

Bioinformatika III

Trimačių struktūrų analizė ir spėjimas

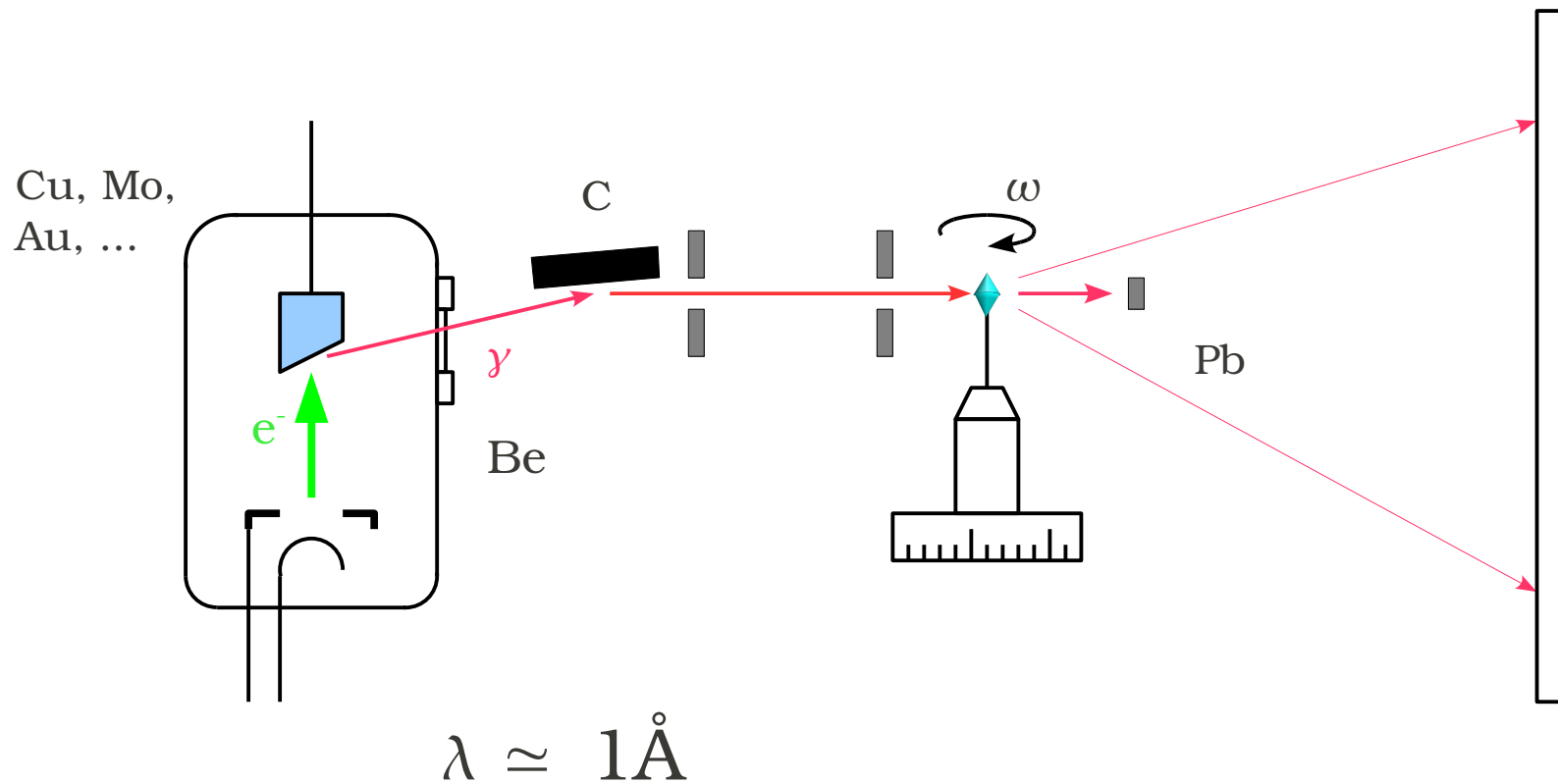
Paskaita 9
eksperimentiniai struktūrų
nustatymo metodai

Saulius Gražulis
2011 m.

