

СТРУКТУРА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 539.26

КВАЗИАТОМИСТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К МОДЕЛИРОВАНИЮ ЛИПОСОМ

© 2020 г. М. В. Петухов^{1,2,*}, П. В. Конарев^{1,3}, Л. А. Дадинова¹, Н. В. Федорова⁴,
П. Е. Вольнский⁵, Д. И. Свергун⁶, О. В. Батищев², Э. В. Штыкова¹

¹ Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

² Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Россия

³ Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

⁴ Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ, Москва, Россия

⁵ Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

⁶ Европейская лаборатория молекулярной биологии, филиал в Гамбурге, Гамбург, Германия

* E-mail: maxim@embl-hamburg.de

Поступила в редакцию 22.10.2019 г.

После доработки 22.10.2019 г.

Принята к публикации 24.10.2019 г.

Малоугловое рентгеновское рассеяние является одним из важных структурных инструментов исследования биологических мембран, но интерпретация данных рассеяния остается трудной задачей. В большинстве случаев анализ позволяет определить некоторые структурные параметры и профиль электронной плотности липидных бислоев, но методы, дающие более подробную информацию, например, о структурной организации везикул, еще не были предложены. В работе представлен подход, позволяющий определить основные интегральные характеристики липосом с помощью малоуглового рассеяния. При таком подходе квазиатомная модель липосомы строится из отдельных липидных молекул, образующих сферу или полый эллипсоид. Метод реализован в компьютерной программе, проверен на экспериментальных данных малоуглового рентгеновского рассеяния и предлагается для использования при анализе структуры липидных везикул и их взаимодействий с белками.

DOI: 10.31857/S0023476120020198

ВВЕДЕНИЕ

Замкнутые липидные везикулы – липосомы – являются удобной и широко распространенной модельной системой как для исследования структуры липидного бислоя биологических мембран, так и для изучения взаимодействий белки–липиды. Особую важность липосомы представляют в вопросе изучения структуры трансмембранных белков, поскольку позволяют создавать для таких белков условия, наиболее близкие к нативным. К трансмембранным белкам относятся ионные каналы и насосы, транспортеры, рецепторы и многие другие белки, выполняющие жизненно важные клеточные функции, включающие поддержание градиентов веществ между клеткой и внеклеточной средой, передачу сигналов, поддержание трансмембранного электрического потенциала и многое другое [1]. Примерно 30% генома человека кодирует мембранные белки [2]. Тем не менее знания о структуре таких белков весьма ограничены, особенно когда речь идет об их визуализации в естественной для них среде, т.е. в липидном бислое [3]. Любые трансмембран-

ные белки содержат в своей структуре достаточно протяженные гидрофобные участки, в нативных условиях располагающиеся в области углеводородных хвостов липидов клеточных мембран, и поэтому нерастворимы в воде. Для исследования структуры белков, содержащих трансмембранные фрагменты, а также для сохранения их правильной функциональной активности такие белки необходимо помещать в модельную систему, имитирующую липидный матрикс биологических мембран [4–7]. Самыми простыми из подобных систем являются мицеллы липидов или молекул детергентов, закрывающие гидрофобные участки трансмембранных белков от контакта с водой. Однако мицеллы не являются естественным липидным окружением белков и поэтому в ряде случаев могут приводить к их денатурации [8]. Успешными решениями в области создания модельных систем для выделения и исследования трансмембранных белков являются липидные нанодиски, представляющие собой участки липидного бислоя, стабилизированные липополипротеинами или сополимерами стирола и малеиновой кислоты [9]. Но наиболее проста и макси-

мально приближена к условиям живой клетки модельная система, основанная на формировании сферических липидных везикул — липосом [10–15], несомненное преимущество которых состоит в том, что их липидный бислой может иметь любой состав. Он позволяет моделировать присущую клеточным мембранам асимметрию липидного состава по монослоям. Ввиду простоты получения и универсальности липосомы используются для изучения взаимодействий белки–липиды методами малоуглового рассеяния, флуоресцентной микроскопии, ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и многими другими методами [16, 17].

