G. et al. 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. P. 1528–1539.
16. Тихонов Д.<sup>°</sup>А. Метод интегральных уравнений теории жидкостей для изучения гидратации макромолекул. В *Компьютеры и суперкомпьютеры в биологии*. Под ред. Лахно В.<sup>°</sup>Д., Устинина М.<sup>°</sup>Н. Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2002. С. 209–233.
17. Spackova N., Cheatham III T. E., Ryjacek F. et al. Molecular Dynamics Simulations and Thermodynamics Analysis of DNA-Drug Complexes. Minor Groove Binding between 4',6-Diamidino-2-phenylindole and DNA Duplexes in Solution. *Journal of the American Chemical Society*. 2003. V. 125. P. 1759–1769.
18. Larsen T. A., Goodsell D.<sup>°</sup>S., Cascio D. et al. The structure of DAPI bound to DNA. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*. 1989. V. 7. P. 477–491.
19. Vlieghe D., Sponer J., Meervelt L.<sup>°</sup>V. Crystal structure of d(GGCCAATTGG) complexed with DAPI reveals novel binding mode. *Biochemistry*. 1999. V. 38. P. 16443–16451.
20. Loontjens F.<sup>°</sup>G., McLaughlin L.<sup>°</sup>W., Diekmann S., Clegg R.<sup>°</sup>M. Binding of hoechst 33258 and 4',6-diamidino-2-phenylindole to self-complementary decadeoxynucleotides with modified exocyclic base substituents. *Biochemistry*. 1991. V. 30, no. 1. P. 182–189.
21. Waring M.<sup>°</sup>J., Bailly C. The influence of the exocyclic amino group characteristic of GC base pairs on molecular recognition of specific nucleotide sequences in DNA by Berenil and DAPI. *Journal of Molecular Recognition*. 1997. V. 10. P. 121–127.
22. Trotta E., D'Ambrosio E., Ravagnan G., Paci M. Simultaneous and different binding mechanisms of 4',6diamidino-2-phenylindole to DNA hexamer (d(CGATCG))<sub>2</sub>. A <sup>1</sup>H NMR study. *Journal of Biological Chemistry*. 1996. V. 271. P. 27608–27614.
23. Wilson W.<sup>°</sup>D., Tanious F.<sup>°</sup>A., Barton H.<sup>°</sup>J. et al. Binding of 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) to GC and mixed sequences in DNA: Intercalation of a classical groove-binding molecule. *Journal of the American Chemical Society*. 1989. V. 111. P. 5008–5010.
24. Wilson W.<sup>°</sup>D., Tanious F.<sup>°</sup>A., Barton H.<sup>°</sup>J. et al. The interaction of unfused polyaromatic heterocycles with DNA: Intercalation, groove-binding and bleomycin amplification. *Anti-Cancer Drug Design*. 1990. V. 5. P. 31–42.
25. Honig B., Sbarp K., Yang A.-S. Macroscopic Models of Aqueous Solutions: Biological and Chemical Applic. *Journal of Physical Chemistry*. 1993. V. 97. P. 1101–1109.
26. Hirata F., Rossky P.<sup>°</sup>J., Pettitt B.<sup>°</sup>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.

27. van Leeuwen J. M. J., Groeneveld J., de Boer J. New method for the calculation of the pair correlation function. I. *Physica*. 1959. V. 25. P. 792–808.
28. 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.
29. Kelley C.°T. *Iterative Methods for Linear and Nonlinear Equations*. SIAM, 1995.
30. Gillan M.°J. A new method of solving the liquid structure integral equations. *Molecular Physics*. 1979. V. 38. P. 1781–1794.
31. Chandler D., Singh Y., Richardson D. Excess electrons in simple fluids. I. General equilibrium theory for classical hard sphere solvents. *Journal of Chemical Physics*. 1984. V. 81. P. 1975–1982.
32. Singer S.°J., Chandler D. Free energy functions in the extended RISM approximation. *Molecular Physics*. 1985. V. 55. P. 621–625.
33. Morita T., Hiroike K. A new approach to the theory of classical fluids. I. *Progress of Theoretical Physics*. 1960. V. 23. P. 1003–1027.
34. Zichi D.°A., Rossky P.°A. Molecular conformational equilibria in liquids. *Journal of Chemical Physics*. 1985. V. 84. P. 1712–1723.
35. 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.
36. 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.
37. 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.
38. Jorgensen W.°L., Chandrasekhar J., Madura J.°D. et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *Journal of Chemical Physics*. 1983. V. 79. P. 926–935.

Материал поступил в редакцию 21.07.2010, опубликован 14.09.2010