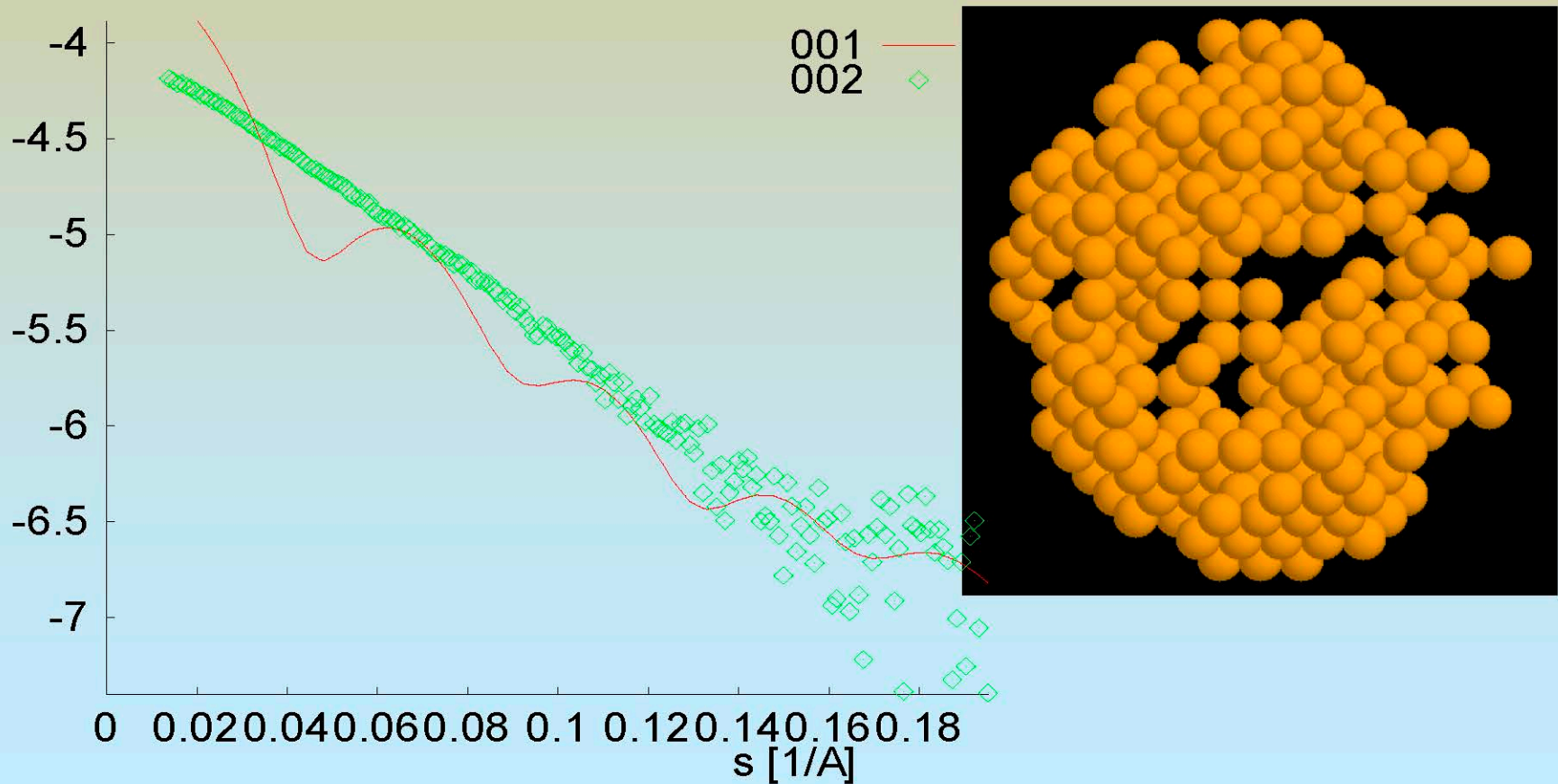


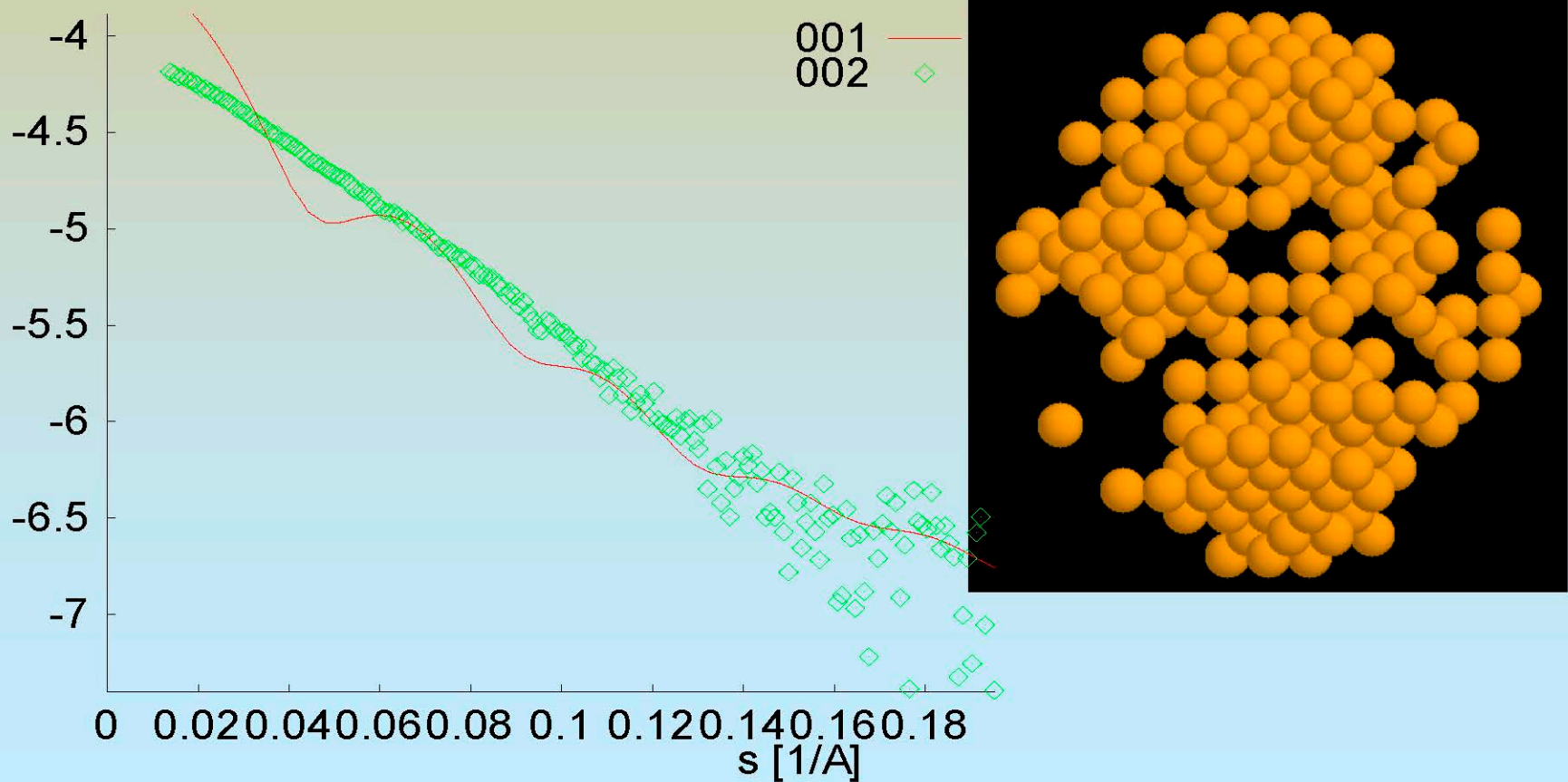
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 1 Temperature = 0.100E-02 Chi= 37.47



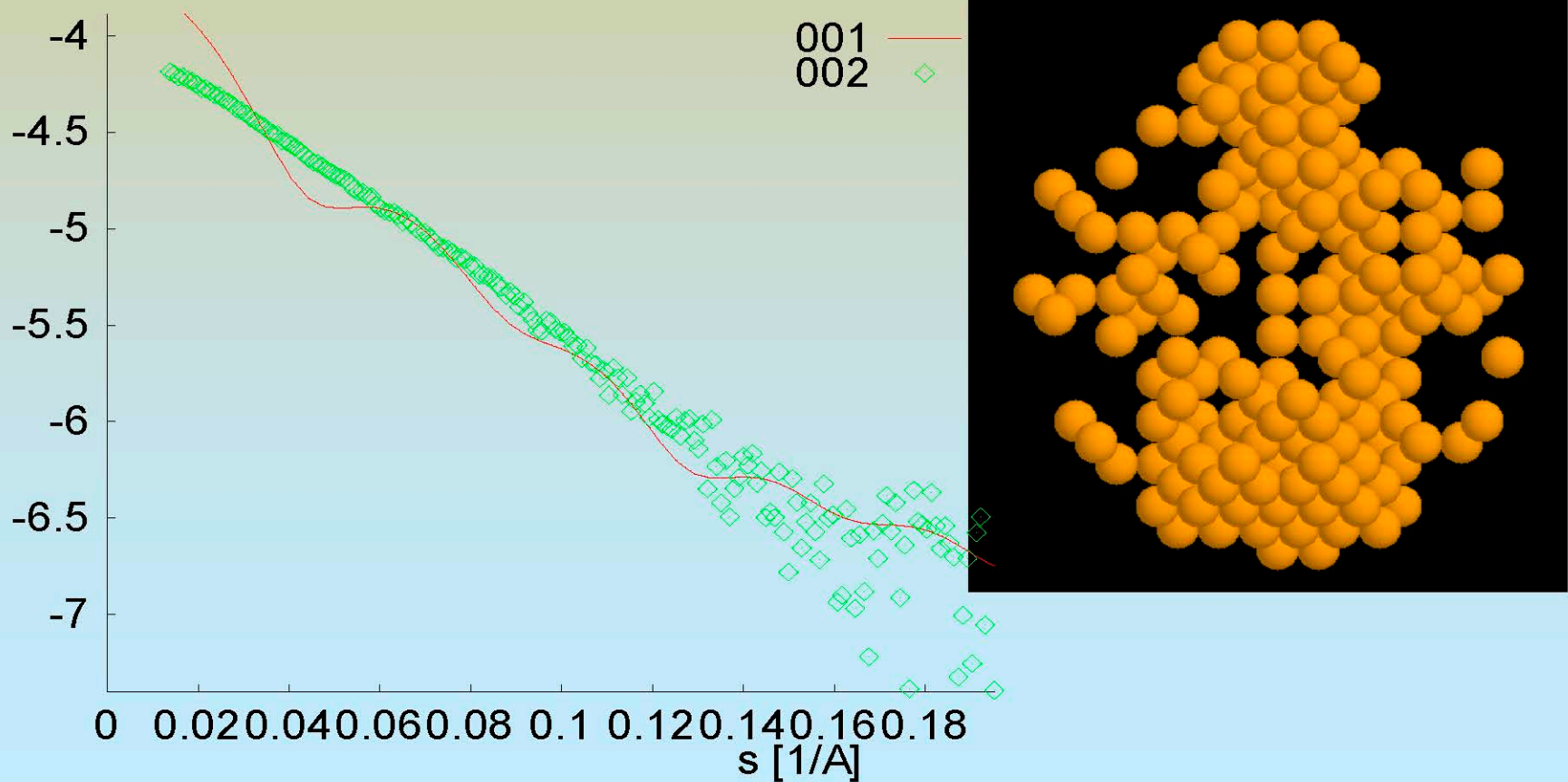
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 2 Temperature = 0.900E-03 Chi= 31.57



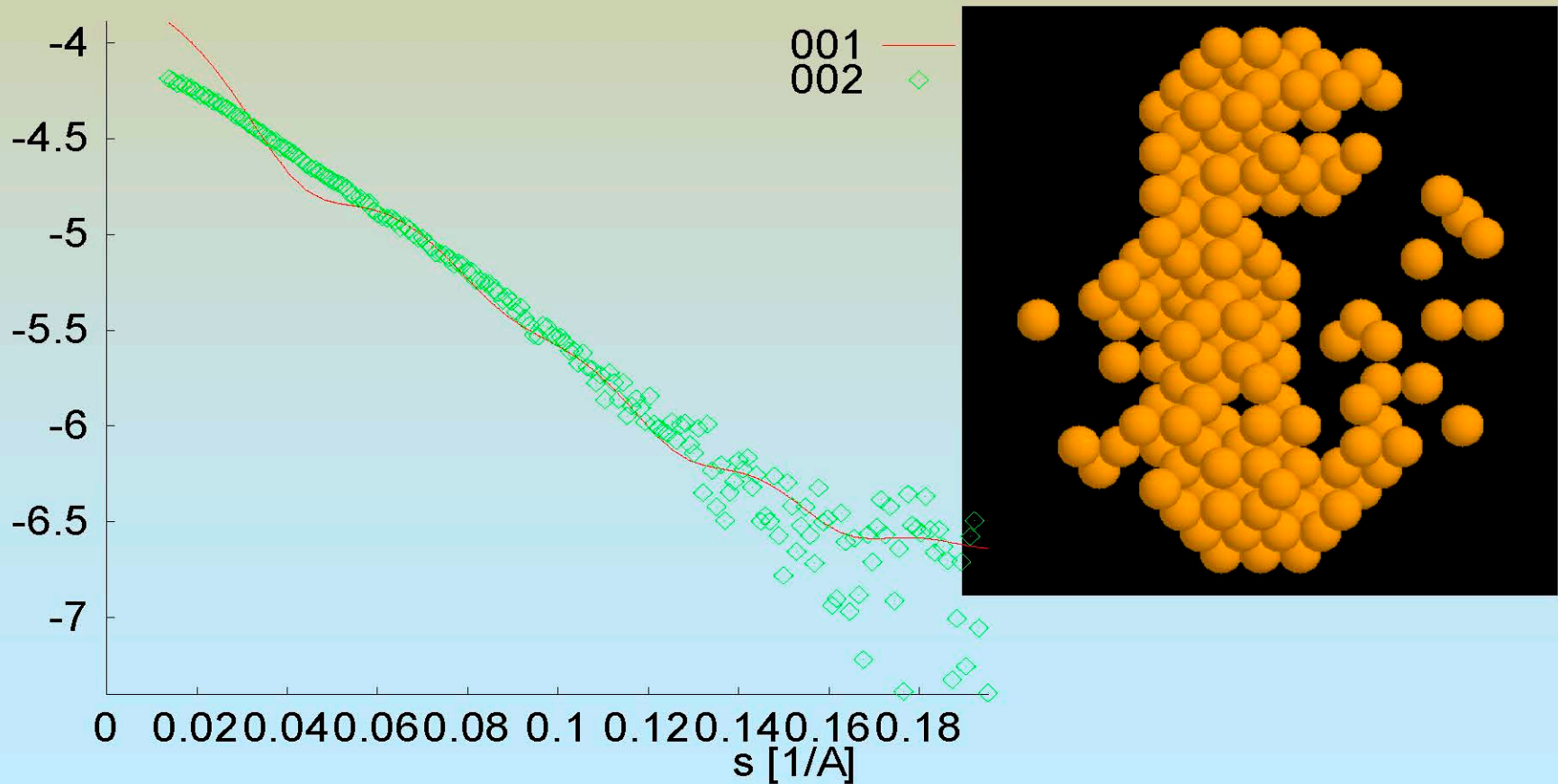
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 4 Temperature = 0.729E-03 Chi= 26.08



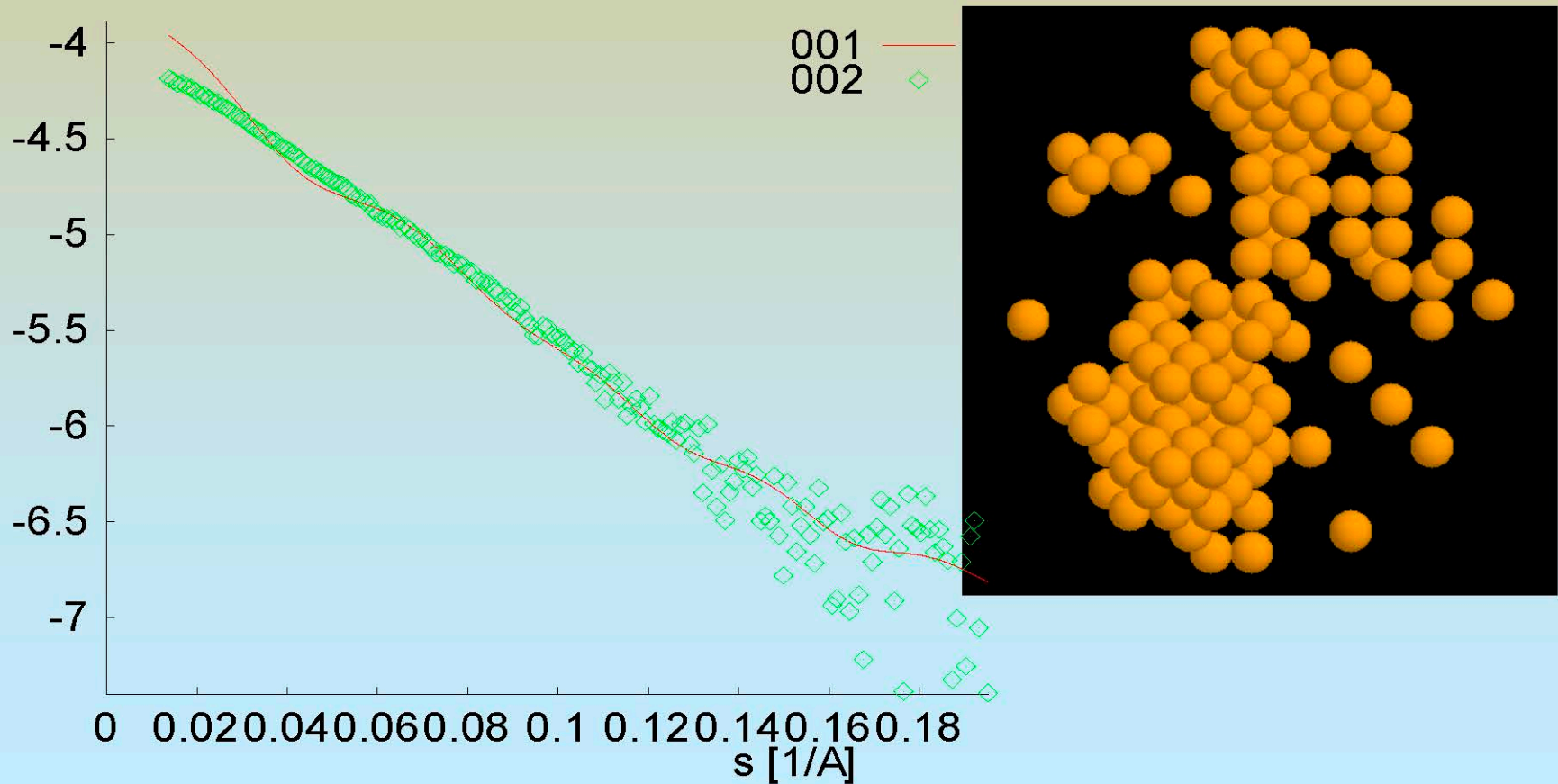
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 8 Temperature = 0.478E-03 Chi= 18.51



