

НАУЧНЫЙ ОБЗОР

УДК 577.332, 004.94

**КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ
ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ: УРОКИ 20-ЛЕТНЕЙ ПРАКТИКИ**

**М.Г. Хренова^{1,2}, Т.И. Мулашкина^{1,2}, А.М. Кулакова^{1,2}, И.В. Поляков^{1,2},
А.В. Немухин**

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

² Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН

Автор, ответственный за переписку: Мария Григорьевна Хренова,
mkhrenova@lcc.chem.msu.ru

Аннотация. Комбинированный метод квантовой механики / молекулярной механики наиболее часто применяется для описания молекулярных механизмов ферментативных реакций. В обзоре обсуждаются основные методологические вопросы, даются практические рекомендации, а также иллюстрируется прогресс метода за последние 20 лет на важном примере реакции гидролиза гуанозинтрифосфата белковым комплексом.

Ключевые слова: КМ/ММ, механизм реакции, ферментативный катализ, белковый комплекс, молекулярное моделирование

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2024-65-2-87-95

Финансирование. Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 19-73-20032) и выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова.

Для цитирования: Хренова М.Г., Мулашкина Т.И., Кулакова А.М., Поляков И.В., Немухин А.В. Компьютерное моделирование механизмов ферментативных реакций: уроки 20-летней практики // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2024. Т. 65. № 2. С. 87–95.

SCIENTIFIC REVIEW

**COMPUTER MODELING OF THE MECHANISMS OF ENZYMATIC
REACTIONS: LESSONS FROM 20 YEARS OF PRACTICE**

**Khrenova M.G.^{1,2}, Mulashkina T.I.^{1,2}, Kulakova A.M.^{1,2}, Polyakov I.V.^{1,2},
Nemukhin A.V.**

¹ Lomonosov Moscow State University

² N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences

Corresponding author: Maria G. Khrenova, mkhrenova@lcc.chem.msu.ru

Abstract. Combined quantum mechanics / molecular mechanics method is usually utilized to study enzymatic reactions. The review discusses the main methodological issues of this method, provides practical recommendations, and illustrates the development of the method over the past 20 years using a practically important example of the reaction of guanosine triphosphate hydrolysis by a protein complexes.

Keywords: QM/MM, mechanisms of reactions, enzymatic reaction, protein complex, molecular modeling

Financial Support. The work was supported by the Russian Scientific Foundation (project No. 19-73-20032) and was carried out using the equipment.

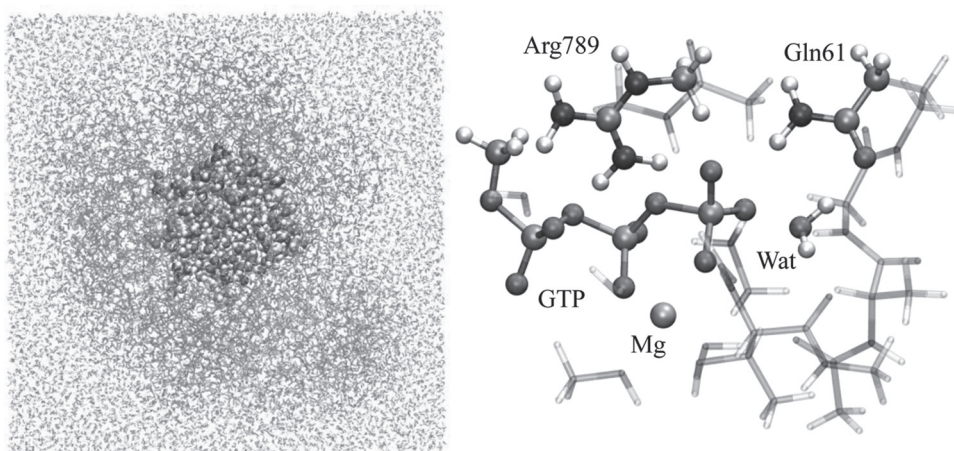
For citation: Khrenova M.G., Mulashkina T.I., Kulakova A.M., Polyakov I.V., Nemukhin A.V. Computer Modeling of the Mechanisms of Enzymatic Reactions: Lessons from 20 Years of Practice // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2024. T. 65. № 2. S. 87–95.