Метод малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) широко используется для определения структуры и формы липидных везикул [18–24]. Были предложены методы параметризации профилей плотности длины рассеяния [25–27] и структуры липидных бислоев [28–30], способы сопоставления данных рентгеновского и нейтронного (МУРН) малоуглового рассеяния (МУРР/МУРН) [31, 32] и даже представлены модель профиля атомной плотности и статистический подход для вычисления структурных характеристик липидных бислоев из данных МУРР и МУРН [33], в том числе с учетом возможности асимметрии состава липидного бислоя везикул [34].

Несмотря на отмеченные успехи в структурных исследованиях модельных липидных мембран методами малоуглового рассеяния, всесторонняя интерпретация полученных данных остается нетривиальной проблемой, особенно в случае многокомпонентных липосом сложного липидного состава. Еще более сложной, но более значимой задачей является получение структурной информации о комплексах и взаимодействиях белки–липиды. В настоящее время нет структурных исследований методом МУРР, предлагающих модели взаимодействия белков с липидными мембранами. В целом детальное описание систем с сильно неоднородным составом и сложной внутренней структурой (что особенно верно для липосом со встроенными трансмембранными белками) требует знаний морфологии образца либо независимых дополнительных структурных данных.

В настоящей работе представлен новый подход к структурному анализу липосом, который основан на квазиатомистическом моделировании с использованием липидных строительных блоков и допускает изучение несферических везикул. Метод был апробирован на экспериментальных данных МУРР для липосом, но он может быть применен для структурных исследований других систем, в том числе для изучения структуры встроенных в мембраны или взаимодействующих с ними трансмембранных, периферических и других белков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В работе исследовали липосомы, приготовленные из смеси 90% диолеоилфосфатидилхолин (ДОФХ)/10% диолеоилфосфатидилсерин (ДОФС) в хлороформе (Sigma, США) в концентрации 10 мг/мл. Оба липида приобретены у Avanti Polar Lipids, США. Липосомы готовили путем вакуумной сушки липидного раствора в течение 1 ч и последующего ресуспензирования в рабочий буферный раствор (NaCl концентрацией 100 мМ, MES концентрацией 50 мМ, pH 7.0) до конечной концентрации липидов 2 мг/мл. После тщательного встряхивания суспензии в течение 10 мин ее экструдировали через две поликарбонатные мембраны с порами диаметром 100 нм [35]. Для дальнейших экспериментов МУРР использовали только свежеприготовленные суспензии липосом.

Молекулярная динамика. Чтобы найти репрезентативную структуру молекул ДОФХ для моделирования липосом, было выполнено моделирование бислоя ДОФХ при 310 К методами молекулярной динамики (МД) с помощью программы Gromacs 5.12 [36]. При моделировании использовали силовое поле Slipids [37] для молекулы ДОФХ и tip3p [38] для воды. Исходный монослой (10 × 10 молекул) был построен путем репликации молекулы ДОФХ в направлениях x и y со смещением 0.8 нм. Затем два монослоя соединили, сохраняя расстояние 4 нм между атомами фосфора разных слоев. Бислой помещали в середину бокса размером 8 × 8 × 8 нм и сольватировали. Энергия полученной системы была минимизирована с помощью алгоритма наискорейшего спуска (10000 шагов). Затем систему уравнивали, используя метод МД, длительность 1 нс при постоянной температуре 310 К (ν -масштабный термостат) и давлении 1 атм., контролируемых баростатом Берендсена, в полуизотропном режиме с шагом интегрирования 1 фс. Траектория длительностью 100 нс была рассчитана с аналогичными параметрами, за исключением шага интеграции 2 фс и использования баростата Парринелло–Рахмана. Уравнивание бислоя анализировали путем оценки его толщины и площади поверхности на один липид. Чтобы найти пару липидов, репрезентативных для бислоя ДОФХ, число контактов (пара атомов на расстоянии менее 0.6 нм) между тяжелыми атомами молекул из разных слоев было рассчитано с помощью созданного программного обеспечения. Затем пару молекул с максимальным числом контактов использовали для генерации липосом.

