

IAS Estructura molecular Informe de generación

TREM2, Edición de pruebas

Decisión de liberación científica

El informe es adecuado para la comunicación científica externa y para los métodos, resultados, cifras, tablas y suplemento de un manuscrito cuyo reclamo se limita al conjunto de datos público TREM2. La decisión de liberación no autoriza la selección de candidatos potenciales, las afirmaciones clínicas o de enfermedad, la eficacia, toxicidad o seguridad, la identificación física de la muestra desconocida, la liberación de fabricación o la superioridad del método.

Cápsula de decisión

- Población: todos los 90 diseños TREM2 evaluables en el lanzamiento público fijado; 72 vinculantes medidos y 18 no vinculante medidos; no hay exclusiones basadas en resultados.
- Bloqueo de datos: revisión pública 9e1b81696da46835e9e9cde9a3da976e0abc92ab con origen a nivel de archivo.
- Estimación primaria: discriminación retrospectiva de la clasificación de los IAS retenidos en el conjunto de la cohorte TREM2.
- Resultado primario: AP 0.9776 (95% CI de capas de arranque estratificadas 0.9374–0.9994) y ROC AUC 0.9444 (0.8488–0.9977). Los valores de permutación de puntaje fijo p fueron 0.00010 y 0.00010, respectivamente.
- Transportes independientes: el umbral 0.2158 fue seleccionado a partir de predicciones internas de objetivos retenidos en 1230 diseños en 14 objetivos no TREM2, excluyendo todas las etiquetas TREM2; luego se aplicó una vez a TREM2.
- Interpretación comparativa: el AP de tres predictores de campaña observado fue de 0.9843; la incertidumbre en pareja no establece la superioridad de los IAS.
- Limitación de calibración: la puntuación de IAS Brier fue de 0.4357 y las probabilidades variaron entre 0.0074–0.3921; la puntera es útil para la clasificación pero no es una probabilidad biológica calibrada.

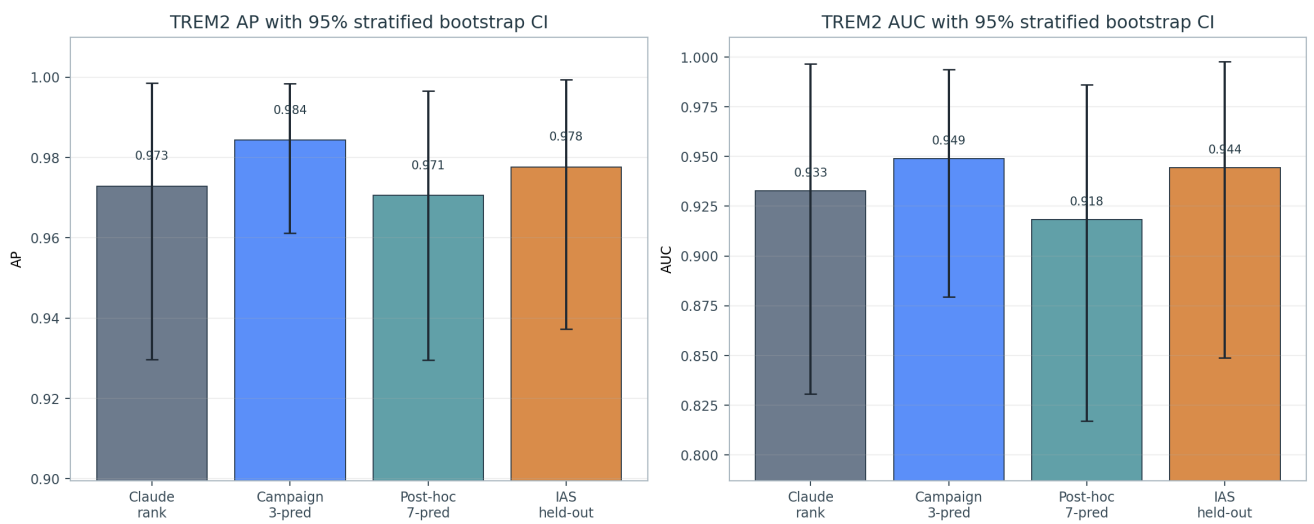
Diseño del estudio y análisis estadístico

El objetivo y la cohorte completa evaluable se fijaron antes del análisis de resultados. Los modelos de clasificación utilizaron predicciones de objetivos retenidos. Se estimó la incertidumbre utilizando 2,000 réplicas deterministas, de nivel de diseño, estratificadas con etiquetas. Se probó la asociación con un nulo de etiqueta intercambiable con permutaciones de etiquetas de puntaje fijo de 10,000 y una corrección de valor p de más uno. El umbral de funcionamiento se eligió únicamente sobre las predicciones internas no TREM2 de objetivos retenidos por el índice máximo Youden con desviación determinista, luego bloqueado y aplicado una vez en TREM2. Las características operativas binarias tienen intervalos de confianza de Wilson 95%. La reproducibilidad de dos proveedores fue evaluada por separado por células de acuerdo, Cohen kappa, acuerdo positivo/negativo simétrico, prueba exacta de McNemar, emparejado log10 KD correlación de rango con 2,000 replicas de bootstrap, y límites BlandAltman.

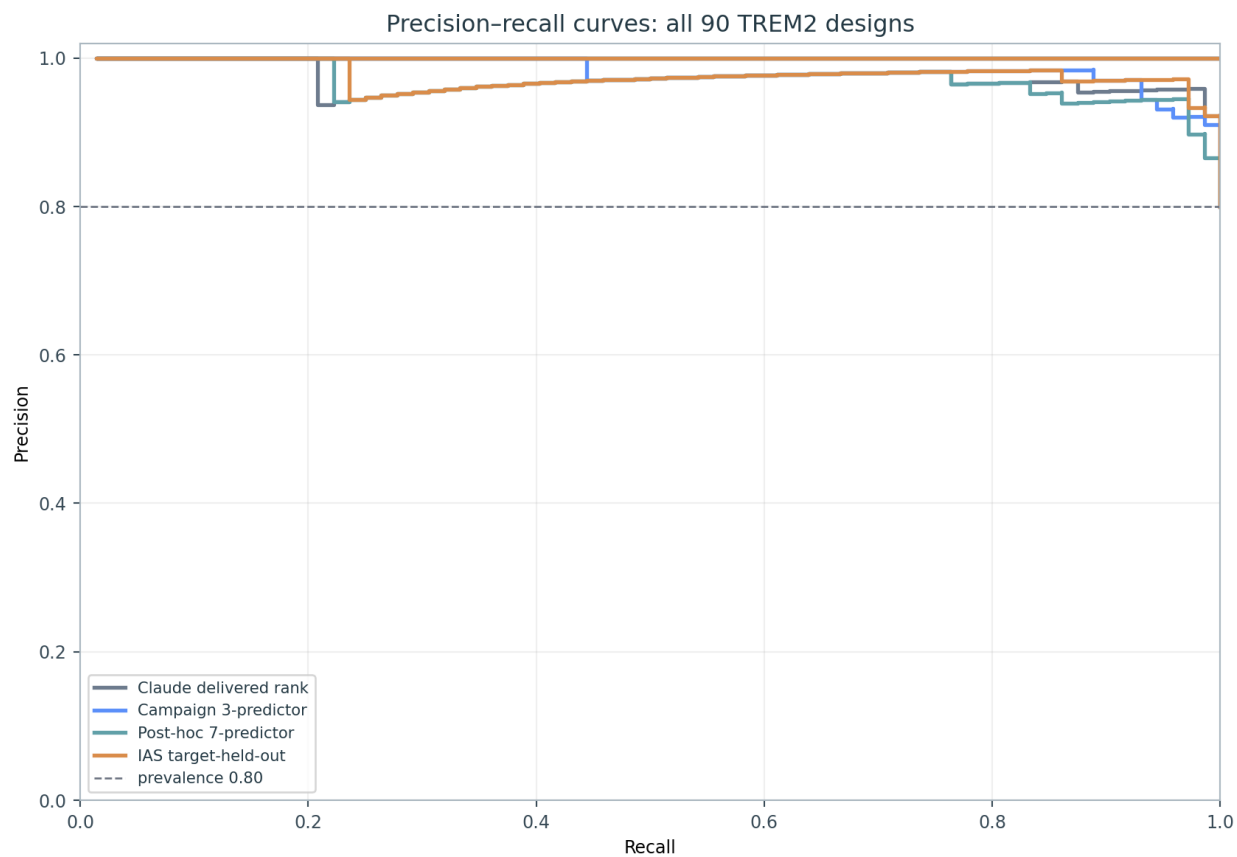
Este diseño separa tres cuestiones: la clasificación de la discriminación, el transporte de umbral y la reproducibilidad del ensayo.

Discriminación de la corte completa

Método	AP (95% CI)	AUC ROC (95% CI)
Claude entregó el rango	0.9729 (0.9297–0.9985)	0.9329 (0.8306–0.9965)
Predictor de campaña 3	0.9843 (0.9612–0.9985)	0.9491 (0.8796–0.9938)
Predictor post hoc 7	0.9706 (0.9295–0.9966)	0.9182 (0.8171–0.9861)
Los objetivos de las IAS retenidos	0.9776 (0.9374–0.9994)	0.9444 (0.8488–0.9977)



Discriminación de cohorte TREM2 completa

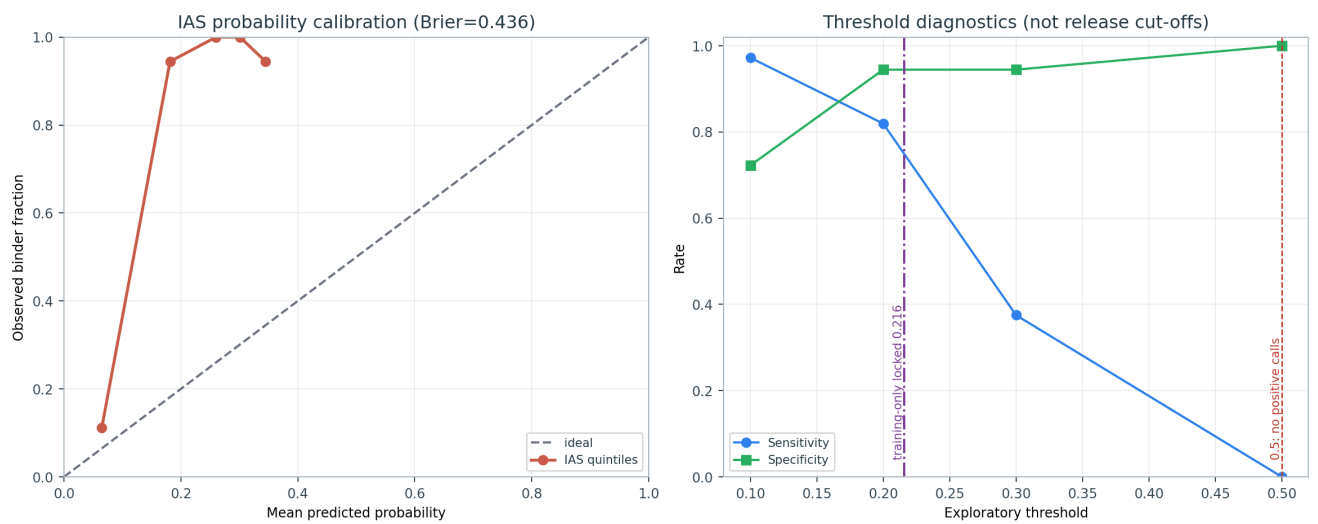


Curvas completas de recuerdo de precisión TREM2

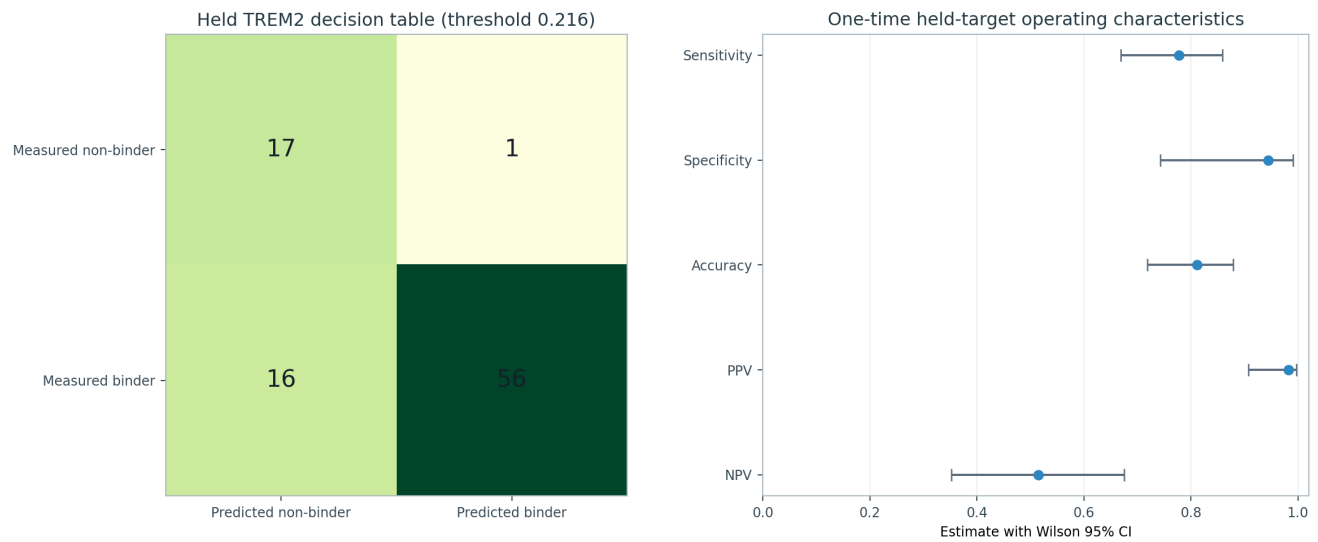
Los intervalos cuantifican la variación de muestreo dentro de la cohort. No representan una nueva capacidad de transporte para la campaña, el nuevo objetivo o la capacidad clínica.

Limitación y calibración para entrenamiento exclusivo

Resultado del objetivo retenido	Estimación	CI o recuento del 95%
Térmico	0.2158	fijas sin etiquetas TREM2
Sensibilidad	0.7778	0.6691–0.8583
Especificidad	0.9444	0.7424–0.9901
Precisión	0.8111	0.7182–0.8786
PPV	0.9825	0.9071–0.9969
NPV	0.5152	0.3522–0.6750
El número de confusiones	TP 56; FP 1	TN 17; FN 16



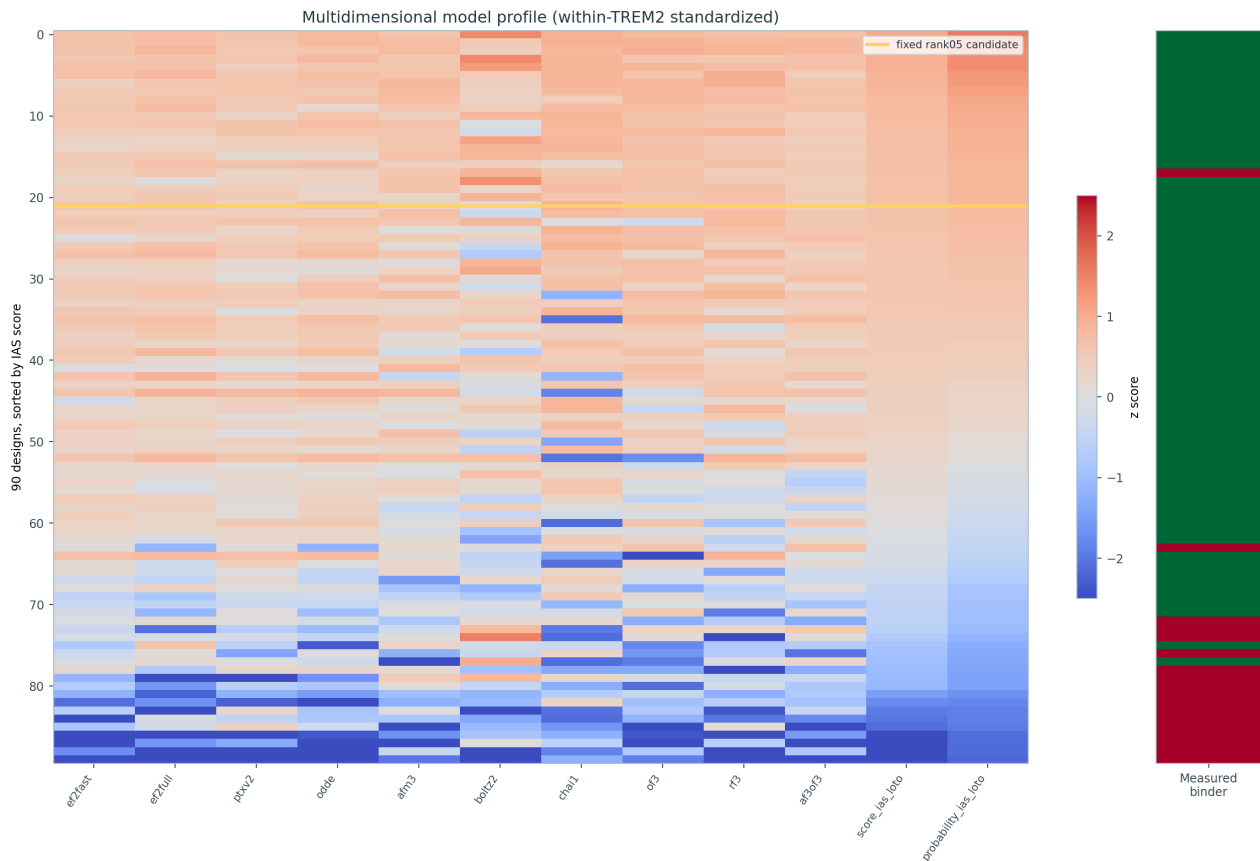
Calibración de probabilidades de las NII y transporte de umbrales



Térmico exclusivo de formación en TREM2 mantenido

El PPV alto coexiste con un NPV modesto porque la prevalencia de vinculantes es de 0.80. El umbral es un resultado de transporte retrospectivo, no un criterio clínico, de fabricación o de liberación futura de la campaña.

