

# Bioinformatika III

## Trimačių struktūrų analizė ir spējimas

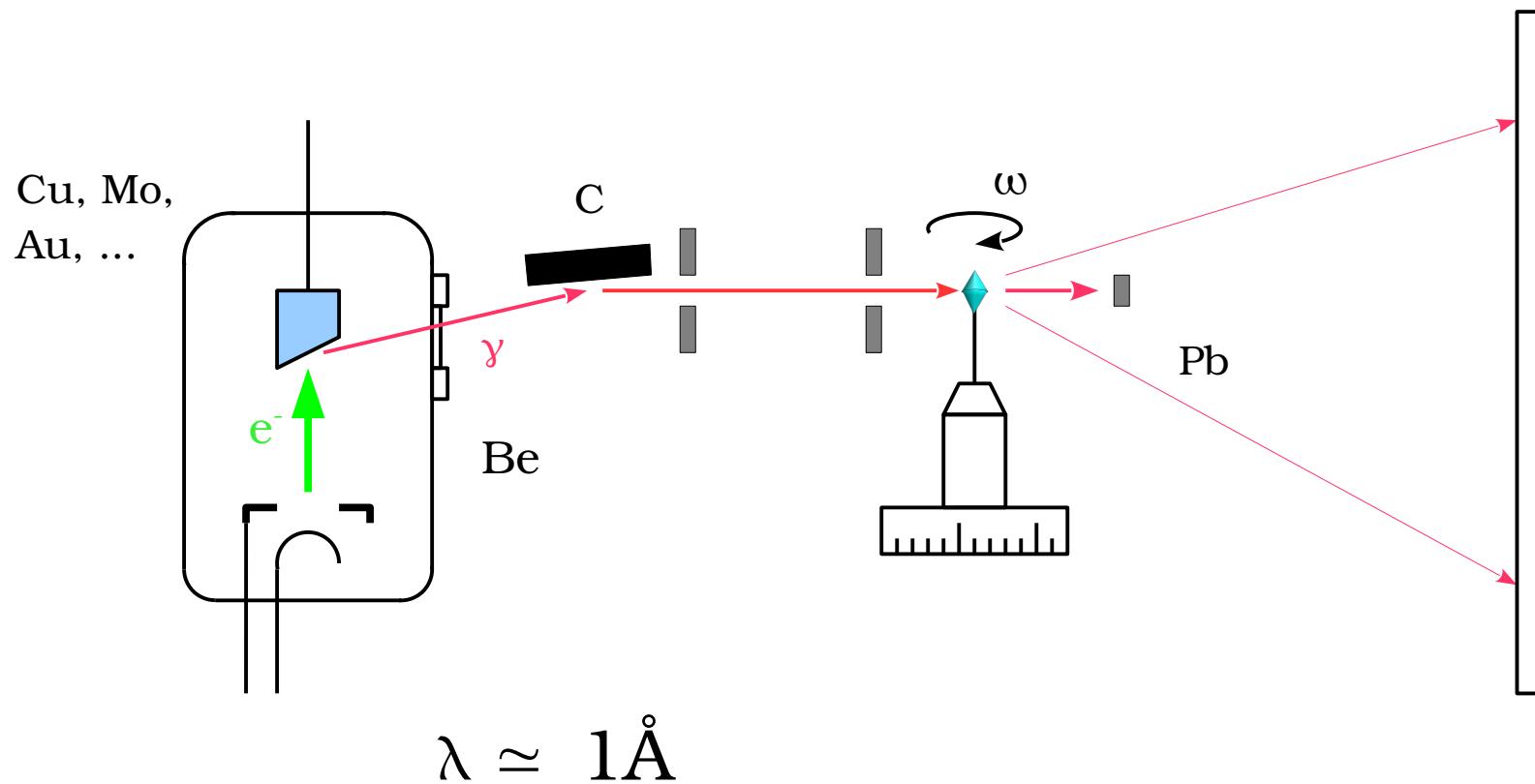
Paskaita 9  
eksperimentiniai struktūrų  
nustatymo metodai

Saulius Gražulis  
2011 m.

