

Использование СИ в кристаллографии белков.

К.М.Поляков (ИМБ РАН)

1. Большие размеры молек. ул. - Слабая рассеивающая способность.

$$I(hkl) \sim I_0 (1/\omega) \lambda^3 (V_{\text{cryst}} / (V_{\text{cell}})^2) |F(hkl)|^2$$

2. Большой объем дифракционных данных

$$N = 4/3 \pi V_{\text{cell}} / d^3$$

где d – разрешение (2d sin θ = n λ)

a=b=c=50Å Sp.gr P1

N~4000 при d= 5Å

N~600000 при d=1Å

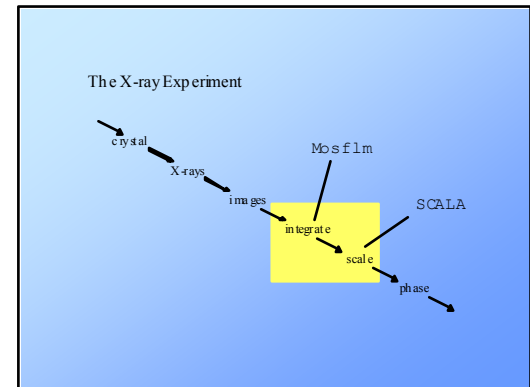
3. Радиационное разрушение

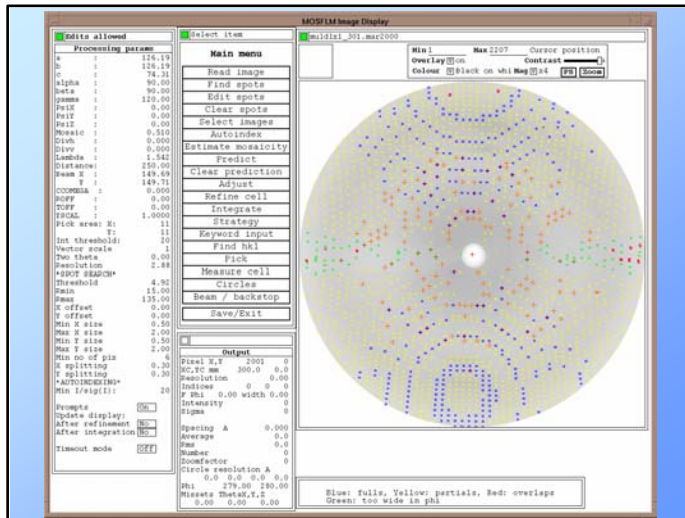
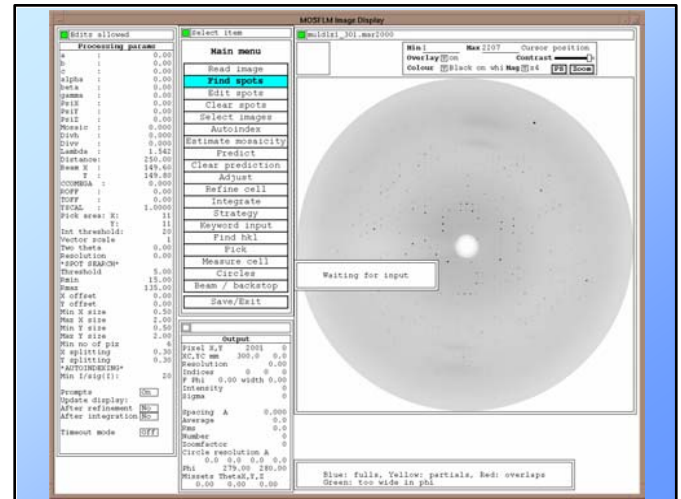
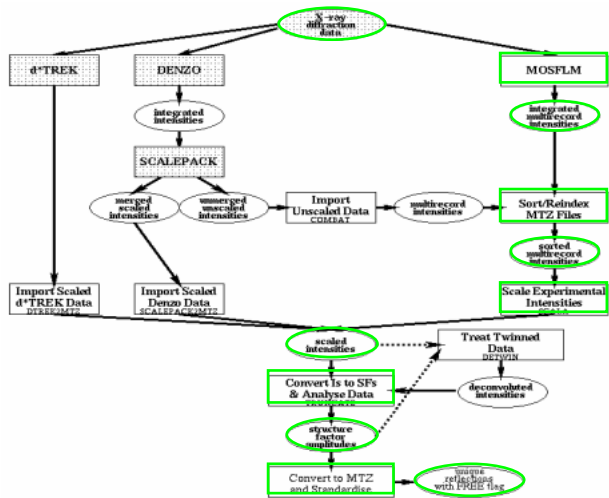
- ИНТЕНСИВНОСТЬ
- ТОЧНОСТЬ
- СКОРОСТЬ
- РАЗРЕШЕНИЕ
- РАЗМЕРЫ КРИСТАЛОВ

