

Rentgenostruktūrinė analizė

24/10/06

1

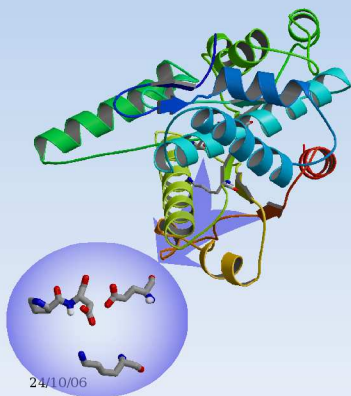
Rentgenostruktūrinė analizė (RA)

- RA teikiama informacija
- Pavyzdžio paruošimas
- RA fizikiniai principai
- RA duomenys ir jų surinkimas
- RA kaip mokslo metodo taikymo pavyzdys

24/10/06

2

Rentgenostruktūrinės analizės galimybės

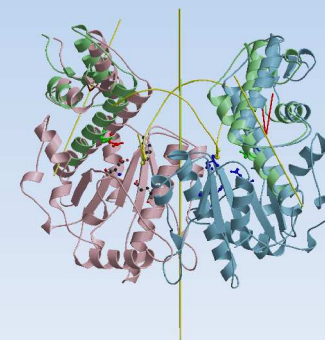


- Individualių atomų koordinatės
- Atomų šiluminiai virpesiai ir kristalo defektai (B-faktoriai)
- Kristalo simetrija, molekulių išsidėstymas kristale

24/10/06

3

RA galimybės (2)

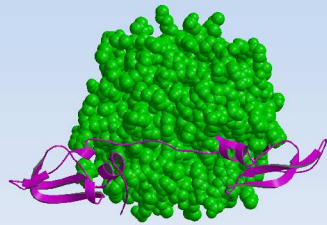


- Bendra baltymo struktūra
- Oligomerinė būseną
- Domenu ir subdomenu judesiai

24/10/06

4

RA galimybės (3)



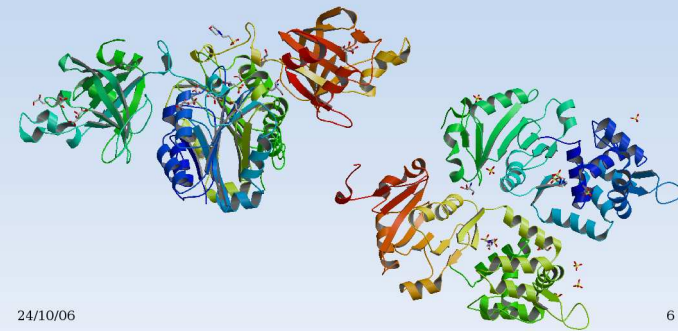
- Kompleksai su ligandais, substratais, produktais, inhibitoriais...

24/10/06

5

RA galimybės (4)

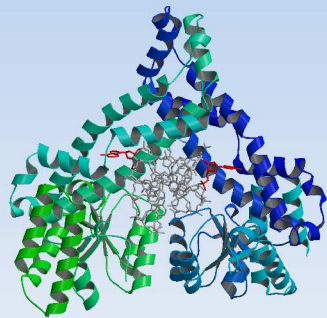
- Baltymo domeninė struktūra



24/10/06

6

RA galimybės (5)

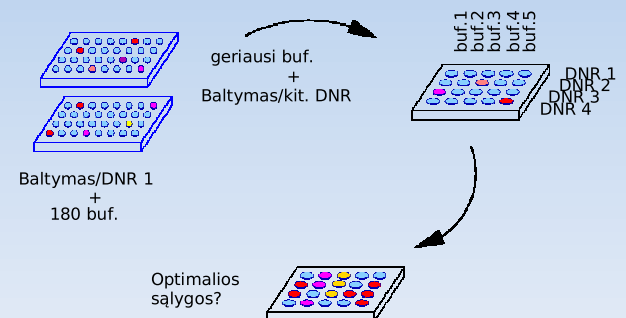


- Neláuktos sąveikos su substratu ypatybės

24/10/06

7

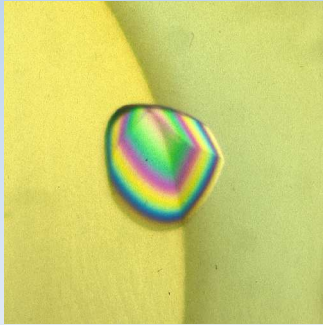
Kristalinimas



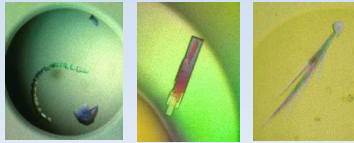
24/10/06

8

Pavyzdžio paruošimas – kristalinimas



- Tinkami RA:
50 – 500 μm dydžio monokristalai



24/10/06

9

Baltymo poreikis kristalinimui.

