

УДК: 548.737

## Уточнение макромолекулярных структур без стереохимических ограничений как метод выявления альтернативных конформаций

Соболев О.В.<sup>1,2\*</sup>, Лунин В.Ю.<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup>Институт математических проблем биологии Российской академия наук, Пуццино, Московская область, 142290, Россия

<sup>2</sup>Пуцинский государственный университет, Пуццино, Московская область, 142290, Россия

**Аннотация.** Выявление в белковой молекуле боковых цепей, присутствующих в кристалле в альтернативных конформациях является трудоемким этапом расшифровки макромолекулярной структуры методом рентгеноструктурного анализа. В нашей работе мы демонстрируем, что существенные изменения координат атомов боковых групп в процессе кристаллографического уточнения с отключенными стереохимическими ограничениями могут служить индикатором наличия альтернативных конформаций.

**Ключевые слова:** структура биологических макромолекул, кристаллографическое уточнение, альтернативные конформации

### ВВЕДЕНИЕ

В макромолекулярной кристаллографии конечная модель белка получается в процессе приведения какой-либо начальной модели в максимально возможное соответствие с экспериментальными данными. Эта процедура называется уточнением и является, математически, минимизацией некоторой целевой функции в многомерном пространстве, размерность которого может достигать до  $10^5$ :

$$R_x = \sum_{hkl} [F_{hkl}^{obs} - F_{hkl}^{calc}(\{\mathbf{p}_j\}_{j=1}^N)]^2 \rightarrow \min, \quad (1)$$

Здесь  $F_{hkl}^{obs}$  — полученные в эксперименте модули структурных факторов (коэффициентов в разложении распределения электронной плотности в ячейке кристалла в ряд Фурье);  $F_{hkl}^{calc}(\{\mathbf{p}_j\}_{j=1}^N)$  — модули структурных факторов, рассчитанные по модели;  $\{\mathbf{p}_j\}_{j=1}^N$  — параметры, определяющие модель исследуемой структуры (в простейшем случае — координаты атомов);  $h, k, l$  — индексы, нумерующие экспериментальные измерения (индексы рефлексов). Сама целевая функция (минимизируемый критерий) может являться при этом суммой порядка  $10^6$  сильно осциллирующих слагаемых. Все это делает процесс минимизации нестабильным, и полученная в результате минимизации конфигурация атомов модели может оказаться бессмысленной с точки зрения химии. Для решения этой проблемы в целевую функцию вводятся дополнительные регуляризирующие штрафные функции. Эти штрафные

\* oleg@impb.ru

\*\* lunin@impb.ru

функции требуют соответствия стереохимических характеристик модели тем, которые были ранее получены для "малых" молекул [1]. Например, в (1) может быть введена дополнительная штрафная функция, контролирующая длины валентных связей:

$$R_x + w_{bond} R_{bond} \rightarrow \min, \quad (2)$$

$$R_{bond} = \sum_{jk} (d_{jk}^{ideal} - d_{jk}^{calc})^2, \quad (3)$$

где  $d_{jk}^{calc}$  — расстояние между атомами в текущей модели,  $d_{jk}^{ideal}$  — некоторое предписанное "идеальное" значение длины соответствующей валентной связи,  $w_{bond}$  — вес, регулирующий жесткость налагаемых стереохимических ограничений, суммирование в (3) идет по всем парам валентно связанных атомов. К стереохимическим характеристикам относят также величины валентных и двугранных углов, требование нахождения некоторых групп атомов в одной плоскости и другие. Введение в минимизируемый критерий таких штрафных функций стабилизирует уточнение, но стереохимические параметры конечной модели при этом смещаются к заранее заданным значениям. В последние годы возникли основания полагать, что полученные из анализа малых молекул значения стереохимических параметров не всегда точно отражают особенности белковых молекул [2].

Степень соответствия полученной модели эксперименту в кристаллографии принято характеризовать величиной "R-фактора", вычисляемой как

$$R = \frac{\sum_{hkl} |F_{hkl}^{obs} - F_{hkl}^{calc}|}{\sum_{hkl} F_{hkl}^{obs}}. \quad (4)$$

Молекула белка представляет собой сложным образом изогнутую цепь, образованную аминокислотными остатками разного типа. Каждый остаток содержит стандартное звено (пептидную группу) и боковую цепь, разную для разных типов остатков. Достигнутый в последнее десятилетие прогресс в технике кристаллизации белков позволил получать кристаллы более высокого качества, что позволяет получить большее количество экспериментальных данных для исследуемого белка. С одной стороны, это дает возможность использовать более сложные модели молекулы белка (например, учитывающие подвижность боковых цепей на поверхности белка). С другой стороны, повышение избыточности данных (отношения числа экспериментальных измерений к числу параметров модели) позволяет надеяться на дополнительную стабилизацию процесса минимизации (1) даже при отсутствии дополнительных регуляризирующих добавок типа (3). Объем экспериментальной информации характеризуется в кристаллографии величиной разрешения, рассчитываемой формально по значениям индексов рефлексов  $hkl$  и интерпретируемой как размер наименьших деталей, различимых на изображении электронной плотности, полученном из ряда Фурье, ограниченного этим набором данных. Наличие экспериментальных данных высокого разрешения позволяет в ряде случаев сохранить устойчивость процедуры минимизации и без использования дополнительных стереохимических ограничений. Принято говорить о работе с высоким (или атомным) разрешением, если разрешение характеризуется величиной 1.2Å и выше.