# Struktūrinės informacijos gavimo būdai

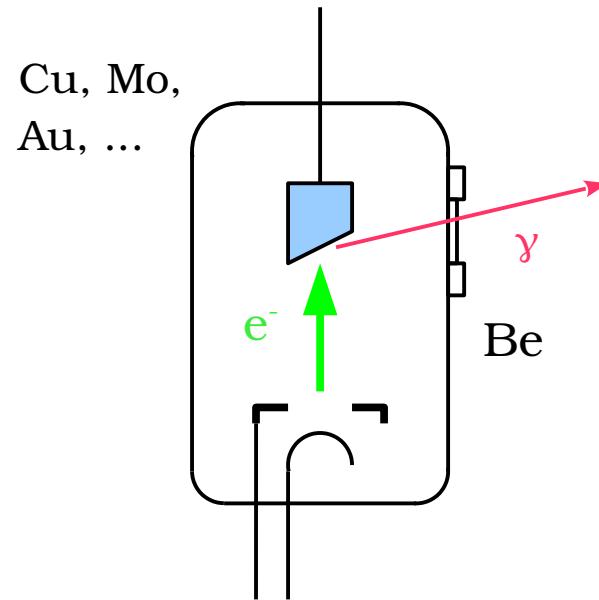
- BMR (NMR)
- **Rentgeno kristalografija (X-ray crystallography)**
- **CryoEM (Cryo Electron microscopy, multiple particle analysis, electron tomography)**
- EM (Electron microscopy, negative staining)
- Sklaidymas mažais kampais (SAXS/SANS – Small Angle X-ray/Neutron Scattering)
- EXAFS, XANES
- ...

