

Juin 2002

Modélisation des macromolécules biologiques
Ecole thématique du CNRS, Bordeaux, 2002

Reconnaissance moléculaire et calculs d'énergies libres

Thomas Simonson

Département de Biologie et Génomique Structurales
I.G.B.M.C., C.N.R.S., Strasbourg.

simonson@igbmc.u-strasbg.fr

Contents

0.1	Définition de l'énergie libre	3
0.2	L'énergie libre mesure la stabilité	4
0.3	Formule de perturbation thermodynamique	5
0.4	Formule d'intégration thermodynamique	6
0.5	Calcul séparé de l'énergie et l'entropie	7
0.6	Cycles thermodynamiques	8
0.7	Exemple 1: Transformation d'un atome neutre Ne en ion	9
0.8	Exemple 2: Transformation d'un isoleucine en valine	12
0.9	Exemple 3: Changement conformationnel du butane	14
0.10	Exemple 4: Mutation d'un ligand Asp \rightarrow Asn	16
0.11	Interactions électrostatiques à longue distance	17
0.12	Comparaison avec l'expérience: état standard	18
0.13	Décomposition de l'énergie libre par groupes	20
0.14	Autres exemples	21
0.15	Bibliographie	23

0.1 Définition de l'énergie libre

Pour un système de N particules, décrit par la fonction d'énergie potentielle U , en contact avec un thermostat à la température T , les différentes conformations sont occupées avec la probabilité

$$p(r_1, r_2, \dots, r_N) = \exp[-U(r_1, r_2, \dots, r_N)/kT]/Q, \quad (1)$$

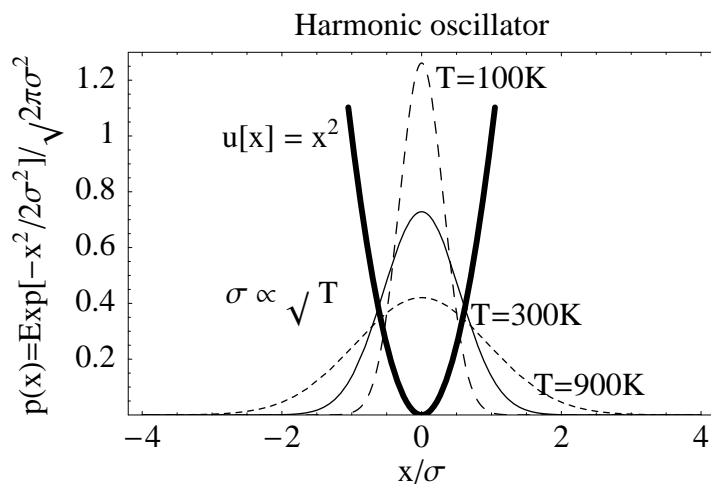
où

$$Q(N, V, T) = \int \exp[-U(r_1, r_2, \dots, r_N)/kT] dr_1 dr_2 \dots dr_N. \quad (2)$$

C'est la distribution de Boltzmann.

Q s'appelle l'intégrale configurationnelle (fonction de N, V, T).

La probabilité (1) décroît exponentiellement avec l'énergie: ce sont les bassins autour des minima d'énergie qui sont peuplés. Quand T augmente, le système passe plus de temps loin des minima d'énergie:



La valeur moyenne d'une quantité X (e.g. force, position) vaut

$$\langle X \rangle = \int X p(r_1, r_2, \dots, r_N) dr_1 \dots dr_N = \int X \exp(-U/kT) dr_1 \dots dr_N / Q.$$

Par définition, l'énergie libre F est

$$F = -kT \ln(Q) + c(N, V, T) = \langle U \rangle - TS.$$

C'est une fonction d'état: elle ne dépend que de N, V, T .

0.2 L'énergie libre mesure la stabilité

Comparons une protéine repliée (espace conformationnel \mathcal{R}) et dépliée (espace conformationnel \mathcal{D}). Les probabilités des deux états sont

$$\begin{aligned} p(\mathcal{R}) &= \int_{\mathcal{R}} \exp[-U(r_1, \dots, r_N)/kT] / Q = \exp(-F_{\mathcal{R}}/kT) \\ p(\mathcal{D}) &= \int_{\mathcal{D}} \exp[-U(r_1, \dots, r_N)/kT] / Q = \exp(-F_{\mathcal{D}}/kT) \end{aligned}$$

Le rapport des populations (ou constante d'équilibre) est

$$K = p(\mathcal{R})/p(\mathcal{D}) = \exp[-(F_{\mathcal{R}} - F_{\mathcal{D}})/kT]$$

D'où la loi d'action de masse:

$$\Delta F(\mathcal{D} \rightarrow \mathcal{R}) = -kT \ln K$$

0.3 Formule de perturbation thermodynamique

La différence d'énergie libre entre deux systèmes A, B, peut s'écrire:

$$\begin{aligned} F_B - F_A &= -kT \ln \frac{Q_B}{Q_A} = -kT \ln \frac{\int \exp(-U_B/kT) dr}{\int \exp(-U_A/kT) dr} \\ &= -kT \ln \frac{\int \exp(-U_A/kT) \exp(-(U_B - U_A)/kT) dr}{\int \exp(-U_A/kT) dr} \\ &= -kT \ln \langle \exp(-(U_B - U_A)/kT) \rangle_A. \end{aligned} \tag{3}$$

$\langle \rangle_A$ est une moyenne d'ensemble avec la fonction d'énergie U_A .

C'est une formule de perturbation: a partir d'une simulation de A, on peut obtenir des informations sur B.

En pratique, il faut généralement subdiviser la transformation $A \rightarrow B$ en n étapes (cf. Fig. 3):

$$F_B - F_A = \sum_{i=0}^{n-1} (F_{i+1} - F_i) = -kT \sum_{i=0}^{n-1} \ln \langle \exp(-(U_{i+1} - U_i)/kT) \rangle_i$$

avec

$$U_i = U_A + \frac{i}{n}(U_B - U_A)$$

0.4 Formule d'intégration thermodynamique

Introduisons une transformation explicite qui fait passer $U = U(r^N; \lambda)$ de

$$U(r^N; \lambda = 0) = U_A(r^N) \quad \text{à} \quad U(r^N; \lambda = 1) = U_B(r^N)$$

quand le paramètre λ passe de 0 à 1. Par exemple:

$$U(r^N; \lambda) = U_A(r^N) + \lambda (U_B(r^N) - U_A(r^N)) \quad (4)$$

On vérifie que

$$\frac{\partial F}{\partial \lambda}(\lambda) = \frac{\int \frac{\partial U(r^N; \lambda)}{\partial \lambda} \exp(-U(r^N; \lambda)/kT) dq}{\int \exp(-U(r^N; \lambda)/kT) dq} = \left\langle \frac{\partial U}{\partial \lambda} \right\rangle_\lambda, \quad (5)$$

d'où

$$F_B - F_A = \int_0^1 \frac{\partial F}{\partial \lambda} d\lambda = \int_0^1 \left\langle \frac{\partial U}{\partial \lambda} \right\rangle_\lambda d\lambda \quad (6)$$

C'est une formule 'd'intégration thermodynamique'.

