Has dut mai unes ulleres atòmiques? 2014, Any Internacional de la Cristal·lografia

SESSIÓ PRÀCTICA: De la difracció a l'estructura

Xavi Carpena UCE\_2014 Prades

# **Synchrotron Radiation Source**

ESRF at Grenoble (France)







# 1) POSICIONAMENT DE LA MOSTRA



## -Pesquem i **col·loquem manualmen**t un cristall al goniòmetre o bé al **canviador de mostres automàtic.**

-**Tancar** la sala, seguint les normes de seguretat de la instal·lació.

-**Centrat** del cristall al voltant de l'eix de rotació des de la sala de control.



# 2) RECOLLIDA DE DADES



-**Centrat** del cristall al voltant de l'eix de rotació des de la sala de control.

-**Definir**: *angle* i regió de rotació, *temps* d'exposició, *distància* al detector,..

--Executar l'ordre de recollida





3) PROCESSAR DADES	3) imosflm
4) ESCALAR DADES	4) scala (ccp4i)
5) ANÀLISI DE LES DADES	5) hklview
6) BAIXAR DEL PDB UN MODEL INICIAL	6) www.pdb.org
7) RESOLDRE L'ESTRUCTURA PER RM	7) MOLREP (ccp4i)
8) CALCULAR EL MAPA DE DENSITAT	8) refmac (ccp4i)
9) REFINAMENT DEL MODEL	9) coot + refmac (ccp4i)
10) FER UNA FIGURA DE L'ESTRUCTURA	10) PyMOL

#### 3) PROCESSAMENT DE LES DADES DE DIFRACCIÓ iMosflm 1.0.7 - May 2012 (using Mosflm 7.0.9) -Obrir mosflm Session Settings ♣ 159.33 ♣ 159.12 ⇔ 286.71 Image 1 (φ:0.00-1.00) - iMosflm 🗙 🖨 -Afegir les imatges Image View Tools Images Alb1\_as0771\_1\_001.img 5 D 🚺 Cell -Indexar les imatges Images 🗙 🔒 🔲 🔯 🙋 🔍 🕂 + • 🗱 Spacegroup 🛨 🛨 Mosaicity 🔠 Mosaic block size -Refinar la cel·la Indexing □ < Sector Alb1 as0771 1 ###. Q Matrix -Integrar les dades Image 2 -Obrir una terminal i escriure: >imosflm History -Clicar: per afegir les imatges - Buscar-les al directori -Clicar damunt la primera KSnapshot

											Ň	
	4.0.7		-61 7.0	2)								
	1.0.7 - May 2012	using Mo	srim 7.0.	9)	_	_	_	_	_	_		
Session Settin	62											
🗋 📂 🖬 🔚	58,63 👎 159,62	↔ 197,19	<b>*</b> 5,00	0,0	0.71	<b>⊉</b> 0.71 <b>₿</b> ‡0	.00 🚲 .	🔺 20 🚱	😝 🎇	**	296 🛛 2.	.50
	Autoindex	ing										
Images	Images: Alb1_asC	)771_2_###	.img	•	1-2			•	6	) 🦻		Index
₽ ₽ Indexing	Image Alb1_as0771_2 Alb1_as0771_2	2_001.img 2_002.img	45,00 - 135,00 -	46.00 136.00	Auto 1201 1969	Manual 0 0	Deleted 0 0	> I/ <b>d</b> (I) 1078 1860	Searci (†) (†)	h_Use ☑ ☑		
Strategy												
Cell Refinement												
	🐴 Total			3170	)	0	0	2938				•*
	Solutions:							-Clica	r ner	anar	a Inde	vina
Integration	Solution	<u>Lat.</u>	Pen,	<u>a</u>	b	<u>c</u>	<u>a</u>	Unica		unu	u muu	, ning
	⊞ I (ref)	aP _P	0	64.6	64.6	153.8	90.0					
	□ □ □ 2 (ref)	aP "C	0	64.6 07 0	64.6 94.7	153,8	90.0	-Clica	r: per	exect	utar l'in	dexat
History	$\blacksquare \blacksquare 1 4 (ref)$	mD	1	57.0 64.6	04.J 153.8	64.6	90.0 90.0		•			
	1 1 5 (ref)	mC	1	84.3	97.8	153.8	90.0	•			4 al a	14:
	E C (ref)	00	1	84.3	97.8	153.8	90.0	-Cerca	ar: 1a s	SOIUCI	o de pe	enalti
		mP	19	64.7	64.6	153.9	90.0	menor	i sele	ccion	ar-la (	clicant)
	🗄 🗖 8 (ref)	mP	19	64.3	64.6	154.0	90.0					, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
	🗄 🚺 9 (ref)	оP	20	64.7	64.5	153.9	90.0					
	🗄 🚺 10 (ref)	tΡ	20	64.6	64.6	153,9	90.0	90.0	30.0	1.09	0.84	0.03 (
I	🖽 🔀 11 (reg)	mC	89	64.5	135.6	153.7	90.0	90,1 9	90.0	-	-	-

