

АКАДЕМИЯ НАУК СССР  
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР

ПРЕПРИНТ

А.Г.УРЖУМЦЕВ, В.Ю.ЛУНИН

**ПОВЫШЕНИЕ РАЗРЕШЕНИЯ КАРТ  
ЭЛЕКТРОННОЙ ПЛОТНОСТИ БЕЛКОВ  
ПУТЕМ УТОЧНЕНИЯ МОДЕЛЬНОЙ  
СТРУКТУРЫ. II. УЛУЧШЕНИЕ НАБОРА  
ФАЗ ДЛЯ  $\gamma$ -КРИСТАЛЛИНА ШЬ**

ПУЩИНО • 1982

УДК 548.73

Приводится описание первого этапа выполненной работы по улучшению набора фаз структурных факторов для белка  $\gamma$ -кристаллина IIIb, из глазной линзы телянка. Расширение набора фаз с 3.0Å до 2.7Å было произведено путем построения и модификации грубой модели структуры.

## ВВЕДЕНИЕ

1. При исследовании структуры белка  $\gamma$ -кристаллина ШВ из глазной линзы телят, проводившемся под руководством Ю.Н.Чиргадзе, возникла ситуация, достаточно типичная для метода рентгеноструктурного анализа /1-3/. По методу изоморфного замещения с учетом аномального рассеяния были определены фазы структурных факторов белка разрешением до 3.0Å. Однако построение модели белка по синтезу, рассчитанному с полученными фазами, оказалось затруднительным ввиду неудовлетворительного качества карт электронной плотности. В то же время часть имевшихся данных - модули структурных факторов разрешением от 3.0Å до 2.3Å - при определении фаз и построении синтеза не использовались, поскольку имеющиеся изоморфные производные не позволили определить для них фазы. В связи с этим Ю.Н.Чиргадзе была сформулирована проблема улучшения и расширения набора имеющихся фаз (и тем самым улучшения качества синтеза) путем использования этой дополнительной информации.

2. В 1977 г. Агарвал и Айзекс высказали идею /4/, как, имея набор фаз среднего разрешения (например, до 3.0Å) и набор модулей структурных факторов более высокого разрешения (например, до 2.0Å), определить неизвестные фазы. Было предложено действовать следующим образом.

а. По функции распределения электронной плотности в кристалле, рассчитанной по стартовому набору фаз, строится некоторая так называемая "грубая" модель структуры. Эта модель строится автоматически специальной программой и не претендует, вообще говоря, на точное стереохимическое соответствие истинной структуре.

б. Параметры атомов этой грубой модели уточняются программой кристаллографического уточнения в обратном пространстве (алгоритм см. в /5/).

в. Рассчитывается новая функция распределения электронной плотности, соответствующая более высокому разрешению, с использованием экспериментальных значений модулей структурных факторов и рассчитанных по грубой модели фаз.

В своей работе Агарвал и Айзекс /4/ сделали попытку практической реализации этой идеи и проверили ее эффективность на дан-

ных по инсулину, для которого уже существовала уточненная атомная модель. Хотя различие между фазами, определенными по грубой модели, и фазами, рассчитанными по уточненной атомной модели, получилось значительным (средняя ошибка по зоне  $1.9\text{\AA}$  составила  $65^\circ$ ), тем не менее сама идея метода выглядела достаточно перспективной и была принята нами как основа для улучшения набора фаз для  $\gamma$ -кристаллина IIIb.

3. Пытаясь повысить точность получаемых фаз, мы существенно изменили методику работы /4/ (по крайней мере, в тех местах, которые были освещены в работе), оставив без изменения, по существу, лишь "голую идею", сформулированную выше /12/. Здесь, по-видимому, главными изменениями, обеспечившими успех работы, были модификация алгоритма построения грубой модели (более тщательный учет вклада отдельного атома в синтез ограниченного разрешения и снятие ограничения на межатомные расстояния в грубой модели) и использование в ходе работы разностных синтезов для дополнительного включения атомов в модель.

Разработанная методика прошла проверку на тестовых данных по белку актинидину (пространственная группа  $P2_12_12_1$ , параметры ячейки  $a = 78.2\text{\AA}$ ,  $b = 81.8\text{\AA}$ ,  $c = 33.05\text{\AA}$ ; молекула содержит 1649 неводородных атомов), координаты атомов для которого были взяты из банка белковых молекул. Расширение набора фаз с  $3\text{\AA}$  до  $2\text{\AA}$  (стартуя с точного набора фаз с  $3.0\text{\AA} \leq d < \infty$ ) позволило определить все фазы в зоне разрешения  $2.0\text{\AA} \leq d < \infty$  со средней ошибкой  $31^\circ$ . Подробности этого теста описаны /12/. Уточнение набора фаз в рамках зоны разрешения  $3.0\text{\AA} \leq d < \infty$  (стартуя с зашумленного набора фаз со средней ошибкой  $37^\circ$ ) позволило снизить среднюю ошибку в фазах этой зоны до  $21^\circ$ .

4. В настоящей работе описывается применение метода к реальному объекту, исходя из опыта предшествующих экспериментов.

Для белка  $\gamma$ -кристаллина IIIb набор фаз разрешением до  $3.0\text{\AA}$  был улучшен согласно разработанной методике. По улучшенному набору фаз разрешением до  $2.7\text{\AA}$  был рассчитан синтез, по качеству заметно превосходящий исходный.

В выполненных работах нами использовались программа уточнения Агарвала и Айзекса и программа "Быстрое преобразование Фурье" Тен Эйка /13/, любезно переданные авторами Ю.Н.Чиргадзе и поставленные в НИВЦ АН СССР с попутным исправлением ряда ошибок. Остальное программное обеспечение было разработано в НИВЦ АН СССР.

Авторы глубоко благодарны сотрудникам Института белка АН СССР Ю.Н.Чиргадзе, Ю.В.Сергееву и Н.П.Фоменковой за проявленный интерес к разработке излагаемой методики и активное содействие в ее применении к работе над расшифровкой структуры  $\gamma$ -кристаллина IIIb.

## § 1. НЕКОТОРЫЕ ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

### 1. Построение исходного синтеза

Для проведения первого этапа работы – построения грубой модели – необходимо иметь по возможности более точный исходный синтез электронной плотности белка, построенный в абсолютной шкале. Приведение структурных факторов к абсолютной шкале может быть выполнено, например, по методу Вильсона /6/. Требование минимального среднеквадратичного отклонения синтеза от истинного приводит, как показано Блоу и Криком /7/, к тому, что при построении синтеза модули структурных факторов должны быть взвешены показателями достоверности определения соответствующих фаз.

### 2. Построение грубой модели

2.1. При построении грубой модели основным положением является то, что мы отказываемся от попытки интерпретации боковых групп, поскольку сама задача улучшения набора фаз возникла из-за сложности такой интерпретации. Из-за плохого качества синтеза мы можем просто не видеть остатки, положение остатка в цепи может быть определено не вполне надежно. Наконец, мы можем не знать первичной последовательности.

Отказ от попытки такой интерпретации дает возможность автоматического, достаточно быстрого построения грубой модели по имеющемуся синтезу. От такой модели требуется лишь, чтобы набор атомов, входящих в модель, с приписанными им температурными факторами по возможности точно воспроизводил распределение электронной плотности, имеющееся на исходном синтезе.