Baltymo kiekis	1-100 mg
Baltymo koncentracija	0.01 – 1.0 mM
x 50 kDa ...	0.5 – 50 mg/ml
Lašo dydis	0.5 – 4 μl
Lašų skaičius	100 – 1000 - ...

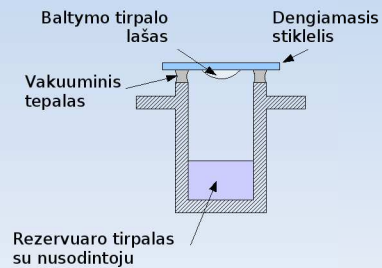
24/10/06

10

Kristalinimo metodai



- Kabančio lašo garų difuzija



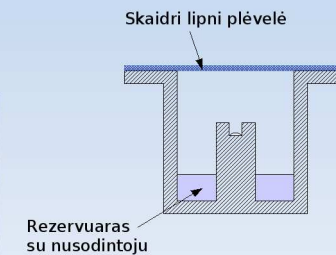
24/10/06

11

Kristalinimo metodai (2)



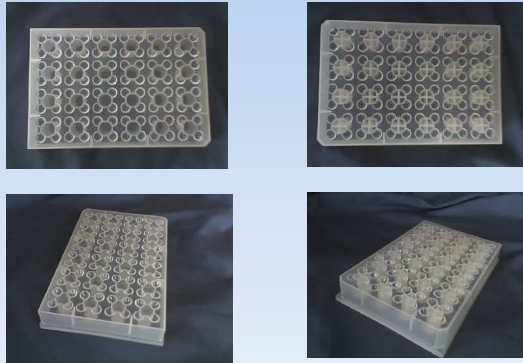
- „Tupinčio“ lašo garų difuzija



24/10/06

12

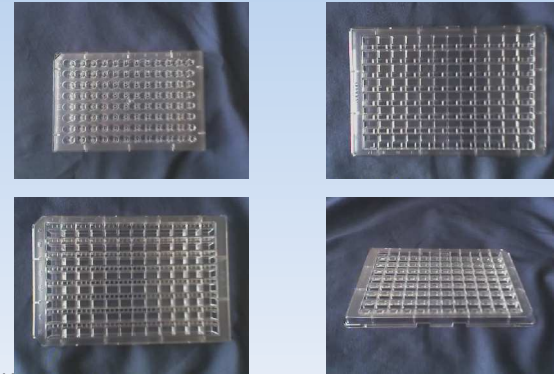
Kristalinimo metodai (3)



24/10/06

13

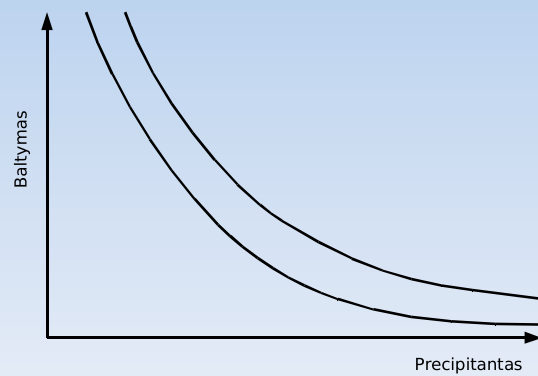
Kristalinimo metodai (4)



24/10/06

14

Kristalizacijos procesas



24/10/06

15

Kristalinimo sąlygų parinkimas

Tipiški kristalinimo buferiai. Faktorialai, faktorialiniai eksperimentai.

Jankaric & Kim,
J. Jankaric & S.H. Kim, J. Appl. Cryst. 23 (1991) 409

Carter & Carter
C. Carter, Jr. et al., J. of Cryst. Growth 90 (1988) 60

<http://www.hamptonresearch.com/>

24/10/06

16

Kristalinimo automatizavimas

Kristalinimo robotai.

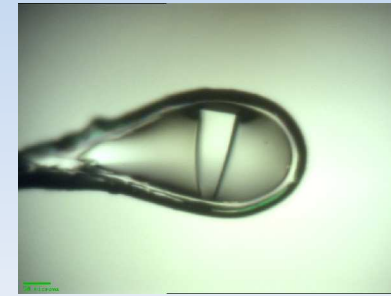


24/10/06

17

Kristalų montavimas ir šaldymas

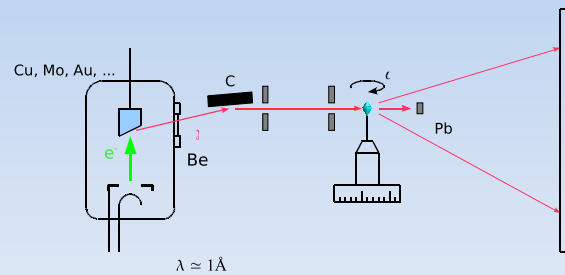
Kristalų montavimas.