# Difraktometras ir eksperimento eiga

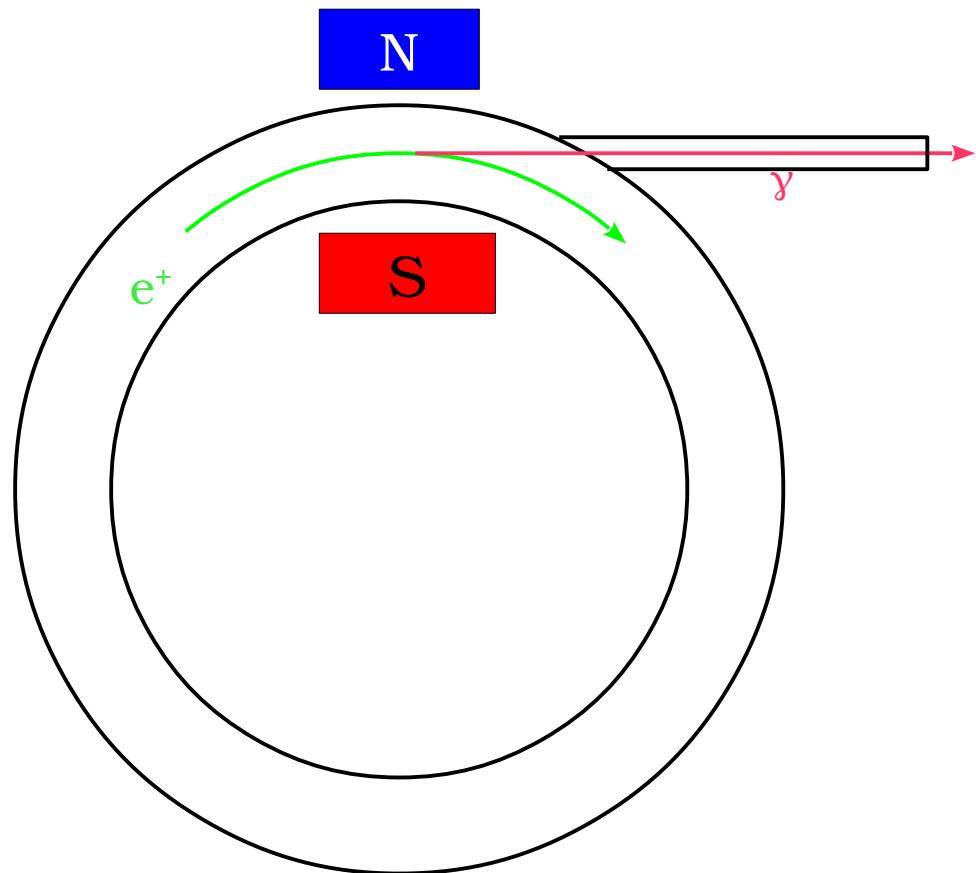


# Rentgeno spindulių šaltiniai

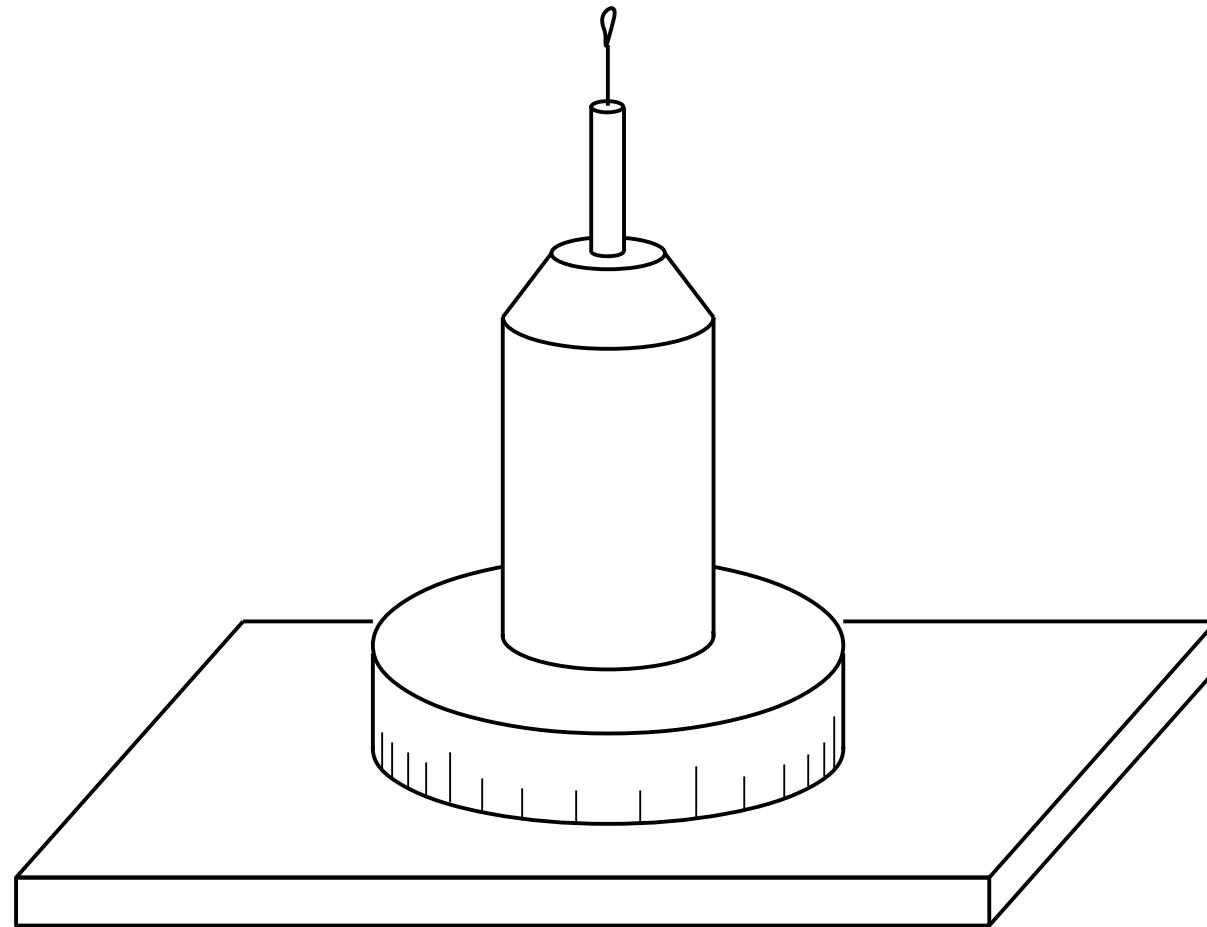