Struktūrinēs informācijas gavimo būdai

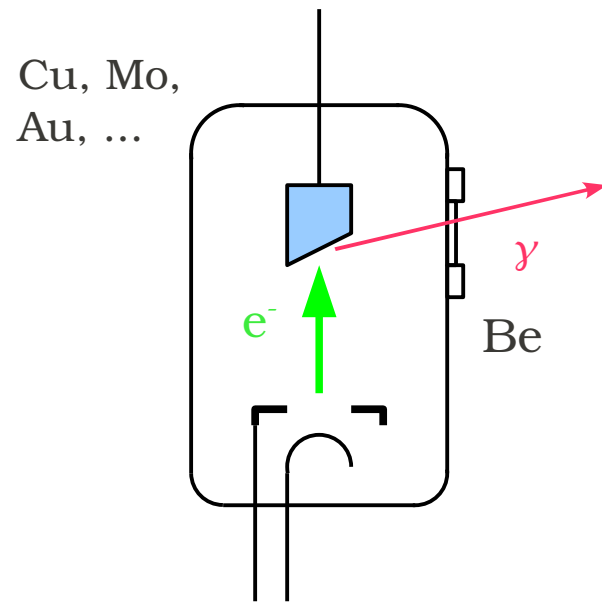
- BMR (NMR)
- **Rentgeno kristalografija (X-ray crystallography)**
- Sklaidymas mažais kampais (SAXS/SANS – Small Angle X-ray/Neutron Scattering)
- EM (Electron microscopy)
- EXAFS, XANES
- EPR (Elektronu Paramagnetinis Rezonansas – ESR – Electron Spin Resonance)
- ...

