

Отчет по качеству РСА расшифровки структуры белка интерлейкина-2 европейского домашнего хорька

ФББ МГУ 401

Аксенова Марина

Аннотация

В данном отчете была проведена оценка качества расшифровки структуры белка интерлейкина-2 европейского домашнего хорька IL-2 (PDB ID: 4zf7), полученной методом рентгеноструктурного анализа. Были рассмотрены показатели качества модели в целом, а также найдены и изучены некоторые маргинальные остатки.

Введение

Интерлейкин-2 (IL-2, interleukin-2) является плейотропным цитокином. Этот белок, вырабатываемый Т-клетками в ответ на антигенную или митогенную стимуляцию, необходим для пролиферации Т-клеток и других действий, важных для регуляции иммунного ответа [2, 3].

Главный источник IL-2 – активированные CD4+ Т-клетки, хотя ряд других Т-клеток, включая дендритные, тучные и CD8+ Т-клетки также могут секретировать IL-2 в ответ на разные стимулы [1]. Белок синтезируется из предшественника. В зрелом состоянии он содержит около 130-140 аминокислот и имеет молекулярную массу 15.5-16 кДа.

Высокоаффинный рецептор клеточной поверхности IL-2 включает три белка – IL-2R α (CD25), IL-2R β (CD122) и общую γ -цепь (γ_c или CD132) и экспрессируется в антигенактивированных и регуляторных Т-клетках. Рецепторные субъединицы IL-2R β и γ_c могут образовывать димер, который связывает IL-2 с умеренной аффинностью и сигналом в отсутствие субъединицы IL-2R α . Тем не менее, высокоаффинный тримерный рецепторный комплекс важен для развития гомеостаза Т-клеток *in vivo*, поскольку мыши (на них ранее проводились эксперименты с IL-2), у которых отсутствует субъединица IL-2R α , фенотипически неотличимы от мышей с дефицитом IL-2 (здесь надо добавить, что во время исследований было обнаружено, что, хотя мыши, у которых отсутствует IL-2, не имеют иммуносупрессии, они проявляют ряд фенотипов, указывающих на наличие иммунологической дисфункции). Последовательная сборка

функционального сигнального комплекса лиганд-рецептор была выяснена на структурном уровне. Если говорить о клеточном уровне, то образование четвертичного сигнального комплекса приводит к активации двух членов семейства тирозинкиназ JAK, JAK1 и JAK3, и сигнальной трансдукции через ряд канонических путей [2].

Хорек является ценным животным объектом для исследования ряда вирусных заболеваний человека, таких как грипп, тяжелый острый респираторный коронавирус (SARS-CoV), вирусы Хендра и Нипа. Несмотря на это, специфичных именно для хорька реагентов для мониторинга и исследования иммунного ответа не хватает. Имеется всего несколько маркеров клеточной поверхности для разных типов клеток, тогда как количественные оценки иммунных цитокинов определяются только относительными уровнями их мРНК, а не уровнями белка. Практически нет информации об использовании специфичных или перекрестно-реагирующих добавок роста или дифференцирующих факторов для клеточных культур, выделенных из хорьков. В связи с публикацией генома хорька в 2014 году можно ожидать рост потока необходимых реагентов и более масштабные исследования по отслеживанию и предотвращению этих опасных заболеваний.

В статье [2], посвященной структуре 4zf7, были описаны экспрессия, активность и кристаллическая структура рекомбинантного IL-2 хорька. Было показано, что, хотя он имеет сходства с человеческим IL-2, он сохраняет некоторые уникальные особенности, предположительно возникшими в ходе эволюции.

Результаты и обсуждение

Общая информация о модели

Структура 4zf7 интерлейкина-2 европейского домашнего хорька (*Mustela putorius furo*) была загружена в Protein Data Bank 4 ноября 2015 года группой ученых из нескольких крупных научных организаций Австралии (Bin Ren, William J. McKinstry, Tam Pham, Janet Newman, Daniel S. Layton, Andrew G. Bean, Zhenjun Chen, Karen L. Laurie, Kathryn Borg, Ian G. Barr, Timothy E. Adams) [4, 5].

Фазовую проблему авторы решали методом молекулярного замещения с помощью Phaser, используя структуру человеческого IL-2 (PDB ID 1m47) в качестве поисковой модели.

Асимметричная единица представляет собой димер из двух молекул IL-2 хорька (рис. 1 А и В) длиной 138 а.о. и молекулярной массой 16.08 кДа. Каждая

копия является биологической единицей и соответствует классической укладке цитокинов, состоящей из четырехспирального пучка со спиралью, расположенными в топологии «up-up-down-down». Между спиралью имеют две длинные шарнирные области. На рис. 1 первую из них можно увидеть между спиралью (A) и (B), а вторую – между спиралью (C) и (D). Также в первой такой области прямо за спиралью A присутствует короткая спираль A'.