Интенсивность рентгеновского излучения на синхротронных источниках на 3-4 порядка выше чем на лабораторных источниках. Возможность использования рентгеновских пучков с малой дисперсией позволяет улучшить качество данных (увеличить разрешение и улучшить статистику) и уменьшить радиационное разрушение образцов в процессе сбора данных.

- ИНТЕРВАЛ ДЛИН ВОЛН
- АНОМАЛЬНОЕ РАССЕЯНИЕ
- СЕЛЕНОМЕТ ИОНИНОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ
- МЕТОД ЛАУЭ

Возможность варьировать длину волны в широком интервале значений позволяет для решения фазовой проблемы использовать метод аномального рассеяния для макромолекул содержащих тяжелые атомы и для остальных белков использование метода селеномет ионированных производных (замещение атома серы на атом селена в остатках метионина). В принципе синхротронное излучение также позволяет получить дифракционные данные методом Лауэ (одновременная регистрация всех отражений от кристалла для широкого интервала длин волн падающего излучения).





BEST
Version 1.1
27.03.2003
*A program for optimising the X-ray data collection from
macromolecular crystals*
Ma nual
EMBL Hamburg Outstation
Alexander N. Popov sasha@EMBL-Hamburg.de
Gleb P. Bourenko v. gieb@mpghdb.desy.de

Mitochondrial Isomerase, Space group: C2, a=101.2 Å b=79.6 Å c=112.9 Å beta=115.6°

Beam-line: X31 EMBL-Hamburg, MAR Image Plate detector, wavelength 1.5 Å.

The aim was collect data set to a resolution better than 2 Å.

12 hours was available for this measurement.

Initial images: Two images separated by rotation on 90° with exposure time 5 min (dose=10500), detector diameter 345 mm, detector-crystal distance 150 mm (maximal resolution 1.82 Å), Δφ=1°.

Start BEST (with interactive input, display plots)

```
>> best -f mar2300 -t 300 -d 1000 -i -g ./init_001.mar2300 x/init_00*.x
Program Best /A.Popov & G.Bourenkov/ Version 1.1 27.03.2003
-----
Relative n. of achievable unique reflections =100.00%
Shortest arc for providing the 99% of overall achievable completeness
for resolution from 12.00 to 7.31
Phi_start = 10.00 Phi_finish =170.00
for resolution from 12.00 to 1.82
Phi_start = 74.00 Phi_finish =211.00
scal= 9.26 B-factor= 18.12 eigenvalues 18.22 17.10 22.03
```

All unique reflections can be measured. The total fraction of reflections located in the 'blind region' is equal to 0.

```
Table (Option: total time is minimal)
-----
(D.C.Time - total data collection time E.Time - total exposure time)
Phi splitting to take account of anisotropy = 5 degree
Allowable minimum of rotation width = 0.05 degree
Relative Error of estimation for last shell = 4.94%
-----
Phi_start = 74.0 Phi_finish = 211.0
Overall Completeness = 99.1% and Redundancy = 2.81
```

