

СТРУКТУРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЦИАНОАКРИЛАТОВ С ТУБУЛИНОМ РАСТЕНИЙ

Структурные механизмы, обуславливающие специфическое связывание соединений цианоакрилатной природы тубулином высших растений, исследованы на примере взаимодействия этил-(2Z)-3-амино-2-циано-4-этилгекса-2-еноата (CA1) и изопропил-(2Z)-3-амино-2-циано-4-этилгекса-2-еноата (CA2) с α -тубулином *Arabidopsis thaliana*. Выявлено, что цианогруппа в составе цианоакрилатов является функциональным аналогом нитрильной группы, определяющей процессы специфического взаимодействия с тубулином растений у динитроанилиновых соединений. На основании данных флуктуации пространственной структуры, динамики водородных связей и энергии взаимодействия CA1 и CA2 выявлен наиболее вероятный тип связывания этих соединений с растительным α -тубулином и охарактеризован соответствующий сайт взаимодействия. При этом 7 из 10 остатков в составе этого сайта (Глн-133, Асн-249, Вал-250, Асп-251, Вал-252, Асн-253 и Глу-254) являются облигатными компонентами сайта связывания динитроанилинов на поверхности α -тубулина растений. Таким образом, охарактеризованный нами сайт связывания на поверхности α -тубулина способен распознавать и специфически связывать вещества, кардинально отличные по своей химической природе и не имеющие общих фармакофорных групп, при условии определенного сходства их электростатической топологии.

Ключевые слова: тубулин, цианоакрилаты, специфическое взаимодействие, механизмы связывания, электростатическая топология.

Введение. Интерес исследователей к гербицидной активности производных цианоакрилатов, открытой более 30 лет назад [1], особенно усилился в последнее десятилетие. Начиная с 2003 г., на основе производных цианоакрилатов, содержащих изоксазольные заместители, создан целый ряд эффективных, коммерчески значимых гербицидов [2, 3]. Постулируется, что гербицидная активность большинства из них базируется на способности ингибировать транспорт электронов в реакционном центре фотосистемы II [1, 4]. Однако у некоторых цианоак-

рилатных соединений, в частности у этил-(2Z)-3-амино-2-циано-4-этилгекса-2-еноата (CA1) и изопропил-(2Z)-3-амино-2-циано-4-этилгекса-2-еноата (CA2) (рис. 1), выявлен совершенно иной механизм гербицидного действия: подобно динитроанилиновым и фосфоамидным соединениям эти вещества обладают способностью эффективно разрушать микротрубочки растительной клетки [5]. Как известно, в силу фундаментального свойства молекул тубулина – основного белка микротрубочек – специфическим образом связывать низкомолекулярные соединения различной природы, система микротрубочек является своеобразным «узким местом» в ответе эукариотической клетки на воздействие многих типов химических веществ [6–8]. Именно α - или β -субъединицы тубулина являются мишенями для широкого спектра коммерчески значимых препаратов, которые используются в качестве фунгицидов, гербицидов, противоопухолевых, антипротозойных и противогельминтных средств [8–10]. Следствием такого высокоспецифического взаимодействия является либо разрушение, либо необратимая стабилизация микротрубочек [6–8, 10, 11].

Устойчивость к антитубулиновым веществам в общем случае обусловлена единичными аминокислотными заменами [9, 12, 13]. Такие замены в белке локализованы в непосредственной близости от сайтов связывания соединений, устойчивость к которым они вызывают [13]. В связи с этим нельзя не отметить тот факт, что аминокислотные замены в положении 239 молекулы α -тубулина, которые обуславливают появление биотипов, устойчивых к динитроанилиновым гербицидам у гусяной травы (*Eleusine indica* L. Gaerth.) [14, 15] и щетинника зеленого (*Setaria viridis* L. Beauv.) [16], также являются причиной устойчивости к CA1 и CA2 у модельного растения резушки Таля (*Arabidopsis thaliana* L.) и упомянутой гусяной травы [5]. С высокой вероятностью можно предположить,

что оба класса соединений имеют общий сайт связывания на поверхности растительного α -тубулина. Учитывая, что в составе динитроанилинов и цианоакрилатов отсутствуют общие структурные компоненты, детальное исследование структурных механизмов взаимодействия цианоакрилатов с молекулами α -тубулина представляет несомненный интерес, причем как с теоретической (углубленное понимание закономерностей формирования на поверхности белков сайтов специфического связывания низкомолекулярных веществ), так и с прикладной (разработка гербицидов с повышенной селективностью) точек зрения, что, собственно, и определило конечную цель настоящего исследования.