Difraktometras ir eksperimento eiga

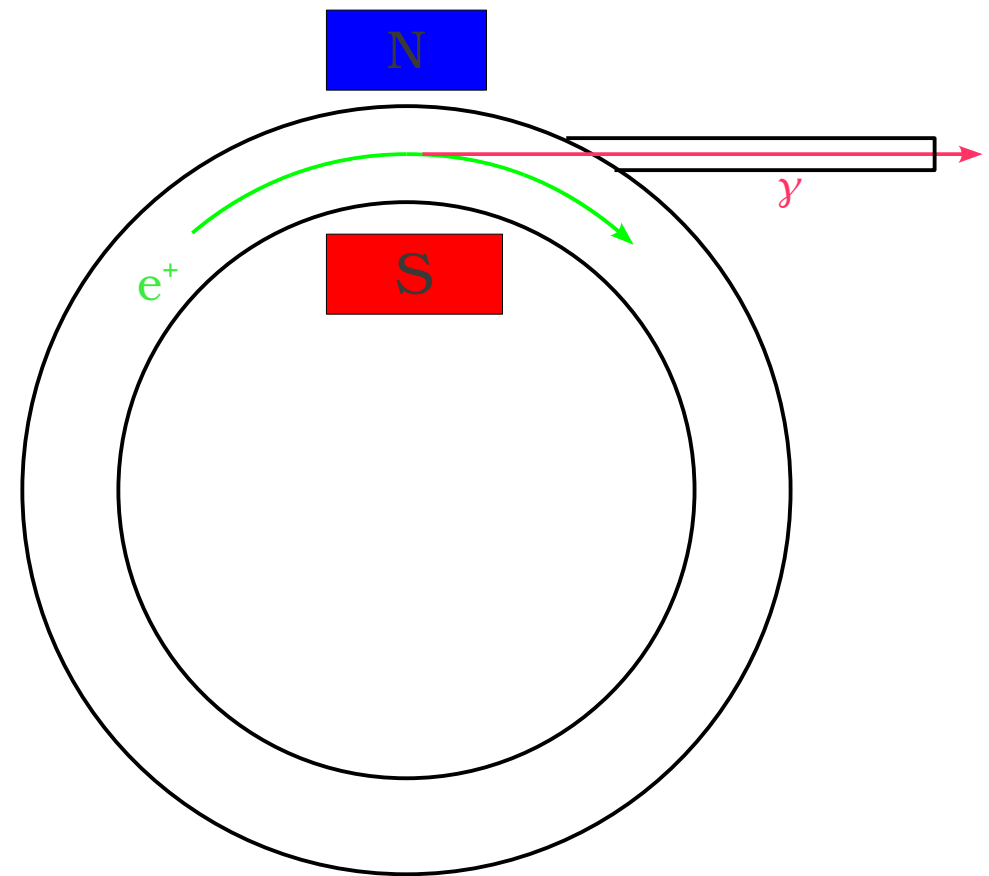


Rentgeno spindulių šaltiniai

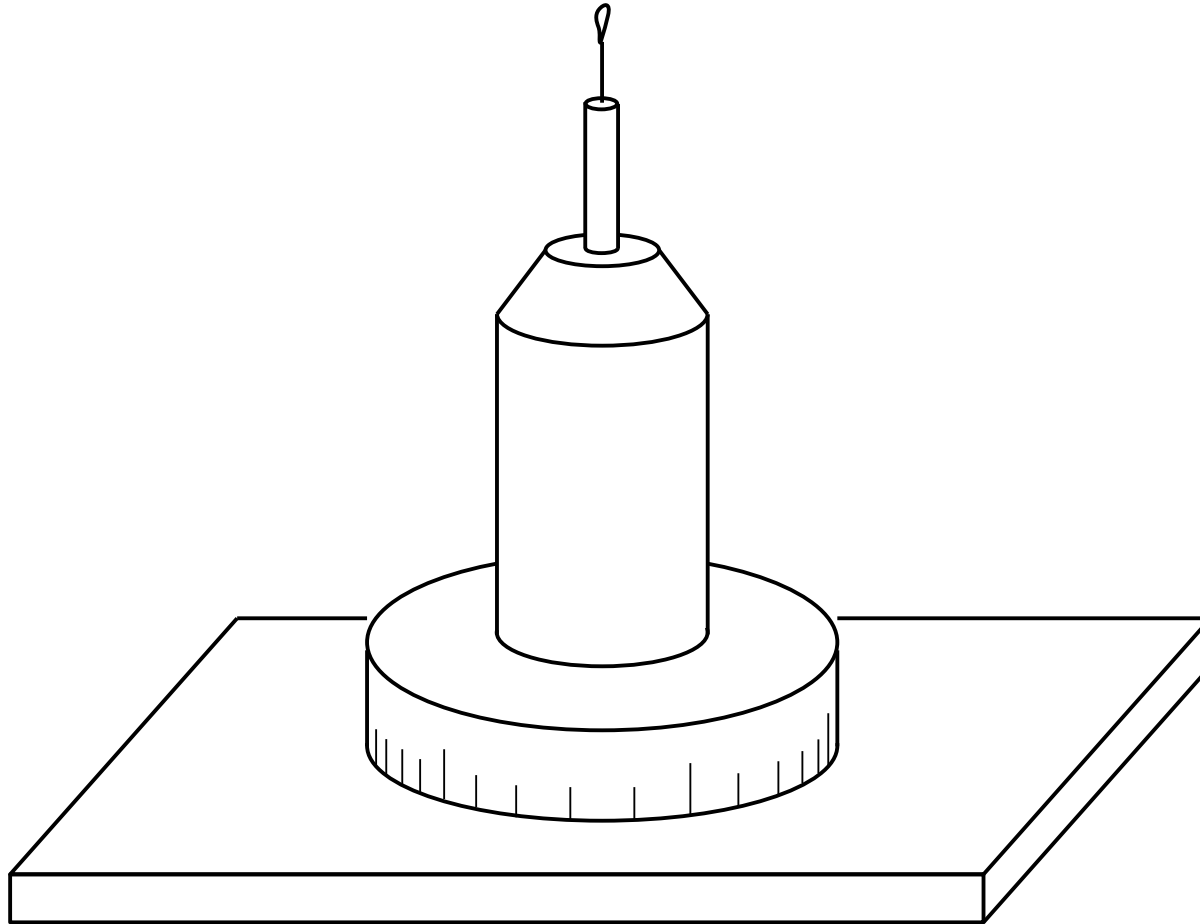