## Rentgeno vamzdeliai



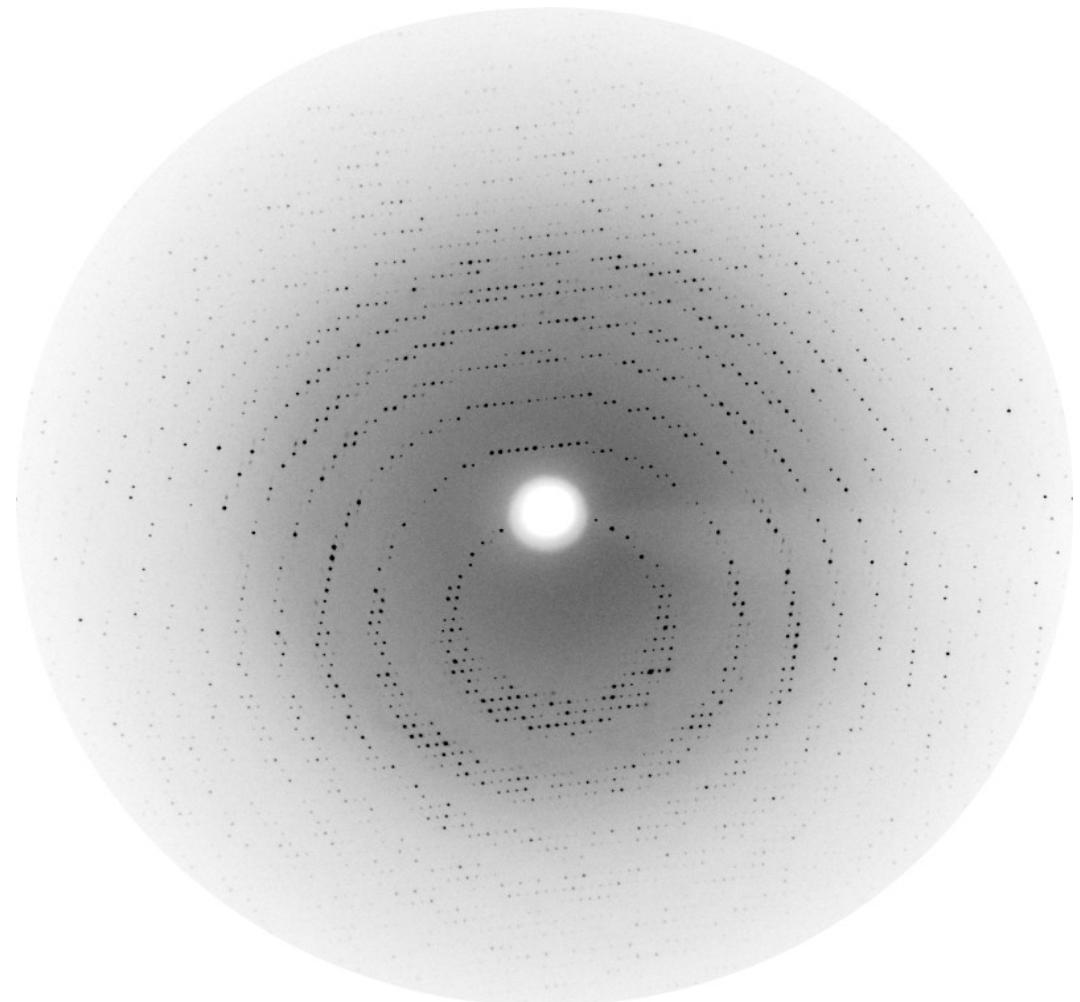
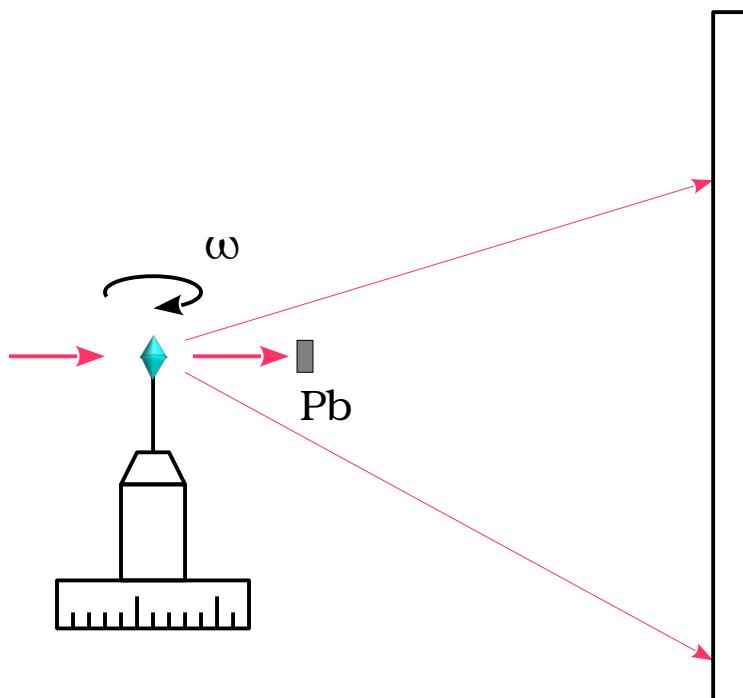
## Sinchrotronai