Extracción de mediciones multidimensionales

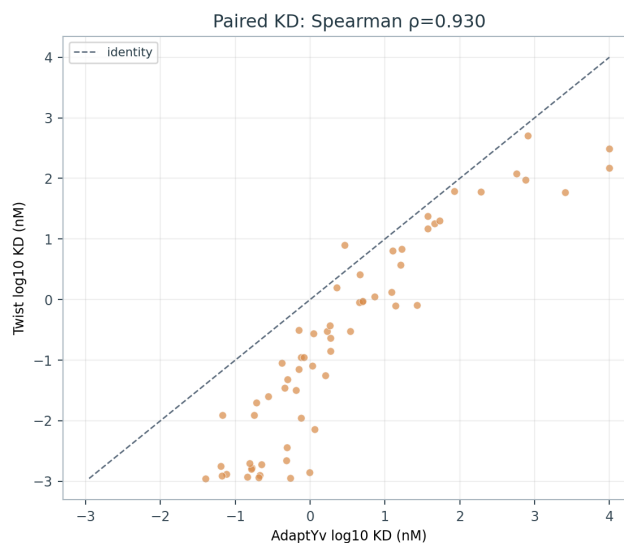
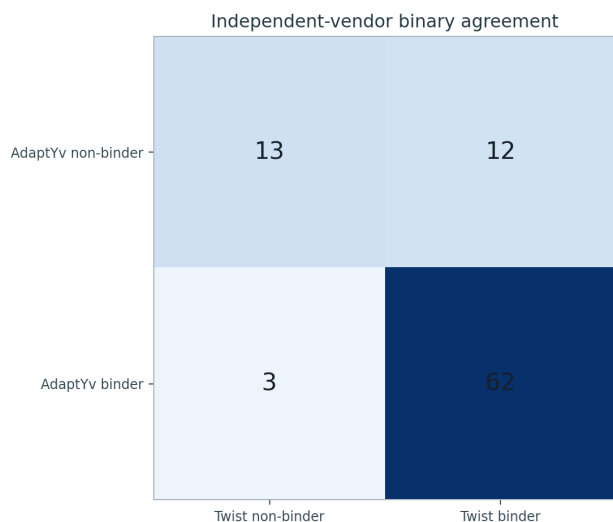


Perfiles multidimensionales de diseño completo

El panel muestra conjuntamente diez mediciones de la interfaz modelo-familia, el puntaje de IAS objetivo, la probabilidad no calibrada y la vinculación medida para cada diseño. Se proporcionan tres extractos de diagnóstico prespecificados: alto desacuerdo entre modelos, alto consenso multimodal y diseños discordantes entre proveedores con puntajes IAS altos. Estos extractos aislan las interacciones de ensayo / modelo que son invisibles en una sola clasificación, mientras que permanecen con el resultado consciente de los diagnósticos retrospectivos en lugar de un descubrimiento prospectivo.

El suplemento numérico proporciona la matriz de diseño completa de 90, las definiciones de medición, las unidades, la semántica de falta, la biblioteca de origen, la membresía de extracción y la posición candidata.

Reproducibilidad por proveedor independiente

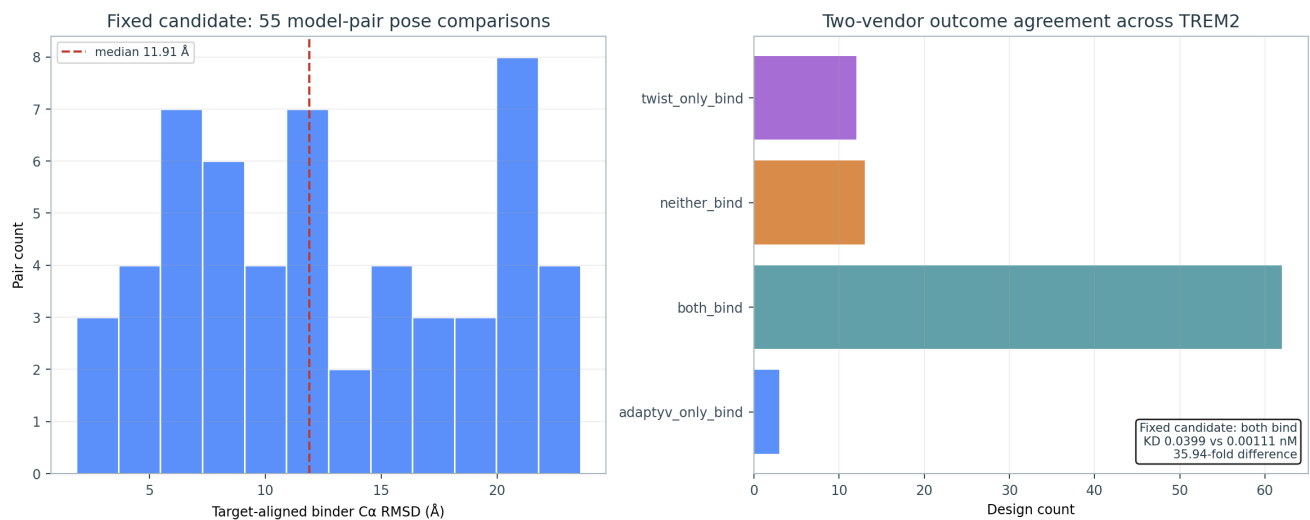


Reproducibilidad de dos proveedores

Las llamadas binarias acordadas para los diseños 75/90 (acordos 0.8333; CI del 95% 0.7431–0.8963; Cohen κ 0.5329). El acuerdo positivo y el acuerdo negativo fueron 0.8921 y 0.6341. La discrepancia fue asimétrica (exactamente McNemar $p=0.03516$). Entre las 62 observaciones de KD emparejadas, Spearman ρ fue de 0.9301 (CI del 95% de la banda de arranque 0.8652–0.9627), pero la diferencia de doble absoluta mediana fue de 10.15. Los vendedores conservan gran parte de los pedidos, pero no son intercambiables cuantitativamente.

Triangulación de la evidencia de candidatos fijos

El candidato público preseleccionado mythos_preview_multi_target_trem2_rank05 fue llamado un vinculante por ambos proveedores, con KD 0.039896 y 0.00111 nM, una diferencia de 35.94 veces. Sus rangos Claude, campaña, post hoc y IAS fueron 13, 26, 29 y 22. El conjunto de 11 modelos tenía una posición de enlazamiento de la meta RMSD 11.91 Å en media; No se afirma ninguna postura única.



Incertidumbre estructural y de ensayo del candidato

El soporte de unión binaria, el desacuerdo cuantitativo de KD y la dispersión de pose se mantienen como capas de evidencia separadas.

Enfermedad desconocida, eficacia, toxicidad, material y

inferencia de QA

Pregunta de la Comisión	Evidencias observadas	Inferencia limitada	El estado	Se requiere la siguiente medición
Indicación desconocida de la enfermedad	Identidad del objetivo TREM2, estructuras de objetivos públicos y vinculación del objetivo medido	La predicción defendible es una hipótesis de contexto objetivo microglial/neurodegenerativo ligado a TREM2; no se confirma ninguna indicación específica de enfermedad o beneficio terapéutico por este conjunto de datos moleculares.	**TARGET_CONTEXT_HYPOTHESIS_ONLY**	ensayo fenotipo relevante para la enfermedad, control objetivo y replicación independiente del modelo de enfermedad
Eficacia desconocida	vinculación de dos proveedores para el candidato público fijo, con clasificación retrospectiva de objetivos retenidos	Se apoya la unión molecular para el registro de candidato liberado; el agonismo, el antagonismo y la actividad celular y la eficacia in vivo permanecen sin ser probados.	**BINDING_SUPPORTED_FUNCTION_UNTESTED**	Señalización TREM2, fagocitosis y rescate dependiente del objetivo con replicas biológicas ciegas
Toxicidad desconocida	No hay conjunto de datos de toxicología, citocina, reactividad transversal de tejidos, exposición o inmunogenicidad	No se puede predecir la toxicidad y la seguridad a partir de las pruebas publicadas; la ausencia de una señal de toxicidad aquí no es informativa.	**NOT_ESTIMABLE**	viabilidad de los paneles celulares, citocinas, reactividad transversal de los tejidos, riesgo de exposición e inmunogenicidad
Identidad del compuesto/material desconocida	secuencia pública, archivos de coordenadas, UUID y hashes con pin de revisión	La identidad digital del candidato es rastreable y reproducible; no se puede asignar a esa identidad un material físico desconocido sin pruebas de química analítica y de custodia.	**DIGITAL_IDENTITY_TRACEABLE_PHYSICAL_UNTESTED**	masa intacta, mapeo de péptidos, pureza, concentración y cadena de custodia
Disposición desconocida de la QA	completo libro mayor de archivos públicos y análisis determinístico; las llamadas binarias del proveedor coinciden con el candidato pero	La calificación de procedencia digital se aprueba para este paquete de análisis público; la liberación física de lotes y la aceptación de	**DIGITAL_QA_PASS_PHYSICAL_RELEASE_UNTESTED**	método validado, lote de referencia, márgenes de equivalencia predefinidos y revisión de la curva en bruto

Pregunta de la Comisión	Evidencias observadas	Inferencia limitada	El estado	Se requiere la siguiente medición
	KD difiere 35.94 veces	ensayos están fuera de la evidencia disponible.		

El resumen distingue una identidad digital respaldada y la unión molecular reportada de la función no medida, el beneficio de la enfermedad, la seguridad y la disposición física del lote.

Libro mayor de pruebas de reclamaciones

ID	Reclamación	Prueba directa	El estado	Limitación
C01	La cohorte pública TREM2 fijada contiene 90 diseños evaluables con 72 sujetos y 18 no sujetos.	un libro mayor completo de cohortas y fuentes seleccionadas por el objetivo	**SUPPORTED**	objetivo único y campaña lanzada
C02	El ranking de los objetivos retenidos de las IAS discrimina los vinculantes TREM2 (AP 0.9776; ROC AUC 0.9444).	puntuación retenida en el objetivo, CI de arranque estratificado y prueba de permutación de etiqueta fija	**SUPPORTED**	no establece un nuevo transporte de campaña
C03	Un umbral únicamente de formación (0.2158) transfiere al objetivo TREM2 retenido con sensibilidad de 0.778 y especificidad de 0.944.	Etiquetas TREM2 totalmente excluidas de la selección del umbral	**SUPPORTED**	No es un límite prospectivo, clínico o de fabricación
C04	El IAS es superior a los comparadores de campaña pública y post hoc.	Las diferencias de arranque en pareja incluyen o no excluyen firmemente cero	**NOT_ESTABLISHED**	no se hace ninguna reclamación de superioridad
C05	Los valores de probabilidad de los IAS se calibran para su uso en decisiones directas (observado Brier 0.4357).	Curva de calibración, puntaje Brier y rango de probabilidad comprimido	**NEGATIVE_RESULT**	la puntuación de clasificación es primaria; las probabilidades no se liberan como riesgos calibrados
C06	El candidato público fijo se une a TREM2 en ambos ensayos de proveedores reportados.	dos llamadas de enlace; KD 0.039896 y 0.00111 nM	**SUPPORTED**	Los valores de KD no son intercambiables y las curvas en bruto no están disponibles
C07	Se confirma experimentalmente una sola postura de unión para el candidato fijo.	Ensemble de 11 modelos y dispersión de posturas en pares	**NOT_ESTABLISHED**	Requiere pruebas ortogonales de epítipo o de estructura compleja
C08	La evidencia molecular establece la indicación de la enfermedad, la	No hay modelo de enfermedad, eficacia funcional o conjunto de datos toxicológicos	**OUTSIDE_SCOPE**	requiere experimentos biológicos independientes

ID	Reclamación	Prueba directa	El estado	Limitación
	eficacia funcional o la seguridad.			
C09	La identidad digital del candidato y la procedencia de la fuente pública son rastreables.	UUID, revisión fijada, URL por archivo y libro mayor SHA-256	**SUPPORTED**	no identifica una muestra física desconocida
C10	Se puede liberar un lote de fabricación o un ensayo a partir de este conjunto de datos público.	No hay custodia física del lote ni prueba de liberación validada	**OUTSIDE_SCOPE*	Requiere pruebas analíticas y de idoneidad del método específicas para cada lote

Declaración de uso del manuscrito. El estudio retrospectivo limitado es científicamente liberable para la publicación de sus métodos, resultados de cohortes completos, resultado negativo de calibración, análisis de reproducibilidad, cifras, tablas y suplemento numérico. Cualquier manuscrito debe conservar la revisión del conjunto de datos fija, cohortas fijas, intervalos de incertidumbre, resultados negativos y libro mayor de reclamaciones. Las conclusiones prospectivas, terapéuticas, toxicológicas, clínicas, de material desconocido y de fabricación son estudios futuros separados y no son conclusiones de este informe.

Decisión científica y alcance

En este informe se analizan 15 depósitos de coordenadas TREM2 experimentales públicos. La capa de evidencia se limita a las coordenadas experimentales depositadas y su literatura estructural primaria. El resultado permitido es un conjunto de hipótesis de estructura molecular y especificaciones de ensayo resueltas por residuos y falsificables. La identidad del compuesto desconocido, el estado de la enfermedad, la conformidad de la calidad del cliente, la causalidad, la eficacia, la seguridad, la identidad de la interfaz fisiológica y la confirmación lista para la publicación siguen sin establecerse.

El corpus de coordenadas consta de 9 estructuras de ectodomaínas, 7 complejos depositados y 3 depósitos de NMR transmembrana. En 36 pares de ectodomaína, la mediana C-alfa RMSD fue de 0.861 Å (rango 0.384-3.491 Å). Todas las conclusiones están condicionadas a la construcción, pareja, mutación, envasado de cristales, resolución y heterogeneidad de las coordenadas faltantes.

Libro mayor de pruebas de formato cruzado: 15 estructuras experimentales; 36 pares de ectodominas; mediana C-alfa RMSD 0.861 Å; 361 pares de contactos nativos; 142 registros de interfaces de residuos; 72 candidatos de vacío geométrico.

Resumen estructurado

Pregunta: ¿Qué características estructurales TREM2 observadas experimentalmente son lo suficientemente reproducibles como para orientar las mediciones discriminatorias?

Diseño. Las coordenadas PDBx/mmCIF fijas en hash se normalizaron a las posiciones UniProt Q9NZC2. Los ectodomains se alinearon rígidamente en las posiciones comunes de C-alfa; el desplazamiento de residuos, la estructura secundaria, el área de superficie accesible a los solventes (SASA), la topología de contacto nativa, las interfaces complejas de depósito, los vacíos geométricos y la dispersión de los conformes NMR dentro del depósito se calcularon. Se evaluaron seis hipótesis con tamaños de efecto, una familia Benjamini-Hochberg de siete pruebas, un análisis empírico de ventana contiguo, arranque de deposición-cluster y análisis de abandono de una sola deposición.

Resultado principal. Las posiciones 70-79 mostraron una dispersión alineada mediana de 4.027 Å versus 0.629 Å en otros lugares, una diferencia de 3.398 Å y la relación de 6.401. Sin embargo, el intervalo de inicio de deposición del 95% para la diferencia fue de -0.016 a 4.686 Å y, por lo tanto, cruzó cero. El resultado apoya una hipótesis de heterogeneidad, no una dinámica demostrada.

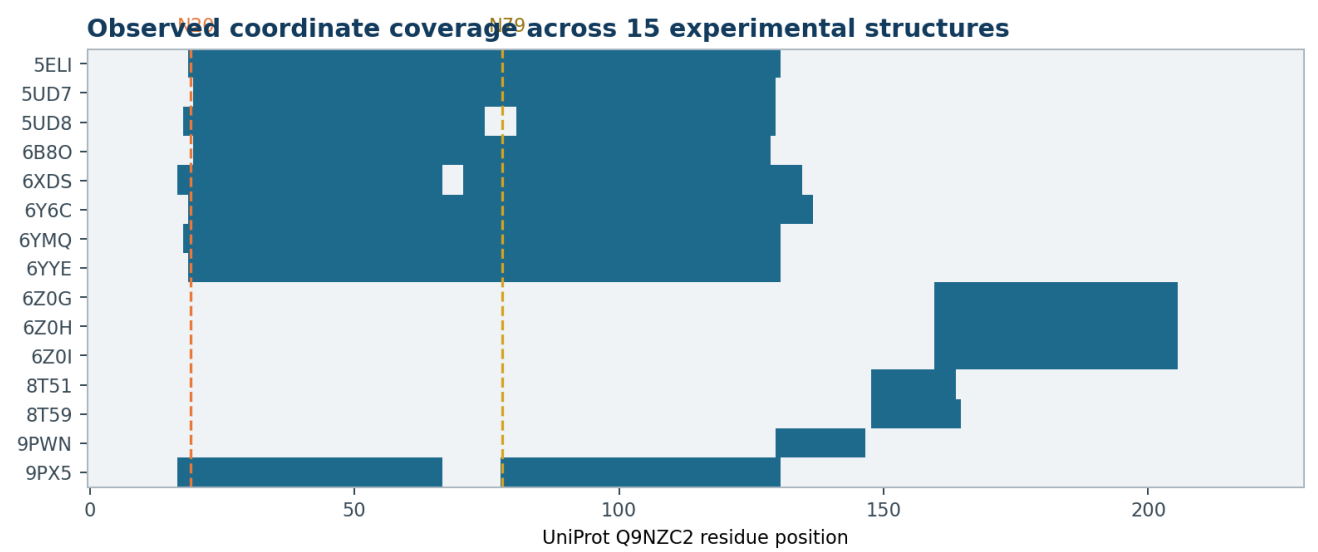
Conclusión: El resultado más fuerte es un programa de validación pre-especificado para el bucle 70-79, contraste R47H, epítopes recurrentes expuestos, núcleo de red de contacto, contexto glicano N20/N79 y transmembrana-región de transmisión conformista.

Corpus experimental y estratificación

PDB	estratos / método	Resolución A	posiciones observadas	faltan en el lapso
5ELI	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	3.10	112	3
5UD7	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	2.20	110	46
5UD8	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	1.80	106	6
6B8O	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	2.20	109	47
6XDS	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	1.47	114	4
6Y6C	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	2.26	118	38
6YMQ	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	3.07	113	0
6YYE	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	3.36	112	1
6Z0G	transmembrane_nmr; Solución NMR	NA	46	0
6Z0H	transmembrane_nmr; Solución NMR	NA	46	0
6Z0I	transmembrane_nmr; Solución NMR	NA	46	0
8T51	short_epitope_peptido ; DIFRACCIÓN por rayos X	1.90	16	3
8T59	short_epitope_peptido ; DIFRACCIÓN por rayos X	2.00	17	2

PDB	estratos / método	Resolución A	posiciones observadas	faltan en el lapso
9PWN	short_epitope_peptido ; DIFRACCIÓN por rayos X	1.80	17	1
9PX5	full_ig_like_ectodomain; DIFRACCIÓN por rayos X	3.70	103	15

La unidad de muestreo es una deposición, no un átomo o un residuo. Los residuos dentro de una estructura y las estructuras de construcciones estrechamente relacionadas están correlacionados. El corpus es una muestra de conveniencia de depósitos disponibles y no es una cohorte biológica potencial.