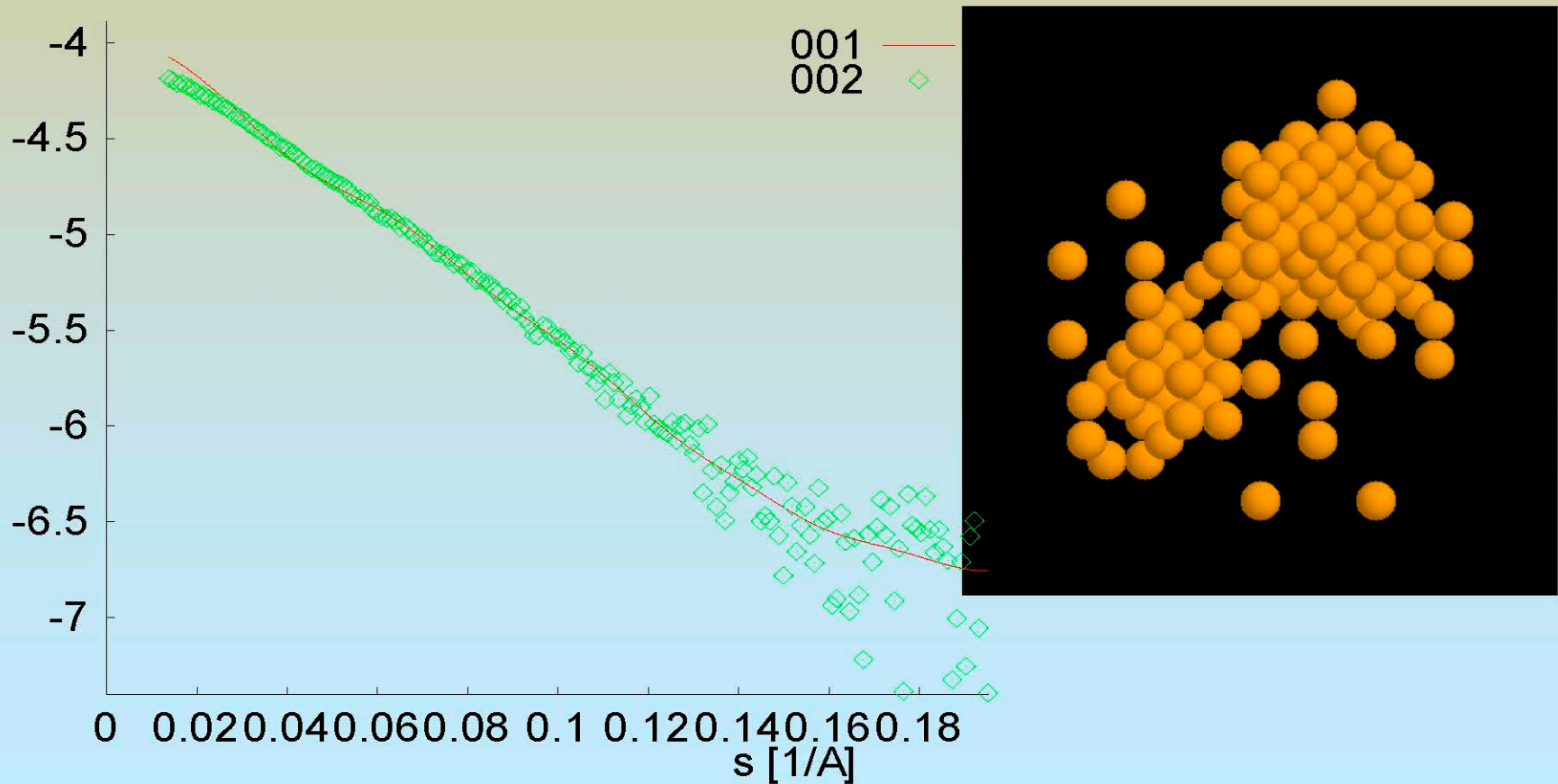
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 11 Temperature = 0.349E-03 Chi= 13.11



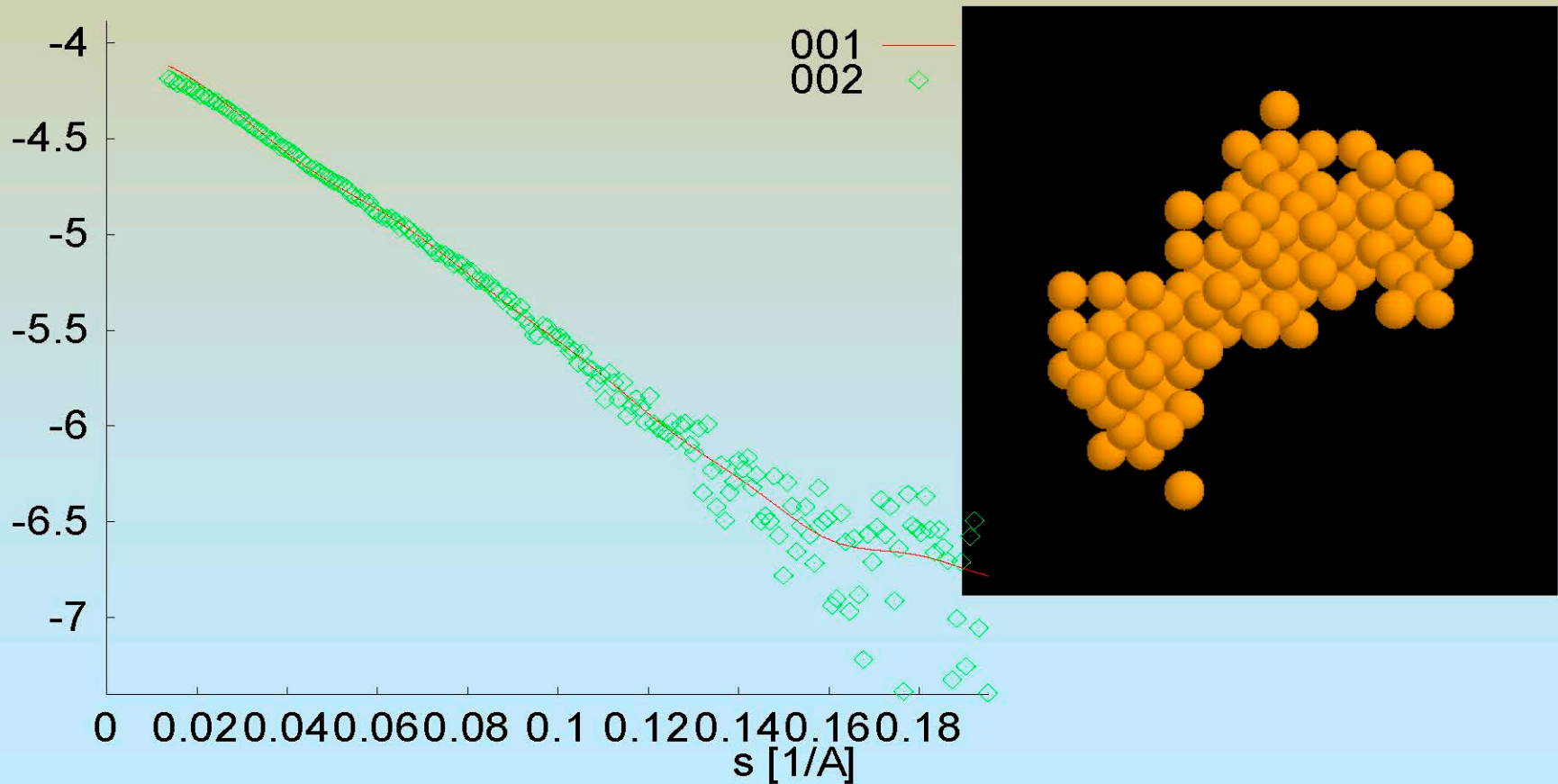
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 20 Temperature = 0.135E-03 Chi= 5.63



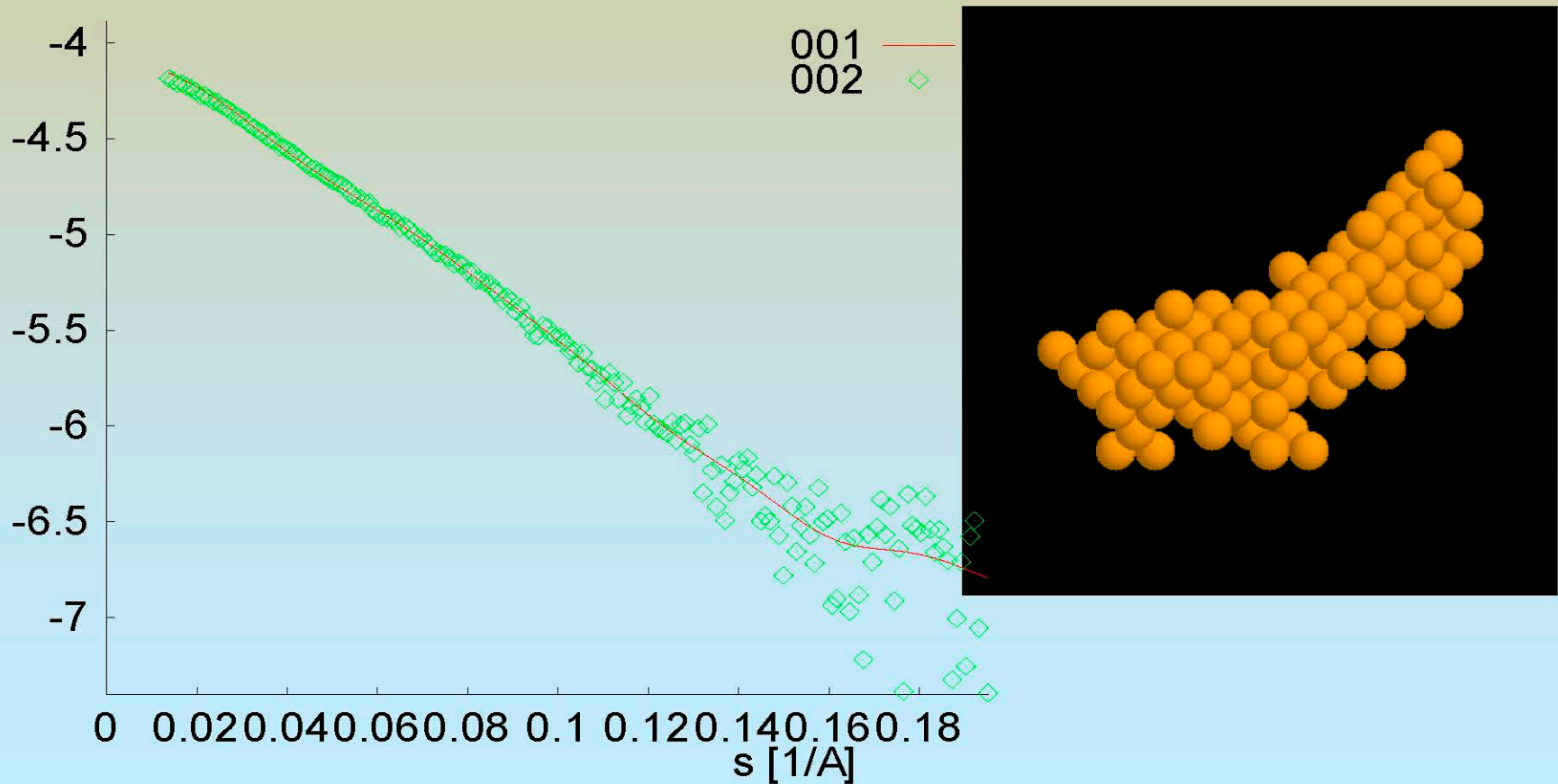
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 25 Temperature = 0.798E-04 Chi= 3.33



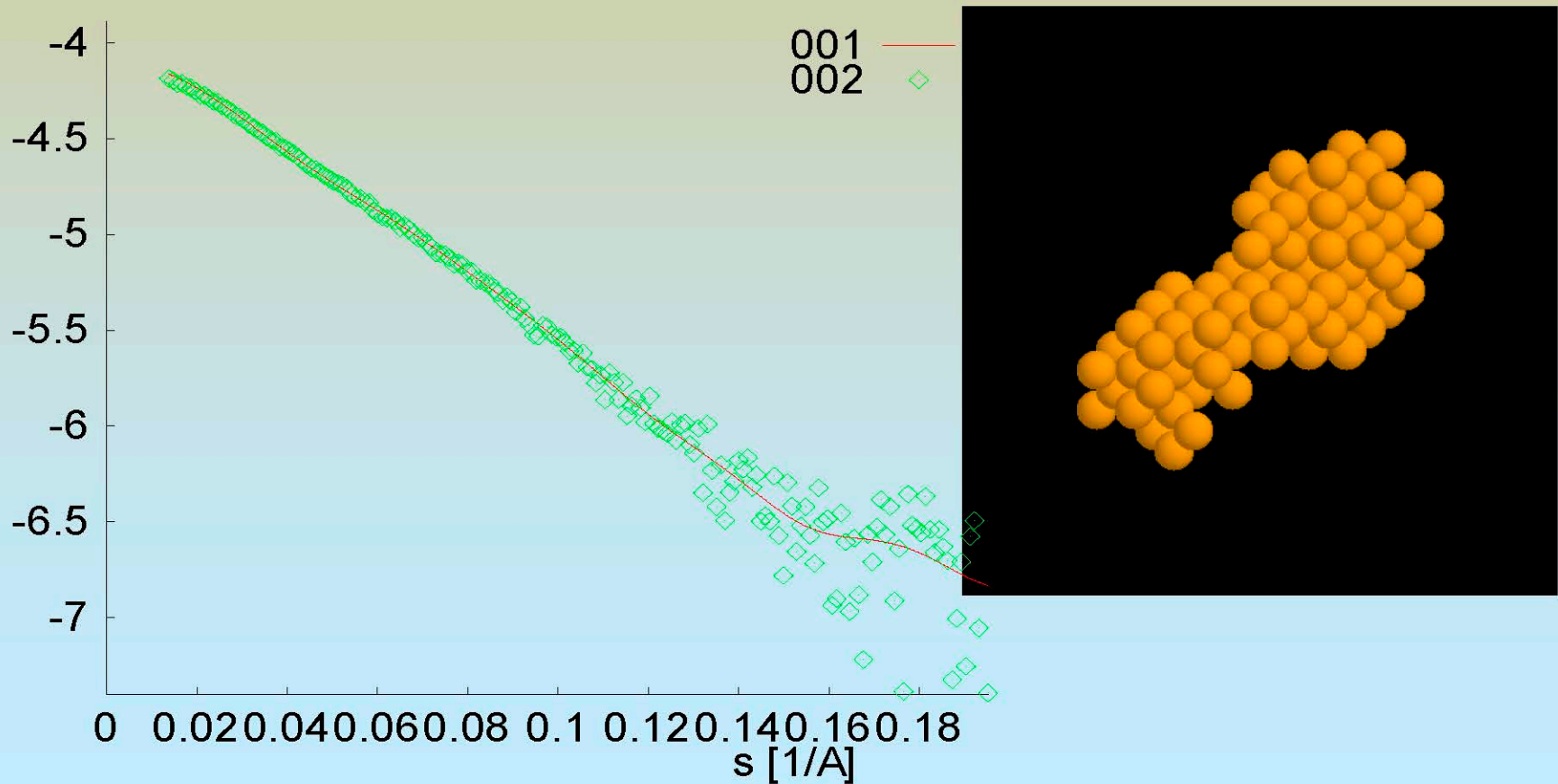
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 30 Temperature = 0.471E-04 Chi= 1.82



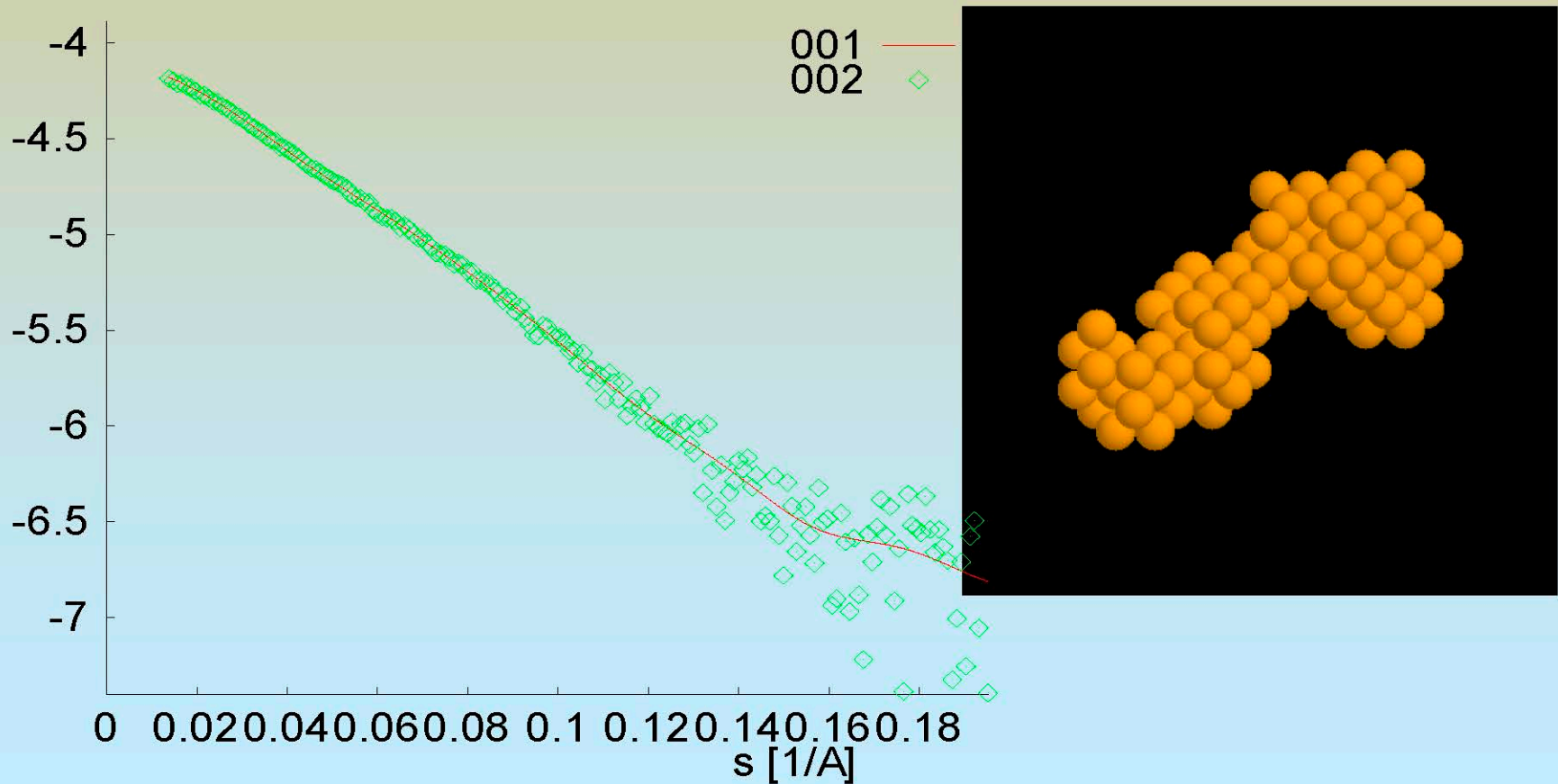
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 35 Temperature = 0.278E-04 Chi= 1.56