Развитие комбинированных методов квантовой механики / молекулярной механики (КМ/ММ) для изучения механизмов ферментативных реакций началось в 1970-е годы [1]. Позднее, в 2013 г., А. Варшел, М. Левит и М. Карплюс получили нобелевскую премию по химии «за развитие многомасштабных моделей для сложных химических систем». Эти методы предполагают разделение молекулярной модели на две подсистемы: активный центр фермента, где происходит химическая реакция, описываемый методами квантовой химии (КМ-подсистема), и вся остальная часть белковой макромолекулы, включая молекулы растворителя, которая описывается с помощью классических силовых полей (ММ-подсистема) [2–9]. Дополнительно может быть использована и континуальная модель растворителя. Развитие и активное применение этих подходов началось значительно позже их появления, что было связано с необходимостью решения множества методологических

вопросов. К основным вопросам можно отнести развитие методов описания границы квантовой и классической подсистем при разделении по ковалентной связи, способа учета взаимодействия подсистем, а также расчета полной энергии. В настоящем обзоре обсуждаются основные варианты методов КМ/ММ, применяющихся в настоящее время, а также показано развитие методов на примере описания биохимически важной реакции гидролиза гуанозинтрифосфата (ГТФ) комплексами малых ГТФаз с белками-ускорителями (рисунок).

Методы описания квантовой и классической подсистем

В классической подсистеме минимальной изучаемой частицей является атом, и для ее описания используются классические силовые поля. К полноатомным силовым полям, рекомендованным для описания биомacroмолекулярных систем, относятся CHARMM [15], AMBER [16] и OPLS-AA [17]. В таких силовых полях происхо-



Размеры модельной системы для КМ/ММ-расчетов. Слева: модельная система целиком; сферами – модель 2005 г. [10], серыми линиями – расширение модели в работе 2015 г. [11] по сравнению с предыдущей, прямоугольный параллелепипед – модель для расчетов с периодическими граничными условиями (2020 г. и далее [12–14]). Справа: КМ-подсистема в работе [10] – шаростержневым представлением, в работе [11] – полупрозрачными стержнями

дит типизация каждого атома, а также используется топология, определяющая их связность. Например, все алифатические углеродные атомы с двумя водородными заместителями (группа $-\text{CH}_2-$) имеют один тип, углерод метильной группы ($-\text{CH}_3$) имеет другой тип. Таким образом, только для атомов углерода в силовом поле CHARMM содержится 40 различных типов. Молекулы воды, как правило, описываются трехточечной жесткой моделью TIP3P [18]. Могут также применяться силовые поля, которые для некоторых частиц используют модель объединенных атомов, в частности молекулярные фрагменты, содержащие неполярные атомы водорода (группы CH , CH_2 и CH_3) заменяются на эффективные частицы, например поле GROMOS [19]. Во многом применение того или иного силового поля зависит от применяемого программного пакета, а точнее модуля, отвечающего за расчет энергии и сил в ММ-подсистеме. При расчете энергии системы с использованием силовых полей потенциальная энергия системы E представляет собой сумму отдельных вкладов различных взаимодействий (формула), где d , φ , θ – текущие значения длины связи, валентного и двугранного углов соответственно; k_r , k_φ , k_θ – силовые постоянные соответствующих потенциалов; d_e , φ_e – равновесные значения длины связи и валентного угла; n_i , θ_e – кратность и фаза двугранного угла; r_{ij} – расстояние между атомами i и j ; ϵ_{ij} , σ_{ij} – параметры потенциала Леннарда–Джонса; q_i , q_j – точечные заряды на атомах i и j ; ϵ_0 – диэлектрическая постоянная. Первые три слагаемых представляют собой ковалентные взаимодействия: растяжение связей ($E^{(\text{связи})}$) и изменение валентных углов ($E^{(\text{углы})}$), которые описываются простыми гармоническими потенциалами, и изменение двугранных углов ($E^{(\text{двугр.углы})}$), описываемое тригонометрическими функциями, поскольку зависимость энергии от величины угла является периодической. К нековалентным взаимодействиям относят вклады ван-дер-ваальсовых взаимодействий

($E^{(\text{ВдВ})}$), представляемых потенциалом Леннарда–Джонса, и электростатических взаимодействий ($E^{(\text{электростат.})}$), определяемых по закону Кулона. Свой вклад в энергию системы могут давать и другие типы взаимодействий ($E^{(\text{др.})}$), куда входят, например, перекрестные слагаемые, описывающие взаимное влияние вышеперечисленных взаимодействий друг на друга, или энергии водородных связей. Дополнительные энергетические члены могут добавляться, чтобы более точно учесть специфические взаимодействия, важные для конкретной системы. Необходимым этапом построения всех классических молекулярных моделей является превращение начальных координат системы, чаще всего представленных в формате PDB, в полную топологию системы с учетом графа связности и типов атомов силового поля с помощью поставляемых дополнительных программных пакетов для молекулярно-механических расчетов.

