新規構造の解析マニュアル

武部克希

新規の蛋白の結晶構造に得られ、これを X 線を用いて構造解析を行う方法です。 今回用いる物は主に CCP4 と wincoot を使います。 どちらも商業的に用いなければ、フリーのソフトです。

まず CCP4 を立ち上げるとこの様な画面になります。



次に Wincoot と立ち上げると、この様な画面になります。



今回はこれらのソフトを使っていきたいと思います。

まず得られた sca Data を mtz データに変えよう思います。

sca データとは蛋白の結晶から得られたイメージデータを denzo で積分して、scalepack でスケーリングをした結果のことです。

1 🖓 🛙	↓ = 1		make_a_cystali	zed_manual	- 🗇 🗙
ファイル	ホーム 共有 表示				~ ()
€€	★ ↑ → PC → ローカルディスク(C:) →	make_a_cystalized_manual		v C make_a	_cystalized_manu 🔎
	名前	更新日時 種類	サイズ		
S all	CCP4 DATABASE	2015/03/30 18:02 ファイル フォルダー			
9 <u>8</u> 5	manual.sca	2015/01/29 19:34 SCA ファイル	945 KB		
5	📄 manual_seq	2015/01/29 19:34 テキストドキュメント	1 KB		
7					
-木 &					
PC					
4 5					
E F					
🎥 E					
📓 E					
(田) 2 (田) 2					
L. C					
C 🖸					
S S					
- N					
0.					
📭 주ッ					
3個の頂目	日 1個の項目を選択 211 パイト				
5 MONAC				00.00	12:53
					A 2015/04/08
	L 2)-		7 . 2 * 7	よう ノッチ担告 エント・シント	ᄡᆍᆇ
≤ 0	アエッに sequenc	$e \ge sca = -\varphi O_o$	チか入つ	にノアイルを想定しようここから	、以下の様
にし	て mtz データに	こします。			
ナギ	CCD1 Dtx	てのプログラムか	- Seel	madenta を選択します	
エ 9	, 00r4099	(0)/19/2/	5 Scale	epackZintz を選択しまり。	
0	ImportScaled - Import Sc	aled Data from Denzo or d*trek -			
1.1.00			нер		
Converter	caled data output from Scalepack (DENZO) into MTZ format			
V Use an	iomalous data	/			
Run	Ctruncate to convert intensities t	o structure factors			
₩ Keep t	he input intensities in the output MTZ file				
Ensur	re unique data & add FreeR column for 0.05	fraction of data. Copy FreeR from anot	her MTZ	roject: make_manual	
Extend	reflections to higher resolution:		rentl	v no tobs Directories&ProjectDir	
In make_n	nanual — manual.sca	Bri	wse View	View Any File	
Out make	_manual - manual.mtz	Bri	wse View	View Files from Job	
Use	dataset name 🛁 as identifier	to append to column labels		Search/Sort Database	
MTZ Proje	ct, Crystal, Dataset Names & Data Harves	ling	E .	Graphical View of Project	
Cn	eate harvest file in project harvesting direc	iony		Delete/Archive Files.	
Crystal	belonging to Pro	ject make_manual		Kill Job	
Dataset na	ame		_	PaPun Joh	
Extra infor			1.	Edit Joh Data	
Cell dimen	isions 59.842 71.775 93.595 90.	000 90.000 90.000		Drafarances	
Data collec	cted at wavelength Angstroms			Sustam Administration	
Estimated	number of residues in the asymmetric unit		-	Update check off (Network?)	
Log File Or	insionn input Data			Manage Updates Exit	
Logine Or					
					0.00
			030	- Au 🔞	A 2015/02/20

すでに、DENZO で積分が済んでいるので、次は分子置換の段階へと移ります分子置換では、置換を行う PDB ファイルが必要となり、これを作る必要があります。

これは Swissmodel といったサイトがあり、ここにアクセスして、automated model を選 び sequence 情報を入力します。

すると、類似 sequence を持った構造が送られてきこれをも morlep の model に入力します。



ここから、Molecular Replacement を選び、



Run Morlep -auto MR を選択します。ここで得られた PDB を選択し

		- ツール					01				- 0 ×
0.0		NECO1020 - data - NECO20210ER -	015 02	02 NECO2	021050 2015 02	02.5	model . 0	11		010107	•
0	* T 🝺 F PC F U=JJJ 77X9 (C:)	NFS01030 → data → NFS02021958_4	:015-02-	02 € NF502	021958_2015-02	-02 🕨	model > u		V C	010/快州	Q
x 83	名前	種類 圧縮サイズ		パスワード	サイズ		圧縮率	更新日時			
(in 1	🛛 🍌 qmean	ファイル フォルダー									
	s s templates	ファイフレ フォルシー PNG イメージ	85 KB	ŧ		85 KB	1%	2015/02/02 12:18			
	info	JSON ファイル	1 KB	無		1 KB	61%	2015/02/02 12:04			
	🖾 model	PDB ファイル	60 KB	無	2	63 KB	78%	2015/02/02 12:04			
😽 市-	- 🥘 report	JSON JF11	4 KB	無		7 KB	47%	2015/02/02 12:04			
PC											
1	5										
	,										
1											
(学)											
i 🚢 (
Se 1											
Q											
4 A3	•										
6個の羽	1 個の項目を選択 262 KB										800 20
											A 10:58
-											2015/03/30
	-	Moirep									
Op	en a file browser				Help						
Jo	butle										
Do	MAD Flog for										
05	e MAP lies for a search model				- Inc.						
Da	ta make_manual — manual.mtz			Bro	wse View						
Mo	del make manual - model.pdb			Bro	wse View						
Se	quence make manual -				pen a file browser						
Fix				Bro	wae View						
	Automatic output filoname										
1		4 - 4h			- Inc.						
50	make_manual [model_molrep.	1.pab		Bro	wse view						
Se	arch Options										
M	ndel										
Inf	requently used options										
	Run 🛁	Save or Restore 😐		Clos	se						
学部	トレック 「「「」 内用 AutoDockTools…										
-											
田白田	CADD-1.5.6										
東山町 1 デー	-9										
-											10:59
										- alli 📋 🔯 🚺	

