

Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова

Факультет Биоинженерии и Биоинформатики

Практикум 5. Отчет по валидации

студентки 4-го курса
Беляевой Юлии Дмитриевны

Москва, 2020

Содержание

Введение	2
Результаты и обсуждение	4
Общая информация о модели	4
Значения индикаторов качества модели в целом	5
Маргинальные остатки	11
Анализ 5 маргинальных остатков	14
Сравнение модели из PDB с моделью из PDB_redo	22
Заключение	25
Список литературы	26
Список используемых веб-сервисов	26

Введение

Одна из основных причин пищевых отравлений - энтеротоксин *Clostridium perfringens* (СРЕ). В организме, по мере высвобождения из спор *C. perfringens*, токсин связывается со своим рецептором, клаудином, впоследствии опосредуя образование пор в клеточных мембранах. Отметим, что клаудины представляют собой семейство белков, которые являются важным компонентом плотных межклеточных контактов. Интересно, что СРЕ характеризуется двумя качествами, которые выделяют его среди остальных токсинов *C. perfringens*: 1) это несекретируемый токсин, 2) он синтезируется только в ходе споруляции, причем в это время энтеротоксин может составлять до 15% от массы всего клеточного белка.

В целом, СРЕ - это мембраносвязывающий токсин с длиной белковой цепи равной 319 аминокислотных остатков, молекулярная масса 35 kDa. В клетках млекопитающих энтеротоксин формирует два крупных молекулярных комплекса, названных СН-1 и СН-2, масса которых оценивается приблизительно в 425-500 и 550-660 kDa соответственно. Эти комплексы состоят из СРЕ непосредственно, разнообразных клаудинов и СН-2, в частности, включает в себя окклюдин.

С упомянутыми рецепторами клаудинами энтеротоксин взаимодействует посредством своего С-концевого домена (остатки 200-319). Для связывания клаудина особенно важны следующие остатки: тирозины 306, 310, 312 и лейцин 215. Стоит отметить, что С-концевой домен, сам по себе, не обладает свойством цитотоксичности. Другой, N-терминальный домен (остатки 1-200) необходим для олигомеризации токсина в крупные комплексы и их последующего встраивания в мембрану. "Аланиновым" мутагенезом было показано, что аспарат 48 играет ключевую роль в формировании крупных белковых комплексов, в то время как делеция остатков 1 - 36 привела к повышению цитотоксичности.

В статье [1] говорится о том, что авторам удалось получить трехмерную структуру СРЕ в двух кристаллических формах посредством рентгеноструктурного анализа, с разрешением 2.7 и 4.0 Å соответственно. Также было выяснено, что N-концевой домен имеет структурную гомологию с аэролизин-подобным семейством белков, формирующих β-пору. Было показано, что энтеротоксин формирует тример в обеих кристаллических формах и что это форма, по-видимому, имеет собой биологические обоснования, но не является активной.

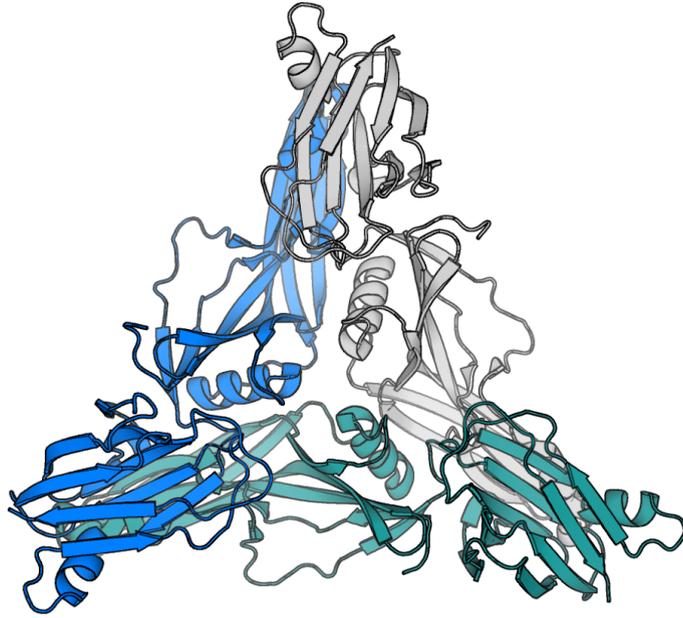


рис. 1. Структура энтеротоксина (2XN6)

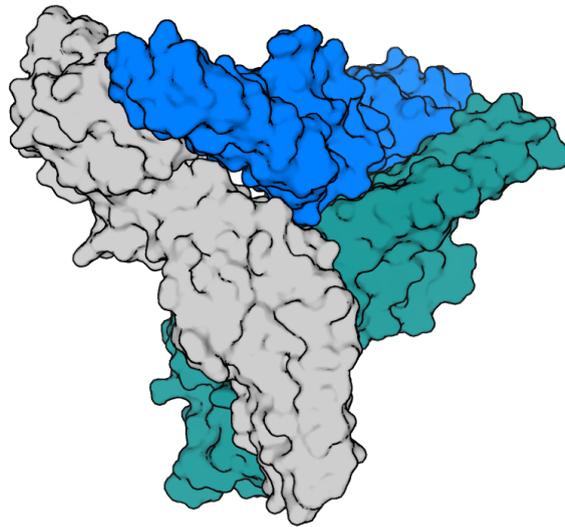


рис. 2. Структура энтеротоксина (2XN6) - surface

Результаты и обсуждение

Общая информация о модели

В уже упомянутой нами статье “**Structure of the Food-Poisoning *Clostridium perfringens* Enterotoxin Reveals Similarity to the Aerolysin-Like Pore-Forming Toxins**” рассказывается о том, что ее авторами (**Briggs, D.C., Naylor, C.E., Smedley III, J.G., McClane, B.A., Basak, A.K.**) как раз и была получена выбранная нами структура 2XH6. В базу данных Protein Data Bank структура была депонирована **09.06.2010**, в то время как ее релиз приходится на **27.04.2011**.

Говоря о **составе структурного комплекса** следует упомянуть следующие компоненты:

- 1) Термолabileный энтеротоксин
 - HEAT-LABILE ENTEROTOXIN
 - Цепи: А, В, С
- 2) Лиганд BOG (рис. 3)
 - octyl beta-D-glucopyranoside
 - C₁₄ H₂₈ O₆
 - цепи А, В

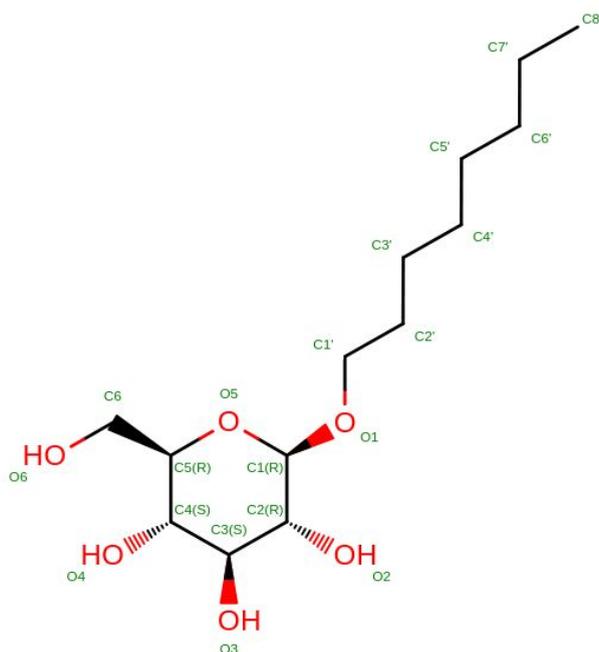


рис. 3. Лиганд BOG

3) Лиганд DIO (рис. 4)

- 1,4-DIETHYLENE DIOXIDE
- C₄ H₈ O₂
- цепь A

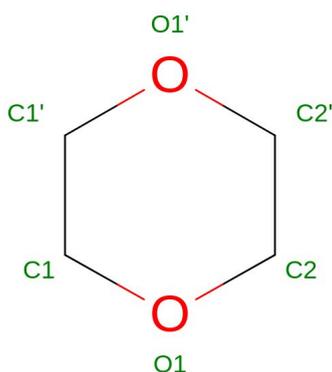


рис. 4 Лиганд DIO

Приведем также следующие характеристики модели:

- метод решения фазовой проблемы: молекулярное замещение (с использованием программы PHASER и моделей структур с PDB-идентификаторами 2QUO и 2ZS6)
- число измеренных рефлексов: 42676
- разрешение набора структурных факторов: 2.69
- полнота набора структурных факторов: 88.5
- диапазон разрешений структурных факторов: 2.69 - 63.39
- параметры кристаллографической ячейки:
a = 210.664, b = 119.296, c = 74.834,
 $\alpha = 90.00$, $\beta = 110.50$, $\gamma = 90.00$
- кристаллографическая группа: C 1 2 1
- наличие некристаллографических симметрий в асимметрической ячейке: нет

Значения индикаторов качества модели в целом

В ходе работы также были проанализированы параметры, характеризующие качество модели в целом:

- R value: 0.211
- R_free: 0.249

Теперь обратимся к построению карт Рамачандрана. В целом, можно сказать, что они отображают оптимальные конформации остова. Для построения необходимых изображений воспользуемся сервисом MolProbity.

Посмотрим на выдачу MolProbity по оценке геометрии:

Ramachandran outliers	4	0.47%
Ramachandran favored	796	93.98%
Rama distribution Z-score	-1.33 ± 0.27	
Bad bonds	2 / 6801	0.03%
Bad angles	8 / 9248	0.09%

Для всех аминокислот рассматриваемой нами структуры была получена следующая карта Рамачандрана: рис. 5.