Rentgeno vamzdeliai



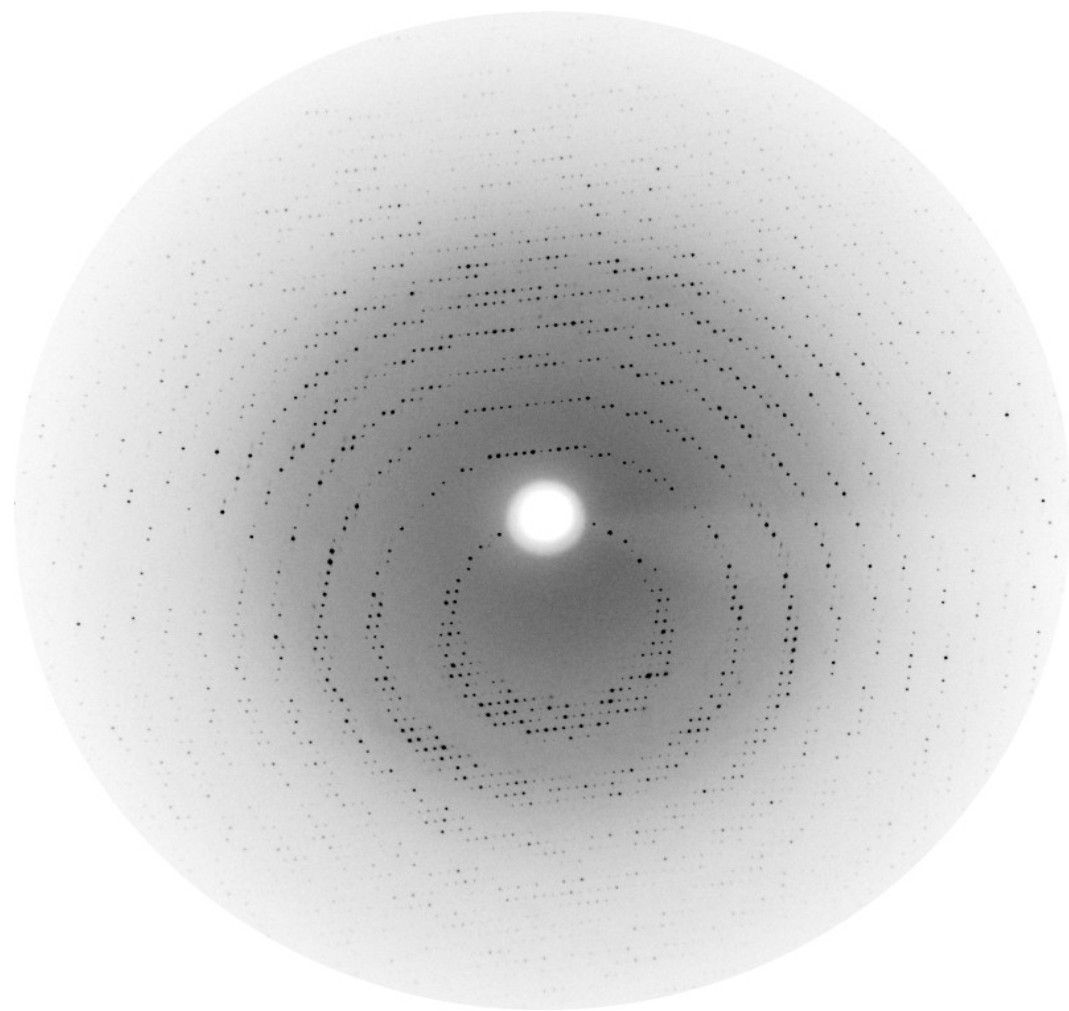
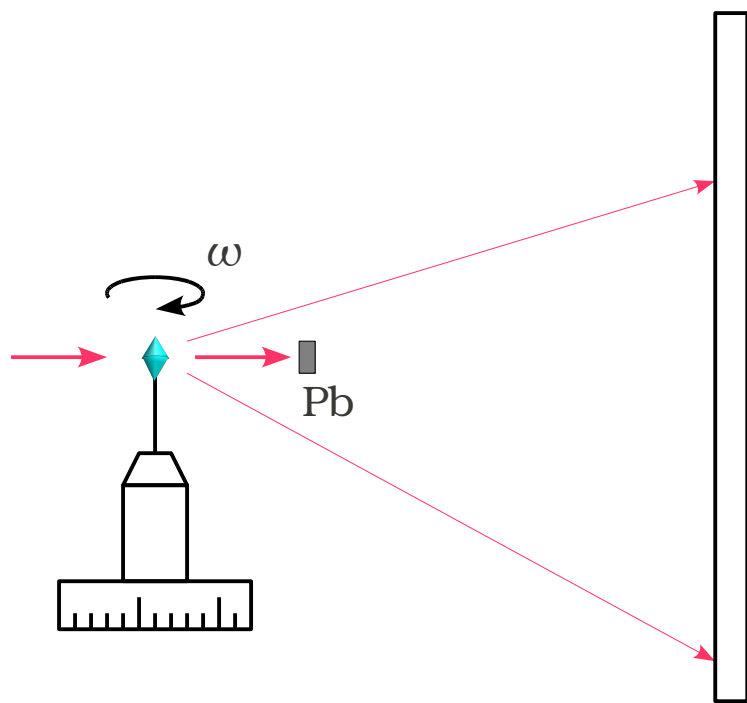
Sinchrononai