ここで注意したいのはまだ、結晶の対称性がわかっていません

ここで、結晶の対称性を下記の様に調べます。

-			
0	Molrep		×
			Help
Jot	title		^
Do	Molecular Replacement —		
Use	MAP files for F search model		
Dat	make_manual — manual.mtz	Browse Vi	ew
	F SIGF F	SIGF -	-
Mo	el make_manual — model.pdb	Browse Vi	ew
Sec		Browse Vi	ew
FIX		Browse Vi	ew
No	utput in this mode		7
Sea	rch oppions	F	-
Nur	Iber of RF peaks to use in TF		
Inp	t SG: P 2 2 2 SG to use: Laue class —		
Loc	And Rotation Function: Do Not Use		
Dia	neter of search model		
Pse	udo-Translation: Auto		
Exp	erimental Data	F	2
Cha	nge default behaviour for		
	ligh resolution cut-off		
F	Jown-weighting high resolution data		
	Jown-weighting low resolution data		
Г	scaling		
Mo	el	٦ T	2
Cha	ige default behaviour for		~
	Run 🛁 Save or Restore 🛁	Close	

Search option で Laue class を選択し分子置換を行います。

\$	qtRView 1.14 - Job 2: [No title given]		ı X
File Edit Window Help			
Print PDF/PS Refresh molrep CCP4 Find Back	© Forward	X Preferences	0 Exit
Results Log File			
+	+		
corrF = 0.2529			
Final CC = 0.2529			
Packing Coef = 1.0000			
Contrast = 7.76			
Space Group Checking	+		
I Nsg sg Sco	ce Cntr		
+	+		
1 16 P 2 2 2 0.2	50 1.927		
1 2 17 P 2 2 21 0.2	2 2 936 1		
4 2017 P 2 21 2 0.2	54 1.941		
5 18 P 21 21 2 0.2	50 1.448		
6 2018 P 21 2 21 0.2	56 1.996		
7 3018 P 2 21 21 0.2	53 2.904		
8 19 P 21 21 21 0.2	53 7.762		
+	+		
Time: 17h 42m 13c Flanced: 6h 42m 0c			
Time. I'm 42m ISS Elapsed. On 42m OS			
#CCP41 TERMINATION STATUS 1			
#CCP4I TERMINATION TIME 30 Mar 2015 17:42:13			
#CCP4I TERMINATION OUTPUT_FILES make_manual_2_	nolrep.doc make_manual make_manual_2_molrep.xml make_manual make_manual_2_	rf.molrep	rf
#CCP4I MESSAGE Task completed successfully			
	iir.		
🕂 🗋 🔌 🧶 🔘 🔶 🔶	- 20 D R	A 2015	:46 /03/30

すると上記の様に結果が得られ今回は p 21 21 21 を選びます。

そうして、今得られた対称性を用いて分子置換を行います。

0	CCP4Interface 6.5.0 running on 克希パソコン Project: make_manual		- ć) ×
			Change Proje	ct Help
	Molren Initial parameters from C/make a cystalized manual/CCP4 DATAB -	^	Directories&Project	ir
Mod			View Any File	
▶ Res	neip	View	w Files from Job	- ^
Run Ref	Joo tule [INO time given]	Sea	rch/Sort Database	
Run NC	No molecular replacement	Gra	phical View of Project	-
Mod	Use mark mes for 1 search model	Dele	ete/Archive Files	-
	Uata make_manuar — manua.miz	Kill .	Job	-
	Model make_manual - modeLpdb Browse View	ReR	tun Job	-
	Sequence make_manual Browse View	Edit	t Job Data	
	Fixed make_manual	Pref	ferences	
	Automatic output filename	Sys	tem Administration	-1
	Solution make_manual model_molrep1.pdb Browse View			
	Search Options			
	Number of copies to find			
	Number of RF peaks to use in TF			
	Input SG: P 2 2 2 SG to use: P 21 21 21			
	Locked Rotation Function: Do Not Use			
	Diameter of search model			
	Pseudo-Translation: Auto			
	Experimental Data			
	Model			
	Infrequently used options			
	Run - Save or Restore - Close			
			11-1	v
		~	Manage Updates	Exit
-		6	,	7:46
		△ 31	A 201	/03/30