2.2. Нами был принят следующий алгоритм построения грубой модели:

а) на синтезе выбирается максимум плотности, при этом его координаты считаются координатами центра некоторого атома;

б) температурный фактор  $V_t$  для этого атома подбирается так, чтобы значение электронной плотности для атома с данным температурным фактором совпадало со значением электронной плотности в выбранной точке. (Расчет распределения электронной плотности в атоме будет обсужден ниже). Если выполнение равенства плотностей возможно лишь при  $V_t < 0$ , то для такого атома принудительно устанавливается  $V_t = 0$ , то есть наиболее сильные пики могут "не исчерпываться" одним атомом;

в) из синтеза вычитается плотность определенного таким образом атома. После этого происходит возврат к п. а) до тех пор, пока максимальное значение плотности на синтезе не станет меньше некоторого заданного уровня  $\rho_{crit}$ .

Сразу же отметим, что изложенная в п. а) схема выбора глобального максимума для посадки очередного атома при практической реализации становится излишне дорогой из-за большого количества атомов и узлов сетки, на которой рассчитан синтез. Поэтому для программной реализации построения грубой модели был применен алгоритм, эквивалентный сформулированному, но требующий меньших затрат машинного времени (см. Приложение).

2.3. Рассмотрим теперь следующий вопрос: "Каким был бы вклад в синтез (взвешенный и ограниченного разрешения) от атома известного типа с координатами  $x, y, z$  и температурным фактором  $B_t$ ". Ясно, что вопрос сводится к определению распределения электронной плотности атома с центром в начале координат. Это распределение имеет вид:

$$\rho_b(\vec{r}) = \sum_{\vec{s}} m(\vec{s}) f(s) \exp(-Bs^2/4) \exp(-2\pi i \vec{s} \cdot \vec{r}), \quad (1)$$

где  $s = |\vec{s}|$ ,  $m(\vec{s})$  - весовая функция, с которой построен синтез,  $f(s)$  - фактор атомного рассеяния, а суммирование ведется по всем узлам кристаллической решетки в обратном пространстве ( $m(\vec{s})$  полагается равным нулю для отражений, отсутствующих в конкретном наборе структурных факторов).

Тогда

$$\rho_b(\vec{r}) = \left[ \sum_{\vec{s}} m(\vec{s}) f(s) \exp(-2\pi i \vec{s} \cdot \vec{r}) \right] * \left[ (4\pi/B)^{3/2} \exp(-4\pi^2 R^2(\vec{r})/B) \right], \quad (2)$$

где  $R(\vec{r})$  - расстояние от начала координат до точки с координатами  $\vec{r} = (x, y, z)$ , а \* означает операцию свертки.

Функция, заключенная в первые квадратные скобки, - обозначим ее  $q_0(\vec{r})$  - для фиксированного типа атома определяется только набором рефлексов и весовой функцией. Следовательно, ее можно рассчитать заранее. Для удобства аппроксимируем  $q_0(\vec{r})$  гауссовой функцией

$$\bar{q}_0(\vec{r}) = C_a (4\pi/B_a)^{3/2} \exp(-4\pi^2 R^2(\vec{r})/B_a), \quad (3)$$

где  $C_a$  и  $B_a$  определяются по методу наименьших квадратов /12/. В результате распределение электронной плотности атома аппроксимируется функцией

$$\bar{\rho}_b(\vec{r}) = C_a (4\pi/(B_a + B))^{3/2} \exp(-4\pi^2 R^2(\vec{r})/(B_a + B)), \quad (4)$$

где  $C_a$  и  $B_a$  - константы, фиксированные для данного синтеза и данного типа атомов. При переходе к синтезу с другим набором

рефлексов или с другой весовой функцией константы  $C_a$  и  $B_a$ , вообще говоря, изменятся.

Замечание. Строго говоря, во вторых квадратных скобках в (2) должна стоять величина

$$\sum_{\vec{s} \in R'} \exp(-Bs^2/4) \exp(-2\pi i \vec{s} \vec{r}) = \sum_{\vec{u} \in R} (4\pi/B)^{3/2} \exp(-4\pi^2 K^2(\vec{r} + \vec{u})/B), \quad (5)$$

где  $R$  – кристаллическая решетка в прямом, а  $R'$  – в обратном пространстве, но из-за малости поправок от слагаемых с ненулевыми  $\vec{u}$  ими можно пренебречь.

2.4. Отметим сразу, что исходя из результатов численных экспериментов, мы считаем полезным в начале работы включать в модель больше атомов, чем имеется в структуре. Это связано с двумя обстоятельствами:

а) при нашем способе построения модели часть атомов окажется "совсем не на месте", что будет обнаружено в процессе уточнения, и такие атомы в дальнейшем будут удалены из модели;

б) поскольку мы ограничили максимум функции распределения электронной плотности отдельного атома электронной плотностью атома фиксированного типа с  $B_t = 0$ , то возможно, что отдельные сильные пики на синтезе будут формироваться несколькими модельными атомами с близкими координатами центров.

В заключение подчеркнем еще раз, что при построении модели мы не накладываем никаких ограничений на межатомные расстояния, тем самым еще раз констатируя факт, что построенная таким образом грубая модель не устанавливает никакого поатомного соответствия со структурой.

### 3. Методика уточнения

Дальнейшая работа с построенной моделью заключается в проведении так называемых "серий уточнения" и выполнении некоторых автоматических корректировок модели.

Серия уточнения, как правило, состоит из следующих операций:

1) "Встряхивание  $B$ ". Для атомов, у которых температурный фактор оказался меньше некоторого  $B_{crit}$ , он устанавливается равным  $B_{crit}$ .

Встряхивание  $B$  применялось из-за особенностей программы уточнения, которая не может изменить температурный фактор атома, если он оказался равным нулю. В некоторых из серий встряхивание  $B$  может отсутствовать.

2) Уточнение температурного фактора. Программа уточнения организована таким образом, что уточнение координат атомов и их температурных факторов выполняется только раздельно одно от другого.

Вероятно, для целей уточнения настоящей модели белка следует

проводить сначала несколько циклов уточнения координат, а затем несколько циклов уточнения температурного фактора атомов, что и выполняется на практике /8, 9/. Для наших же целей предлагается использовать обратный порядок – в первую очередь уточнять температурный фактор. Тем самым компенсируется некоторое расхождение в определении функции распределения электронной плотности в атоме между программами уточнения и построения грубой модели.

Основными управляющими параметрами уточнения, изменяемыми от серии к серии, являются границы зоны уточнения

$$s_{\min} \leq s^2 \leq s_{\max} \quad (6)$$

Критерием хода уточнения может служить R-фактор.

3) Уточнение координат атомов. В качестве дополнительного критерия хода уточнения, по сравнению с уточнением температурного фактора, используется среднеквадратичный сдвиг атомов

$$S_N = \left( \sum_{j=1}^N \Delta r_j^2 / N \right)^{1/2} \quad (7)$$

4) "Срезка". Эта операция заключается в удалении из модели атомов с температурным фактором, превосходящим некоторое заданное значение  $V_{\lim}$ . Смысл данной операции в том, что атомы, оказавшиеся "совсем не на месте", программа уточнения пытается убрать, "размазав" их, то есть у таких атомов температурный фактор становится непомерно большим, порядка 50–100 Å<sup>2</sup>. Соответственно, путем срезки такие атомы удаляются из модели вообще.