Одной из особенностей используемых для рентгеноструктурного исследования кристаллов белка является то, что существенная часть (в среднем, 50%) объема кристаллической ячейки занята растворителем. Боковые цепи аминокислотных остатков, находящиеся на поверхности белка и обращенные в растворитель, обладают повышенной подвижностью. Это приводит к тому, что даже в кристаллическом

состоянии такие боковые цепи могут иметь различные (альтернативные) конформации для разных экземпляров молекулы в кристалле. Для кристаллов высокого качества такая неопределенность сводится к небольшому числу альтернатив, которые включаются в модель белка с соответствующими весами (коэффициентами заселенности), отражающими частоту встречаемости тех или иных конформаций в исследуемом кристалле. На данный момент изучаются случаи двух, реже — трех, альтернативных конформаций. Выявление альтернативных конформаций осуществляется посредством трудоемкой процедуры визуального анализа карт распределения электронной плотности в ячейке кристалла и носит, во многом, субъективный характер. В данной статье предлагается более формальная схема анализа, позволяющая существенно ограничить круг "кандидатов" на наличие альтернативных множественных конформаций.

Отказ от использования дополнительных ограничений типа (3) при работе с данными высокого разрешения позволяет, теоретически, получить независимые значения стереохимических параметров, не обусловленные заранее "навязанными" стандартами. Однако даже при сверхвысоком (выше  $0.8\text{\AA}$ ) разрешении избыточности данных не достаточно, чтобы обеспечить стабильное поведение координат всех атомов, уточняемой модели. Поэтому при попытках такого уточнения освобождение от стереохимических ограничений осуществляется только для аминокислотных остатков, имеющих однозначно определенную конформацию. При этом для цепей с выявленными альтернативными конформациями регуляризация сохраняется.

Различия в поведении координат атомов в процессе свободного уточнения (1) привели нас к гипотезе, что эти различия могут быть использованы как индикатор наличия или отсутствия альтернативных конформаций в исследуемой кристаллической структуре для данного остатка. Мы полагаем, что использование данных высокого разрешения обеспечивает стабильность хода уточнения для атомов, имеющих строго фиксированное положение в кристалле. Наоборот, существенное "блуждание" центра атома в ходе уточнения является индикатором неоднозначности положения этого атома в кристалле, что может вызываться наличием альтернативных конформаций для соответствующей цепи.

Большинство низкомолекулярных структур решаются "прямыми" методами, на основании одного экспериментального набора модулей структурных факторов, без использования дополнительной экспериментальной информации. В основе этих методов лежат гипотезы об атомности и "разделенности" атомов. Это позволяет получить уравнения, связывающие значения фаз структурных факторов. В последние годы такого рода подходы были применены и для ряда макромолекулярных объектов. Существуют эмпирические наблюдения и теоретические обоснования того, что эти методы становятся применимыми к макромолекулярным структурам в том случае, когда разрешение набора экспериментальных данных превосходит  $1.2\text{\AA}$  [3,4].

Тот факт, что начиная с разрешения  $1.2\text{\AA}$  структуру белка можно получить только из модулей структурных факторов, используя свойство атомности модели, позволяет предположить, что этого разрешения будет достаточно и для уточнения модели без наложения дополнительных стереохимических ограничений. При снятии стереохимических ограничений модель не должна сильно исказиться в местах, где имеется единственная кристаллическая структура из разделенных атомов. Это условие выполняется для цепей, присутствующих в единственной конформации, что обеспечивает стабильность их поведения при свободном уточнении. В то же время, это условие не выполняется там, где есть альтернативные конформации. Во-первых, в таких местах теряется идеальная кристалличность, т.е. структура молекул белка, находящихся в разных элементарных ячейках, не вполне идентична. Во-вторых, наличие нескольких альтернативных конформаций приводит к наложению атомов из разных конформаций друг на друга при сведении образов молекул в одну

элементарную ячейку, и перекрытию соответствующих им пиков электронной плотности. В таких местах при уточнении без стереохимических ограничений могут ожидать значительные искажения в геометрии модели.

В данной работе мы проверили, могут ли результаты уточнения (1) без ограничений (проведенного на ранней стадии исследования, когда всем остаткам приписана единственная конформация) служить "автоматическим" индикатором наличия альтернативных конформаций для конкретных остатков. Для этого несколько структур, взятых из Protein Data Bank (PDB) [5,6], были уточнены без стереохимических ограничений при разрешении 1.2Å. В результате уточнения основная часть атомов почти не изменила своего положения. Исключением стали несколько остатков, со значительными сдвигами и большими искажениями в геометрии. Сравнение с депонированной в банке структурой показало, что именно для этих остатков авторами структур были заявлены альтернативные конформации. Было установлено наличие корреляции между величинами атомных сдвигов и коэффициентами заселенности альтернативных конформаций. Максимальные отклонения координат атомов были получены для остатков, имеющих коэффициент заселенности около 0.5.