Эксперимент и анализ данных МУРР. Исследование структуры липосом с помощью малоуглового рассеяния синхротронного излучения проводили на синхротроне Petra III (DESY, EMBL, Гамбург) на линии P12 [39]. Линия P12 оснащена

оборудованием для автоматической смены образцов и двумерным детектором Pilatus 2M (фирма DECTRIS, Швейцария). Интенсивность рассеяния $I(s)$ измерена в области значений волновых векторов $0.03 < s < 6.0 \text{ нм}^{-1}$, где $s = (4\pi \sin \theta) / \lambda$, 2θ – угол рассеяния, длина волны $\lambda = 0.124 \text{ нм}$.

Растворы липосом (2 мг/мл) в NaCl концентрацией 100 мМ, буфере MES концентрацией 50 мМ измеряли при 283 К. Время экспозиции одного образца 20 кадров по 0.05 с каждый. При сравнении временных кадров радиационного повреждения зафиксировано не было. Первичные данные МУРР были обработаны программой PRIMUS [40] из пакета ATSAS [41] по стандартным процедурам. Данные были нормализованы на интенсивность первичного пучка, вклад рассеяния буфером был вычтен.

Программа ELLIP разработана для построения квазиатомистических моделей липосом эллиптической формы. Два смежных липида, полученные методом МД, используются при моделировании в качестве двух отдельных строительных блоков. Генерируются две квазиоднородные угловые сетки с произвольным, заданным пользователем числом осей для наружной и внутренней мембран липосомы. Затем два липида выравниваются по этим осям и располагаются на внутренней и внешней поверхностях заданного эллипсоида с полуосями A , B , C . Программа позволяет рандомизировать положения липидов. В результате их центры дополнительно смещаются вдоль соответствующего направления для учета флуктуаций положения отдельных молекул липидов в бислое липосом в растворе. Отметим, что программу можно использовать не только для липидных объектов, но и для других бислоевых систем, состоящих из различных амфифильных молекул.

Программу CRY SOL [42] применяли для скрининга отдельных моделей эллипсоидов, чтобы найти оптимальное согласие с экспериментальными данными МУРР, минимизируя невязку χ^2 :

$$\chi^2 = \frac{1}{N-1} \sum_j \left[\frac{I_{\text{exp}}(s_j) - c I_{\text{calc}}(s_j)}{\sigma(s_j)} \right]^2, \quad (1)$$

где N – число экспериментальных точек, $I_{\text{exp}}(s_j)$ и $\sigma(s_j)$ – экспериментальные интенсивности и их ошибки, $I_{\text{calc}}(s_j)$ – вычисленная интенсивность из модели, c – шкалирующий множитель.

Для анализа полидисперсности использована программа OLIGOMER [40]. При определении объемных фракций v_k каждого компонента смеси программа находит линейную комбинацию интенсивностей рассеяния для каждого компонента $I_k(s)$. В этом случае интенсивность рассеяния $I(s)$ описывается уравнением

$$I(s) = \sum_{k=1}^K (v_k I_k(s)). \quad (2)$$

Программа OLIGOMER использует алгоритм неотрицательных линейных наименьших квадратов, чтобы минимизировать невязку χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Профиль малоуглового рассеяния для липосом показан на рис. 1а. Кривая демонстрирует широкий пик в диапазоне волновых векторов $0.5\text{--}2.5 \text{ нм}^{-1}$, который соответствует одному бислою везикулы. Данные проанализированы с помощью подхода ELLIP для квазиатомистического моделирования. Чтобы проверить и проиллюстрировать данный подход, были выбраны кривые рассеяния для образца с содержанием 90% ДОФХ и 10% ДОФС (рис. 1а, кривая I). Эта система имеет два компонента одинакового размера (молекулярная длина 2.8 нм) и для простоты может быть представлена в виде липосомы, изготовленной исключительно из ДОФХ (добавление второй молекулы просто увеличит произвольность и время моделирования без каких-либо дополнительных полезных выводов).