Общая тенденция состоит в постепенном уменьшении  $V_{\lim}$  от модели к модели с тем, чтобы суммарный заряд атомов последней модели приблизительно соответствовал заряду элементарной ячейки.

#### 4. Разностные синтезы

Как показано в численных экспериментах, использование разностных синтезов дает существенный вклад в улучшение набора фаз. Суть использования разностного синтеза сводится к следующему:

а) из имеющейся модели оставляются только "наиболее правильные" атомы, то есть атомы с небольшим значением температурного фактора;

б) к полученной таким образом модели добавляются атомы на те места синтеза, где их не хватает.

Пункт а) сводится к выполнению срезки наилучшей имеющейся модели с достаточно малым значением  $V_{\lim}$ . Для выполнения пункта б) нужно построить разностный синтез с коэффициентами



$$F_0 \exp(i\varphi_{best}) - F_c \exp(i\varphi_c), \quad (8)$$

где  $F_0$  - экспериментальные модули структурных факторов в абсолютной шкале;  $\varphi_{best}$  - наилучшие фазы, имеющиеся в данный момент;  $F_c, \varphi_c$  - модули и фазы структурных факторов, рассчитанные по модели после выполнения срезки, а затем провести посадку атомов на полученный синтез, предварительно определив для них значения параметров посадки  $C_a$  и  $B_a$ .

Информацией, доступной для определения фаз  $\varphi_{best}$ , является набор изоморфных фаз, набор экспериментальных модулей, а также структурные факторы, рассчитанные по наилучшей из имеющихся моделей. Проблема комбинирования этой информации для определения наилучших фаз рассмотрена ниже.

### 5. Проблема комбинирования фазовой информации

Комбинирование фазовой информации, полученной из различных источников, представляет собой отдельную проблему, обсуждавшуюся в ряде работ (см., например, /10/). Мы не имеем здесь возможности подробно остановиться на этой важной теме и лишь опишем кратко способы комбинирования фаз, применявшиеся нами при работе с  $\gamma$ -кристаллином IIIb.

При построении "комбинированных" синтезов показатель достоверности  $m$  и фаза  $\varphi_{best}$  определялись из условия

$$m e^{i\varphi_{best}} \int_0^{2\pi} e^{i\varphi} \rho_{comb}(\varphi) d\varphi, \quad (9)$$

где

$$\rho_{comb}(\varphi) \sim \rho_{iso}(\varphi) \cdot \rho_m(\varphi), \quad (10)$$

$\rho_{iso}(\varphi)$  - распределение, полученное по данным изоморфного замещения (с учетом аномального рассеяния);  $\rho_m(\varphi)$  - распределение, отражающее надежность фаз, рассчитанных по модели.

Действуя аналогично работе /14/, можно показать, что при некоторых вероятностных предположениях о характере ошибок в модели функция  $\rho_m(\varphi)$  (плотность условного распределения вероятностей фазы  $\varphi$  при условии, что модуль  $F$  структурного фактора принял полученное из эксперимента значение  $F_0$ ) имеет вид

$$\rho_m(\varphi) \sim \exp\left(2 \frac{\lambda}{\beta} F_0 F_m \cos(\varphi - \varphi_m)\right), \quad (11)$$

где  $F_m \exp(i\varphi_m)$  - структурный фактор, рассчитанный по модели, а  $\lambda$  и  $\beta$  - некоторые, неизвестные пока параметры, отражающие грубость модели.

На первом этапе работы над  $\gamma$ -кристаллином IIIb для оценки

значения параметра  $t = \lambda/\beta$ , определяющего распределение (11), использовался метод, аналогичный предложенному в /10/. При этом  $t$  задавалось ступенчатой функцией по  $|\vec{S}_j|$ .

На заключительном этапе работы для определения параметра  $t$  использовался тот факт, что при предположениях, приведенных к формуле (11), для модулей структурных факторов  $F_j = F(\vec{S}_j)$  ( $\vec{S}_1, \vec{S}_2, \dots$  - различные точки "обратной решетки" в тонком сферическом слое обратного пространства) имеем распределение

$$\rho_j(F) = \frac{2F}{\beta} \exp\left(-\frac{F^2 + \lambda F_{M_j}^2}{\beta}\right) I_0\left(2\frac{\lambda}{\beta} F F_{M_j}\right), \quad (12)$$

где  $F_{M_j} = F_M(\vec{S}_j)$ ,  $I_0$  - модифицированная функция Бесселя первого рода, и параметры  $\lambda$  и  $\beta$  можно считать одинаковыми при всех  $\vec{S}_j$  из данного "слоя". Трактую экспериментально полученные значения  $F_{0j} = F_0(\vec{S}_j)$ , как реализации независимых случайных величин с распределением (12), мы использовали для оценки параметров  $\lambda$  и  $\beta$  метод максимального правдоподобия - выбирали  $\lambda$  и  $\beta$  так, чтобы максимизировать функцию правдоподобия

$$\Psi(\lambda, \beta) = \prod_j \frac{2F_{0j}}{\beta} \exp\left(-\frac{F_{0j}^2 + \lambda F_{M_j}^2}{\beta}\right) \cdot I_0\left(2\frac{\lambda}{\beta} F_{0j} F_{M_j}\right). \quad (13)$$

## § 2. РАБОТА ПО УЛУЧШЕНИЮ НАБОРА ФАЗ $\gamma$ -КРИСТАЛЛИНА ШЬ

### 1. Исходная информация

1.1. Белок  $\gamma$ -кристаллин ШЬ из глазной линзы теленка имеет молекулярный вес около 20000 дальтон. Кристаллы белка принадлежат пространственной группе  $P2_12_12_1$ , размеры элементарной ячейки 58.7, 69.5, 116.9Å. В независимой части элементарной ячейки содержится 2 молекулы /1/. (Отметим сразу, что в данной работе наличие некристаллографической симметрии не использовалось ни при построении модели, ни при последующем ее уточнении). Аминокислотная последовательность белка не определена. С кристаллов белка собраны данные разрешением до 2.3Å (12510 отражений), к сожалению, в интервале от 2.3Å приблизительно до 2.7Å процент собранных данных невелик.

С помощью метода изоморфного замещения с учетом аномального рассеяния были определены фазы структурных факторов разрешением до 3.0Å (6777 отражений). Для получения набора фаз использовались 5 тяжелоатомных производных, из них 3 - с учетом аномального рассеяния. Полученный набор фаз имел показатель достоверности 0.72 /2/. Фазы были рассчитаны программой Л.Ф.Тен Эйка /15/.

1.2. По описанным выше данным был построен синтез разрешением  $3.0\text{\AA}$ . В качестве фаз были использованы фазы  $\psi_{\text{best}}^{\text{BC}}$ , рассчитываемые фазовой программой. Модули структурных факторов брались в абсолютной шкале и были взвешены показателями достоверности определения соответствующих фаз. Приведение структурных факторов к абсолютной шкале осуществлялось по методу Вильсона. Значение  $F_{000}/V$  было оценено как  $0.17 \text{ e/\AA}^3$ . Максимальное значение электронной плотности на синтезе составило  $0.905 \text{ e/\AA}^3$ , то есть "контрастность синтеза", определяемая как  $\rho_{\text{max}}/\rho_{\text{aver}}$ , равнялась 5.2.