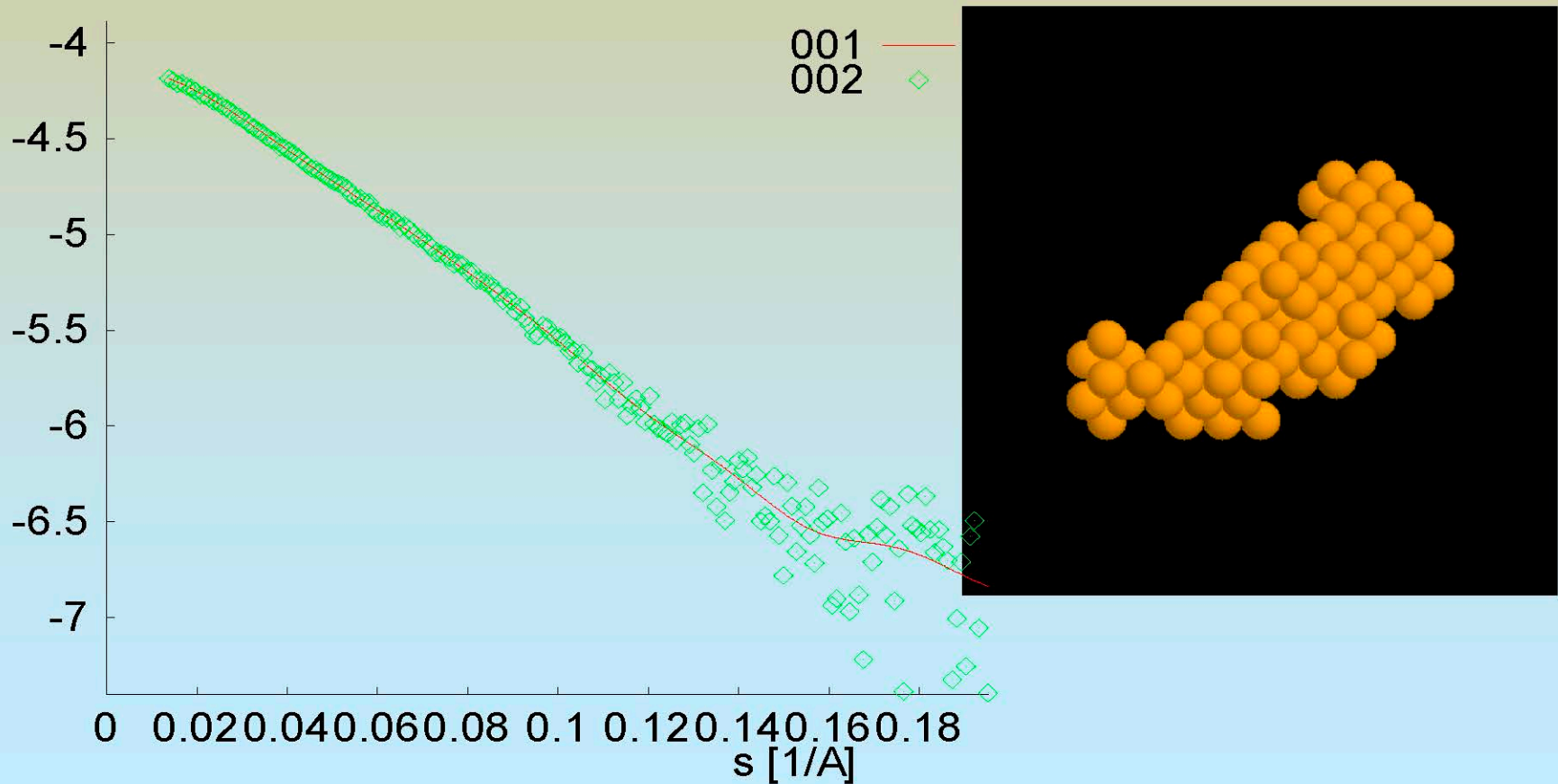
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 45 Temperature = 0.970E-05 Chi= 1.10



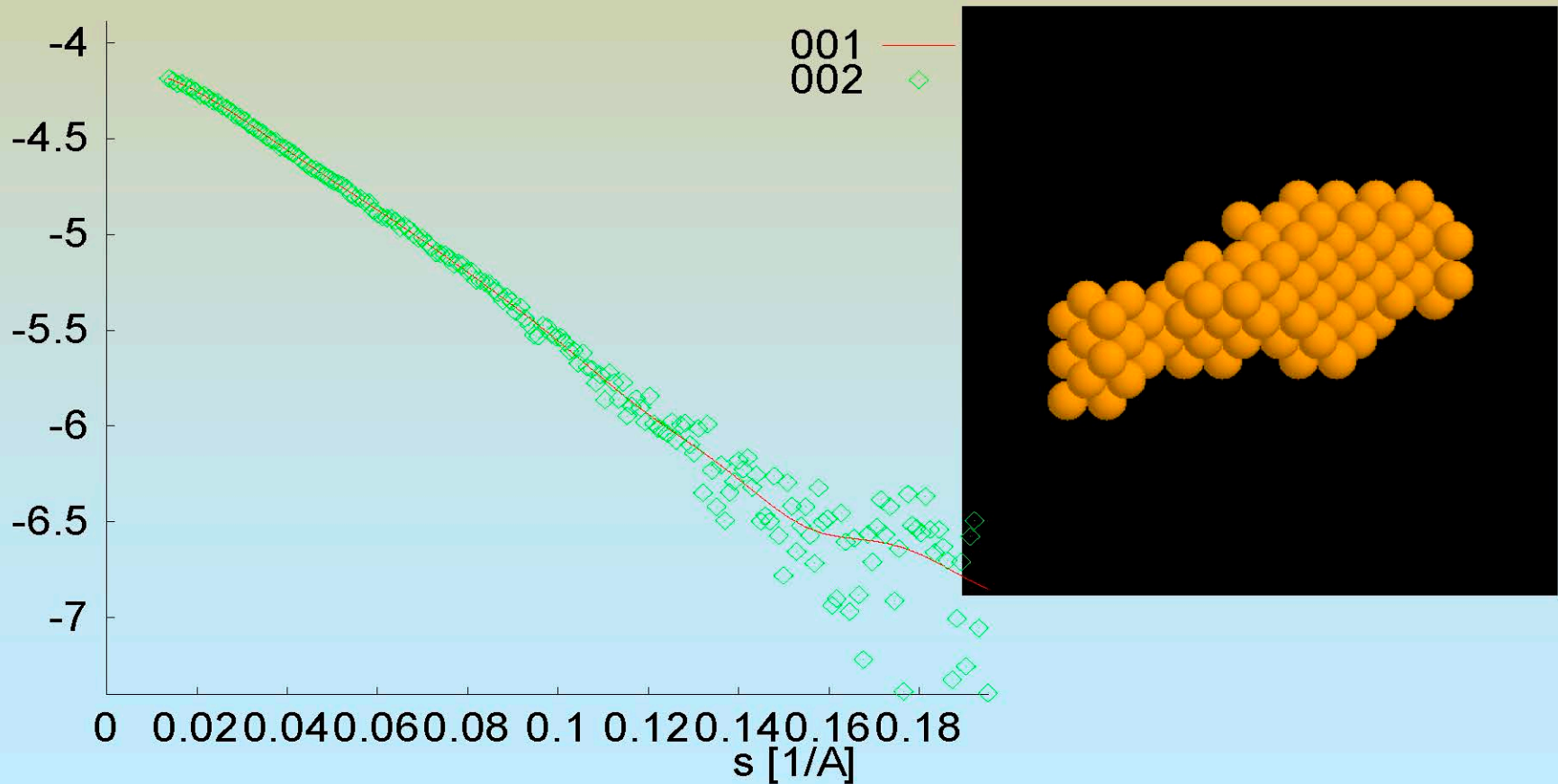
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 50 Temperature = 0.573E-05 Chi= 1.05



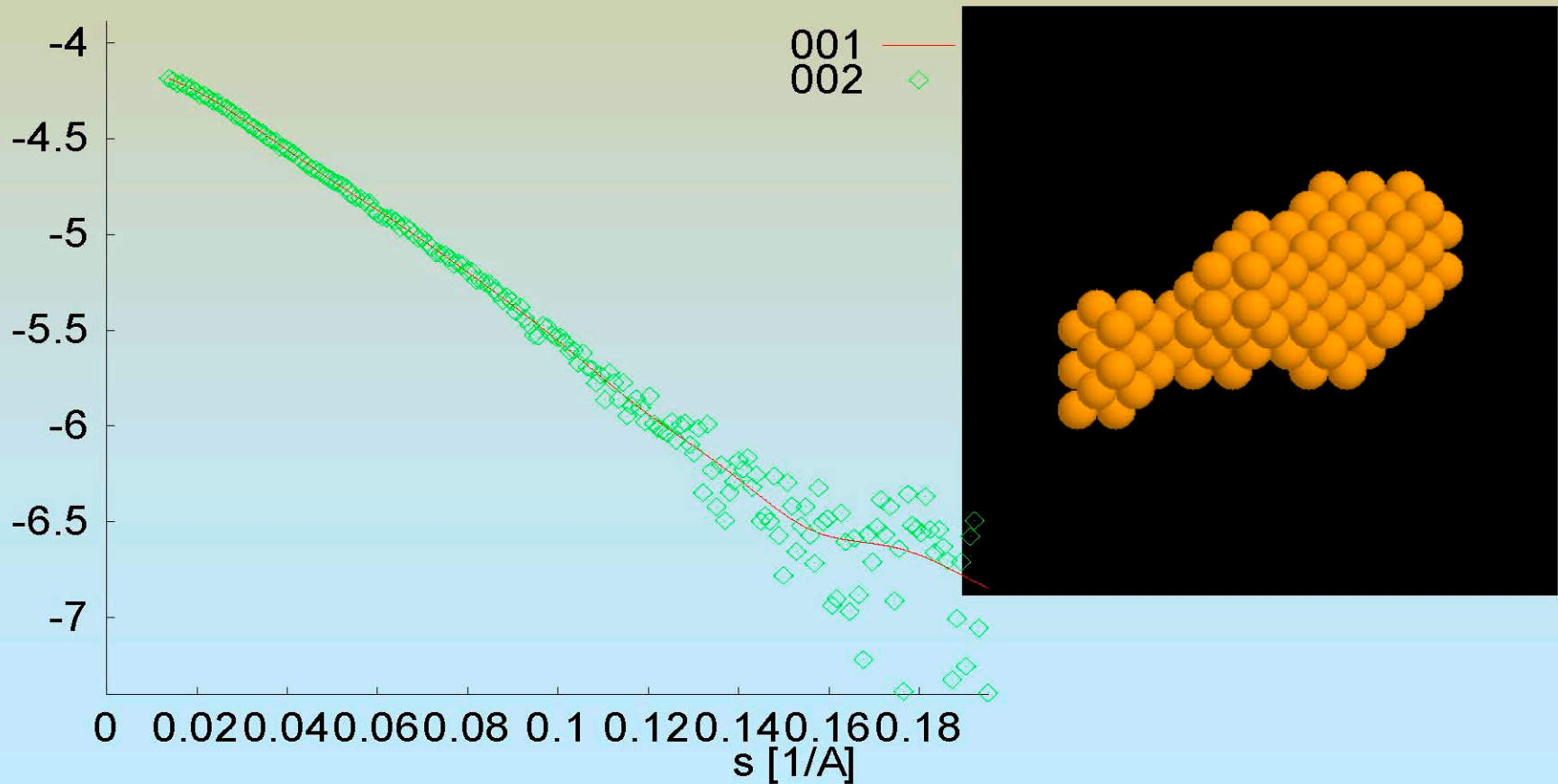
Case study: determination of structure of the myosin head S1

Step 60 Temperature = 0.200E-05 Chi= 1.04

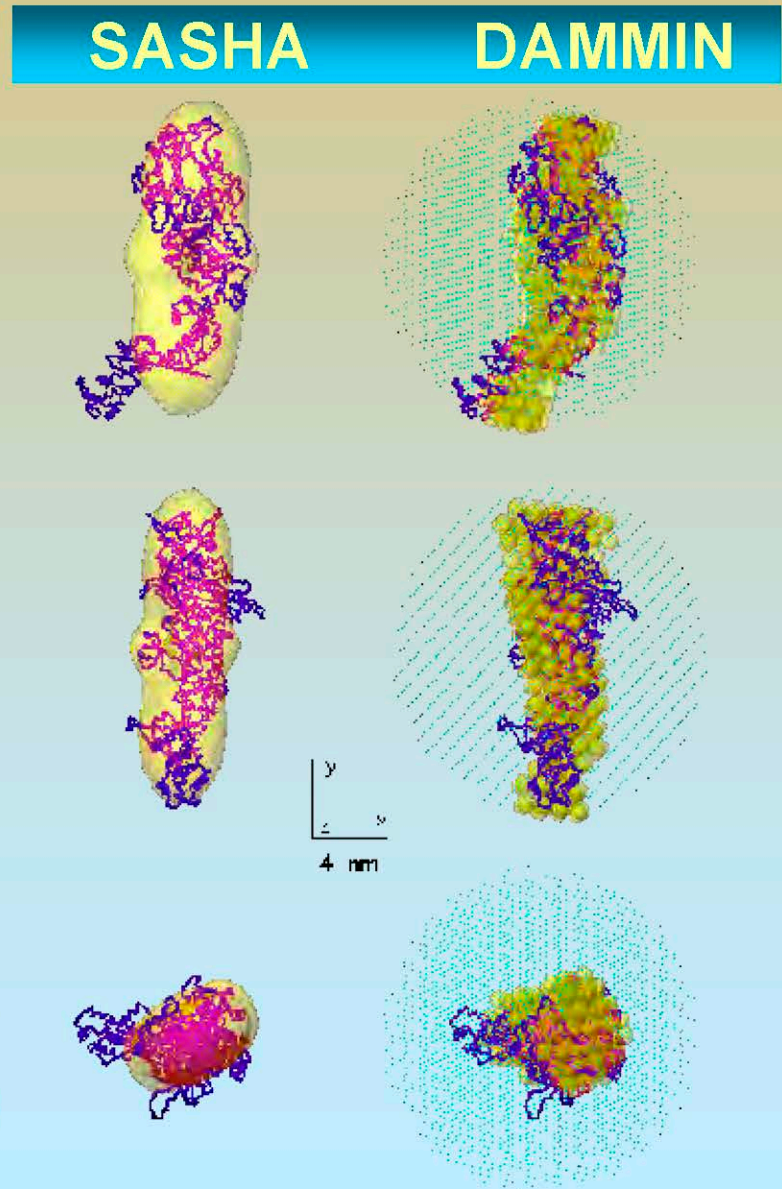
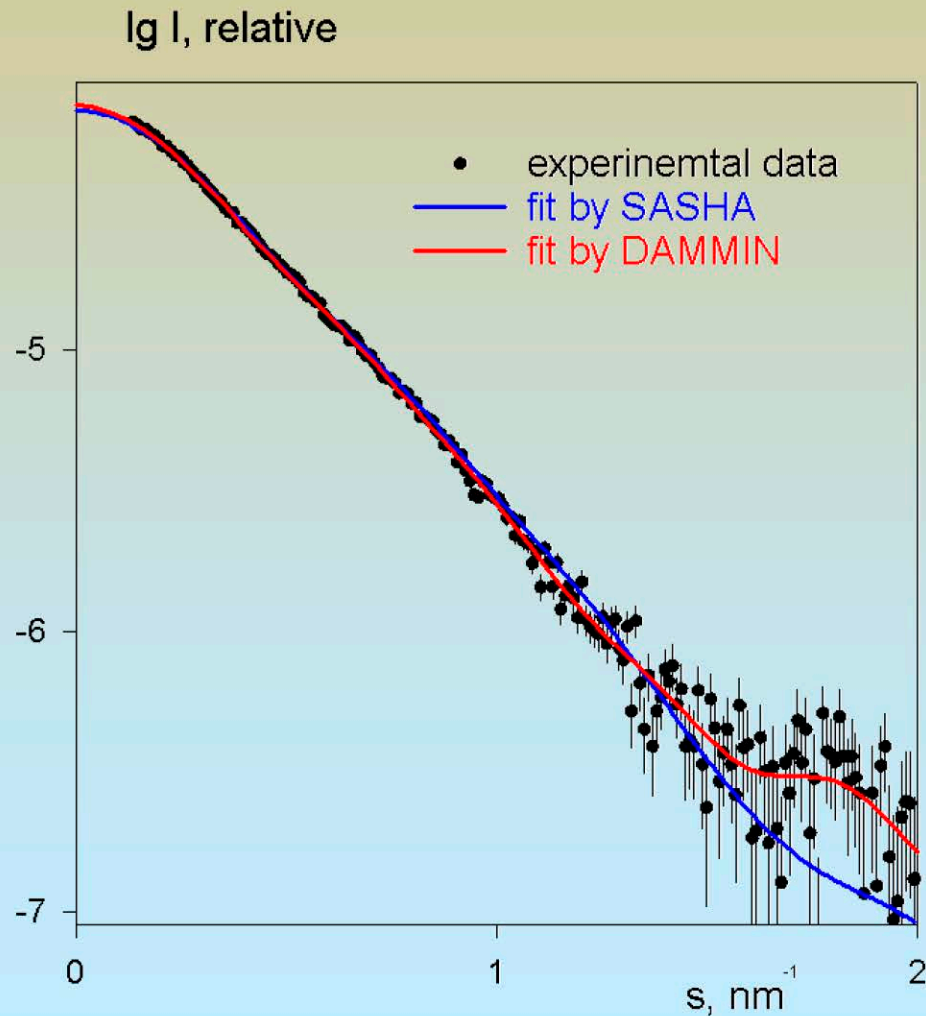