Полная атомная модель одной липидной молекулы ДОФХ была использована для построения пробных трехмерных моделей полой эллипсоидальной формы. Чтобы найти репрезентативную структуру пары молекул ДОФХ для конструирования липосом, было проведено МД-моделирование двухслойного ДОФХ (рис. 2). Две молекулы ДОФХ использованы для построения наружного и внутреннего монослоев липосомы. Множество копий каждой молекулы выровнено по двум разрозненным пространственным сеткам квазиоднородных угловых направлений для каждой слоя. Для заданных параметров целевого геометрического тела, т.е. внешних полуосей эллипсоида A_{out} , B_{out} , C_{out} (внешней поверхности эллипсоида), каждый строительный блок смещен вдоль соответствующего направления таким образом, чтобы периферийные атомы (его головная группа) лежали на поверхности заданной геометрической формы. Это означает, например, что координаты X , Y , Z головки строительного блока внешнего слоя соответствуют соотношению $(X/A_{\text{out}})^2 + (Y/B_{\text{out}})^2 + (Z/C_{\text{out}})^2 = 1$. Количество направлений во внешней оболочке выбрано таким образом, чтобы площадь поверхности на липид составляла 0.64 нм^2 (аналогично плотности в плоском липидном бислое). Полуоси внутренней поверхности связаны с полуосями внешнего слоя ($A_{\text{in}} = A_{\text{out}} - 2\Delta$, $B_{\text{in}} = B_{\text{out}} - 2\Delta$, $C_{\text{in}} = C_{\text{out}} - 2\Delta$), где Δ – полуширина бислоя. По умолчанию количество направлений во внутренней оболочке N_{in} связано с количеством направлений во внешней

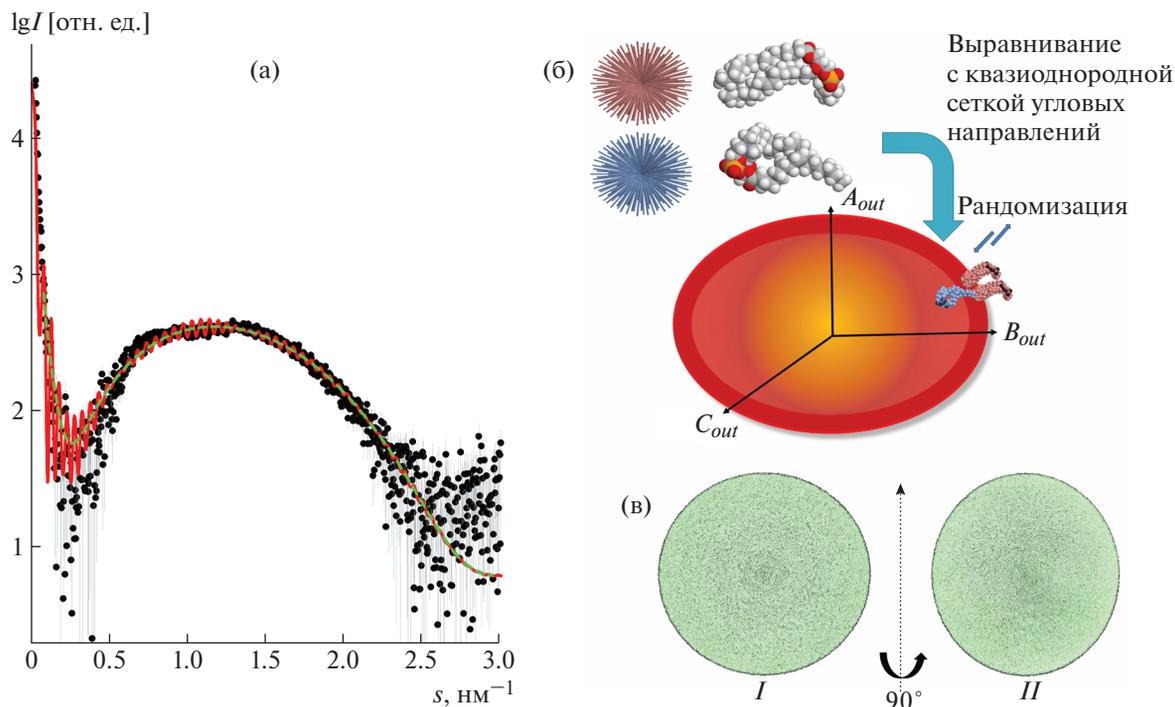


Рис. 1. Квазиатомистичное моделирование по данным МУРР в растворе липосом (а): экспериментальные кривые малоуглового рассеяния (точки), расчетная кривая атомистичного эллипсоида (сплошная линия), приближенная кривая эллипсоида после применения окна Хэмминга (штриховая линия). Схематичное изображение построения квазиэллипсоидальной липосомы, составленной из атомных моделей ДОФХ (б). Эллипсоидальная модель липосомы ДОФХ в ван-дер-ваальсовом представлении (в): вид II – поворот на 90° вокруг вертикальной оси.