Применение квантовохимических методов, основанных на построении волновой функции молекулярной системы как совокупности ядер и электронов, позволяет описывать образование и разрывы химических связей в ходе реакций, а также различные электронные состояния при фотопревращениях. Неизбежность применения комбинированных методов связана с характерными размерами биомолекулярных систем в тысячи или десятки тысяч атомов, современными компьютерными возможностями и вычислительными затратами методов. При описании системы в рамках классических силовых полей вычислительные затраты растут как $N \cdot \lg(N)$, где N – число частиц. Методы квантовой химии характеризуются значительно более быстрым ростом вычислительной сложности с увеличением размера системы. Основным методом, который на сегодняшний день применяется для описания КМ-части при изучении процессов в основном электронном состоянии, является метод функционала электронной плотности в орбитальном

$$\begin{aligned}
 E &= E^{(\text{связи})} + E^{(\text{углы})} + E^{(\text{двугр.углы})} + E^{(\text{ВдВ})} + E^{(\text{электростат.})} + E^{(\text{др.})} = \\
 &= \sum_{\text{связи}} k_r (d - d_e)^2 + \sum_{\text{углы}} k_\varphi (\varphi - \varphi_e)^2 + \sum_{\text{двугр.углы}} k_\theta (1 + \cos(n_i \theta - \theta_e)) + \\
 &+ \sum_{\text{невалент. связи}} 4\epsilon_{ij} \left(\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right) + \sum_{\text{невалент. связи}} \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + E^{(\text{др.})}
 \end{aligned}$$

варианте Кона–Шэма. Вычислительные затраты этого метода растут как N^3-N^4 (N – число базисных функций), что значительно отличается от классических методов. В более ранних работах также использовали полуэмпирические методы, такие как PM3 [20], PM6 [21] и AM1 [22], а также метод Хартри–Фока, однако эти методы сейчас используются реже ввиду своей меньшей точности применительно к описанию механизмов ферментативных реакций. Поскольку в активных центрах ферментов проходят сложные многостадийные химические реакции, по сути своей похожие на обычные органические реакции, но в специфическом окружении, то выбор адекватного функционала при описании такого процесса является ключевым [23–25]. Наиболее популярные группы функционалов при проведении расчетов – обобщенно-градиентные (GGA) и гибридные. Последние включают в себя различные композиции полулокального обмена метода функционала электронной плотности и точного хартри-фоковского обмена, что значительно влияет на получаемые результаты [26, 27]. Для описания химических реакций в активных центрах ферментов нежелательно использовать GGA-функционалы. При использовании гибридных функционалов стоит провести предварительный анализ литературы и выбрать те, которые дают корректные результаты для схожих систем. В целом можно рекомендовать гибридные функционалы PBE0 [28] и ω B97X [29] с поправками на дисперсионные взаимодействия D3 [30].

В расчетах, как правило, используют двухэкспонентные базисы с поляризационными функциями, такие как 6-31G**, cc-pvdz, def2-SVP и другие. Применение трехэкспонентных базисов приводит к значительному увеличению времени расчетов и на практике такие базисы не используются. Добавление поляризационных функций крайне желательно, поскольку в активных центрах ферментов часто встречаются заряженные остатки, ионы металлов, а в ходе химических превращений происходит заметное перераспределение электронной плотности в пространстве активного центра. При описании квантовой подсистемы в методах КМ/ММ не рекомендуется применение базисных наборов с диффузными функциями, поскольку их радиальная часть медленно спадает и могут возникнуть артефактные взаимодействия с близкорасположенными атомами, а точнее, их частичными зарядами в ММ-подсистеме. В случаях, когда применение диффузных функций кажется необходимым, стоит

добавлять их только на отдельные атомы, находящиеся вдали от границы КМ- и ММ-подсистем. Существует также вариант КМ/ММ, где вместо атомноцентрированных базисных наборов используются плосковолновые с обобщенно-градиентными функционалами (BLYP, PBE), в частности, в реализации CPMD+GROMACS [31], но рассмотрение таких вариантов выходит за рамки настоящего обзора.