Case study: determination of structure of the myosin head S1

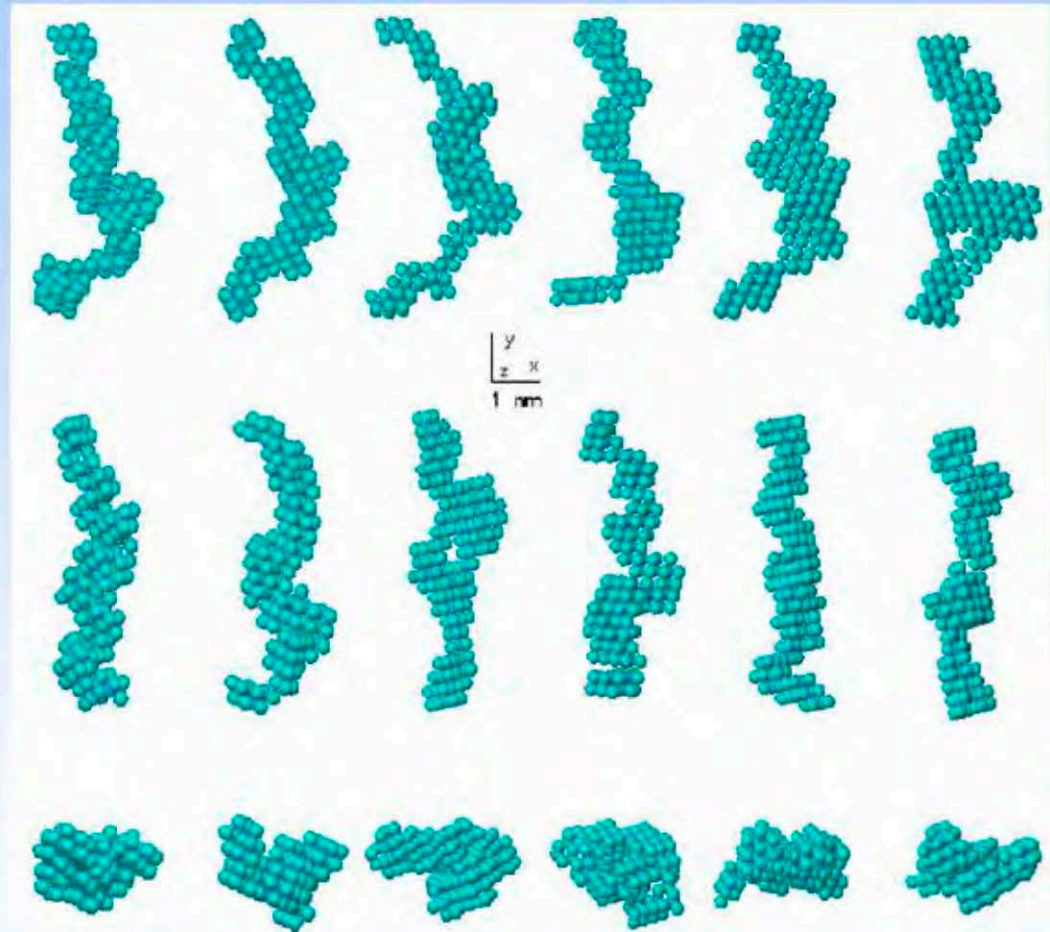
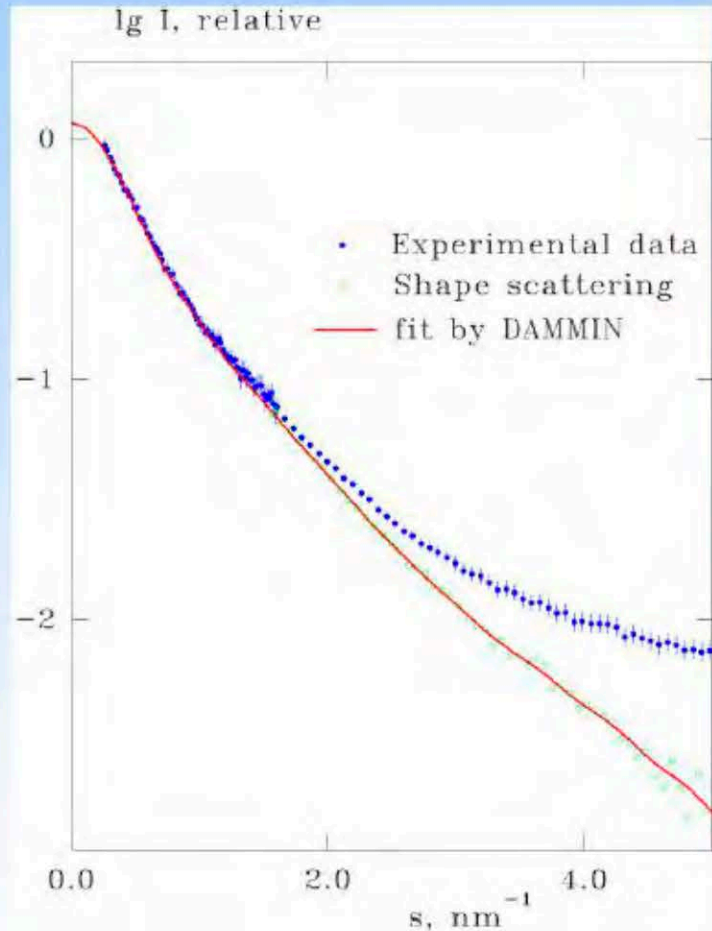
Step 64 Temperature = 0.131E-05 Chi= 1.04



Определение структуры myosin head S1



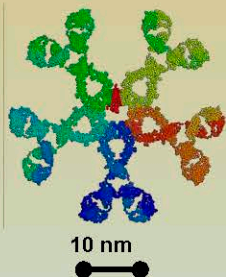
Shape determination of 5S RNA: a variety of DAMMIN models yielding identical fits



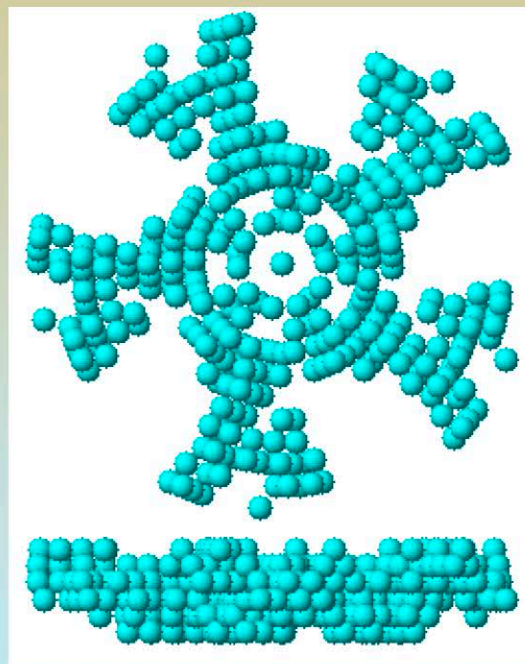
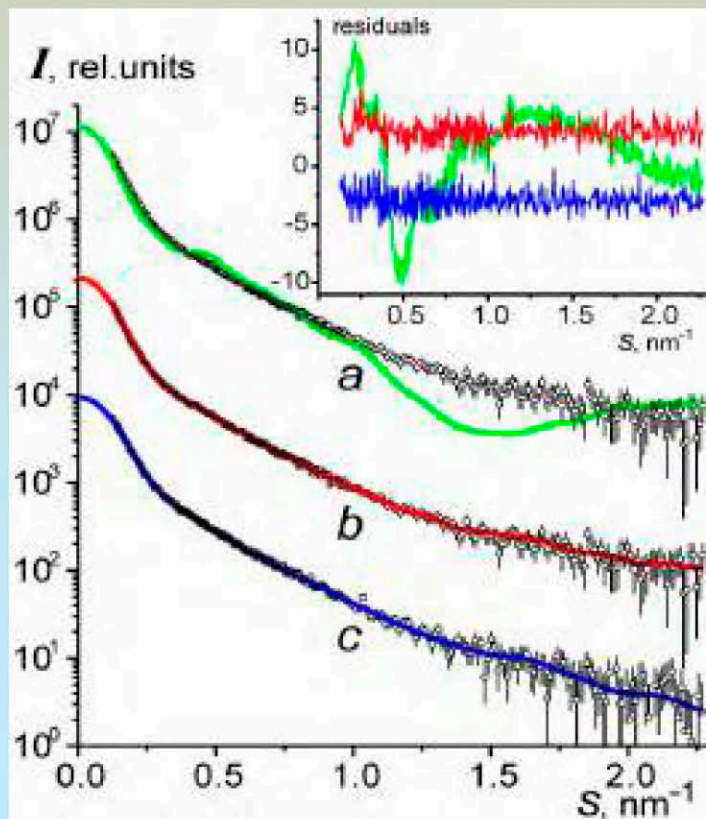
Funari, S., Rapp, G., Perbandt, M., Dierks, K., Vallazza, M., Betzel, Ch., Erdmann, V. A. & Svergun, D. I. (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 31283-31288.

Определение формы молекул белков в растворе по данным МУР: исследование иммуноглобулина М и ревматоидного фактора.

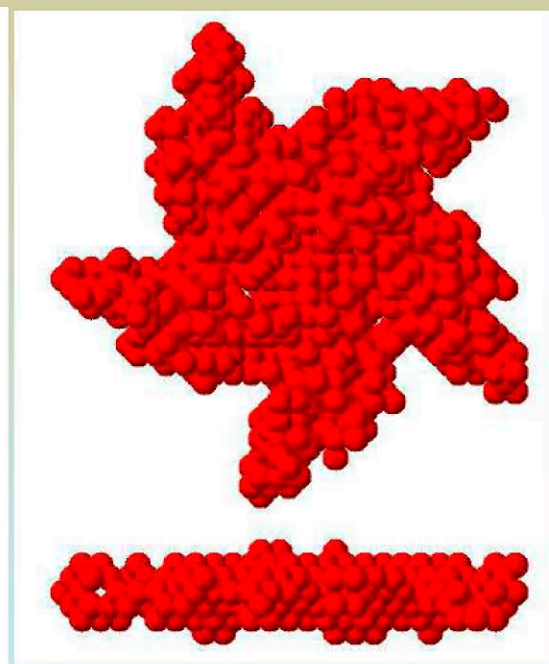
900 kDa



Опорная модель:
S.Perkins,
1991



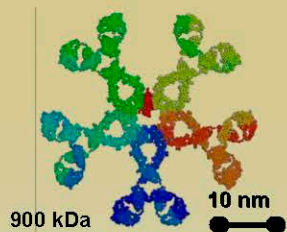
Форма молекулы
иммуноглобулина М
(эксперимент и теория -
график (b))



Форма молекулы
ревматоидного фактора
(эксперимент и теория -
график (c))

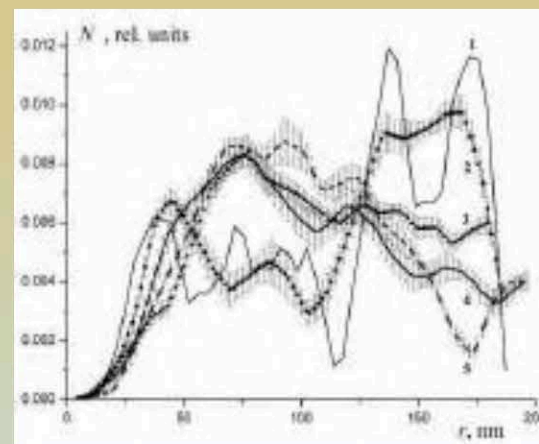
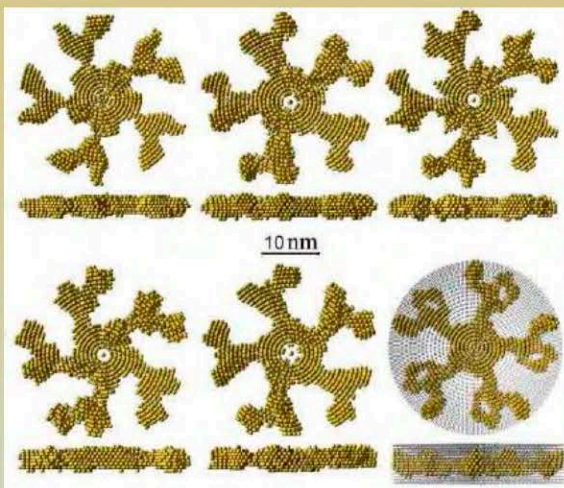
V. V. Volkov*, R. L. Kayushina*, V. A. Lapuk**, et al.
Crystallography Reports, Vol. 48, No. 1, 2003, pp. 98–105.

Иммуноглобулин M и ревматоидный фактор: промежуточный финал.



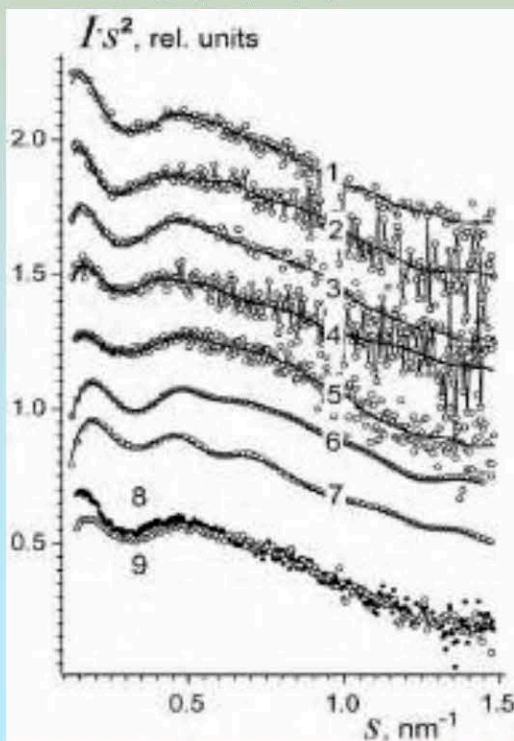
Теоретическая модель

Восстановленные модели

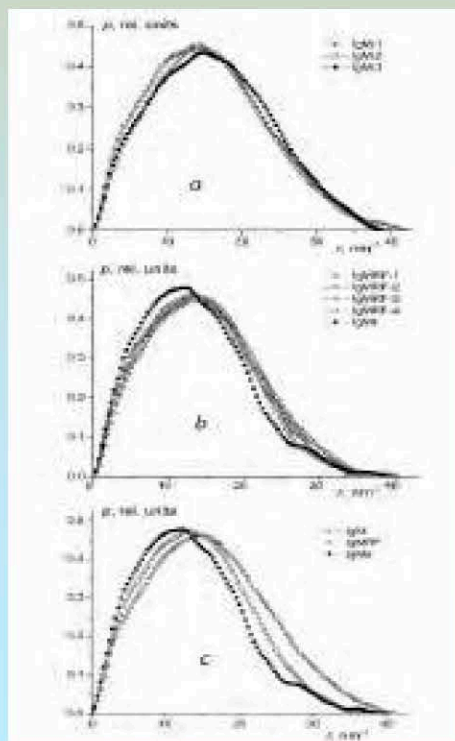


Функции радиального распределения плотности: IgMRF (4,5) показывает меньшую интегральную плотность на периферии

Экспериментальные данные (1-3): IgM, (4-7): IgMRF



Функции парных расстояний



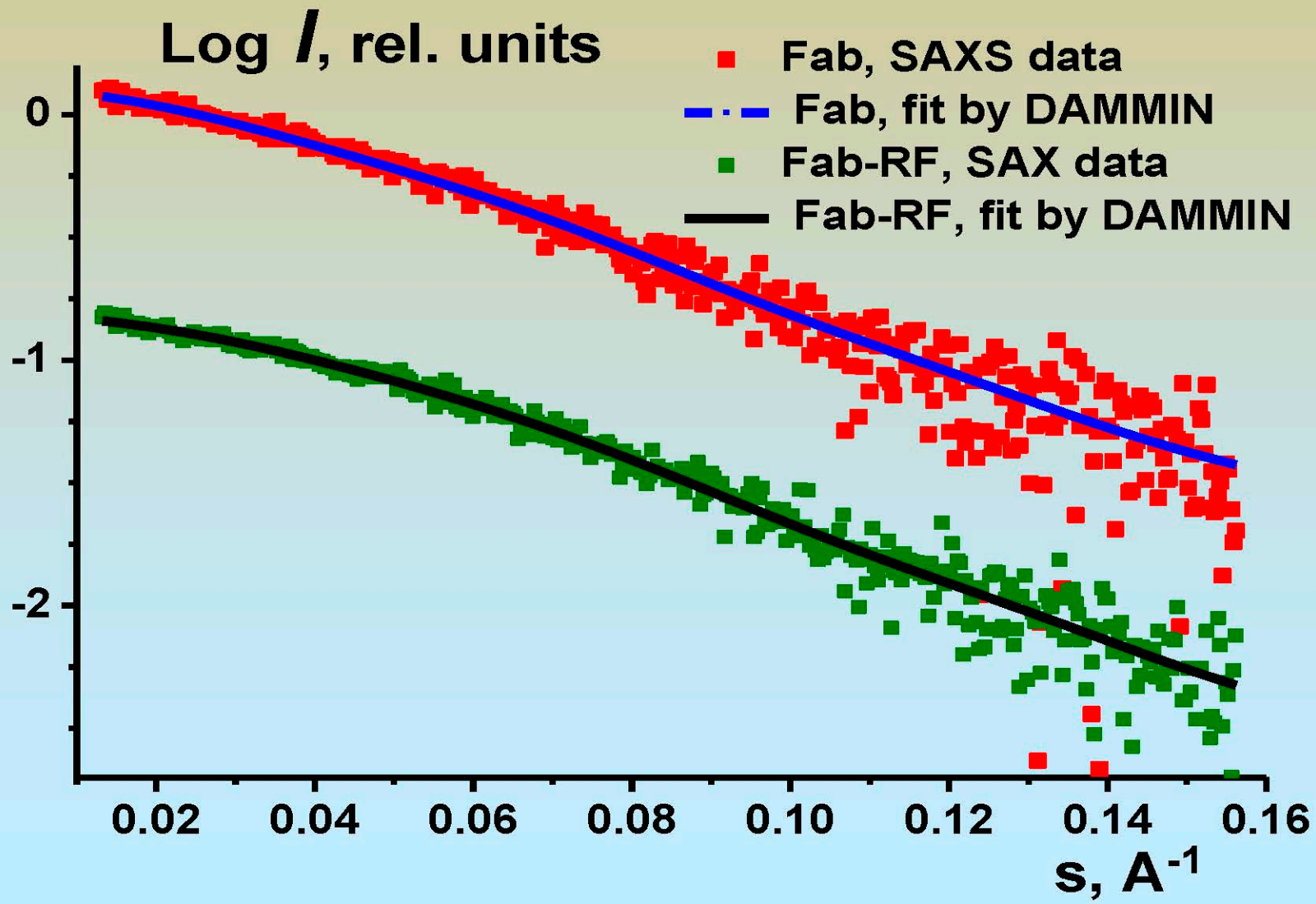
IgM

IgMRF

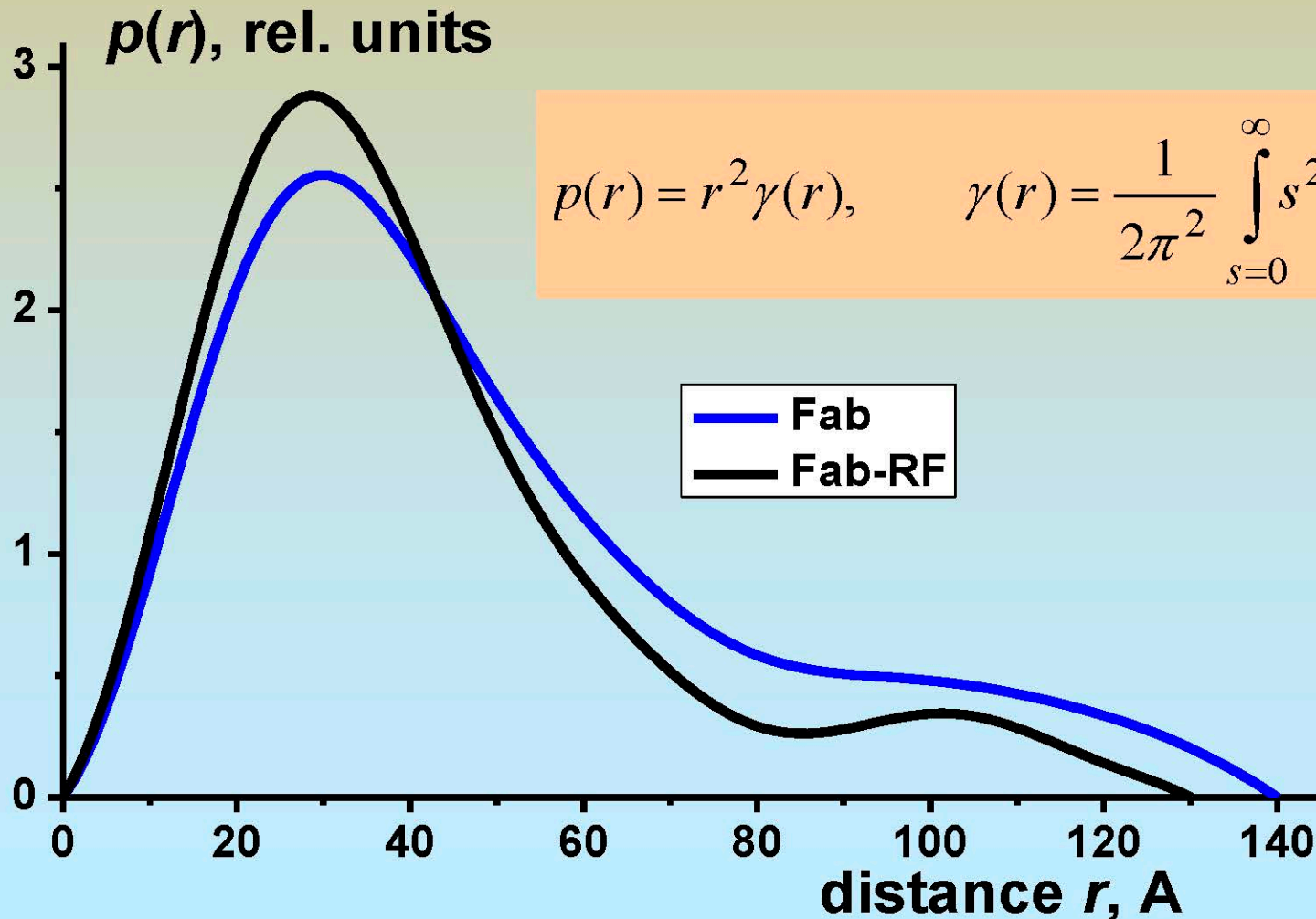
IgMRFq

Слева и справа: пара типичных решений

Данные рассеяния от растворов Fab и Fab-RF
фрагментов и модельные кривые рассеяния от
решений DAMMIN