ここで分子置換が済み、いよいよ精密化を行います。

今、作成した pdb と DENZO で作った mtz ファイルをもとに精密化を行います Refinement を選択し

0	CCP4Interface 6.5.0 running on 克希パソコン Project: PROJECT3	- 0 ×
		Change Project Help
Molecular Replacement -	Project Database Job List - currently no jobs	Directories&ProjectDir
Automatic structure solution	~ ^	View Any File
Data Reduction and Analysis		View Files from Job 1
Molecular Replacement		Search/Sort Database
Density Improvement		Graphical View of Project
Model Building Refinement		Delete/Archive Files
Structure Analysis		Kill Job
Validation & Deposition		ReRun Job
Map & Mask Utilities		Edit Job Data
Coordinate Utilities		Preferences
Graphics and Viewing Utilities		System Administration
		Update check off (Nenwork?)
		Manage Updates Exit
🖃 🗋 📄 💋 🚺	2 🧿 🖳 🔶	▲ 🏭 🗈 🍡 🔍 A 23:05 2015/03/31

0	CCP4Interface 6.5.0 running on 克希パソコン Project: PROJECT3	- ā ×
Refinement using Refmac 5		Change Project Help
Refinement 🛁	Project Database Job List - currently no jobs	Directories&ProjectDir
Model Preparation		View Any File
Restraint Preparation		/iew Files from Job 💷 🔿
Run Refmac5		earch/Sort Database
Run NCS Phased Refinement	-	raphical View of Project
Model Completion & Analysis	-	alete/Archive Files
		laBun Joh
		cita lab Data
	-	
	1	references
		system Administration 📃
		Update check off (Network?) Manage lindates
		22:05
	2 📀 🕎 🕹 🔶	Mail 🗈 😼 🔍 A 2015/03/31

Run Refmac5 を選択します。

ここで Molrep で分子置換を終えた、PDB と初めに作った mtz ファイルを用いて精密化 を行います。

Mtz データを MTZ in に,PDB データを PDB in に入れます。

0	CCP4Interface 6.5.0 running on 克希パソコン Project: make_manual	- 8 ×
		Change Project Help
Ref Model Prepara	inement 3 3 17:49:17 FINISHED molrep [No title given] tion 2 17:42:14 FINISHED inoncep [No title given] vion 00:01953 FINISHED inoncep [No title given]	Directories&ProjectDir View Any File
Restraint Pre		View Files from Job (^
Run Refmac5	Run Refmac5	Search/Sort Database.
Run NCS Phased	Help	Graphical View of Project
Model Compl	Job title	
	Do restrained refinement using no prior phase information input	Delete/Archive Files
	Input fixed TLS parameters	Kill Job
	no twin refinement	ReRun Job
	Use Prosmart: no (low resolution refinement)	Edit Job Data 🛁
	□ Run libg to generate external restraints (DNA/RNA) automatically →	Preferences
	Run Cootfindwaters to automatically add/remove waters to refined structure	System Administration
	MTZ in make_manual manual.mtz Browse View	
	FP F Signa SIGF	
	MTZ out make_manual Browse View	
	PDB in make_manual model_molrep1.pdb Browse View	
	PDB out make_manual model_moirep1_refmac1.pdb Browse View	
	LIB in make_manual	
	Output lib make_manual model_molrep1.cif Browse View	
	Refmac keyword file make_manual	
	Data Harvesting	
	Refinement Parameters	
	Setup Geometric Restraints	
	Setup Non-Crystallographic Symmetry (NCS) Restraints	
	External Restraints	
	Rigid Domains Definition	Update check off (Network?)
	Monitoring and Output Options	Manage Updates Exit
	G en p Beters @ 📀 🔶	- 2011 1 1 1 1 1 1 1 1 1

そうすると、精密化されたデータが MTZ out と PDB out に自動で入力されます。

\$	qtRView 1.14 - Job 4: Restrained refinement using isotropic B factors	- 0	×
File Edit Window Help			
Print PDF/PS Refresh refmac5 CCP4		X Preferences	0 Exit
Results Log File			
	Job 4: Restrained refinement using isotropic B factors		
O 0 50 5 500-00 00/0/075 1+75004			-
Run of Hermac_5.3.0103 on 30/ 3/2015 at 17:52:24		_	_
Please cite:			
"REFMAC5 for the refinement of macromolecula G.N.Murshudov, P.Skubak, A.A.Lebedev, N.S.Pann Acta Crystallogr. D67, 355–367	r crystal structures:" u, RASteiner, RANicholis, MDWinn, FLong and AAVagin,(2011)		
[®] Refinement of Macromolecular Structures by th G.N. Murshudov, A.A. Vagin and E.J.Dodson,(1997) Acta Crystallogr. DS3, 240-255 EU Validation contract: BIO2CT-92-0524	he Maximum-Likelihood Method:"		
Result			
Tnitial Final			
R factor 0.5694 0	.5648		
R free 0.5594 0 Bms Bondlength 0.0146 0	0.5701		
Rms BondAngle 2.3306 4	.4197		
Rms ChirVolume 0.1333 0	.2325		
Graph Data			
Cycle 1. Rfactor analysis, F distri Cycle 1. <rfactor> v. resln Cycle 1. <rfactor> v. resln WR_used Rf_free WR_ree WR free WR free Section 1.</rfactor></rfactor>			Ŧ
Ready			
🗏 🗋 🗋 💋 🕘 🗇	- 🗎 🔶	a (A 17: 2015/	:56 03/30