Разделение системы на КМ и ММ подсистемы

В квантовую подсистему включается область, в которой проходит химическая реакция, однако выбор КМ-части оптимального размера и состава является нетривиальной задачей [31]. КМ-подсистема большего размера позволяет более точно описывать взаимодействия в активном центре, но это может привести к значительному увеличению времени расчетов. Типичные размеры КМ-подсистемы составляют 100–200 атомов, дальнейшее увеличение размера сильно замедляет расчет. Выбор состава и размера КМ-подсистемы – задача, которая отдается на откуп исследователю. Из общих рекомендаций следует, что в КМ-подсистеме необходимо включать молекулярные фрагменты, где происходят акты образования и разрыва химических связей, а также по возможности близко расположенные заряженные фрагменты, образующие водородные связи в активном центре. В работе [32] показана сходимость результатов расчетов структур и их свойств, барьера ферментативной реакции при увеличении квантовой части с 64 до 940 атомов. Первоначально проводилось последовательное изменение квантовой подсистемы за счет изменения радиуса сферы, в которую должны были попадать молекулярные фрагменты; наибольшая система характеризовалась радиусом 7 Å (56 аминокислотных остатков, 940 атомов). Насыщение результатов при этом происходило при ~500–600 атомах в КМ-подсистеме. Однако более аккуратный отбор с учетом степени переноса заряда в активном сайте белка позволил сузить КМ-часть до ~200–300 атомов (11–16 остатков). В литературе известны примеры разработки автоматизированных средств разделения системы на КМ и ММ, однако на практике они не нашли широкого применения [33], что лишь подчеркивает актуальность проблемы.

При описании химических реакций в белках возникает необходимость проведения границ подсистем КМ и ММ по ковалентным связям.

Это связано с тем, что некоторые молекулярные фрагменты, участвующие в химической реакции – аминокислотные остатки, являющиеся частью белковой макромолекулы. Границы КМ- и ММ-частей рекомендуется проводить по наименее поляризованным в этих системах связям С–С, желателно, алифатическим [34]. Например, если в КМ-часть необходимо добавить боковую цепь какого-либо аминокислотного остатка, то разумно провести границу между C_{α} - и C_{β} -атомами. Если необходимо добавить основную цепь, то желателно, чтобы разрыв связи проходил между атомами углерода карбонильной группы и C_{α} . При разрыве ковалентных связей образуются две нескомпенсированные валентности. В особенности это важно для КМ-подсистемы, поскольку в ней явным образом задаются число электронов и мультиплетность. При гомолитическом разрыве связи образуется радикал, который необходимо каким-либо образом скомпенсировать. Для этого на разных этапах развития методологии КМ/ММ применялись разные подходы. Наибольшую популярность приобрели так называемые связующие атомы (link-atom), которые добавляются в КМ-подсистему на линию разрыва ковалентной связи и явно участвуют в расчете КМ-подсистемы. Как правило, в качестве таких атомов используются атомы водорода, однако иногда также применяются атомы фтора. Менее распространенным является подход локализованных орбиталей, предполагающий добавление гибридных орбиталей на границу КМ- и ММ-подсистем, такие орбитали не оптимизируются в ходе вариационной процедуры и используются для насыщения разорванных связей КМ-подсистемы.

Взаимодействие квантовой и классической подсистем

Квантовые и классические методы описания принципиально различаются между собой, поэтому описание их взаимодействий представляет собой отдельную методологическую задачу. Наиболее сложным является корректный учет влияния классической подсистемы на квантовую. По мере развития комбинированных методов предлагались различные варианты. Первоначально появился вариант механического внедрения, в котором никак не учитывалось электростатическое поле, создаваемое белковым окружением и растворителем. Такой вариант мог давать удовлетворительные результаты только в том случае, если выбиралась достаточно большая КМ-подсистема, поскольку электростатическое поле окружения существенно влияет на протекающую реакцию.

По мере развития методов стали появляться схемы электронного внедрения и метод потенциалов эффективных фрагментов. Основное различие этих двух вариантов состоит в тех вкладах, которые добавляются в КМ-подсистему от ММ-части. В случае электронного внедрения частичные заряды ММ-подсистемы вносят вклад в одноэлектронную часть гамильтониана КМ-подсистемы. При этом заряды атомов ММ-части в месте соединения с КМ-частью необходимо либо занулить, либо перераспределить, чтобы они не вызывали излишней поляризации электронной плотности, что может служить отдельным источником проблем с воспроизводимостью расчетов КМ/ММ [35]. При использовании метода потенциалов эффективных фрагментов добавляется дополнительный поляризационный член в гамильтониан квантовой подсистемы. Процесс параметризации эффективных фрагментов достаточно сложный и, как правило, метод используется для описания молекул растворителя. При описании ферментативных реакций наибольшее распространение получил вариант электронного внедрения.