Материалы и методы. Промодели пространственной структуры соединений этил-(2Z)-3-амино-2-циано-4-этилгекса-2-еноата (CA1) и изопропил-(2Z)-3-амино-2-циано-4-этилгекса-2-еноата (CA2), а также соответствующие им файлы топологии были реконструированы с помощью веб-инструмента PRODRG (<http://davarpl.bioch.dundee.ac.uk/prodrng/>) [17]. Электронные свойства CA1 и CA2, в том числе значения частичных зарядов на атомах, рассчитаны неэмпирическим методом функционала плотности M062x [18] с использованием базового набора 6-31 + g(d,p). Пространственная структура цианоакрилатов оптимизирована при помощи упомянутого метода M062x/6-31+g(d,p) с применением алгоритма Берни [19]. Рассчитанные значения частичных зарядов использованы для модификации соответствующих файлов топологии.

Оптимизированные структуры CA1 и CA2 применяли для реконструкции их комплексов с молекулой α 1-тубулина *A. thaliana*. Пространственная структура этого белка, использованная в качестве мишени связывания цианоакрилатов, реконструирована и описана в на-

шей предыдущей работе [20]. Последовательность α 1-тубулина *A. thaliana* содержит 450 аминокислотных остатков, депонирована в банке аминокислотных последовательностей Uniprot (www.uniprot.org), номер доступа P11139.

Исходное позиционирование лигандов в сайте взаимодействия на поверхности α -тубулина осуществляли с помощью метода мультикопийного одновременного поиска [21]. Оптимизацию геометрии комплексов CA1 и CA2 с α -тубулином производили путем минимизации потенциальной энергии при помощи метода L-BFGS [22] посредством употребления модуля *mdrun* программного обеспечения GROMACS 4.0.3 [23]. Для этого использовали силовое поле GROMACS, максимальное количество шагов оптимизации составляло 1000. Критериями сходимости выступали принятые по умолчанию значения максимальной силы на атомах $emtol = 10 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{нм}^{-1}$ и максимальной длины шага 0,01 нм. Все расчеты проводили в эксплицитном (реальном) водном окружении. Для этого вокруг комплексов цианоакрилатов с α -тубулином генерировали периодические боксы размером $7.25700 \times 7.13400 \times 7.91200 \text{ нм}^3$ (модуль *editconf*), которые заполнялись молекулами воды (модуль *genbox* программного обеспечения GROMACS). Максимальный размер исследуемой системы составлял 38 374 атома.

Оптимизированные комплексы вовлекались в расчеты ограниченной (position restrained) молекулярной динамики в интервале 20 пс и неограниченной молекулярной динамики (МД) в интервале 12 нс при температуре 300 К. Исходные скорости генерировали согласно распределению Максвелла-Больцмана при температуре 300 К. Для интегрирования уравнений движения использовали классический leap-frog алгоритм [24], для учета электростатических взаимодействий — метод сети частиц Эваль-

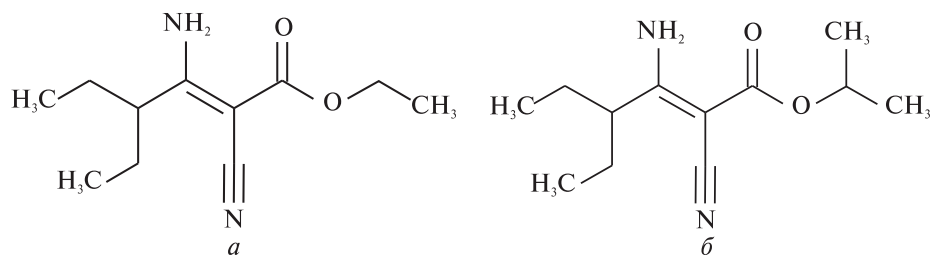


Рис. 1. Структуры цианоакрилатов CA1 (а) и CA2 (б)

да [25], для учета Ван-дер-ваальсовых взаимодействий — метод радиусов отсечения. Температуру в системе стабилизировали с помощью термостата масштабирования скоростей [26]. Сообщения об ошибках и недопустимых стericких параметрах исследуемых систем на протяжении процедур расчета отсутствовали.

Для последующей количественной оценки энергии связывания рассчитали молекулярную динамику цианоакрилатных соединений в сольватированном состоянии. Процедура расчета молекулярной динамики сольватированных цианоакрилатов была такой же, как при расчете комплексов «тубулин — цианоакрилат», за исключением размера периодического бокса, в который помещали исследуемые соединения — $2.52500 \times 2.72800 \times 2.44900$ нм³ для CA1 и $2.60200 \times 2.79000 \times 2.58100$ нм³ для CA2.