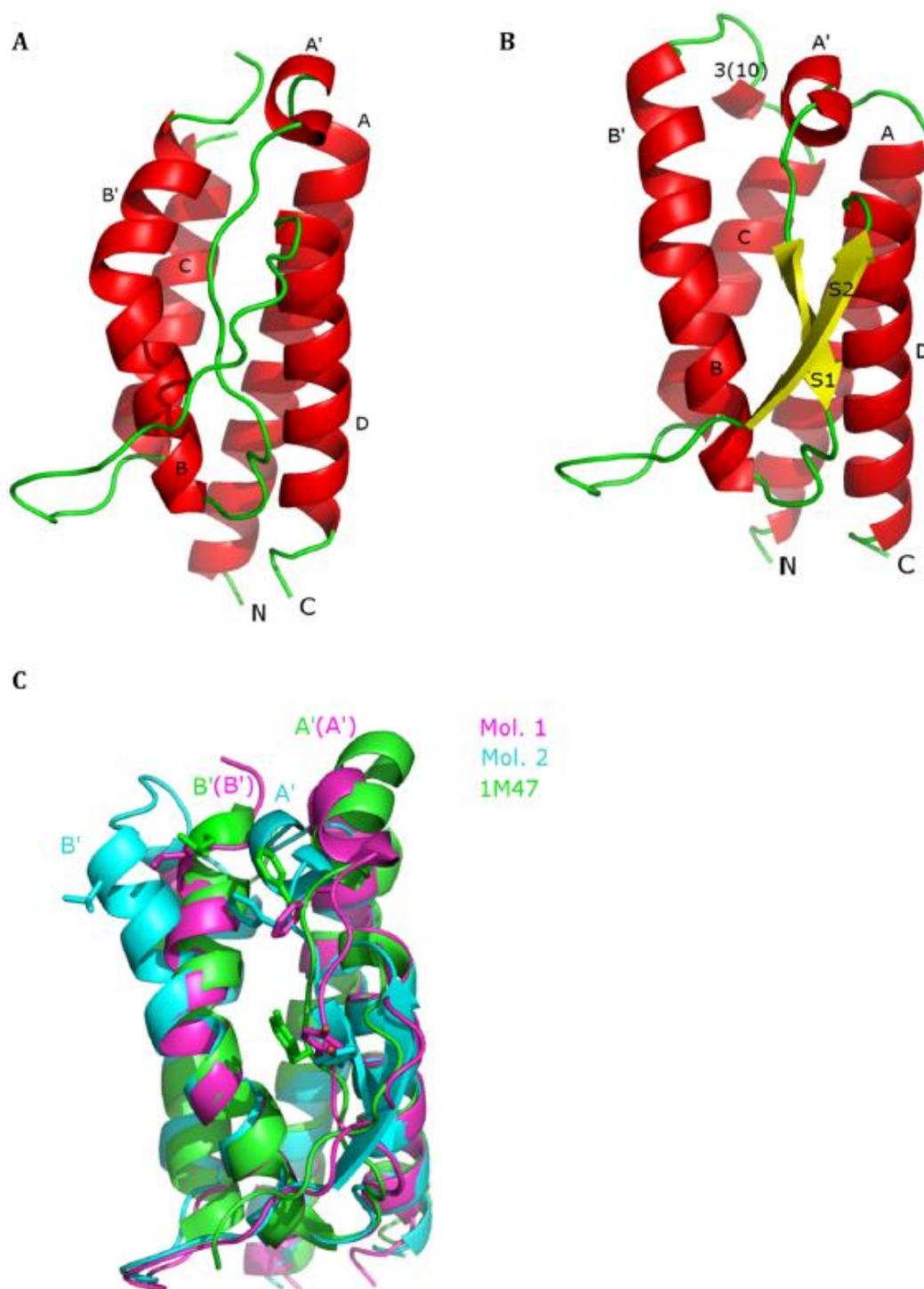


Рисунок 1. Кристаллическая структура IL-2 хорька. (A) Молекула 1 структуры. (B) Молекула 2 структуры. (C) Совмещение обеих молекул с человеческим IL-2 (PDB ID 1m47).

Обе молекулы асимметрической единицы в целом похожи друг на друга (рис. 1С). Структурное совмещение дало среднеквадратичное отклонение 1,38 Å для 109 соответствующих C α -атомов из общего количества 126. Несколько большие отличия наблюдаются при сравнении молекул структуры IL-2 хорька с человеческим IL-2.

Структура представлена в разрешении 1.893 Å, что является лучшим разрешением, когда-либо полученным для любых IL-2. Полнота набора структурных факторов составляет 93.6%. Число измеренных в ходе эксперимента рефлексов (структурных факторов) – 35903 с диапазоном разрешений 1.89Å - 46.47Å. Из всех измеренных рефлексов 33858 были использованы для оптимизации модели. Данные из pdb-файла немного отличаются: исходя из них, количество измеренных рефлексов равняется 34017, а полнота данных (набора структурных факторов) составляет 94.7%.

Параметры элементарной ячейки были таковы:

- Длины направляющих векторов кристалла: $a = 92.938 \text{ \AA}$, $b = 92.938 \text{ \AA}$, $c = 89.352 \text{ \AA}$;
- Углы между векторами: $\alpha = 90.00^\circ$, $\beta = 90.00^\circ$, $\gamma = 120.00^\circ$;
- Кристаллографическая группа: P 32 2 1, где P означает примитивную ячейку, 32 – винтовую ось симметрии в 3-мерном случае (поворот на 120° и сдвиг на 2/3 трансляции), 2 – ось симметрии с поворотами вокруг нее на 180°, 1 – отсутствующий элемент симметрии (можно сократить в обозначении группы);
- Число молекул в ячейке: 12.

Значимых некристаллографических симметрий в асимметрической ячейке выявлено не было.

Значения индикаторов качества модели в целом

К основным индикаторам качества модели относятся R-фактор, R_{free}, а также критерии, характеризующих геометрические параметры структуры (длины и углы связей, карта Рамачандрана, перекрывание Ван-дер-Ваальсовых радиусов атомов, ротамеры). R-фактор характеризует соответствие построенной модели экспериментальным данным, а R_{free} позволяет не допустить переоптимизации модели. Меньшие значения и меньшие различия между двумя индикаторами считаются лучшими. Значение R_{free} должно быть выше значения R-фактора, поскольку оно рассчитывается с использованием рефлексов, не используемых при уточнении. Когда значение R-фактора становится меньше 0.25, модель можно считать приближенной к реальности. В таблице 1 представлены значения

R-фактора и R_{free}, предоставленные авторами и посчитанные программой DCC, а в таблице 2 – количества маргинальных остатков в структуре по различным критериям.