# Goniometras



# Tipiškas difrakcijos vaizdas

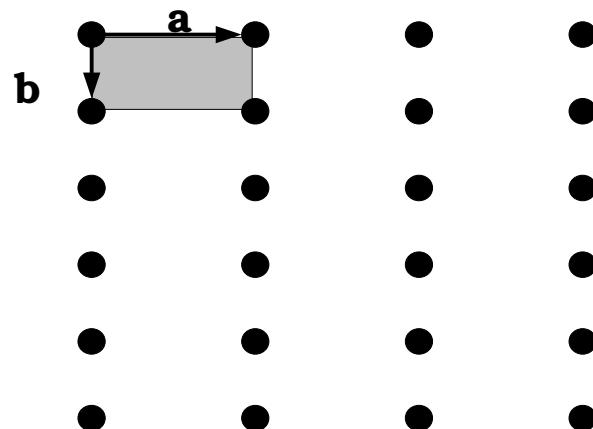


# Kristalai – (betriukšmiai?) signalo stiprintuvai

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

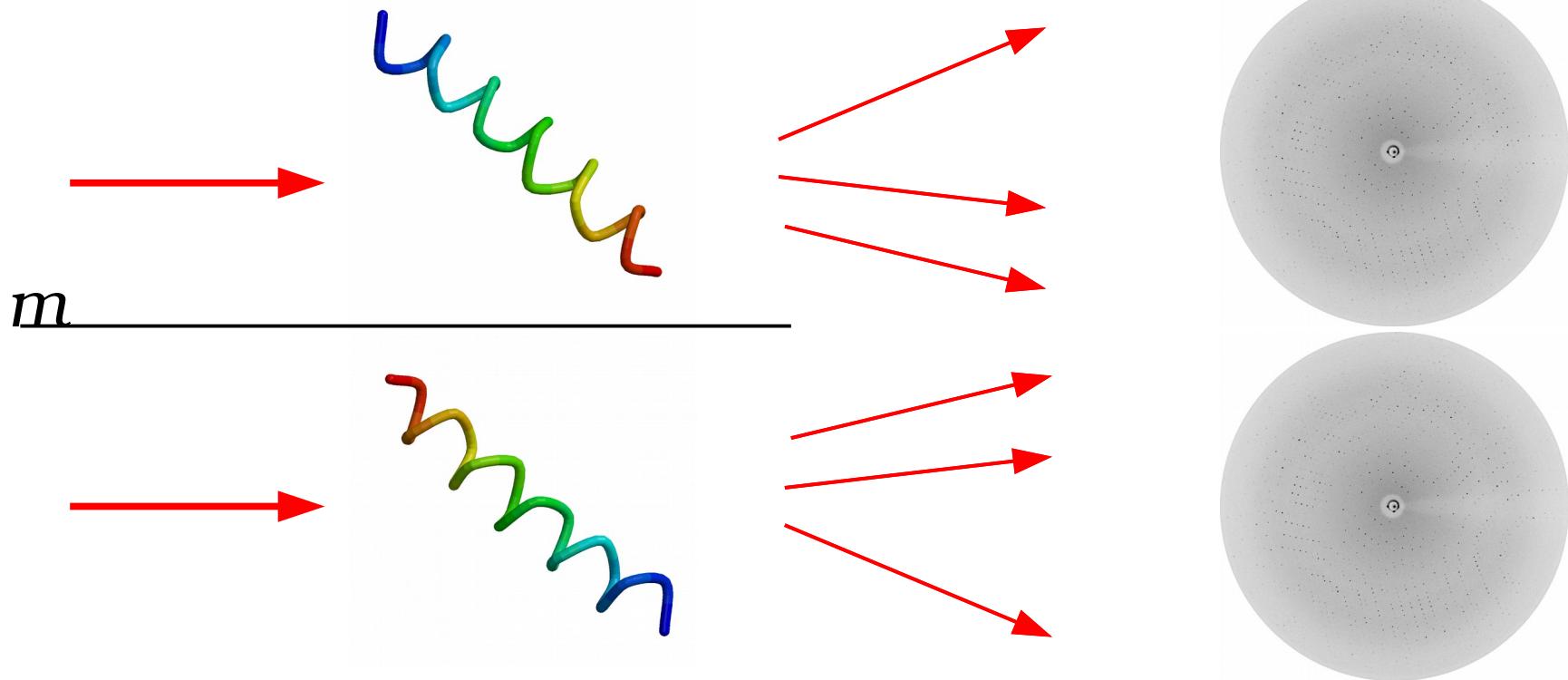
Kristalą sukant, vieni atspindžiai išnyksta, kiti atsiranda. Norint surinkti visą informaciją apie kristalo turinį, reikia apsukti jį taip, kad „pamatytume“ visus galimus atspindžius, maksimum – 360°.