On calcule la dérivée $\partial F/\partial \lambda$ pour plusieurs valeurs de λ entre 0 et 1, puis on intègre numériquement pour obtenir $F_B - F_A$.

0.5 Calcul séparé de l'énergie et l'entropie

On peut décomposer les différences d'énergies libres obtenues en énergie et entropie:

$$\Delta\langle U \rangle = \langle U_B \rangle_B - \langle U_A \rangle_A.$$

Puis

$$-T\Delta S = \Delta F - \Delta\langle U \rangle.$$

En pratique il faut de longues simulations. En effet, $\langle U_B \rangle_B$ et $\langle U_A \rangle_A$ sont entachés d'erreur statistique, et $\Delta\langle U \rangle$ est obtenu comme une petite différence entre deux grands nombres, provenant de deux simulations différentes: la précision est mauvaise.

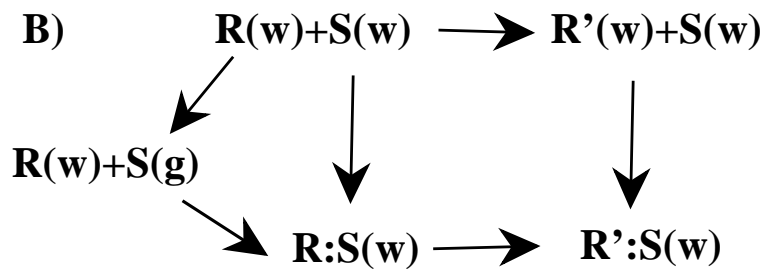
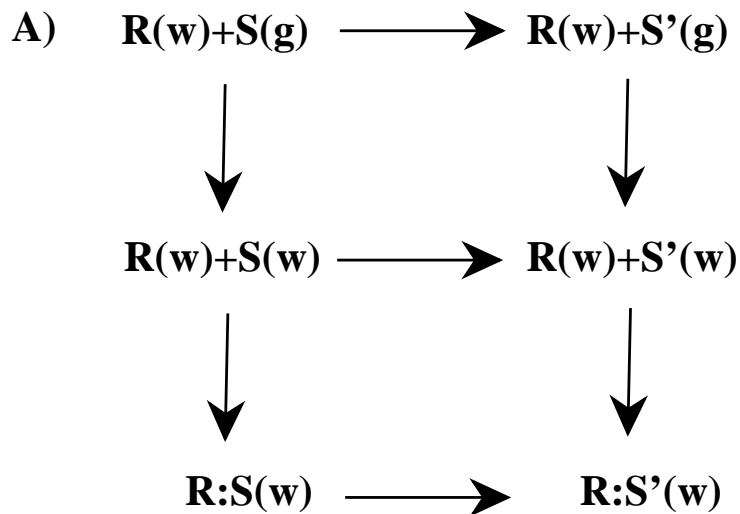
Le calcul de ΔF , par contre, fait intervenir $\langle U_B - U_A \rangle_A$, i.e. on calcule U_B et U_A à partir de la même conformation instantanée, prise dans une même simulation. D'où une 'compensation d'erreur' importante, et une précision meilleure.

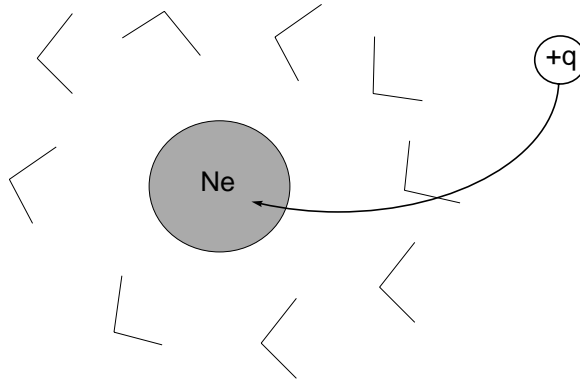
On a aussi une formule d'intégration thermodynamique pour l'entropie (en partant de la relation $S = -\partial F/\partial T$):

$$-kT^2 \frac{\partial S}{\partial \lambda}(\lambda) = \left\langle \frac{\partial U}{\partial \lambda} U \right\rangle_\lambda - \left\langle \frac{\partial U}{\partial \lambda} \right\rangle_\lambda \langle U \rangle_\lambda \quad (7)$$

0.6 Cycles thermodynamiques

Figure 1: **A)** Solutes S and S' in the gas phase (g) and solution (w) and bound to the receptor R in solution. **B)** Binding of S to the receptors R and R'. The oblique arrows on the left remove S to the gas phase, then transfer it to its binding site on R. This pathway allows the calculation of absolute binding free energies.





0.7 Exemple 1: Transformation d'un atome neutre Ne en ion

On ajoute une charge λe à l'atome Ne:

Etat A: charge 0

Etat B: charge λe

$$U_B - U_A = \sum_i \lambda e q_i / r_{iN} = \lambda e V_N$$

La somme est sur les atomes O, H de l'eau; V_N est le potentiel électrostatique sur Ne.

$$\begin{aligned} F_B - F_A = \Delta F &= -kT \ln \langle \exp(-(U_B - U_A)/kT) \rangle_A \\ &= -kT \ln \langle \exp(-\lambda e V_N/kT) \rangle_A \end{aligned} \quad (8)$$

De plus,

$$\frac{\partial \Delta F}{\partial \lambda}(\lambda = 0) = e \langle V_N \rangle_A \quad (9)$$