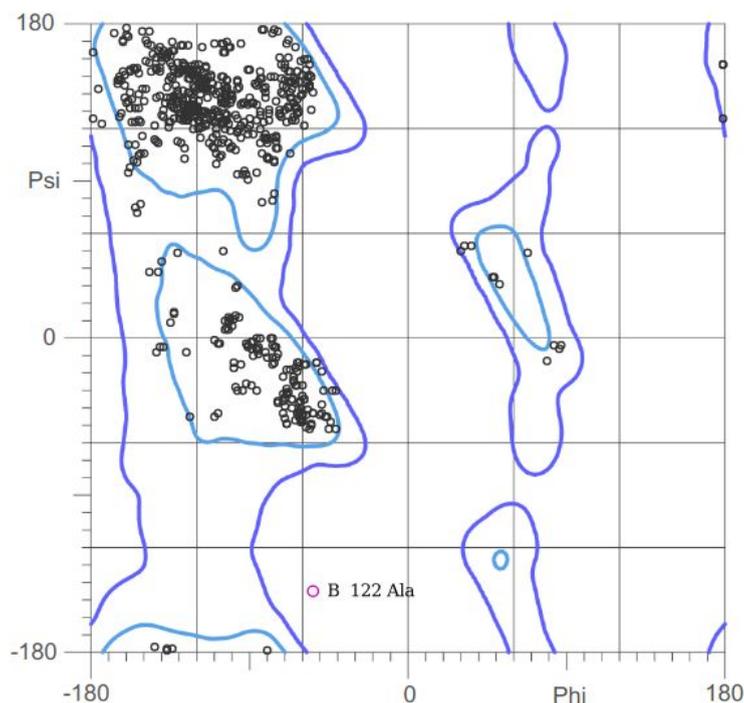


рис. 5 Карта Рамачандрана всех аминокислот структуры 2X6H

.В нашей структуре обнаружено 4 маргинальных (по карте Рамачандрана) остатка, что составляет 0.47% от общего количества аминокислотных остатков.

Перечислим эти “выбросы”:

- 1) 122 Ala (-54.4, -145.8)
- 2) 124 Pro (-20.2, -69.3)
- 3) 123 Gly (-47.5, -171.8)
- 4) 248 Gly (29.0, 47.1)

В "благоприятных" областях располагается 796 остатков (93.98%).

Перейдем к рассмотрению другого параметра, отражающего качество модели в целом - "**clashscore**". По определению, это число так называемых "клешей", пар атомов, расположенных слишком близко друг к другу (перекрывание >0.4 Å), на 1000 атомов. [2] Согласно выдаче MolProbity, число клешей в нашей модели равно 4, что соответствует 99 перцентилю (для структур с таким же разрешением). В целом, можно сказать, что клешей в структуре не так уж и много.

Следующий параметр - "**poor rotamers**" показывает количество аминокислотных остатков, имеющих не характерные для них конформации боковых радикалов. В 2ХН6 их число равно 21, что соответствует 2.87% от общего числа аминокислот. Кажется, что это достаточно хороший показатель для структурной модели.

Другой критерий качества, который, согласно [2] уникален для MolProbity - "**CB deviations**" (>0.25 Å). Отклонение атома C β от идеального положения, как я понимаю, предоставляет нам важную информацию об искажениях валентного угла. Критерий чувствителен к несоответствиям между положением боковых цепей и остова, которые могут быть вызваны неправильной конформацией или неправильным применением рестрейнтов. Величина отклонения C β определяется как расстояние $C_{\beta}(obs) - C_{\beta}(ideal)$, а направление определяется торсионом $N - C_{\alpha} - C_{\beta}(ideal) - C_{\beta}(obs)$. [3] В рассматриваемой структуре число таких отклонений равно 0, что является некоторым бонусом в пользу предположения о том, что 2ХН6 - качественная структура.

Также стоит упомянуть следующие параметры - "**bad bonds**" и "**bad angles**", который говорит о числе связей и углов, значения которых существенно отличаются от теоретических. Для 2ХН6 они равны 2/6801 (0.03%) и 8/9248 (0.09%) соответственно. Если обратить внимание на "ожидаемое" значение, то процент плохих связей должен быть равен 0, а процент плохих углов быть меньше 0.01%. Можно сказать, что в рассматриваемой структуре есть некоторые проблемы с длинами ковалентных связей.

Помимо всего прочего, можно рассмотреть следующий интересный параметр - Real-space R-value (**RSR**). Он отражает соответствие группы атомов модели экспериментальной электронной плотности. [4] Рассчитывается RSR следующим образом:

$RSR = \sum |\rho_{obs} - \rho_{calc}| / \sum |\rho_{obs} + \rho_{calc}|$. Суммирование производится по точкам сетки в пределах заданного радиуса с атомом в центре “сферы”. Значения RSR варьируются от 0 (хорошо) до 1 (плохо). Для оценки RSR воспользуемся сервисом EDS. Согласно выдаче, значение RSR для всего белка равно 0.235. [5] Кажется, что полученное значение R-value достаточно хорошее (оно ближе к 0, нежели к 1).

Посмотрим на распределение значений RSR, рассчитанного для отдельных остатков в каждой из трех цепей структуры 2XN6 (рис. 6 - 8):

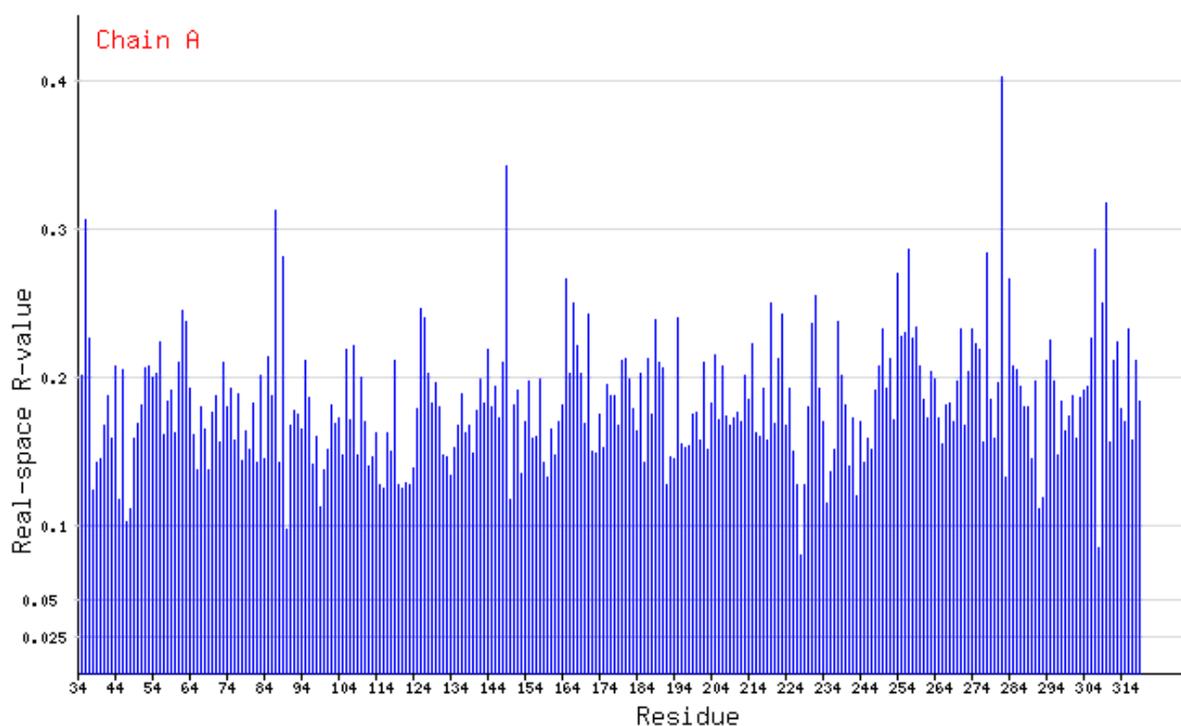


рис. 6 Распределение значений RSR для аминокислотных остатков цепи А

В цепи А (рис.) распределение значений RSR лежит преимущественно в области от 0 до 0.3, что дает нам возможность предполагать, что атомы этой цепи достаточно хорошо соответствуют экспериментальной электронной плотности.

С цепью В (рис.) ситуация несколько иная - у большего числа остатков значения RSR находятся в области от 0 до 0.4 (мы видим увеличение “верхней границы” значений в худшую сторону). То-есть, наблюдается большее несоответствие экспериментальным данным. Перечислим остатки цепи В, RSR которых больше 0.4: Asn66 В (0.534), Thr121 В (0.426), Tyr127 В (0.403), Leu171 В (0.470).