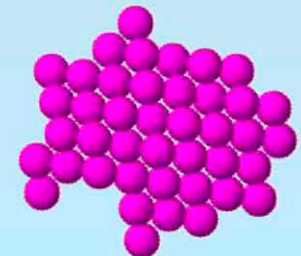
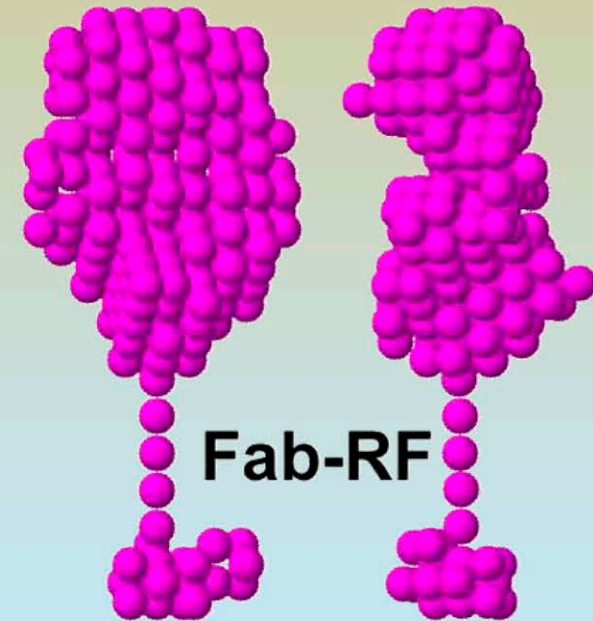
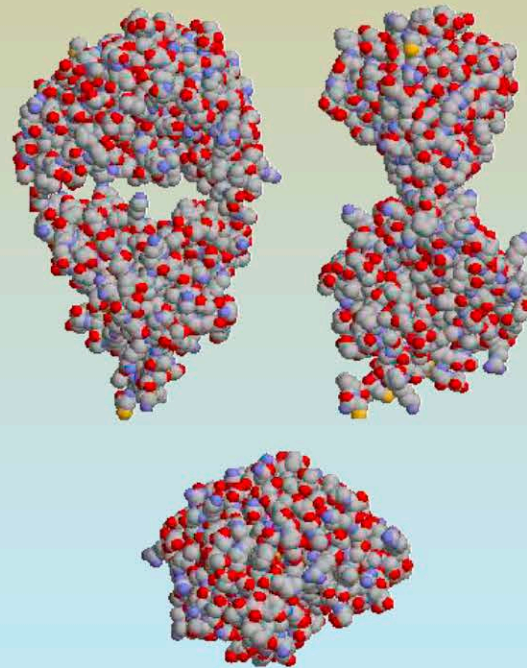
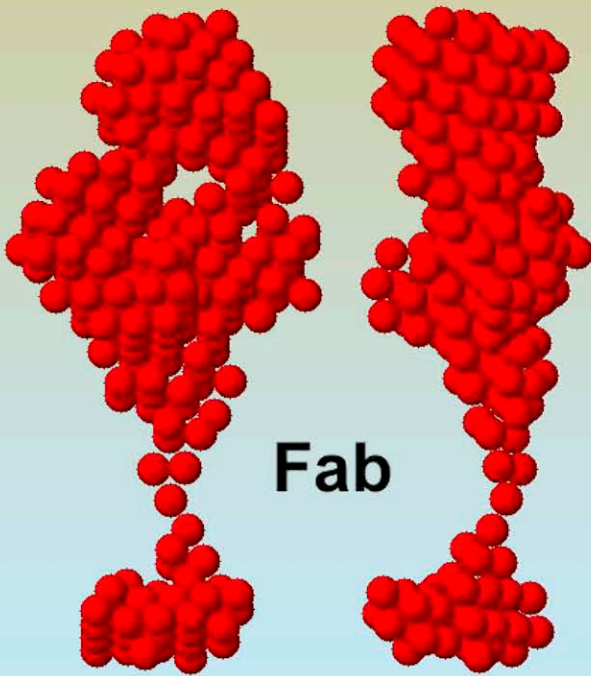
Функции распределений по расстояниям для Fab и Fab-RF фрагментов, рассчитанные по программе GNOM



$$p(r) = r^2 \gamma(r), \quad \gamma(r) = \frac{1}{2\pi^2} \int_{s=0}^{\infty} s^2 I(s) \frac{\sin(sr)}{sr} ds$$

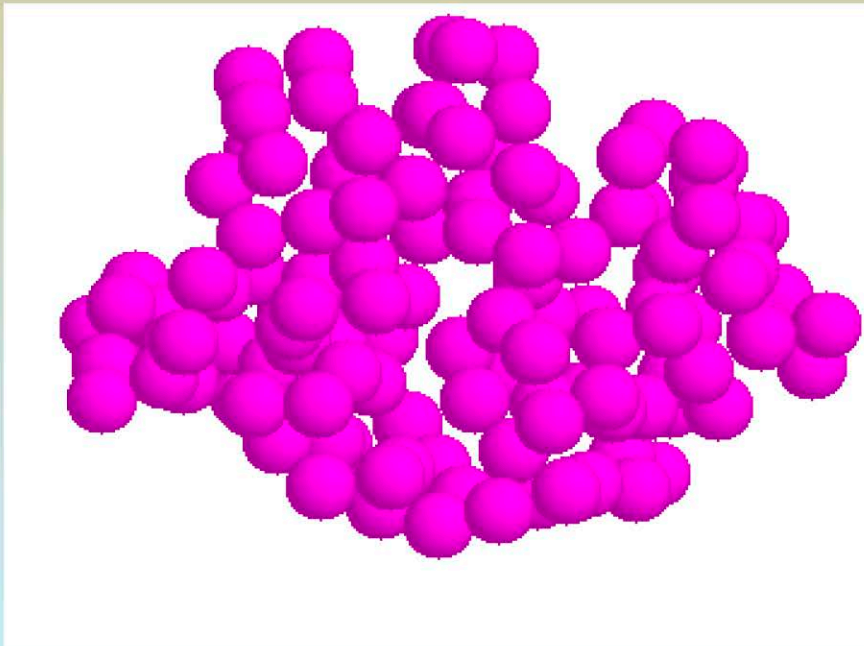
Сравнение DAMMIN моделей Fab и Fab-RF фрагментов с известной атомной структурой Fab области IgG.

[DAMMIN: Svergun, D.I. (1999) *Biophys. J.* 76, 2879-2886]



Ab initio программа GASBOR

При разрешении 0.5 нм белок строится в виде ансамбля K модельных псевдо-аминокислотных остатков, "закреплённых" в местах расположения $C\alpha$ атомов с координатами $\{r_{ij}\}$.



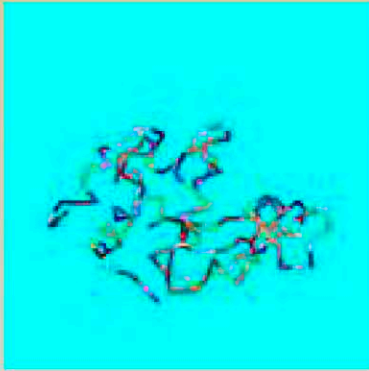
Рассеяние от модели рассчитывается по формуле Дебая

$$I_{DR}(s) = \sum_{i=1}^K \sum_{j=1}^K g_i(s) g_j(s) \frac{\sin sr_{ij}}{sr_{ij}}$$

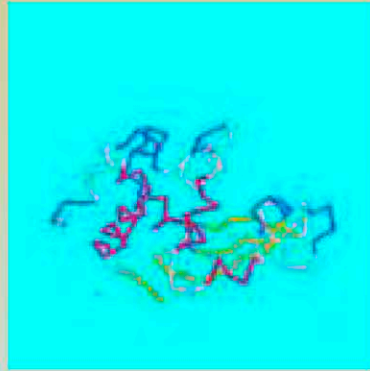
Версия программы, оптимизированная под системы PC Windows, DEC Alpha, Red Hat Linux позволяет строить модели, состоящие из 8000 остатков

Версия программы для SGI IRIX 64 и MacOSX позволяет моделировать структуры из 4000 и 2000, соответственно.

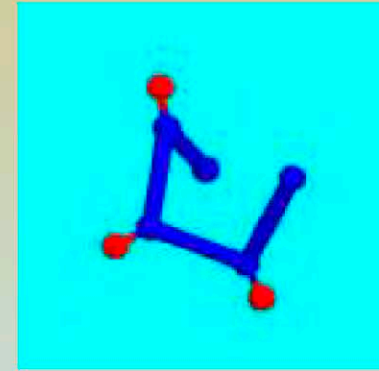
Использование дополнительной информации в GASBOR



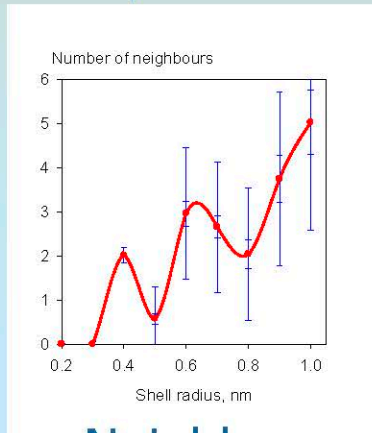
Primary
sequence



Secondary
structure



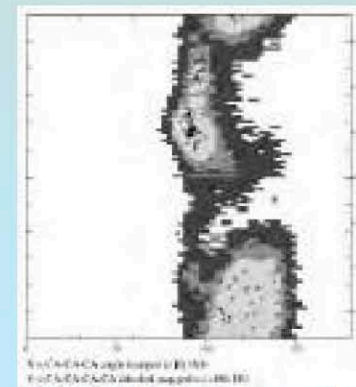
Excluded
volume



Neighbors
distribution



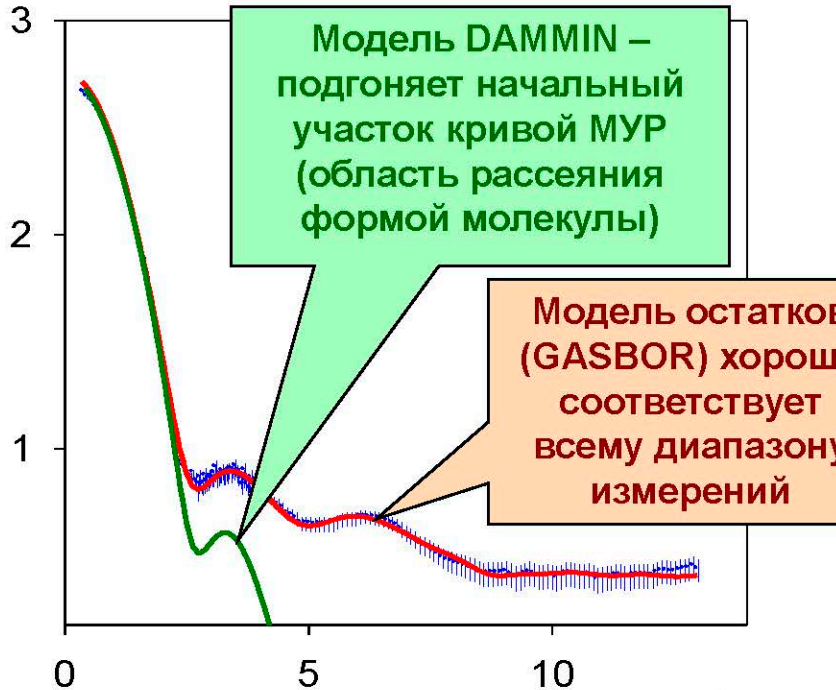
Knowledge-based
potentials



Bond angles &
dihedrals distribution

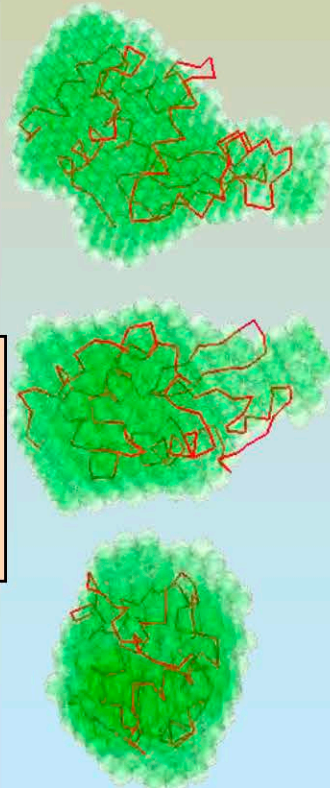
Программы DAMMIN и GASBOR: определение строения белковых молекул в растворе по данным мало- и среднеуглового рентгеновского рассеяния.

Логарифм
интенсивности

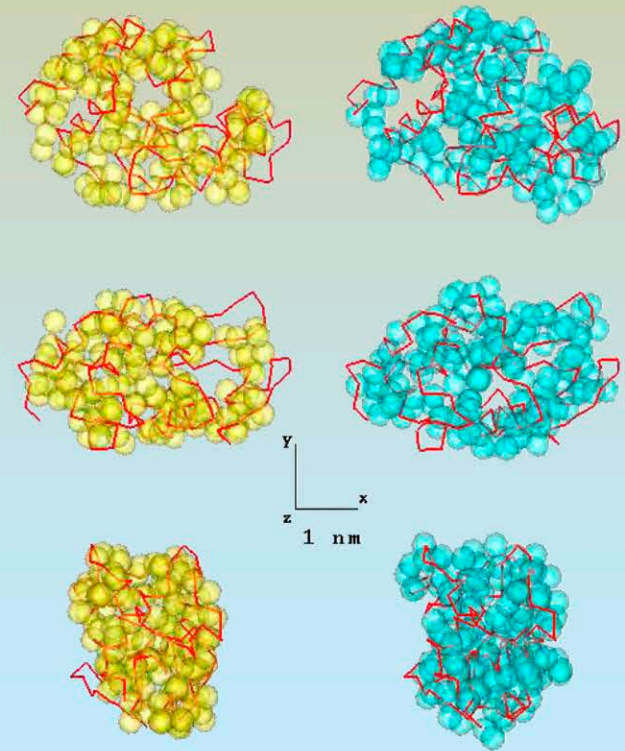


$4\pi \sin(\theta) / \lambda$, θ -угол, λ -длина волны в нм

Модель
DAMMIN
(шариковая)