оболочке N_{out} как их объемы, так что $N_{in} = N_{out}((A - \Delta)(B - \Delta)(C - \Delta) - (A - 2\Delta)(B - 2\Delta)(C - 2\Delta))/(ABC - (A - \Delta)(B - \Delta)(C - \Delta))$. Чтобы учесть возможную переменную ширину бислоя и незна-

чительные структурные нарушения, вызванные флуктуациями положения липидных молекул в бислое липосом в растворе, положение центра было дополнительно рандомизировано в пределах 1 нм в направлении, перпендикулярном эллипсоидальной поверхности (рис. 1б).

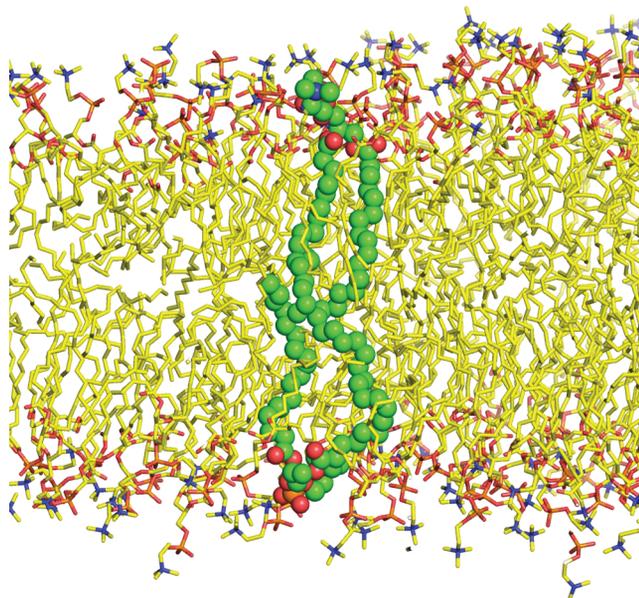


Рис. 2. Результат моделирования с помощью метода МД структуры бислоя ДОФХ. Сферами помечена пара липидов, выбранных для построения эллипсоидальной липосомы.

Эллипсоиды с полуосями A_{out} , B_{out} и C_{out} в диапазоне от 45 до 80 нм с шагом 1 нм сконструированы с помощью программы ELLIP. Скрининг множества моделей по данным рассеяния позволил получить приближение (рис. 1а, кривая 2) с невязкой $\chi^2 = 3.65$ для модели с полуосями $A_{out} = 62$, $B_{out} = 59$, $C_{out} = 55$ нм и рандомизацией 0.8 нм (рис. 1в). Количество молекул во внешней и внутренней сетке составляло 67548 и 63284 соответственно.

Кривые рассеяния, рассчитанные по квазиатомным моделям, дают заметные искусственные колебания благодаря идеальным полым формам с периодом, соответствующим среднему размеру частиц. Эти колебания можно устранить, применив окно Хемминга [43], которое включает в себя процедуру усреднения за этот период. Для настоящей модели эллипсоида полуширина окна $\Delta s = 0.107$ нм (содержащая $N = 40$ точек данных и соответствующая 59 нм, т.е. среднему значению полуосей эллипсоида) была выбрана так, чтобы веса точек сетки окна были оценены с помощью фор-