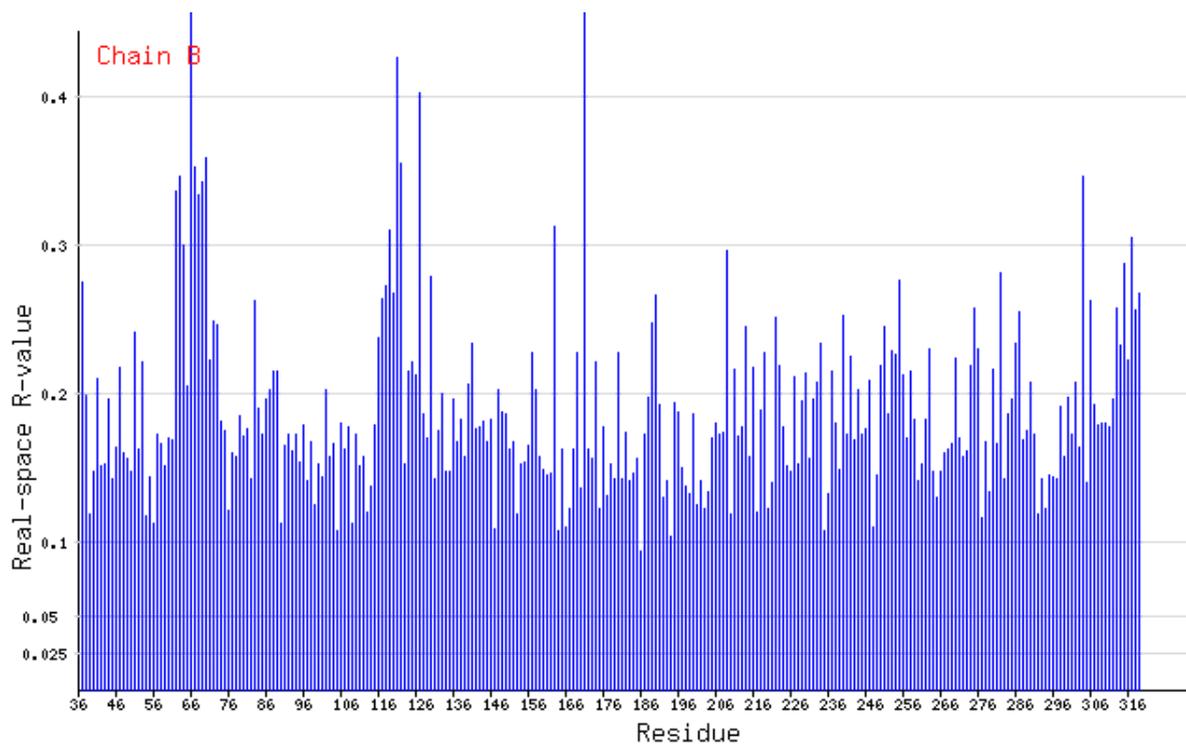


рис. 7 Распределение значений RSR для аминокислотных остатков цепи B

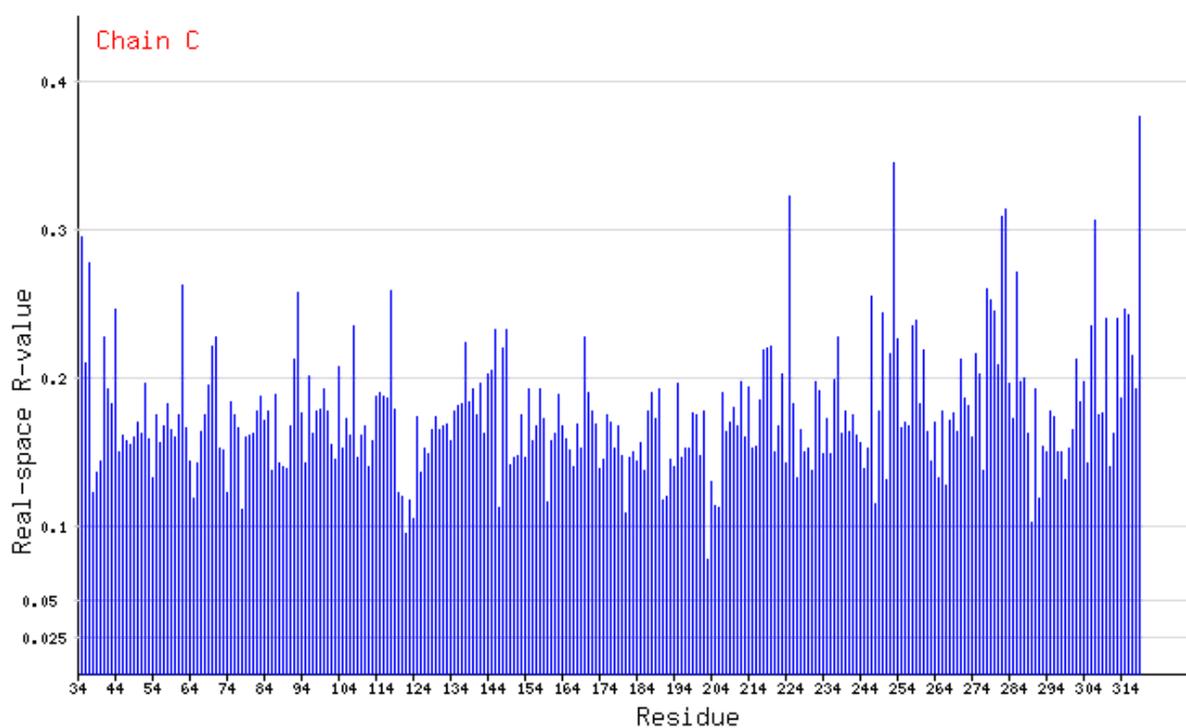


рис. 8 Распределение значений RSR для аминокислотных остатков цепи C

В цепи С, так же, как и в упомянутой цепи А значения Real-space R-value преимущественно лежат в области от 0 до 0.3.

В обнаружении маргинальных остатков нам может помочь еще одна характеристика - **RSR Z-score**, которая рассчитывается следующим образом:

$$Z - score = \frac{RSR - \langle RSR \rangle}{\sigma}$$

Z-score вычисляется относительно остатков такого же типа из PDB-структур с похожим разрешением. Значения $Z > 2$ свидетельствуют о том, что остаток скорее всего является маргинальным по сравнению с другими структурами с тем же разрешением. В целом можно сказать, что RSR - величина абсолютная, а Z-score RSR - относительная (мы вычисляем ее относительно выборки структур из PDB). В выдаче EDS получаем следующую таблицу:

Chain	Nres	<Z>	Sigma	%<-1	%<0	%>1	%>2
A	285	0.05	0.58	0.70	51.58	5.61	1.05
B	283	0.13	0.87	0.71	54.77	13.07	4.24
C	285	-0.05	0.58	1.05	60.70	5.26	1.05
All	853	0.04	0.69	0.82	55.69	7.97	2.11

В EDS есть также интересная вкладка - "**significant regions**". В ней представлены графики, на которых отмечены остатки, проходящие по следующему критерию отбора "маргиналов": $RSR > (\langle RSR \rangle + 2 * \sigma)$.

Так, для цепи А было найдено 3 "маргинала" (1% остатков данной цепи). Перечислим их: Ile149 A, Val282, Tyr310 A (рис. 9).

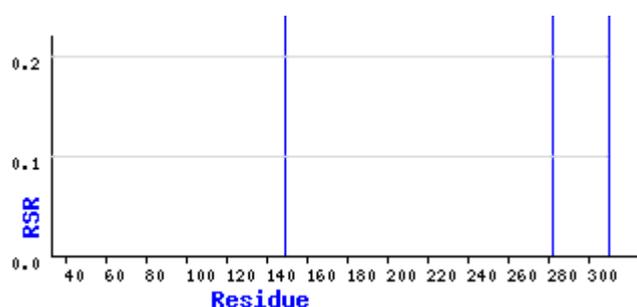


рис. 9 "Significant regions" цепи А

В цепи В было выявлено 12 остатков, которые, по-видимому, имеют значительно более худшую плотность, чем наблюдается в среднем для данного

типа остатков в структурах с аналогичным разрешением: Ile62 B, Leu63 B, Asn66 B, Thr68 B, Gly69 B, Thr70 B, Ser119 B, Thr121 B, Ala122 B, Tyr127 B, Leu171 B, Ser304 B (рис. 10).

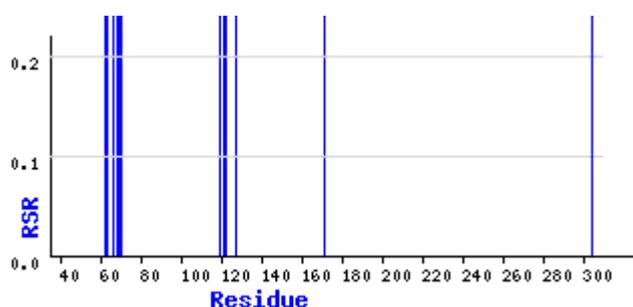


рис. 10 "Significant regions" цепи B

В цепи C наблюдается всего 3 остатка, которые программа выделила в категорию "significant regions": Ile253 C, Ser307 C, Phe319 C (рис. 11).

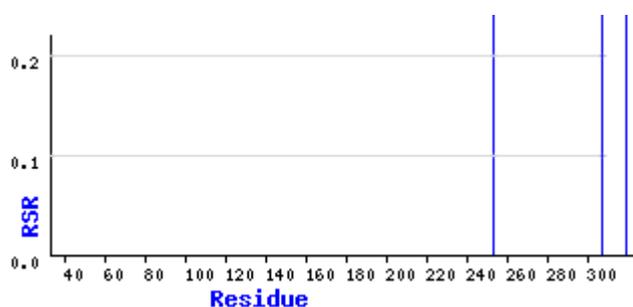


рис. 11 "Significant regions" цепи C

Маргинальные остатки

Информация о качестве отдельных аминокислотных остатков в 2XN6 представлена в файле Full report на странице PDB-записи. Один из представленных графиков показывает последовательность одной из цепей структуры, проаннотированную в соответствии с нарушениями в геометрии и электронной плотности. Аминокислотные остатки окрашены по количеству тех геометрических критериев качества, для которых наблюдается хоть один outlier (выброс), такие критерии будем называть "нарушенными":

"зеленый"	0 критериев "нарушено"
"желтый"	1 критерий "нарушен"
"оранжевый"	2 критерия "нарушено"
"красный"	более 3 критериев "нарушено".

Красная точка отмечает остатки, плохо соответствующие электронной плотности, со значением параметра RSRZ (RSR Z-score) > 2. Группы из двух и более следующих друг за другом аминокислот изображены в виде зеленой линии-линки. Серым покрашены остатки, отсутствующие в структуре.