Cobertura coordinada

Hipótesis científicas pre-especificadas

ID	pregunta científica	efecto observado	la decisión	falsificador
H01	¿Es el 70-79 un bucle ligando estructuralmente más heterogéneo que el resto de ectodomaín Ig-como? Previsión: la dispersión C-alfa alineada mediana en 70-79 excede las posiciones 20-130 excluyendo ese bucle	Primaria: diferencia y relación mediana; observada: 3.398 Å; relación 6.401	Incertidumbre: deposición de la banda de arranque 95% de diferencia de CI -0.016 a 4.686 Å; relación 0.936 a 8.121; robustez: relación LODO 5.435 a 6.953; ventana empírica $p=0.0485$	Decisión: apoyada como heterogeneidad de deposición cruzada; dinámica no probada; falsificador: efecto inversiones o intervalo incluye una diferencia mediana no positiva después de la replicación de alta resolución de la construcción coincidente
H02	¿El depósito único de R47H muestra un desplazamiento desproporcionado del bucle 70-79 en relación con su comparador estructural WT? Previsión: El desplazamiento del bucle alineado 5UD8 a 5UD7 excede las posiciones de ectodomaín comunes restantes	Primaria: relación de desplazamiento mediano de bucle/fondo; observado: RMSD global 2.651 Å; mediano del bucle 9.175 Å; media de fondo 1.114 Å	Incertidumbre: una deposición de WT y una de R47H; los efectos de cristal y de construcción son inseparables; robustez: tabla de desplazamiento resuelta por posición y prueba exploratoria ajustada por multiplicidad	Decisión: solo contraste estructural; el mecanismo del genotipo sigue sin confirmarse; falsificador: estructuras WT/R47H y solución HDX/NMR no reproducen el cambio localizado en el bucle
H03	¿Están expuestos físicamente y estructuralmente distintos los residuos en contacto repetido?	Primaria: delta del acantilado para SASA relativa; observado: mediana de interfaz rSASA 0.414; mediana no interfazada 0.224	Incertidumbre: siete complejos de anticuerpos/scFv/fragmentos no son ligandos fisiológicos independientes; robustez: exposición separada y heterogeneidad contrastan con el ajuste de la HB	Decisión: apoya epítopes experimentales accesibles; no afinidad fisiológica; falsificador: los mapas ortogonales de unión no superponen las interfaces de coordenadas recurrentes

ID	pregunta científica	efecto observado	la decisión	falsificador
H04	¿Se distingue un núcleo estable de las posiciones variables expuestas? Previsión: alto grado de contacto se asocia negativamente con la SASA relativa y coordina la heterogeneidad	Primaria: rho de Spearman; observado: grado-versus-heterogeneidad rho -0.526; grado-vs-rSASA rho -0.795	Incertidumbre: autocorrelación espacial a nivel de residuos y sesgo de selección de la estructura; robustez: mantenimiento de los ejes ortogonales; falta de puntuación de identidad compuesta	Decisión: el mecanismo topológico genera hipótesis; falsificador: estructuras coincidentes o datos de estabilidad mutativa no muestran relación con la incorporación de redes
H05	¿Podría la aparente divergencia estructural explicarse principalmente por la resolución cristallográfica? Previsión: si la resolución es dominante, la resolución más pobre debe seguir monótona la RMSD de referencia más alta	Primaria: nivel de deposición de Spearman rho; observado: rho -0.150, n=9	Incertidumbre: la resolución, la construcción, el embalaje de cristal, la variante y el socio vinculante se confunden; robustez: se utiliza como diagnóstico de sesgo, nunca como corrección causal	Decisión: no puede aislar la resolución como causa de la divergencia; falsificador: serie de construcción/resolución coincidente explica el efecto de bucle observado
H06	¿Qué subregiones de las construcciones de la NMR transmembrana 161-206 muestran la mayor dispersión de los depósitos conformes?	Primaria: medianas regionales y RIC dentro de los depósitos; se observó: reportados por separado para 6Z0G, 6Z0H y 6Z0I	Incertidumbre: los ensambles depositados son representaciones compatibles con la retención, no trayectorias cinéticas muestras; robustez: tres depósitos y límites regionales fijos	Decisión: sólo incertidumbre estructural regional; falsificador: mediciones independientes de soluciones muestran un patrón de flexibilidad alternativo localizado por región

Las hipótesis se evalúan por separado; no se utiliza puntaje compuesto opaco. Un gran efecto geométrico no se interpreta como causalidad biológica a menos que se pase la puerta independiente correspondiente.

Métodos de coordinación y medición

Los residuos fueron mapeados a la secuencia canónica Q9NZC2; las coordenadas no resueltas permanecieron faltantes. Los pares de ectodomaínos se compararon después de alinear el cuerpo rígido de los mínimos cuadrados de las posiciones comunes de C-alfa. La heterogeneidad de los residuos es el desplazamiento de los alfa-C alineados a través del depósito y no es una fluctuación del dominio temporal. SASA usó una sonda de solvente de 1.40 Å y 240 puntos superficiales por átomo; SASA relativa usó máximas de referencia específicas de residuos.

Los contactos nativos se definieron como la distancia C-alfa al máximo 8.0 Å con separación de secuencias de al menos cuatro residuos. Los bordes de la red de consenso requerían frecuencia de contacto de al menos 0.5 entre al menos cinco estructuras de ectodomaínas coobservadas. Los contactos de depósito complejo utilizaron un criterio de distancia atómica de 5.0 Å; Los paros polar y sal-proxy utilizaron los criterios 3.5 y 4.0 Å. Estos son observables geométricos, no energías de unión.

Estimación estadística, unidad de inferencia y multiplicidad

Las estimaciones primarias son las diferencias medianas, las proporciones medianas y el delta de Cliff y el rho de Spearman. T01-T07 forman una familia de multiplicidades Benjamini-Hochberg. Las pruebas de rango de residuos son exploratorias porque los residuos adyacentes están espacialmente y secuencialmente correlacionados. Sus valores nominales P y q ajustados no crean replicación biológica.

H01 también utiliza un rango empírico contiguo de diez ventanas de residuos, un análisis de 2,000 muestras de deposición-cluster bootstrap y de dejar una deposición (LODO). El grupo de arranque, no el recuento de residuo, es el principal diagnóstico de incertidumbre. H02 contiene un par estructural WT / R47H y es por lo tanto descriptivo.

Cuadro completo de sensibilidad estadística

prueba / hipótesis	Unidad / procedimiento	contraste / n	estimación del efecto	P / BH q / familia
T01 / H01	Unidad: posición del residuo (exploratorio; correlacionado espacialmente); procedimiento: Mann-Whitney U bifacético	Las posiciones 70-79 frente a las posiciones 20-130 excluidas las 70-79; n=10 frente a 101	Cliff_delta=1.000	P=2.035e-07; BH q=3.56e-07, familia=T01-T07
T02 / H02	Unidad: posición de residuos dentro de un par estructural; descriptivo; procedimiento: Mann-Whitney U bifacético	5UD7-versus-5UD8 desplazamiento en posiciones 70-79 frente a posiciones comunes restantes; n=6 frente a 98	Cliff_delta=1.000	P=1.318e-09; BH q=4.613e-09, familia=T01-T07
T03 / H03	Unidad: posición del residuo (los complejos son construcciones de ingeniería heterogéneas); procedimiento: Mann-Whitney U bidireccional	Posiciones de interfaz recurrente frente a las no interfaces: SASA relativa; n=34 vs 77	Cliff_delta = 0.400	P=0.0008288; BH q=0.0012; familia=T01-T07
T04 / H03	Unidad: posición de residuos (exploratoria); procedimiento: Mann-Whitney U de dos lados	Posiciones de interfaz recurrente frente a las no interfaces: heterogeneidad de las coordenadas; n=34 vs 77	Cliff_delta=-0.112	P=0.3487; BH q=0.4068; familia=T01-T07
T05 / H04	Unidad: posición del residuo; procedimiento: correlación de rango de Spearman de dos caras	grado de contacto de consenso frente a la heterogeneidad de las coordenadas; n=111 frente a Ninguno	Spearman_rho=-0.526	P=3.013e-09; BH q=7.03e-09, familia=T01-T07
T06 / H04	Unidad: posición del residuo; procedimiento: correlación de rango de Spearman de dos caras	grado de contacto de consenso frente a SASA relativa; n=111 frente a Ninguno	Spearman_rho=-0.795	P=2.006e-25; BH q=1.404e-24; familia=T01-T07
T07 / H05	Unidad: deposición experimental; procedimiento: correlación bidireccional de rango de Spearman	Resolución de rayos X frente a RMSD a 5UD7; n=9 frente a Ninguno	Spearman_rho=-0.150	P=0.7001; BH q=0.7001; familia=T01-T07

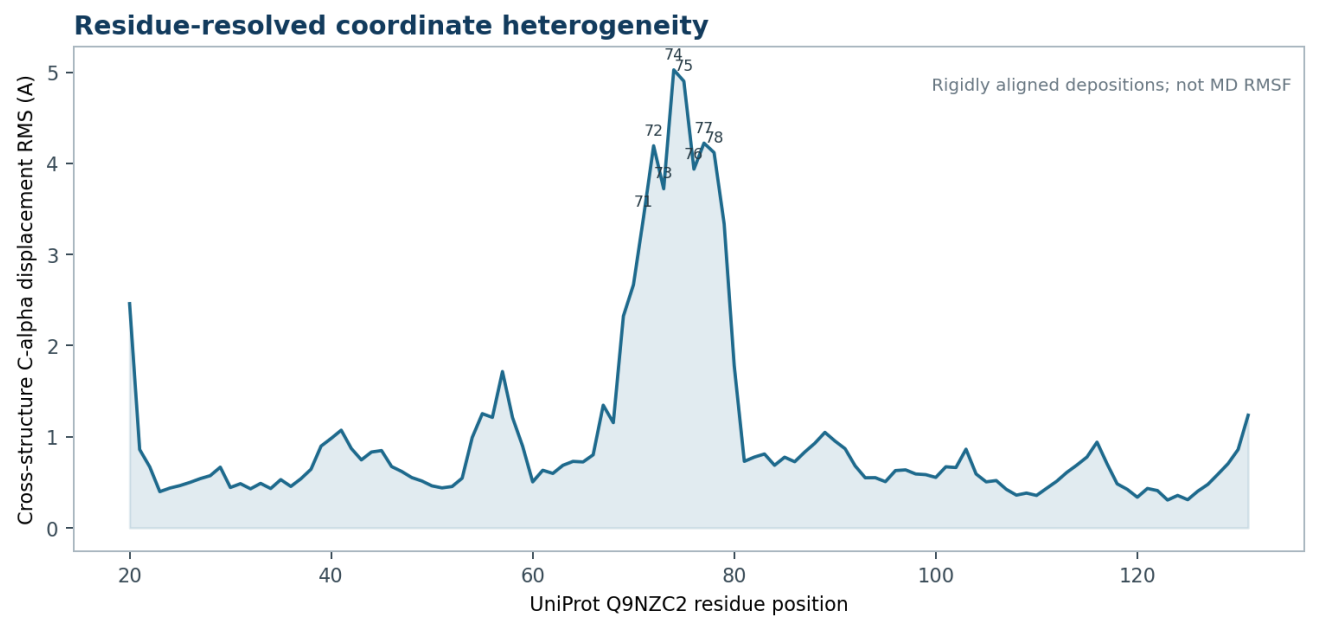
prueba / hipótesis	Unidad / procedimiento	contraste / n	estimación del efecto	P / BH q / familia
S01 / H01	Unidad: ventana de secuencia; procedimiento: rango empírico de cola superior	comparación empírica contiguo de diez ventanas de residuos; n=1 vs 102	ventana_empírica_p=4.027	P=0.0485; BH q=NA; familia=sólo sensibilidad_
S02 / H01	Unidad: deposición experimental; procedimiento: intervalo percentil	2,000 repeticiones de arranque de clusters de deposiciones; n=9 vs 2000	median_difference_angstrom_95pct_CI=3.398	P=NA, BH q=NA; familia=sólo sensibilidad
S03 / H01	Unidad: deposición experimental; procedimiento: rango de influencia	Alineaciones reajustadas de un solo depósito; n=9 vs Ninguna	median_ratio_range=6.401	P=NA, BH q=NA; familia=sólo sensibilidad

Las probabilidades ajustadas cuantifican la compatibilidad bajo el procedimiento exploratorio declarado; no corren la selección de construcciones, la autocorrelación espacial o la dependencia de la deposición.

H01 70-79 heterogeneidad de bucle

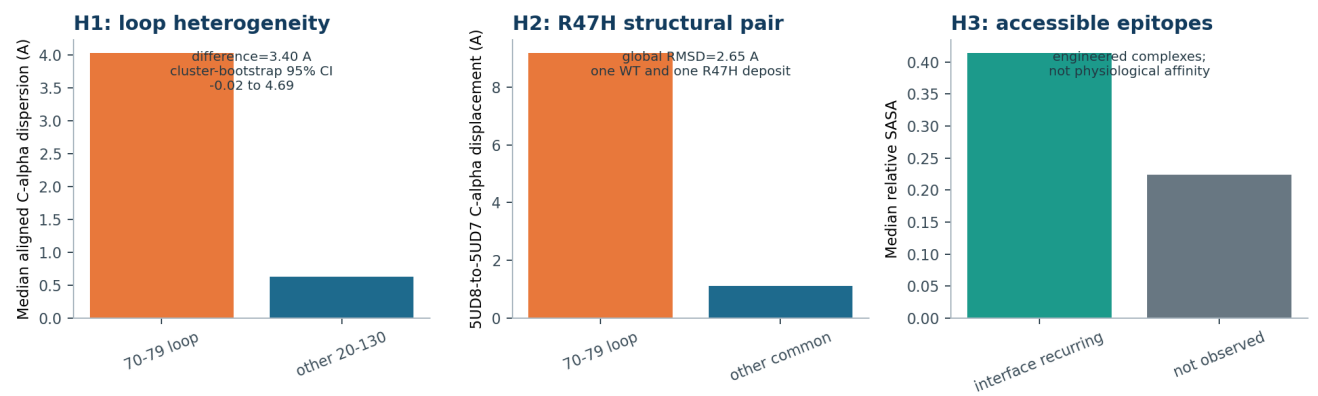
La ventana 70-79 tenía una dispersión mediana alineada de 4.027 Å; las posiciones 20-130 excluyendo esa ventana tenían 0.629 Å. La diferencia mediana fue de 3.398 Å y la proporción fue de 6.401. El delta del nivel de residuos de Cliff fue de 1.000 (P=2.03e-07, BH q=3.56e-07).

Esta dirección y magnitud son compatibles con un bucle ligando conformacionalmente permisivo. No establecen dinámica porque cada depósito es una observación de coordenadas estática, dependiente de la condición y la comparación de residuos está correlacionada.



heterogeneidad de las coordenadas resueltas en residuos

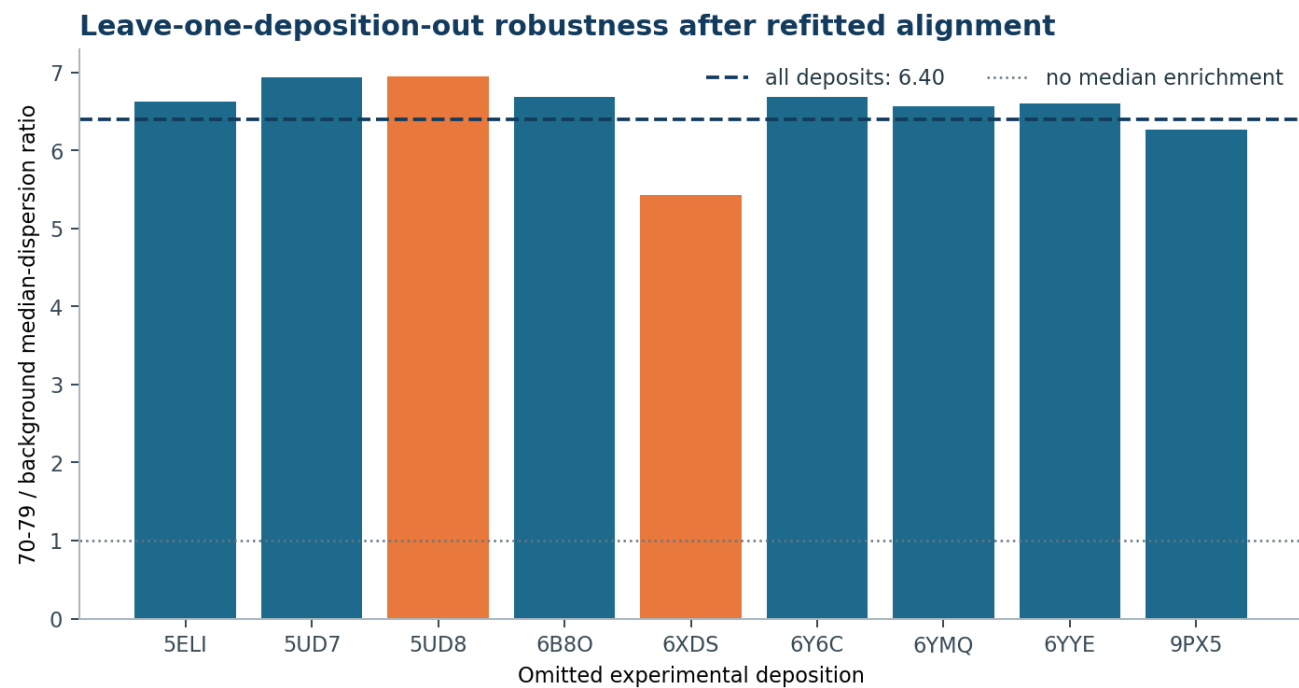
Prespecified coordinate-level hypothesis effects



Efectos de la hipótesis

H01 incertidumbre y robustez

La probabilidad empírica de cola superior de la ventana contigua fue de 0.0485. En los análisis de LODO, la relación bucle / fondo oscilaba entre 5.435 y 6.953; por lo tanto, ninguna sola deposición generó la dirección estimada de punto. En contraste, el intervalo de 95% de la banda de arranque de los clusters de deposición de 2.000 muestras fue de -0.016 a 4.686 A para la diferencia y de 0.936 a 8.121 para la relación. Debido a que ambos intervalos incluyen su respectivo límite nulo, H01 sigue generando hipótesis.