Флуктуации структуры соединений в составе комплексов оценивали при помощи метода rho [27] с использованием модуля *g_rms* программного обеспечения GROMACS. Энергии взаимодействия рассчитывали в виде разности невалентных вкладов в потенциальную энергию цианоакрилатов в свободном (сольватированном) и связанном с белком состоянии (модуль *g_energy* программного обеспечения GROMACS). Динамику водородных связей рассчитывали с помощью модуля *g_hbond*.

Визуализацию структурных данных осуществляли с применением программного обеспечения Accelrys DS Vizualiser (версии 2.0 и 3.5) (www.accelrys.com).

Результаты исследований и их обсуждение.

В структуре исследованных молекул цианоакрилатов содержатся три компонента, обладающих выраженными отрицательными значениями электростатического потенциала. К ним относятся атом азота в составе цианогруппы, атом кислорода при двойной связи сложноэфирной группы и атом азота в составе аминогруппы (рис. 2, см. вклейку). Потенциальная важность этих компонентов для специфического взаимодействия с молекулой растительного α -тубулина обусловлена следующими соображениями. Ранее нами установлено, что ключевой составляющей сайта связывания динитроанилинов на поверхности α -тубулина является положительно заряженная полость, расположенная в области интердимерного контакта

между субъединицами тубулина [28–30]. Эта область служит местом связывания нитрильной группы в составе динитроанилиновых (а также фосфоамидных) соединений, которая в свою очередь характеризуется ярко выраженными отрицательными значениями частичных зарядов на атомах кислорода и, как следствие, отрицательным электростатическим потенциалом в целом. Таким образом, если динитроанилины и цианоакрилаты имеют общий сайт связывания на поверхности молекулы тубулина, то критическую роль в процессе связывания должен играть именно отрицательно заряженный структурный компонент в составе молекулы цианоакрилата [28–30]. Нитрильных групп в составе исследуемых представителей цианоакрилатов не имеется.

Из трех отрицательно заряженных компонентов в составе исследуемых цианоакрилатов аминогруппа представляется маловероятным кандидатом на роль ключевого компонента распознавания в силу того, что отрицательно заряженный атом азота в составе этой группы экранируется атомами водорода, которые несут положительные заряды. В результате общий электростатический потенциал группы оказывается положительным. Согласно результатам мультикопийного позиционирования лигандов в сайте взаимодействия атом кислорода при двойной связи сложноэфирной группы во всех случаях оказывается ориентированным наружу, а не внутрь полости взаимодействия. Следовательно, он тоже не может являться решающим фактором в процессах взаимодействия цианоакрилатов с α -тубулином.

Таким образом, наиболее вероятным структурным компонентом цианоакрилатов, определяющим характер взаимодействия этих соединений с молекулой α -тубулина растений, является отрицательно заряженный азот цианогруппы, которая в данном случае выступает функциональным аналогом нитрильной группы, определяющей процессы специфического взаимодействия с тубулином растений у динитроанилиновых, равно как и фосфоамидных соединений [28–30].

Результаты позиционирования и последующего расчета молекулярной динамики цианоакрилатов в сайте взаимодействия позволили выявить две альтернативные ориентации лиган-

дов, которые соответствуют двум возможным типам связывания этих соединений молекулой α -тубулина. В первом варианте цианогруппа ориентирована внутрь сайта связывания и вовлечена в формирование водородных связей с несколькими аминокислотными остатками, расположенными в глубине сайта (рис. 3). Во втором варианте цианогруппа расположена практически параллельно молекулярной поверхности белка и формирует водородные связи с остатками, экспонированными на поверхности, в частности с Арг-2 в случае СА1 (рис. 4).

Сайт связывания СА1 при взаимодействии по типу I состоит из аминокислотных остатков Глн-133, Асн-249, Вал-250, Асп-251, Вал-252, Асн-253, Глу-254, Глн-256, Асн-258, Лей-259. Семь из них, в частности Глн-133, Асн-249, Асп-251, Асн-253, Глу-254, Глн-256 и Асн-258, являются остатками, которые принимают непосредственное участие в формировании продольного контактного интерфейса с β -субъединицей соседнего димера [31]. Атом азота цианогруппы в составе СА1 участвует в формировании четырех водородных связей — с водородами амидных групп аминокислот Вал-252, Асн-253 и Глу-254, а также с водородом боковой аминогруппы Асн-253. Кроме того, две водородные связи формируются с участием водородов в составе аминогруппы цианоакрилата — с кислородом карбоксильной группы Глу-254 и кислородом карбонильной группы Глн-256.