# Duomenų rinkinio savybės

- Skiriamoji geba
- Pilnumas
- Kartotinumas
- Triukšmo lygis ( $R_{\text{merge}}$ ,  $I/\sigma_I$ )

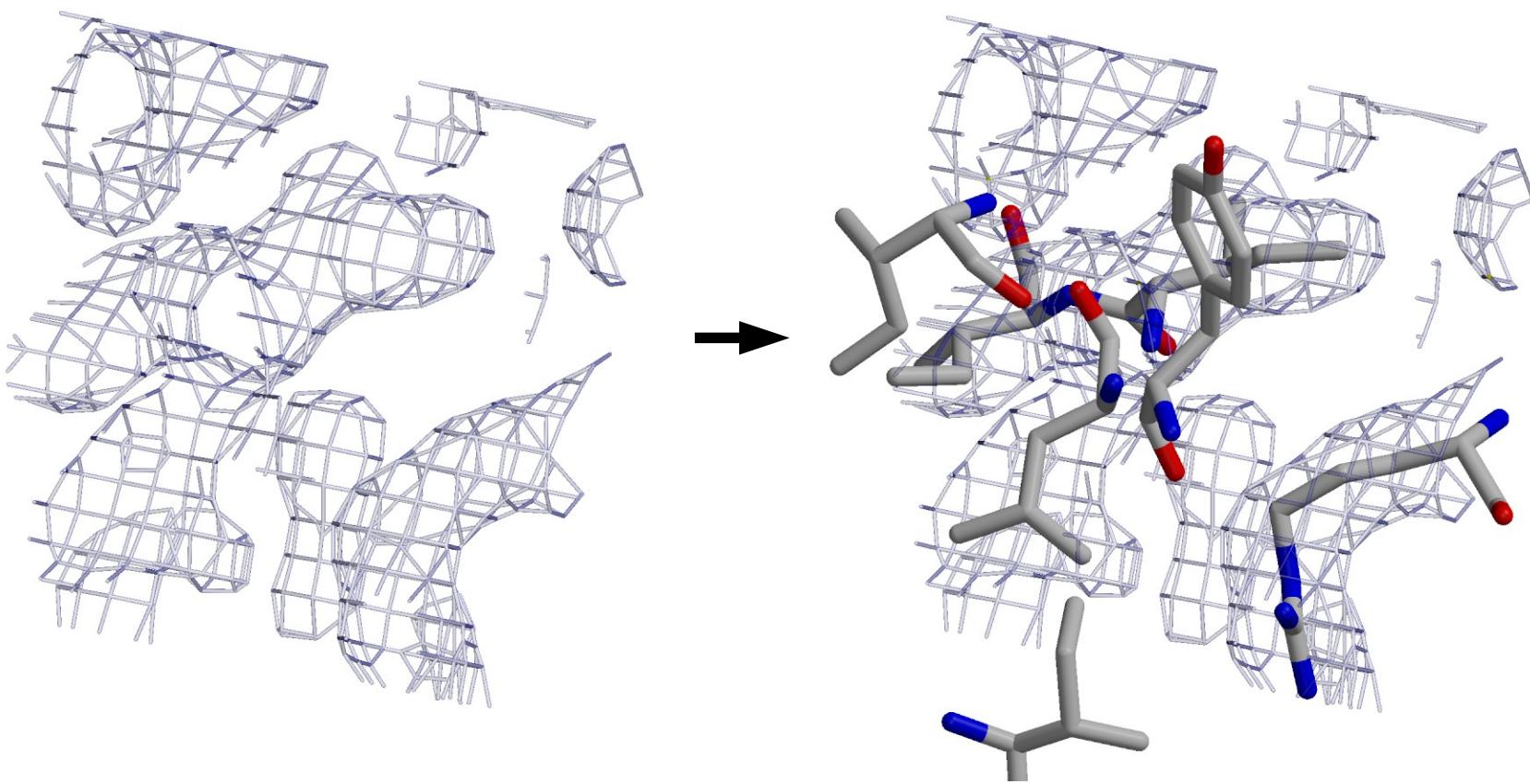
# Difrakcijos uždavinio sprendinys – ne vienintelis!