Синтез был рассчитан на сетке с числом делений по осям  $O_x$ ,  $O_y$ ,  $O_z$  соответственно равным 100, 120, 200. Число делений выбиралось таким образом, чтобы обеспечить достаточную точность расчетов при работе на разрешении  $2.3\text{\AA}$  при минимальных затратах машинного времени.

1.3. Для последующего комбинирования исходной информации с информацией, полученной по модели, необходимо было знать плотность распределения вероятностей для изоморфных фаз. Фазовая программа Тен Эйка в ее оригинальном варианте, использующая распределение вероятностей фаз по методу Блоу и Крика, такой информации не дает. Необходимую информацию, к тому же хранимую в достаточно удобном, компактном виде, можно получить, используя распределение вероятностей фаз по методу Хендриксона и Латмана [11]:

$$\rho_{\text{iso}}^{\text{HL}}(\psi) = \alpha \exp(A \cos \psi + B \sin \psi + C \cos 2\psi + D \sin 2\psi). \quad (14)$$

Отметим сразу, что представление функции  $\rho_{\text{iso}}^{\text{HL}}$  в таком виде удобно для последующего комбинирования с информацией, полученной по модели, поскольку функция  $\rho_{\text{M}}$  представима в виде:

$$\rho_{\text{M}}(\psi) = \alpha_{\text{M}} \exp(A_{\text{M}} \cos \psi + B_{\text{M}} \sin \psi). \quad (15)$$

Для расчета коэффициентов  $A$ ,  $B$ ,  $C$ ,  $D$  была соответствующим образом модифицирована фазовая программа.

Отклонение  $m$  и  $\psi_{\text{best}}$ , рассчитанных согласно распределению по методу Хендриксона и Латмана, от соответствующих величин, рассчитанных согласно распределению по методу Блоу и Крика, оказалось незначительным (см., например, рис. 3).

## 2. Ход работы по улучшению набора фаз

2.1. Построение исходной модели - будем обозначать ее  $M_0$  - проводилось согласно описанной методике. В качестве атомов модели использовались атомы азота. Предварительно для них были рассчитаны значения параметров аппроксимации (1.3)  $V_{\text{a}} = 83.9\text{\AA}^2$  и  $C_{\text{a}} = 8.4 \text{ e}$ . Критическое значение плотности было взято равным

Т а б л и ц а 1

План уточнения модельной структуры

Уточняемая модель	Зона уточнения	Кол-во рефлексов	Кол-во циклов по В	Уровень срезки по В	Кол-во циклов по X	Полученная модель	Кол-во атомов
M <sub>0</sub>	3.0	8533	2	-	3	M <sub>2</sub>	3104
M <sub>2</sub>	3.0	8533	2	80	3	M <sub>4</sub>	3052
M <sub>5</sub>	2.7	10527	2	80	3	M <sub>7</sub>	3045
M <sub>7</sub>	2.5	11727	2	70	3	M <sub>9</sub>	2962
M <sub>11</sub>	2.0	8533	2	-	3	M <sub>13</sub>	3632
M <sub>13</sub>	2.7	10527	2	80	3	M <sub>15</sub>	3628
M <sub>15</sub>	2.5	11727	2	70	3	M <sub>17</sub>	3614
M <sub>18</sub>	2.3	12510	2	40	3	M <sub>20</sub>	3229
M <sub>20</sub>	2.3-10.0	12195	2	-	3	M <sub>22</sub>	3229

$0.28 \text{ e}/\text{Å}^3$ . В результате проведенной процедуры "посадки атомов на синтез" была построена модель  $M_0$ , состоящая из 3104 атомов.

2.2. Далее было выполнено 2 серии уточнения модели на полуоси  $d \geq 3.0\text{Å}$ . Первая серия по своему замыслу являлась корректирующей посадку атомов, поэтому в ней не использовались ни встряхивание  $B$ , ни срезка.  $R$ -фактор полученной по окончании второй серии модели  $M_4$  упал до 0.115 по сравнению с 0.353 для модели  $M_0$  ( $R$ -фактор рассчитан везде по зоне уточнения, то есть в данном случае по зоне  $d \geq 3.0\text{Å}$ ). Отметим, что приводимый здесь и далее  $R$ -фактор не является таковым в общепотребляемом значении этого термина, поскольку количество атомов в уточняемых моделях не соответствует истинному. Таким образом,  $R$ -фактор здесь является лишь некоторой величиной, характеризующей процесс уточнения.

Более подробная информация о ходе уточнения как на данном, так и на последующих этапах приведена в табл. 1.

2.3. Полученная модель  $M_4$  была скорректирована следующим образом. Для атомов с температурным фактором, равным нулю, их тип был изменен с азота на кислород. Таких атомов оказалось 467 из 3052. Пересчет температурного фактора для этих атомов не производился. Цель данной процедуры состояла в создании для максимально высоких пиков возможности их дальнейшего роста. Результатом корректировки явилась модель  $M_5$ .

Далее было вновь проведено 2 серии уточнения. Отличием от предыдущих серий здесь являлось постепенное расширение зоны уточнения -  $d \geq 2.7\text{Å}$  для первой серии и  $d \geq 2.5\text{Å}$  для второй. В обоих случаях бралось  $d_{\text{max}} = \infty$ . Результатом выполненных серий явилась модель  $M_9$ .

2.4. Модель  $M_9$  была использована для построения разностного синтеза. Фазы, рассчитанные по модели  $M_9$ , были скомбинированы согласно описанной методике с изоморфными фазами ( $P_M(\psi)$  определялось согласно (11)). Из модели  $M_9$  срезкой с  $B_{\text{lim}} = 50\text{Å}^2$  была получена модель  $M_{10}$ , состоящая из 2602 атомов. По модели  $M_{10}$  также были рассчитаны структурные факторы.

Имеющаяся информация была использована для построения разностного синтеза разрешением  $3.0\text{Å}$  с коэффициентами:

$$F_0 \exp(i\psi_{\text{comb}}) - F_{M_{10}} \exp(i\psi_{M_{10}}). \quad (16)$$

2.5. Для разностного синтеза были определены параметры аппроксимации атомов азота  $B_a = 64.2\text{Å}^2$  и  $C_a = 10.3 \text{ e}$ . С полученными параметрами по разностному синтезу были дополнительно определены 1030 атомов, которые вместе с атомами модели  $M_{10}$  образовали модель  $M_{11}$ .

К модели  $M_{11}$  была вновь применена процедура уточнения,

состоявшая на этот раз из 3 серий – по одной соответственно в зонах  $d \geq 3.0\text{\AA}$ ,  $d \geq 2.7\text{\AA}$ ,  $d \geq 2.5\text{\AA}$ . Полученная модель  $M_{17}$  вновь подверглась изменению сорта атомов. Для атомов с нулевым температурным фактором кислород заменялся на серу (38 атомов), а азот – на кислород (288 атомов). Пересчет температурного фактора по-прежнему не проводился.