Сайт связывания СА2 при взаимодействии по типу I за небольшими исключениями схож по аминокислотному составу с аналогичным сайтом СА1. В частности, в его составе отсутствуют два остатка глутамина (в положениях 133 и 256) и присутствуют остатки лейцина и фенилаланина в положениях 248 и 256 соответственно. Два последних остатка принимают участие в формировании поверхности продольного контакта между субъединицами тубулина [31]. Азот цианогруппы СА2 также формирует четыре водородные связи, совпадающие со связями у СА1, однако водородные атомы аминогруппы не вовлечены в образование водородных связей. Следует отметить, что ряд остатков, принимающих участие в связывании цианоакрилатов по типу I, а именно Глн-133, Асн-249, Вал-250, Асп-251, Вал-252,

Асн-253 и Глу-254, являются облигатными компонентами сайта связывания динитроанилинов молекулой α -тубулина растений [30].

При взаимодействии по типу II сайт связывания СА1 сформирован остатками Арг-2, Глн-133, Лиз-164, Сер-165, Асп-251, Асн-253 и Глу-254 (рис. 4). Меньшее количество аминокислот в этом случае связано с особенностями ориентации лиганда в сайте взаимодействия и существенно его меньшей погруженностью внутрь белковой молекулы по сравнению с взаимодействием по типу I. Азот цианогруппы формирует три водородные связи: две — с водородами боковой аминогруппы Арг-2 и одну — с водородом боковой амидной группы Глн-133. Кроме того, водороды аминогруппы СА1 вовлечены в формирование водородных связей с кислородами карбоксильных групп Асп-251 и Глу-254 (рис. 4). Сайт связывания СА2 при взаимодействии по типу II резко отличается по своему составу как от сайта связывания СА2 первого типа, так и от сайта связывания СА1 второго типа. Он состоит из аминокислотных остатков Гли-246, Ала-247, Лей-248, Асн-249, Асн-258, Лиз-352, Цис-353, Гли-354, Иле-355, Тир-357 (рис. 4). Таким образом, из аминокислотных остатков, встречающихся в составе других сайтов связывания (как цианоакрилатов, так и динитроанилинов), в состав этого сайта входит только один — аспарагин в положении 249. Перемещение лиганда в новое положение происходит достаточно плавно, тенденция к отделению от белка на протяжении 12 нс интервала времени не наблюдается (что, впрочем, справедливо и для остальных трех случаев). Азот цианогруппы формирует три водородные связи: две — с водородами основной и боковой амидной группы Асн-249 и одну — с водородом боковой аминогруппы Лиз-352. Кроме того, одна водородная связь формируется с участием водорода аминогруппы СА2 и кислорода основной цепи остатка Цис-353. Из аминокислот контактного интерфейса в сайтах связывания типа II присутствуют Глн-133, Асп-251, Асн-253 и Глу-254 в случае СА1 и Ала-247, Лей-248, Асн-249 и Асн-258 в случае СА2.

Флуктуации структуры цианоакрилатов при связывании по типу I проявляют четкую тенденцию к стабилизации на определенном уровне