Таблица 1. Значения R-фактора и R_{free} для структуры 4zf7 [6]

Параметр	Значение
R-фактор	0.165 (Depositor), 0.167 (DCC)
R _{free}	0.197 (Depositor), 0.198 (DCC)
Доля структурных факторов, отобранных для вычисления R _{free}	2015 рефлексов (5.61%)

Таблица 2. Маргинальные остатки структуры 4zf7 [6]

Показатель	Количество маргиналов (их доля)		
	Цепь А	Цепь В	Всего
Длины связей	1 из 1044 (0.1%)	0 из 1058	1 из 2102 (0.0%)
Углы связей	0 из 1409	1 из 1427 (0.1%)	1 из 2836 (0.0%)
RSR	10 из 126* (7.9%)	11 из 127* (8.7%)	21 из 253 (8.3%)
Карта Рамачандрана	0 из 124	0 из 126	0
Ротамеры	1 из 119 (0.8%)	0 из 122	1 из 241 (0.4%)
Перекрытия (clashes)	21 из 1036 (2%)	19 из 1061 (1.8%)	41 из 1160 (3.5%)

*Как уже было сказано, в обеих цепях по 138 остатков, но проанализированы были не все

Показатели, представленные на рис. 2, сравнивают несколько глобальных важных индикаторов качества для данной структуры с индикаторами ранее внесенных записей PDB. Сравнение выполняется путем расчета процентного ранга, то есть процента записей, которые равны или хуже этой структуры с точки зрения показателя качества. Глобальные процентильные ранги (черные вертикальные прямоугольники) рассчитываются относительно всех рентгеновских структур, имеющих в архиве PDB до 27 декабря 2017 года. Определенные для разрешения ранги процентилей (белые вертикальные прямоугольники) рассчитываются относительно подмножества записей PCA в том же подмножестве архива PDB, но только с учетом записей с разрешением, сопоставимым с этой записью. В целом, конечно, хотелось бы, чтобы все ползунки (значения индикаторов) располагались справа в синих областях (особенно для недавно определенных структур и для индикаторов, специфичных для разрешения).

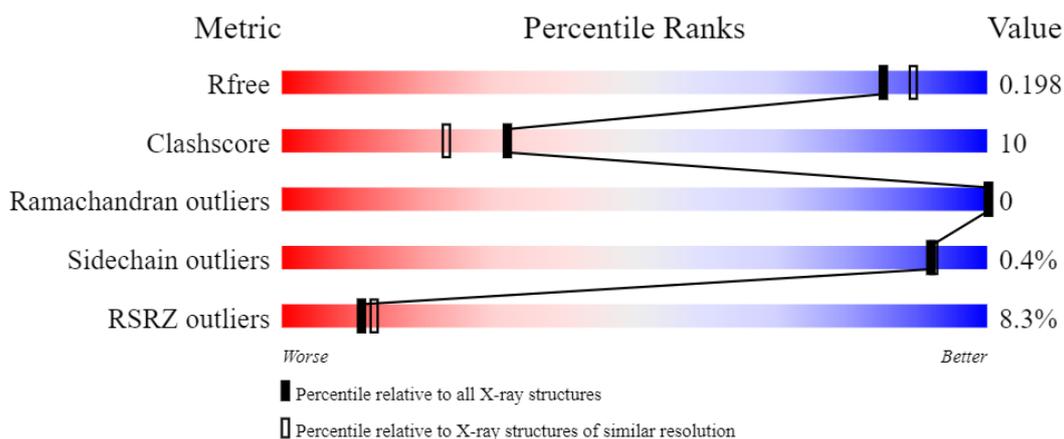


Рисунок 2. Сравнение качества модели модели 4zf7 с другими моделями PDB

Следует расшифровать значения показателей сравнения [7]:

- R_free – мера соответствия модели небольшому набору экспериментальных данных, не использовавшихся в ее уточнении (вычисляется программой DCC);
- Clashscore – число стерических перекрытий на 1000 атомов. (перекрытием считается пересечение Ван-дер-Ваальсовых радиусов более, чем на 0.4 Å; вычисляется сервером MolProbity с учетом добавленных атомов водорода);
- Ramachandran outliers – процент аминокислотных остатков с необычными торсионными углами ϕ и ψ (вычисляется сервером MolProbity);
- Sidechain outliers – процент аминокислотных остатков с необычной конформацией боковой цепи (вычисляется сервером MolProbity);
- RSRZ outliers – процент аминокислотных остатков с $RSRZ > 2$, где RSRZ – это Z-score, являющийся нормализацией real-space R-value (RSR), который представляет собой меру качества соответствия атомной модели остатка «экспериментальной» электронной плотности вокруг него (вычисляется сервером EDS).

Видно, что показатели качества модели 4zf7 распределены среди других PDB структур очень неравномерно. И хотя показатели R_free и Sidechain outliers значительно лучше среднего, а показатель Ramachandran outliers вообще сообщает, что в структуре нет аминокислотных остатков с необычными торсионными углами, значение Clashscore ниже среднего, а показатель RSRZ outliers откровенно плохой.

Для более подробного анализа других показателей качества был использован уже упоминавшийся выше сервис MolProbity [8]. Структура состоит из 2371 атомов (1024 атома белковой цепи A и 1039 атомов белковой цепи B), не учитывая атомы водорода и дейтерия. Сервер MolProbity добавил еще 2164 атома водорода, 75 из них подверглись «подгонке» для оптимизации

водородных связей. На рис. 3 представлена информация о показателях качества модели, выданная сервисом.