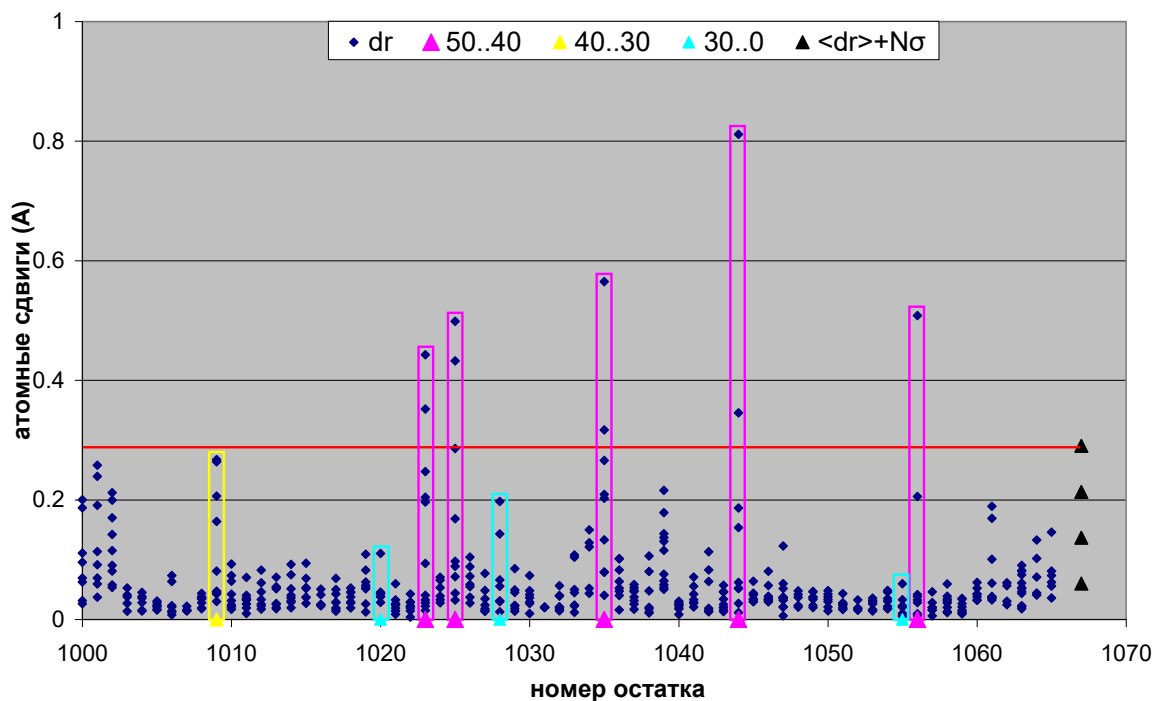
## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения тестов из PDB были взяты несколько моделей, уточненных с разным разрешением. Модели, использованные в тестах, приведены в таблице 1.

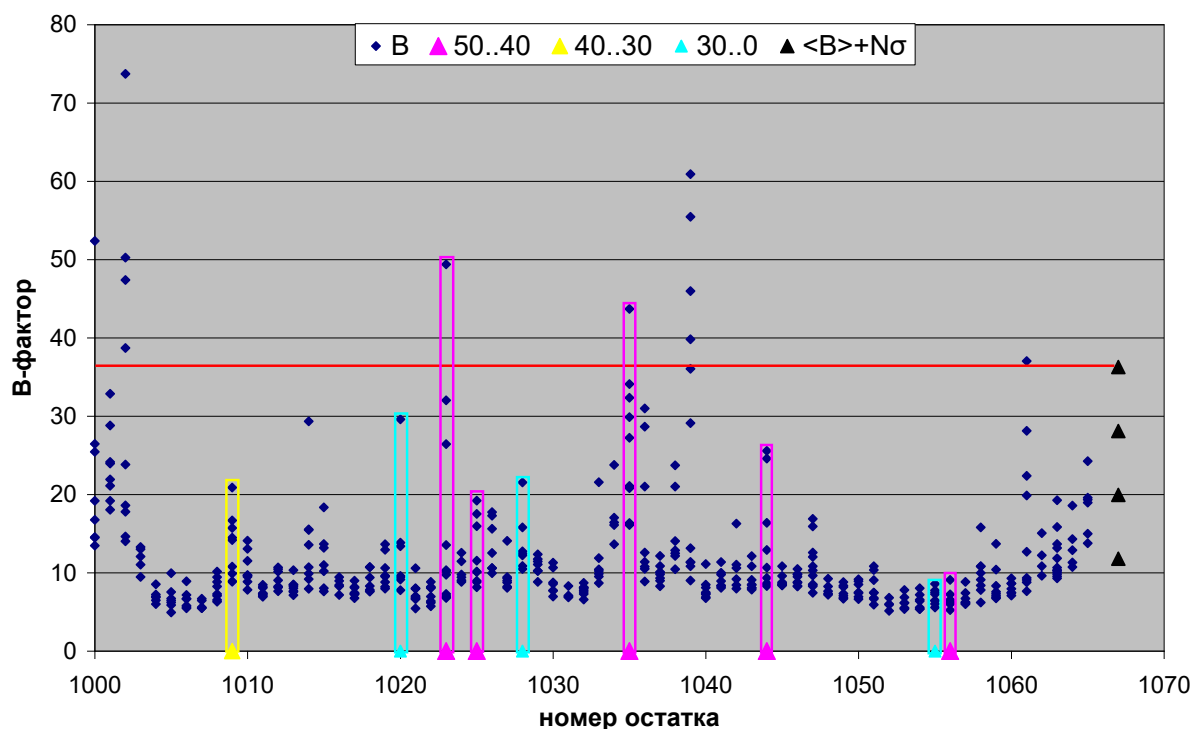
**Таблица 1.** Модели, использованные в тестах.