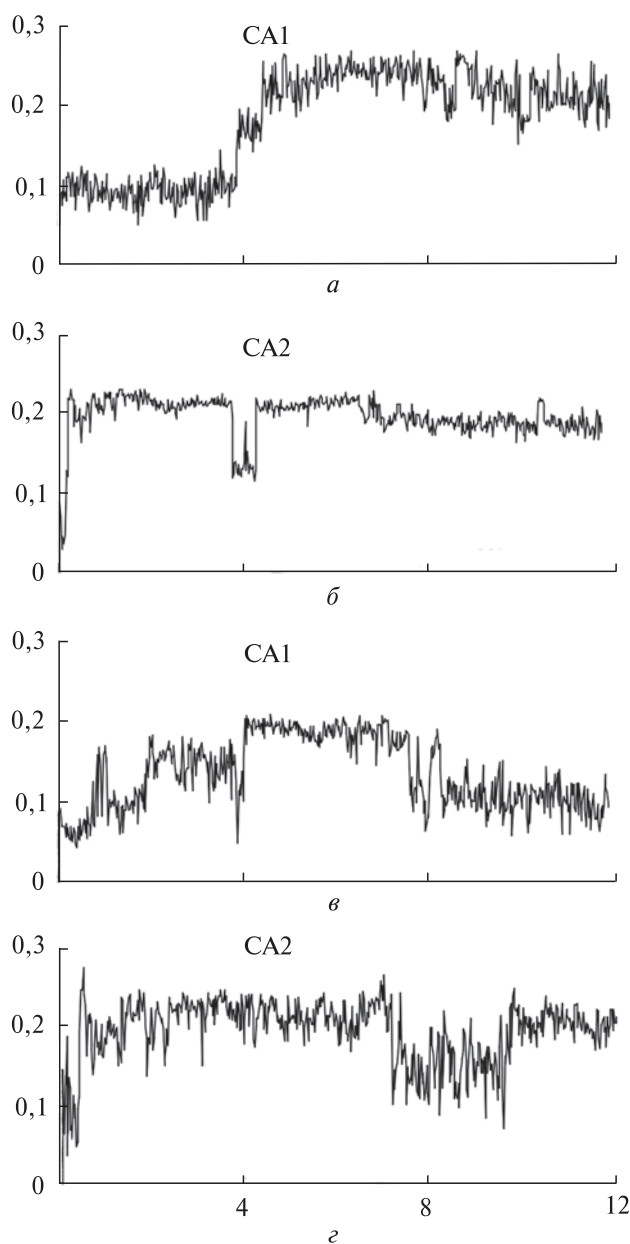


Рис. 5. Флуктуации пространственной структуры цианоакрилатных соединений в комплексе с α -тубулином *A. thaliana*: а, б – тип связывания I; в, г – тип связывания II; по вертикали – среднеквадратические отклонения, нм; по горизонтали – время, нс

не, что свидетельствует о достаточной устойчивости такого связанного состояния. Стабилизация флуктуаций происходит в районе 5-й наносекунды в случае CA1 (путем двухступенчатого перехода, рис. 5, а) и в районе 4-й нано-

секунды в случае CA2 (рис. 5, б). Напротив, флуктуации структуры цианоакрилатов, связанных по типу II, не обнаруживают четкой тенденции к какой бы то ни было стабилизации. Они скорее говорят о последовательных переходах от одной конформации лиганда к другой, что может свидетельствовать о неустойчивости таких состояний. Никакие видимые корреляции между поведением соединений CA1 (рис. 5, в) и CA2 (рис. 5, г) при связывании типа II не наблюдаются, что представляется вполне закономерным с учетом того, что в этом случае исследуемые соединения фактически имеют разные сайты связывания, перекрываясь лишь по одной аминокислоте. Отметим также, что средние значения среднеквадратических отклонений по разным траекториям находятся в пределах от 1,3 до 2 Å, что в свою очередь свидетельствует о корректности исходной геометрии комплексов «тубулин – цианоакрилат».

Исследованные комплексы демонстрируют также различную динамику формирования/разрушения водородных связей между молекулой α -тубулина и связанными молекулами цианоакрилатов. В случае взаимодействия по первому типу на диаграммах изменения количества водородных связей четко локализованы средние их значения – порядка 5 для CA1 (рис. 6, а) и 4 для CA2 (рис. 6, б), что является дополнительным свидетельством в пользу устойчивости этих комплексов во времени. Напротив, диаграммы для комплексов второго типа достаточно размыты, количество водородных связей изменяется в весьма широких пределах – от 1 до 7 в случае CA1 (рис. 6, в) и от 0 (!) до 7 в случае CA2 (рис. 6, г), что подтверждает изложенный тезис о неустойчивости пространственной структуры цианоакрилатов в комплексах второго типа и возможной нестабильности самих комплексов.

Наиболее существенно отличия двух типов взаимодействия цианоакрилатов с молекулой α -тубулина проявляются в характере изменения потенциальной энергии лигандов, которое происходит в результате связывания. В случае связывания по типу I происходит весьма существенное снижение средних значений потенциальной энергии обоих соединений – на 38,24 ккал/моль для CA1 и на 43,34 ккал/моль для CA2. Такой сдвиг является надежным сви-