Sensibilidad a la eliminación de un solo depósito

Tabla H01 de abandono de un solo depósito

omitido PDB / retenido n	mediano de bucle A	mediana de fondo A	Una diferencia	proporción / interpretación
5ELI (retenerse n=8)	4.282	0.646	3.636	ratio=6.630; análisis de la influencia a nivel de deposición después de rehacer el subconjunto retenido
5UD7 (retener n=8)	4.322	0.623	3.699	ratio=6.932; análisis de influencia a nivel de deposición después de la reajustación del subconjunto retenido
5UD8 (retener n=8)	3.800	0.547	3.253	ratio=6.953; análisis de influencia a nivel de deposición después de la reajustación del subconjunto retenido
6B8O (retener n=8)	4.285	0.641	3.644	ratio=6.687; análisis de la influencia a nivel de deposición después de rehacer el subconjunto retenido
6XDS (retener n=8)	2.728	0.502	2.226	ratio=5.435; análisis de influencia a nivel de deposición después de la reajustación del subconjunto retenido
6Y6C (retener n=8)	4.281	0.641	3.641	ratio=6.682; análisis de la influencia a nivel de deposición después de rehacer el subconjunto retenido
6YMQ (retener n=8)	4.279	0.652	3.627	ratio=6.563; análisis de influencia a nivel de deposición después de rehacer el subconjunto retenido
6YYE (retener n=8)	4.277	0.648	3.629	ratio=6.601; análisis de la influencia a nivel de deposición después de rehacer el subconjunto retenido

omitido PDB / retenido n	mediano de bucle A	mediana de fondo A	Una diferencia	proporción / interpretación
9PX5 (retener n=8)	4.027	0.642	3.385	ratio=6.271; análisis de la influencia a nivel de deposición después de rehacer el subconjunto retenido

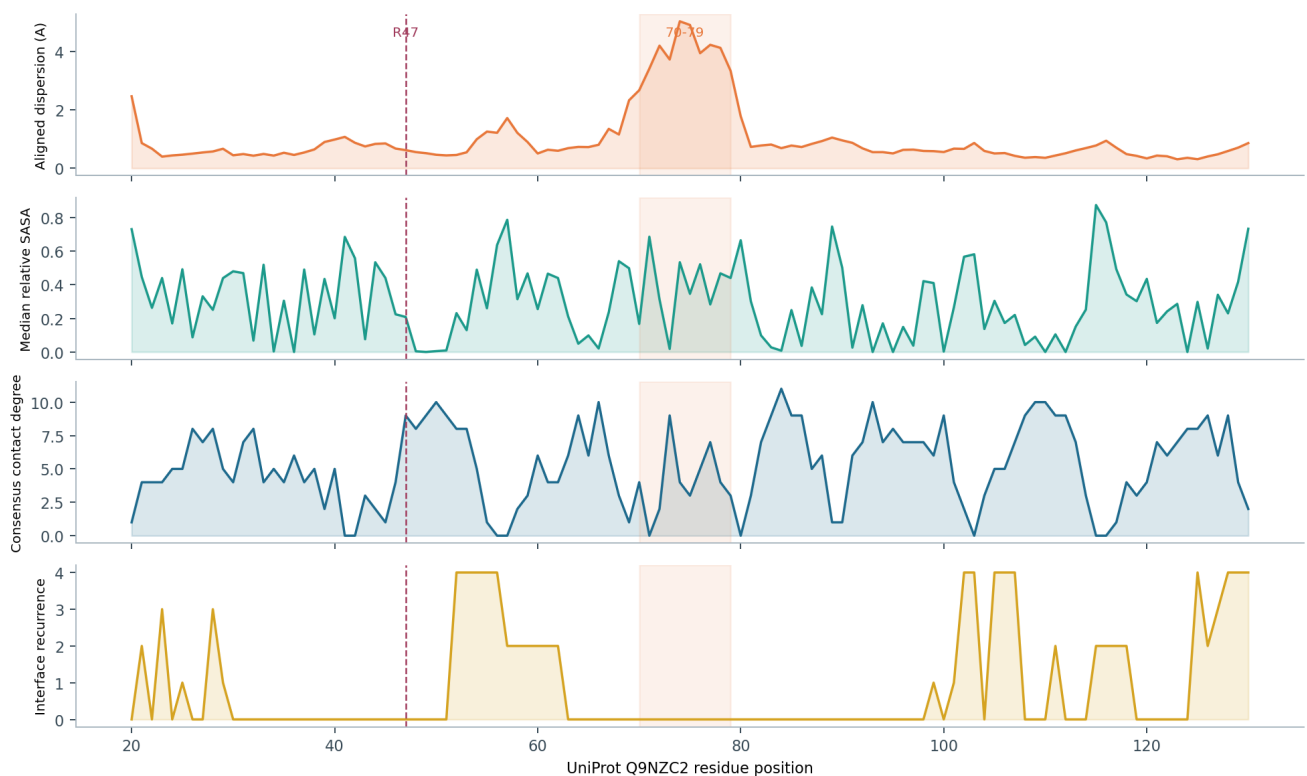
Regla de interpretación: la estabilidad del signo apoya la robustez a la apalancamiento de depósito único; no elimina los sesgos de construcción compartida o cristalización.

H02 contraste estructural directo WT/R47H

Después de la alineación, el 5UD7 WT versus 5UD8 R47H global C-alpha RMSD fue de 2.651 A. El desplazamiento mediano en posiciones comunes 70-79 fue de 9.175 A versus 1.114 A en las posiciones comunes restantes. El efecto de nivel de residuos fue el delta de Cliff 1.000 (BH q=4.61e-09).

Sólo seis posiciones de bucle eran comunes y sólo un par de deposiciones WT/R47H estaba disponible. Las condiciones de mutación, construcción, pareja, embalaje y medición son inseparables. Por lo tanto, el resultado es un contraste estructural, no evidencia de que R47H causa el desplazamiento observado. Se requiere un experimento de carga-rescate R47K para discriminar electrostática de efectos de contexto.

Sequence-resolved structural mechanism map

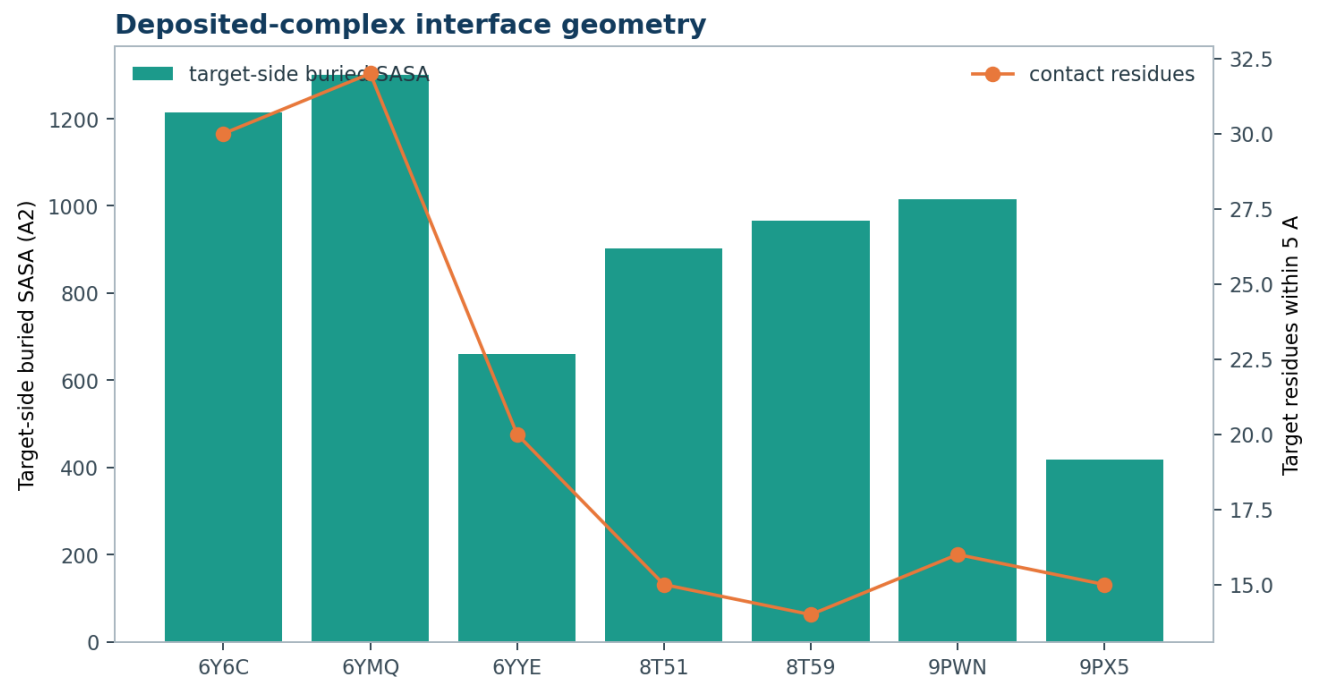


Mapa de secuencias y mecanismos

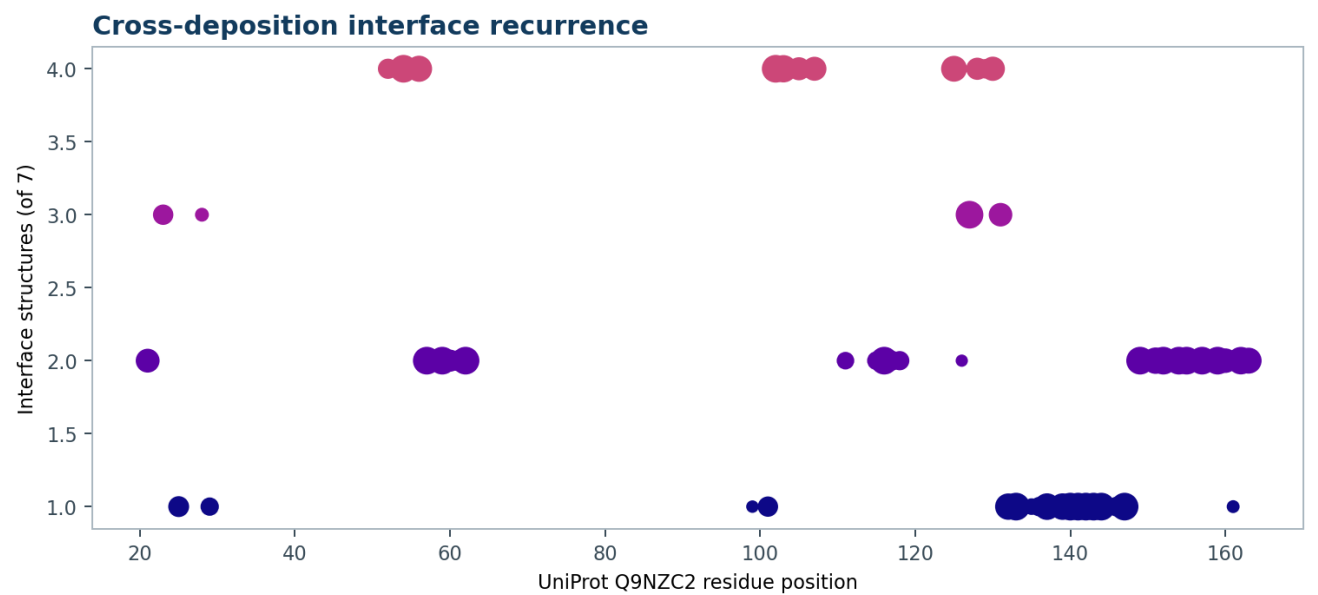
H03 Interfaces depositadas recurrentes

Las posiciones recurrentes en las interfaces de anticuerpos depositados, scFv o fragmentos tenían una mediana relativa de SASA 0.414, en comparación con 0.224 para posiciones no interfaz. El contraste de exposición tenía el delta de Cliff de 0.400 (BH q=0.0012). El contraste de heterogeneidad fue pequeño y no significativo (delta -0.112, BH q=0.407).

Esto soporta epítopes experimentales accesibles, no una interfaz o afinidad fisiológica de ligando.



Geometría de la interfaz depositada

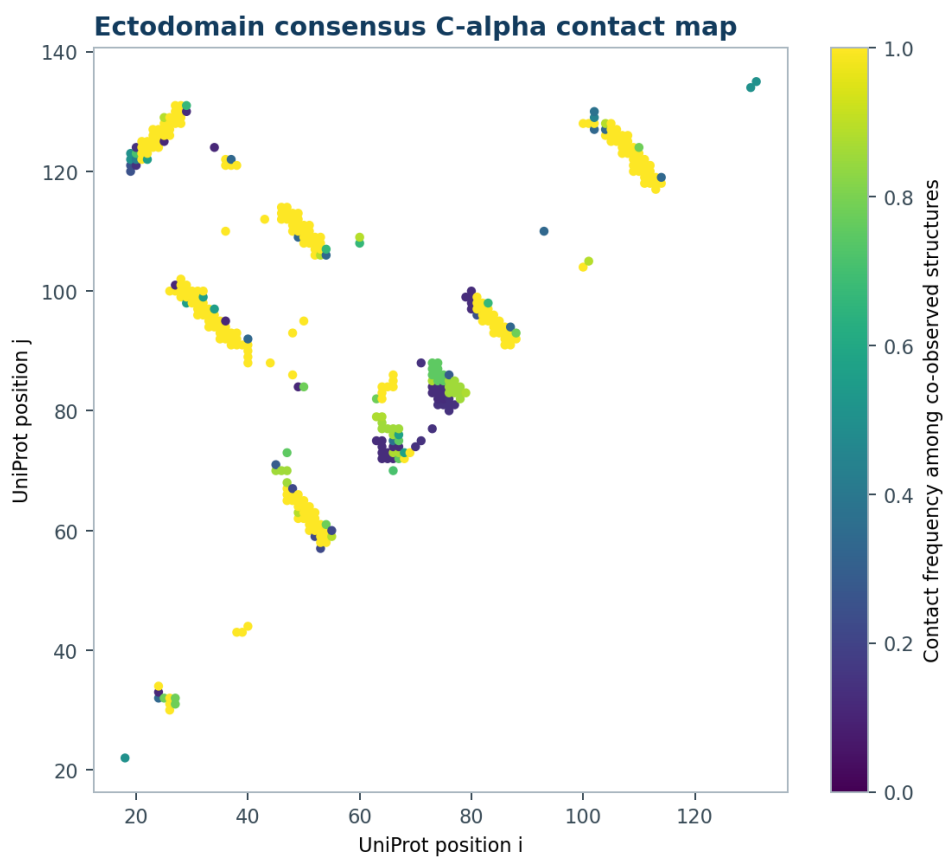


Recurrencia de la interfaz

H04 Incorporación en la red de contacto

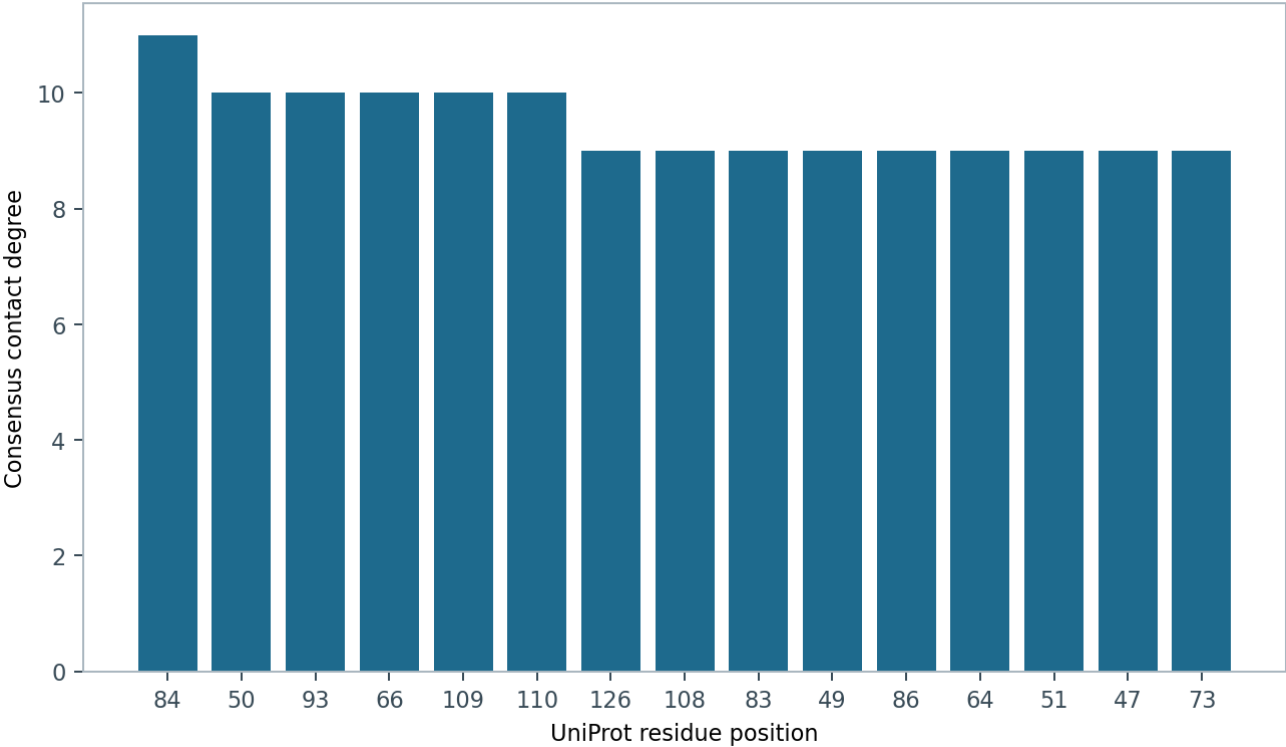
El grado de contacto de consenso se correlaciona negativamente con la heterogeneidad alineada (Rho de Spearman -0.526, BH $q=7.03e-09$) y con SASA relativa (RH -0.795, BH $Q=1.4e-24$).

Las observaciones de residuos están autocorrelacionadas espacialmente; el corte de contacto y las coordenadas faltantes alteran la topología de la red.