この様な結果になり、この操作でできた pdb と mtz を coot で開きます。

ここで先ほど準備した Wincoot を使用します。

まず PDB ファイルを開きます。



Open Coordinates を選択します。

その中から先ほど作った PDB ファイルを開きます。



次に先ほどつくった MTZ データを開きます。

Auto open mtz を選択すると



この様になります。

そうして Go to Atom で側鎖に行き、今、見えている青い電子密度に合わせて PDB ファ イルを修正していきます。

Real Space Refine Zone を選択し(タスクバーのもっとも上にある青い地球型のマーク) 電子密度からずれてしまっている物を修正します。







ここをクリックして



修正したい側鎖を選んでクリックして



この様に修正します。

しかし、この様にもともと別の pdb であるのでこの様にうまく合わない場所が存在すると します。



一度、取り除いてしまうと良いです

こうして、電子密度にそぐわない場所が初めは多いので、精密化をするよりも、回転関数 を先に決めてしまう方が良いので、もう一度 Morlep を行います。 先ほどと同じように、ここで作成した PDB ファイルを分子置換を行います。

I.		
	Molrep Initial parameters from C:/make_a_cystalized_manual/CCP4_DATAB	
	Help	
	Job title [No title given]	in the second
1	Do Molecular Replacement	_manual – 🗆 🗡
00	Use MAP files for 🛛 🗍 search model	Change Project Help
	Data make_manual — manual.mtz Browse View	Directories&ProjectDir
	F SIGF SIGF	View Any File
1	Model make_manual model_molrep1_refmac1.pdb Browse View	View Files from Job —
Win	Sequence make_manual Browse View	Search/Sort Database
	Fixed make_manual Browse View	Graphical View of Project
Q	T Automatic output filename	Delete/Archive Files
	Solution make_manual model_molrep2.pdb Browse View	Kill Job
Pyl	Search Options	ReRun Job
	Experimental Data	Edit Job Data
	Mode/	Preferences
2	Infrequently used options	System Administration
PHE	Run - Save or Restore - Close	Update check off (Network?)
		Manage Updates Exit
	🕨 💦 💦 👘 🖓 👘	
学部	内用 AutoDockTools	
蛋白研 デ	構造解析 CADD-1.5.6 -夕	
H		- 3m

また、先ほどと同じように精密化をし回転関数と併進関数の数値を上げていく。

						qtRView 1.14 - Job 3: [No title given] –	×
File	Edit	Window	Help				
Prin	t PD	F/PS F	© Refresh r	olrep CC	≥ <mark>Q</mark> © ⊃4 Find Back	Forward Preferences	0 Exit
Resul	ts Lo	og rile					
		Peaks of	E Rotatio	on Function	on		
		theta	phi	chi	Rf/sigma		
i	1	55.80	130.51	17.03	4.46		
1	2	46.46	160.10	140.63	4.41		
1	3	143.46	-148.07	89.59	4.38		
1	4	10.65	108.41	138.15	4.34		
1	5	45.94	160.19	138.30	4.33		
1	6	34.56	-153.46	96.61	4.32		
1	7	34.85	-155.08	96.71	4.23		
1	8	150.02	-131.06	170.78	4.13		
1	9	38.30	149.95	152.28	4.13		
1	10	150.66	-129.92	171.63	4.12		
1	11	13.45	153.06	105.59	4.08		
1	12	36.10	44.78	175.97	4.07		
1	13	58.78	88.15	45.33	4.04		
	14	30.49	39.24	142.10	4.04		22
1	15	24.99	85.50	52.37	3.97		
	10	10.69	102.78	137.89	3.97		
1	10	30.13	40.79	141.68	3.95		
1	10	33.01	-131.14	90.72	3.91		
	19	34.11	140.24	140.00	3.09		
1	20	24 91	-149.34	52 17	2 00 1		
- ÷ -	22	24.01	00 66	53.17	2 07 1		
1	22	24.71	112 54	102 69	2 96 1		
1	20	125 02	-02 27	105.00	2 01 1		
	25	10 18	113 31	138 11	3 79 1		
4	26	64 98	-108 63	49 08	3 78 1		100
at the	20	01.50	100.00	15.00	5.70 1	M	
Contraction of the second seco	_						
		-				1	
H			<u>Ø</u>	0 0		- 2011 🖻 🌬 (↓ A) 2015/	:02 /03/30