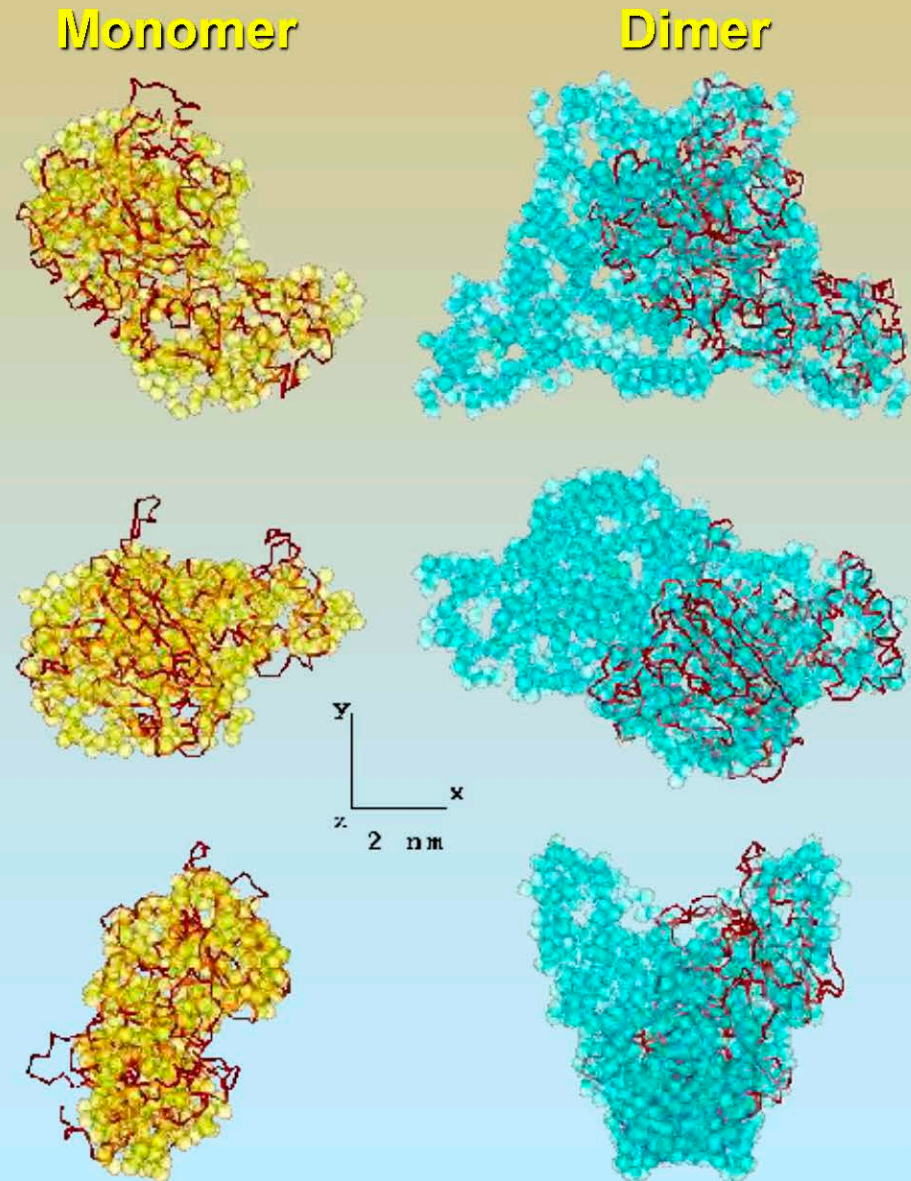
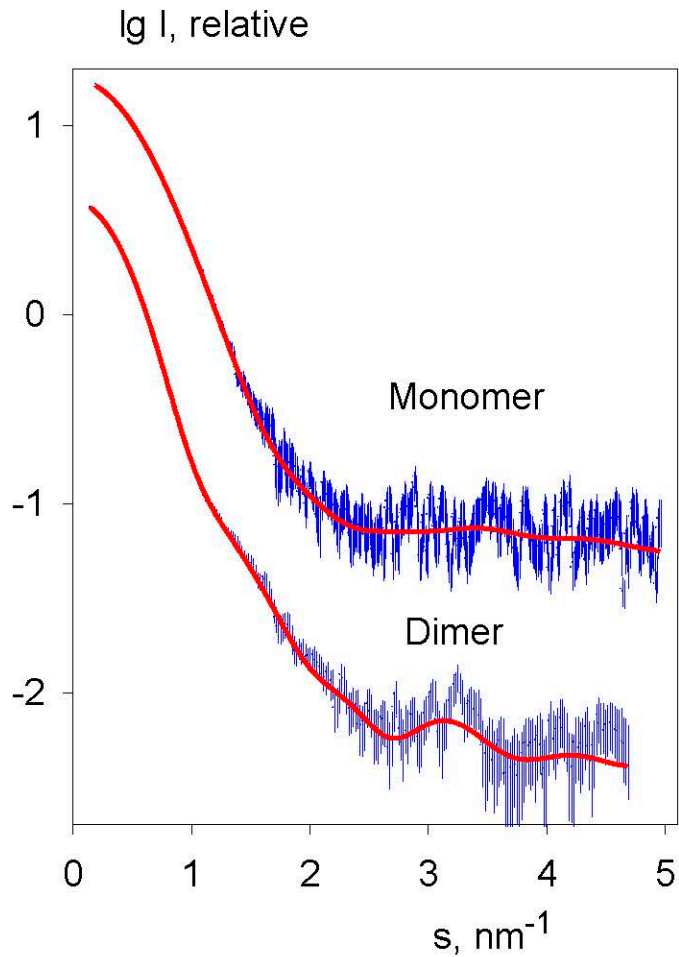


Более детальные
модели GASBOR
(из аминокислотных
остатков)



Структуры даны в трех ориентациях, для сравнения линиями показаны кристаллические модели

Программа GASBOR: восстановление структуры *yeast hexokinase* по данным рассеяния в малые и средние углы

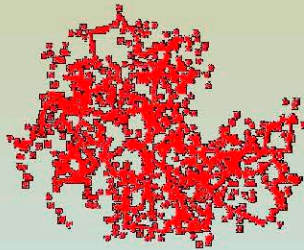


Методы, использующие модели высокого разрешения в качестве дополнительной информации

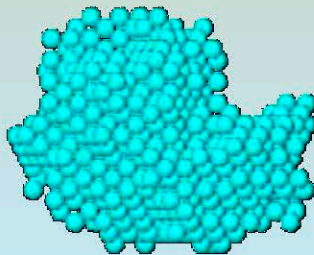
- моделирование жёсткими телами (rigid body refinement)
- проверка и уточнение моделей, структура которых предсказана различными методами или моделей, полученных методом рентгеновской кристаллографии
- добавление подвижных небольших петель или доменов

Программный пакет CRY SOL/CRYSON: расчет рассеяния от атомной структуры макромолекул в растворе

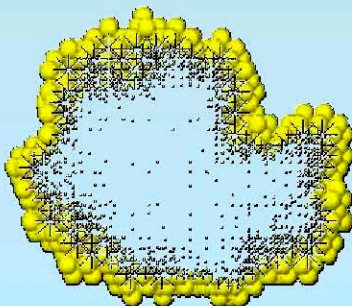
$$I(\mathbf{s}) = \left\langle |A(\mathbf{s})|^2 \right\rangle_{\Omega} = \left\langle |A_a(\mathbf{s}) - \rho_s A_s(\mathbf{s}) + \delta\rho_b A_b(\mathbf{s})|^2 \right\rangle_{\Omega}$$



- $A_a(\mathbf{s})$: атомное рассеяние в вакууме

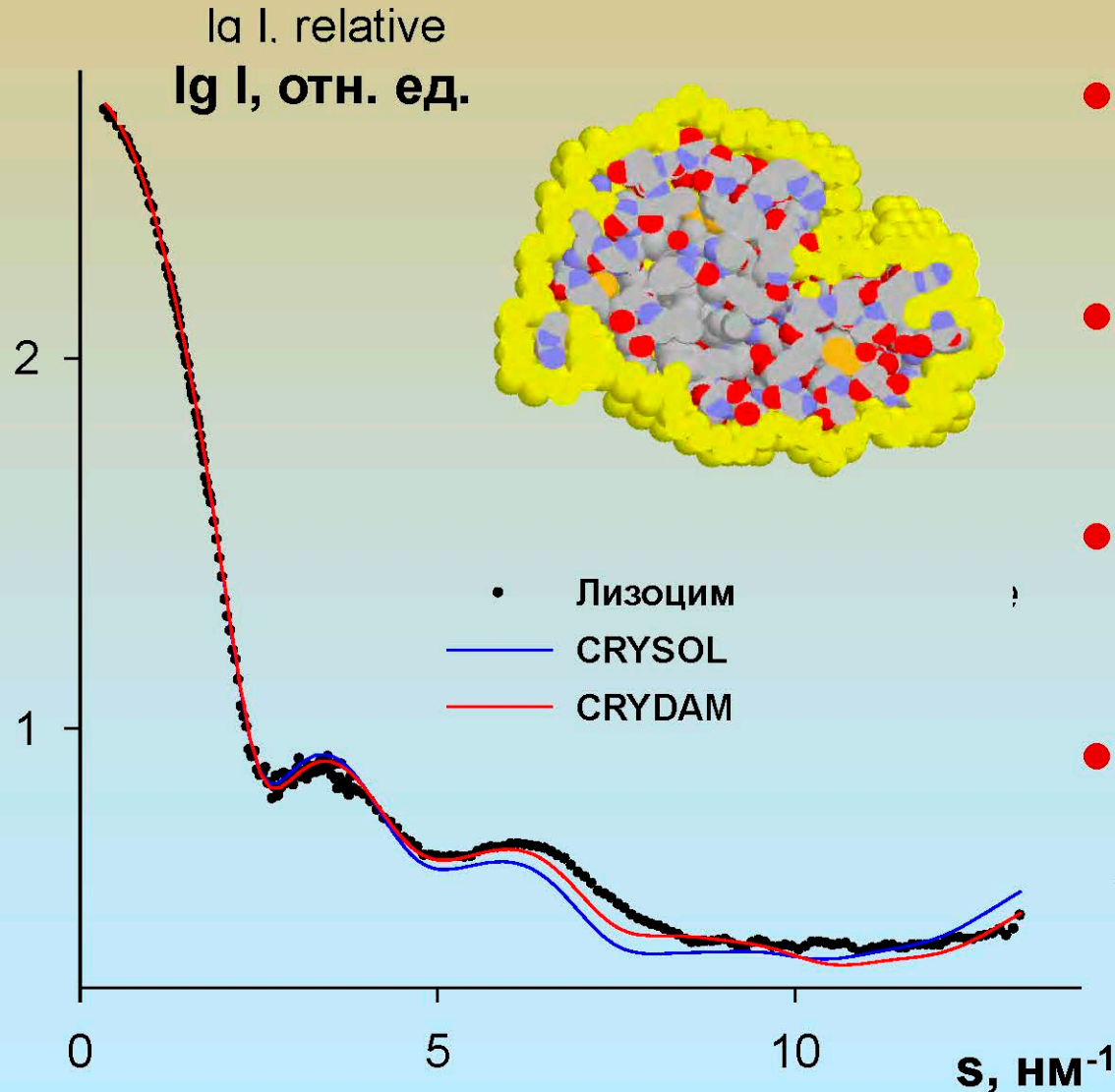


- $A_s(\mathbf{s})$: рассеяние исключенным объемом



- $A_b(\mathbf{s})$: рассеяние гидратной оболочкой

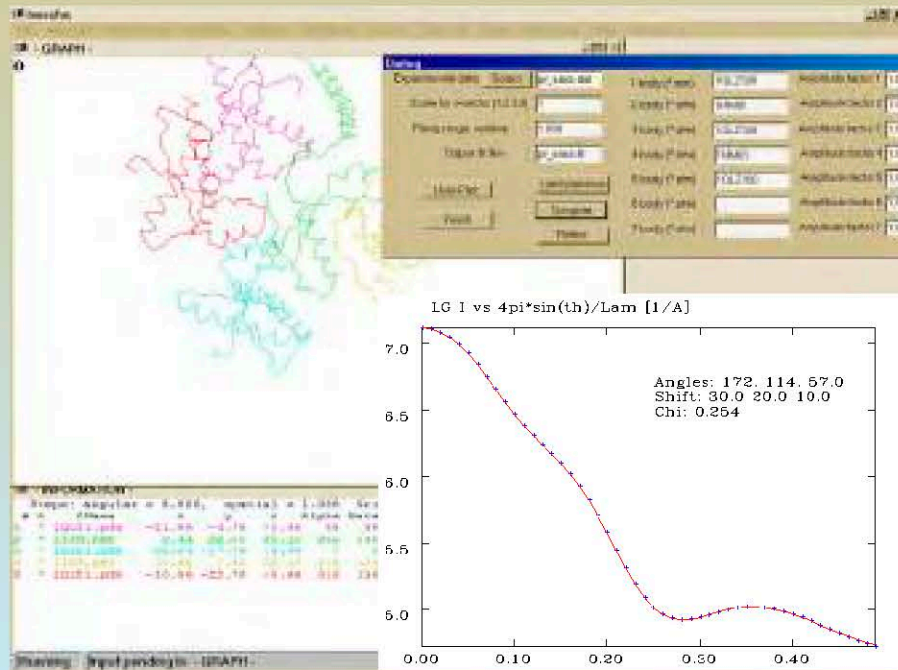
Программа CRYDAM: представление структуры шариками разных типов



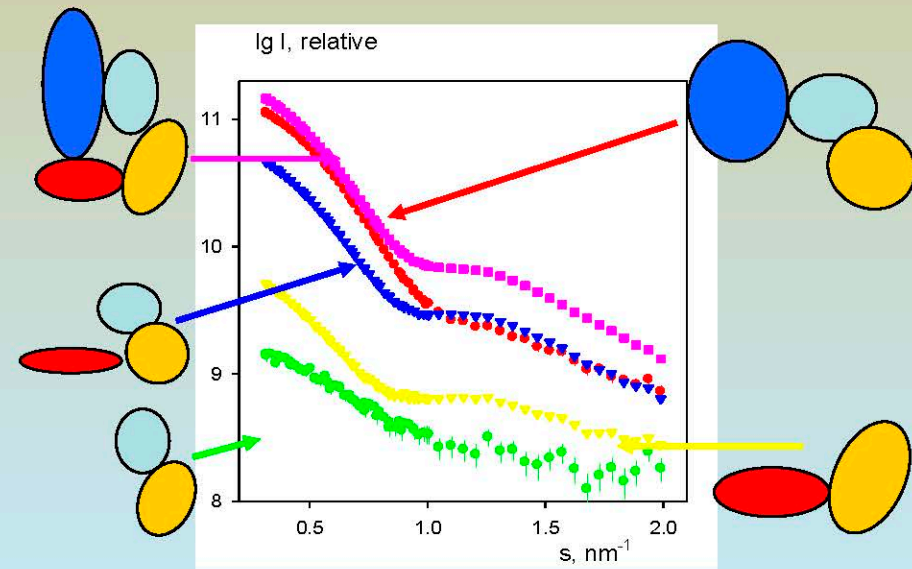
- Учитывает гидратный слой на поверхности молекулы
- Вычисляет профили рентгеновского и нейтронного рассеяния
- Моделирует структуры белков, нуклеиновых кислот и их комплексы
- Применима для широкого диапазона углов рассеяния

"Метод движения твёрдых тел" rigid body refinement

MASSHA/ASSA (interactive search)



SASREF (automated search, multiple data sets)



P.V. Konarev, M.V. Petoukhov & D.I. Svergun
(2001). *J. Appl. Cryst.* **34**, 527-532

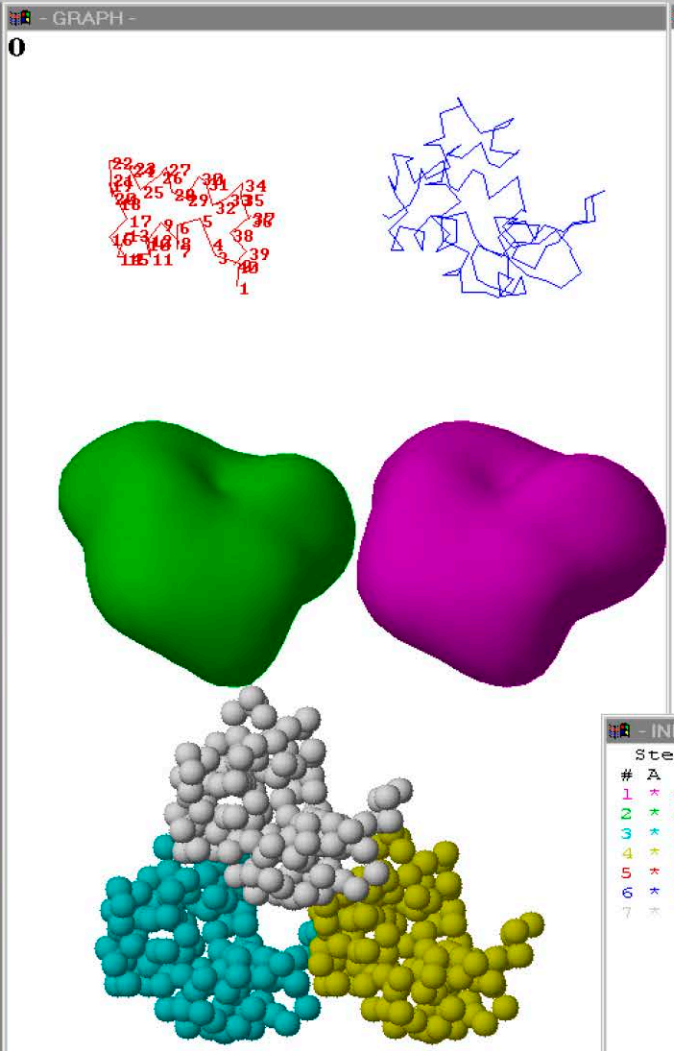
Petoukhov, M. V. & Svergun, D. I.
(2005). *Biophys. J.* **89**, 1237-1250

Программа MASSHA: интерактивный и автоматизированный поиск структур белков в растворе из фрагментов

MASHCONT
File Add body Remove body Dimer intensity Options Zoom+ Zoom- Reset Help

- GRAPH -

0



Help Window

The Calculation of model scattering curve as well interactive rigid body refinement is provided by DIMER INTENSITY Dialog box. The curve is plotted in a separate window. For this purpose the scattering amplitudes of the subunits must be precalculated and saved on the current directory onto the files with the same names as the structure files with the extension "alm". This is performed by the program "FLM2ALM" for SLD-objects and by the program "CRYSOL" for PDB-objects.

The procedure is started from DIMER INTENSITY Dialog box where one has to predefine several important parameters. The meaning of the first 4 asked parameters:

Dialog

X0-center Alpha Absolute shift
 Y0-center Beta Relative shift
 Z0-center Gamma Apply
 Residue Active Body Cancel

currently plotted fit

5,7. The *.alm files of the first and the second subunits of dimer complex

6,8 The Multipliers for the contribution from the first and the second of the dimer complex.

- INFORMATION -

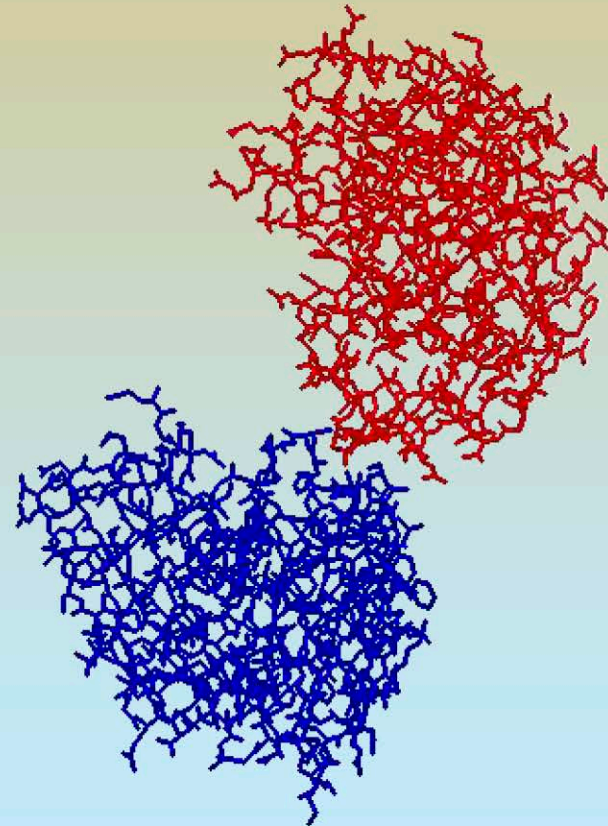
Steps: angular = 5.000, spatial = 1.000 Grid = 20.00

#	A	fName	x	y	z	Alpha	Beta	Gamma	nCen	nAtom
1	*	a.sld	-47.00	10.26	-4.11	0	29	0	0	0
2	*	a.sld	-89.83	10.26	-7.86	0	4	0	0	0
3	*	fixed.pdb	-89.65	-50.25	-7.86	0	4	0	0	129
4	*	fixed.pdb	-59.76	-50.25	-5.24	0	9	0	0	129
5	*	fixed1.pdb	-94.15	59.39	-14.26	0	14	0	0	40
6	*	fixed.pdb	-49.80	59.75	-4.37	0	4	0	0	129
7	*	fixed.pdb	-79.69	-30.25	-6.98	0	4	0	0	129

Running | Input pending in - GRAPH -

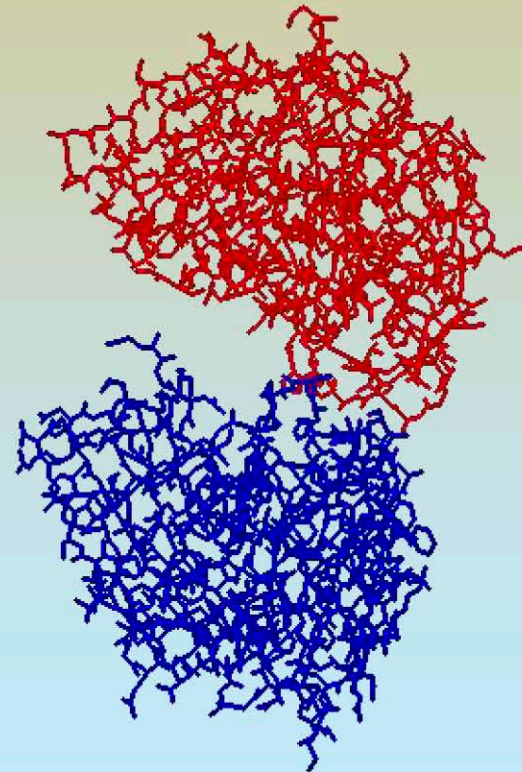
"Метод движения твёрдых тел" rigid body refinement

- Атомная структура каждой из двух субъединиц известна.
- Комплекс произвольной архитектуры может быть построен с помощью перемещения и/или вращения одной из субъединиц.
- Параметры, определяющие структуру модели: эйлеровы углы вращения и три координаты.



