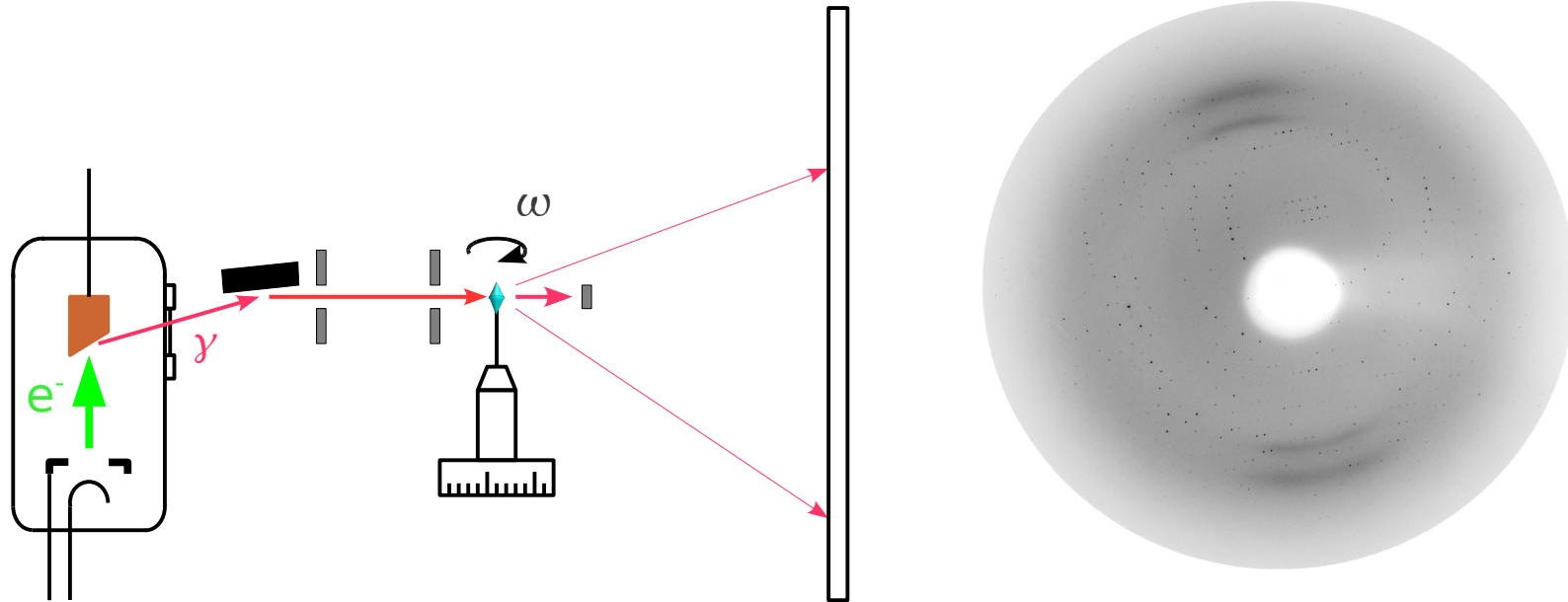


*Makromolekulių struktūros
&
Rentgeno kristalografija
(2)
Fazių problema*

S. Gražulis
2012 m.

Fazių problema



Reikalingi dydžiai:

- $F, F^2 \sim I$
- φ

Matuojami dydžiai:

- $F, F^2 \sim I$

Fazių problemos sprendimo būdai

- **Daugkartinis izomorfinis pakeitimas**
(MIR – Multiple Isomorphous Replacement)
- **Anomalios dispersijos eksperimentas**
(MAD – Multiwavelength Anomalous Dispersion)
- **Molekulinis pakeitimas**
(MR – Molecular Replacement)
- **Tiesioginiai metodai**
(Direct Methods)

Daugkartinis izomorfinis pakeitimas (MIR)

Metodo esmė:

- Surinkti duomenis nuo baltymo kristalo (natyvus rinkinys, native dataset)
- Įvesti į gardelę **vieną ar kelis sunkius atomus** fiksuotose pozicijose taip, kad daugiau niekas nepasikeistų (pvz., mirkant sunkiųjų metalų druskose)
- Surinkti duomenis nuo dviejų ar daugiau tokių modifikuotų kristalų