All-Atom Contacts	Clashscore, all atoms:	9.82		78 th percentile* (N=771, 1.89Å ± 0.25Å)
	Clashscore is the number of serious steric overlaps (> 0.4 Å) per 1000 atoms.			
Protein Geometry	Poor rotamers	5	2.07%	Goal: <0.3%
	Favored rotamers	225	92.98%	Goal: >98%
	Ramachandran outliers	0	0.00%	Goal: <0.05%
	Ramachandran favored	246	99.60%	Goal: >98%
	MolProbity score [^]	1.75		85 th percentile* (N=11926, 1.89Å ± 0.25Å)
	Cβ deviations >0.25Å	0	0.00%	Goal: 0
	Bad bonds:	2 / 2106	0.09%	Goal: 0%
Bad angles:	3 / 2849	0.11%	Goal: <0.1%	
Peptide Omegas	Cis Prolines:	0 / 4	0.00%	Expected: ≤1 per chain, or ≤5%
	Cis nonProlines:	1 / 246	0.41%	Goal: <0.05%
	Twisted Peptides:	2 / 250	0.80%	Goal: 0

Рисунок 3. Показатели качества модели 4zf7, определенные сервисом MolProbity

Видно, что больше, чем по половине показателей, выданных сервисом, качество модели ниже среднего.

Как ясно из определения показателя Ramachandran outliers, карты Рамачандрана позволяют оценить, насколько хорошо конформация остова модели соответствует предпочитаемому положению торсионных углов φ и ψ. Карта, представленная сервисом MolProbity для всей структуры и отдельных остатков, представлена на рис. 4.

В целой структуре отсутствуют маргиналы по карте Рамачандрана, как было указано выше. В предпочтительной области находятся 249 остатков из 250 проанализированных (99.6%), и только один остаток, принадлежащий цепи В, лежит в разрешенной области. Здесь надо сказать, что данные на рис. 3 по этому пункту немного отличаются от представленных в этом абзаце, вероятно, в силу большой разницы во времени между запуском сервиса, произведенным при составлении отчета на странице PDBe [6] и запуском, произведенным при написании данного отчета.

Также были построены карты для изолейцина и валина, пролина, глицина из-за того, что они могут иметь нестандартные значения торсионных углов. Однако, и эти остатки локализованы в предпочтительных областях. Следует заметить, что цис-пролина среди проанализированных остатков обнаружено не было.

Ротамеры, т.е. наборы предпочитаемых положений боковых цепей остатка, заданные допустимыми значениями торсионных углов χ, служат оценкой конформации боковых цепей аминокислот. По оценке MolProbity, о хорошем качестве модели свидетельствует доля «плохих» ротамеров менее 0.3%. В структуре 4zf7 «плохими» отмечены 5 ротамеров из 241 (2.07%), а хорошими –

225 остатков (92.98%). Также, судя по отчету, представленному в PDBе [6], имеется один маргинальный остаток Thr79(A), для которого, возможно, необходима инверсия боковой цепи. Исходя из этого, качество по данному параметру никак нельзя считать хорошим.

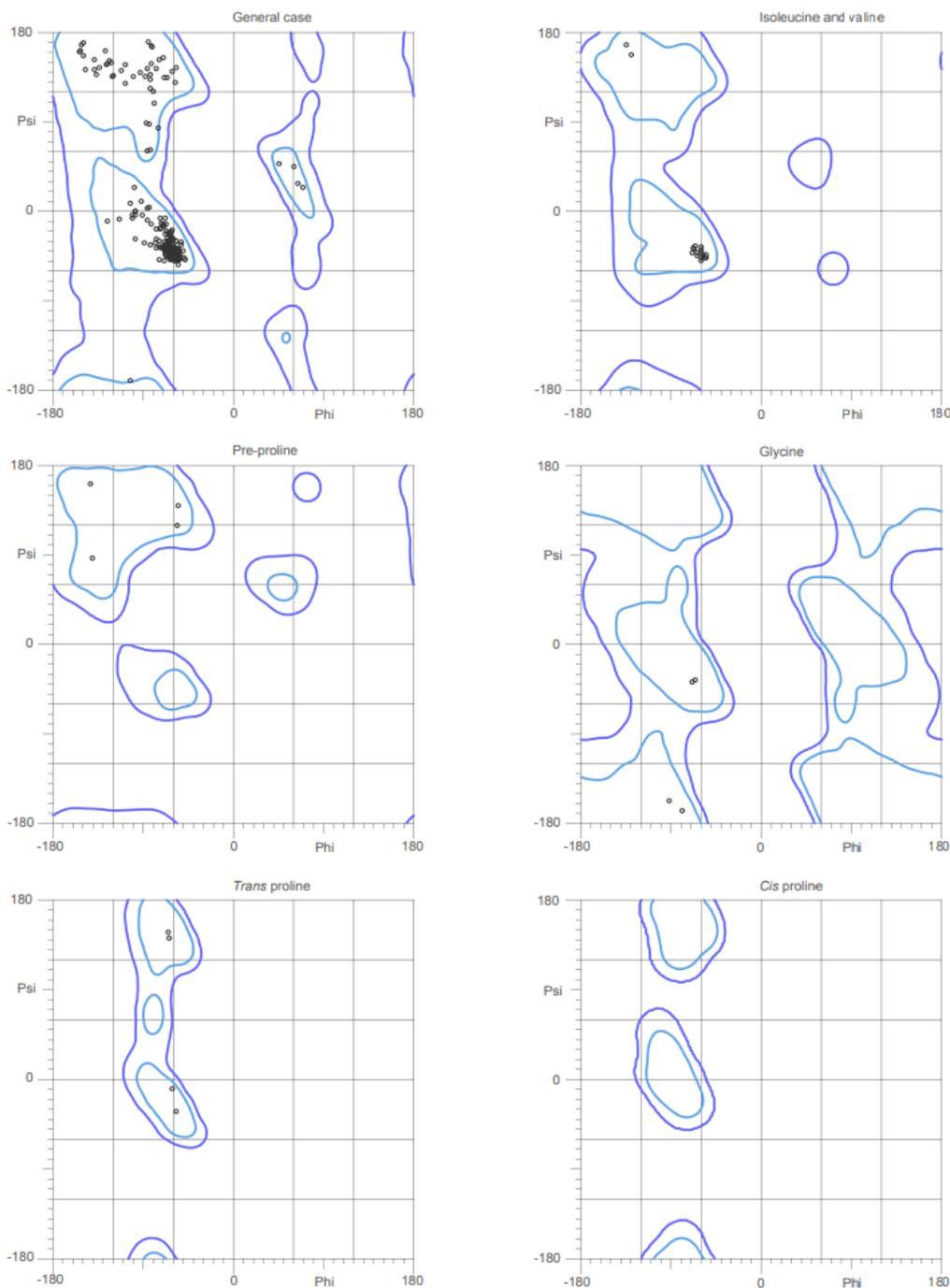
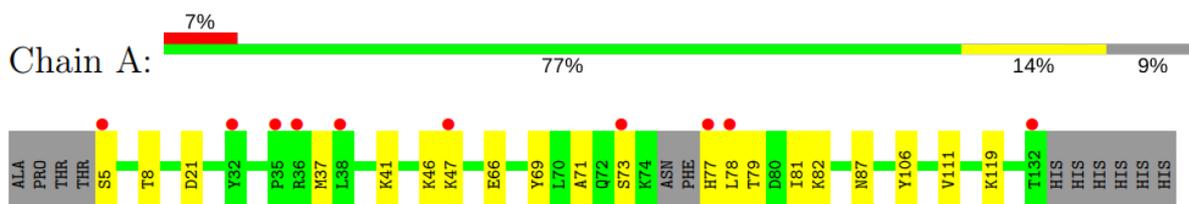