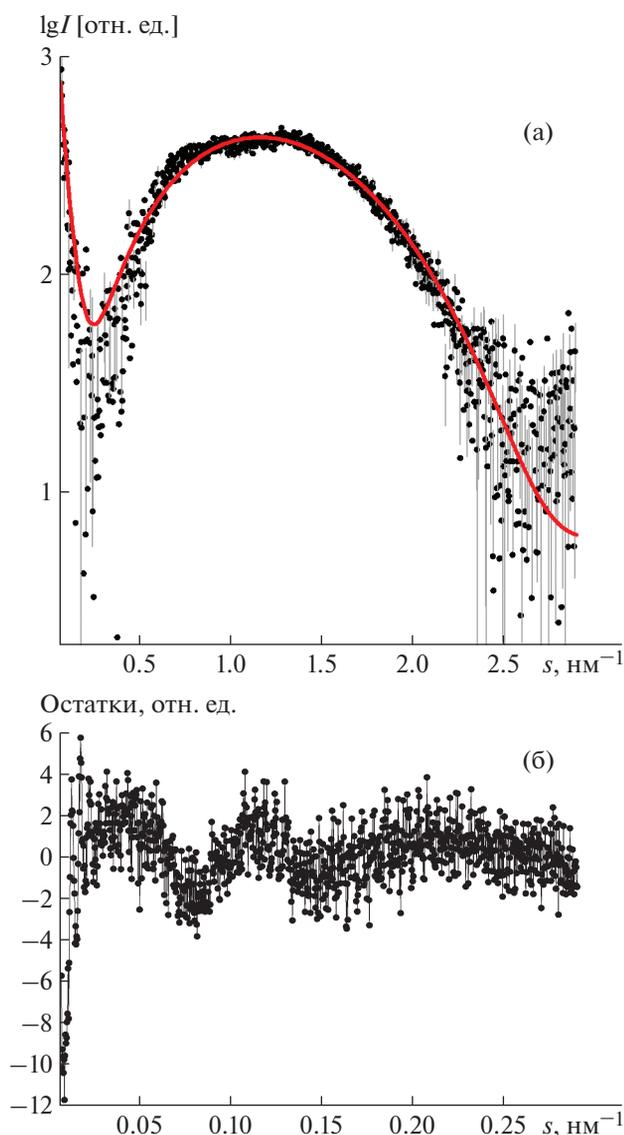


Рис. 3. Квазиатомистическое структурное моделирование по данным МУРР с применением окна Хемминга (а): точки — экспериментальные данные, сплошная линия — расчетный профиль после фильтра Хемминга. Взвешенные остатки приближения (б).

мулы $w(n) = 0.54 - 0.46\cos(2\pi n/N)$, $0 \leq n \leq N$. Кривая с фильтром Хемминга дает дальнейшее улучшение соответствия экспериментальным данным с $\chi^2 = 1.72$ (рис. 3а, 3б).

Квазиатомистический подход может также применяться для полидисперсных систем путем генерации нескольких моделей с помощью программы ELLIP и приближения экспериментальных данных их линейной комбинацией. В настоящем исследовании в качестве примера программа OLIGOMER [40] была запущена многократно с четырьмя различными наборами формфакторов для моделирования полидисперсности. Получен-

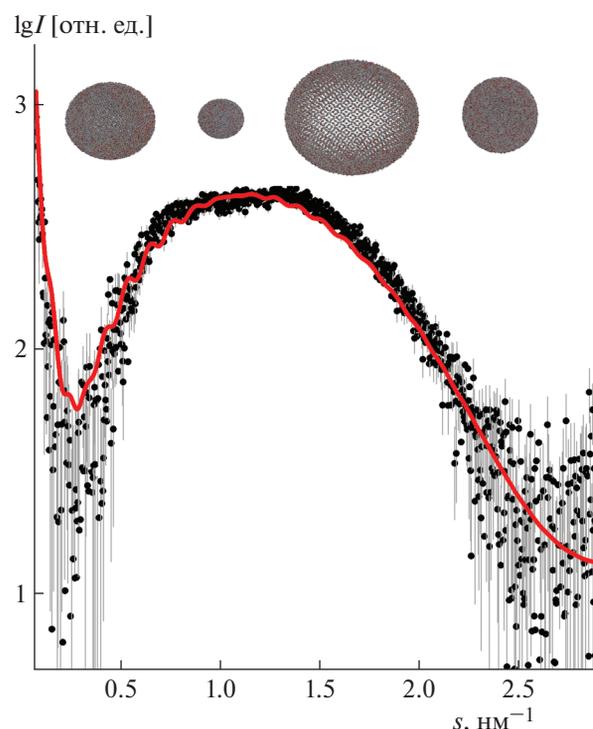


Рис. 4. Квазиатомистическое структурное моделирование на основе данных МУРР в полидисперсном сценарии: точки — экспериментальные данные, сплошная линия — профиль рассеяния в смеси. На вставке — четыре наиболее значимых компонента смеси, моделирующих полидисперсность: слева направо показаны оптимальный эллипсоид (объемная доля, $v_k = 0.7$), меньший в 2 раза эллипсоид ($v_k = 0.22$), больший эллипсоид ($v_k = 0.04$) и сфера ($v_k = 0.04$).