*Pavyzdys:*

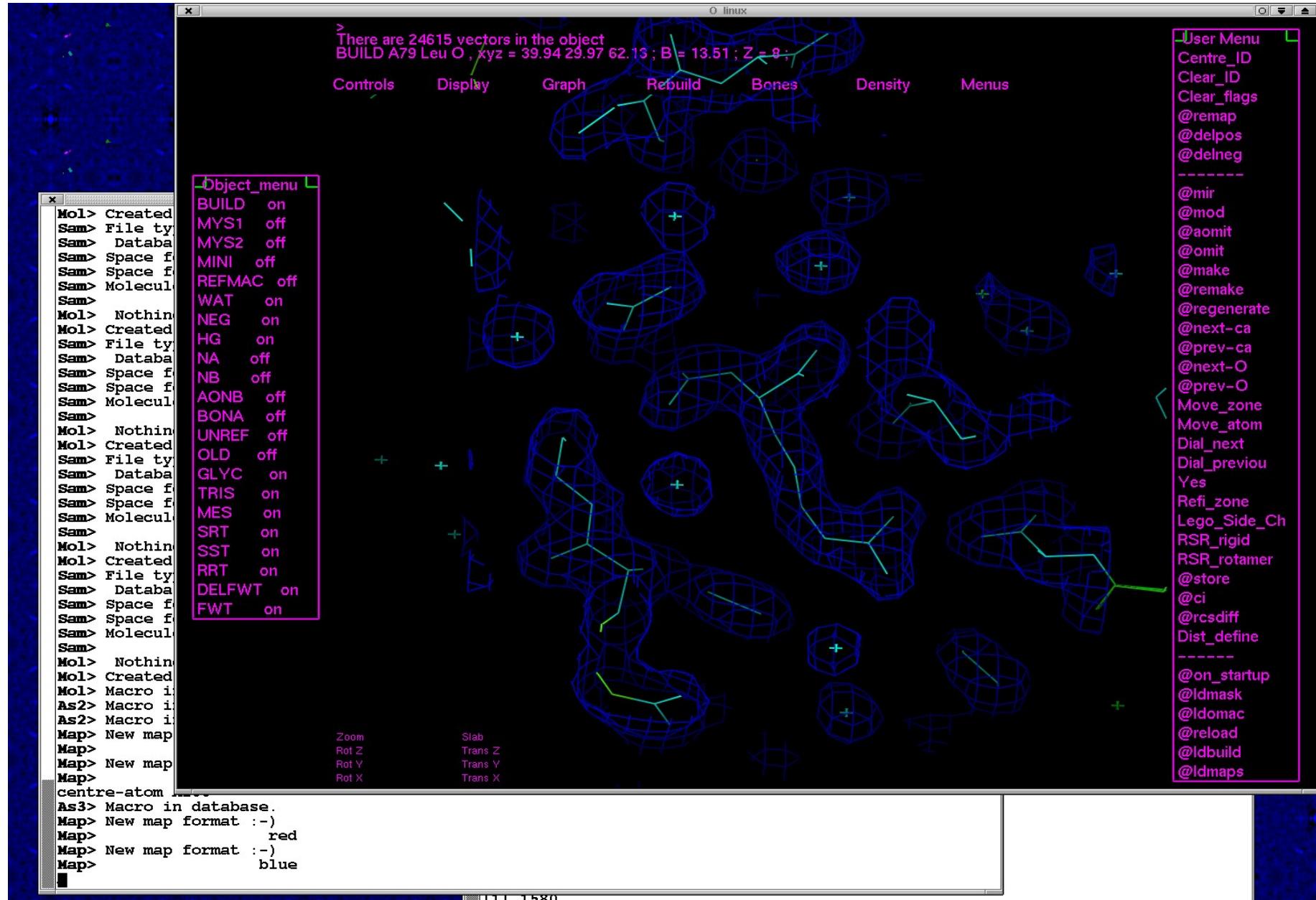


Atspindėta struktūra turi identišką difrakcijos vaizdą  
(jei nėra anomalaus sklaidymo...)