Daugkartinis izomorfinis pakeitimas (2)

- **Pliusai:**

- Nereikalinga pradinė struktūrinė informacija (eksperimentinės fazės!)
- Matuoti galima bet koku vienu bangos ilgiu

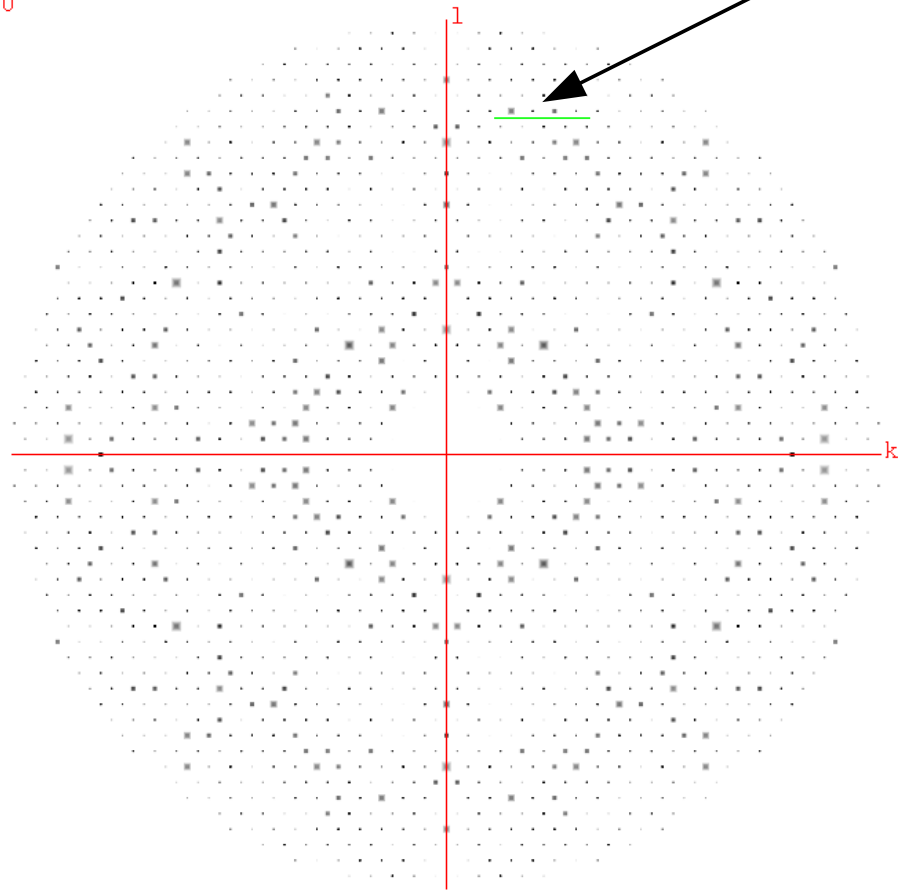
- **Minusai:**

- Reikia daug modifikuotų kristalų ir matavimų
- Duomenys nelabai aukštos skiriamosios gebos (4 – 2.5 Å), didelis triukšmas dėl neizomorfiškumo