PDB код	Разрешение экспериментальных данных	R-фактор ( <i>R</i> -free)
1hg7 [7]	1.15 Å	0.120 (0.169)
1r6j [8]	0.73 Å	0.074 (0.087)

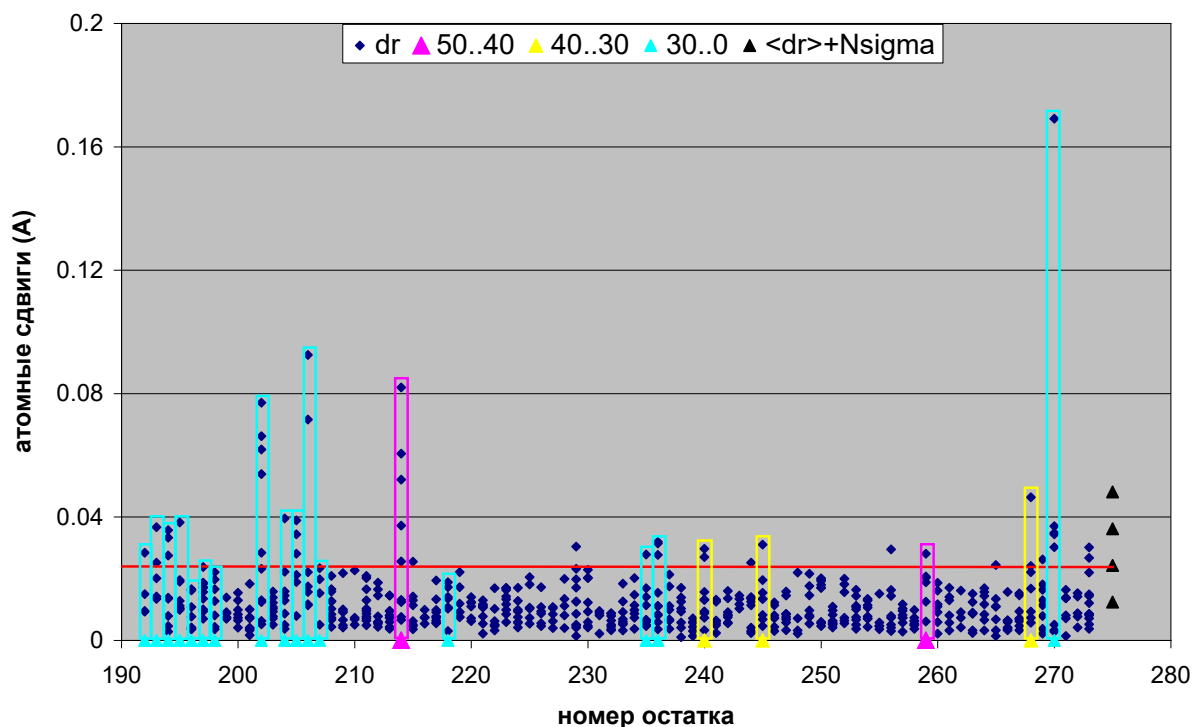
При подготовке модели к тесту из нее удалялись фрагменты, обладающие коэффициентом заселенности меньше 0.5, а оставшимся задавалась единичная заселенность. После этого проводилось стандартное кристаллографическое уточнение для того, чтобы атомы заняли места, характерные для одиночных конформаций, параметры, описывающие неопределенность положений атомов (*B*-факторы) приняли значения, соответствующие разрешению, и для проверки указанных авторами депонированной структуры значений *R*-факторов (4) (мера соответствия модели экспериментальным данным). Вес при стереохимической части критерия при этом подбирался таким образом, чтобы среднеквадратичное отклонение от идеальных длин связей в получаемой в результате уточнения модели находилось в диапазоне 0.015-0.020Å [2]. После этого стереохимические ограничения снимались, и полученная модель уточнялась без них. Все уточнения проводилось программой Phenix.refine [9]. После этого для каждого атома определялось расстояние *dr*, на которое он отклонился от предыдущей модели в процессе свободного уточнения. Результаты тестов представлены на рис.1–5. На представленных диаграммах каждому атому модели соответствует одна точка, по оси абсцисс отложены номера аминокислотных остатков, к которым относятся эти атомы. Таким образом, каждому аминокислотному остатку отвечает "столбик" из точек, характеризующих сдвиги отдельных атомов этого остатка.



**Рис. 1. Атомные сдвиги для 1hg7.** Каждая колонка синих точек показывает сдвиги атомов ( $dr$ ) в одном остатке. Остатки, для которых авторы структуры ввели альтернативные конформации, обведены прямоугольниками разных цветов. Цвет отображает коэффициент заселенности. Черные треугольники справа отображают уровни  $\langle dr \rangle + N\sigma$ , где  $\langle dr \rangle$  - средний сдвиг атомов всей структуры,  $\sigma$  - среднеквадратичное отклонение сдвигов,  $N=0,1,2,3$ . Нумерация остатков взята из PDB файла. Красная линия отображает уровень, выше которого, по мнению авторов, сдвиги можно считать значимыми.