Для расчета энергии методом КМ/ММ существуют два подхода: схема вычитания и схема сложения. В схеме вычитания КМ/ММ энергия всей системы определяется как сумма энергии, рассчитанной в рамках силовых полей для всей системы, и энергии, рассчитанной квантовохимическим методом для КМ-подсистемы, за вычетом энергии КМ-подсистемы, рассчитанной с помощью классических силовых полей. Эта схема требует полного набора параметров силового поля для КМ-подсистемы, что не всегда возможно, в особенности, когда субстрат – сложная органическая молекула, параметризация которой является отдельной задачей. Более распространена схема сложения, в которой расчет в рамках классической механики выполняется только для ММ-подсистемы, а энергия всей системы представляется как сумма классической энергии ММ-подсистемы, энергии КМ-подсистемы, рассчитанной квантовохимическим методом, и еще одного слагаемого, которое включает энергию взаимодействия между двумя подсистемами.

Построение энергетических профилей

В большинстве задач определения механизмов ферментативных реакций необходимо построение энергетических профилей всех элементарных стадий. До недавнего времени эти расчеты сводились к поиску равновесных геометрических параметров, соответствующих минимумам на

поверхности потенциальной энергии, а также переходных состояний их соединяющих. Отметим, что из-за большого числа слагаемых при расчете полной энергии системы, небольшие изменения в схеме расчета, например, вызванной сменой программы, могут привести к изменению энергетических характеристик [35], что затрудняет сопоставление результатов, полученных разными программами, а также делает такие методы пригодными, скорее для полуколичественной и качественной оценок энергетических характеристик реакции.

Развитие вычислительной техники и программных кодов привело к значительному ускорению квантовохимических расчетов. Таким образом, стали возможны не только расчеты стационарных точек на поверхности потенциальной энергии, но и проведение молекулярно-динамических расчетов, в которых на каждом шаге интегрирования требуется расчет сил, действующих на каждую частицу. Длины траекторий при расчете методом молекулярной динамики с классическими и КМ/ММ потенциалами различаются на порядки. Для классических траекторий типичными временами являются сотни наносекунд и микросекунды, для траекторий с КМ/ММ-потенциалами – единицы и десятки пикосекунд при одном и том же шаге интегрирования в 1 фемтосекунду. Это как раз и связано с вычислительными затратами расчета сил в КМ-части. При расчете траекторий классической молекулярной динамики основной интерес представляет конформационная подвижность всей белковой макромолекулы, тогда как в молекулярной динамике КМ/ММ проводится анализ геометрических параметров в локальной области – активном центре фермента, что объясняет достаточность коротких траекторий. В последние годы метод молекулярной динамики с КМ/ММ-потенциалами стал активно использоваться для расчета профилей энергии Гиббса ферментативных реакций [36–39]. Эти методы предполагают расчет траекторий с дополнительным гармоническим потенциалом, центрированным на разных значениях координаты реакции и, при необходимости, с разными константами жесткости. Полученные распределения координат реакции далее статистически обрабатываются с помощью метода взвешенных гистограмм или термодинамического интегрирования [40], что позволяет восстановить форму энергетического профиля.

Программные реализации

На сегодняшний день существует довольно много программных реализаций метода КМ/ММ.

В одном из популярных бесплатных программных пакетов NWChem [41] полностью реализованы расчеты энергий и сил квантовой и классической подсистем, а также их взаимодействие. Такой вариант, скорее, является нетипичным для нынешней траектории развития этой области. Гораздо большую популярность получили программные реализации, позволяющие комбинировать программы квантовой химии с программами молекулярной механики и предоставляющие модули или скрипты, которые обеспечивают их взаимодействие. Одним из таких вариантов является ChemShell [42], который использует библиотеку DL-FIND [43] для проведения оптимизации, поиска переходных состояний, конических пересечений и других процедур, связанных с использованием градиентов энергии и других характеристик топологии поверхности потенциальной энергии для решения требуемой задачи. При этом сам ChemShell осуществляет взаимодействие между этой библиотекой, программами классической и квантовой механики. Большим преимуществом такого подхода является возможность использования различных программ квантовой химии в зависимости от требуемого квантовохимического метода и эффективности его реализации в той или иной программе. Эта часть расчетов является наиболее затратной и зачастую выбор программного пакета с наилучшим кодом может сократить время расчета на порядок.

В последнее время, с развитием методов молекулярной динамики с КМ/ММ-потенциалами стали активно разрабатываться интерфейсы, позволяющие проводить молекулярно-динамические расчеты в популярных программах классической молекулярной динамики, при этом на каждом шаге интегрирования использовать данные о силах, действующих на каждый атом КМ-подсистемы из сторонней квантовохимической программы за счет нативной интеграции или оберточных скриптов. Это дает возможность использовать разнообразный функционал, накопленный в программах классической молекулярной динамики, таких как NAMD [44] и GROMACS [45].