Mapa de contactos de consenso

Highest-degree residues in the consensus contact network

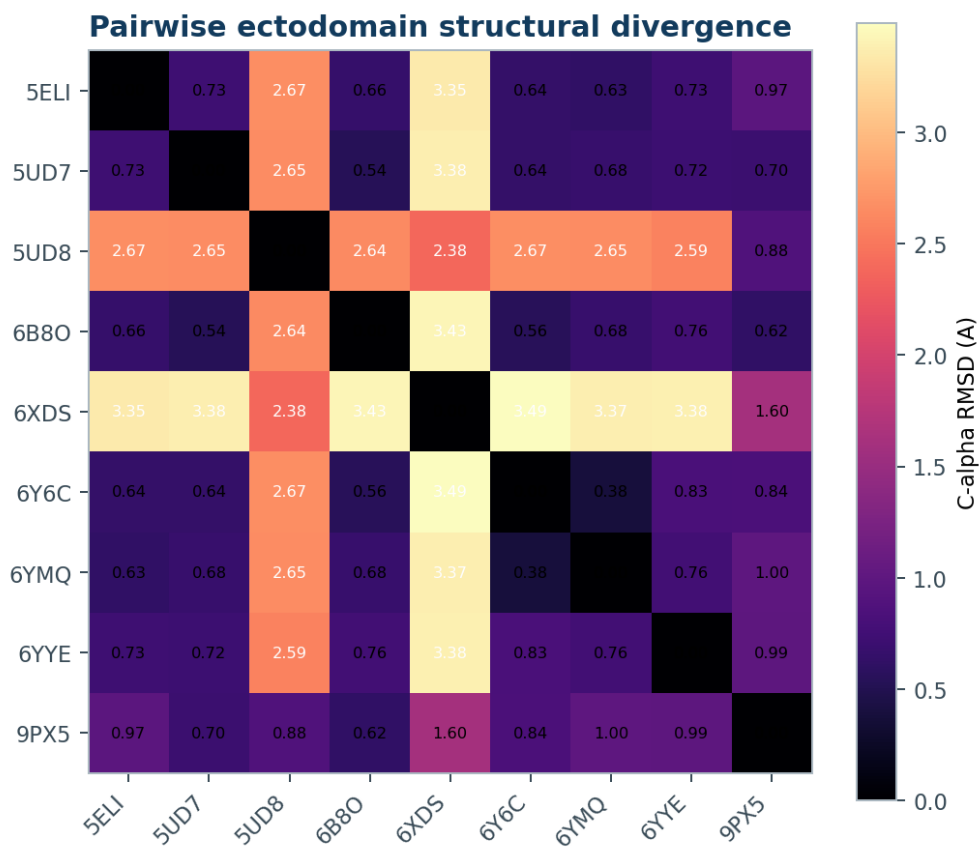


Los centros de contacto de consenso

H05 Diagnóstico de prejuicios de resolución

En nueve depósitos de ectodomaína, la resolución cristallográfica frente al RMSD alineado con referencia tenía el rho de Spearman -0.150 (P=0.700, BH q=0.700).

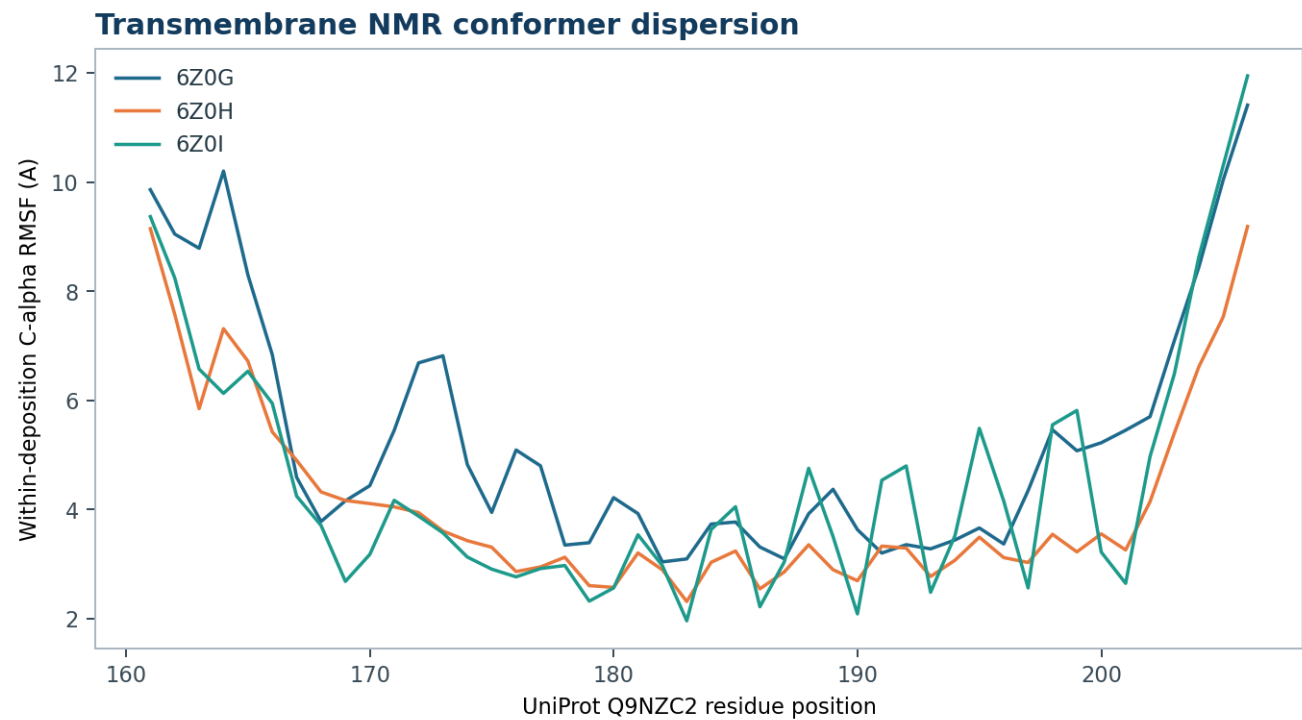
El resultado es un diagnóstico negativo, no evidencia de que la resolución es irrelevante. La resolución se confunde con la construcción, el socio, la mutación y el entorno de cristal, y la muestra es pequeña.



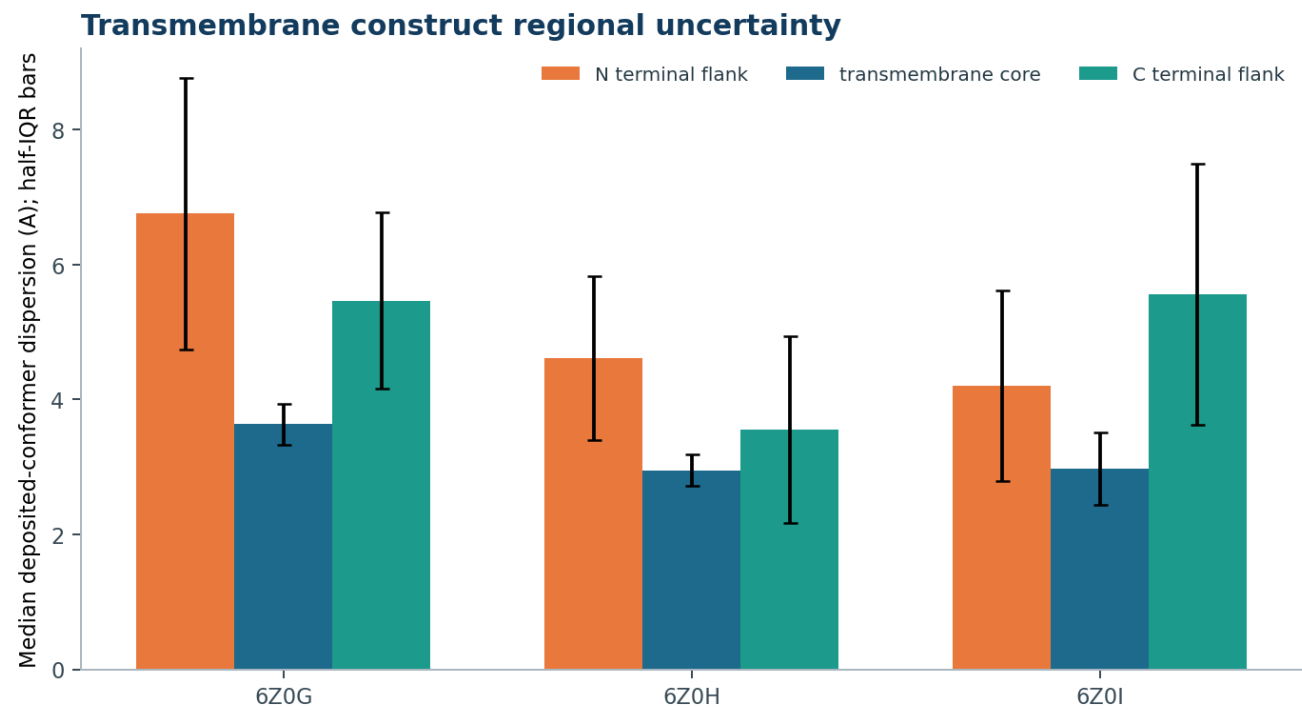
RMSD C-alfa en pareja

H06 Dispersión regional transmembrana NMR

Los conformadores depositados se alinearon dentro de cada uno de los 6Z0G, 6Z0H y 6Z0I. Las regiones predefinidas fueron el flanco N 161-174, el núcleo transmembrana 175-195 y el flanco C 196-206. En cada depósito la dispersión mediana del núcleo transmembrana era menor que los dos flancos. Este patrón es consistente con la restricción de conformación regional, pero los valores se distribuyen entre los conformadores depositadosno cinética, poblaciones de equilibrio, diferencias de energía libre o RMSF de dinámica molecular.



Dispersión del conformador NMR transmembrano



Dispersión regional de NMR

Estimaciones regionales H06

PDB / región	posiciones / n	mediana A	RICA A	Interpretación
6Z0G / N_terminal_flank	161-174 (n=14)	6.754	4.018	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular
6Z0G / transmembrane_core	175-195 (n=21)	3.633	0.613	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular
6Z0G / C_terminal_flank	196-206 (n=11)	5.463	2.619	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular
6Z0H / N_terminal_flank	161-174 (n=14)	4.613	2.439	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular
6Z0H / transmembrane_core	175-195 (n=21)	2.948	0.467	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular
6Z0H / C_terminal_flank	196-206 (n=11)	3.554	2.768	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular
6Z0I / N_terminal_flank	161-174 (n=14)	4.208	2.826	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular
6Z0I / transmembrane_core	175-195 (n=21)	2.975	1.071	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no

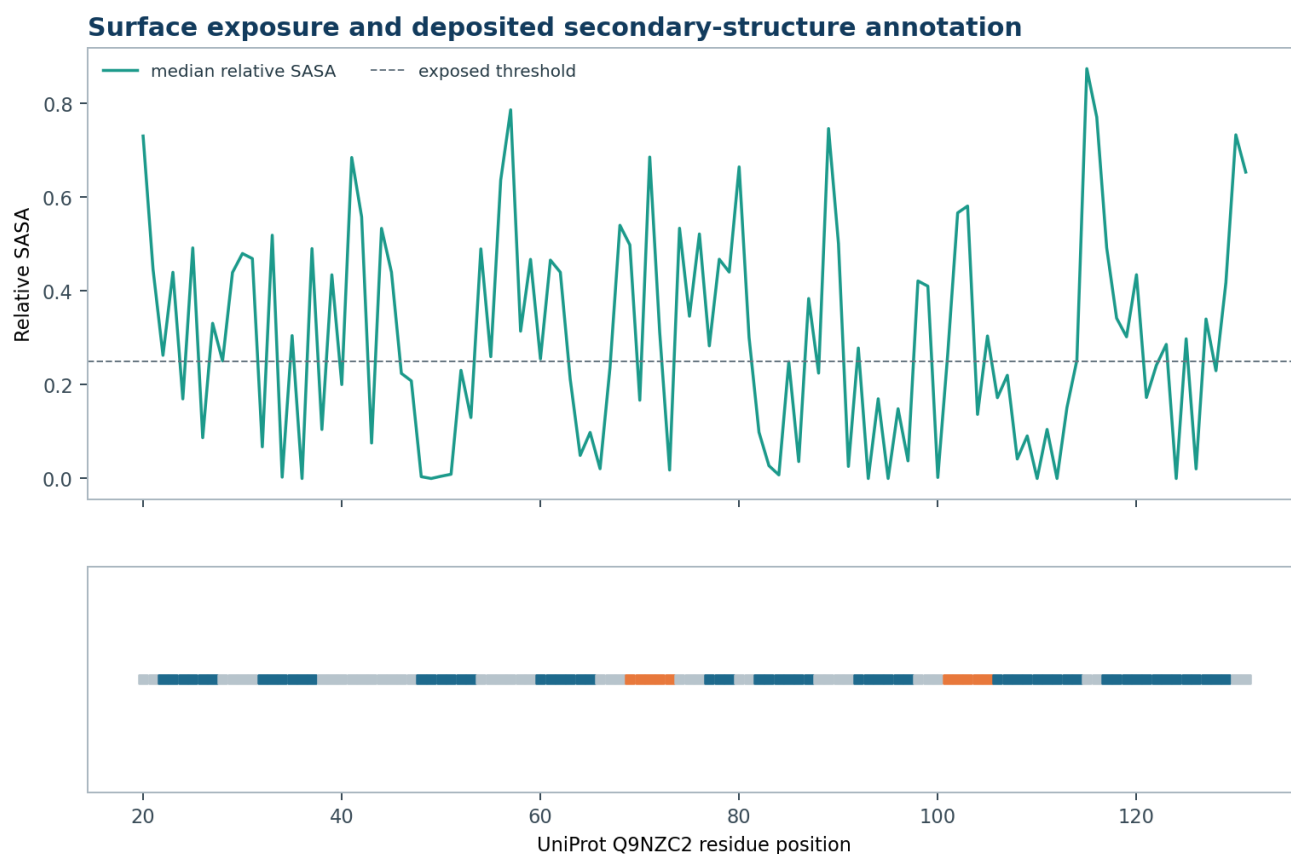
PDB / región	posiciones / n	mediana A	RICA A	Interpretación
				cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular
6Z0I / C_terminal_flank	196-206 (n=11)	5.554	3.870	dispersión entre los conformes de NMR depositados; no cinética, poblaciones de equilibrio o RMSF de dinámica molecular

Una prueba confirmatoria requiere NMR de relajación u otro método de solución sensible al tiempo en un imitador de membrana controlada, con estequiometría DAP12 y estado de construcción verificado.

Exposición superficial, estructura secundaria y contexto glicánico

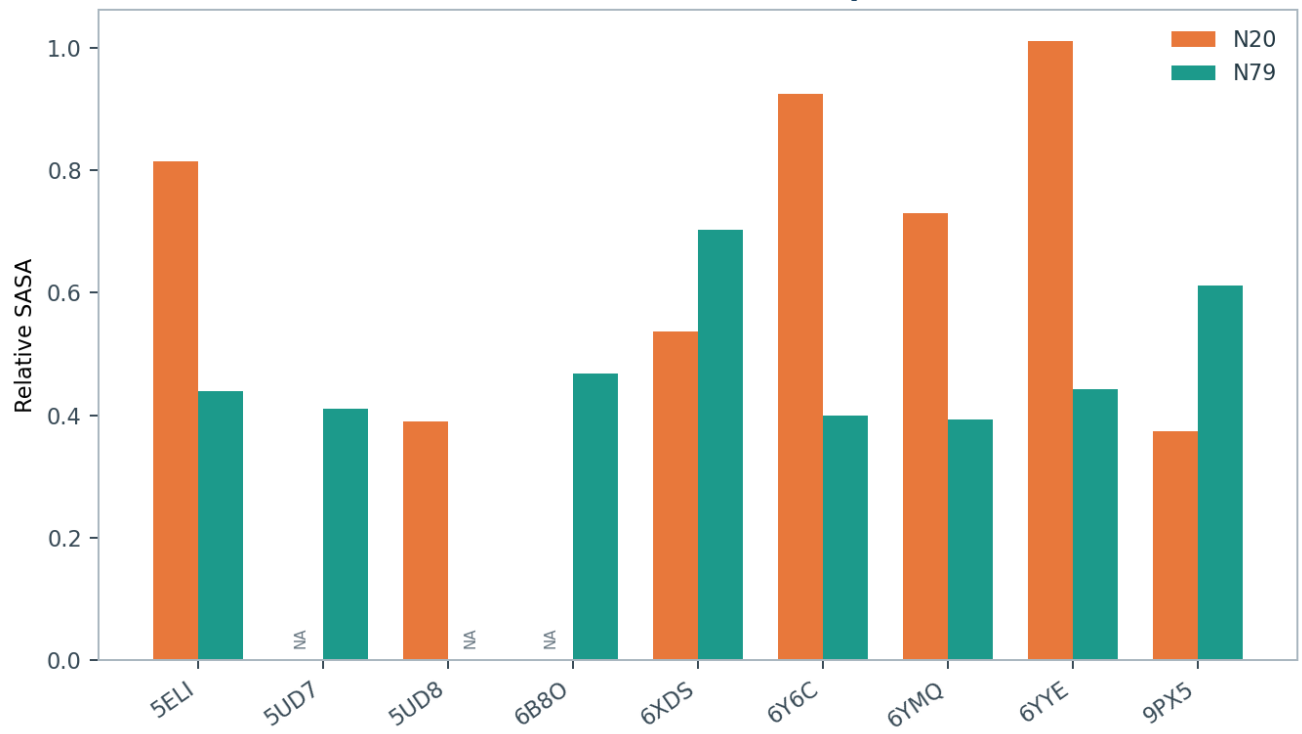
N20 y N79 se evaluaron sólo cuando se observaron las coordenadas. La SASA relativa, la estructura secundaria, los hetero átomos cercanos y los átomos de carbohidratos cercanos se mantuvieron por separado.

La hipótesis falsificable de los glicanos es que la ocupación específica del sitio o los cambios en la glicóforma alteran la accesibilidad o el intercambio local. Requiere que el glicopéptido LC-MS/MS resuelto en el sitio con controles enzimáticos e isotópicos; las coordenadas solas no pueden establecer la ocupancia, la asociación con la enfermedad o la aceptación de QA.