ные объемные доли были равны 0.7 для лучшего эллипсоида, найденного ранее, 0.22 для в 2 раза меньшего эллипсоида, 0.04 для в 1.5 раза более крупного эллипсоида и 0.04 для сферы с радиусом 60 нм. Это дало несколько лучшее соответствие экспериментальным данным (рис. 4, кривая 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Текущее и гидратированное состояния липидных мембран затрудняют их изучение структурными методами высокого разрешения, такими как кристаллография и ЯМР. В связи с этим методы рассеяния, такие как МУРР, позволяющие проводить исследования в растворе, становятся мощным инструментом изучения как чисто липидных везикул [44], так и содержащих белок протеолипосом [45].

В настоящем исследовании описан новый инструмент структурной характеристики липидных везикул по данным МУРР с помощью трехмерного атомистического моделирования. При объединении моделирования методами МД с данными малоуглового рассеяния был разработан квази-

томистический подход (программа ELLIP) и представлена первая модель липосомы, непосредственно рассчитанная из атомистической структуры молекул липидов. Предлагаемый подход может быть применим к различным системам липосом и протеолипосом и служить инструментом для структурных исследований в области липидомики и для анализа других бислойных систем, состоящих из различных амфифильных молекул. Программа ELLIP доступна в программном пакете ATSAS 3.0 (<https://www.embl-hamburg.de/biosaxs/download.html>).