Для трех цепей рассматриваемой нами структуры 2ХНб в отчете приведены следующие графики (рис. 12 - 14):

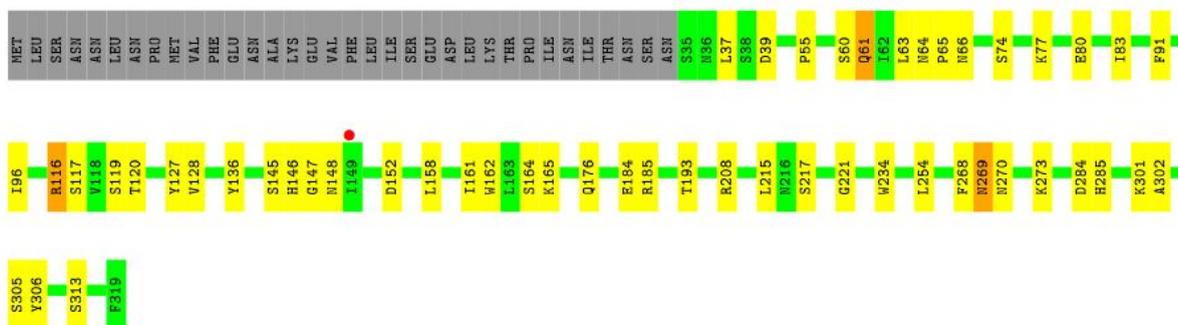


рис. 12 Характеристика остатков цепи А (2ХНб)

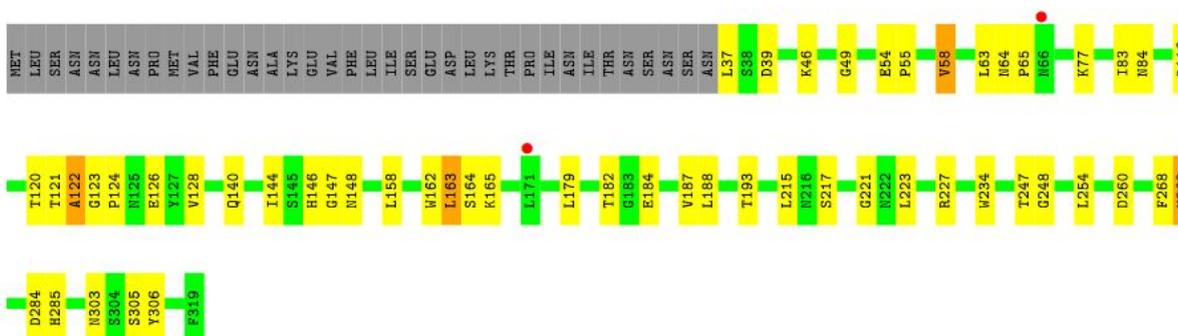


рис. 13 Характеристика остатков цепи В (2ХНб)

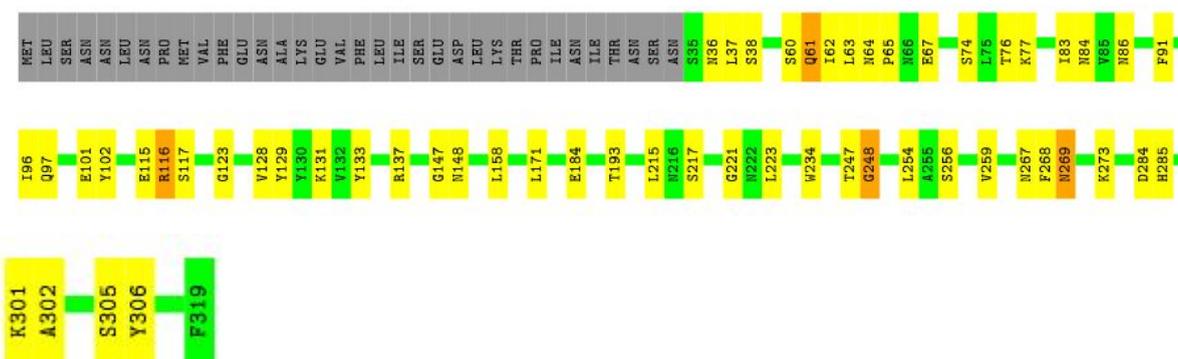


рис. 14 Характеристика остатков цепи С (2ХНб)

Таблица некоторых маргинальных остатков:

Аминокислота	Номер остатка	Цепь	Показатель
Ala	122	B	Запрещенная область карты Рамачандрана (-54.4, -145.8), клевш: atom1: 1:B:121:THR:O, atom2: 1:B:122:ALA:O, клевш: 0.48 Å
Asn	66	B	RSR=0.534 (> 0.4)
Leu	171	B	RSR=0.470 (> 0.4)
Gln	61	A	не ротамер (хи-углы: 267.2, 271.7, 221.6), клевш: atom1:1:A:60:SER:O, atom2:1:A:61:GLN:HG2, клевш: 0.45 Å
Arg	116	A	Нехарактерные углы: 1) NE-CZ-NH1 (наблюдаемый: 124.20, идеальный: 120.30) 2) NE-CZ-NH2 (наблюдаемый: 116.41, идеальный: 120.30) 3) CD-NE-CZ (наблюдаемый: 130.74, идеальный: 123.60)
Asn	269	A	не ротамер (хи-углы: 249.2, 228.5), клевш: atom1: 1:A:268:PHE:O, atom2: 1:A:269:ASN:HB2, клевш: 0.45 Å
Val	58	B	не ротамер (угол хи: 89.6), нехарактерный угол CG1-CB-CG2: (наблюдаемый: 120.31, идеальный: 110.90)
Leu	163	B	не ротамер (хи-углы: 167.5, 322.2)

Gln	61	C	не ротамер (хи-углы: 272.7, 270.8, 226.9)
Arg	116	C	Нехарактерные углы: 1) NE-CZ-NH1 (наблюдаемый: 110.85, идеальный: 120.30) 2) NE-CZ-NH2 (наблюдаемый: 127.33, идеальный: 120.30) 3) CD-NE-CZ (наблюдаемый: 133.89, идеальный: 123.60)

Анализ 5 маргинальных остатков

1. Gln 61, цепь A

Данный остаток был выбран в качестве маргинального из-за того, что он не является ротамером и имеет клеш (перекрывание) атомов с другим остатком. Посмотрим на электронную плотность и то, как рассматриваемый остаток в нее вписывается (рис. 15).

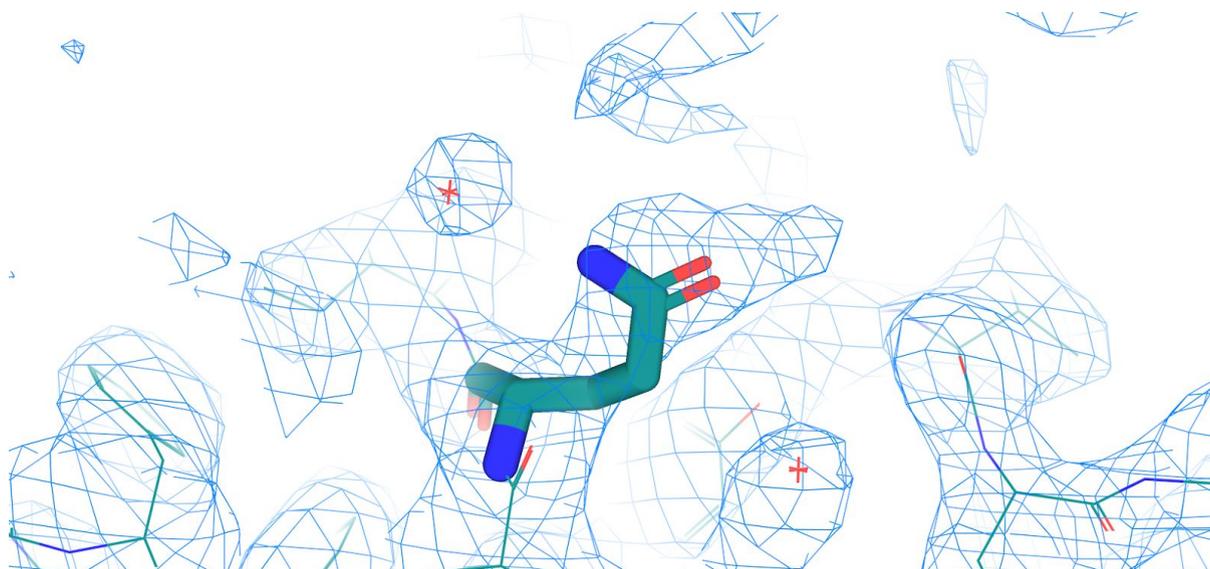


рис. 15 Gln 61 цепи A, электронная плотность (*isomesh v1, 2xh6_2foc, 1, carve=1*)

Мы видим, что аминокислотный глутамин 61 достаточно плохо вписывается в электронную плотность. Атом HG2 глутамина 61 перекрывается с атомом O серина 50, причем размер перекрывания соответствует 0.45 Å (рис. 16).

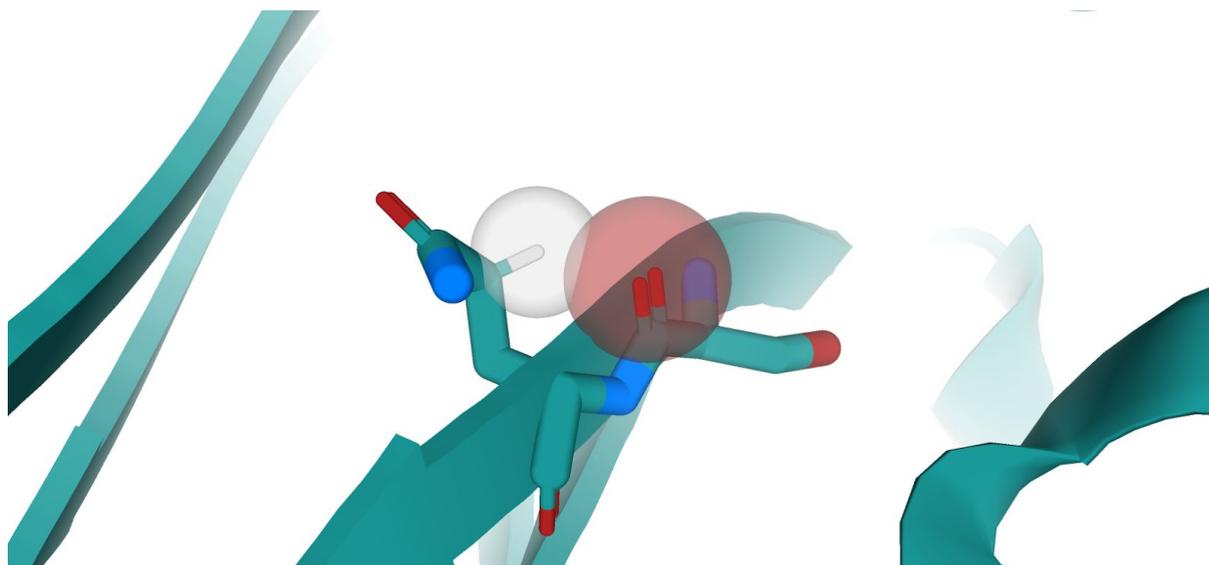


рис. 16 Клеш между атомами Gln 61 цепи A (HG2) и Ser 60 цепи A (O)

Попробуем немного вручную “покрутить” связи внутри остатка, чтобы лучше вписать его в электронную плотность (рис. 17).