Contexto de la superficie y de la estructura secundaria

Coordinate-observed N20 and N79 surface exposure

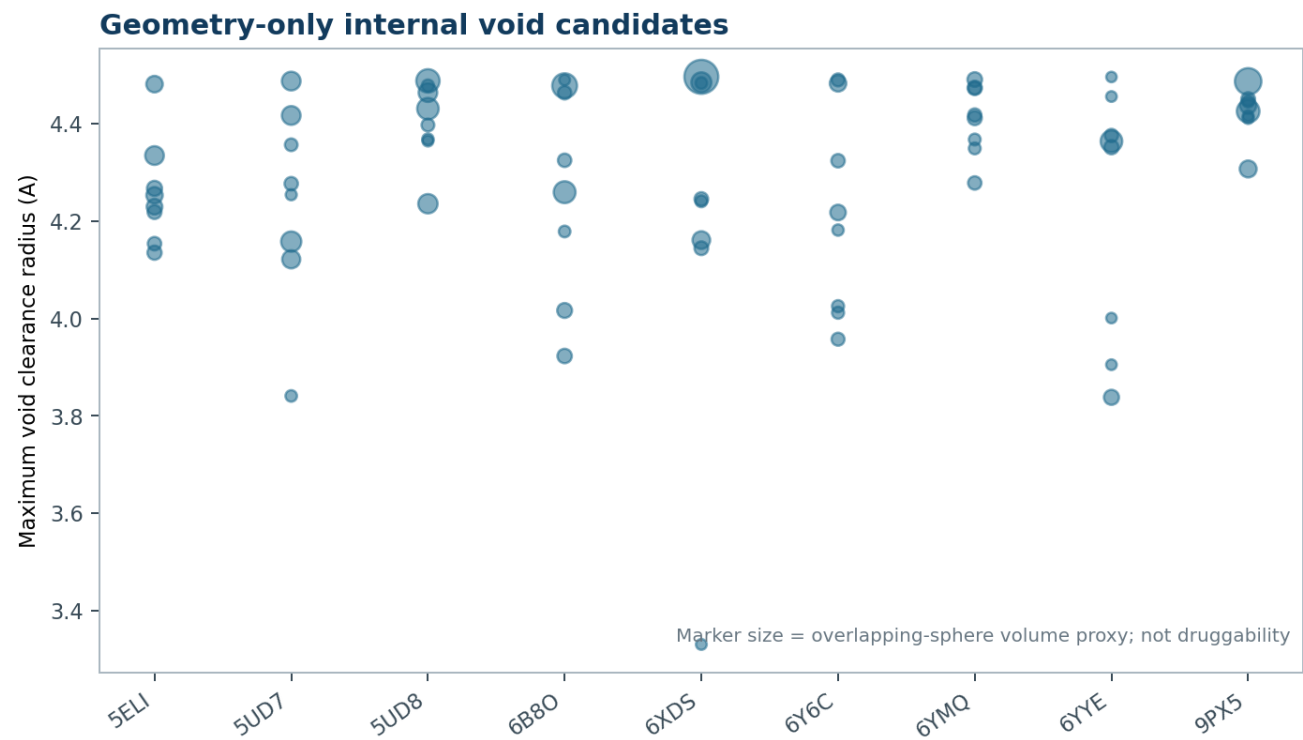


Contexto de las coordenadas N20 y N79

Los huecos geométricos y el contexto del sitio del fragmento

Los candidatos vacíos se generaron como esferas de limpieza del Delaunay-tetraedral con radios de 1.40-4.50 Å y agrupados en 2.6 Å. El volumen de esfera superpuesta reportado es un proxy geométrico. El método omite la desolación, la protonización, la reorganización de la cadena lateral, la termodinámica del agua y la cepa de ligando.

Las coordenadas 6XDS ligadas a fragmentos proporcionan un contexto de contacto experimental concreto, pero una ubicación respaldada por fragmentos no valida otros vacíos geométricos.

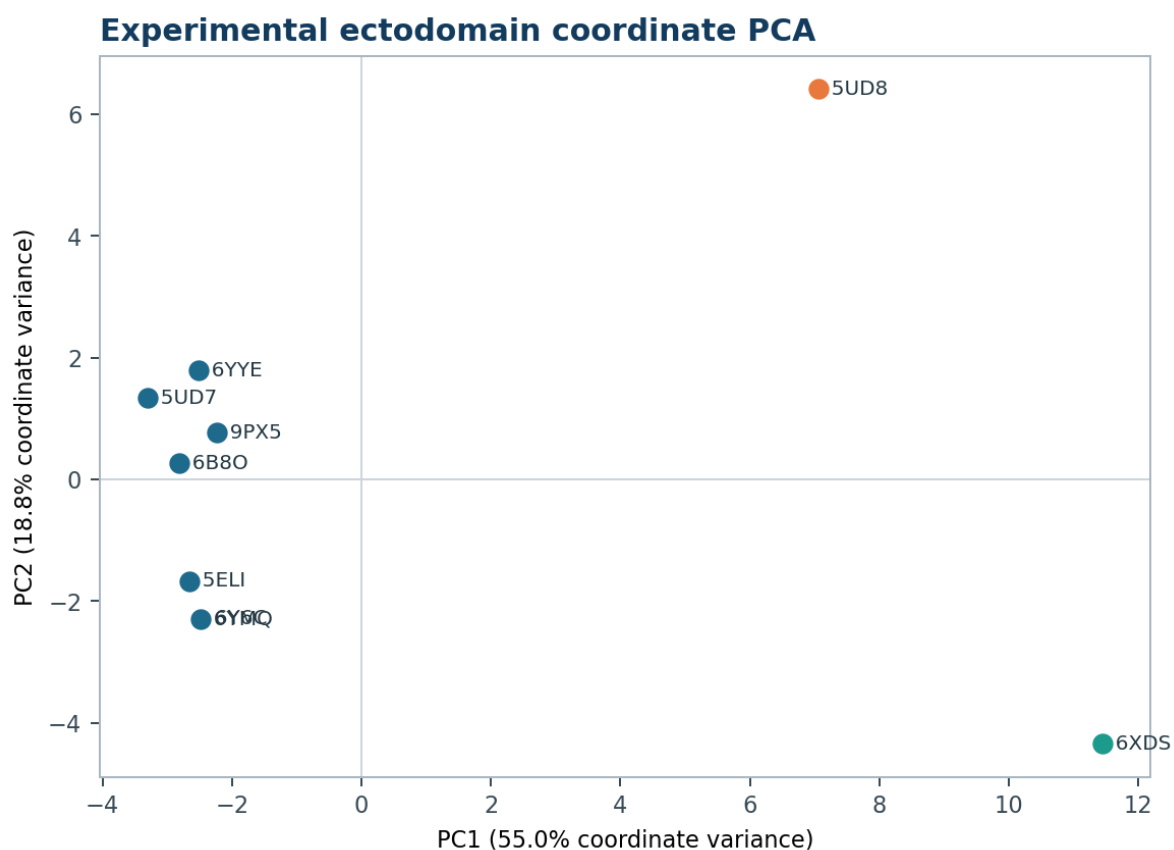


Candidatos válidos únicamente en geometría

Integración estructural multidimensional

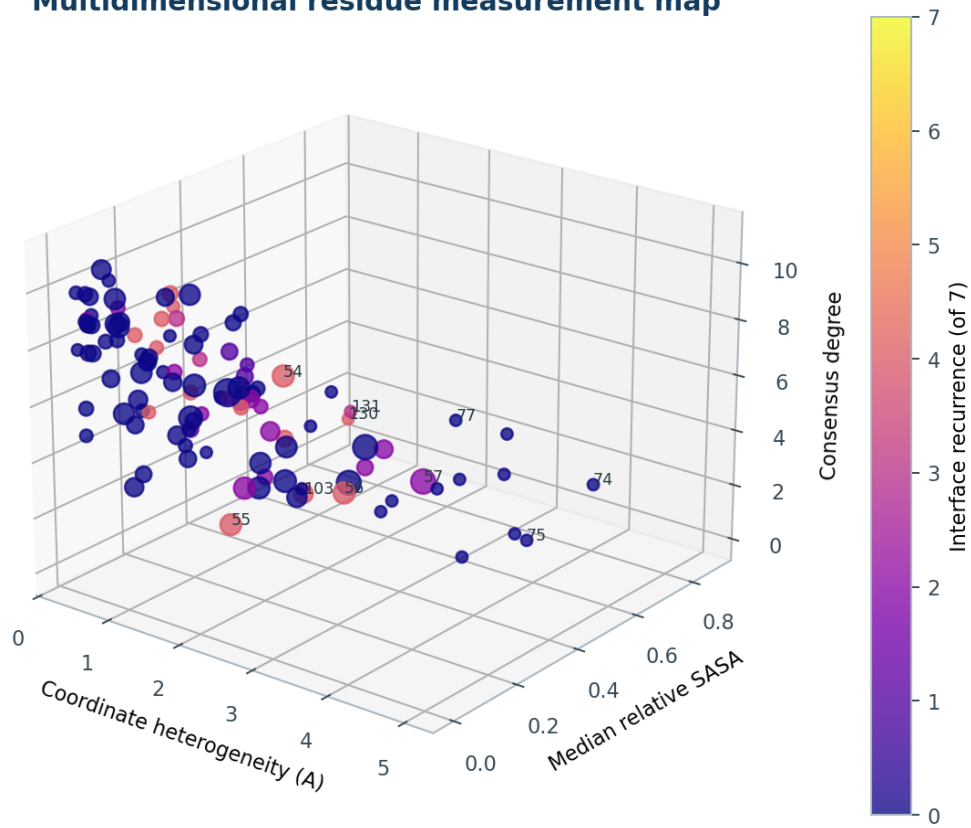
Cada residuo retiene ejes separados para el desplazamiento alineado, SASA relativa, grado de contacto, centralidad de interconexión, recurrencia de interfaz, contribución de coordenadas-PCA y entropía de estructura secundaria. Los ejes responden a diferentes preguntas científicas y no se desmoronan en una puntuación de identidad.

El PCA coordinado muestra una variación dominante dentro de este corpus estructural seleccionado; no es un paisaje termodinámico de energía libre.



Coordinación de la PCA

Multidimensional residue measurement map



Mapa multidimensional de residuos

Matriz de interpretación mecánica

ID	observación	hipótesis biofísica	Explicaciones en competencia	medida de límite / discriminatoria
M01	las posiciones 70-79 muestran una dispersión de coordenadas alineadas elevada	un bucle maleable orientado hacia el ligando puede acomodar interacciones químicamente distintas	envasado de cristal, límites de construcción, mutación, pareja de unión, resolución y coordenadas faltantes	Prohibido: dinámica de la solución, poblaciones de estado o afinidad; discriminar con: HDX-MS de construcción coincidente más NMR de solución o ensayo estructural en tiempo resuelto
M02	El par R47H presenta un desplazamiento por posición resuelto en relación con el WT	la pérdida de carga de arginina puede alterar la red de interacción local y la presentación de bucle	Diferencias entre el embalaje y la preparación de cristal único	Prohibido: mecanismo de enfermedad causal; discriminación con: estructuras WT/R47H de replicación, controles de carga-reversión, BLI/SPR de PS-nanodisco y señalización celular
M03	las posiciones accesibles al solvente se superponen en la recurrencia de la interfaz	las superficies accesibles son captadas repetidamente por los vinculares de ingeniería	Selección de anticuerpos y sesgo de cristalización	Prohibido: interfaz de ligandos endógenos o afinidad fisiológica; discriminar con: mapeo de la competencia con ligandas endógenos y escaneo mutativo
M04	grado de contacto con la red de consenso se puede comparar con la exposición y la heterogeneidad	Los residuos conectados enterrados pueden constituir un núcleo ig-como mecánicamente estable	cutoff de contacto y coordenadas incompletas	Prohibido: magnitud de acoplamiento energético; discriminar con: exploración profunda de estabilidad mutativa, DSF y HDX-MS
M05	N20 y N79 tienen exposición a las coordenadas específicas de la construcción y proximidad a los carbohidratos	la accesibilidad del sitio puede modular el procesamiento de glicanos y el reconocimiento local	ausencia de coordinación, truncamiento glicánico y efectos del sistema de expresión	Prohibido: ocupación, glucoforma o efecto funcional; discriminar con: glucopéptido LC-MS/MS en solución en el sitio con controles enzimáticos e isotópicos
M06	161-206 Los depósitos de NMR	Arquitectura de hélice/flanco	Densidad de retención y protocolo de	Prohibido: flexibilidad cinética o tasa de

ID	observación	hipótesis biofísica	Explicaciones en competencia	medida de límite / discriminatoria
	muestran dispersión de conformadores específicas de la región	proporciona hipótesis verificables para el montaje y el procesamiento	generación conjunta	separación; discriminación con: NMR de relajación, EPR/DEER, estequiometría DAP12 y análisis de separaciones

Los mecanismos son explícitamente condicionales: el informe distingue una observación de coordinadas, una interpretación biofísica y una afirmación causal; sólo la primera se mide actualmente.

Reconciliación entre la literatura y la coordinación

PDB	citación primaria	DOI	uso aquí	reconciliación
5ELI	Kober et al. eLife. 2016;5:e20391.	10.7554/eLife.20391	marcos de base estable versus interpretación de circuito de superficie	La heterogeneidad de las coordenadas es consistente con una superficie funcional, pero no prueba la especificidad de ligando.
5UD7; 5UD8; 6B8O	Sudom et al. J Biol Chem. 2018;293:12634-12646.	10.1074/jbc.RA118.002352	predefine el contraste estructural directo WT/R47H	El par de coordenadas es un contexto concordante, no evidencia de replicación biológica o afinidad.
6XDS	Byrne et al. Protein Expr Purif. 2021;179:105796.	10.1016/j.pep.2020.105796	separa los contactos de fragmentos de las afirmaciones de ligando fisiológico	las coordenadas de fragmentos definen sólo un sitio testable; no se establece la ligabilidad
6Y6C; 6YMQ; 6YYE	Szykowska et al. Estructura. 2021;29(11):1241-1252.e5.	10.1016/j.str.2021.06.010	Identifica el muestreo de epítodos diseñado	la recurrencia en estos complejos es evidencia epítope, no evidencia de frecuencia ligando nativa
6Z0G;6Z0H;6Z0I	Steiner et al. EMBO J. 2020;39:e104247.	10.15252/embj.2019104247	motiva el análisis fijo de NMR-conforme regional	la dispersión de conformadores depositados no puede establecer una causalidad cinética o de desviación
8T51;8T59	Hsiao et al. Nat Commun. 2024;15:8382.	10.1038/s41467-024-52442-y	mapas de superficies de contacto con anticuerpos	La geometría inducida por anticuerpos puede no representar un enlace ligando endógeno.
9PWN; 9PX5	¿Qué es eso? 2025; 17:2546554.	10.1080/19420862.2025.2546554	Amplia la muestreo de epítodos y las banderas construyen la heterogeneidad	Las estructuras tardías de anticuerpos aumentan la cobertura pero no la independencia estadística.

Los informes primarios definen el contexto experimental de cada depósito. El análisis actual recalcula las mediciones cruzados de depósitos y no reinterpreta la recurrencia de un enlazador de ingeniería como biología de ligandos endógenos.

Explicaciones alternativas y resultados negativos

1. La heterogeneidad del bucle puede reflejar el empaque de cristal, las fronteras de construcción, la mutación, el estado de pareja, la resolución o la densidad faltante en lugar de la dinámica intrínseca.
- 2- El . R47H el contraste puede ser específico de las parejas; no se dispone de una estimación del genotipo causal.
3. La recurrencia de la interfaz puede reflejar la selección de un enlazador de ingeniería en lugar del reconocimiento fisiológico.
4. Las asociaciones de redes de contacto pueden ser inducidas por el embalaje de residuos y la autocorrelación espacial.
5. El diagnóstico de resolución es insuficiente y confuso; se mantiene su resultado negativo.
6. La dispersión conformista de la NMR no identifica las tasas, poblaciones o equilibrios de membrana.
7. Los vacíos geométricos no establecen ligamabilidad, afinidad o selectividad.

Estas alternativas no son advertencias añadidas después de la interpretación; definen los experimentos y los umbrales de decisión a continuación.

Programa de falsificación y validación

reclamo de paquete / objetivo	ejemplares	puntos finales	controles / estadísticas	Regla GO / NO-GO
V01: bucle 70-79 es accesible a la solución y responsiva a la conformidad	WT, R47H y mutantes de bucle prespecificados de al menos 3 lotes de expresión/purificación independientes	Primaria: diferencia de absorción de HDX en péptidos de bucle prespecificados; ortogonal: perturbación de cambio químico NMR de solución o cambio de posición cryo-EM/rayos X	Los controles: construcción, amortiguación y glicosilación coincidentes; mutante de mezcla/no de interfaz; etiquetas de muestras ciegas; estadísticas: lote es unidad biológica; replicas técnicas anidadas; tamaño del efecto de informe e IC del 95%; control BH para la familia de péptidos	GO: efecto orientalmente concordante con el CI excluyendo la región de efecto insignificante prespecificada en dos ensayos ortogonales; NO-GO: efecto es dependiente del lote, no localizado o ausente en el ensayo ortogonal
V02: La carga R47 afecta la unión asociada a la fosfatidilserina	WT, R47H y R47K y controles neutros en el lugar; al menos 3 lotes independientes	Primaria: respuesta de equilibrio o constantes cinéticas contra los nanodiscos PS definidos por composición por SPR/BLI; ortogonal: unión de la superficie celular y señalización dependiente de DAP12	Los controles: nanodiscos libres de PS, proteínas no específicas, series de densidad superficial, controles de regeneración y transporte masivo; estadísticas: modelo global de unión más incertidumbre jerárquica a nivel de lote; reglas de exclusión prespecificadas	GO: Efecto R47H reproducido a través de lotes y rescatado direccionalmente por R47K con el paso de QC específico del ensayo; NO-GO: efecto sigue una densidad superficial no específica o falla en la señalización de rescate/ortogonal
V03: N20/N79 estados de glicosilación modulan la estructura o el reconocimiento local	TREM2 de expresión nativa y controlada; N20Q/N79Q sólo después de la aceptación de la QC plegable	Primaria: ocupación del sitio y abundancia de glucoformas por glicopéptido LC-MS/MS; ortogonal: MS intacta/nativa y cambio de movilidad enzimática	Controls: PNGase-F/Endo-H, estándares internos/isótopos, monitoreo de desviación omitida, espacios en blanco del proceso; estadísticas: modelo estratificado por lotes; comparaciones de glucoformas controladas por FDR; límites de detección de informes	GO: localización del sitio, ocupación y dirección reproducidos en lotes con acuerdo de masa ortogonal; NO-GO: ambigüedad del sitio o confusión del lote, falla en el plegado o señal por debajo del límite de cuantificación validado
V04: las superficies de coordenadas recurrentes son relevantes para el	Candidatos de ligando endógeno, anticuerpos y panel TREM2 de	Primaria: mapa de epítipo de competencia o mutativo; ortogonal:	Los controles: isotipo, proteína no vinculante, expresión/doblamient	GO: la huella de ligamento endógeno se superpone a la superficie

reclamo de paquete / objetivo	ejemplares	puntos finales	controles / estadísticas	Regla GO / NO-GO
ligando en lugar de artefactos de selección de anticuerpos	alanina/reversión de carga	HDX-MS o MS de enlace cruzado	o QC, formatos controlados por avidez; estadísticas: efectos de residuos estimados con control de pruebas múltiples y varianza de lote de replicación	prespecificada y las mutaciones críticas retienen el pliegue; NO-GO: solo los cambios o mutaciones de unión de anticuerpos desestabilizan globalmente TREM2
V05: se puede determinar un compuesto desconocido, el estado de enfermedad o la clase QA	ejemplares externos ciegos independientes y estándares autenticados que abarcan el dominio previsto	Primaria: punto final de identificación/clasificación prespecificado; ortogonal: química independiente o método de referencia clínico	Los controles: aleatorización, ceguera, controles negativos/positivos, contaminación y seguimiento por lotes; estadísticas: plan de análisis bloqueado, justificación del tamaño de la muestra, conjunto de ensayos externos, incertidumbre calibrada y abstención	GO: todas las puertas de precisión, calibración, reproducibilidad y pruebas prespecificadas transmiten datos externos intocables; NO-GO: cualquier puerta requerida falla; las coordenadas solas nunca pueden satisfacer este paquete de trabajo

Los lotes de expresión independientes son la unidad biológica cuando se especifica. Las definiciones de puntos finales, los criterios de exclusión y las familias de multiplicidad deben ser congeladas antes de desvelarse. Un resultado que no cumpla con un umbral de efecto ortogonal o preestablecido sigue siendo NO-GO incluso si un valor nominal de P es pequeño.