Рисунок 4. Карта Рамачандрана для структуры 4zf7 и отдельных ее остатков, построенная сервисом MolProbity. Голубые линии ограничивают участки предпочтительных областей, синие – допустимых областей. Точками представлены отдельные аминокислотные остатки.

Анализ маргинальных остатков

На рис. 5 ниже визуализировано качество моделирования остатков в обеих цепях структуры 4zf7. Первый график для цепи суммирует соотношение различных классов выбросов, отображаемых на втором графике. На втором графике показан вид последовательности, аннотированный проблемами по геометрическим параметрам и электронной плотности. Остатки имеют цветовую кодировку в соответствии с числом геометрических критериев качества, для которых они содержат, по крайней мере, один выброс: зеленый = 0, желтый = 1, оранжевый = 2 и красный = 3 или более. Красная точка над остатком указывает на плохую подгонку к электронной плотности ($RSRZ > 2$). Участки из 2 или более последовательных остатков без какого-либо выброса показаны в виде зеленой линии. Остатки, присутствующие в образце, но не в модели, показаны серым цветом.

• Molecule 1: Interleukin 2



• Molecule 1: Interleukin 2



Рисунок 5. Качество моделирования остатков в обеих цепях 4zf7

Из рис. 5 видно, что довольно много остатков, маргинальных по одному критерию (20 в цепи А и 18 в цепи В), а в цепи В даже есть остаток, маргинальный по двум критериям. Во всей структуре 21 остаток плохо вписывается в электронную плотность, и 10 из этих остатков маргинальны. Но все же доли проблемных по электронной плотности сравнительно небольшие – 7 и 8% в цепях А и В соответственно. Также видно, что 6 остатков в цепи А и 5 – в цепи В были изначально в белке, но в модель не включены. 6xHis конец при подсчете не учитывался, т.к. это тэг, искусственно введенный в белок для удобства выделения.

В таблице 3 представлены 15 из всех имеющихся маргинальных остатков с указанием критерия, по которому они были выбраны.

Таблица 3. Маргинальные остатки структуры 4zf7

Остаток	Критерий маргинальности	Значение
Ser5: A	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Ser5(O) и Thr8(HB)	RSRZ = 3.9 Перекрытие: 0.43 Å
Tyr32: A	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности	RSRZ = 3.1
Pro35: A	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности	RSRZ = 5.0
Leu38: A	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности	RSRZ = 3.3
Tyr69: A	Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Tyr69(HE1) и Leu78(HB3)	Перекрытие: 0.47 Å
Ser73: A	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности	RSRZ = 3.0
His77: A	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между His77(CD2) и Leu78(H), His77(CD2) и Leu78(H)	RSRZ = 5.3 Перекрытие: 0.45 Å дважды
Leu78: A	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между His77(CD2) и Leu78(H), His77(CD2) и Leu78(H) Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Tyr69(HE1) и Leu78(HB3)	RSRZ = 3.1 Перекрытие: 0.45 Å дважды Перекрытие: 0.47 Å
Thr79: A	Неротамерная боковая цепь	
Ser6: B	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Ser6(HA) и Thr8(H), Ser6(HA) и Thr8(N) Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Ser6(OG) и Ser7(HA)	RSRZ = 6.9 Перекрытие: 0.93 Å, 0.71 Å Перекрытие: 0.41 Å
Ser7: B	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Ser6(OG) и Ser7(HA)	RSRZ = 3.3 Перекрытие: 0.41 Å

	Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Ser7(HB3) и Glu10(HG3)	Перекрытие: 0.49 Å
Thr8: B	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Ser6(HA) и Thr8(H), Ser6(HA) и Thr8(N)	RSRZ = 4.4 Перекрытие: 0.93 Å, 0.71 Å
Glu10: B	Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Ser7(HB3) и Glu10(HG3)	Перекрытие: 0.49 Å
Leu131: B	Плохое соответствие экспериментальной электронной плотности	RSRZ = 5.2
Thr132: B	Перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Thr132(O) и HOH301(O)	Перекрытие: 0.50 Å

Рассмотрим подробнее некоторые маргинальные остатки. Они выделены зеленым в таблице 3. Для анализа был взят файл с добавленными атомами водорода.