•								qtRVie	w 1.14 - J	ob 3: [No	title given]	_ [- ×
File E	dit	Wind	ow Help										
	6	OF C		0	e	9 (3 6)				×	0
Print	PDF	/PS	Refresh	molrep	CCP4	Find Ba	ick Forv	and				Preferences	Exit
Regulto	Lo	σ File	1										
TNEO.	Con	+++=	t and T	F/eig are	a dood er	ough	stop thi	e run					1
11110.	COL	icius	o ana i	r/sig are	good ei	iougii.	Joop on	5 Lun					
					Sumr	nary (VO))						
+			+ 2 - + -	- 2. 2	-1-2						+		
+	RF	TF	theta	phi	chi	tx	ty	tz	TF/sg	WRIac	Score		
1	15	1	24.99	85.50	52.37	0.085	0.005	0.371	9.03	0.620	0.384511		
1 2	3	3	143.46	-148.07	89.59	0.789	0.193	0.238	3.47	0.646	0.322131		
3	7	1	34.85	-155.08	96.71	0.313	0.028	0.171	3.60	0.646	0.31590		
4	13	2	58.78	88.15	45.33	0.203	0.039	0.104	3.35	0.646	0.31585		
5	5	2	45.94	160.19	138.30	0.757	0.468	0.148	3.78	0.646	0.31549		
1 6	6	12	34.56	-153.46	96.61	0.881	0.515	0.467	3.02	0.649	0.31403		
7	2	9	46.46	160.10	140.63	0.892	0.484	0.456	3.24	0.648	0.31390		
8	1	6	55.80	130.51	17.03	0.719	0.544	0.078	3.33	0.647	0.31295		
1 9	9	6	38.30	149.95	152.28	0.738	0.029	0.380	3.45	0.650	0.31274		
10	8	4	150.02	-131.06	170.78	0.234	0.168	0.284	3.33	0.647	0.31190		
11	11	15	13.45	153.06	105.59	0.179	0.071	0.144	2.96	0.649	0.31164		
1 12	12	1	36.10	44.78	175.97	0.949	0.009	0.017	3.71	0.647	0.31119		
13	10	1	150.66	-129.92	171.63	0.704	0.166	0.171	3.44	0.647	0.308841		
14	14	14	30.49	39.24	142.10	0.234	0.486	0.389	2.61	0.649	0.30142		
15	4	4	10.65	108.41	138.15	0.827	0.081	0.143	3.40	0.649	0.300881		
1													
COTTE	=	0.3	212										
TF/si	a		= 9	.03									
Final	CC		= 0.3	212									
Packi	ng C	cef	= 1.0	000									
Contr	ast		= 7	.74									
													1
After	sti	.ck c	orrecti	on:									
Matta	- 10		to oxia	in									
0l	_												
	_							_	_	_			
			i 🖉 🌌	0								- Sm 🖬 🕞 🖬 Δ 🏻 1	

そうして、併進関数と回転関数を上げていきます。

*						qtRView 1.14 - Job 56: [No title given] -	×
File	Edit	Window	Help				
) Print	PDF	D /PS F	© Refresh n	olrep CC	▶ <mark>9</mark> O P4 Find Back	O X Forward Preferences	0 Exit
Result	s Log	g File					_
Pro	gram	will us	se NCS_mo	odel =:	1		-
	P	eaks of	E Rotatio	on Functi	on		
+		theta	phi	chi	+ Rf/sigma		
+					+		
1	1	0.00	0.00	0.00	16.83		
1	2	99.55	179.48	68.29	13.47		
1	3	145.37	-116.39	179.58	4.18		
1	4	136.75	-76.23	113.51	3.47		
1	5	135.27	-75.24	113.30	3.45		
1	6	28.81	116.24	152.78	3.44		
	7	137.85	-78.77	113.13	3.40		
1	8	124.88	-63.27	99.50	3.39		
	9	125.59	-63.62	99.47	3.37		-
	10	129.45	-67.93	101.43	3.36		
	12	26 00	99.00	152 10	3.34		
	13	124 08	-68 28	110 02	3 19 1		
1	14	127 63	-163 42	126 45	3 19 1		
1.1	15	151 58	-77 70	171 13	3 15 1		
i i	16	109 02	179 90	66 59	3 15 1		
i i	17	26 10	119 54	152 34	3 14 1		
L î	18	37.53	88.38	84.08	3.13		
1.1	19	142.65	-118.51	168.83	3.12		
i i	20	31.59	103.94	178.71	3.11		
i	21	128.05	-72.46	119.50	3.08 i		
1 î	22	49.92	75.49	72.80	3.06 i		
L î	23	132.08	-79.28	108.68	3.05		
i	24	66.44	179.07	96.38	3.03		
1	25	90.98	161.51	77.32	3.01		
1 I	26	146 93	-68 74	103 91	2 99 1		•
			2			18-02	
			20	@		- 🛍 🛛 📭 🖬 A 2015/03	/30