**Рис. 2. B-факторы для 1hg7.** Каждая колонка синих точек показывает B-факторы атомов ( $B$ ) в одном остатке. Остатки, для которых авторы структуры ввели альтернативные конформации, обведены прямоугольниками разных цветов. Цвет отображает коэффициент заселенности. Черные треугольники справа отображают уровни  $\langle B \rangle + N\sigma$ , где  $\langle B \rangle$  - средний B-фактор атомов всей структуры,  $\sigma$  - среднеквадратичное отклонение B-факторов,  $N=0,1,2,3$ . Красная линия отображает уровень, выше которого, по мнению авторов, B-факторы можно считать значимыми.



**Рис. 3. Атомные сдвиги для 1r6j.** Каждая колонка синих точек показывает сдвиги атомов ( $dr$ ) в одном остатке. Остатки, для которых авторы структуры ввели альтернативные конформации, обведены прямоугольниками разных цветов. Цвет отображает коэффициент заселенности. Черные треугольники справа отображают уровни  $\langle dr \rangle + N\sigma$ , где  $\langle dr \rangle$  - средний сдвиг атомов всей структуры,  $\sigma$  - среднеквадратичное отклонение сдвигов,  $N=0,1,2,3$ . Красная линия отображает уровень, выше которого, по мнению авторов, сдвиги можно считать значимыми.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявление альтернативных конформаций является трудоемким этапом в процессе уточнения модели и требует высокой квалификации исследователя. Этот процесс не формализован, исследователь выносит свою экспертную оценку о наличии или отсутствии альтернативной конформации для конкретного остатка на основе визуального анализа карт распределения электронной плотности. Для проведения данного исследования были выбраны модели, обладающие малым финальным значением  $R$ -фактора, что позволяет предположить хорошее качество соответствующей модели. Тем не менее, даже в этом случае принятые авторами структуры решения о наличии или отсутствии альтернативных конформаций носят оттенок субъективности, что следует принимать во внимание при анализе результатов тестов. На рис. 1 видно, что все остатки, для которых авторы ввели альтернативные конформации с коэффициентом заселенности 0.4–0.5 имеют самые большие сдвиги атомов. Для остатков с меньшим коэффициентом заселенности получены менее значительные сдвиги, а для большинства остатков сдвиги не значительны. Для некоторых остатков с коэффициентом заселенности от 0 до 0.3 были получены сдвиги, не отличающиеся от основной части модели. Это может быть объяснено слишком малым влиянием альтернативной конформации с низким коэффициентом заселенности на процесс уточнения модели и необязательностью ее включения в модель. Аналогичные наблюдения можно сделать и для второй модели.

Для описания динамической и статической неупорядоченности атомов белка в кристалле, для каждого атома в модель вводятся дополнительные уточняемые параметры –  $B$ -факторы. Высокое значение  $B$ -факторов может указывать на гибкость полипептидной цепи и, вероятно, на наличие альтернативных конформаций. Поэтому

анализ значений В-факторов с целью выявления кандидатов на наличие альтернативных конформаций является обычной практикой при рентгеноструктурном исследовании белков. Нами был проведен анализ величин В-факторов нескольких структур для того, чтобы определить, насколько эта практика оправдана, и насколько величины В-факторов могут служить индикатором наличия альтернативных конформаций. Результаты приведены в виде диаграмм, аналогичных диаграммам для атомных сдвигов. На рис. 2 показано распределение величин В-факторов для модели 1hg7. При сравнении с рис. 1, на котором показаны атомные сдвиги той же модели, видно, что большие сдвиги и большие значения В-факторов не всегда совпадают. Кроме того, видно, что большие значения В-факторов не всегда соответствуют наличию альтернативных конформаций в модели. Был посчитан коэффициент линейной корреляции между В-факторами и атомными сдвигами, который составил 0.5–0.6. Все это указывает на то, что распределение величин В-факторов отличается от распределения атомных сдвигов, и, несмотря на то, что в некоторых частях молекулы распределение В-факторов и атомных сдвигов похоже, В-факторы не дают всей информации, которую можно получить из распределения сдвигов атомов.

Ранее упоминалось, что мы ожидаем различие в поведении при свободном уточнении координат атомов для остатков, имеющих альтернативные конформации, по сравнению с атомами остатков, имеющих единственную конформацию, при разрешении используемого набора данных выше 1.2 Å. Для проверки этой гипотезы в тестах нами были использованы объекты, структура которых была определена с использованием кристаллов, дающих дифракционное поле разного разрешения. Атомные сдвиги в моделях, полученных на основе экспериментальных данных сверхвысокого разрешения (~0.7Å) оказались значительно меньше, чем в моделях полученных при разрешении 1.2Å. Но даже в таких моделях, для остатков, находящихся в альтернативных конформациях полученные значения атомных сдвигов были ощутимо больше сдвигов атомов, однозначно локализованных в кристалле (рис.3). Это позволяет говорить о том, что предложенный нами метод идентификации альтернативных конформаций применим и при разрешении набора данных выше 1.2Å.