Рассмотрим остаток Pro35(A), представленный на рис. 6. Он обладает одним из худших значений RSRZ: 5.0. Это значит, что он очень плохо вписан в электронную плотность. Видно, что даже на уровне подрезки 1.0 σ ароматическое кольцо очень плохо вписано в электронную плотность. Это может быть связано с тем, что остаток находится на очень подвижном участке α -спирали на поверхности молекулы белка.

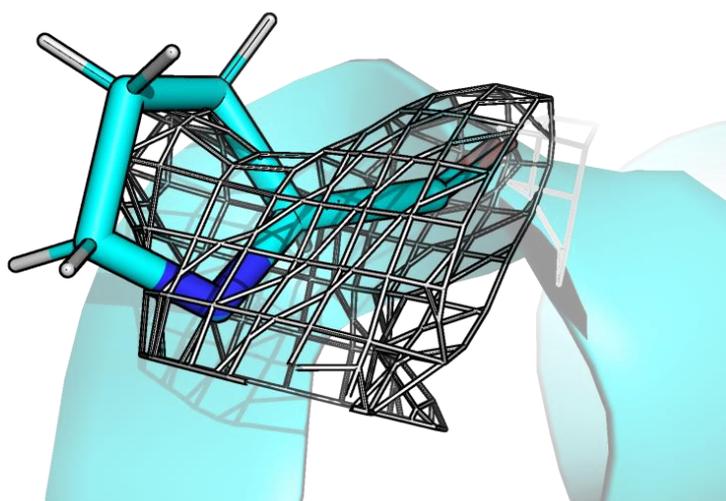


Рисунок 6. Остаток Pro35(A). ЭП изображена на уровне подрезки 1.0 σ

Следующим рассмотрим остаток Tyr69(A), представленный на рис. 7. Здесь наблюдается перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Tyr69(HE1) и

Leu78(HB3). Между этими остатками должна была образовываться водородная связь длиной 3.5 Å, однако она составляет лишь 1.8 Å, что привело к перекрыванию радиусов в 0.47 Å. Остатки расположены в соседних спиралях, и, если считать, что между спиралами существует некоторая подвижность, то расстояния между остатками можно считать приемлемыми.

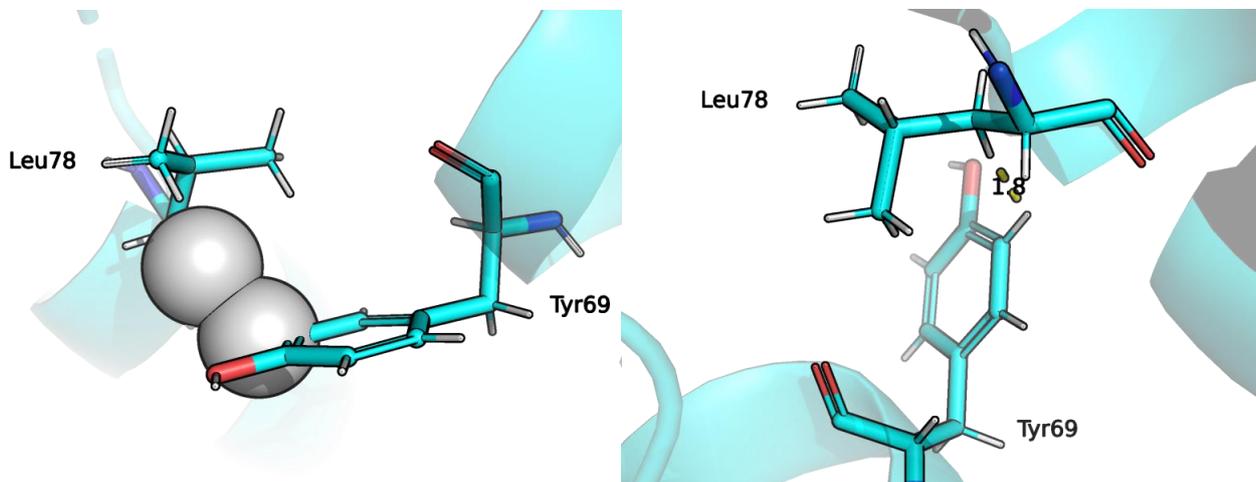


Рисунок 7. Остаток Tyr69(A) с остатком Leu78. Слева изображено перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между Tyr69(HE1) и Leu78(HB3). Справа изображена короткая водородная связь длиной 1.8 Å

Далее рассмотрим остаток Thr79(A). Боковая цепь этого остатка была признана неротамерной, т.е. не входящей в наборы предпочитаемых положений боковых цепей остатка, заданные допустимыми значениями торсионных углов χ . На рис. 5 нет таких данных об этом остатке, но, по крайней мере, остаток с такой плохой конформацией должен быть очень плохо вписан в электронную плотность. Это и наблюдается на рис. 8.