Resolution	Ratio (I/σ(I))					
	3	5	10	3	5	10
12.00	7.21	93.25	0.23	0.2	0.24	0.23
7.31	5.73	93.25	0.23	0.2	0.24	0.23
6.73	4.87	98.13	0.23	0.2	0.24	0.23
4.87	4.31	99.28	0.23	0.2	0.24	0.23
4.31	3.89	97.13	0.23	0.2	0.24	0.23
3.89	3.59	98.13	0.23	0.2	0.24	0.23
3.59	3.28	97.13	0.23	0.2	0.24	0.23
3.28	3.15	98.13	0.23	0.2	0.24	0.23
3.15	2.88	98.40	1.12	0.23	0.24	0.23
2.88	2.71	98.87	1.28	0.23	0.24	0.23
2.71	2.45	99.81	1.97	0.23	0.24	0.23
2.60	2.00	99.11	1.95	0.23	0.24	0.23
2.52	1.42	99.92	2.1	0.23	0.24	0.23
2.42	2.34	99.82	2.28	1.16	3.04	2.33

Total time of data collection to achieve I/Sigma=5 at resolution shell 1.82 Å is equal to 16 hours and 55 min
 Total exposure time
 We have decided to look how long a data collection will take if I/Sigma is about 2 in highest resolution shell

```
h
-----
plan <resolution> <I/Sigma>
----- Plan of data collection to achieve given resolution (limit and statistic
(I/Sigma is the highest res.shell has to be 3, 5, or 10)
-----
stat
----- Print statistics correspond the plan
lsig <name> <name2> <name3>
----- Change I/Sigma values and repeat prediction
phi <phi_start> <phi_finish>
----- Change start phi and oscillation range and repeat prediction
split <# of small intervals>
----- Change maximum number of plan entries and repeat prediction
width <width of rot./deg>
----- Change allowable minimum of rotation width and repeat prediction
constant <const.> <width of rot./deg> <exposure [s]> <detect.diameter>
----- Statistics achieved by collecting data with constant exposure and Delta_phi
detect.diameter 345.0 300.0 243.0 180.0
and
----- The end of the program job
-----
>>>Please give instruction (h = help) <<<
lsig 1 2 3
-----
Table (Option: total time is minimal)
-----
(D.C.Time = total data collection time E.Time = total exposure time)
Phi splitting to take account of anisotropy = 3 degree
Allowable minimum of rotation width = 0.15 degree
Relative Error of estimation for last shell = 2.43%
-----
Phi_start = 74.0 Phi_finish = 211.0
Overall Completeness = 99.1% and Redundancy = 2.81
```

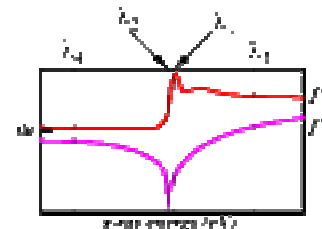
To get the list of options, print 'h'

Ask BEST to change I/Sigma values

Resolution	Ratio (I/σ(I))					
	1	2	3	1	2	3
12.00	7.21	93.25	0.23	0.2	0.24	0.23
7.31	5.73	93.25	0.23	0.2	0.24	0.23
6.73	4.87	98.13	0.23	0.2	0.24	0.23
4.87	4.31	99.28	0.23	0.2	0.24	0.23
4.31	3.89	97.13	0.23	0.2	0.24	0.23
3.89	3.59	98.13	0.23	0.2	0.24	0.23
3.59	3.28	97.13	0.23	0.2	0.24	0.23
3.28	3.15	98.13	0.23	0.2	0.24	0.23
3.15	2.88	98.40	1.12	0.23	0.24	0.23
2.88	2.71	98.87	1.28	0.23	0.24	0.23
2.71	2.45	99.81	1.97	0.23	0.24	0.23
2.60	2.00	99.11	1.95	0.23	0.24	0.23
2.52	1.42	99.92	2.1	0.23	0.24	0.23
2.42	2.34	99.82	2.28	1.16	3.04	2.33

МЕТОД MAD

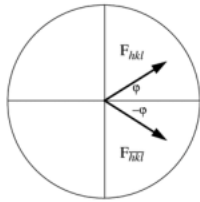
Schematic of experimental values for 'r' and 'r'' as a function of x-ray energy



X-ray energy in keV = 12.398/1 in Å

$$|F_{hkl}| = |F_{\bar{h}\bar{k}\bar{l}}|$$

$$\psi_{hkl} = -\psi_{\bar{h}\bar{k}\bar{l}}$$



*Equal atom case:
all atoms have the same
scattering behaviour*