24/10/06

18

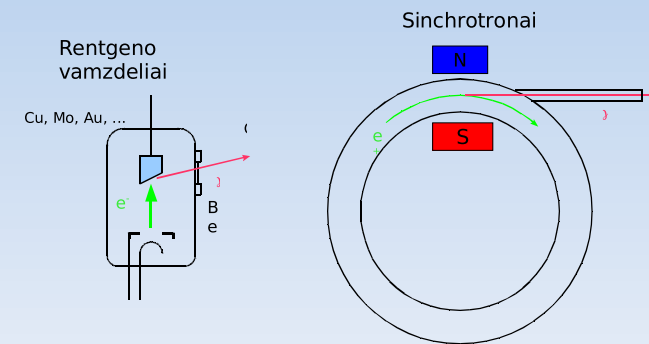
Duomenų surinkimas



24/10/06

19

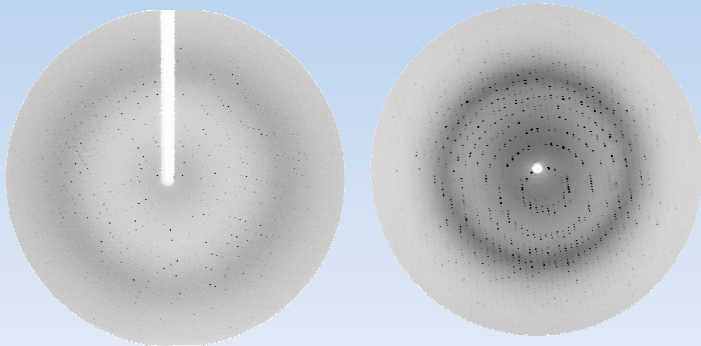
Spindulių šaltiniai



24/10/06

20

Difrakcijos vaizdo pavyzdys



24/10/06

21

Rentgeno spindulių difrakcijos pagrindai

*Kas vyksta difrakcijos eksperimento metu...
(bendras planelis)*

24/10/06

22

Elektromagnetinės bangos

Monochromatinės el. m. bangos. Bangos parametrai (ilgis, dažnis, greitis). Elektromagnetinės bangos užrašymas sin funkcijos pavidalu. Eulerio formulė. El. m. bangos užrašymas eksponentės pavidalu.

24/10/06

23

El. magnetinės bangos erdvėje

Vektorinis bangos užrašymo pavidalas. Plokščios monochromatinės bangos.

24/10/06

24

Superpozicijos principas

El. m. bangų sudėtis ir superpozicijos principas.

24/10/06

25

Antrinės bangos

Elektronai spinduliuoja antrines el. m. bangas. Laisvo elektrono klasikinis artinys. Branduoliai nespinduliuoja dėl savo didelės masės.

24/10/06

26

Elektromagnetinių bangų sudėtis

Schema, aiškinanti, kaip sumuojamos bangos iš dviejų taškų.

24/10/06

27

Furje integralas.

Trumpai apie Furje transformacijos ir integralo savybes. Atvirkštinė erdvė.

24/10/06

28

Duomenų surinkimas

Duomenų surinkimo strategija ir pavyzdžiai

24/10/06

29

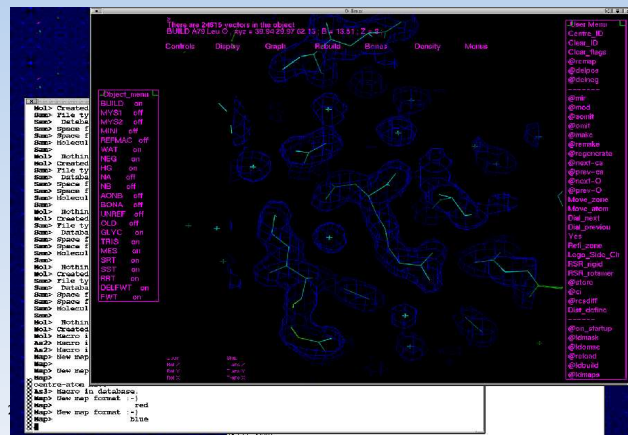
Duomenų kokybės įvertinimas

Duomenų kokybės rodikliai

24/10/06

30

Duomenų interpretavimas



31

Modelio kokybės įvertinimas

Kristalografinis R-faktorius:

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

R-free:

~10% (test set)

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

~90% (working set)

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

24/10/06

32

Turimos RA priemonės

BTI turima RA įranga

Duomenų apdorojimo, modelių konstravimo ir patikslinimo programos

24/10/06

33

Kokia informacija gaunama iš RA

Atominės koordinatės, jų paklaidos; modelio tikslumas, pilnumas; modelio atitikimas stebimiems duomenims; duomenų interpretacija ir modelio kūrimas, naudojant duomenis ir papildomą informaciją apie tyrinėjamas molekules.

24/10/06

34

Kodėl mes įsitikinę, kad matome tikras molekules?

RA kaip bendros mokslinės paradigmos taikymo pavyzdys.

24/10/06

35

Mokslas

Mokslas – žinių apie pasaulį šaltinis.

24/10/06

36