Figure 2: Moyennation de $\exp(-\Delta U/kT)$: oxido-réduction du cytochrome c

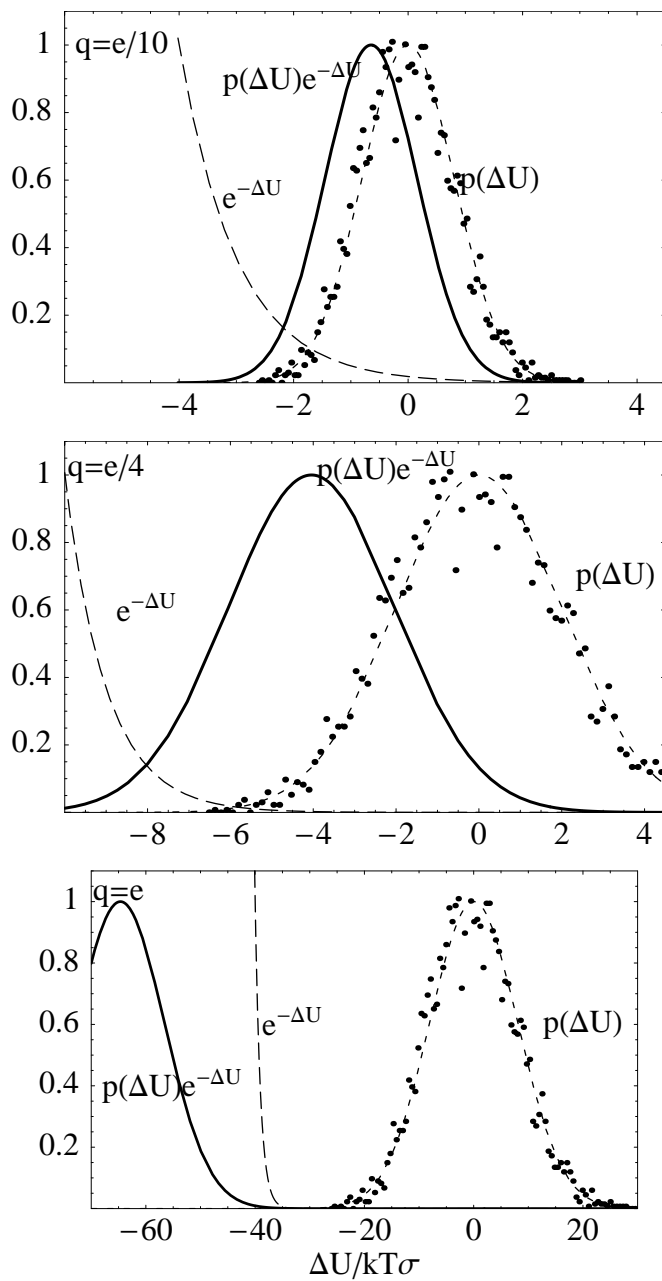
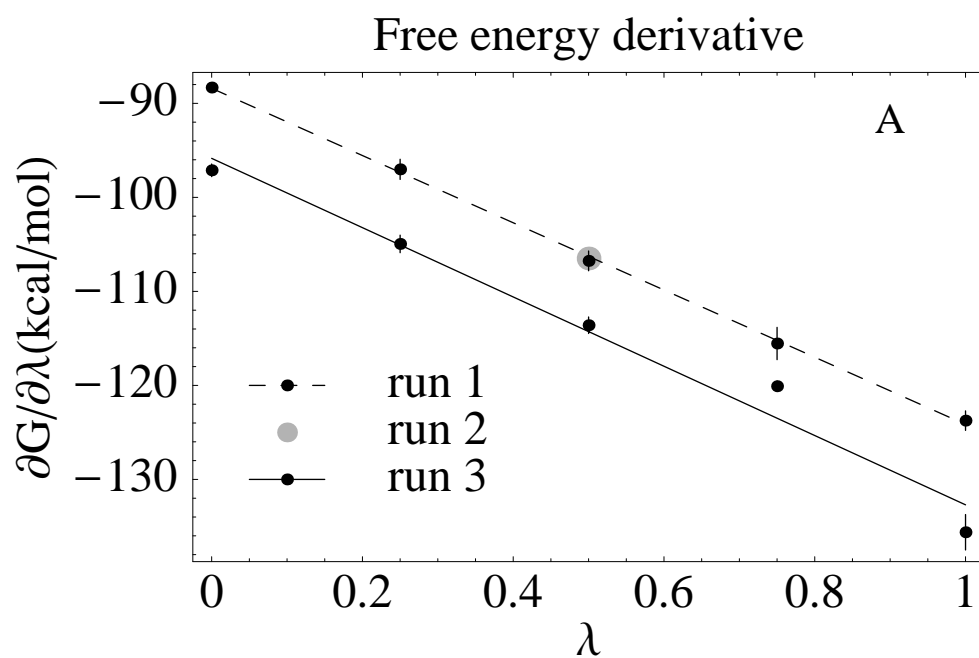
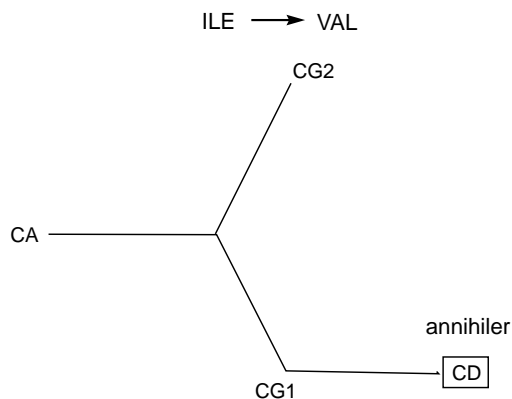


Figure 3: Intégration thermodynamique: oxido-réduction du cytochrome c
(données extraites de T. Simonson (2002) Proc. Nat. Acad. Sci. (USA), 99, 6544)





0.8 Exemple 2: Transformation d'un isoleucine en valine

Il suffit d'annihiler le méthyl CD supplémentaire.

Dans l'état A, CD est un méthyl normal; dans l'état B, CD est 'invisible'.

On peut faire la transformation en réduisant progressivement à 0 l'interaction de van der Waals de CD avec le reste du système: posons

$$u_{\lambda}(r_{CDi}) = \lambda \sum_i \epsilon_{CDi} \left(\frac{\sigma_{CDi}^{12}}{r_{CDi}^{12}} - \frac{\sigma_{CDi}^6}{r_{CDi}^6} \right)$$

où r_{CDi} est la distance entre le méthyl et un atome i et ϵ_{CDi} , σ_{CDi} sont les paramètres de van der Waals pour la paire d'atomes CD, i .

Quand $\lambda=1$ on a l'état A; quand $\lambda=0$ on a l'état B.