Trazabilidad de las reclamaciones a la prueba

reclamo	coordinar la evidencia	incertidumbre / literatura	redacción permitida / prohibida	puerta de entrada
C01: 70-79 es un punto caliente de heterogeneidad estructural de deposición cruzada	07_residuo_heterogeneidad; T01; S01-S03	Deposición y heterogeneidad de la construcción; literatura: SCI_5ELI;SCI_R47H	Permitido: apoya una hipótesis de heterogeneidad estructural; prohibido: prueba dinámica o promiscuidad ligando	G02
C02: R47H difiere localmente del comparador WT seleccionado	36_variante_contraste ; T02	pareja única; no hay replicación biológica; literatura: SCI_R47H	Permitido: el contraste de coordenadas coincide con el mecanismo publicado; prohibido: establece la causalidad de la enfermedad	G03;G07
C03: los contactos complejos recurrentes identifican epítodos accesibles experimentalmente	Tablas de interfaz 13-15; T03-T04	en el caso de los sistemas de conexión de ingeniería y de construcción; literatura: SCI_SCFV; SCI_AB_2024; SIC_AB_2025	Permitido: recurrencia experimental de epítodos; prohibido: interfaz o afinidad de ligando fisiológico	G03
C04: Los vacíos geométricos y los contactos de fragmentos priorizan los sitios de validación	Tablas vacías 16-17; coordenadas 6XDS	Dependencia de la sonda/cutoff y proxy de esferas superpuestas; literatura: SCI_FRAGMENT	Permitido: solo candidato geométrico; prohibido: bolsillo drogable	G04
C05: N20/N79 tienen contextos de coordenadas medibles	21_N20_N79_coordinate_context	Glicanos y sistemas de expresión faltantes/truncados; literatura: contexto de la secuencia UniProt	Permitido: observación de exposición/proximidad ; prohibido: determinación de ocupación o glucoforma	G05
C06: no se apoyan las determinaciones de compuestos desconocidos, enfermedades y AQ	ausencia de mediciones a nivel de muestra	falta la evidencia requerida; literatura: no se aplica	Permitido: Fuera del ámbito de aplicación de los reclamos de estudio vinculados; prohibido: identidad, diagnóstico o determinación de la calidad	G06;G07

Esta tabla es el vocabulario de liberación. La redacción más allá de la columna permitida no es compatible con los datos actuales.

Puertas de pruebas externas

puerta de entrada	reclamo	pruebas requeridas	estado	efecto de liberación
G01	la procedencia de las coordenadas y el mapeo de residuos TREM2	RCSB mmCIF con bloqueo hash, mapeo Q9NZC2, identidad de secuencia y auditoría de cobertura	PASS_FOR_DESCRPTIVE_STRUCTURE_ANALYSIS	Resultados de coordenadas descriptivas permitidos
G02	heterogeneidad conformacional transversal	estratos de ectodomaín pre-declarados, alineación Kabsch de posición común, tablas completas en pares y de residuos	PASS_FOR_HYPOTHESIS_GENERATION	No hay dinámica molecular ni poblaciones estatales
G03	Interfaz fisiológica/afinidad	validación de ensamblaje biológico, experimento de unión ortogonal, controles negativos y estadísticas de replicación	MISSING	NO-GO para las afirmaciones de afinidad o de interfaz fisiológica
G04	bolsillo ligable/drugable	método de bolsillo validado, reproducibilidad apo/holo, evidencia de unión de fragmentos o ligandos	MISSING	NO-GO; los candidatos vacíos permanecen sólo en geometría
G05	N20/N79 ocupación de glicanos o glucoforma	glicoproteómica en el sitio con controles enzimáticos ortogonales	MISSING	NO-GO para las reclamaciones de ocupación/compuesto
G06	determinación desconocida de un compuesto, enfermedad o QA	muestras externas ciegas, estándares autenticados, puntos finales prespecificados, replicación independiente	MISSING	Fuera del alcance del estudio vinculante; sin inferencia ni determinación
G07	Conclusión confirmatoria lista para su publicación	validación prospectiva independiente, plan de análisis estadístico, datos experimentales en bruto completos y incertidumbre	MISSING	Sólo métodos/paquete de referencia; no un resultado completo del manuscrito

Las cinco puertas están ausentes. La integridad de los documentos y la reproducibilidad interna no pueden sustituir las mediciones independientes, los estándares autenticados, las muestras ciegas o la validación prospectiva.

Discución

Los datos respaldan un modelo de trabajo coherente en el que un núcleo de ectodomaín relativamente conectado y enterrado está rodeado de posiciones expuestas que muestran una mayor variación de coordenadas entre depósitos cruzados. El bucle 70-79 es el ejemplo más claro, y un solo par WT/R47H muestra un gran contraste localizado en bucle. Los contactos de enlace de ingeniería recurrentes ocupan preferentemente posiciones de superficie expuestos. Estas observaciones identifican conjuntamente medidas que pueden discriminar la permisividad conformal, el rescate electrostático y la accesibilidad de epítopo.

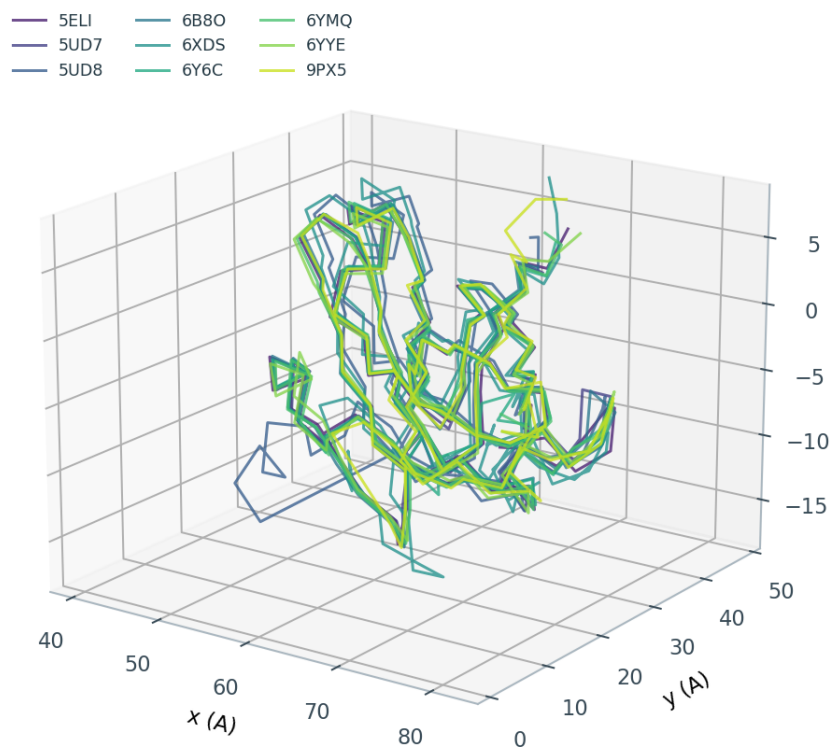
La principal limitación científica es que los depósitos estructurales son observaciones heterogéneas, no replicas biológicas aleatorias. El intervalo de cluster-bootstrap para el cruce cero de H01 es por lo tanto más consecuente que el muy pequeño valor q de nivel de residuos. Una conclusión confirmatoria de calidad de publicación requiere construcciones coincidentes, lotes de preparación independientes, mediciones físicas ortogonales y reglas de aceptación pre-especificadas.

Conclusiones y uso permitido

El informe proporciona un mapa de evidencia de estructura molecular derivado de coordenadas experimentales públicas. Identifica un patrón de estimación de puntos reproducible en las posiciones 70-79, un gran pero no replicado contraste estructural WT/R47H, interfaces recurrentes de depósito complejo expuestas, un núcleo enterrado conectado, preguntas de contexto de glicano específicas del sitio y una propagación de conformador de NMR específica de la región.

Permitido: planificación experimental, diseño de ensayo y informes descriptivos del corpus de coordenadas fijas. No permitido: confirmación de un compuesto desconocido, enfermedad, estado de QA, afinidad, interfaz fisiológica de ligando, causalidad, eficacia, seguridad o generalización.

Rigidly aligned ectodomain C-alpha traces



Ensamble de ectodomaín alineado

Referencias estructurales primarias

1. Kober et al. eLife. 2016;5:e20391. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.20391>
2. Sudom et al. J Biol Chem. 2018;293:12634-12646. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002352>
3. Byrne et al. Protein Expr Purif. 2021;179:105796. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2020.105796>
4. Szykowska et al. Estructura. 2021;29(11):1241-1252.e5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.str.2021.06.010>
5. Steiner et al. EMBO J. 2020;39:e104247. DOI: <https://doi.org/10.15252/emboj.2019104247>
6. Hsiao et al. Nat Commun. 2024;15:8382. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-52442-y>
7. mAbs. 2025;17:2546554. <https://doi.org/10.1080/19420862.2025.2546554>

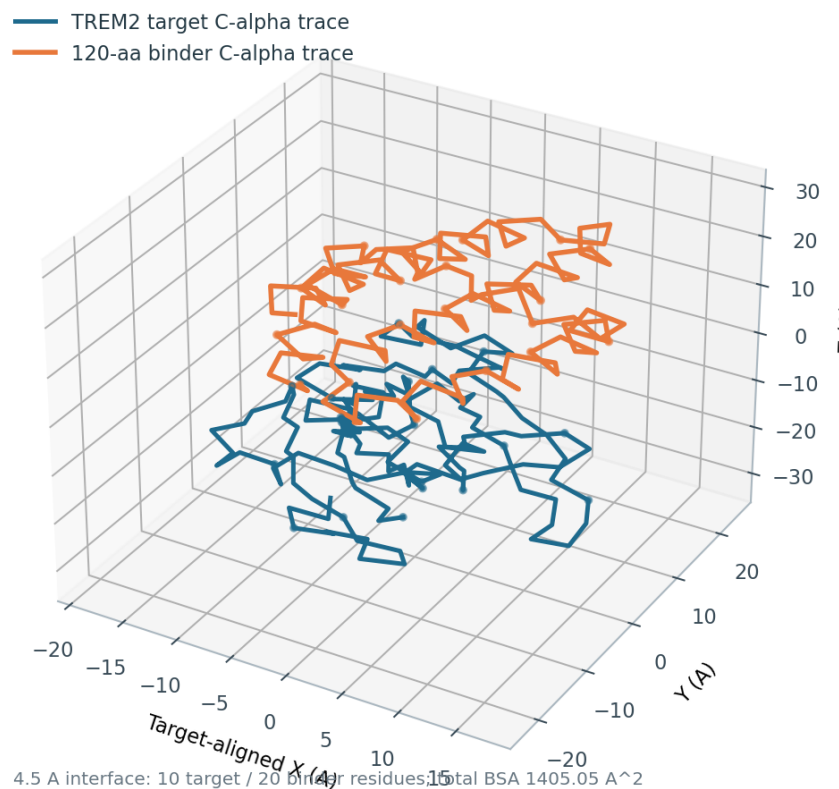
Todos los resultados numéricos y denominadores se proporcionan en la hoja de cálculo y tablas científicas de precisión completa.

Caso de vinculación pública: identidad, procedencia y separación de pruebas

El candidato es mythos_preview_multi_target_trem2_rank05 (UUID 3805de81-6846-5d30-912f-f5e827f67fd9), un vinculante TREM2 de 120 residuos del lanzamiento público de Diseño de vinculantes de proteína Antropic Claude. Es un candidato generado externamente, liberado; no fue generado por IAS. El análisis utiliza una predicción compleja diseñada y 10 estructuras cofold lanzadas (11 estructuras totales), 50 registros de semillas en 10 familias de modelos y registros vendedores.

Las pruebas se ordenan, no se agrupan: los resultados de los ensayos publicados solo establecen que este caso retrospectivo denominado fue llamado un vinculante; las coordenadas predichas apoyan las hipótesis geométricas condicionadas por el modelo; las coordenadas TREM2 depositadas apoyan observaciones estructurales experimentales. La selección de un caso positivo conocido crea sesgo de selección y no puede validar un modelo de clasificación general.

Public TREM2 candidate: designed coordinate complex

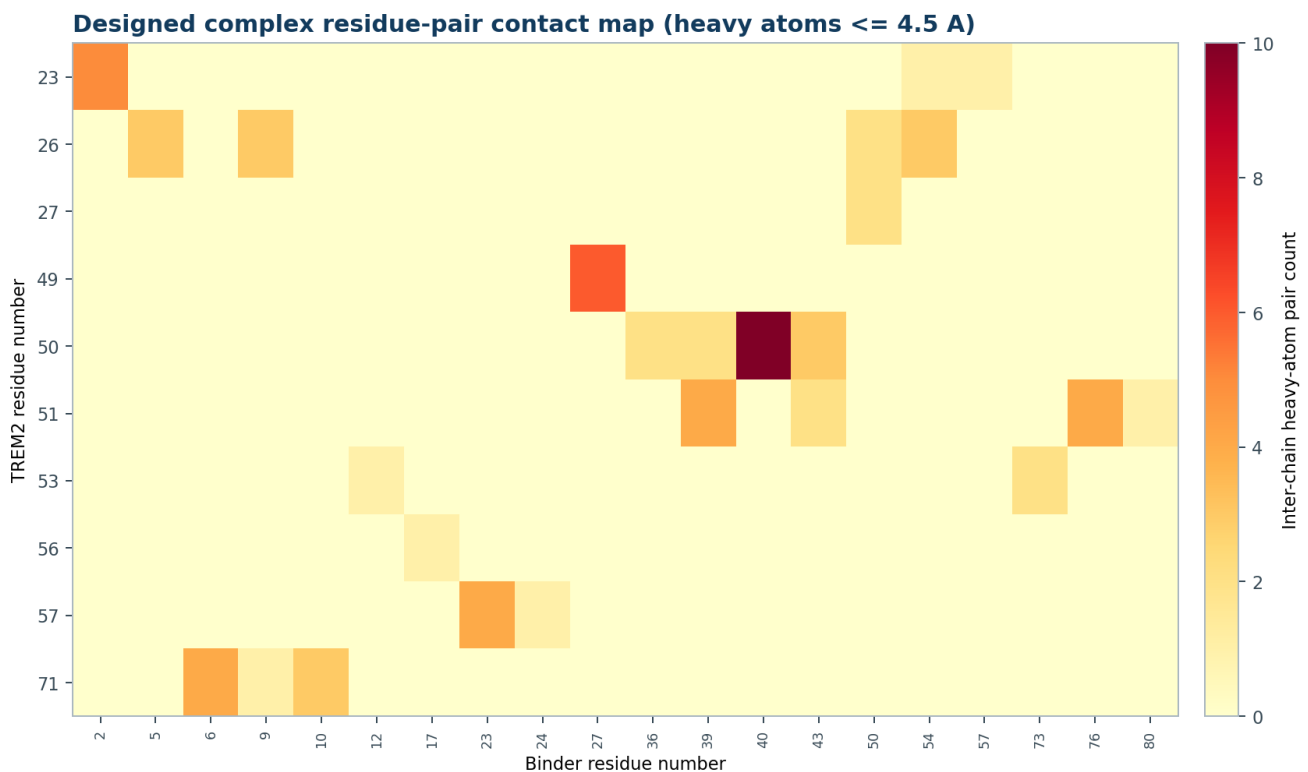


Complejo diseñado para sujetadores de objetivos

Medidas de interfaz 3D dependientes del objetivo

Después de preservar la identidad del objetivo y la cadena de vinculante, el complejo diseñado contenía 10 objetivos y 20 residuos de vínculo con al menos un contacto de átomos pesados entre cadenas a 4.5 Å o menos. La superficie enterrada sumada era de 1405.05 Å² por cadena aislada menos complejo SASA. El mapa de contacto conserva el orden de residuos y muestra qué posiciones de objetivo y vinculantes contribuyen a la proximidad geométrica.

Estos son observables dependientes de las coordenadas. A 4.5 Å Un contacto no es un enlace, la superficie enterrada no es la energía libre vinculante, y las oportunidades de enlace de hidrógeno o puente de sal solo a distancia omiten el ángulo, la protonización, la solución y la entropía.