Izomorfiniai skirtumai

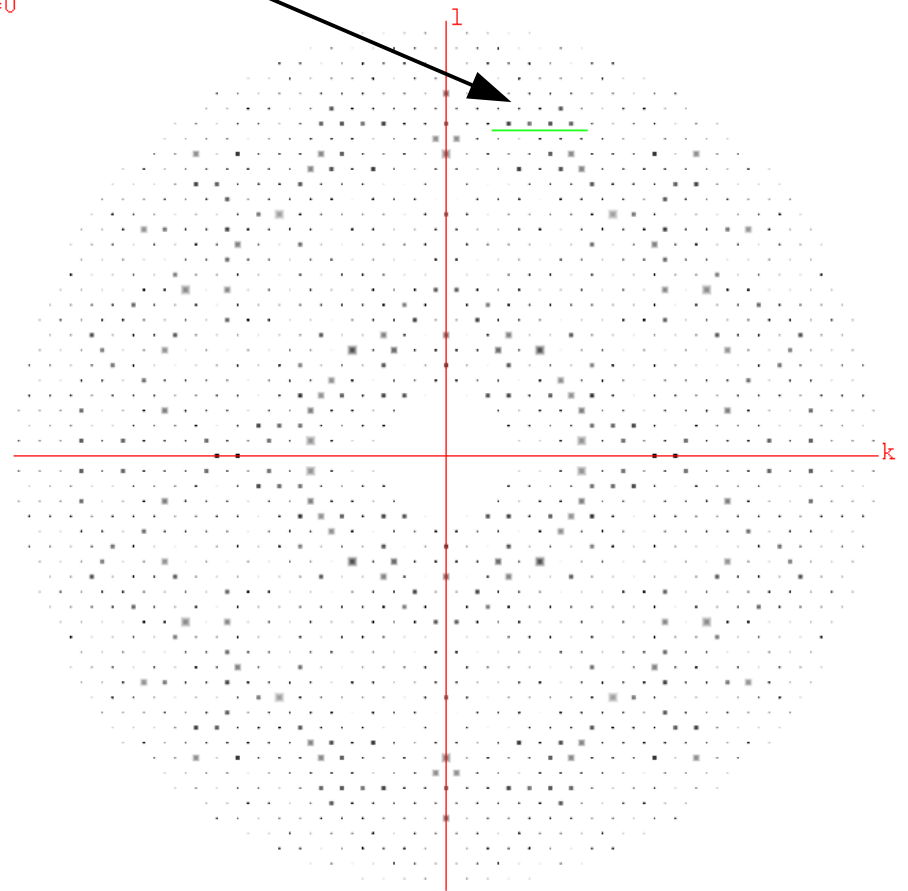
Skirtumai

$h=0$



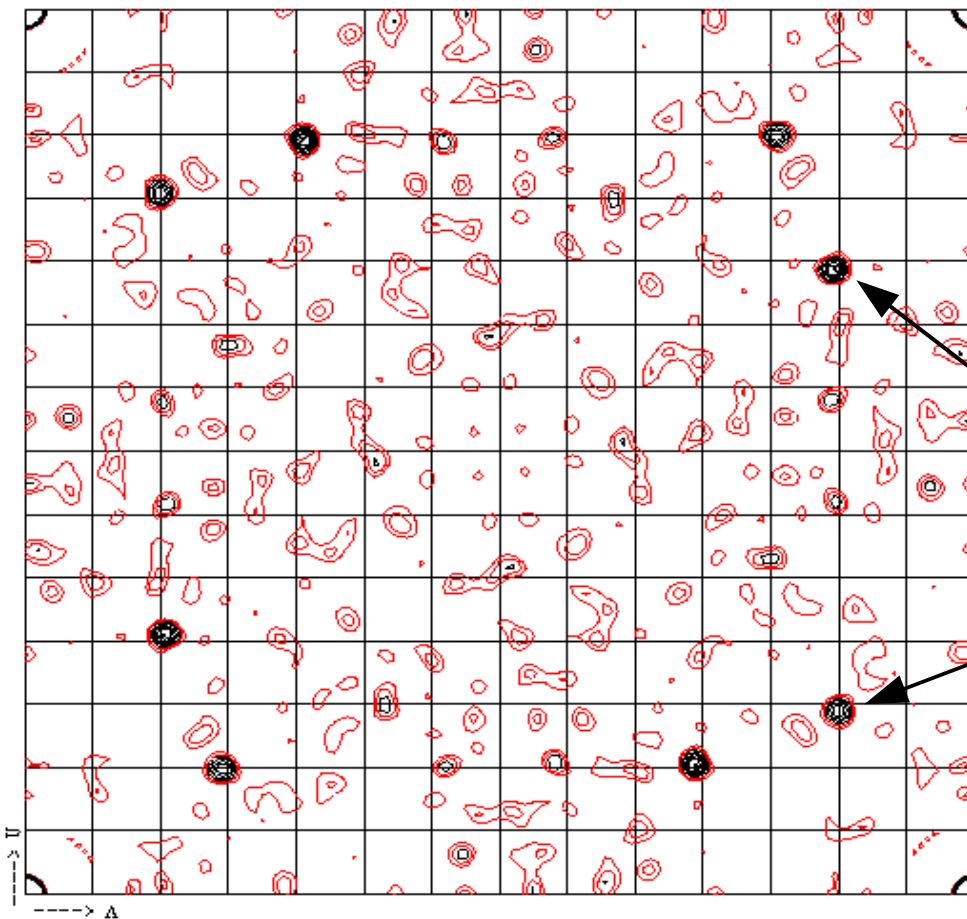
Natyvus

$h=0$



Hg darinys

Izomorfinių skirtumų Furje transformacija



Izomorfiniai skirtumai tarp natyvaus kristalo ir išvestinės (sunkiųjų metalų darinio)

Hg signalas

Anomalios dispersijos eksperimentas (MAD)

Metodo esmė:

- Gauti vieną kristalą su anomaliai sklaidančiu atomu
- Surinkti duomenų rinkinius, naudojant **du, tris ar keturis skirtingus bangos ilgius.**

Bangų ilgiai parenkami individualiai kiekvienam anomaliajam sklaidytojui (pagal atomo tipą).

Anomalios dispersijos eksperimentas (2)

- **Pliusai:**
 - Nereikalinga pradinė struktūrinė informacija (eksperimentinės fazės!)
 - Užtenka vieno-vienintelio kristalo
 - Gaunama aukštos skiriamosios gebos informacija – ją riboja tik paties kristalo kokybė

Anomalios dispersijos eksperimentas (3)

- Minusai:
 - Reikia kristalo su anomaliai sklaidančiu atomu (“paprasti” baltymai tokių neturi)
 - Reikia Rentgeno spindulių šaltinio su keičiamu bangos ilgiu – eksperimentams tinka tik sinchrotronas
 - Kartais metodas neveikia – tada sunku ieškoti nesėkmės priežasčių...

Molekulinis pakeitimas (MR)

Metodo esmė:

- Surinkti vieną natyvų duomenų rinkinį
- Surasti molekulę su **žinoma struktūra, panašia į tyrinėjamąją** (modelį pakeitimui)