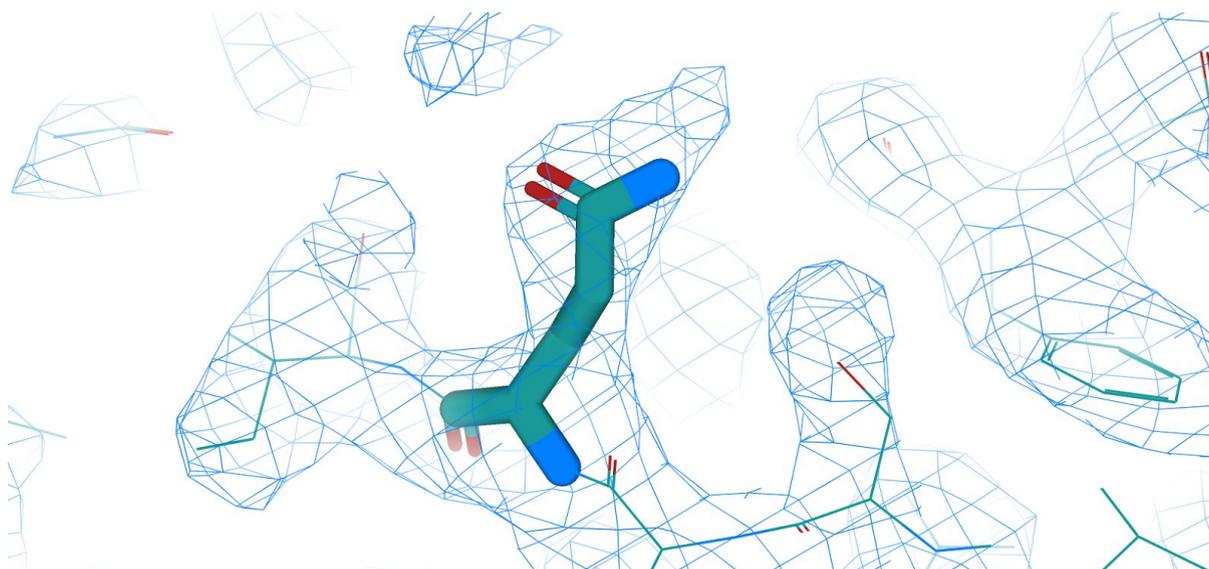


рис. 17 Gln 61 цепи A, электронная плотность (после “кручения” связей)

Получилось не то, чтобы очень хорошо, но остаток уже чуть лучше ложится в плотность. Также были предприняты попытки подобрать ротамер из библиотеки (посредством Mutagenesis), но ни один из них не соответствовал электронной плотности.

По итогу кажется, что боковой радикал глутамина был неправильно вписан в электронную плотность. По модели видно, что такое положение боковой цепи будет конфликтовать с серином (наблюдается клеш). Также, кажется, что было

бы лучше “развернуть” концевой участок боковой цепи, чтобы кислород и азот поменялись местами. Это кажется более правильной ориентацией, так как в этом случае глутамин сможет образовать водородные связи с Ile 62 A (с его остоным кислородом) и Tyr 130 A.

2. Arg 116, цепь A

Данный остаток был выбран в качестве маргинального, так как в нем достаточно много “нехарактерных” углов. Можно также отметить, что он является не “предпочтительным” ротамером (по данным MolProbity), а “разрешенным”.

Отметим углы, значения которых отклоняются от идеальных (рис. 18).

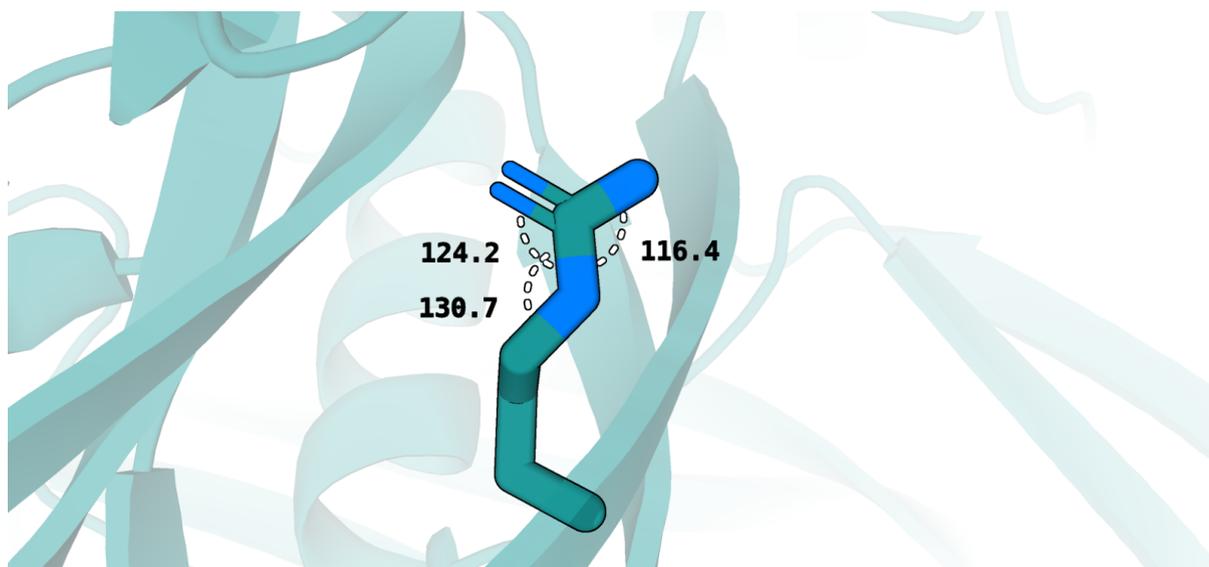


рис. 18 Значения углов NE-CZ-NH1, NE-CZ-NH2, CD-NE-CZ, значения которых отклоняются от идеальных. Остаток - Arg 116 цепи A

Является ли такая расстановка углов проблемой разрешения структуры? Посмотрим на покрытие остатка электронной плотностью (рис. 19).

Как мы видим, остаток достаточно плохо вписан в свою электронную плотность. Возможно, установленное взаиморасположение атомов, следствием которого являются значения углов, которые мы обсуждали выше, является проблемой разрешения.

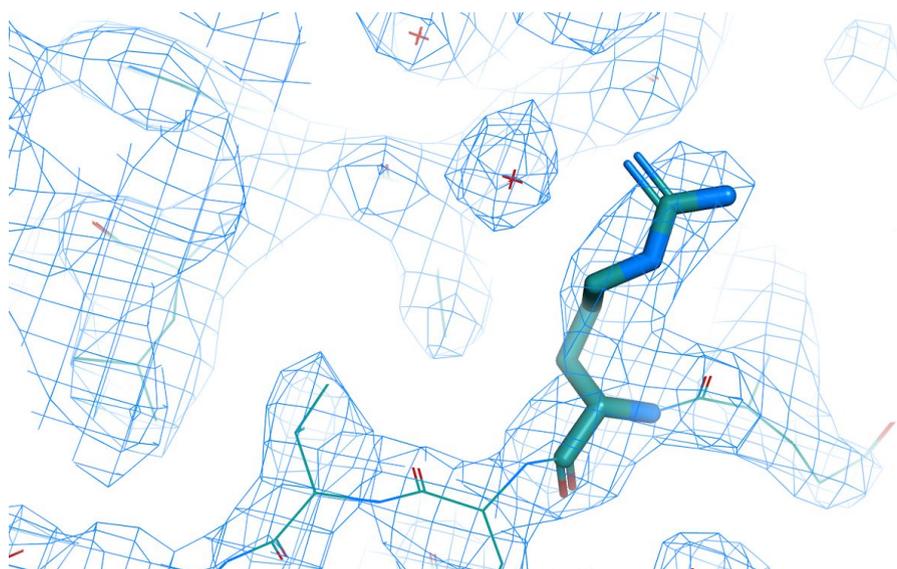


рис. 19 Arg 116 цепи A, электронная плотность (*isomesh v1, 2xh6_2fofc, 1, carve=1*)

Вообще, кажется, что такое положение атомов бокового радикала рассматриваемого нами аргинина в его окружении кажется не вполне верным. Немного изменим положение боковой цепи и покажем, какие водородные связи, вероятно, может сформировать аргинин в новом виде (рис. 20).

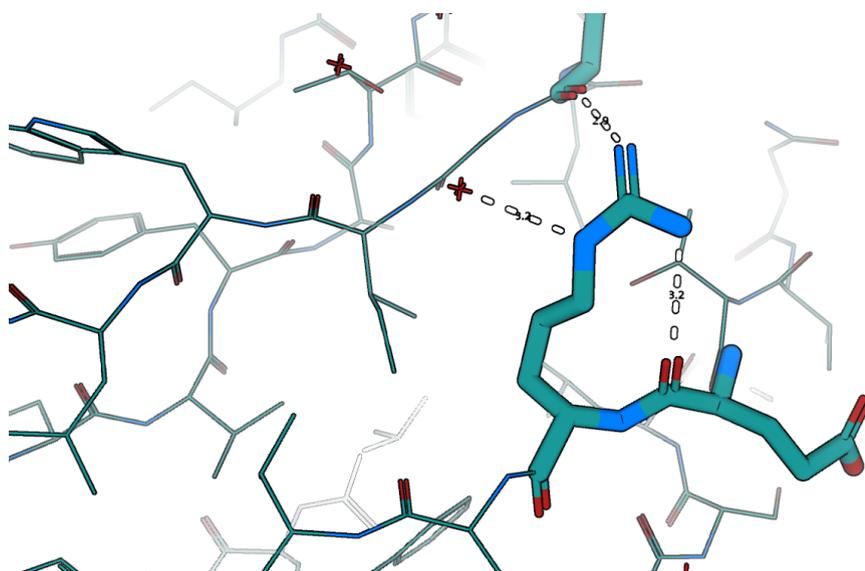


рис. 20 Arg 116, имеющий возможность сформировать водородные связи со следующими остатками: Thr 159 A, Glu 115 A, НОН 2014 A

3. Ala 122, цепь B

Данный остаток был выбран в качестве маргинального потому, что он лежит в запрещенной области карты Рамачандрана, а также имеет перекрытие атомов с другим аминокислотным остатком: O аланина 122 цепи B перекрывается с O треонина 121 цепи B, причем величина перекрытия равна

0.48 Å. Посмотрим на углы ϕ и ψ рассматриваемого нами остатка (рис. 21 и 22 соответственно).