Развитие методов КМ/ММ на примере реакции гидролиза ГТФ комплексом малой ГТФазы с белком-ускорителем

Для иллюстрации развития методов КМ/ММ рассмотрим конкретную задачу определения механизма реакции гидролиза ГТФ-комплексом малой ГТФазы и белка-ускорителя. Отметим сразу, что схожих систем достаточно много,

малыми ГТФазами могут быть белки Ras, Ran, Arl3 и др., а ускорителями – GAP, NF1, RP2 и др. [10–14]. Ниже будет представлено сравнение нескольких работ, выполненных в разное время в лаборатории квантовой химии и молекулярного моделирования химического факультета МГУ по изучению механизма гидролиза ГТФ различными белковыми комплексами. В 2005 г. была опубликована работа по изучению механизма реакции гидролиза ГТФ-комплексом Ras-GAP [10]. Для ее описания использовали оригинальный интерфейс, позволяющий проводить расчеты КМ/ММ с потенциалами эффективных фрагментов [46], при этом энергии и силы в ММ-подсистеме рассчитывали с помощью программы TINKER [47], а в КМ-подсистеме – в программе PC GAMESS (позднее переименованной в Firefly [48]), частично основанной на программном коде GAMESS US [49]. Уровень развития вычислительной техники в тот момент не позволял выделять большие КМ-подсистемы, поэтому в упомянутой работе она состояла всего из 43 атомов и описывалась методом Хартри–Фока с небольшим базисом 6-31G, не содержащим поляризационных функций; в КМ-подсистему входили лишь трифосфатная группа ГТФ, каталитическая молекула воды, катион магния, боковые цепи аминокислотных остатков Arg789 и Gln61 (рисунок). Выбранный размер КМ-подсистемы является минимально возможным, поскольку включает лишь часть субстрата, заряженные фрагменты аминокислотных остатков, наиболее сильно поляризующие реакционную область, функциональную группу аминокислотного остатка Gln61 (непосредственно участвующего в химических трансформациях), а также каталитическую молекулу воды. Вся модельная система включала при этом около 1700 атомов и состояла из молекулярных фрагментов, расположенных на расстояния ~ 10 Å от активного центра. Такие расчеты не могли претендовать на хорошее количественное согласие с экспериментом, но позволили корректно качественно описать механизм.

Позднее, в 2015 г. были проведены повторные расчеты, но в модельную систему уже входил весь белковый комплекс малой ГТФазы и белка-ускорителя GAP целиком, а также несколько сольватных оболочек, окружающих этот комплекс, всего около 8000 атомов [11]. Размер КМ-подсистемы был значительно увеличен до ~ 90 атомов и включал также полную координационную сферу катиона магния, аминокислотные остатки и молекулы воды, образующие водородные связи в реакционной области. Развитие возможностей вычис-

лительной техники позволило применить метод Кона–Шэма с гибридным функционалом PBE0 и базисный набор с поляризационными функциями на всех атомах. Влияние ММ-подсистемы на КМ-подсистему осуществлялось за счет добавления в одноэлектронную часть гамильтониана слагаемых, содержащих частичные заряды атомов ММ-части, т.е. электронное внедрение. Построение профиля поверхности потенциальной энергии и последующий расчет констант скорости элементарных стадий по теории переходного состояния позволил рассчитать эффективную константу скорости, которая полностью согласовывалась с экспериментальными данными. Однако стоит отметить, что такое хорошее согласие – скорее случайность, потому что типичные ошибки метода КМ/ММ составляют несколько ккал/моль, а каждая 1 ккал/моль приводит к ошибке расчета константы скорости в ~ 5 раз при комнатной температуре.

Более поздние расчеты для комплексов малых ГТФаз с белками-ускорителями выполняли с помощью метода молекулярной динамики с потенциалами КМ/ММ [12–14]. Применение метода молекулярной динамики предполагает использование периодических граничных условий, а значит и модельная система должна представлять собой прямоугольный параллелепипед, поэтому полный размер системы в этих задачах составлял 50 000–70 000 атомов в зависимости от конкретного комплекса. Развитие вычислительной техники также позволило расширить еще больше размер КМ-части до ~ 150 атомов. Молекулярно-динамические расчеты позволили существенно детализировать процесс и более полно его охарактеризовать.