Одновременно с изменением сорта атомов выполнялась срезка с  $V_{lim} = 50\text{\AA}^2$ . Результатом проведенной операции явилась модель  $M_{18}$ , состоящая из 3455 атомов азота, кислорода и серы.

2.6. На последнем этапе расширения набора фаз к работе был подключен весь имеющийся набор модулей экспериментальных структурных факторов. Из проведенных на этом этапе двух серий уточнения в первой использовались все имеющиеся модули, а во второй были удалены рефлексы с разрешением  $d \geq 10\text{\AA}$  с тем, чтобы уменьшить ошибки, возникающие из-за отсутствия учета растворителя. Полученная в результате модель  $M_{22}$  была взята в качестве наилучшей. Рассчитанные с нее фазы послужили объектом последующего анализа.

### 3. Выбор варианта заключительного синтеза

3.1. При построении заключительного синтеза варьировались интервал разрешения, выбор фаз и весовая схема, а также, при рисовании карт распределения электронной плотности, выбор линий уровня.

Из возможных вариантов выбора разрешения были рассмотрены синтезы разрешением  $3.0\text{\AA}$ ,  $2.7\text{\AA}$ ,  $2.3\text{\AA}$ . Первая группа синтезов использовалась для сравнения с исходным. Последняя группа синтезов – синтезы, включавшие в расчет полный набор имевшихся экспериментальных данных. Построение синтезов второй группы обуславливалось тем, что включение в расчет рефлексов разрешением приблизительно от  $2.7\text{\AA}$  и выше могло, вообще говоря, исказить синтез, так как процент данных, имевшихся в этой зоне, был мал.

В качестве фаз использовались либо фазы, рассчитанные по последней модели  $M_{22}$ , либо их комбинация с изоморфными фазами. Комбинирование фаз проводилось исходя из их распределений вероятностей. Применялись различные схемы комбинирования. Оценка распределения вероятностей рассчитанных по модели фаз проводилась обоими описанными выше способами (11), (12). Также были рассмотрены синтезы, где для отражений с  $d > 10\text{\AA}$  брались фазы, рассчитанные по методу изоморфных замещений, а для отражений с  $d \leq 10\text{\AA}$  – по любому из описанных выше способов. Введение границы  $d = 10\text{\AA}$  основывается опять-таки на учете влияния растворителя.

Как правило, каждый рефлекс взвешивался показателем достоверности определения фазы, с которой он включался в расчет. Для

более подробного анализа также был рассчитан ряд невзвешенных синтезов.

Относительно линий уровня было эмпирически определено, что достаточно удачным является набор значений:

$$\rho_j = \rho_{aver} + l_j(\rho_{max} - \rho_{aver}), \quad j = 1, 2, 3, 4, 5, \quad (17)$$

где  $\rho_{aver}$ ,  $\rho_{max}$  - соответственно среднее и максимальное значения функции распределения электронной плотности на данном синтезе,  $\rho_j$  - значение линии уровня, а  $l_j$  принимает соответственно значения 0.20, 0.35, 0.50, 0.65, 0.80.

3.2. В результате проделанного анализа достаточно большого числа вариантов наиболее удачным был признан синтез с коэффициентами

$$F e^{i\psi} = \begin{cases} m_{iso} F_O e^{i\psi} \text{ HL best} & d > 10.0 \text{ \AA} \\ m_{comb} F_O e^{i\psi} \text{ comb best} & 10.0 \text{ \AA} \geq d \geq 2.7 \text{ \AA} \end{cases} \quad (18)$$

$m_{comb}$  и  $\psi_{best}^{comb}$  определялись, исходя из распределения

$$P_{comb}(\psi) = P_{iso}^{HL}(\psi) \cdot P_{M_{22}}(\psi), \quad (19)$$

где параметры распределения  $P_{M_{22}}(\psi)$  вычислялись из максимума функции правдоподобия (13).

В расчет синтеза вошел 10781 рефлекс. При расчете синтеза в абсолютной шкале максимальное и минимальное значения электронной плотности оказались равными соответственно  $\rho_{max} = 3.52 \text{ e/\AA}^3$  и  $\rho_{min} = -1.53 \text{ e/\AA}^3$ . Контрастность синтеза возросла с 5.2 для исходного до 19.9.

Замечание. Как показали тестовые расчеты, выполненные в ходе экспериментов с актинидином, оценка параметров распределения  $P_M(\psi)$  из максимума функции правдоподобия дает возможность точно предсказать фазовую ошибку лишь для начальных моделей (не прошедших уточнения). Для моделей же, подвергавшихся уточнению, метод обнаружил тенденцию предсказывать ошибку примерно в два раза ниже наблюдаемой в действительности. Это, по-видимому, связано с тем, что для уточненной модели величины  $F(\vec{s}_j)$  нельзя более считать независимыми, и функция правдоподобия (13) имеет другой вид. Учитывая этот факт, значения параметра  $t$  распределения (12) для  $P_{M_{22}}(\psi)$ , определенные из максимума функции правдоподобия, были искусственно уменьшены так, чтобы предсказываемая на основе распределения  $P_{M_{22}}(\psi)$  ошибка стала примерно в два раза выше.

### 8.3. КОНТРОЛЬ ХОДА РАБОТЫ ПО УЛУЧШЕНИЮ НАБОРА ФАЗ

1. Как уже указывалось выше, критерием хода уточнения модели является R-фактор. Еще раз обратим внимание, что употреблявшийся нами R-фактор не является таковым в строгом понимании этого термина, однако он дает представление о соответствии модельного распределения электронной плотности истинному, и снижение его характеризует улучшение этого соответствия. График изменения R-фактора соответствующих моделей в процессе улучшения набора фаз  $\gamma$ -кристаллина IIIb приведен на рис. 1. Разрывы графика вызваны корректировками моделей (встряхивание В, срезка, изменение сорта атомов, дополнительная посадка, переход к другому разрешению).

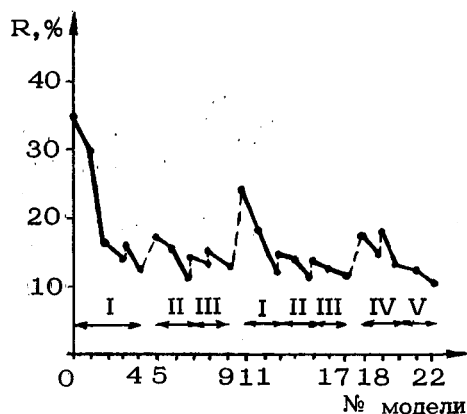


Рис. 1. Значения R-фактора для различных моделей в зонах разрешения: I -  $d \geq 3.0\text{\AA}$ , II -  $d \geq 2.7\text{\AA}$ , III -  $d \geq 2.5\text{\AA}$ , IV -  $d \geq 2.3\text{\AA}$ , V -  $10.0\text{\AA} \geq d \geq 2.3\text{\AA}$

2. Если фазы, рассчитанные по модели, близки к настоящим, то среднее расхождение изоморфных фаз с ними будет тем меньше, чем выше показатель достоверности изоморфных фаз. Таким образом, некоторым критерием правильности модельных фаз может служить зависимость

$$\delta(m) = \langle |\psi_{iso}(\vec{s}) - \psi_M(s)| \rangle_{m_{iso}=m} \quad (20)$$

- среднее значение расхождения фаз по тем рефлексам, у которых  $m_{iso} = m$  (точнее, близко к  $m$ ). Здесь  $\psi_{iso}(\vec{s})$  - фаза, рассчитанная по методу изоморфного замещения, а  $\psi_M(\vec{s})$  - фаза, рассчитанная по модели.