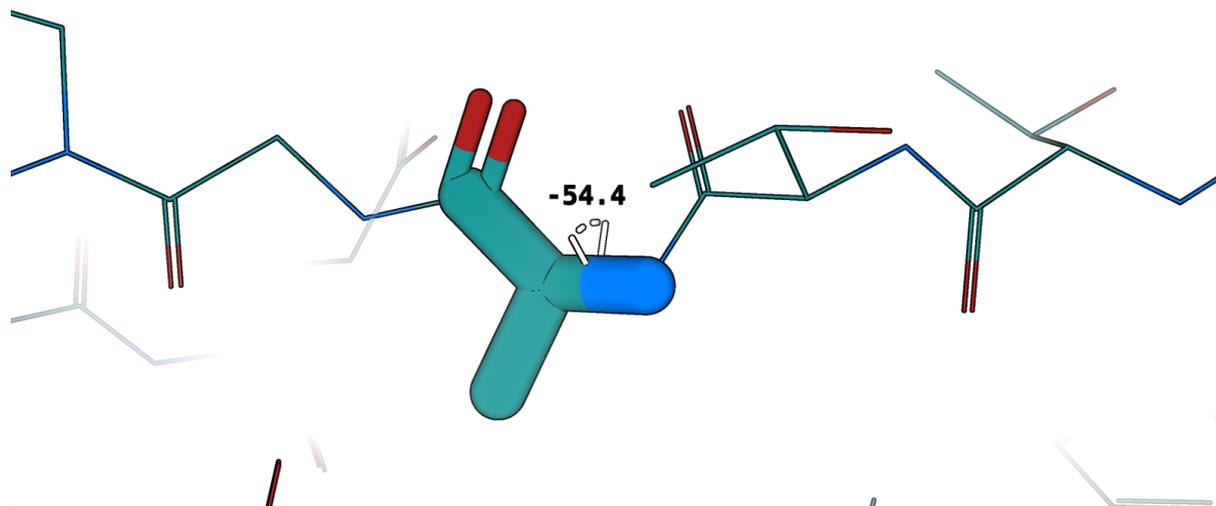


рис. 21 Торсионный угол ϕ остатка Ala 122 цепи B (лежит в запрещенной области карты Рамачандрана)

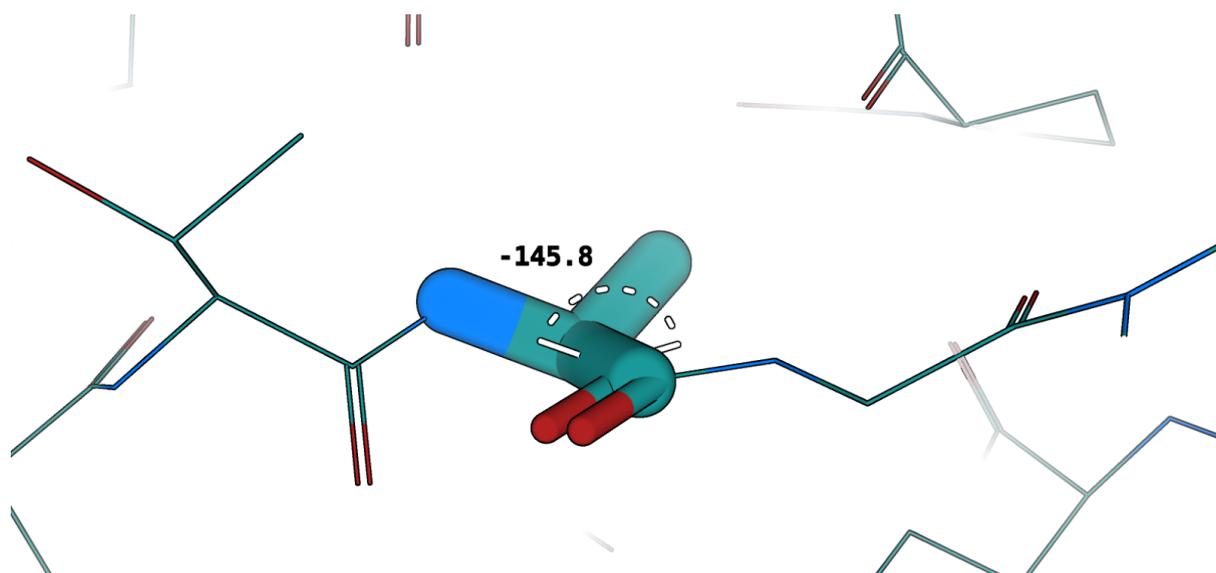


рис. 22 Торсионный угол ψ остатка Ala 122 цепи B (лежит в запрещенной области карты Рамачандрана)

Также, как было сказано ранее, атом один из атомов рассматриваемого нами остатка перекрывается с атомом другого остатка - рис. 23.

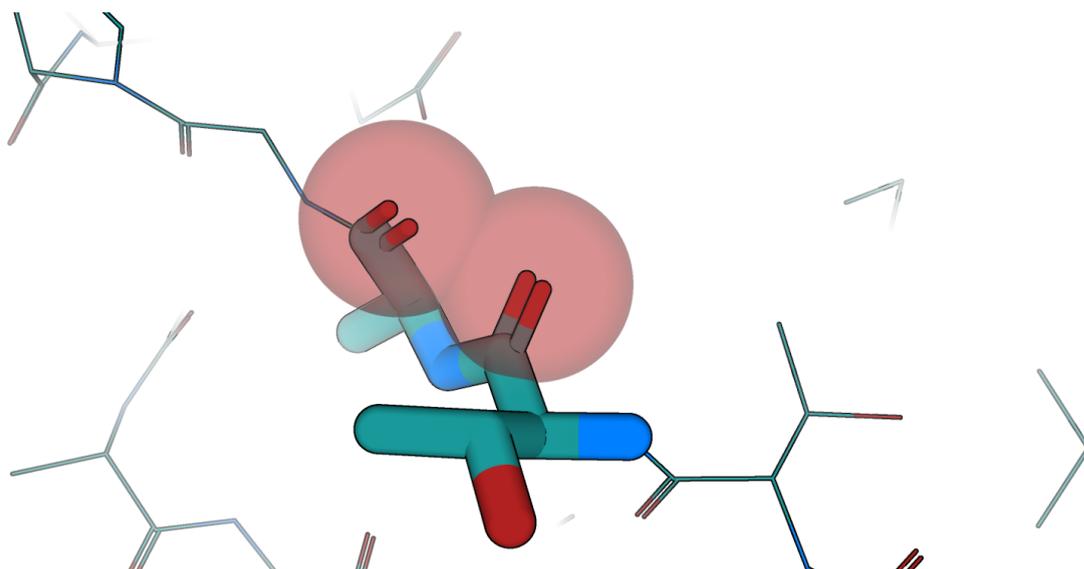


рис. 23 Клеш между атомами Ala 122 цепи B (O) и Thr 121 цепи A (O)

Если посмотреть на электронную плотность, то кажется, что у аланина 122 цепи B большие проблемы (рис. 24). С этим могут быть связаны проблемы в разрешении данного остатка, в его неверных геометрических параметрах.

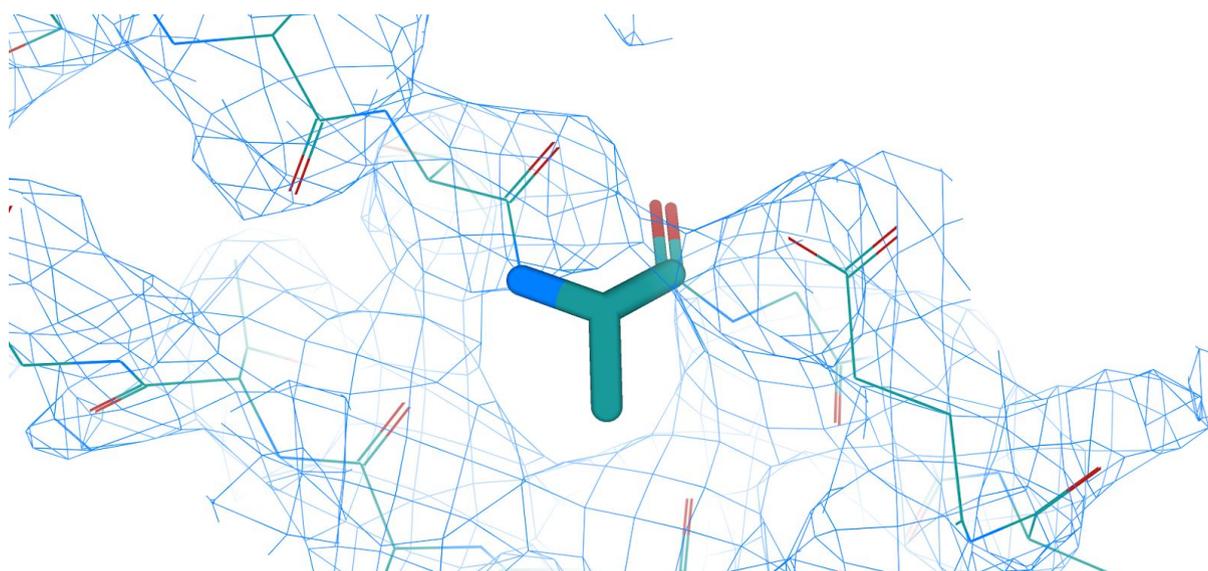


рис. 24 Ala 122 цепи B, электронная плотность (*isomesh v1, 2xh6_2foc, 1, carve=1*)

4. Val 58, цепь B

Данный остаток был выбран в качестве маргинального по двум причинам: 1) он не является ротамером (неоптимальное положение радикала), 2) атомы в его составе формируют угол, значение которого значительно отклоняется от идеального. Посмотрим на угол CG1-CB-CG2, значение которого неоптимально (рис. 25).