File E	dit	Wind	ow Help					qtRViev	v 1.14 - Jo	ob 56: [No	o title given	-	
🍓 Print	PDF) /ps	© Refresh	molrep	♥ CCP4	Sind Ba	ck Forw) rand				Preferer	nces E
Results	Log	g File											
					Summ	ary (VO))						
+	RF	TF	theta	phi	chi	tx	ty	tz	TF/sg	wRfac	Score		
1	1	1	0.00	0.00	0.00	0.399	0.482	0.360	25.82	0.443	0.70307		
1 2	2	1	99.55	179.48	68.29	0.064	0.477	0.130	20.46	0.496	0.622761		
1 3	10	13	01 75	177 59	72 51	0.119	0.055	0.201	2 68	0.631	0.354241		
1 5	11	4	7 34	99 85	178 02	0 179	0 195	0.222	2 73	0.642	0.338661		
1 6	7	7	137.85	-78.77	113.13	0.248	0.116	0.308	2.63	0.641	0.333791		
1 7	32	1	122.62	-67.84	110.48	0.230	0.963	0.087	2.78	0.639	0.333471		
1 8	14	2	127.63	-163.42	126.45	0.138	0.483	0.100	2.85	0.640	0.333321		
1 9	25	10	90.98	161.51	77.32	0.360	0.403	0.340	2.61	0.643	0.33217		
10	5	6	135.27	-75.24	113.30	0.218	0.971	0.087	2.49	0.643	0.33145		
11	9	1	125.59	-63.62	99.47	0.744	0.452	0.379	2.71	0.642	0.33121		
12	8	12	124.88	-63.27	99.50	0.288	0.259	0.341	2.03	0.644	0.32937		
13	35	10	126.97	-78.12	109.47	0.198	0.876	0.342	2.44	0.639	0.32926		
14	33	1	158.72	178.49	74.93	0.787	0.390	0.088	2.89	0.644	0.32885		
15	3	15	145.37	-116.39	179.58	0.279	0.037	0.371	2.38	0.645	0.32811		
16	30	11	127.27	-74.80	109.35	0.254	0.260	0.325	2.30	0.641	0.32810		
17	18	1	37.53	88.38	84.08	0.767	0.017	0.406	2.54	0.643	0.328001		
1 18	10	10	129.45	-67.93	101.43	0.363	0.455	0.3//	2.47	0.644	0.327911		
1 19	4	10	136.75	-/6.23	113.51	0.279	0.828	0.265	2.42	0.642	0.32/18		
1 20	20	9	20.10	109.54	170 02	0.245	0.029	0.1/0	2.00	0.643	0.326661		
1 22	12	1	26.88	118 02	153 10	0 292	0.400	0 302	3 08	0 641	0.325691		
1 23	21	8	128 05	-72 46	119 50	0 745	0.852	0 198	2 32	0.645	0 324641		
1 24	23	2	132.08	-79.28	108.68	0.422	0.017	0.367	2.67	0.645	0.324441		
1 25	19	4	142.65	-118.51	168.83	0.194	0.060	0.167	2.70	0.646	0.323191		
1 26	22	4	49.92	75.49	72.80	0.842	0.545	0.184	2.67	0.644	0.322731		
1 27	24	1	66 44	179 07	96 38	0 110	0 488	0 077	3 17	0 647	0 322691		
				6		k							18:03
				<u>w</u>			RV					- 🛍 🛛 😼 🔍 A .	2015/03/

この様になれば、分子置換をする必要がなくなります。

ここからは Refmac を用いた、構造解析のみを行います。 そうして Rfree 値と Rfactor 値を下げていき、最終的には Rfree 値がもう下がらないと思 うところまで行います。

また、切り取った構造を埋める方法として



ここで図のように Add residue を選び



付け加えたい直前の残基をクリックすると、Ala が挿入されます。

これを本来そこに入るべき残基に入れ替える方法として





図のように、Mutate&Autofitを選択し、そこから本来入るべき残基を選択します。



するとこの様になり、本来の残基を入れる事が可能になります。

最後に構造解析を行った精度を確かめる方法として PHENIX を用いる方法があり、



この様に Refinement を選択し

phenix.refine (Project: NFS_day_trial)	- 8 ×
File Actions Settings Utilities Help	
neferences Help Run Abort Save Graphics ReadySet TLS Restrants Xtriage Ask for help	
Configure Refine_21	4 Þ ×
Input data Refinement settings Output	4 Þ
Input files	
File path Format Data type	^
Q. CNNFS01030V141117_08_nIGST5_GSH_p212121_1.8.kmtz ccp4_mtz X-ray R-free Q. CNNFS01030V1ry_and_errorVReadySet_17VIFS_FIEINZ_refine_PHENXmodell.igan CIF Restraints (CIF) Q. CNNFS01030V1ry_and_errorVReadySet_20VIFS_FIEINZ_refinent-coot-2.liga CIF Restraints (CIF) Q. CNNFS01030V1ry_and_errorVReadySet_20VIFS_FIEINZ_refinent-coot-2.liga CIF Restraints (CIF) Q. CNNFS01030V1ry_and_errorVReadySet_20VIFS_FIEINZ_refinent-coot-2.liga CIF Restraints (CIF) Q. CVNFS01030V1ry_and_errorVReadySet_20VIFS_FIEINZ_refinent-coot-2.liga CIF Restraints (CIF)	~
Add file Remove file Modify file data type Use symmetry from selected file Space group: P 21 21 21 v Unit cell: 59.842 71.775 93.595 90 90	
X-ray data and experimental phases	
Data labels : IMEAN,SIGIMEAN V R-free label : FreeR_flag V Test flag value : 0	
High resolution : Phase labels : v	
Wavelength : Options	
Neutron data	
Data labels : ···· · · Test flag value :	
High resolution : Options	
Idle Project: NFS_day_trial	
🛋 🗈 🔎 🥙 🦁 💐 🚳	▲ 🏭 🗭 🗭 ┥ A 12:54 2015/04/08