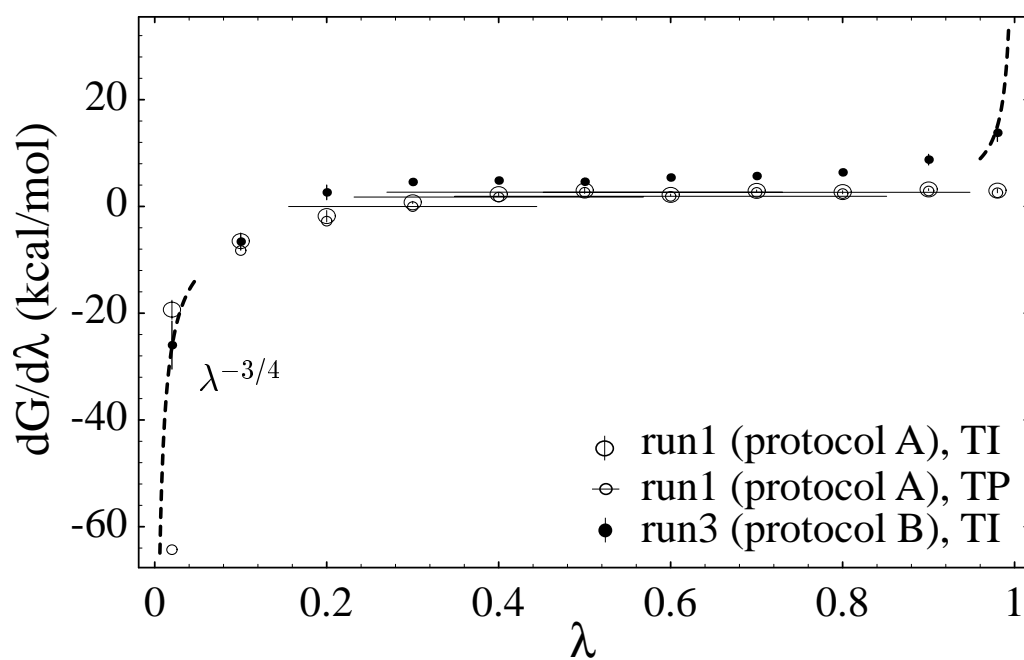
On montre (TS, 1993, Mol. Phys., 80:441) que $\partial F / \partial \lambda(\lambda) \underset{\lambda \rightarrow 0}{\sim} \lambda^{-3/4}$

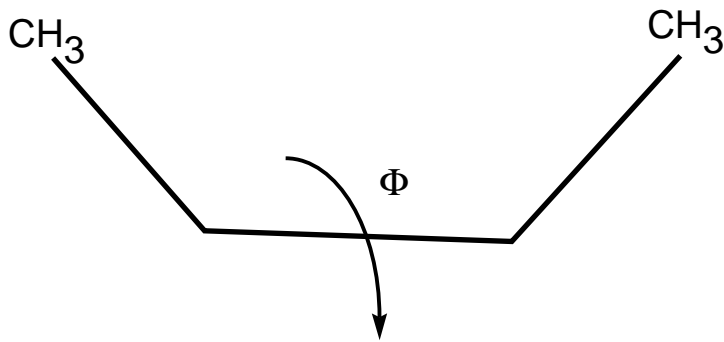
La dérivée tend vers l'infini: c'est la '**singularité à l'origine**'.

On peut aussi réduire les rayons de van der Waals σ_{CDi} ; alors il n'y a plus de singularité.

Figure 4: Annihilation d'atomes dans la chaîne latérale d'une asparagine dans l'aspartyl-ARNt synthétase (TS, G. Archontis, M. Karplus, 1997, J. Phys. Chem. B, 101:8349).

van der Waals component





0.9 Exemple 3: Changement conformationnel du butane

On utilise un potentiel de contrainte:

$$U_c = k(\Phi - \Phi_0)^2$$

On fait varier Φ_0 progressivement de 0 à 180 degrés.

Etat A: Φ_0

Etat B: $\Phi_0 + \delta\Phi_0$

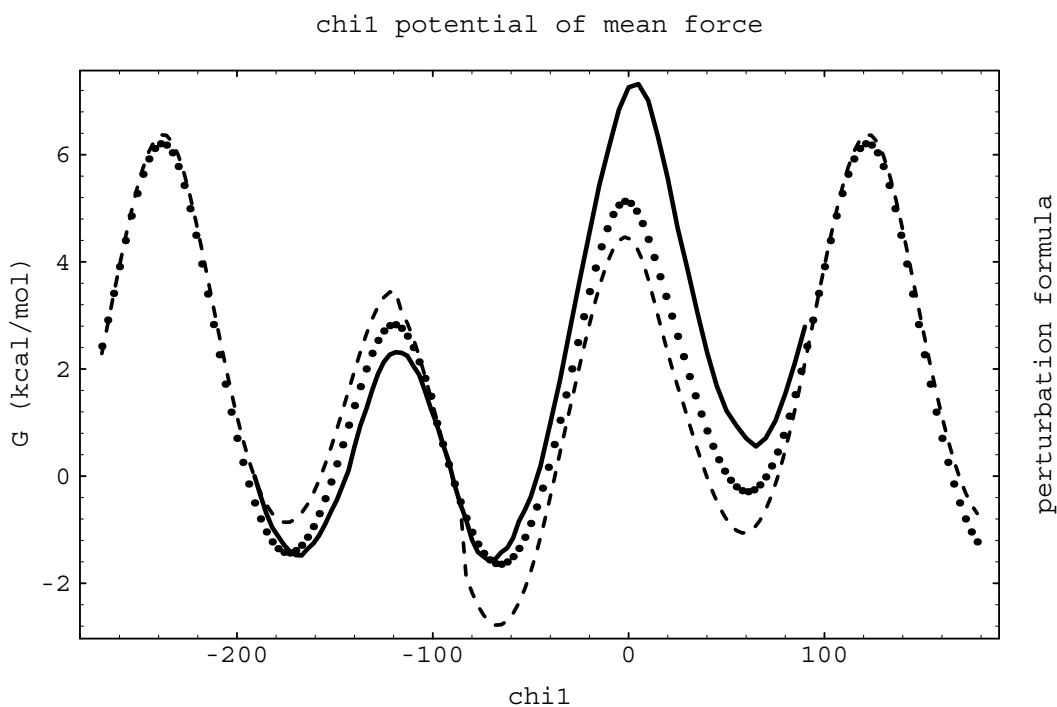
$$U_B - U_A = k(\Phi - (\Phi_0 + \delta\Phi_0))^2 - k(\Phi - \Phi_0)^2.$$

et

$$\frac{\partial \Delta F}{\partial \Phi_0} = \left\langle \frac{\partial U_c}{\partial \Phi_0} \right\rangle = -2k(\langle \Phi \rangle - \Phi_0)$$