Goniometras



Tipiškas difrakcijas vaizdas

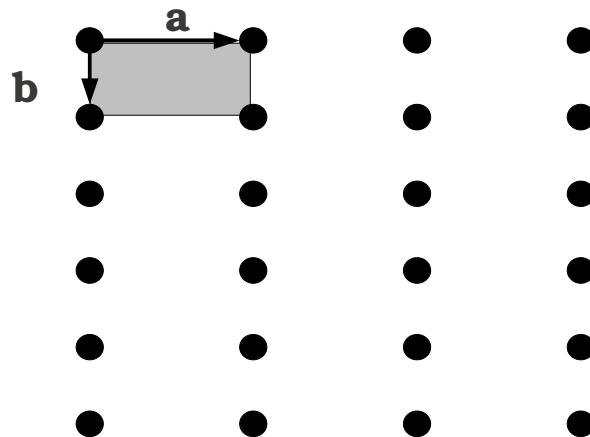


Kristalai - (betriukšmiai?) signalu stiprintuvai

Pagrindinės kristalo savybės:

0) periodiškumas

1) diskretiškumas



Atspindžių savybės

- Kiekvienas atspindys turi savo ***amplitudę*** (el. lauko amplitudė) ir ***fazę*** (el.-m. bangos vėlavimas, plg. su kitais atspindžiais) (amplitude, phase).
- Abu šie dydžiai priklauso nuo ***struktūrinio faktoriaus*** (structure factor).

Atspindžių savybės (2)

- Atspindžių geometrinis išsidėstymas priklauso nuo **kristalo gardelės parametru** ir nepriklauso nuo elementarios gardelės turinio.
- Atspindžių intensyvumai (ir fazės) priklauso nuo **gardelės turinio**.