Заключение

Методы КМ/ММ являются основными для описания механизмов ферментативных реакций. Многие методологические и технические вопросы уже решены, но даже использование готовых программных продуктов требует высокой квалификации исследователя и не переходит в стадию «черного ящика». Появление алгоритмов быстрого расчета энергий и сил, а также развитие вычислительной техники позволило перейти от оптимизаций геометрических параметров стационарных точек на поверхности потенциальной энергии к расчетам профилей энергии Гиббса через молекулярно-динамические траектории, что позволяет учитывать конформационную подвижность активного центра и получать более информативную картину химической реакции в молекулярных моделях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Warshel A., Levitt M. // *J. Mol. Biol.* 1976. Vol. 103. P. 227 (DOI: 10.1016/0022-2836(76)90311-9).
2. Senn H.M., Thiel W. // *Angew. Chemie Int. Ed.* 2009. Vol. 48. P. 1198 (DOI: 10.1002/anie.200802019).
3. Lin H., Truhlar D.G. // *Theor. Chem. Acc.* 2007. Vol. 117. P. 185 (DOI: 10.1007/s00214-006-0143-z).
4. van der Kamp M.W., Mulholland A.J. // *Biochemistry.* 2013. Vol. 52. P. 2708 (DOI: 10.1021/bi400215w).
5. Kamerlin S.C.L., Warshel A. // *WIREs Comput. Mol. Sci.* 2011. Vol. 1. P. 30 (DOI: 10.1002/wcms.10).
6. Kamerlin S.C.L., Warshel A. // *Faraday Discuss.* 2010. Vol. 145. P. 71 (DOI: 10.1039/B907354J).
7. Grigorenko B.L. et al. // *J. Phys. Chem. A.* 2002. Vol. 106. P. 10663 (DOI: 10.1021/jp026464w).
8. Немухин А.В. и др. // *Вестн. Моск. Ун-та. Химия* 2010, Т. 51, С. 427 (Nemukhin A.V. et al. // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2010. Vol. 65. P. 355 (DOI: 10.3103/S0027131410060039).
9. Vennelakanti V. et al. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2022. Vol. 72. P. 9 (DOI: 10.1016/j.sbi.2021.07.004).
10. Topol I.A. et al. // *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics.* 2004. Vol. 1700. P. 125 (DOI: 10.1016/j.bbapap.2004.04.007).
11. Khrenova M.G. et al. // *J. Phys. Chem. B.* 2015. Vol. 119. P. 12838 (DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b07238).
12. Khrenova M.G. et al. // *Molecules.* 2021. Vol. 26. P. 3998 (DOI: 10.3390/molecules26133998).
13. Khrenova M.G., Grigorenko B.L., Nemukhin A.V. // *ACS Catal.* 2021. Vol. 11. P. 8985 (DOI: 10.1021/acscatal.1c00582).
14. Polyakov I., Nemukhin A. // *Biophysica.* 2023. Vol. 3. P. 373 (DOI: 10.3390/biophysica3020025).
15. Best R.B. et al. // *J. Chem. Theory Comput.* 2012. Vol. 8. P. 3257 (DOI: 10.1021/ct300400x).
16. Cornell W.D. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 1995. Vol. 117. P. 5179 (DOI: 10.1021/ja00124a002).
17. Robertson M.J., Tirado-Rives J., Jorgensen W.L. // *J. Chem. Theory Comput.* 2015. Vol. 11. P. 3499 (DOI: 10.1021/acs.jctc.5b00356).
18. Jorgensen W.L. et al. // *J. Chem. Phys.* 1983. Vol. 79. P. 926 (DOI: 10.1063/1.445869).
19. Oostenbrink C. et al. // *J. Comput. Chem.* 2004. Vol. 25. P. 1656 (DOI: 10.1002/jcc.20090).
20. Stewart J.J.P. // *J. Comput. Chem.* 1989. Vol. 10. P. 209 (DOI: 10.1002/jcc.540100208).
21. Stewart J.J.P. // *J. Mol. Model.* 2007. Vol. 13. P. 1173 (DOI: 10.1007/s00894-007-0233-4).
22. Dewar M.J.S. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 1985. Vol. 107. P. 3902 (DOI: 10.1021/ja00299a024).
23. Mardirossian N., Head-Gordon M. // *Mol. Phys.* 2017. Vol. 115. P. 2315–2372 (DOI: 10.1080/00268976.2017.1333644).
24. Khrenova M.G., Tsirelson V.G., Nemukhin A.V. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2020. Vol. 22. P. 19069 (DOI: 10.1039/D0CP03560B).