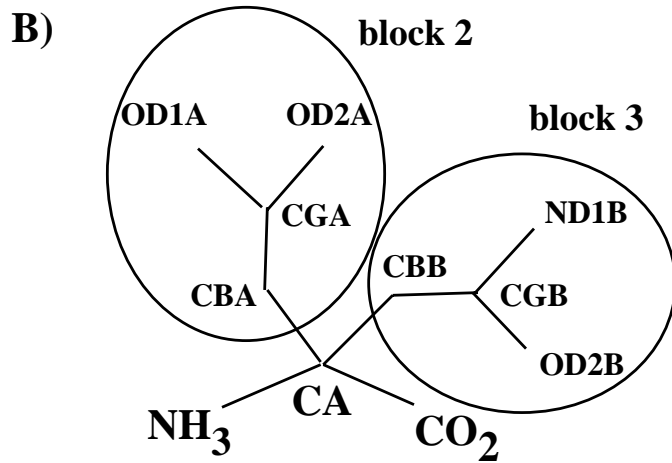
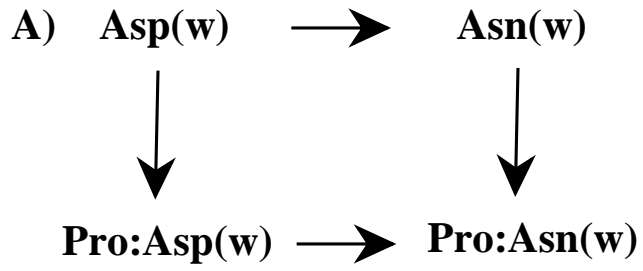
On peut appliquer la même méthode a une longueur de liaison:

$$U_{\text{bond}} = k_b (r_{ij} - r_b(\lambda))^2; \left\langle \frac{\partial U_{\text{bond}}}{\partial \lambda} \right\rangle = -2k_b (\langle r_{ij} \rangle - r_b) \frac{dr_b}{d\lambda}.$$



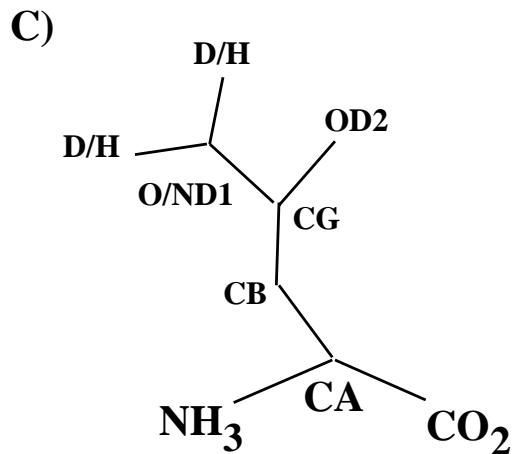
Exemple: Energie libre de l'asparagine en solution (modèle explicite de l'eau) en fonction de l'angle de torsion χ_1 (ligne solide). En pointillé: l'énergie de torsion, avec différents modèles de solvant implicite (T. Simonson, G. Archontis, M. Karplus, données non-publiées).

0.10 Exemple 4: Mutation d'un ligand Asp \rightarrow Asn



Topologie 'double'

$$\begin{aligned}
 U &= U_{11} + U_{22} + U_{33} \\
 &+ U_{12}^b + U_{13}^b \\
 &+ (1 - \lambda)U_{12}^{\text{nb}} + \lambda U_{13}^{\text{nb}}
 \end{aligned}$$



Topologie 'simple'

Fig. 3

0.11 Interactions électrostatiques à longue distance

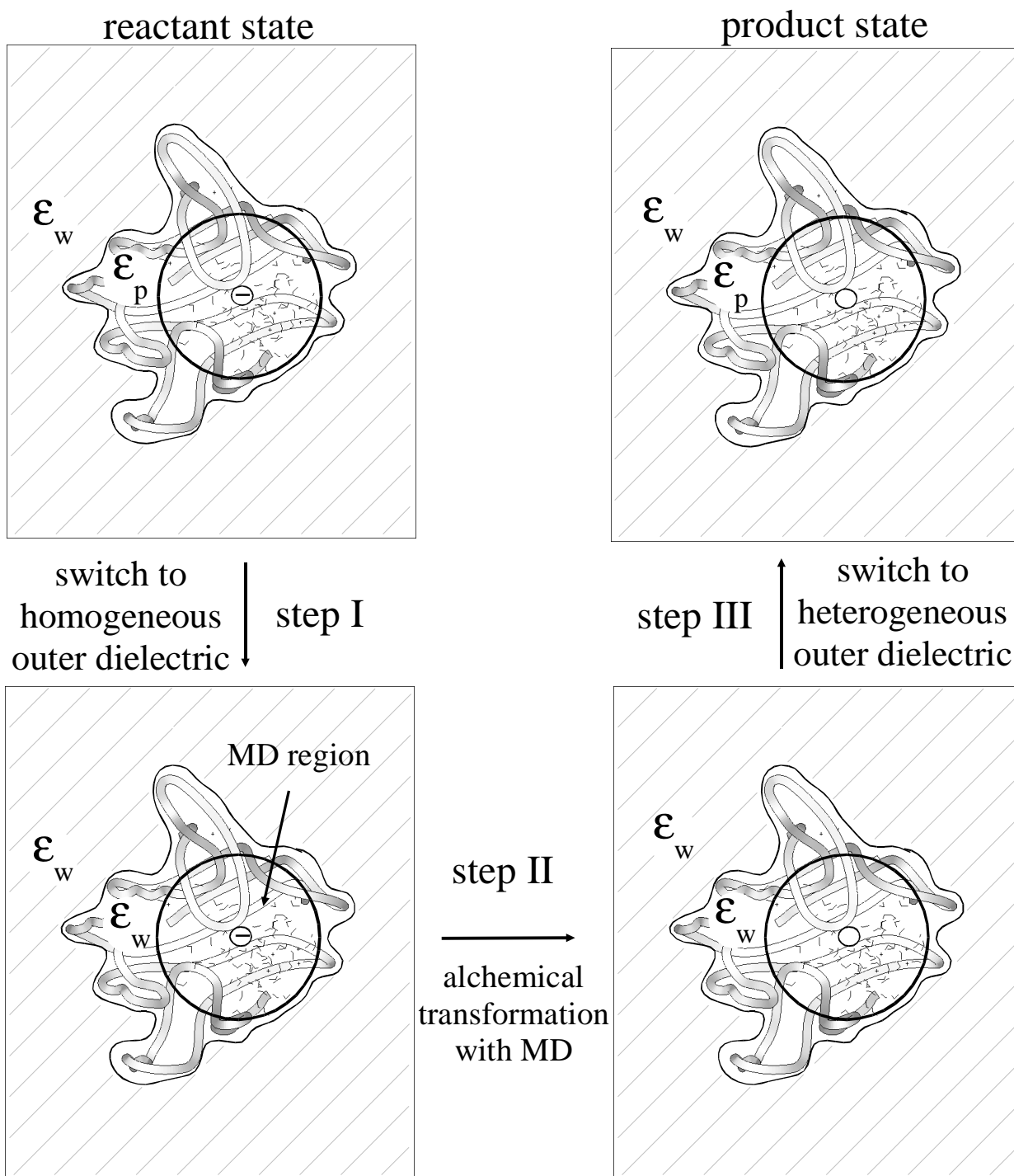
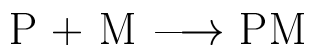
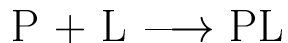


Fig. 2

0.12 Comparaison avec l'expérience: état standard

Considérons les réactions d'association:



Des arguments très généraux de symétrie et de dimensionnalité montrent que pour des solutions diluées,

$$\begin{aligned}\mu_P &= \mu_P^0(p, T) + kT \ln \rho_P / \rho_w \\ \mu_L &= \mu_L^0(p, T) + kT \ln \rho_L / \rho_w \\ \mu_{PL} &= \mu_{PL}^0(p, T) + kT \ln \rho_{PL} / \rho_w \\ &\dots\end{aligned}$$

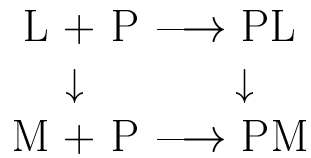
où ρ_w est la densité de l'eau et p la pression (cf. Landau & Lifshitz, Physique Statistique (Editions MIR), section 87).