Duomenų rinkinys

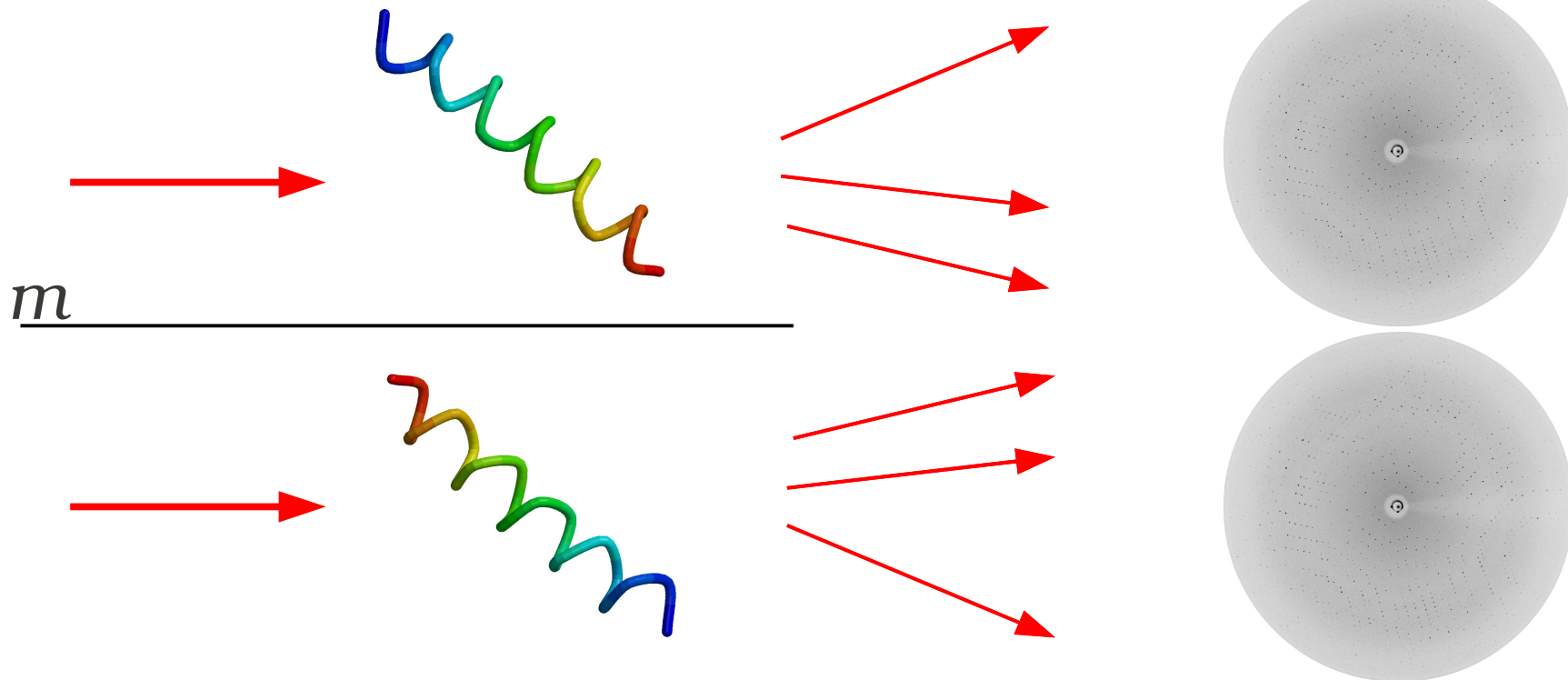
Kristalą sukant, vieni atspindžiai išnyksta, kiti atsiranda. Norint surinkti visą informaciją apie kristalo turinį, reikia apsukti jį taip, kad „pamatytume“ visus galimus atspindžius, maksimum – 360° .

Duomenų rinkinio savybės

- Skiriamoji geba
- Pilnumas
- Kartotinumumas
- Triukšmo lygis (R_{merge} , I/σ_I)