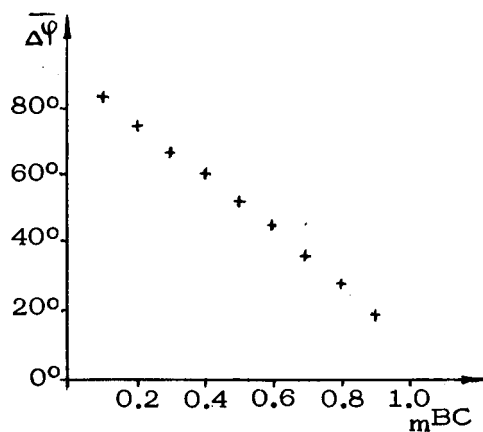


Рис. 2. Зависимость  $\Delta \bar{\psi} = (|\psi_{iso}^{BC} - \psi_{m22}|)$  от значений показателя достоверности  $m^{BC}$  фаз  $\psi_{iso}^{BC}$

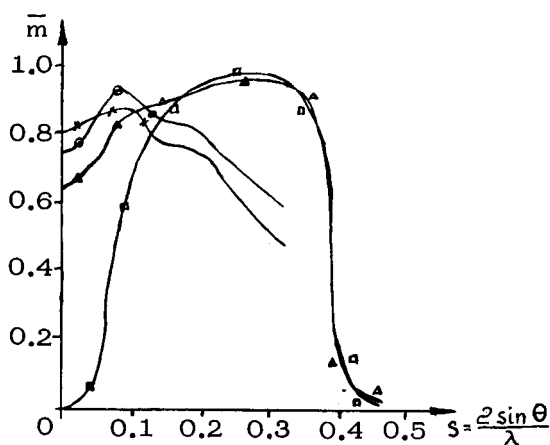


Рис. 3. График зависимости от  $s$  среднего значения показателя достоверности определения фаз наборов:  $\times$  - фазы  $\psi_{best}^{BC}$ , определенные по методу Блоу и Крика;  $o$  - фазы  $\psi_{best}^{HL}$ , определенные по методу Хендриксона и Латмана;  $v$  - фазы  $\psi_{M9}$ , рассчитанные по модели  $M9$ ;  $\Delta$  - фазы  $\psi_{best}^{comb}$ , определенные из распределения

$$P_{comb}(\psi) = P_{iso}^{HL}(\psi) \cdot P_{M22}(\psi)$$

Ожидаемое поведение такой функции – монотонное убывание  $\delta(m)$  с ростом  $m$ . Нарушение такого поведения свидетельствует либо об ошибочности фаз, либо об ошибочности определения показателей достоверности.

График соответствующей  $\delta(m)$  для  $\gamma$ -кристаллина IIIb приведен на рис. 2. Видно, что поведение  $\delta(m)$  совпадает с ожидаемым, что, в свою очередь, свидетельствует о близости модельных фаз к истинным.

3. Исходя из распределения  $P_M(\varphi)$ , мы можем оценить среднюю погрешность фазы  $\varphi_M(\varepsilon)$  величиной

$$\Delta(S_j) = \int_0^{2\pi} |\varphi - \varphi_M| \cdot \rho_M(\varphi) d\varphi. \quad (21)$$

Для некоторого слоя в обратном пространстве мы можем, следовательно, оценить среднюю ошибку фаз, рассчитанных по модели, величиной

$$\bar{\Delta} = \sum_{j=1}^k \Delta(\vec{S}_j) / k. \quad (22)$$

В табл. 2 приведено распределение такой оценки средней ошибки по зонам  $s^2$  в обратном пространстве для различных моделей. При этом, в силу замечания в § 2 п. 3, оценка ошибки для зон, участвовавших в уточнении, была увеличена в два раза.

4. Зная распределение плотности вероятностей фаз, – как изоморфных, так и рассчитанных по моделям и комбинированных – мы можем для каждого такого распределения вычислить значение  $m(\vec{\varepsilon})$  – показателя достоверности определения фазы каждого рефлекса. Разбив обратное пространство на зоны по  $|\vec{\varepsilon}|$ , можно вычислить среднее значение показателя достоверности  $\langle m(\vec{\varepsilon}) \rangle$  по каждой такой зоне. На рис. 3 приведены графики ряда зависимостей  $\langle m(\vec{\varepsilon}) \rangle$  для различных наборов фаз  $\gamma$ -кристаллина IIIb. Сравнение графиков приводит к следующим выводам.

а. Комбинированные фазы заключительного синтеза в интервале от  $3.0\text{\AA}$  приблизительно до  $10.0\text{\AA}$  имеют бóльшие показатели достоверности, чем исходные фазы.

б. В интервале от  $3.0\text{\AA}$  приблизительно до  $2.7\text{\AA}$  предсказанные фазы заключительного синтеза (отсутствовавшие ранее) имеют достаточно высокие показатели достоверности.

в. Для рефлексов с разрешением приблизительно от  $2.5\text{\AA}$  и выше предсказанные фазы имеют низкий показатель достоверности, что подтверждает правильность отказа от их использования при построении заключительного синтеза. Мы предполагаем, что такое резкое снижение показателя достоверности в данной зоне связано с недостатком в ней данных.

г. Для рефлексов низкого (приблизительно начиная с  $10\text{\AA}$ ) разрешения исходные фазы более достоверны, чем комбинированные.

Т а б л и ц а 2

Оценка средней ошибки фаз, рассчитанных по грубым моделям  $\chi$ -кристаллина IIIb

Модель	Границы интервалов по $s^2$				Границы интервалов по $d$				0.00- 0.02	0.14- 0.18	0.16- 0.18	0.00- 0.18
	0.00- 0.02	0.02- 0.04	0.04- 0.06	0.06- 0.08	0.08- 0.10	0.10- 0.12	0.12- 0.14	0.14- 0.16				
	$\infty$ - 7.07	7.07- 5.00	5.00- 4.08	4.08- 3.53	3.53- 3.16	3.16- 2.89	2.89- 2.67	2.67- 2.50	2.50- 2.36	2.50- 2.36	2.50- 2.36	$\infty$ - 2.36
M <sub>0</sub>	38	36	31	38	41	52	90	84	75	51		
M <sub>2</sub>	54*	26*	20*	22*	24*	27	90	90	80	41		
M <sub>4</sub>	50*	20*	16*	16*	16*	24	90	85	77	37		
M <sub>7</sub>	48*	18*	14*	16*	16*	20*	42*	90	77	30		
M <sub>9</sub>	50*	18*	14*	14*	16*	20*	26*	34*	76	23		
M <sub>11</sub>	30	24	17	19	20	26	37	43	81	27		
M <sub>13</sub>	50*	22*	16*	16*	16*	16	40	56	77	27		
M <sub>15</sub>	48*	18*	14*	16*	16*	18*	28	61	90	26		
M <sub>17</sub>	46*	18*	14*	14*	14*	18*	20*	30	90	22		
M <sub>20</sub>	48*	22*	16*	16*	16*	18*	20*	26*	36*	22		
M <sub>22</sub>	48*	20*	14*	14*	16*	16*	18*	22*	28*	18		
Кол-во рефлексов	504	1068	1442	1759	1667	1634	1360	872	417	10723		

Символом \* отмечены оценки, рассчитанные по зонам уточнения и поэтому, согласно замечанию § 2 п. 3, искусственное умноженные на 2.