25. Chéron N., Jacquemin D., Fleurat-Lessard P. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2012. Vol. 14. P. 7170 (DOI: 10.1039/c2cp40438a).
26. Vydrov O.A. et al. // *J. Chem. Phys.* 2006. Vol. 125, 074106 (DOI: 10.1063/1.2244560).
27. Mezei P.D., Csonka G.I., Kállay M. // *J. Chem. Theory Comput.* 2017. Vol. 13. P. 4753 (DOI: 10.1021/acs.jctc.7b00550).
28. Adamo C., Barone V. // *J. Chem. Phys.* 1999. Vol. 110. P. 6158 (DOI: 10.1063/1.478522).
29. Mardirossian N. // *J. Chem. Phys.* 2015. Vol. 142. P. 074111 (DOI: 10.1063/1.4907719).
30. Grimme S. et al. // *J. Chem. Phys.* 2010. Vol. 132. P. 154104 (DOI: 10.1063/1.3382344).
31. Pérez-Barcia Á. et al. // *J. Chem. Inf. Model.* 2023. Vol. 63. P. 882 (DOI: 10.1021/acs.jcim.2c01184).
32. Kulik H.J. et al. // *J. Phys. Chem. B.* 2016. Vol. 120. P. 11381 (DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b07814).
33. Pieri E. et al. // *J. Chem. Theory Comput.* 2019. Vol. 15. P. 4535 (DOI: 10.1021/acs.jctc.9b00221).
34. Zlobin A., Belyaeva J., Golovin A. // *J. Chem. Inf. Model.* 2023. Vol. 63. P. 546 (DOI: 10.1021/acs.jcim.2c01071).
35. Giudetti G. et al. // *J. Chem. Theory Comput.* 2022. Vol. 18. P. 5056 (DOI: 10.1021/acs.jctc.2c00286).
36. Grigorenko B.L. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 2023. Vol. 145. P. 13204 (DOI: 10.1021/jacs.3c02229).
37. Khrenova M.G., Kulakova A.M., Nemukhin A. V. // *J. Chem. Inf. Model.* 2021. Vol. 61. P. 1215 (DOI: 10.1021/acs.jcim.0c01308).
38. Shilova S.A. et al. // *Molecules.* 2023. Vol. 28. P. 2109 (DOI: 10.3390/molecules28052109).
39. Polyakov I.V. et al. // *Mendeleev Commun.* 2022. Vol. 32. P. 739 (DOI: 10.1016/j.mencom.2022.11.010).
40. Kästner J., Thiel W. // *J. Chem. Phys.* 2005. Vol. 123. P. 144104 (doi:10.1063/1.2052648).
41. Aprà E. et al. // *J. Chem. Phys.* 2020. Vol. 152. P. 184102 (DOI: 10.1063/5.0004997).
42. Metz S. et al. // *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* 2014. Vol. 4. P. 101 (doi:10.1002/wcms.1163).
43. Kästner J. et al. // *J. Phys. Chem. A.* 2009. Vol. 113. P. 11856 (doi:10.1021/jp9028968).
44. Melo M.C.R. et al. // *Nat. Methods. NIH Public Access,* 2018. Vol. 15. P. 351 (DOI: 10.1038/nmeth.4638).
45. Abraham M.J. et al. // *SoftwareX.* 2015. Vol. 1–2. P. 19 (DOI: 10.1016/j.softx.2015.06.001).
46. Nemukhin A.V. et al. // *J. Comput. Chem.* 2003. Vol. 24. P. 1410 (DOI: 10.1002/jcc.10309).
47. Rackers J.A. et al. // *J. Chem. Theory Comput.* 2018. Vol. 14. P. 5273 (DOI: 10.1021/acs.jctc.8b00529).
48. Granovsky A.A. *Firefly version 8.0. 0.* 2014.
49. Schmidt M.W. et al. // *J. Comput. Chem.* 1993. Vol. 14. P. 1347 (DOI: 10.1002/jcc.540141112).

Информация об авторах

Хренова Мария Григорьевна – профессор кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, вед. науч. сотр. Института биохимической физики Н.М. Эмануэля РАН (mkhrenova@lcc.chem.msu.ru);

Кулакова Анна Михайловна – доцент кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, мл. науч. сотр. Института биохимической физики Н.М. Эмануэля РАН (kulakova@lcc.chem.msu.ru);

Мулашкина Татьяна Игоревна – аспирант лаборатории квантовой химии и молекулярного моделирования кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, мл. науч. сотр. Института биохимической физики Н.М. Эмануэля РАН (mulashkinati@my.msu.ru);

Поляков Игорь Вадимович – ст. науч. сотр. лаборатории квантовой химии и молекулярного моделирования кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, мл. науч. сотр. Института биохимической физики Н.М. Эмануэля РАН (polyakoviv@my.msu.ru)

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

Статья поступила в редакцию 30.10.2023;
одобрена после рецензирования 12.11.2023;
принята к публикации 14.11.2023.