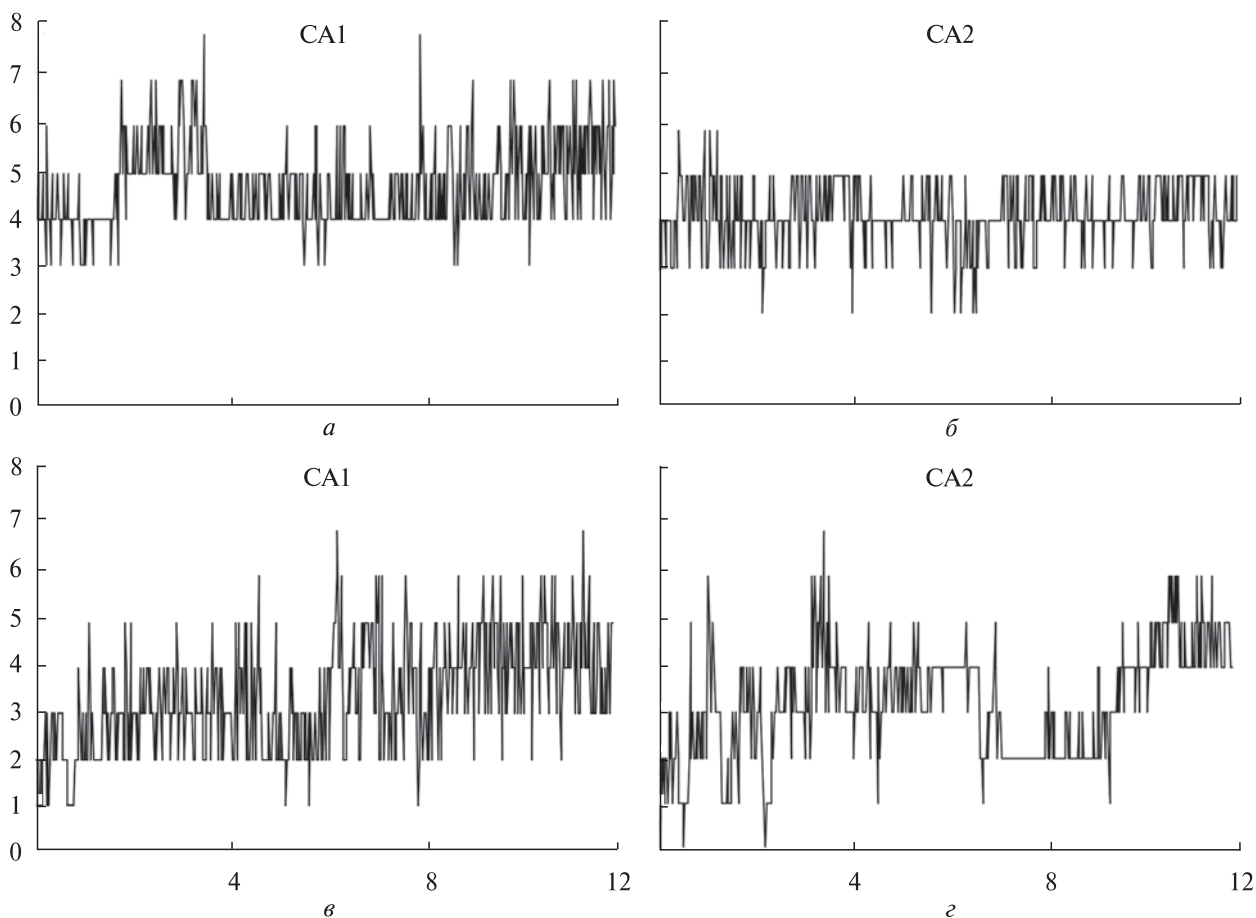


Рис. 6. Изменение количества водородных связей (по вертикали) между цианоакрилатными соединениями и молекулой α -тубулина *A. thaliana* в процессе молекулярной динамики соответствующих комплексов: а, б – тип связывания I; в, г – тип связывания II; по горизонтали – время, нс

детельством стабильного комплексообразования. Снижение потенциальной энергии при связывании CA1 по типу II является несколько меньшим – 18,9 ккал/моль, что в общем случае тоже может быть достаточным для формирования комплекса между гербицидом и белком. Однако при связывании по второму типу соединения CA2 его энергия уменьшается всего на 2,3 ккал/моль, что явно недостаточно для образования сколь-нибудь устойчивого во времени комплекса.

Таким образом, можно заключить, что универсальным механизмом взаимодействия гербицидов цианоакрилатной природы с растительным α -тубулином с высокой долей вероятности является связывание по типу I (рис. 7).

В пользу этого утверждения свидетельствует, во-первых, сходный состав аминокислотно-

го окружения CA1 и CA2 при связывании по типу I. Маловероятно, что соединения, различающиеся исключительно наличием/отсутствием одной метильной группы, которая в данном случае не является определяющей для специфического межмолекулярного распознавания, будут иметь кардинальные отличия сайтов связывания на поверхности молекулы белка. Во-вторых, структура CA1 и CA2 при связывании по типу I достаточно стабильна во времени в противоположность значительным перестройкам при взаимодействии по типу II, о чем свидетельствует соответствующая разница в динамике СКО и водородных связей между лигандами и белком. Но едва ли не самым важным является тот факт, что CA1 и CA2 при взаимодействии по типу I имеют близкие по зна-

чению величины энергий связывания, тогда как при взаимодействии по типу II энергии связывания не только сильно отличаются между собой, но и само по себе значение энергии связывания 2,3 ккал/моль в случае CA2 говорит о невозможности существования подобного комплекса. Конечно, нельзя окончательно исключить возможности связывания по типу II соединения CA1, однако его термодинамическая вероятность намного меньше, чем для связывания по типу I.