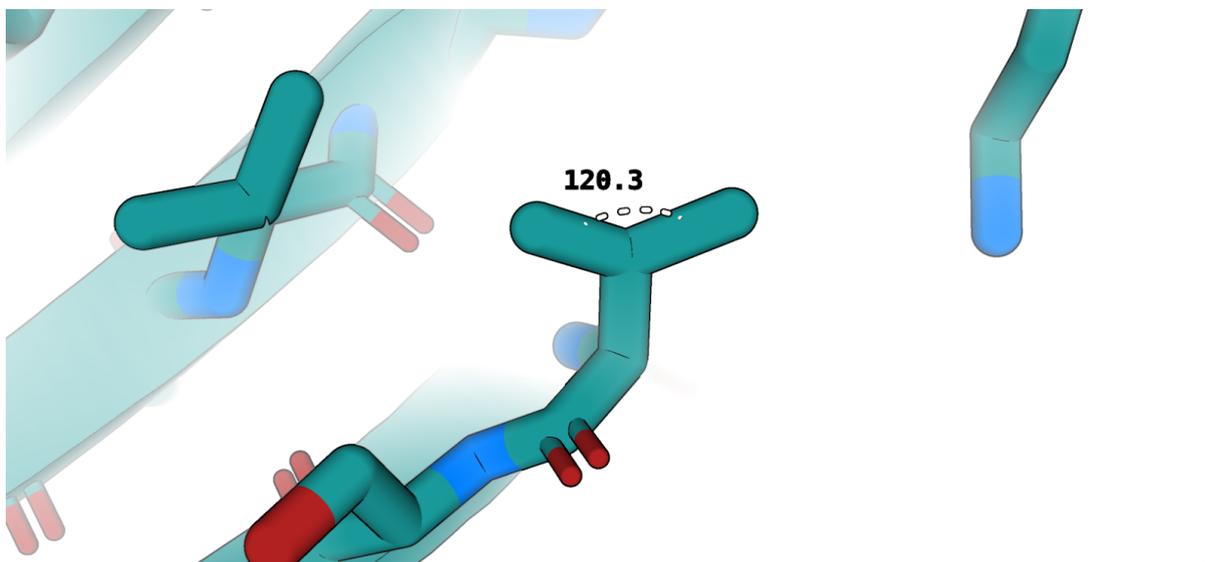


рис. 25 Угол CG1-CB-CG2 Val 58 цепи B

Видно, что атомы углерода CG1 и CG2 достаточно сильно расставлены друг от друга - "идеальное" значение угла - 110.90, наблюдаемое - 120.31. Кроме того, можно привести пример странностей визуализации PyMol - положению рассматриваемого нами остатка не вполне соответствует отрисовка бета-тяжа. Можно также заметить, что валин достаточно хорошо вписывается в электронную плотность, за исключением "концевых" атомов бокового радикала - CG1 и CG2 (рис. 26).

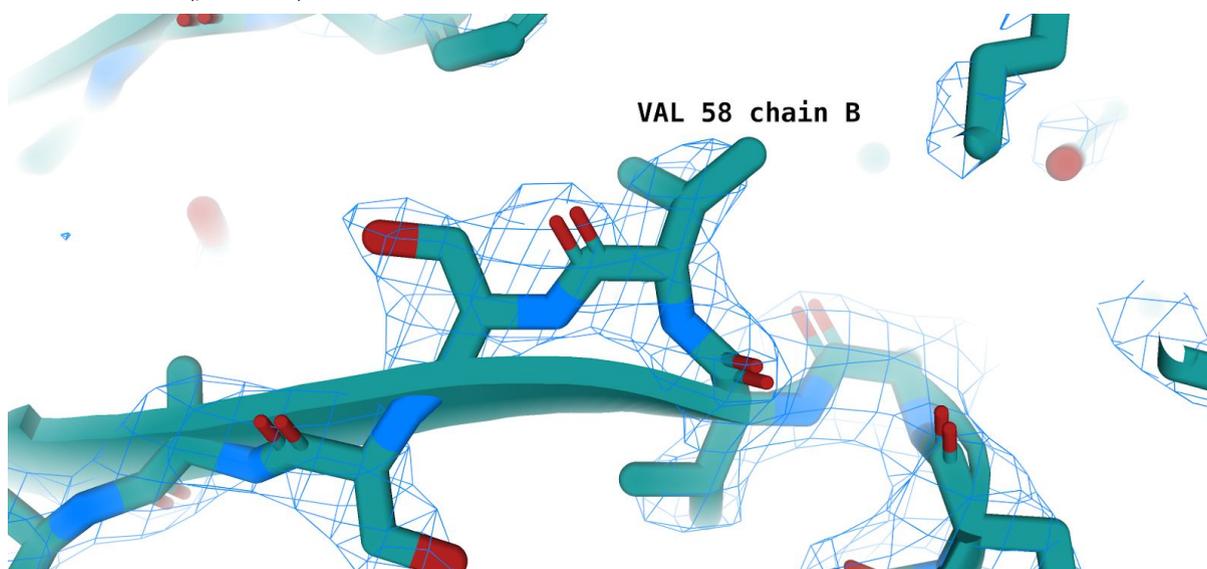


рис. 26 Val 58 цепи B, электронная плотность (*isomesh v1, 2xh6_2fofc, 2, carve=1*)

Также мы выяснили, что Val 58, по видимому, не является ротамером. Попробуем подобрать для нашего случая ротамер из библиотеки посредством Mutagenesis, который не будет противоречить электронной плотности (рис. 27).

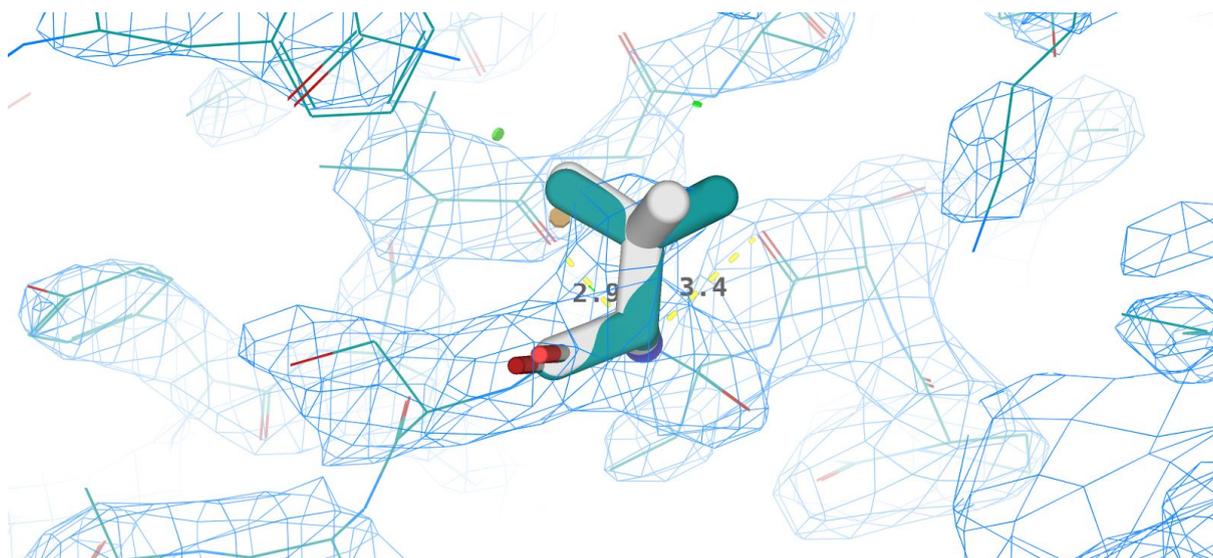


рис. 27 Val 58 цепи B, ротамер 2

Мы видим, что подобранный ротамер (отмечен белым) достаточно хорошо соответствует электронной плотности и не имеет значительных нарушений, клешей по своему положению.

5. Asn 66, цепь B

Данный остаток был выбран для рассмотрения, так как он имеет достаточно плохое значение RSR (0.534, > 0.4). Интересно было бы посмотреть, как его положение соответствует электронной плотности, увидеть, как вообще покрыт ею остаток (рис. 28). Можно также отметить, что Asn 66 цепи B лежит не в “предпочитаемой” области карты Рамачандрана, а в “разрешенной” (скорее просто как заметка).

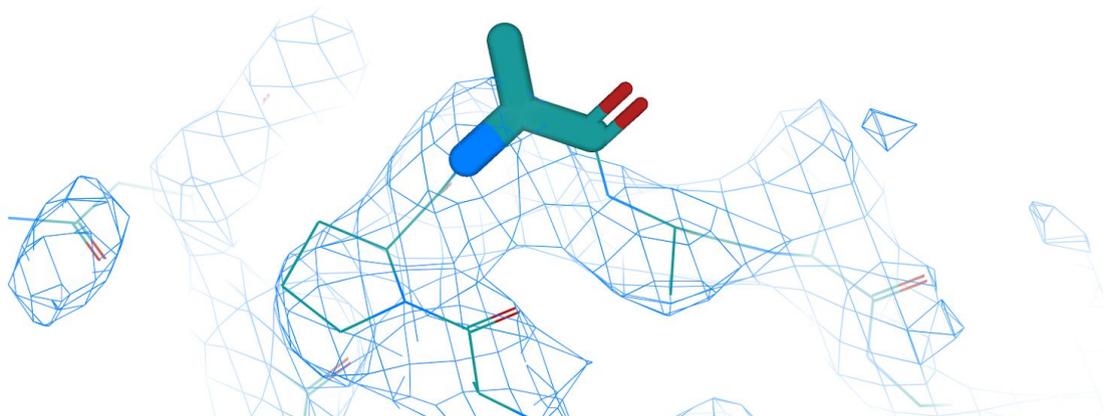


рис. 28 Asn 66 цепи B (isomesh v1, 2xh6_2fofc, 1, carve=1.5)

По рисунку мы видим, что рассматриваемый нами остаток покрыт электронной плотностью, мягко говоря, плохо и авторы, наверное, правильно сделали, что не стали придумывать положения атомам бокового радикала). Плохое покрытие остатка электронной плотностью не удивительно - остаток находится на самой поверхности и, по видимому, является достаточно подвижным (это подтверждается окраской по B-фактору). Можно сказать, что такая ситуация - издержка эксперимента.