A l'équilibre donc,

$$-kT \ln \frac{\rho_{PL}\rho_w}{\rho_P\rho_L} = \mu_{PL}^0 - \mu_P^0 - \mu_L^0 \stackrel{\text{def.}}{=} \Delta G^0(P + L \rightarrow PL) \quad (10)$$

$$-kT \ln \frac{\rho_{PM}\rho_w}{\rho_P\rho_M} = \mu_{PM}^0 - \mu_P^0 - \mu_M^0 \stackrel{\text{def.}}{=} \Delta G^0(P + M \rightarrow PM) \quad (11)$$

Les constantes d'équilibre donnent les énergies libres standards de réaction.



Par simulation, on va muter $L \rightarrow M$ dans une grande boîte (ou sphère) d'eau (flèche verticale ci-dessus):

$$\Delta G_{\text{calc}}(L \rightarrow M) = \mu_M - \mu_L = \mu_M^0 - \mu_L^0 + kT \ln \rho_M / \rho_L$$

Idem pour la mutation $PL \rightarrow PM$:

$$\Delta G_{\text{calc}}(PL \rightarrow PM) = \mu_{PM} - \mu_{PL} = \mu_{PM}^0 - \mu_{PL}^0 + kT \ln \rho_{PM} / \rho_{PL}$$

Tenant compte de $\rho_L = \rho_M$, $\rho_{PL} = \rho_{PM}$, on aura

$$\begin{aligned}
 \Delta G_{\text{calc}}(PL \rightarrow PM) - \Delta G_{\text{calc}}(L \rightarrow M) &= \mu_{PM}^0 - \mu_{PL}^0 - (\mu_M^0 - \mu_L^0) \\
 &= \Delta G^0(P + M \rightarrow PM) - \Delta G^0(P + L \rightarrow PL) \quad (12)
 \end{aligned}$$

Les simulations donnent bien les changements d'énergie libre standard, directement comparables à l'expérience.

0.13 Décomposition de l'énergie libre par groupes

Dans l'exemple 4 (Asp \rightarrow) nous avons

$$U(\lambda) = \sum_i (U_{i2}^{nb}(\lambda) + U_{i3}^{nb}(\lambda)) + U_{12}^b + U_{13}^b + U_{11} + U_{22} + U_{33}$$

L'atome i du bloc 1 contribue les termes

$$\partial F_i / \partial \lambda = \left\langle \frac{\partial (U_{i2}^{nb} + U_{i3}^{nb})}{\partial \lambda} \right\rangle_\lambda$$

et

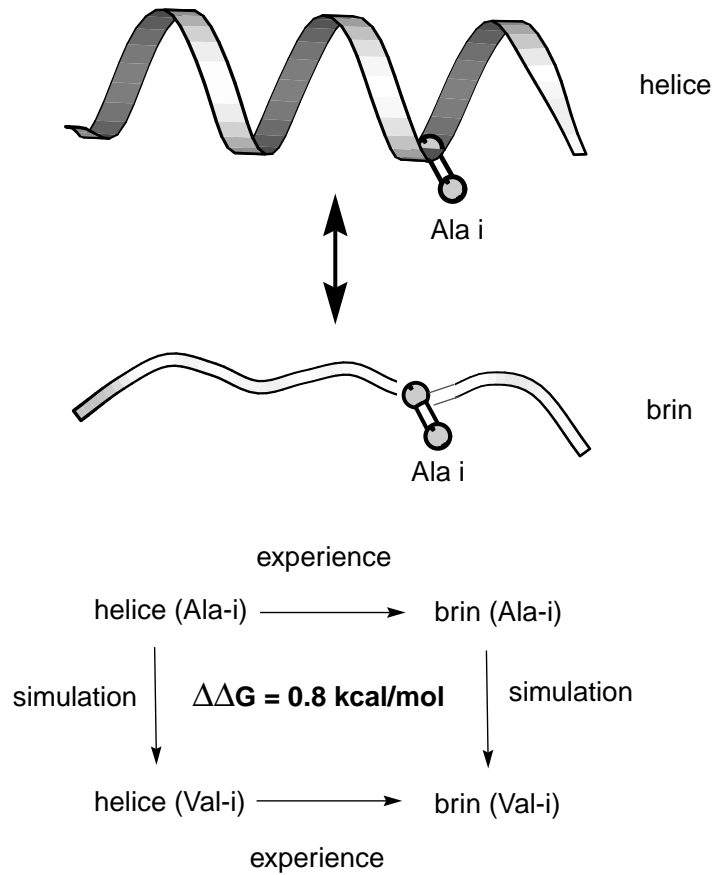
$$F_i = \int_0^1 \partial F_i / \partial \lambda d\lambda$$

En sommant sur des groupes d'atomes, on obtient la contribution du groupe à ΔF .

Ces contributions ne sont pas des fonctions d'état (Simonson & Brünger, 1992), mais dépendent de la forme précise choisie pour $U(\lambda)$.