Суммируя результаты исследования, можно утверждать, что подобно другим «интерактивным» сайтам на поверхности α - и β -субъединиц тубулина (колхициновому, винбластинному/мэйтасиновому, таксановому/эпотилоновому) сайт связывания динитроанилиновых соединений, охарактеризованный в наших предыдущих работах [28–30], способен распознавать и специфически связывать вещества, кардинально отличные по своей химической природе и не имеющие общих фармакофорных групп. Однако соединения, разделяющие сайт взаимодействия на поверхности белка, должны содержать определенные структурные компоненты, которые обладают сходной электростатической топологией и, в конечном счете, являются определяющими в процессе межмолекулярного распознавания (в данном случае таким свойством обладают нитрильная группа динитроанилинов и цианогруппа цианоакрилатов). Вследствие большого объема данных, свидетельствующих в пользу такой гипотезы, можно также предположить, что свойством «мультилигандности» или «мультикомпонентности» в отношении низкомолекулярных органических соединений могут обладать и другие сайты специфического связывания низкомолекулярных лигандов в молекулах тубулинов.

A.Yu. Nyporko, Ya.B. Blume

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine
Institute of Food Biotechnology and Genomics
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv
E-mail: dfnalex@gmail.com

STRUCTURAL MECHANISMS OF INTERACTION OF CYANOACRYLATES WITH PLANT TUBULIN
Structural mechanisms underlying the specific binding of cyanoacrylate compounds with tubulin of higher plants have been studied by example of interaction of ethyl-(2Z)-3-amino-2-cyano-4-ethylhex-2-enoate (CA1) and isopropyl-(2Z)-3-amino-2-cyano-4-ethylhex-2-enoate

(CA2) with *Arabidopsis thaliana* α -tubulin. It was revealed that the cyano group of cyanoacrylates is a functional analog of the nitrile group, which determines the processes of specific interaction with plant tubulin for dinitroaniline compounds. Based on the data of spatial structure fluctuations, dynamics of hydrogen bonds and interaction energy of the CA1 and CA2, the most probable binding mode for these compounds with plant α -tubulin was identified and appropriate site of interaction was characterized. Seven out of 10 residues composing this site (Gln-133, Asn-249, Val-250, Asp-251, Val-252, Asn-253 and Glu-254) are obligatory components of the dinitroanilines' binding site on the plant α -tubulin surface. Thus, the binding site on the α -tubulin surface characterized by us is able to recognize and specifically bind the substances which are cardinally different by their chemical nature and have no common pharmacophore groups, under the condition of a certain similarity of their electrostatic topology.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Huppertz J.L., Phillips J.N., Rattigan B.M. Cyanoacrylates. Herbicidal and photosynthetic inhibitory activity // *Agric. Biol. Chem.* – 1981. – **45**, № 12. – P. 2769–2773.
2. Liu Y., Liu S., Li Y. et al. Synthesis and biological evaluation of arylhydrazinocyanoacrylates and N-aryl pyrazolecarboxylates // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – **19**, № 11. – P. 2953–2956.
3. Liu Y., Cui Z., Liu B. et al. Design, synthesis, and herbicidal activities of novel 2-cyanoacrylates containing isoxazole moieties // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – **58**, № 5. – P. 2685–2689.
4. Huppertz J.L., McFadden H.G., Huber M.-L., McCaffery L.F. Cyanoacrylate inhibitors of photosynthetic electron transport. Structural requirements for inhibitor potency and herbicidal activity // *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals III* / Eds D.R. Baker, J.G. Fenyes, J.J. Steffens. – New York : Maple press, 1992. – P. 186–199.
5. Tresch S., Plath P., Grossmann K. Herbicidal cyanoacrylates with antimicrotubule mechanism of action // *Pest Manag. Sci.* – 2005. – **61**, № 11. – P. 1052–1059.
6. Morejohn L.C., Fosket D.E. The biochemistry of compounds with antimicrotubule activity in plant cells // *Pharm. Ther.* – 1991. – **51**, № 2. – P. 217–230.
7. Correia J.J. Effects of antimetabolic agents on tubulin nucleotide interactions // *Pharm. Ther.* – 1991. – **52**, № 2. – P. 127–147.
8. Correia J.J., Lobert S. Physicochemical aspects of tubulin-interacting antimetabolic drugs // *Curr. Pharm. Design.* – 2001. – **7**, № 13. – P. 1213–1223.
9. Емец А.И., Блюм Я.Б. Устойчивость растений к