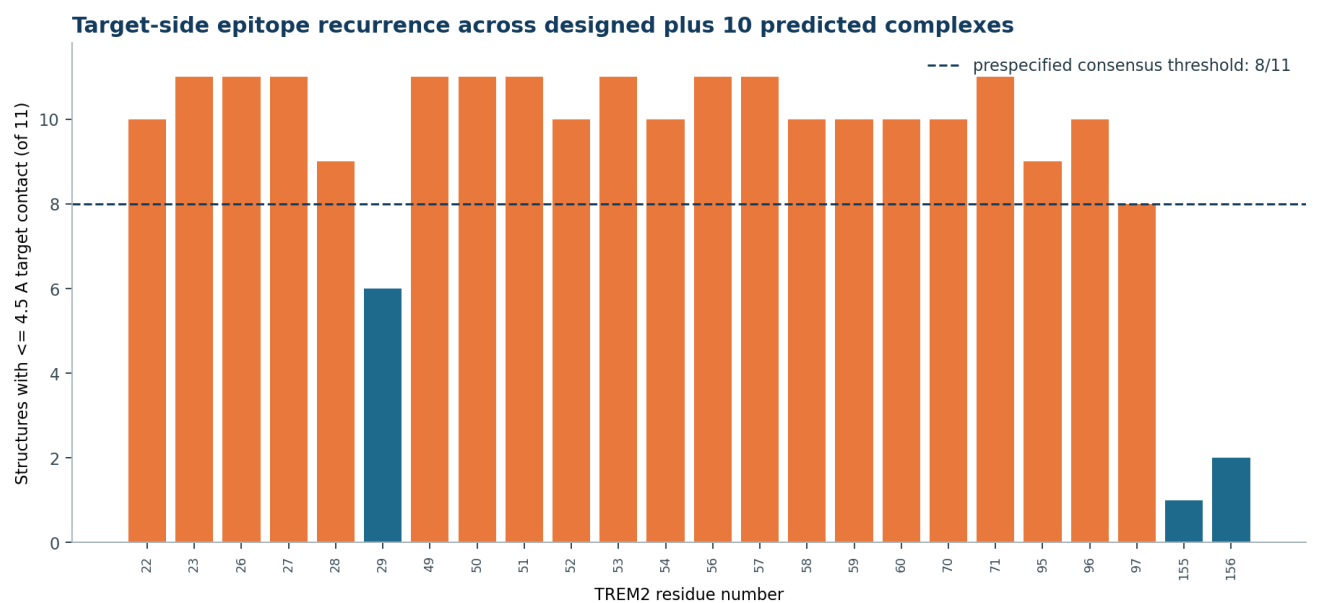


Mapa de contacto con átomos pesados del enlazador objetivo

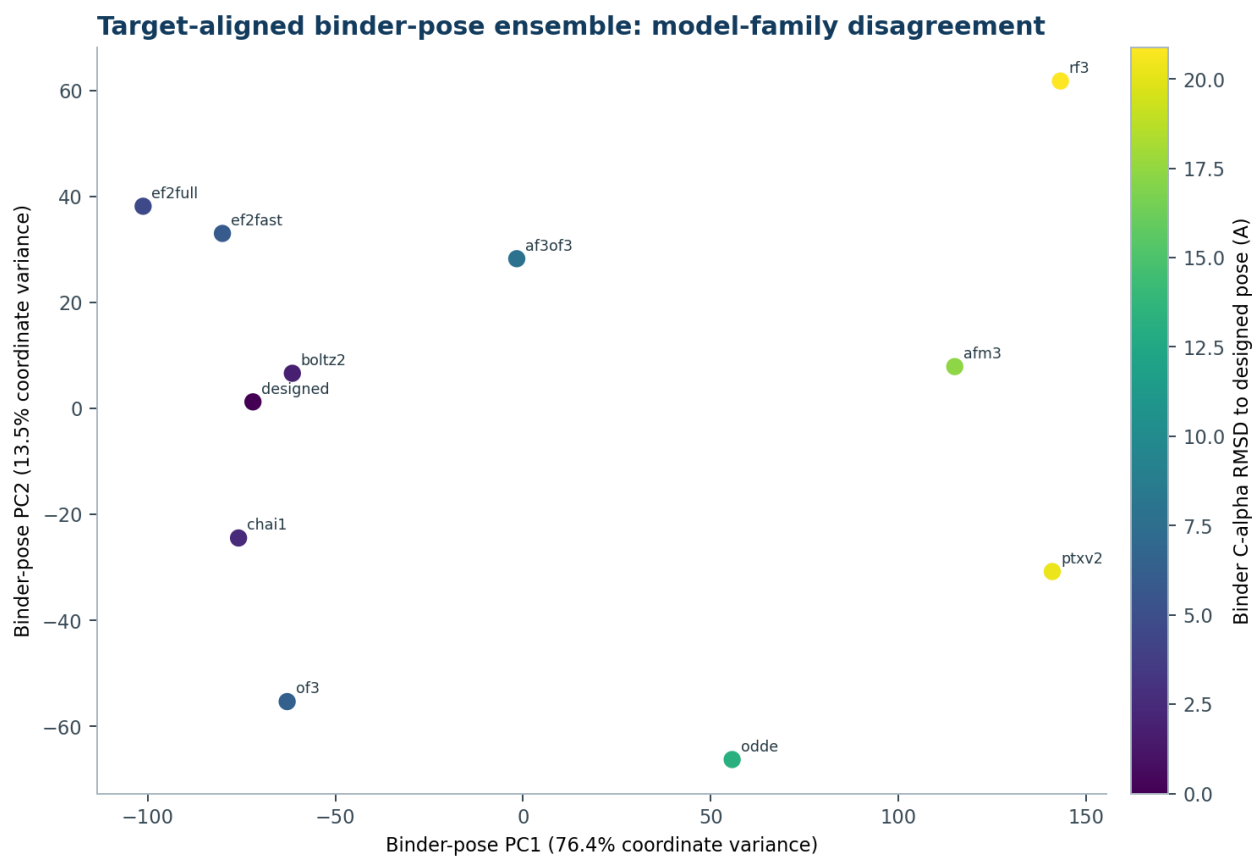
Recurrencia y incertidumbre de los epítodos de varios modelos

A través de 11 estructuras liberadas, la unión de interfaz del lado objetivo contenía 24 residuos; 21 ocurrieron en al menos 8 de las 11 estructuras. El epítipo de posición diseñada se superpuso con la anotación de la fuente liberada de Jaccard 0.7692. Esta recurrencia es una hipótesis in-silico, no un mapa de epítipo experimental.

Las posiciones de ligador alineadas con el objetivo produjeron 55 comparaciones en pares con el ligador mediano C-alfa RMSD 11.91 A. La gráfica PCA es una visualización de conjunto de coordenadas del desacuerdo modelo-familia; sus ejes describen la variación entre las coordenadas liberadas, no el movimiento o la precisión biológica.



Recurrencia del epítipo objetivo

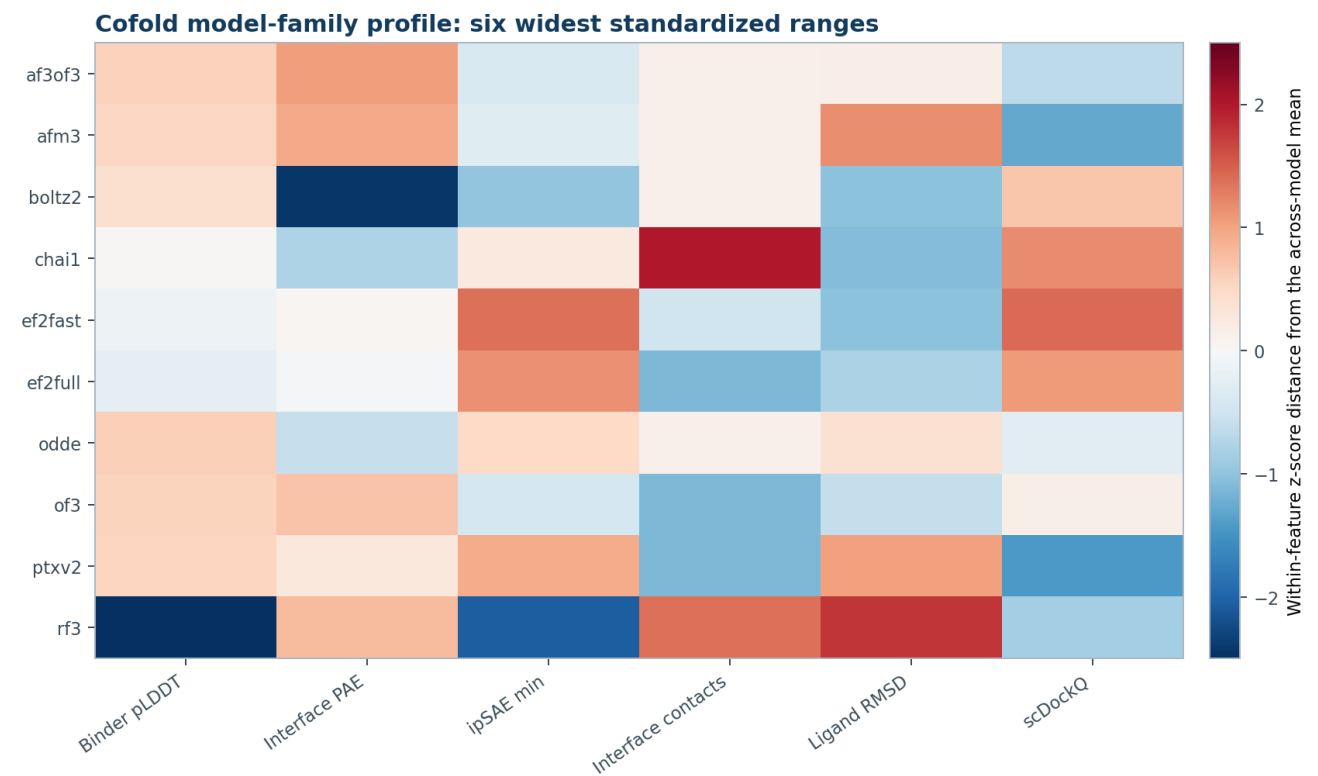


Incertidumbre en la posición de la unión

Profiles multidimensionales de la familia de modelos coploja

Cincuenta registros de semillas publicados de 10 familias de modelos se resumieron por modelo utilizando medianos e intervalos intercuartiles. Solo para la visualización, cada característica numérica se estandarizó en las familias de modelo y se mostraron las seis características con los rangos de puntaje z más amplios. El color es, por lo tanto, una distancia dentro de la característica de la media del modelo. No se explica la variación, la importancia causal, la afinidad, la precisión o un rango compuesto.

Este perfil es útil para localizar los desacuerdos con modelos y seleccionar mediciones ortogonales. No debe usarse para inferir que una característica visual extremista es mecánicamente dominante.



Descriptive selection by z-score range only; color is not variance, feature importance, affinity or accuracy.

Profiles multidimensionales

Mediciones experimentales publicadas

Vendedor	Las especies	Medición	Valor y unidad	Replicaciones y resultado liberado
Adaptación	humano	SPR KD	0.039896 nM	n=2; enlazador
Adaptación	humano	RSI	2090397.500000 M^-1 s^-1	n=2; enlazador
Adaptación	humano	Cálculo de la RRS	0.000083 s^-1	n=2; enlazador
Torsión	humano	SPR KD	0.001110 nM	n=NA; ligador
Torsión	humano	RSI	9000000.000000 M^-1 s^-1	n=NA; ligador
Torsión	humano	Cálculo de la RRS	0.000010 s^-1	n=NA; ligador
Torsión	humano	la expresión	1.080000 mg/mL	n=NA; medido
Torsión	humano	Pico principal de la SEC	94.148700 %	n=NA; medido
Torsión	ratón	SPR KD	0.069000 nM	n=NA; ligador
Torsión	cínomolgus	SPR KD	0.021000 nM	n=NA; ligador

Ambos proveedores llamaron al candidato un vinculante TREM2 humano. Adaptyv informó KD 0.03989631 nM y Twist informó 0.00111 nM, una diferencia de 35.94 veces. Los valores no se agrupan. Las curvas de respuesta en bruto, las distribuciones de réplicas completas, los metadatos de armonización del ensayo y un amplio panel fuera del objetivo no se liberaron; las barras de error no se pueden reconstruir. La evidencia apoya la vinculación para este caso liberado, no una afirmación de precisión o superioridad en toda la plataforma.

Public experimental measurements: preserve assay and vendor identity



No error bars are shown because raw response curves and replicate distributions were not released. Vendor values are not pooled.

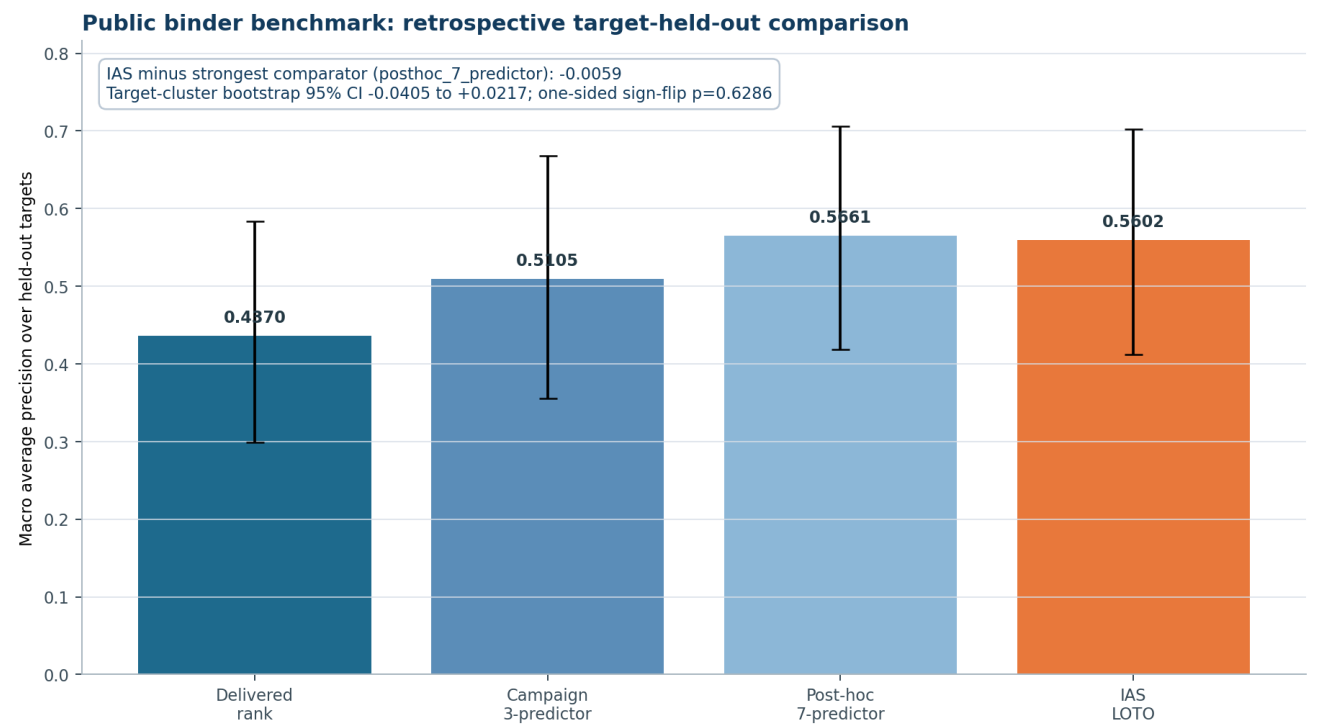
Mediciones experimentales públicas

Indicador de referencia público retrospectivo

Método	Macro AP	Capacidad de arranque del objetivo 95% CI	Micro AP	AUC ROC
clauderank	0.4370	Entre 0.2994 y 0.5832	0.3629	0.6278
campaign_3_predictor	0.5105	Entre 0.3554 y 0.6680	0.3444	0.6569
posthoc_7_predictor	0.5661	Entre 0.4185 y 0.7061	0.4105	0.7032
ias_loto	0.5602	0.4124 a 0.7023	0.4033	0.7022

La cohorte coincidente contiene 1,320 diseños, 15 objetivos y 354 llamadas finales de vinculación. IAS fue entrenado y evaluado por dejar un objetivo fuera; la métrica primaria es la precisión media macro sobre objetivos evaluables retenidos. IAS macro AP fue 0.5602; el comparador más fuerte liberado fue el predictor posthoc_7 en 0.5661. La diferencia de nivel de objetivo pareado fue -0.0059 (CI de arranque del grupo de objetivos 95% -0.0405 a +0.0217; unilateral signo exacto-flip $p=0.6286$).

La normalización de la puntuación z por objetivo no utiliza etiquetas, pero es transductiva dentro de cada lote objetivo; esta y el límite de transportabilidad de la construcción del comparador post-hoc. No existe comparación pre-registrada, ciega y prospectiva de laboratorio húmedo. La figura informa, por lo tanto, una comparación retrospectiva limitada, no una afirmación de que la IAS exceda a Claude Science, GPT-Rosalind o cualquier aplicación en condiciones iguales.



1,320 public designs / 15 targets; 95% CIs use target-cluster bootstrap. This is retrospective and does not establish prospective wet-lab superiority.

Las definiciones de matriz de reclamaciones y de comparación

Reclamación	Declaración	Pruebas	El estado	Fronteras
PC01	El candidato público nombrado se unió a TREM2 humano en ambos ensayos publicados de proveedores.	Las llamadas de conector Adaptiv y Twist	SUPPORTED_FOR_THIS_RELEASED_C ASE	caso público retrospectivo; no validación prospectiva independiente de las IAS
PC02	Las estimaciones de KD del vendedor son intercambiables numéricamente.	Proporción KD adaptable/torsión 35.94 veces	NOT_SUPPORTED	los análisis del informe por separado; no hay estimación de afinidad conjunta
PC03	El candidato tiene un epítipo de coordenadas recurrente del lado objetivo en todas las familias de modelos.	11 estructuras; residuos recurrentes principales: 23, 26, 27, 49, 50, 51, 53, 56	SUPPORTED_AS_IN_SILICO_HYPOTHESIS	No es un mapa de epítipo experimental.
PC04	La interfaz de coordenadas determina la afinidad o especificidad.	No hay escaneo mutativo, panel fuera del objetivo ni descomposición energética	NOT_ESTABLISHED	Requiere controles de perturbación prospectiva y de especificidad
PC05	El flujo de trabajo supera a Claude Science en condiciones iguales.	corrector directo de Claude Science no está disponible	NOT_TESTED	No se puede reclamar la superioridad
PC06	El candidato valida un modelo general de clasificación de vinculantes.	un caso positivo seleccionado de una publicación pública retrospectiva	NOT_ESTABLISHED	prejuicio de selección y no hay cohortas prospectivas ciegas

Definiciones. «IAS» designa el flujo retrospectivo de análisis de coordenadas y clasificación con control de fugas evaluado aquí. «Publicación de Anthropic» designa los datos públicos de Claude Protein Binder Design, las coordenadas de candidatos y los predictores fuente. «Claude Science» y «GPT-Rosalind» son aplicaciones distintas sin una ejecución directa comparable. Esa falta de acceso se registra como no evaluada, nunca como superioridad.

Este caso puede apoyar la planificación de ensayos, la priorización de residuos y las hipótesis falsificables. No puede establecer identidad desconocida, clasificación de enfermedades, aceptación de QA, identidad de interfaz fisiológica, validez general del diseño de enlace o superioridad. Los objetivos prospectivos ciegos independientes, puntos finales pre-registrados, datos de ensayo, controles fuera de los objetivos y la biofísica ortogonales siguen siendo bloqueadores de liberación.

Informe de uso de la investigación de IAS. La evidencia computacional no es una validación experimental independiente.