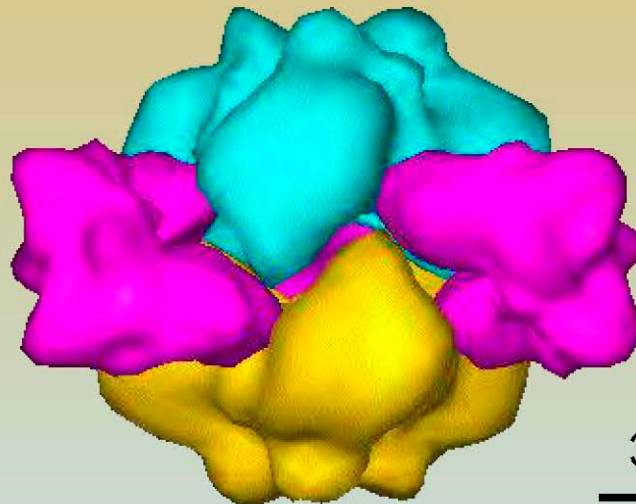
"Метод движения твёрдых тел" rigid body refinement

- Атомная структура каждой из двух субъединиц известна.
- Комплекс произвольной архитектуры может быть построен с помощью перемещения и/или вращения одной из субъединиц.
- Параметры, определяющие структуру модели: эйлеровы углы вращения и три координаты.



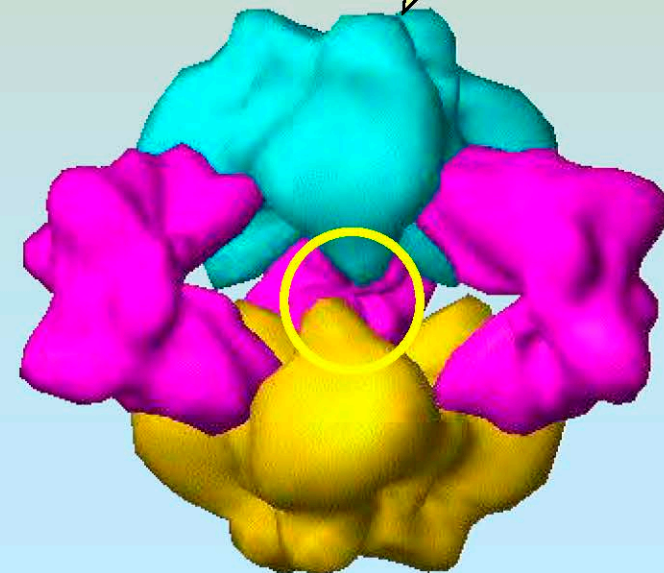
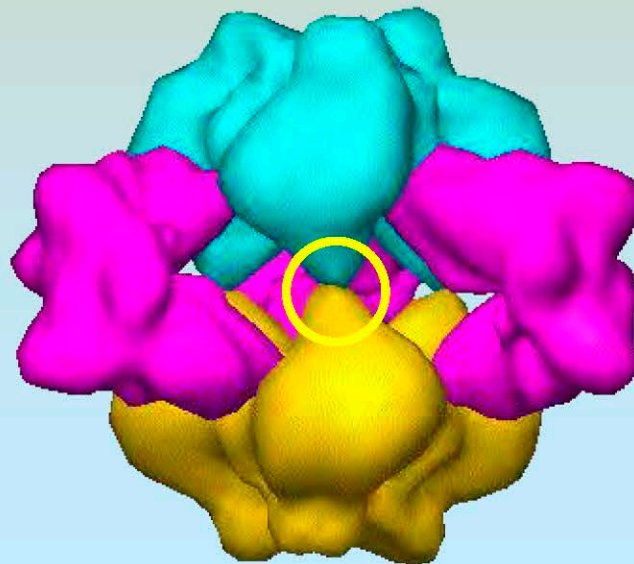
Коррекция кристаллических структур для раствора: структура аспартат транскарбамилазы

Структура молекулы неактивной формы АТС (Т), найденная по кристаллографическим данным, совпадает с результатами МУР.



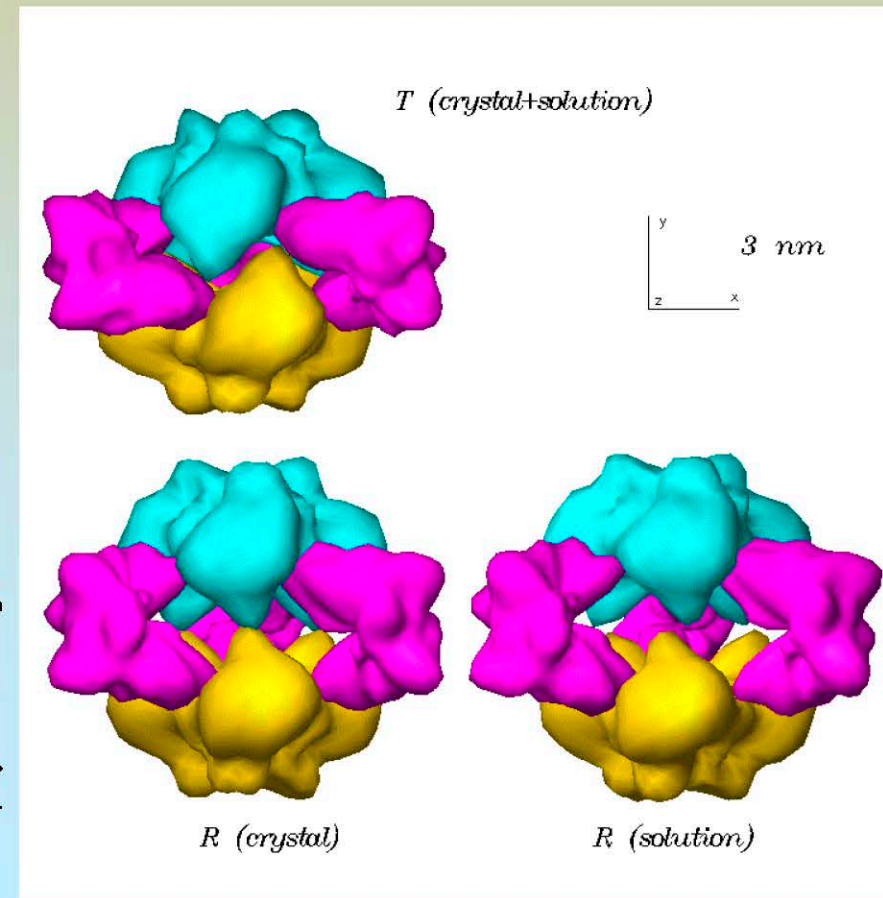
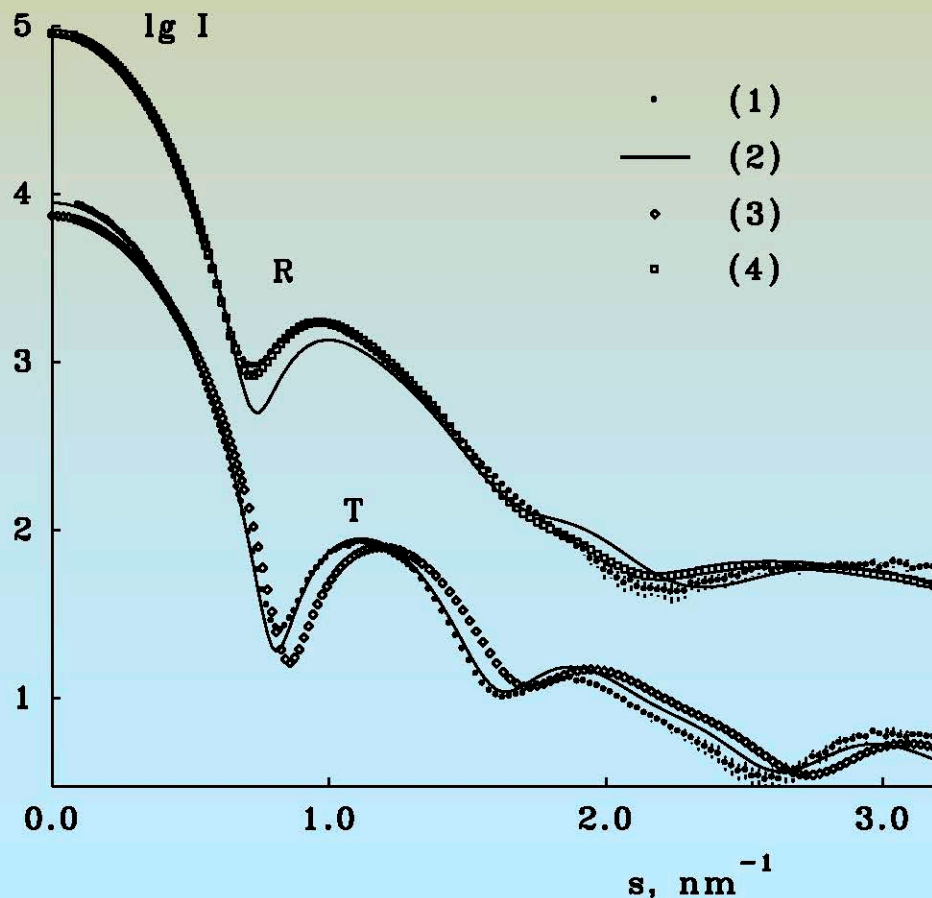
Структура активной формы (R) АТС, уточненная по данным МУР

Структура молекулы активной формы (R), найденная по кристаллографическим данным.

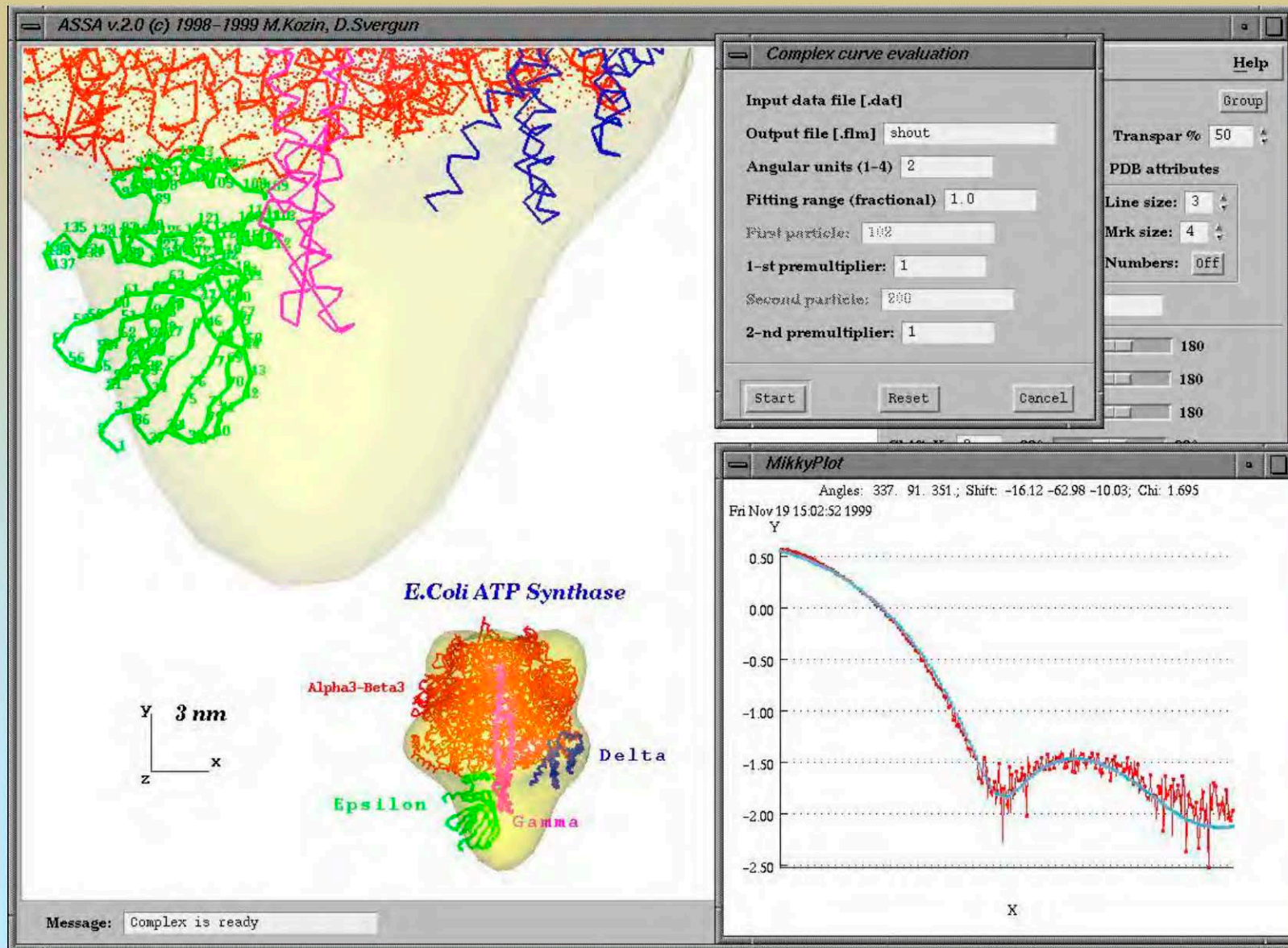


Коррекция кристаллических структур для раствора: структура аспарат транскарбамилазы

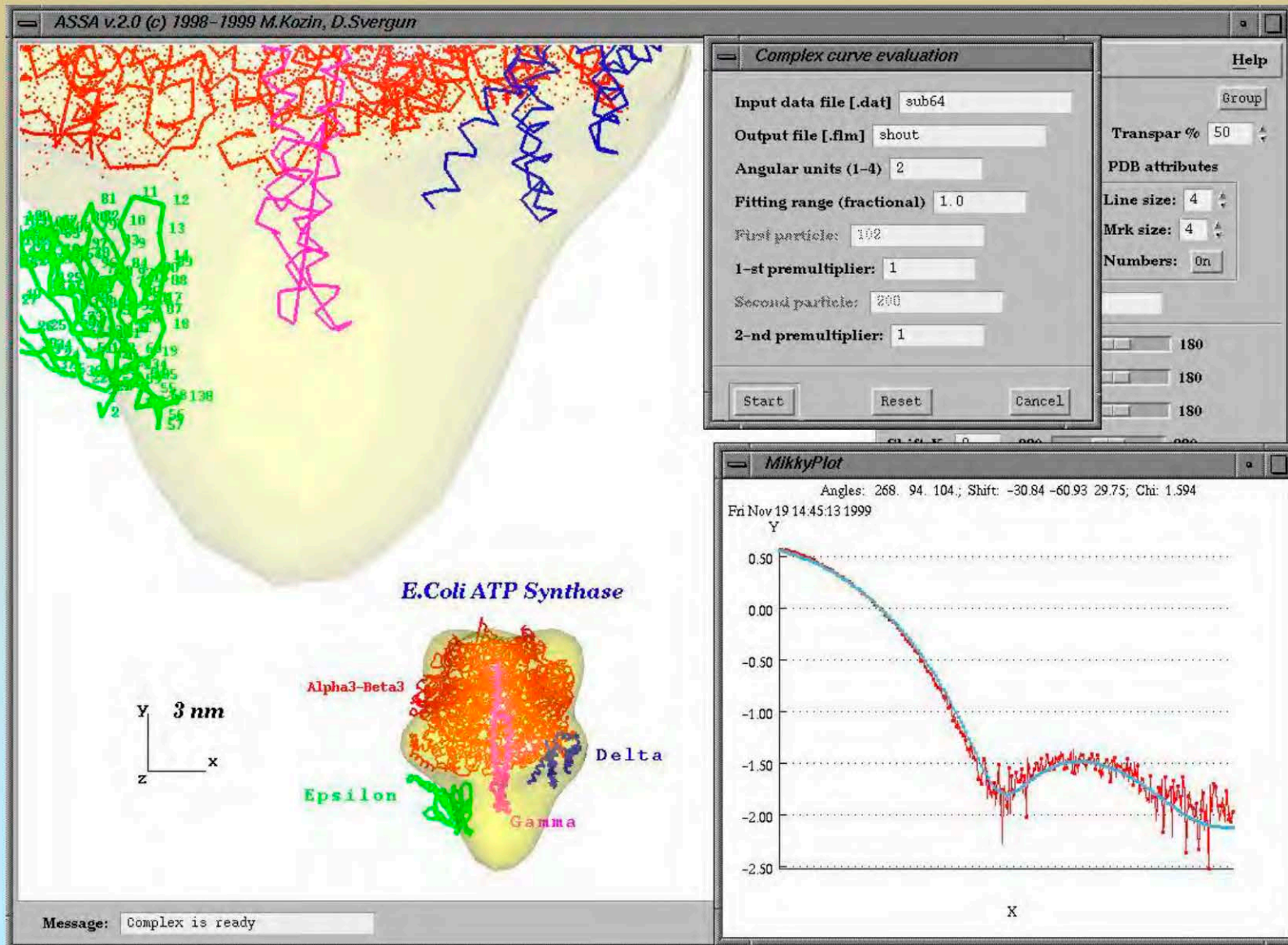
Packing forces in the crystal restrict the allosteric transition in aspartate transcarbamylase