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках государственного задания ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН и Института физической химии и электрохимии им. Фрумкина РАН, Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 18-54-74001 EMBL Т, № КОМФИ 17-00-00487 и № КОМФИ 17-00-00488) и Президиума РАН (грант № АААА-А16-11605110081-7). Эксперименты МУРР проводились при частичной поддержке iNEXT (проект № 7363).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Whitelegge J.P.* // *Anal. Chem.* 2013. V. 85. № 5. P. 2558.
2. *Martin J., Sawyer A.* // *Biotechniques.* 2019. V. 66. № 4. P. 167.
3. *Maslennikov I., Choe S.* // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2013. V. 23. № 4. P. 555.
4. *Page R.C., Li C., Hu J. et al.* // *Magn. Reson. Chem.* 2007. V. 45. P. S2.
5. *White S.H., Jacobs R.E.* // *J. Membr. Biol.* 1990. V. 115. № 2. P. 145.
6. *Overington J.P., Al-Lazikani B., Hopkins A.L.* // *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2006. V. 5. № 12. P. 993.
7. *Oluwole A.O., Klingler J., Danielczak B. et al.* // *Langmuir.* 2017. V. 33. № 50. P. 14378.
8. *Bordag N., Keller S.* // *Chem. Phys. Lipids.* 2010. V. 163. № 1. P. 1.
9. *Bayburt T.H., Sligar S.G.* // *FEBS Lett.* 2010. V. 584. № 9. P. 1721.
10. *Pautot S., Frisken B.J., Weitz D.A.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. № 19. P. 10718.
11. *Hamada T., Miura Y., Komatsu Y. et al.* // *J. Phys. Chem. B.* 2008. V. 112. № 47. P. 14678.
12. *Cheng H.T., Megha L.E., London E.* // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 10. P. 6079.
13. *Cheng H.T., London E.* // *Biophys. J.* 2011. V. 100. № 11. P. 2671.
14. *Chiantia S., London E.* // *Biophys. J.* 2012. V. 103. № 11. P. 2311.
15. *Elani Y., Purushothaman S., Booth P.J. et al.* // *Chem. Commun.* 2015. V. 51. № 32. P. 6976.
16. *Batishchev O.V., Shilova L.A., Kachala M.V. et al.* // *J. Virol.* 2016. V. 90. № 1. P. 575.
17. *Heberle F.A., Marquardt D., Doktorova M. et al.* // *Langmuir.* 2016. V. 32. № 20. P. 5195.
18. *Feigin L.A., Svergun D.I.* *Structure Analysis by Small-Angle X-Ray and Neutron Scattering.* New York: Plenum Press, 1987. 335 p.
19. *Kucerka N., Nieh M.-P., Katsaras J.* // *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes.* 2010. V. 12. P. 201.
20. *Kucerka N., Liu Y., Chu N. et al.* // *Biophys. J.* 2005. V. 88. № 4. P. 2626.
21. *Narayanan T., Gummel J., Gradzielski M.* // *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes.* 2014. V. 20. P. 171.
22. *Narayanan T., Weerakkody D., Karabadzhak A.G. et al.* // *J. Phys. Chem. B.* 2016. V. 120. № 44. P. 11484.
23. *Pabst G., Kucerka N., Nieh M.P. et al.* // *Chem. Phys. Lipids.* 2010. V. 163. № 6. P. 460.
24. *Marquardt D., Heberle F.A., Nickels J.D. et al.* // *Soft Matter.* 2015. V. 11 № 47. P. 9055.
25. *Riske K.A., Amaral L.Q., Lamy-Freund M.T.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2001. V. 1511. № 2. P. 297.
26. *King G.I., Jacobs R.E., White S.H.* // *Biochemistry.* 1985. V. 24. № 17. P. 4637.
27. *Pencer J., Hallett F.R.* // *Phys. Rev. E.* 2000. V. 61. № 3. P. 3003.
28. *Wiener M.C., White S.H.* // *Biophys. J.* 1992. V. 61. № 2. P. 434.
29. *Pabst G., Rappolt M., Amenitsch H., Laggner P.* // *Phys. Rev. E.* 2000. V. 62. № 3. P. 4000.
30. *Nagle J.F., Tristram-Nagle S.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. V. 1469. № 3. P. 159.
31. *Klauda J.B., Kucerka N., Brooks B.R. et al.* // *Biophys. J.* 2006. V. 90. № 8. P. 2796.
32. *Kucerka N., Nagle J.F., Sachs J.N. et al.* // *Biophys. J.* 2008. V. 95. № 5. P. 2356.
33. *Fogarty J.C., Arjunwadkar M., Pandit S.A., Pan J.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2015. V. 1848. № 2. P. 662.
34. *Brzustowicz M.R., Brunger A.T.* // *J. Appl. Cryst.* 2005. V. 38. P. 126.
35. *Shilova L.A., Knyazev D.G., Fedorova N.V. et al.* // *Biochemistry (Moscow).* 2017. V. 11. № 3. P. 225.
36. *Abraham M.J., Murtola T., Schulz R. et al.* // *SoftwareX.* 2015. V. 1. P. 19.
37. *Jambeck J.P., Lyubartsev A.P.* // *J. Phys. Chem. B.* 2012. V. 116. № 10. P. 3164.
38. *Jorgensen W.L., Chandrasekhar J., Madura J.D. et al.* // *J. Chem. Phys.* 1983. V. 79. P. 926.
39. *Blanchet C.E., Spilotros A., Schwemmer F. et al.* // *J. Appl. Cryst.* 2015. V. 48. № 2. P. 431.
40. *Konarev P.V., Volkov V.V., Sokolova A.V. et al.* // *J. Appl. Cryst.* 2003. V. 36. P. 1277.
41. *Chan Y.H., Boxer S.G.* // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2007. V. 11. № 6. P. 581.
42. *Svergun D.I., Barberato C., Koch M.H.J.* // *J. Appl. Cryst.* 1995. V. 28. P. 768.
43. *Oppenheim A.V., Schaffer R.W., Buck J.R.* *Discrete-Time Signal Processing.* Upper Saddle River, NJ.: Prentice Hall, 1999. 870 p.
44. *Heberle F.A., Pan J., Standaert R.F. et al.* // *Eur. Biophys. J.* 2012. V. 41. № 10. P. 875.
45. *Kontro I., Wiedmer S.K., Hynonen U. et al.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1838. № 8. P. 2099.