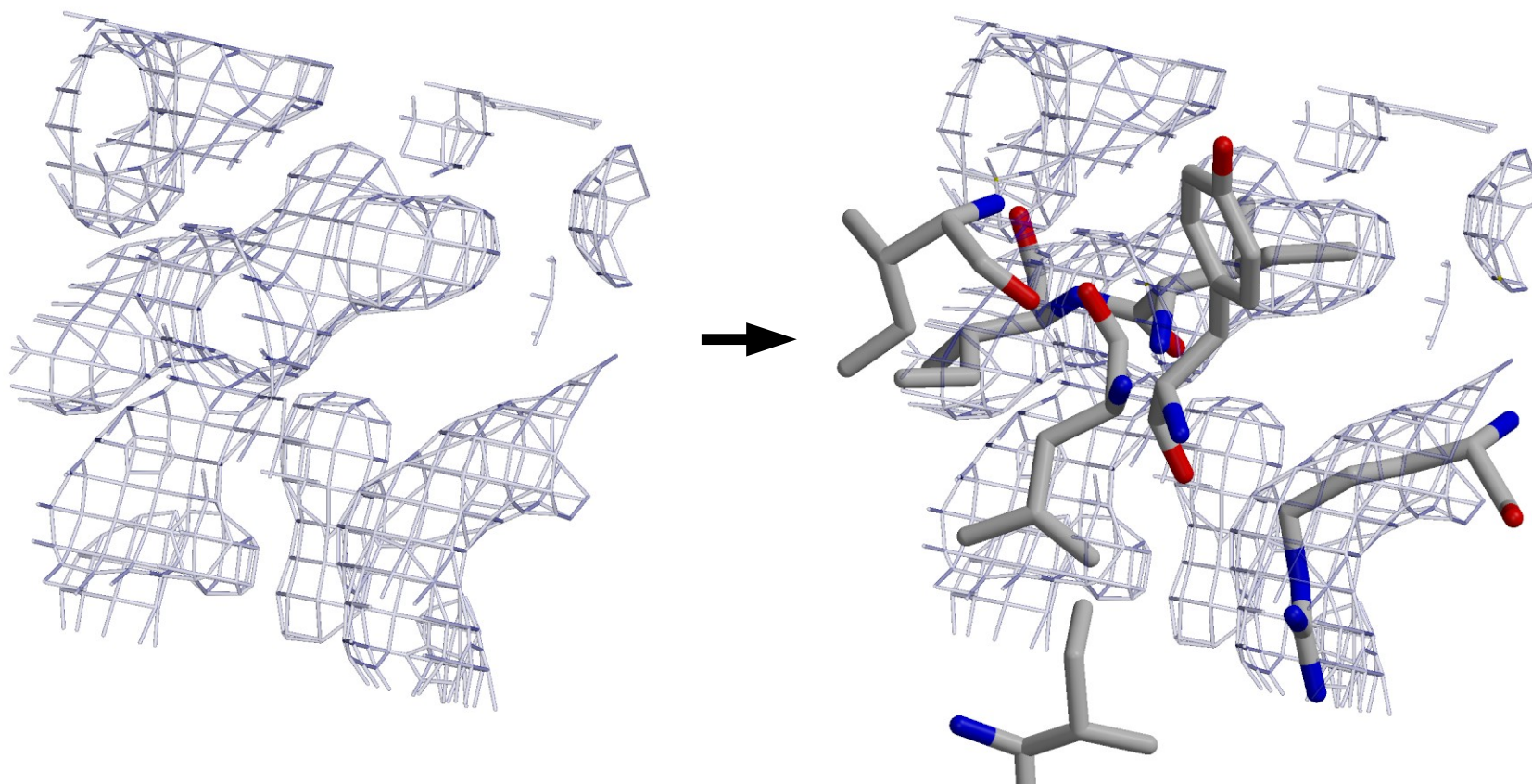
Difrakcijos uždavinio sprendinys - ne vienintelis!

Pavyzdys:



Atspindėta struktūra turi identišką difrakcijos vaizdą
(jei nėra anomalaus sklaidymo...)

Elektronų tankis – o kas toliau?



Rankinis modelio konstravimas

The screenshot displays a molecular modeling software interface. The main window shows a 3D wireframe model of a protein structure, with various atoms and bonds visible. The interface includes several menus and command windows:

- Object_menu**: A list of object names and their status (on/off).
- User Menu**: A list of user-defined macros and actions.
- Controls**: A menu for controlling the model's appearance and behavior.
- Display**: A menu for displaying the model's components.
- Graph**: A menu for graphing the model's data.
- Rebuild**: A menu for rebuilding the model's geometry.
- Bones**: A menu for displaying the model's bones.
- Density**: A menu for displaying the model's density.
- Menus**: A menu for displaying the model's menus.