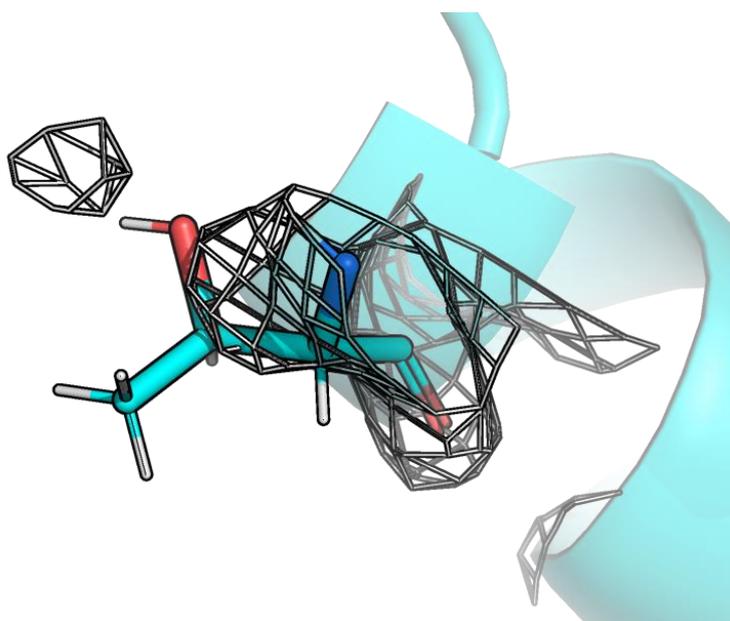


Рисунок 8. Остаток Thr79(A). ЭП изображена на уровне подрезки 1.0 σ

Далее рассмотрим остаток Ser6(B). Этот остаток маргинален сразу по нескольким критериям. Во-первых, как показано на рис. 9, он плохо вписан в электронную плотность – хуже всех остатков в структуре. Это неудивительно, ведь он находится на самом конце полипептидной цепи, который отличается высокой подвижностью.

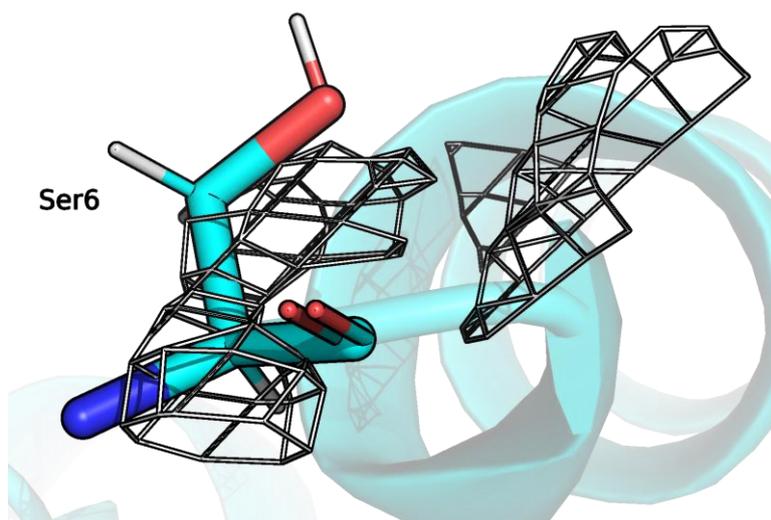


Рисунок 9. Остаток Ser6(B). ЭП изображена на уровне подрезки 1.0 σ

Во-вторых, для него указаны перекрытия Ван-дер-Ваальсовых радиусов сразу между тремя парами атомов: между Ser6(HA) и Thr8(H), Ser6(HA) и Thr8(N), Ser6(OG) и Ser7(HA) с размерами перекрытий 0.93, 0.71 и 0.41 Å соответственно. Эти перекрытия отражены на рис. 10. Здесь ситуация аналогична той, что с парой Tyr69(HE1) и Leu78(HB3), рассмотренной выше. Поскольку Ser6 находится на самом конце цепи и структуры, он очень подвижен, поэтому данные расстояния можно считать приемлимыми.

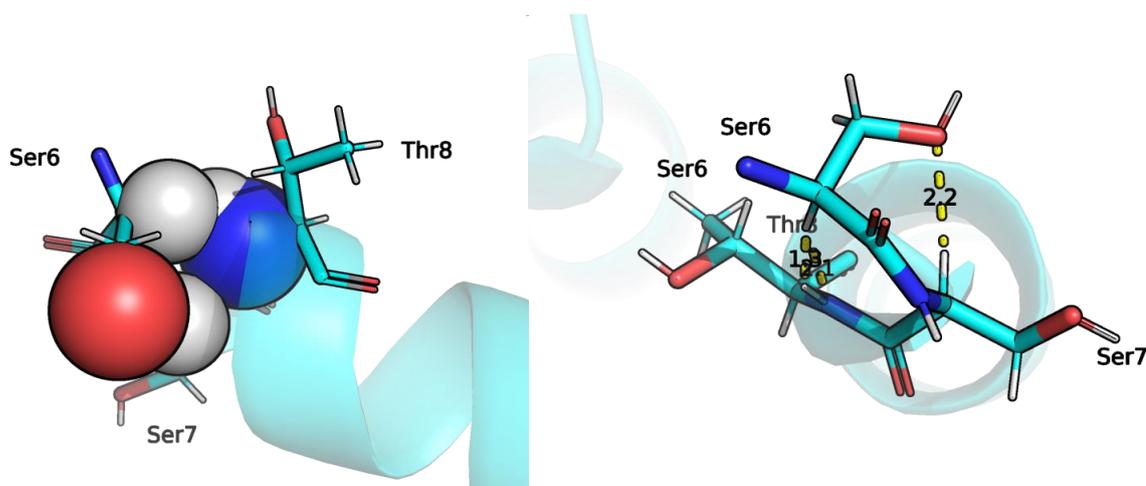


Рисунок 10. Остатки Ser6(B), Ser7 и Thr8. Слева изображено перекрытие Ван-дер-Ваальсовых радиусов между атомами остатков. Справа изображены короткие водородные связи

Наконец, рассмотрим пятый остаток – Leu131(B), отображенный на рис. 11. Маргинальность этого остатка аналогична случаю с первым рассмотренным остатком, Pro35(A). Его RSRZ = 5.2, это третье по «плохости» значение во всей структуре. Этот остаток расположен на самом конце полипептидной цепи, так что в данном случае такое плохое вписывание в электронную плотность также может объясняться повышенной подвижностью остатка и участка его локализации в целом.