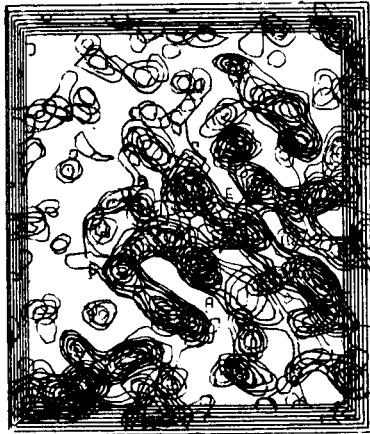
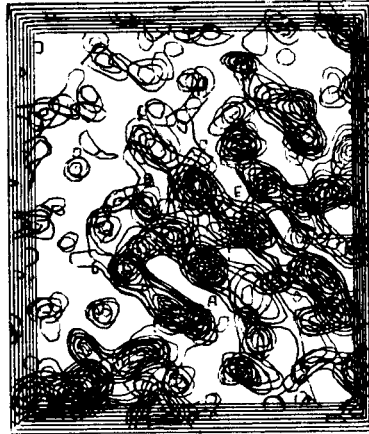
$z=$  $z=$ 

Рис. 4. Исходный синтез 3.0A, построенный с фазами, определенными по методам изоморфного замещения и аномального рассеяния, сечения 36/200-50/200

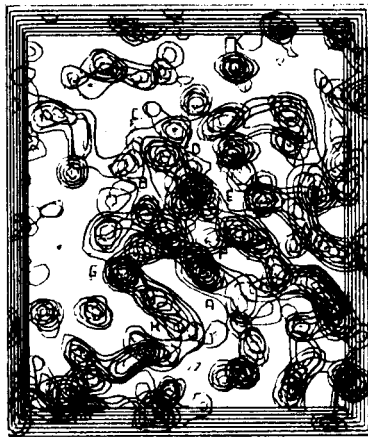
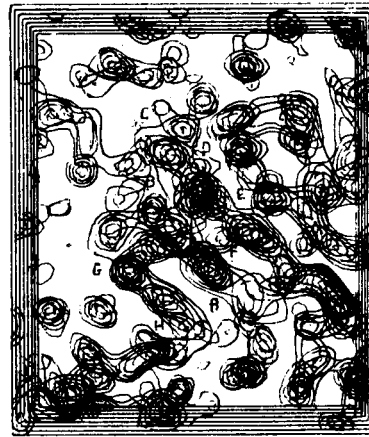
 $z=$  $z=$ 

Рис. 5. Заключительный синтез 3.0A, сечения 36/200-50/200

Как уже упоминалось, возможная причина этого – отсутствие учета растворителя. Соответственно оказывается оправданным при построении заключительного синтеза использование в зоне низкого

разрешения фаз, полученных по методу изоморфного замещения, вместо комбинированных фаз.

5. Решающим критерием правильности выполненной работы является повышение интерпретируемости синтеза. В качестве примера приведем часть синтеза, содержащую один из  $\beta$ -слоев. На рис. 4 и 5 приведены стереоизображения сечений синтезов соответственно исходного и заключительного (разрешение  $3.0\text{\AA}$ ). Сравнивая синтезы, нетрудно заметить превосходство второго над первым.

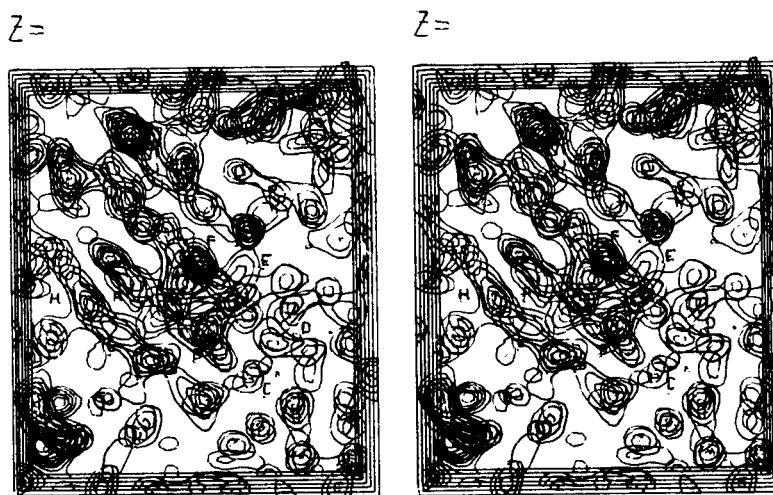


Рис. 6. Заключительный синтез  $3.0\text{\AA}$ , сечения  $1/200-13/200$  (участок, связанный с изображенным на рис. 5 некристаллографической симметрией)

Отметим, что в "греческом ключе" А-В-С-D-E-F-G-H на заключительном синтезе четко проявилась петля В-С-D-E, ранее проявленная слабо.

Для подтверждения эффекта проявления петли было использовано наличие некристаллографической симметрии  $\gamma$ -кристаллина IIIb. Поскольку в течение всей работы данная симметрия никак не учитывалась, то аналогичные особенности синтеза и для симметричной части подтверждали бы правильность модификации синтеза.

К сожалению, симметричная часть и на исходном синтезе, и, следовательно, на заключительном оказалась прорисованной слабее, чем описываемый фрагмент. Однако после небольшого снижения линий уровня нам удалось убедиться в желаемом эффекте - проявлении интересующих нас деталей (рис. 6).

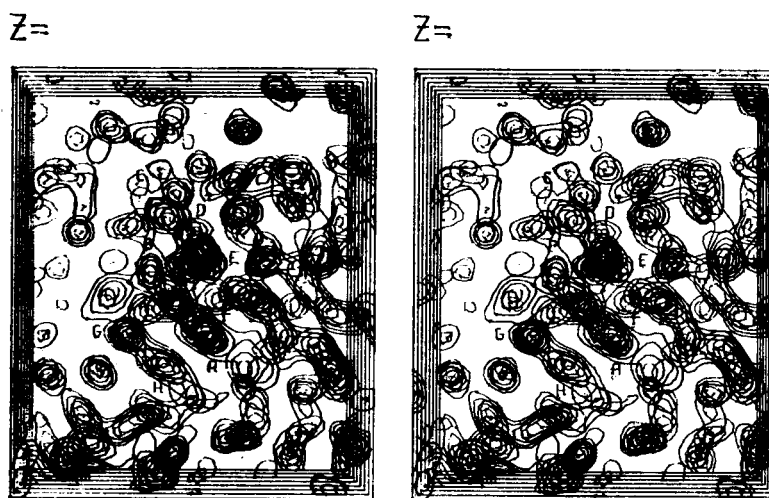


Рис. 7. Заключительный синтез  $2.7\text{\AA}$ , сечения 36/200-50/200

На рис. 7 приведена часть итогового синтеза разрешения  $2.7\text{\AA}$ . По сравнению с улучшенным синтезом разрешения  $3.0\text{\AA}$  (рис. 5) здесь более четко проявились отдельные детали структуры. В то же время включение в синтез дополнительных слагаемых в зоне  $2.7\text{\AA} \leq d \leq 3.0\text{\AA}$  привело к возникновению некоторых разрывов в ходе цепи. Таким образом, при проведении хода полипептидной цепи оказалось более удобным работать с синтезом разрешения  $3.0\text{\AA}$ , в то время, как для построения атомной модели структуры использовался синтез разрешения  $2.7\text{\AA}$ .