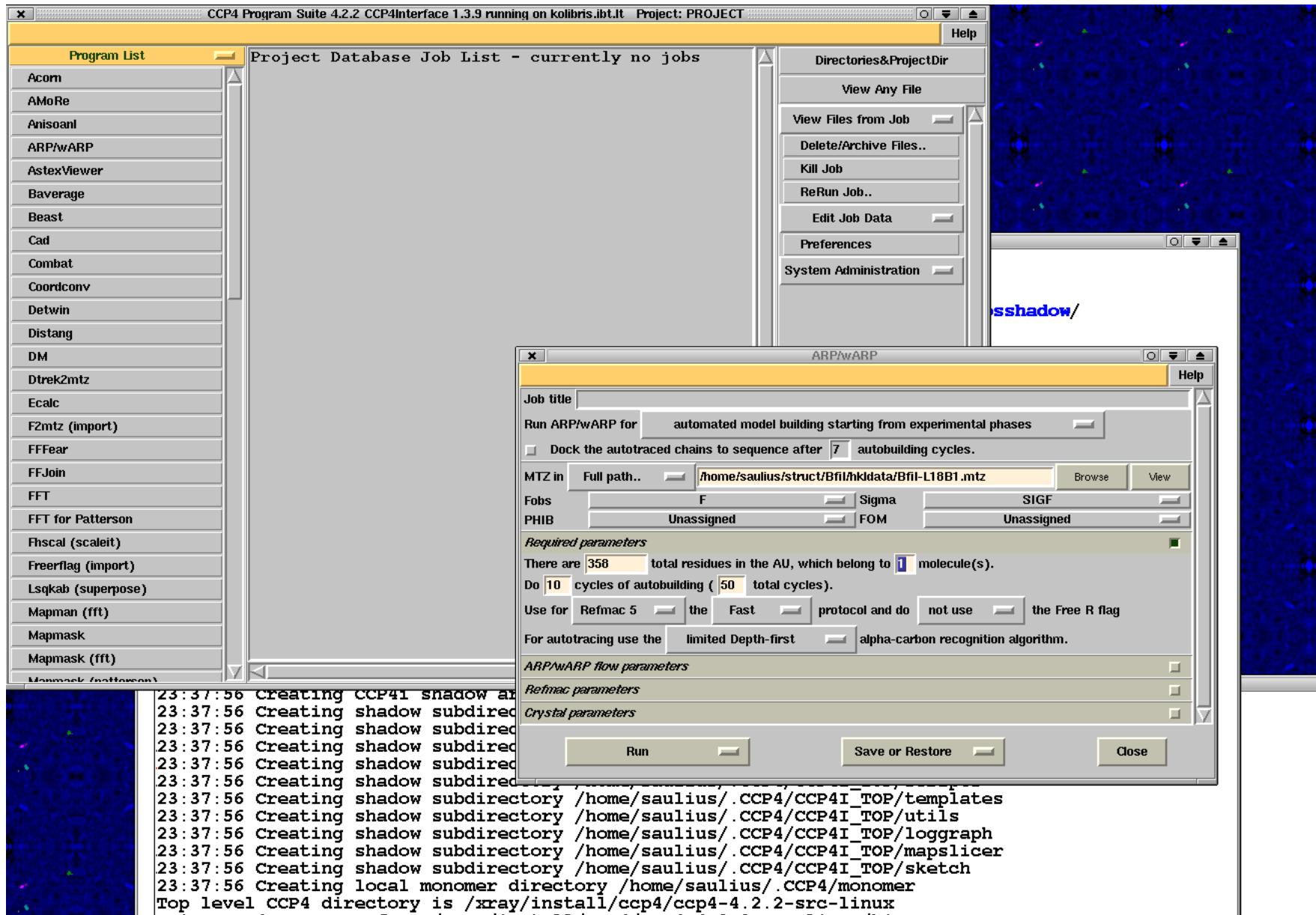
# Elektronų tankis – o kas toliau?



# Rankinis modelio konstravimas



# Automatiniai modelio konstravimo įrankiai



# Papildoma informacija modelio konstravimui

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

# Struktūru patikslinimas

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

# Patikslinimo kriterijai

Kristalografinis R-faktorius:

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

R-free:

$hkl$  ↗ ~10% (test set)  
↘ ~90% (working set)

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

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

# Patikslinimo parametrai

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

# Struktūros kokybės rodikliai

- Skiriamoji geba ( $\text{\AA}$ )
- R faktorius (R-factor),  $R_{\text{cryst}}$
- „Laisvasis“ R faktorius,  $R_{\text{free}}$
- $R_{\text{free}} - R_{\text{cryst}}$ ,  $R_{\text{cryst}}/R_{\text{free}}$
- $R_{\text{cryst}}$  ir  $R_{\text{free}}$  išoriniame atspindžiu sluoksnyje
- 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/>