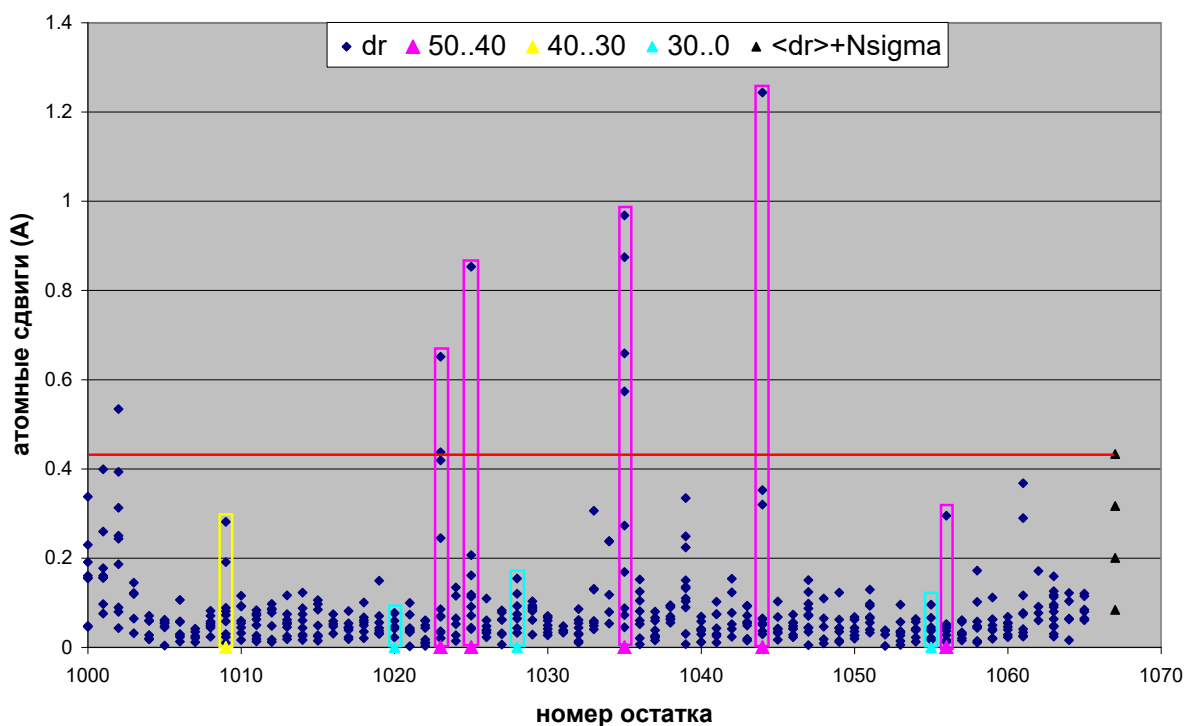
Чтобы выяснить, работает ли данный метод при более низких разрешениях, мы уточнили модель 1hg7, ограничив набор экспериментальных данных разрешением 1.5Å и 2.0Å. Исходя из теоретических посылок, можно было ожидать, что при уточнении без ограничений на таких низких разрешениях модель полностью разрушится, и картина смещения атомов потеряет характерные пики. Кроме того, должно наблюдаться снижение значения *R*-фактора из-за снятия стереохимических ограничений, и одновременное повышение значения *R*-free (показатель достоверности модели, вычисляемый аналогично (4), но по специально зарезервированной группе рефлексов, не включаемых в минимизируемый критерий (1)), т.к. модель будет искажена. Действительно, на рисунках 4 и 5 для разрешения 1.5Å и 2.0Å соответственно видно, что при 1.5Å картина уже не такая четкая, как при 1.15Å. При 2.0Å она полностью теряет свойство выявлять остатки, находящиеся в альтернативной конформации, из-за того, что практически все остатки имеют значительные смещения от первоначальной позиции. Величины *R*-факторов изменяются так, как предполагалось, они представлены в табл.2.

**Таблица 2.** Изменение величины *R*-факторов в модели 1hg7.

	Указано в PDB	1.15 Å	1.5 Å	2.0 Å
<i>R</i>	0.12	0.1318	0.1054	0.1050
<i>R</i> -free	0.169	0.1723	0.1911	0.3002