- гербицидам с антимиотрубочковым механизмом действия: от природных мутантов до переноса генов // Физиология растений. – 1999. – **46**, № 6. – С. 899–907.
10. Jordan M.A., Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs // Nat. Rev. Cancer. – 2004. – **4**, № 4. – P. 253–265.
 11. Dumontet C. Mechanisms of action and resistance to tubulin binding agents // Exp. Opin. Investig. Drugs. – 2000. – **9**, № 4. – P. 779–788.
 12. Baird W.V., Blume Ya.B., Wick S. Microtubular and cytoskeletal mutants // Plant microtubules: potential for biotechnology / Ed. P. Nick. – Berlin etc.: Springer verlag, 2000. – P. 159–191.
 13. Nyporko A.Yu., Blume Y.B. Spatial distribution of tubulin mutations conferring resistance to antimicrotubular compounds // The Plant Cytoskeleton: a Key Tool for AgroBiotechnology / Eds Y.B. Blume, W.V. Baird, A.I. Yemets, D. Breviario. – Dordrecht : Springer, 2008. – P. 397–417.
 14. Zeng L., Baird W.V. Genetic basis of dinitroaniline herbicide resistance in a highly-resistant biotype of goosegrass (*Eleusine indica*) // J. Heredity. – 1997. – **88**. – P. 427–432.
 15. Anthony R.G., Hussey P.J. Dinitroaniline herbicide resistance and the microtubule cytoskeleton // Trends Plant Sci. – 1999. – **4**, № 3. – P. 112–116.
 16. Delye C., Menchari Y., Michel S., Darmency H. Molecular bases for sensitivity to tubulin-binding herbicides in green foxtail // Plant Physiol. – 2004. – **136**, № 4. – P. 3920–3932.
 17. Schüettelkopf A.W., van Aalten D. M. F. PRODRG: a tool for high-throughput crystallography of protein-ligand complexes // Acta Cryst. – 2004. – **D60**, Pt. 8. – P. 1355–1363.
 18. Zhao Y., Truhlar D.G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functional // Theor. Chem. Acc. – 2008. – **120**, № 1/3. – P. 215–241.
 19. Li X., Frisch M.J. Energy-represented DIIS within a hybrid geometry optimization method // J. Chem. Theory Comput. – 2006. – **2**, № 3. – P. 835–839.
 20. Blume Y.B., Yemets A.I., Sheremet Ya.O. et al. Exposure of beta-tubulin regions defined by antibodies on an *Arabidopsis thaliana* microtubule protofilament model and in the cells // BMC Plant Biol. – 2010. – **10**. – P. 29.
 21. Miranker A, Karplus M. Functionality maps of binding sites: a multiple copy simultaneous search method // Proteins. – 1991. – **11**, № 1. – P. 29–34.
 22. Das B., Meirovitch H., Navon I.M. Performance of hybrid methods for large-scale unconstrained optimization as applied to models of proteins // J. Comput. Chem. – 2003. – **24**, № 10. – P. 1222–1231.
 23. Hess B., Kutzner C., van der Spoel D., Lindhal E. GROMACS 4: algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation // J. Chem. Theory Comput. – 2008. – **4**, № 3. – P. 435–447.
 24. Hockney R.W., Goel S.P., Eastwood J. Quiet high resolution computer models of a plasma // J. Comp. Phys. – 1974. – **14**. – P. 148–158.
 25. Darden T., York D., Pedersen L. Particle mesh Ewald : An Nlog(N) method for Ewald sums in large systems // J. Chem. Phys. – 1993. – **98**, № 12. – P. 10089–10092.
 26. Bussi G., Donadio D., Parrinello M. Canonical sampling through velocity rescaling // J. Chem. Phys. – 2007. – **126**, № 1. – 014101.
 27. Maiorov V.N., Crippen G.M. Size-independent comparison of protein three-dimensional structures // Proteins. – 1995. – **22**, № 3. – P. 273–283.
 28. Ныпорко А.Ю., Емец А.И., Климкина Л.А., Блюм Я.Б. Взаимосвязь чувствительности каллуса *Eleusine indica* к трифлюралину и амипрофосметилу с особенностями взаимодействия этих соединений с тубулином // Физиология растений. – 2002. – **49**, № 3. – С. 459–466.
 29. Blume Ya.B., Nyporko A.Yu., Yemets A.I., Baird W.V. Structural modelling of plant α -tubulin interaction with dinitroanilines and phosphoroamidates // Cell Biol. Int. – 2003. – **27**, № 3. – P. 171–174.
 30. Nyporko A.Yu., Yemets A.I., Brytsun V.N. et al. Structural and biological characterization of the tubulin interaction with dinitroanilines // Cytology and Genetics. – 2009. – **43**, № 4. – P. 267–282.
 31. Nogales E., Whittaker M., Milligan R.A., Downing K.H. High-resolution model of the microtubule // Cell. – 1999. – **96**, № 1. – P. 79–88.

Поступила 29.02.13