Сравнение модели из PDB с моделью из PDB_redo

В этом задании мы воспользовались сервисом PDB_redo, который позволяет оптимизировать PDB-модель.

Параметр	PDB	PDB_redo
R-фактор	0.2161	0.2092
R-free	0.2518	0.2366

Как мы видим, значения R-фактора и R-free несколько снизились, можно сказать, что модель действительно была оптимизирована.

В выдаче PDB_redo представлена информация о наиболее значительных предпринятых изменениях, из нее мы узнаем, что было изменено 8 ротамеров, 13 боковых цепей было повернуто, удалено 29 молекул воды и 7 остатков начали значительно лучше соответствовать своей электронной плотности, что особенно приятно. PDB_redo также предлагает несколько наглядных боксплотов (видим, что качество ротамеров значительно выросло):

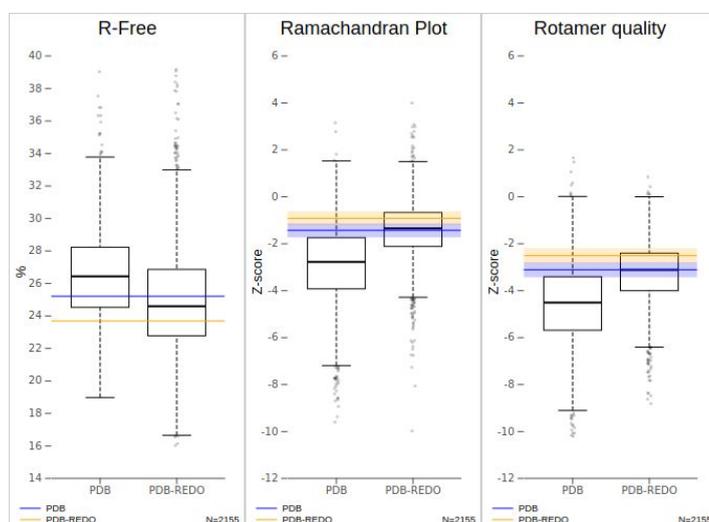


рис. 29 Качество модели по сравнению с близкими по разрешению структурами

Загрузим оптимизированную структуру и посмотрим, что получилось. Можно сказать, что некоторые участки были достаточно сильно “подвинуты” (рис. 30).

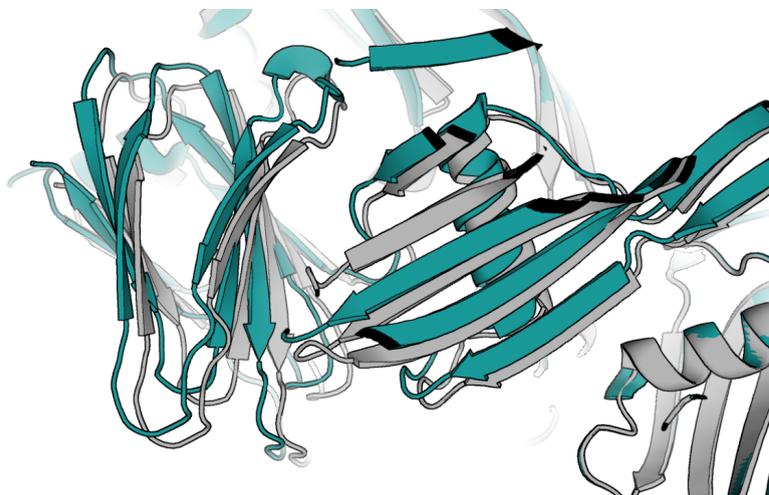


рис. 30 Изменения в положении некоторых участков после работы сервиса PDB_redo (исходная модель 2XН6 - *deepteal*, оптимизированная - *gray80*)

Посмотрим на Gln 61 A, который рассматривался нами ранее в качестве маргинального остатка. Приведем картинки “до” (рис. 31) и “после” (рис. 32). Видно, что в оптимизированной с посредством PDB_redo структуре боковая цепь глутамина может сформировать водородные связи (быть может, не самой лучшей геометрии) с Ile 62 A (с его остовным кислородом) и Tyr 130 A.

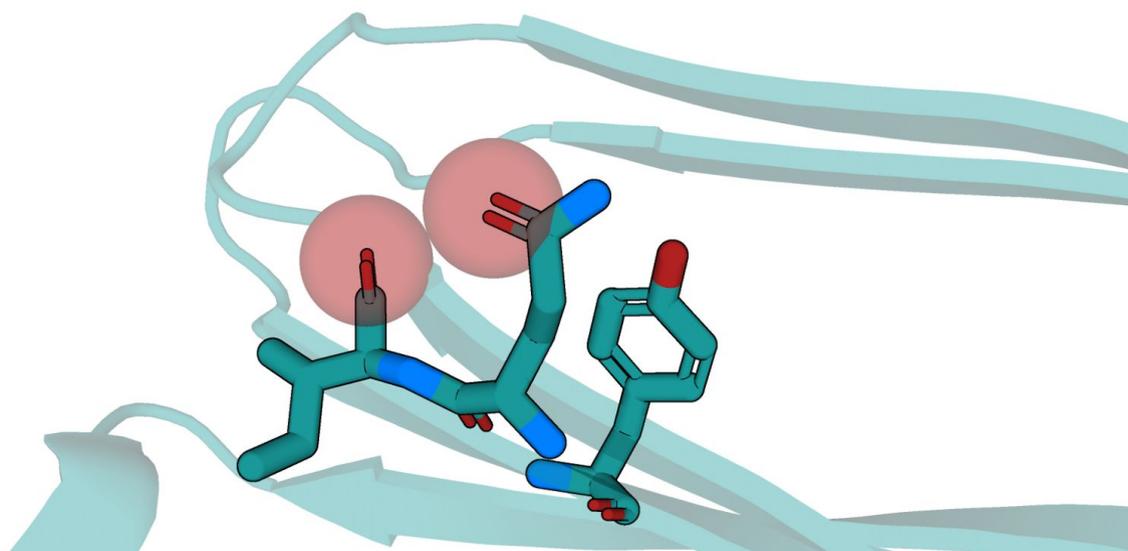


рис. 31 Положение Gln 61 A в исходной модели 2XН6

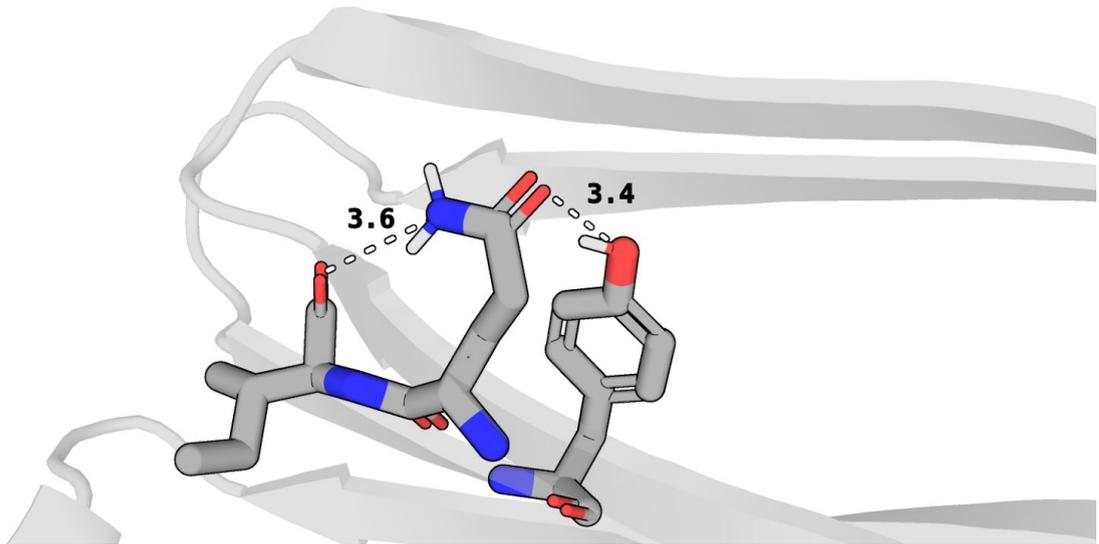


рис. 32 Положение Gln 61 A в оптимизированной модели

Заключение

На основании проведенного анализа данных, можно заключить, что структура 2XН6 расшифрована достаточно хорошо - в ней не так много остатков, которые имеют "плохие" показатели RSR и плохо соответствуют электронной плотности/плохо покрыты, достаточно мало остатков (4 штуки), "маргинальных" по причине нахождения в запрещенных областях карты Рамачандрана, нет остатков, которые бы значились как маргиналы по целым 3 и более критериям. Да, конечно, у структуры есть свои проблемы - Asn 66 B, который не покрыт электронной плотностью, остатки-не ротамеры и некоторые другие случаи, но в целом структура достаточно хорошая. Также нам удалось несколько улучшить модель посредством веб-сервиса PDB_REDO, что не может не радовать. В целом, думаю, можно использовать данную структуру в своей работе.

Список литературы

1. Briggs D. C. et al. Structure of the food-poisoning Clostridium perfringens enterotoxin reveals similarity to the aerolysin-like pore-forming toxins //Journal of molecular biology. – 2011. – Т. 413. – №. 1. – С. 138-149.
2. Chen V. B. et al. MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography //Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography. – 2010. – Т. 66. – №. 1. – С. 12-21.
3. Lovell S. C. et al. Structure validation by Ca geometry: ϕ , ψ and C β deviation //Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. – 2003. – Т. 50. – №. 3. – С. 437-450.
4. Smart O. S. et al. Validation of ligands in macromolecular structures determined by X-ray crystallography //Acta Crystallographica Section D: Structural Biology. – 2018. – Т. 74. – №. 3. – С. 228-236.
5. Tickle I. J. Statistical quality indicators for electron-density maps //Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography. – 2012. – Т. 68. – №. 4. – С. 454-467.

Список используемых веб-сервисов

1. MolProbity <http://molprobity.biochem.duke.edu/>
2. EDS <http://eds.bmc.uu.se/eds/>
3. PDB_REDO <https://pdb-redo.eu/>