#### ПРИЛОЖЕНИЕ. ПРАКТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ПОСТРОЕНИЯ ГРУБОЙ МОДЕЛИ

При построении грубой модели мы считаем, что все атомы имеют один и тот же конечный радиус  $d$ . Поэтому, если точка  $x^*$  является точкой локального максимума функции  $\rho(x)$  и если в окрестности радиуса  $d$  точки  $x^*$  нет значений электронной плотности выше, чем  $\rho(x^*)$ , то при последовательной выборке глобальных максимумов функции  $\rho(x)$  и вычитании вкладов соответствующих атомов значение в точке  $x^*$  меняться не будет до тех пор, пока точка  $x^*$  не станет точкой уже глобального максимума. Таким образом, если нам встретилась такая точка  $x^*$ , то мы можем сразу проинтерпретировать ее как центр атома и вычесть вклад этого атома сразу, а не дожидаться, пока до нее дойдет очередь при последовательном отборе глобальных максимумов. Поэто-

му практический алгоритм построения грубой модели рекомендуется следующий:

- а) просматриваем поочередно все узлы сетки, пока не встретится точка  $x^*$  такая, что  $\rho(x^*) > \rho(x)$  при всех  $|x^* - x| \leq d$ ;
- б) вычитаем вклад атома с центром в точке  $x^*$ , предварительно определив значение его температурного фактора;
- в) переходим к рассмотрению следующего узла сетки.

После того, как просмотрена вся ячейка, надо вернуться и начать повторный просмотр сначала, так как после вычитания функции  $\bar{\rho}_B(x)$  (1.4) могли появиться новые локальные максимумы. Такие просмотры повторяются до тех пор, пока уровень плотности во всех узлах сетки не окажется ниже критического.

Данный алгоритм эквивалентен сформулированному в § 1 п.2.2 в том смысле, что получаемый набор атомов и их температурных факторов будет один и тот же независимо от того, какой из этих двух алгоритмов используется программой построения грубой модели.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Chirgadse Yu.N., Oreshin V.D., Sergeev Yu.V., Nikonov S.V., Lunin V.Yu. Structure of  $\gamma$ -crystallin IIIb from calf lens at 5 Å resolution. - FEBS Lett., 1980, v. 118, No 2, p. 296-298.
2. Chirgadse Yu.N., Sergeev Yu.V., Fomenkova N.P., Oreshin V.D. Polypeptide chain pathway in  $\gamma$ -crystallin IIIb from calf lens at 3 Å resolution. - FEBS Lett., 1981, v. 131, No 1, p. 81-84.
3. Chirgadse Yu.N., Sergeev Yu.V., Fomenkova N.P., Lunin V.Yu., Urzhumtsev A.G. The structure of  $\gamma$ -crystallin IIIb from calf lens. - Acta Cryst., 1981, A37, S, C-40.
4. Agarwal R.C., Isaacs N.W. Method for obtaining a high resolution protein map starting from a low resolution map. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1977, v. 74, p. 2835-2839.
5. Agarwal R.C. A New Least-Squares Refinement Techniques Based on the Fast Fourier Transform Algorithm. - Acta Cryst., 1978, v. A34, p. 791-809.
6. Wilson A.J.C. The Probability Distribution of X-ray Intensities. - Acta Cryst., 1949, v. 2, p. 318-321.
7. Blow D.M., Crick F.C.H. The Treatment of Errors in the Isomorphous Replacement Method. - Acta Cryst., 1959, v. 12, p. 794-802.
8. Isaacs N.W., Agarwal R.C. Experience with Fast Fourier Least Squares in the Refinement of the Crystal

Structure of Rhombohedral 2-Zinc-Insulin at 1.5 Å Resolution. - Acta Cryst., 1978, v. A34, p. 782-791.

9. Baker E.N., Dodson E.J. Crystallographic Refinement of the Structure of Actinidin at 1.7 Å Resolution by Fast Fourier Least-Squares Methods. - Acta Cryst., 1980, v. A36, p. 559-572.

10. Bricogne G. Methods and Programs for Direct-Space Exploitation of Geometric Redundance. - Acta Cryst., 1976, v. A32, p. 823-847.

11. Hendrickson W.A., Lattman E.E. Representation of Phase Probability Distribution for Simplified Combination of Independent Phase Information. - Acta Cryst., 1970, v. B26, p. 136-143.

12. Луний В.Ю., Уржумцев А.Г. Повышение разрешения карт электронной плотности белков путем уточнения модельной структуры. 1. Описание метода. Препринт. Пушино, ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1981.

13. Луний В.Ю. Комплекс программ "Быстрое преобразование Фурье". Материалы по математическому обеспечению ЭВМ, серия ФОРТРАН, вып. 3. Пушино, ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1979.

14. Сринивасан Р., Паргасарати С. Применение статистических методов в рентгеновской кристаллографии. М., Мир, 1979.

15. Луний В.Ю. Фазовая программа Тен Эйка. Материалы по математическому обеспечению ЭВМ, серия ФОРТРАН, вып. 4. Пушино, ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1979.



## СОДЕРЖАНИЕ

Введение . . . . .	3
§ 1. Некоторые практические аспекты применения методики . . . . .	5
§ 2. Работа по улучшению набора фаз $\gamma$ -кристаллина IIIb . . . . .	10
§ 3. Контроль хода работы по улучшению набора фаз . . . . .	16
Приложение. Практический алгоритм построения грубой модели . . . . .	22
Литература . . . . .	23

Александр Георгиевич Уржумцев, Владимир Юрьевич Лунин  
ПОВЫШЕНИЕ РАЗРЕШЕНИЯ КАРТ ЭЛЕКТРОННОЙ  
ПЛОТНОСТИ БЕЛКОВ ПУТЕМ УТОЧНЕНИЯ  
МОДЕЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ. II. УЛУЧШЕНИЕ НАБОРА  
ФАЗ ДЛЯ  $\gamma$ -КРИСТАЛЛИНА IIIb

Отредактировано и подготовлено к печати в Отделе научно-технической информации НЦБИ

Редактор Р.Г.Цветницкая  
Технический редактор С.М.Ткачук  
Корректор В.И.Дубровина

Подписано в печать 29.11.82 г. Т20557. Уч.-изд.л. 1,4.  
Формат 60x90/16. Тираж 110 экз. Заказ 2863Р.  
Бесплатно. Изд. № 405.

Отпечатано на роталпринте в Отделе научно-технической информации Научного центра биологических исследований АН СССР в Пушкине