ここに作成した、PDB と DENZO で作った mtz データを Add file でいれます。

そうして Run を行うと

	50.					PHEN	IX home						
				phenix.refin	e (Project	: NFS_day_t	trial)				×	-	
Eile Actions	<u>S</u> ettings <u>U</u> t	ilities <u>H</u> elp											
X	2	1833 🛛 💽		ZAL	*	nu.	2		1				
	Holp	Run Abr	7 1	Crashic	Readure	at TLC	Portrainte	Vitriago	Ack for holp				
references	пер	Kuli Abt	Jic 3dv	e Graphic	s Reauys	et its	Rescialites	Actage	Ask for help			-	
Configure R	efine_16									4	▷ ×		
Results MolP	robity Real	-space correlation	n Atomic	properties S	equence che	ck					4 4		
											^		
	Starting	Final											
P-work	0 1901	0 1921											
R-WOFK	0.1091	0.1031											
N HEE													
Bonde	0.020	0.012											
Bonds Angles X-ray statis	0.020 1.970	0.012 1.447											
Bonds Angles X-ray statist	0.020 1.970	0.012 1.447 ution bin:	R-free	%complete	FOM	Phase error S	cale factor	#work	#test				
Bonds Angles X-ray statist	0.020 1.970	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664	R-free 0.2182	%complete	FOM 0.87	Phase error S	cale factor	#work 2519	#test		ļ		
Bonds Angles X-ray statist 32.7971 4.1150	0.020 1.970 tics by resol	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538	R-free 0.2182 0.2193	%complete 78.3% 86.3%	FOM 0.87 0.88	Phase error S 18.46 18.01	cale factor 1.00 1.01	#work 2519 2671	#test 129 126		ł		
Bonds Angles X-ray statis 32.7971 4.1150 3.2672	0.020 1.970 tics by resol - 4.1150 - 3.2672 - 2.8544	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538 0.1864	R-free 0.2182 0.2193 0.2826	%complete 78.3% 86.3% 87.9%	FOM 0.87 0.88 0.82	Phase error S 18.46 18.01 23.46	Cale factor 1.00 1.01 0.99	#work 2519 2671 2678	#test 129 126 127		ł		
Bonds Angles X-ray statist 32.7971 4.1150 3.2672 2.8544	 0.020 1.970 tics by resol 4.1150 3.2672 2.8544 2.5936 	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538 0.1864 0.1823	R-free 0.2182 0.2193 0.2826 0.2714	%complete 78.3% 86.3% 87.9% 88.7%	FOM 0.87 0.88 0.82 0.80	Phase error S 18.46 18.01 23.46 25.99	cale factor 1.00 1.01 0.99 1.00	#work 2519 2671 2678 2661	#test 129 126 127 151		ł		
Bonds Angles X-ray statist 32.7971 4.1150 3.2672 2.8544 2.5936	 0.020 1.970 tics by resol 4.1150 3.2672 2.8544 2.5936 2.4077 	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538 0.1864 0.1823 0.1862	R-free 0.2182 0.2193 0.2826 0.2714 0.2733	%complete 78.3% 86.3% 87.9% 88.7% 89.0%	FOM 0.87 0.88 0.82 0.80 0.81	Phase error S 18.46 18.01 23.46 25.99 26.64	cale factor 1.00 1.01 0.99 1.00 0.99	#work 2519 2671 2678 2661 2678	#test 129 126 127 151 142		l		
Bonds Angles X-ray statist 32.7971 4.1150 3.2672 2.8544 2.5936 2.4077	- 4.1150 - 3.2672 - 2.8544 - 2.5936 - 2.4077 - 2.2658	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538 0.1862 0.1862 0.1908	R-free 0.2182 0.2193 0.2826 0.2714 0.2733 0.2549	%complete 78.3% 86.3% 87.9% 88.7% 89.0% 90.1%	FOM 0.87 0.88 0.82 0.80 0.81 0.80	Phase error S 18.46 18.01 23.46 25.99 26.64 23.71	cale factor 1.00 1.01 0.99 1.00 0.99 1.00	#work 2519 2671 2678 2661 2678 2724	#test 129 126 127 151 142 143		1		
Bonds Angles X-ray statist 32.7971 4.1150 3.2672 2.8544 2.5936 2.4077 2.2658	- 4.1150 - 3.2672 - 3.2672 - 2.8544 - 2.5936 - 2.4077 - 2.2658 - 2.1524	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538 0.1864 0.1823 0.1862 0.1908 0.1917	R-free 0.2182 0.2193 0.2826 0.2714 0.2733 0.2549 0.2961	%complete 78.3% 86.3% 87.9% 88.7% 89.0% 90.1% 90.6%	FOM 0.87 0.88 0.82 0.80 0.81 0.80 0.80	Phase error S 18.46 18.01 23.46 25.99 26.64 23.71 25.20	Cale factor 1.00 1.01 0.99 1.00 0.99 1.00 0.101	#work 2519 2671 2678 2661 2678 2724 2723	#test 129 126 127 151 142 143 134		1		