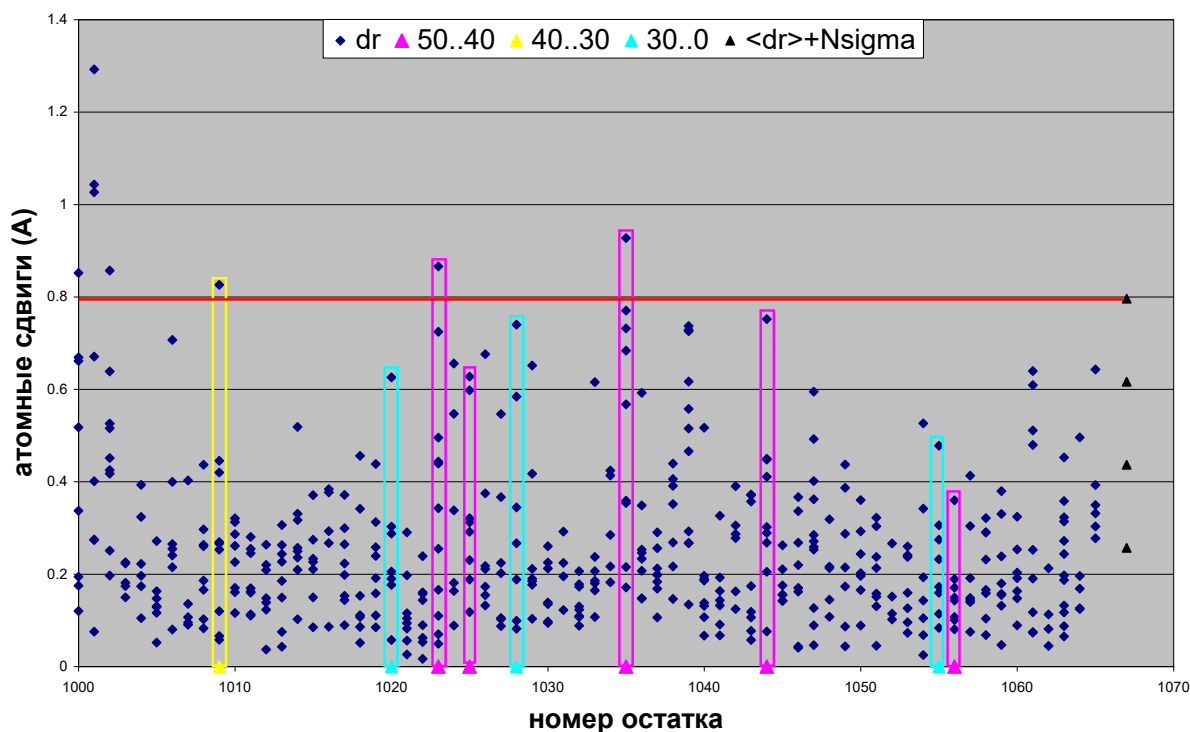
Исходя из этого эксперимента, можно сделать вывод, что метод может применяться с максимальной эффективностью на разрешении  $1.2\text{\AA}$  и выше, на  $1.5\text{\AA}$  он несколько теряет точность, а при разрешении  $2.0\text{\AA}$  и ниже он не применим.

Чтобы определить, на сколько полученные результаты могут быть повторены через некоторое время, и в какой мере они стабильны и не зависят от используемой программы уточнения, одно из уточнений было повторено с помощью более новой версии программы Phenix.refine. Разница в координатах атомов между 2 моделями, полученными в ходе одинакового уточнения разными версиями, для большинства атомов не превысила  $0.02\text{\AA}$  (рис. 6). Тем не менее, для некоторых атомов было получено большее отклонение, составившее  $0.06\text{--}0.16\text{\AA}$ . При более внимательном рассмотрении оказалось, что для 4 из 5 остатков, для которых авторы структуры включили в модель альтернативные конформации с коэффициентом заселенности от 0.4 до 0.5, эти отклонения являются наибольшими. Такие расхождения можно объяснить тем, что вероятно, в новой версии программы были скорректированы некоторые скрытые от пользователя параметры, влияющие на ход уточнения, изменения которых оказалось достаточным, чтобы уточнение модели в плохо упорядоченных местах (в местах наличия альтернативных конформаций) пошло по-другому. Несмотря на то, что некоторые отклонения были найдены, они не могут оказать какого-либо влияния на картину в целом. Отклонения при уточнении без стереохимических ограничений составляют от  $0.3$  до  $0.8\text{\AA}$ , а максимальная зафиксированная разница из-за перехода на новую версию составила  $0.16\text{\AA}$ . В то же время этот анализ показывает, что повышенная нестабильность поведения координат неоднозначно локализованных в кристалле атомов может проявляться и при сравнении результатов уточнения разными программами или в разных режимах.