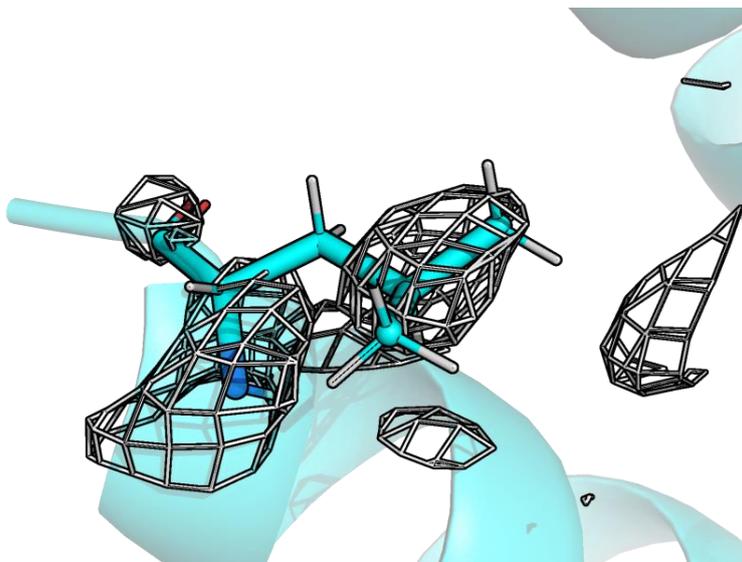


Рисунок 11. Остаток Leu131(B). ЭП изображена на уровне подрезки 1.0 σ

Сравнение модели из PDB с моделью из PDB-REDO

База данных PDB-REDO содержит оптимизированные версии существующих записей PDB с картами электронной плотности, описанием изменений моделей и полнотой данных для оценки качества модели [9]. Для структуры 4zf7 было проведено сравнение ее исходной и «улучшенной» версий.

В «улучшенной» модели было изменено положение 7 ротамеров, произведена инверсия двух боковых цепей, удалено две молекулы воды. Один остаток по результатам изменений стал лучше вписываться в электронную плотность, а 35 – хуже. В итоге R-фактор модели повысился с 1.1687 до 1.1788, а R_free повысился с 0.1924 до 0.2060, став недопустимо большим. Тем не менее, в новой модели немного повысилось качество ротамеров.

Сервис MolProbity был запущен с новой, «улучшенной», моделью. Результаты этого запуска представлены на рис. 12. Как можно увидеть, практически все значения показателей качества ухудшились.

Таким образом, оптимизация оказалась весьма сомнительной. Возможно, в каких-то случаях нужна, но для структуры 4zf7 оказалась бесполезна, ухудшив модель.

All-Atom Contacts	Clashscore, all atoms:	2.32		99 th percentile* (N=771, 1.89Å ± 0.25Å)
	Clashscore is the number of serious steric overlaps (> 0.4 Å) per 1000 atoms.			
Protein Geometry	Poor rotamers	4	1.64%	Goal: <0.3%
	Favored rotamers	229	93.85%	Goal: >98%
	Ramachandran outliers	0	0.00%	Goal: <0.05%
	Ramachandran favored	245	99.19%	Goal: >98%
	MolProbity score [^]	1.17		99 th percentile* (N=11926, 1.89Å ± 0.25Å)
	Cβ deviations >0.25Å	2	0.79%	Goal: 0
	Bad bonds:	2 / 2114	0.09%	Goal: 0%
	Bad angles:	2 / 2857	0.07%	Goal: <0.1%
Peptide Omegas	Cis Prolines:	0 / 4	0.00%	Expected: ≤1 per chain, or ≤5%
	Cis nonProlines:	1 / 246	0.41%	Goal: <0.05%
	Twisted Peptides:	2 / 250	0.80%	Goal: 0

Рисунок 3. Показатели качества «улучшенной» модели 4zf7, определенные сервисом MolProbity

Выводы

Структура 4zf7 интерлейкина-2 хорька имеет самое высокое разрешение из всех когда-либо разрешенных моделей IL-2. Структура смоделирована достаточно неплохо, но из-за достаточно большого количества показателей со значением ниже среднего, не может качество модели не может считаться по-настоящему хорошим. Маргинальных остатков в структуре достаточно много, и они наблюдаются по разным параметрам. Большинство проблем расшифровки связано с локализацией остатков на очень подвижных участках цепей. Дополнительная оптимизация с помощью PDB-REDO, тем не менее, не требуется.

Список литературы

- [1] Boyman, O., Sprent, J., 2012. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 12, 180e190.
- [2] Ren, B., McKinstry, W. J., Pham, T., Newman, J., Layton, D. S., Bean, A. G., ... Adams, T. E. (2016). Structural and functional characterisation of ferret interleukin-2. *Developmental & Comparative Immunology*, 55, 32–38. doi:10.1016/j.dci.2015.10.007
- [3] <https://www.uniprot.org/uniprot/A3FBE6>
- [4] <http://www.rcsb.org/structure/4ZF7>
- [5] <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/4zf7>
- [6] http://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry-files/4zf7_full_validation.pdf

- [7] https://www.wwpdb.org/validation/2017/XrayValidationReportHelp#overall_quality
- [8] <http://molprobitry.biochem.duke.edu/>
- [9] <https://pdb-redo.eu/db/4zf7>