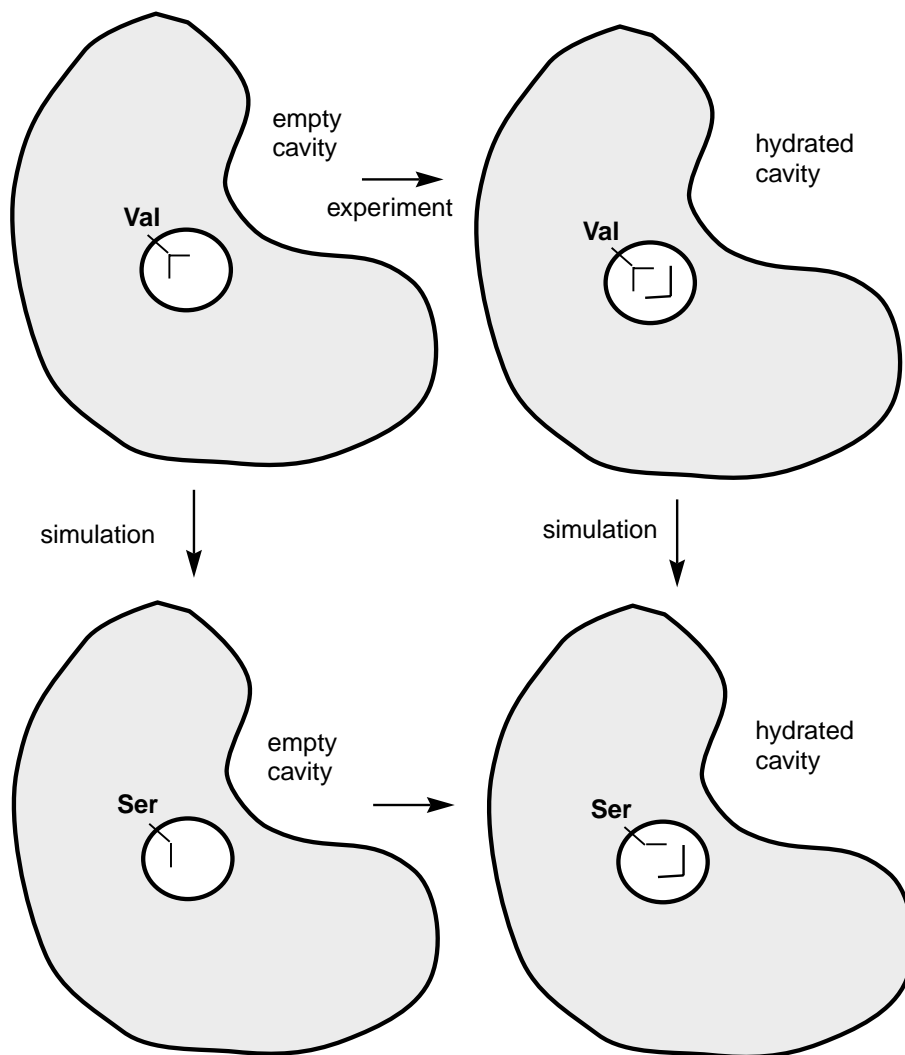
0.14 Autres exemples

Stabilité relative de deux protéines



Tendance helicoidale plus faible de la valine.

Hydratation d'une cavité dans une protéine



Autres applications

Reconnaissance protéine–ligand, effet de modifications chimiques dans la protéine ou le ligand (conception d’inhibiteurs ou de médicaments);

Calculs de pK_a , changements de pK_a dûs à des mutations; potentiels redox;

Energies libres d’activation pour des réactions enzymatiques;

Changements conformationnels: transition B \rightarrow Z de l’ADN; transitions allostériques, repliement des protéines.

0.15 Bibliographie

T. Simonson. Free energy calculations. In *Computational Biochemistry and Biophysics* (2001) O. Becker, A. Mackerell, B. Roux, M. Watanabe, Editeurs; Marcel Dekker.

T. Simonson, G. Archontis, M. Karplus (2002) Free energy simulations come of age: protein—ligand recognition. *Accounts of Chemical Research*, sous presse. (disponible à <http://pubs.acs.org>).

C.L. Brooks, M. Karplus, B.M. Pettitt (1987) *Proteins: a theoretical perspective on dynamics, structure, and thermodynamics*. John Wiley & Sons.

Encyclopedia of Computational Chemistry. Eds.: P. v. R. Schleyer, Allinger, N. L., Clark, T., Gasteiger, J., Kollman, P. A., Schaefer III, H. F., Schreiner, P. R. (1998) Wiley & Sons.

J. Aqvist, V. Luzhkov, B. Brandsal (2002) Ligand binding affinities from MD simulations. *Accounts of Chemical Research*.

Modèle de Born généralisé et solvatation

Thomas Simonson

Département de Biologie et Génomique Structurales
I.G.B.M.C., C.N.R.S., Strasbourg.

simonson@igbmc.u-strasbg.fr

<http://www-simu.u-strasbg.fr>

Modèle implicite du solvant

Distribution de Boltzmann:

$$P(X, Y) = \frac{e^{-U(X, Y)/kT}}{\int dX dY e^{-U(X, Y)/kT}} \quad (13)$$

X : soluté; Y : solvant

Energie potentielle:

$$U(X, Y) = U_u(X) + U_v(Y) + U_{uv}(X, Y) \quad (14)$$

$U_u(X)$: soluté–soluté

$U_v(Y)$: solvant–solvant

$U_{uv}(X, Y)$: soluté–solvant.

Pour toute quantité $Q(X, Y)$:

$$\langle Q \rangle = \int dX dY Q(X, Y) P(X, Y) \quad (15)$$

Posons

$$\bar{P}(X) = \int dY P(X, Y) \quad (16)$$

Alors:

$$\begin{aligned} \bar{P}(X) &= \frac{\int dY e^{-[U_u(X)+U_v(Y)+U_{uv}(X, Y)]/kT}}{\int dX dY e^{-[U_u(X)+U_v(Y)+U_{uv}(X, Y)]/kT}} \\ &\stackrel{def}{=} \frac{e^{-W(X)/kT}}{\int dX e^{-W(X)/kT}} \end{aligned} \quad (17)$$

$W(X)$ s'appelle **le potentiel de force moyenne**. On peut écrire:

$$W(X) \stackrel{def.}{=} U_u(X) + \Delta W(X)$$

Modèle ‘surfaique’ pour l’énergie libre de solvation (Eisenberg & McLachlan, 1986)

$$\Delta W(X) = \sum_i \gamma_i A_i$$

γ_i : ‘tension de surface’ atomique

A_i : surface accessible au solvant de l’atome i

Variante avec surfaces polaires et hydrophobes (Koehl & Delarue, 1994):

$$\Delta W(X) = \sum_i (\gamma_i A_i + \gamma_i^{polaire} A_i^{polaire} + \gamma_i^{hydrophobe} A_i^{hydrophobe})$$

Modèle ‘gaussien’ EEF1 de Lazaridis et Karplus

T. Lazaridis, M. Karplus (1999) Effective energy function for proteins in solution, *Proteins*, 35, 133–152.

Modèle diélectrique du solvant

Milieu diélectrique: apparition de charge 'induite' ρ_i :

$$\nabla E = 4\pi (\rho_f + \rho_i) \quad (18)$$

$$\rho_i \stackrel{\text{def}}{=} -\nabla P \quad (19)$$

$$P \stackrel{\text{hyp}}{=} \frac{\epsilon - 1}{4\pi} E \quad (20)$$

$$(18-20) \quad \Rightarrow \quad \nabla \epsilon E = 4\pi \rho_f \quad \textbf{Poisson}$$