Позиционирование ϵ субъединицы F-ATP synthase по данным малоуглового рассеяния

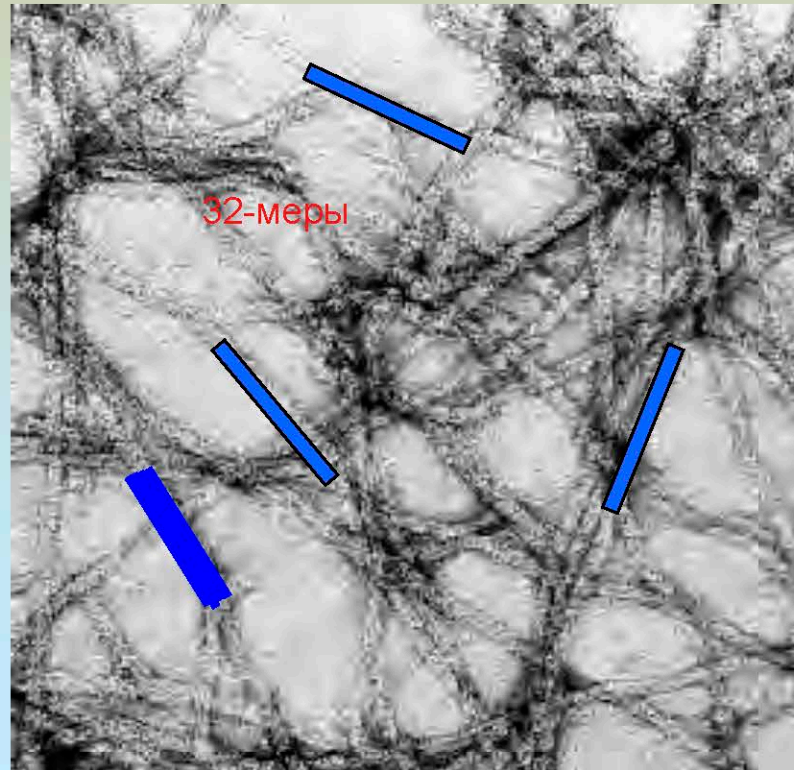


Позиционирование ε субъединицы F-ATP synthase по данным малоуглового рассеяния

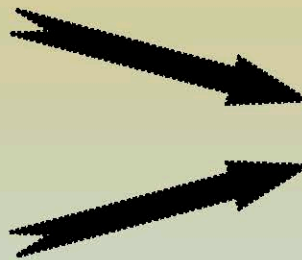
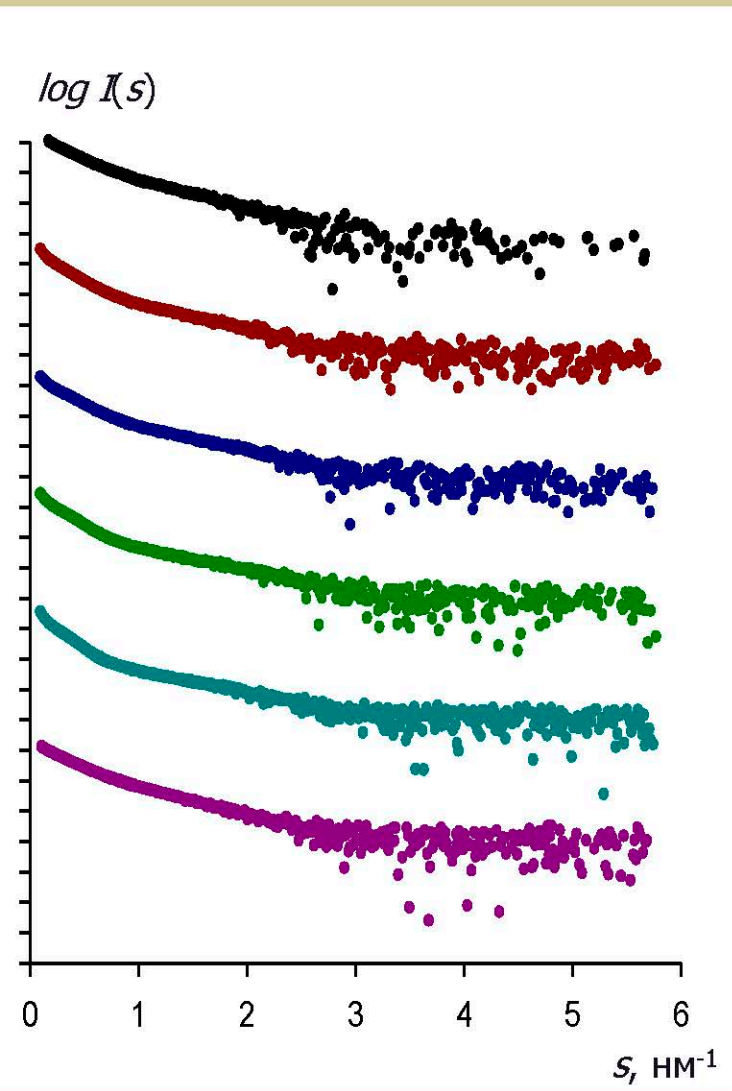


Промежуточные филаменты (ПФ) цитоскелета эукариот

ПФ включены в состав разветвленной филаментной сети, которая вовлечена в различные клеточные процессы, такие как перемещение и деление.

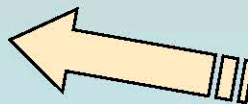


Стратегия обработки данных рассеяния растворами виментина в диапазоне концентраций белка от 2.1 до 17 мг/мл при pH = 7.0, 7.5 и 8.4 с добавлением NaCl от 0 до 160 мМ



Оценка эффективной
молекулярной массы: поиск
монодисперсных растворов
(тетрамер, октамер, 32-мер).

Построение моделей
соответствующих олигомеров.



Анализ смесей:

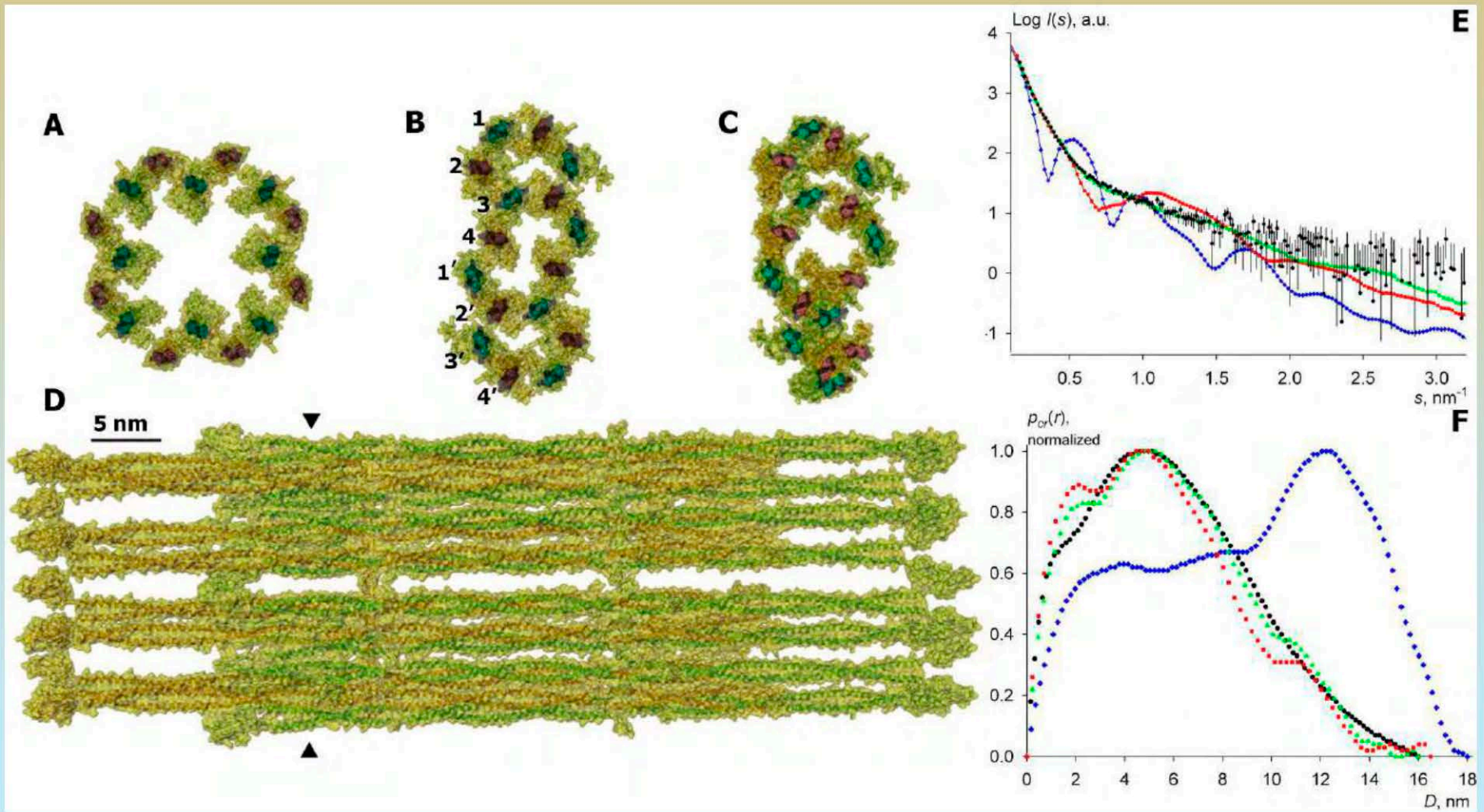
$$I(s) = \sum_k v_k I_k(s)$$

- определение доли каждого структурного ансамбля;
- сравнение функций распределения по расстояниям в поперечном сечении $\rho_{cr}(r)$, рассчитанных для каждой кривой.

Критерий сходства:

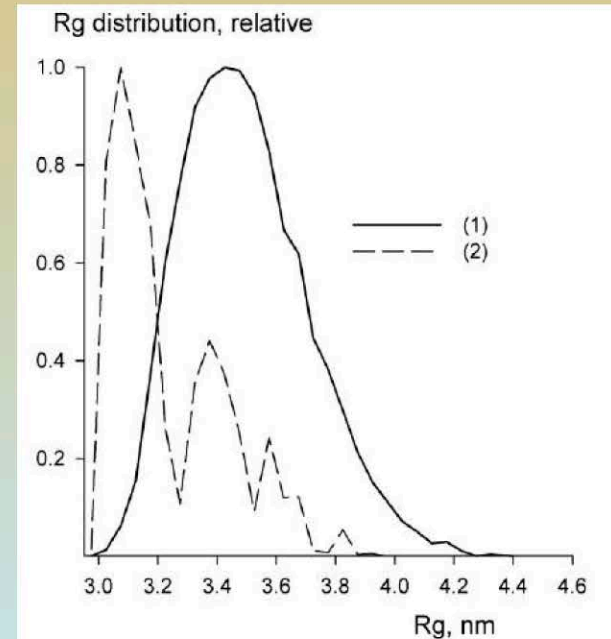
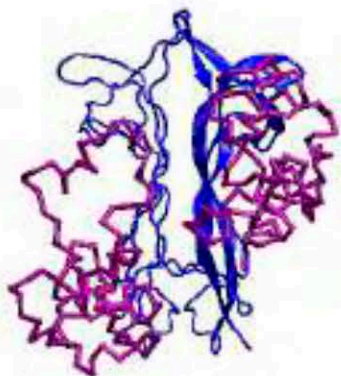
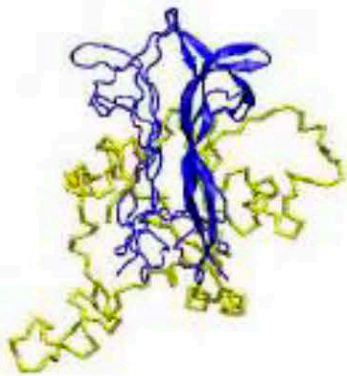
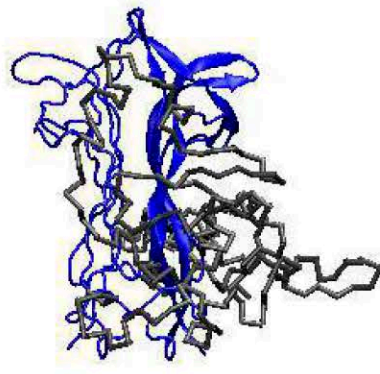
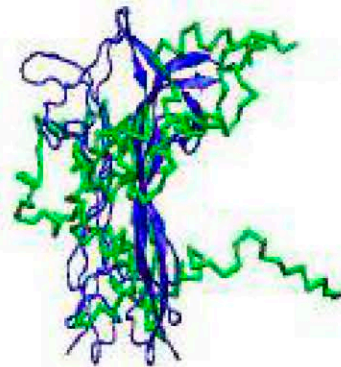
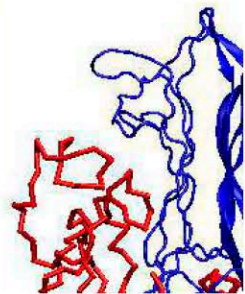
$$\chi^2 = \frac{1}{N-1} \sum_j \left[\frac{I(s_j) - I_{\text{exp}}(s_j)}{\sigma(s_j)} \right]^2$$

Модели 32-мера: пробные и финальная



«Ensemble optimization Method» (EOM)

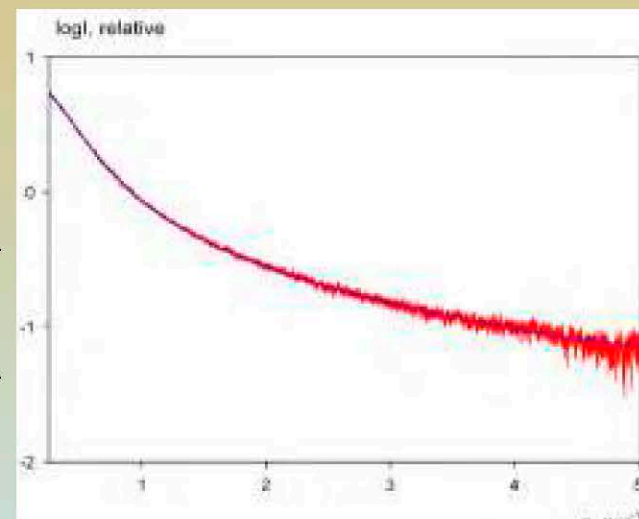
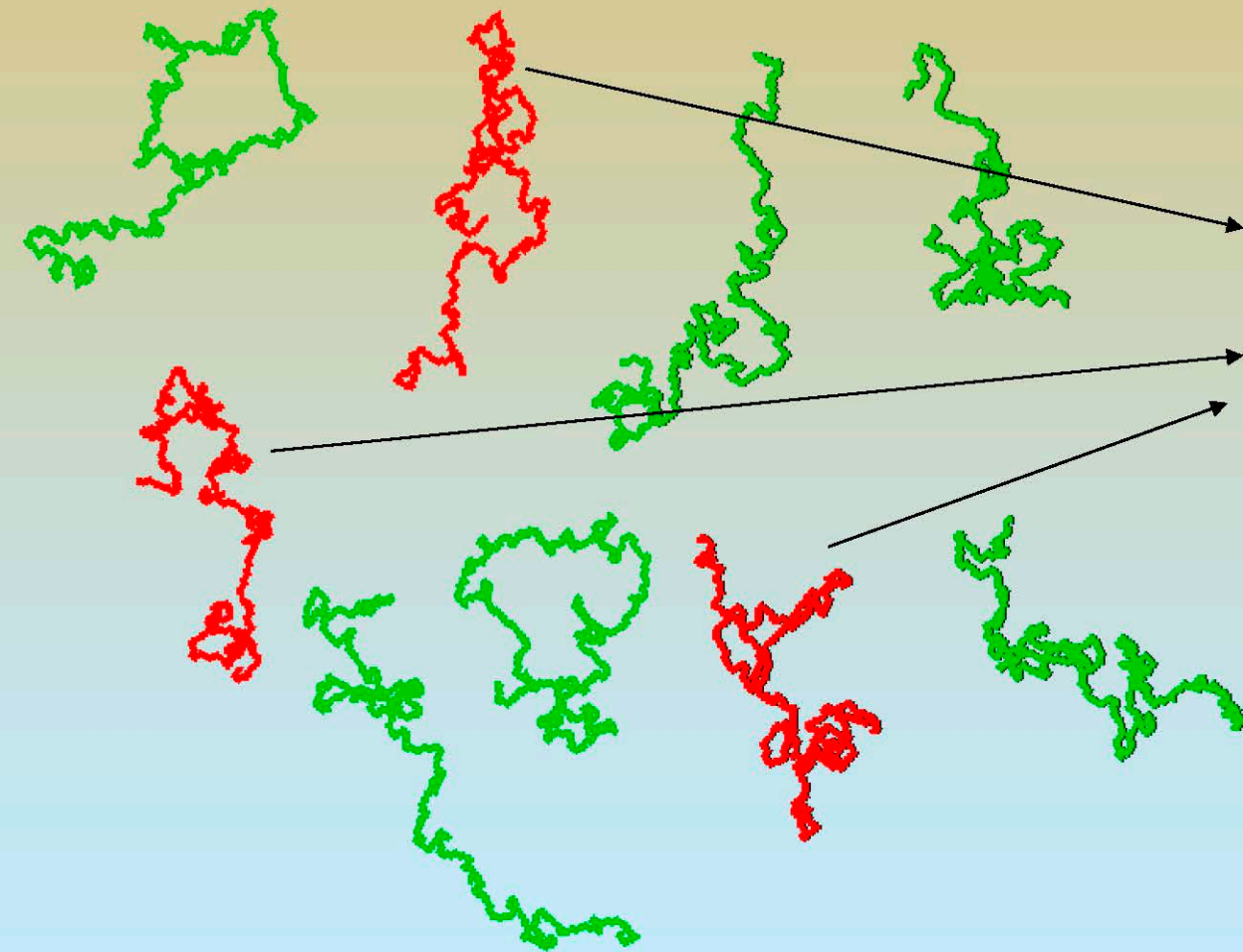
Структурная организация *mouse proNGF*



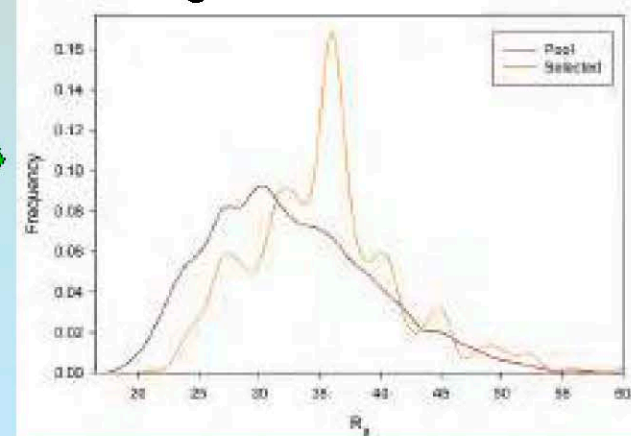
Доля компактных структур в оптимизированном ансамбле (с Rg в пределах 3.0 - 3.2 нм) около 70 %, тогда как доля развернутых структур (Rg 3.3 - 3.8 нм) не более 30%.

F. Paoletti, S. Covaceuszach, P.V. Konarev, E. Schwarz, D.I. Svergun, A. Cattaneo, & D. Lamba (2008) *Proteins* submitted

«Ensemble optimization Method» (EOM)



Rg distribution



P. Bernado, E. Mylonas, M. V. Petoukhov, M. Blackledge & D. I. Svergun (2007)
JACS, 129, 5656-5664