Bonds Angles X-ray statist 32.7971 4.1150 3.2672 2.8544 2.5936 2.4077 2.2658 2.1524	- 4.1150 - 3.2672 - 2.8544 - 2.5936 - 2.4077 - 2.4078 - 2.40588 - 2.4078 - 2.4058 - 2.4078 - 2.4058 - 2.4057 - 2.4058 - 2.4058 - 2.4057 - 2.4057 - 2.4058 - 2.4057 - 2.40577 - 2.40577 - 2.40577 - 2.40577 - 2.40577 - 2.40577 - 2.4	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538 0.1864 0.1823 0.1862 0.1908 0.1917 0.2016	R-free 0.2182 0.2193 0.2826 0.2714 0.2733 0.2549 0.2961 0.2741	%complete 78.3% 86.3% 87.9% 88.7% 89.0% 90.1% 90.6% 91.6%	FOM 0.87 0.88 0.82 0.80 0.80 0.80 0.80 0.80 0.80	Phase error S 18.46 18.01 23.46 25.99 26.64 23.71 25.20 27.25	cale factor 1.00 1.01 0.99 1.00 0.99 1.00 1.01 1.02	#work 2519 2671 2678 2661 2678 2724 2723 2725	#test 129 126 127 151 142 143 134 152				
Bonds Angles X-ray statist 32.7971 4.1150 3.2672 2.8544 2.5936 2.4077 2.2658 2.1524 2.0587	- 4.1150 - 3.2672 - 2.8544 - 2.5936 - 2.4077 - 2.1524 - 2.1524 - 2.1524 - 1.9795	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538 0.1864 0.1823 0.1862 0.1908 0.1917 0.2016 0.2143	R-free 0.2182 0.2826 0.2714 0.2733 0.2549 0.2951 0.2951 0.2922	%complete 78.3% 86.3% 87.9% 88.7% 89.0% 90.1% 90.6% 91.6% 91.5%	FOM 0.87 0.88 0.82 0.80 0.81 0.80 0.80 0.80 0.80 0.79	Phase error S 18.46 18.01 23.46 25.99 26.64 23.71 25.20 27.25 27.95	cale factor 1.00 1.01 0.99 1.00 0.99 1.00 1.01 1.02 1.01	#work 2519 2671 2678 2661 2678 2724 2723 2725 2721	#test 129 126 127 151 142 143 134 152 163				
Bonds Angles X-ray statisl 32.7971 4.1150 3.2672 2.8544 2.5936 2.4077 2.2658 2.1524 2.0587 1.9795	- 4.1150 - 3.2672 - 3.2672 - 2.8544 - 2.5936 - 2.4077 - 2.2658 - 2.1524 - 2.0525 - 1.9795 - 1.9712	0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1538 0.1864 0.1823 0.1864 0.1823 0.1864 0.1908 0.1917 0.2016 0.2143 0.2125	R-free 0.2182 0.2193 0.2249 0.2733 0.2549 0.2961 0.2741 0.2922 0.2771	%complete 78.3% 86.3% 87.9% 88.7% 90.6% 90.6% 91.6% 91.5% 89.7%	FOM 0.87 0.88 0.82 0.80 0.81 0.80 0.80 0.80 0.80 0.79 0.80	Phase error S 18.46 18.01 23.46 25.99 26.64 23.71 25.20 27.25 27.95 28.18	cale factor 1.00 1.01 0.99 1.00 0.99 1.00 1.01 1.02 1.01 0.99	#work 2519 2671 2678 2661 2678 2724 2723 2725 2721 2635	#test 129 126 127 151 142 143 134 152 163 157				
Bonds Angles X-ray statist 32.7971 4.1150 3.2672 2.8544 2.4077 2.2658 2.1524 2.0587 1.9795 1.9112	0.020 1.970 . 4.1150 . 3.2672 . 2.8544 . 2.5936 . 2.4077 . 2.2658 . 2.1524 . 2.0587 . 1.9712 . 1.8514	0.012 0.012 1.447 ution bin: R-work 0.1664 0.1864 0.1862 0.1862 0.1862 0.1917 0.2016 0.2143 0.2224	R-free 0.2182 0.2193 0.2826 0.2714 0.2733 0.2549 0.2961 0.2741 0.2922 0.2771 0.2922	%complete 78.3% 86.3% 87.9% 88.7% 89.0% 90.6% 91.6% 91.6% 89.7% 83.6%	FOM 0.87 0.88 0.82 0.80 0.80 0.80 0.80 0.79 0.80	Phase error S 18.46 18.01 23.46 25.99 26.64 23.71 25.20 27.25 27.95 28.18 27.81	cale factor 1.00 1.01 0.99 1.00 1.00 1.01 1.02 1.01 0.99 0.99 0.99	#work 2519 2671 2678 2661 2678 2724 2723 2725 2721 2635 2501	#test 129 126 127 151 142 143 134 152 163 157 115			-	

この様に Rwork と Rfree 値が得られ、また



この様に、現在のデータの分布を得ることが可能になります。