La partie électrostatique du potentiel de force moyenne prend la forme:

$$W_{\text{elec}} = \frac{1}{2} \sum_i q_i V_i \quad (21)$$

$$= \frac{1}{2} \int \epsilon E^2 d^3r \quad (22)$$

On peut écrire

$$V_i = \sum_j q_j V_{j \rightarrow i}$$

où $q_j V_{j \rightarrow i}$ est le potentiel créé sur i quand on introduit q_j . On montre

$$V_{j \rightarrow i} = V_{i \rightarrow j} \stackrel{\text{def}}{=} F(i, j)$$

Alors

$$W_{\text{elec}} = \frac{1}{2} \sum_{ij} q_i q_j F(i, j). \quad (23)$$

Auto-énergie et rayon de Born

$$W_{\text{elec}} = \left(\frac{1}{\epsilon} - 1\right) \frac{Q^2}{2R}$$

$$W_{\text{elec}} \stackrel{\text{def}}{=} \left(\frac{1}{\epsilon} - 1\right) \frac{Q^2}{2R_{\text{Born}}} \approx \left(\frac{1}{\epsilon} - 1\right) \frac{Q^2}{2R}$$

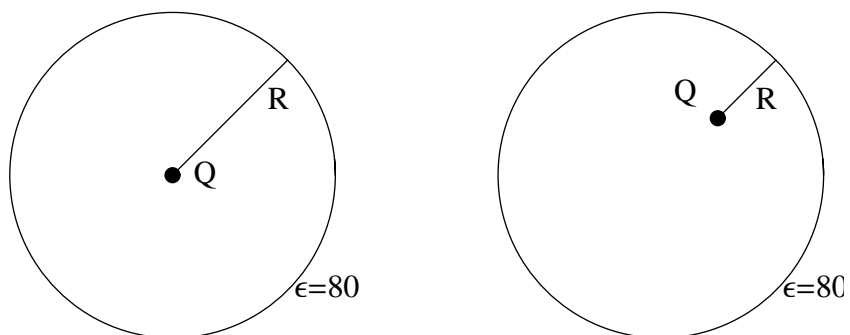
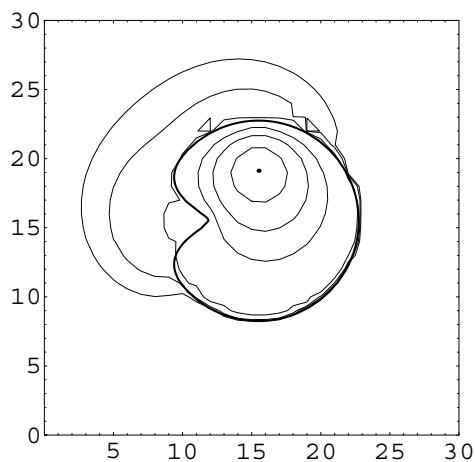


Figure 5: Charges q dans des cavités sphériques (ci-dessus) ou 'gaussienne' (dessous).



Modèle de Born généralisé

On approxime le potentiel de force moyenne par

$$W_{\text{elec}} \approx \frac{1}{2} \sum_{ij} q_i q_j F_{GB}(i, j) \quad (24)$$

$$F_{GB}(i, j) = \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + \left(\frac{1}{\epsilon} - 1 \right) \left(\frac{q_i^2}{2R_i} \delta_{ij} + \frac{q_i q_j}{f_{GB}(r_{ij})} \right) \quad (25)$$

$$f_{GB}(r_{ij}) = \left(r_{ij}^2 + R_i R_j \exp[-r_{ij}^2/4R_i R_j] \right)^{1/2} \quad (26)$$

La fonction empirique f_{GB} donne le résultat juste quand $r_{ij} \rightarrow 0$ (à condition que $R_i = R_j$) et $r_{ij} \rightarrow \infty$. R_i, R_j sont les rayons de Born.

Pour avoir une méthode efficace, il faut encore une expression analytique efficace pour $R_i \dots$

Approximation pour l'auto-énergie

Partant de la forme intégrale de l'énergie, Eq. 22, on introduit une approximation de champ 'Coulombique' (lignes de champ radiales); on aboutit à une expression de la forme:

$$\frac{1}{R_i} = \frac{1}{b_i} + \sum_{j \neq i} f(r_{ij}, V_j)$$

cf. Schaefer & Karplus (1996) J Phys Chem, 100:1578;

Hawkins, Cramer, Truhlar (1995) Chem Phys Lett, 246:122.

Différentes approximations sont faites pour f . Dans le modèle 'ACE' (Schaefer & Karplus), f a une forme assez compliquée faisant intervenir la divergence de la fonction 'erreur'... Cette forme est remplacée par une forme heuristique plus simple:

$$f(r_{ij}, V_j) = \frac{1}{\omega_{ij}} \exp(-r_{ij}^2/\sigma_{ij}^2) + \frac{V_j}{8\pi} \left(\frac{r_{ij}^3}{r_{ij}^4 + \mu_{ij}^4} \right)^4,$$

où ω_{ij} , σ_{ij} , μ_{ij} dépendent des rayons atomiques.

Bibliographie

- *T Simonson (2001) Macromolecular electrostatics: continuum models and their growing pains. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 11:243
- *T Simonson, G Archontis, M Karplus (2002) Protein-ligand recognition: free energy simulations come of age. *Accounts of Chemical Research*, sous presse (<http://pubs.acs.org>)
- *B Roux, T Simonson, Eds. (1999) Implicit solvent models. *Biophys. Chem.*, 1-278.
- *Computational Biochemistry and Biophysics (2001) Eds: O Becker, A Mackerell, B Roux, M Watanabe; Marcel Dekker.
- *D Bashford, D Case (2000) Generalized Born models of macromolecular solvation effects. *Ann. Rev. Phys. Chem.*, 51:129
- *M Schaefer, H van Vlijmen, M Karplus (1998) Electrostatic contributions to molecular free energies in solution. *Adv. Prot. Chem.*, 51:1-57.
- *SY Noskov, C Lim (2001) Free energy decomposition of protein-protein interactions. *Biophys. J.*, 81:737.
- *M Schapira, M Totrov, R Abagyan (1999) Prediction of the binding energy for small molecules, peptides and proteins. *J. Molec. Recogn.*, 12:177.

- *Mike Gilson. Introduction to continuum electrostatics. <http://gilsonlab.umbi.umd.edu>
- *P Debye (1945) *Polar molecules*. Dover, NY.
- *R Feynman et al (1963) *The Feynman Lectures on Physics*. Addison-Wesley
- *Landau and Lifshitz. *Electrostatics of continuous media*. Addison-Wesley (1984)
- *JJ Jackson (1999) *Classical electrodynamics*. Wiley.