The command window on the left shows the following commands and their outputs:

```
Mol> Created
Sam> File ty
Sam> Databa
Sam> Space f
Sam> Space f
Sam> Molecul
Sam>
Mol> Nothin
Mol> Created
Sam> File ty
Sam> Databa
Sam> Space f
Sam> Space f
Sam> Molecul
Sam>
Mol> Nothin
Mol> Created
Sam> File ty
Sam> Databa
Sam> Space f
Sam> Space f
Sam> Molecul
Sam>
Mol> Nothin
Mol> Created
Sam> File ty
Sam> Databa
Sam> Space f
Sam> Space f
Sam> Molecul
Sam>
Mol> Nothin
Mol> Created
Mol> Macro i
As2> Macro i
As2> Macro i
Map> New map
Map>
Map> New map
Map>
Map> centre-atom
As3> Macro in database.
Map> New map format :-)
Map> red
Map> New map format :-)
Map> blue
```

The status bar at the bottom of the window shows the coordinates 111 1580.

Papildoma informacija modelio konstravimui

- Molekulių skaičius asimetriniame vienetė
- Baltymo dydis ir seka
- Individualių a.r. struktūros ;-)
- Kristalinimo tirpalų sudėtis (jonai, mažos molekulės) ir sudedamųjų dalių struktūros/savybės

Struktūrų patikslinimas

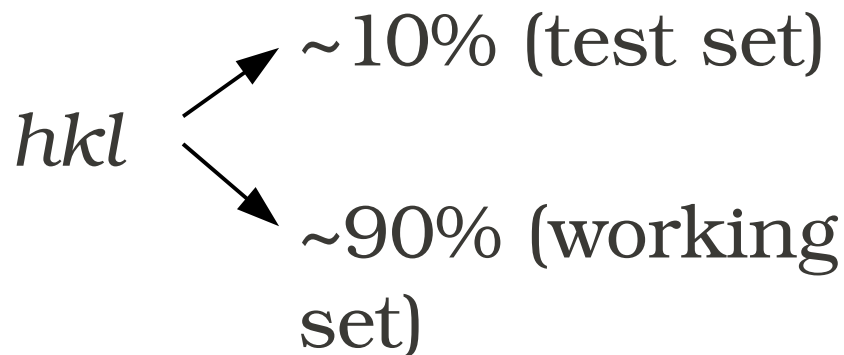
- Mažiausių kvadratų metodas
- Didžiausio tikėtinumo (maximum likelihood) metodai
- Bajeso statistika (Bayesian statistics)

Patikslinimo kriterijai

Kristalografinis R-faktorius:

$$R_{cryst} = \sum_{hkl} |F_{hkl}^{obs} - F_{hkl}^{calc}| / \sum_{hkl} |F_{hkl}^{obs}|$$

R-free:



$$R_{free} = \sum_{hkl \in \text{Test set}} \dots$$

$$R_{cryst} = \sum_{hkl \in \text{Working set}} \dots$$

Patikslinimo parametrai

- Atomų koordinatės
 - Temperatūriniai (B) faktoriai
 - Atomų pozicijų užimtumai
-
- Svarbu:
Parametru/matavimų skaičiaus
santykis

Struktūros kokybės rodikliai

- Skiriamoji geba (Å)
- R faktorius (R-factor), R_{cryst}
- „Laisvasis“ R faktorius, R_{free}
- $R_{\text{free}} - R_{\text{cryst}}$, $R_{\text{cryst}}/R_{\text{free}}$
- R_{cryst} ir R_{free} išoriniame atspindžių sluosnyje
- Vidutinė jungčių ilgių ir kampų paklaida

Nebaltyminės molekulės baltymo struktūroje

- Tirpiklio (vandens) molekulės
- Jonai
- Ligandai, kofaktoriai
- Modifikuotos amino rūgštys ar DNR bazės

Chaoso liudininkai

- Nuliniai užimtumai
- Milžiniški B-faktoriai
- Liekanos be šoninių grandinių

Resursai tinkle

Protein Data Bank (PDB)

<http://www.rcsb.org/pdb/>

Macromolecular Structure Database

<http://www.ebi.ac.uk/msd/>

International Union of Crystallography

<http://www.iucr.org/>

Crystallography Open Database (COD)

<http://www.crystallography.net/>