- Suskaičiuoti teorines fazes nuo modelio ir panaudoti jas kaip pradinius artinius el. tankiui gauti

Molekulinis pakeitimas (2)

- **Pliusai:**
 - Tereikia vieno natyvaus duomenų rinkinio, užtenka vieno kristalo
 - Matuoti galime bet koku vienu bangos ilgiu

Molekulinis pakeitimas (3)

- **Minusai:**
 - Reikalinga panaši molekulė su žinoma struktūra – naujiems, originaliems projektams šis metodas netinka
 - Modelis įneša savo savybes, kurios gali duoti artefaktus – reikia labai atidžiai patikslinti gautą struktūrą, kad neliktų pradinio modelio įtakos (model bias)

Tiesioginiai metodai (Direct methods)

Metodo esmė:

- Pamatuoti vieną natyvų duomenų rinkinį
- Naudojant **papildomą informaciją** apie kristalo turinį (atomiškumas, realumas, tirpiklio kiekis, simetrija ir pan.), surasti apribojimus, kuriuos tenkina atspindžių fazės
- išsprendus apribojimų lygtis, surasti pradinius fazių artinius, kurie leis pradėti konstruoti ir patikslinti modelį

Tiesioginiai metodai (2)

- **Pliusai:**
 - Tereikia vieno duomenų rinkinio nuo vieno kristalo
 - Nenaudojamos jokios prielaidos apie konkrečią baltymo sruktūrą, naudojami tik patys bendriausi fizikiniai faktai – nėra modelio įtakos

Tiesioginiai metodai (3)

- **Minusai:**
 - Reikia *labai aukštos skiriamosios gebos* (1.0 Å ar geresnės) – baltymų kristalai retai duoda tokią gerą difrakciją
 - Praktiškai, matuoti reikia, naudojant sinchrotroną.