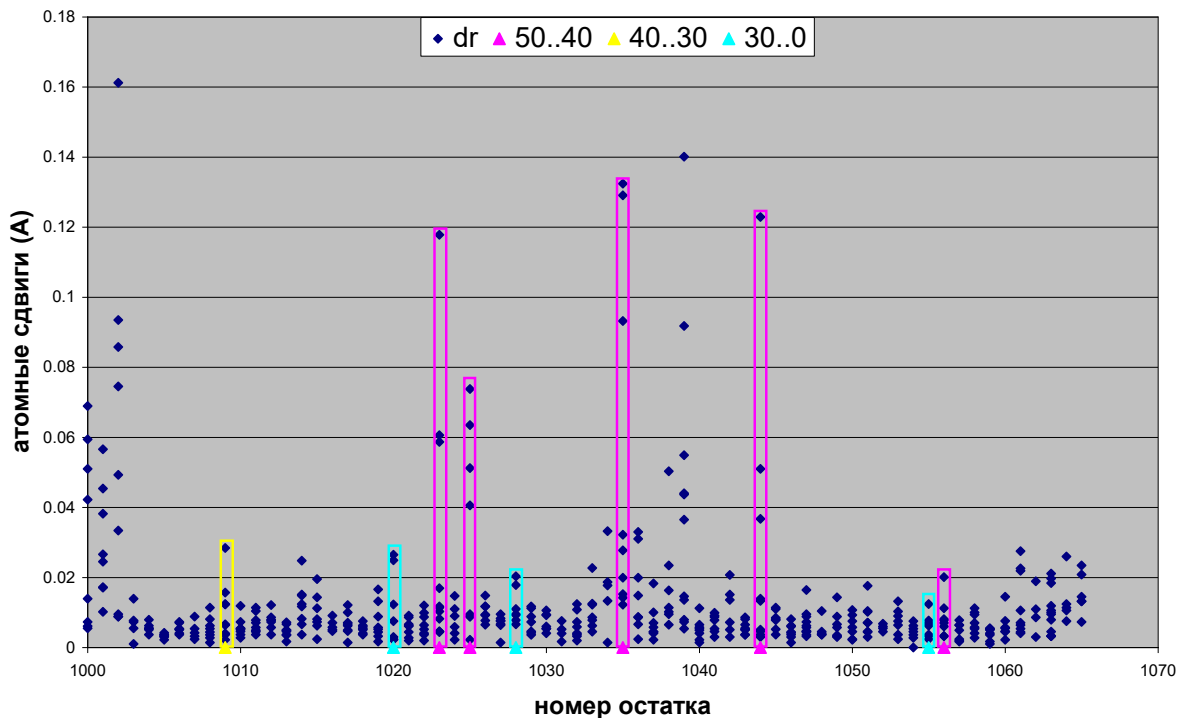


**Рис. 4.** Атомные сдвиги для 1gh7 при уточнении на  $1.5\text{\AA}$ . Каждая колонка синих точек показывает сдвиги атомов (dr) в одном остатке. Остатки, для которых авторы структуры ввели альтернативные конформации, обведены прямоугольниками разных цветов. Цвет отображает коэффициент заселенности. Черные треугольники справа отображают уровни  $\langle dr \rangle + N\sigma$ , где  $\langle dr \rangle$  - средний сдвиг атомов всей структуры,  $\sigma$  - среднеквадратичное отклонение сдвигов,  $N=0,1,2,3$ . Красная линия отображает уровень, выше которого, по мнению авторов, сдвиги можно считать значимыми.





**Рис. 5.** Атомные сдвиги для 1gh7 при уточнении на  $2 \text{ \AA}$ . Каждая колонка синих точек показывает сдвиги атомов (dr) в одном остатке. Остатки, для которых авторы структуры ввели альтернативные конформации, обведены прямоугольниками разных цветов. Цвет отображает коэффициент заселенности. Черные треугольники справа отображают уровни  $\langle dr \rangle + N\sigma$ , где  $\langle dr \rangle$  - средний сдвиг атомов всей структуры,  $\sigma$  - среднеквадратичное отклонение сдвигов,  $N=0,1,2,3$ . Красная линия отображает уровень, выше которого, по мнению авторов, сдвиги можно считать значимыми.



**Рис. 6.** Атомные сдвиги для 1gh7 при уточнении новой версией Phenix.refine. Каждая колонка синих точек показывает сдвиги атомов (dr) в одном остатке. Остатки, для которых авторы структуры ввели альтернативные конформации, обведены прямоугольниками разных цветов. Цвет отображает коэффициент заселенности. Нумерация остатков взята из PDB файла.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы полагаем, что свободное уточнение без стереохимических ограничений может быть использовано на ранних этапах уточнения структур при наличии данных атомного разрешения как формальная процедура, выявляющая остатки, для которых наиболее вероятно наличие альтернативных конформаций. Эти остатки должны быть в первую очередь проверены с помощью карт распределения электронной плотности. Предложенная процедура может избавить исследователя от просмотра всей модели в поисках остатков, находящихся в альтернативных конформациях, и позволит обратить основное внимание на остатки, для которых альтернативные конформации наиболее вероятны.

Работа была поддержана грантом РФФИ 07-04-00137а.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Engh R., Huber R. Accurate bond and angle parameters for X-ray protein-structure refinement. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 1991. **47**. 392–400.
2. Jaskolski M., Gilski M., Dauter Z., Wlodawer A. Stereochemical restraints revisited: how accurate are refinement targets and how much should protein structures be allowed to deviate from them? *Acta Cryst.* 2007. **D63**. 611–620
3. Sheldrick G.M. Phase Annealing in SHELX-90: Direct Methods for Larger Structures. *Acta Cryst.* 1990. **A46**. 467–473
4. Morris R. J., Bricogne G. Sheldrick's 1.2 Å rule and beyond. *Acta Cryst.* 2003. **D59**. 615–617
5. Bernstein F.C., Koetzle T.F., Williams G.J.B., Meyer E.F. Jr, Brice M.D., Rogers J.R., Kennard O., Shimanouchi T., Tasumi M. The Protein Data Bank: a computer based archival file for macromolecular structures. *J Mol Biol.* 1977. **112**. 535–547.
6. Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* 2000. **28**. 235–242.
7. Antson A.A., Smith D.J., Roper D.I., Lewis S., Caves L.S., Verma C.S., Buckley S.L., Lillford P.J., Hubbard R.E. Understanding the mechanism of ice binding by type III Antifreeze Proteins. *J.Mol.Biol.* 2001. **V. 305**.
8. Kang B.S., Devedjiev Y., Derewenda U., Derewenda Z.S.. The Pd2 domain of syntenin at ultra-high resolution: bridging the gap between small molecule and macromolecular crystal chemistry *J.Mol.Biol.* 2004. **V. 338**.
9. Afonine P.V., Grosse-Kunstleve R.W., Adams P.S. The Phenix refinement framework. *CCP4 Newsletters.* 2005. **42**. contribution 8.

Материал поступил в редакцию 1.11.2008, опубликован 11.11.2008.