<mark>⊗</mark> ⊜ iMosflm ≧ession Settin	1.0.7 - May 2012 (using M	osflm 7.0.9)					
) 📂 🖬 🛛 🤻	- -						
•	Cell refinemen	t					
Images	Images: 1-6, 154-159				a	) 💊 Abort Proces	72
Indexing Strategy ell Refinement	Parameter Beam y Distance Y-scale Tilt Twist Tangential offset Radial offset RMS residual RMS res. (central) RMS res. (weighted) Parameter \$\u03c6 (\u03c8) \$\u03c8 (\u03c8) a	Value Fix 159.09   196.20   0.9990   0.07   0.02   0.000   0.000   0.004 0.041 0.650 Value Fix 0.06 -0.09 -0.07 84.07	MM 159.4 159.2 159.0 158.8 4 Deg. 0.6 0.4	155 159	Image         1         2         3         4         5         6         154         155         156         157         158         159         RMS residual         MM         0.07		-
History	b c # # 7 Mosaicity	97.74   153.41   90.00   90.00   90.00   0.535   	0.2- 0.0- -0.2- 4	155 159	-Clicar: ana -Escollir: ra -Clicar: a Pl	ar a <i>Cell Refinent</i> ng d'imatges	
	Final Std dev	84.07 0.01	97.96 97.74 0.01	4 153.4 1 0.0	1 90.00 01 0.00	90.00 0.00	9

😣 🖨 iMosflm	1.0.7 - May 2012 (using	Mosflm 7.0.9)			
Session Settin	gs				
) 📂 🖬 🛛 📲	🔛 🔜 Alb1_as0771_10	_001.m 🍇 🖸 🛛	QuickSymm Qui	ckScale f"	
	Integration				a 🔿 💊 Abort   Paus
Indexing Strategy	Parameter Beam y Distance Y-scale Tilt Twist Tangential offset Padial offset	Value Fix 158.92 196.40 1.0000 0.08 0.01 0.000 0.000	™ 159.4⊤ 159.2- 159.0-	Beam X	Image 1 13 14 15 16 17 18 19 20 21
ell Refinement	Radial offset RMS residual RMS res. (central) Parameter $\phi$ (y) $\phi$ (z) a b	0,000 □ 0,041 0,043 	158.8 10 Deg. 0.67 0.4-	20 30	
History	c æ æ ø r Mosaicity	153.41 90.00 90.00 90.00 0.558 	0.2- 0.0- -0.2- 10	20 30	Clicar: anar a Integration
	Parameter <i (i)="" d=""> (sum)         Reflections         <i (i)="" d=""> HR (prf)         <i (i)="" d=""> HR (sum)         Reflections HR         Overloads         Bad spots</i></i></i>	Full         Partial           0.00         25.70           0         5653           0.00         5.60           0.00         6.00           0         967           52         15	40- 20- 0- 0- 20	/ <b>d</b> (I)> (prf) pa / <b>d</b> (I)> (prf) full	- <b>Escollir</b> : rang d'imatges - <b>Clicar</b> : a <i>Integrate</i>
⊃ostrefining im	lage 24	13	1		No Warnir

4) ESCALAR E	DADES	- <b>Escalar</b> el fitxer .mtz so imosflm.				
CCP4 Program Sui Program List Rotaprep (now called Combat) RSPS Scala Scaleit Scalepack2mtz Sculptor	ite 6.3.0 CCP4Interface 2.2.0 running  Scala - Scale Experimen  Job title  Customise Scala process (default is to Separate anomalous pairs for merging Run Ctruncate — to output Wil Ensure unique data & add FreeR colur Generate Patterson map and do peaks	<ul> <li>-Emprar la versió antiga Truncate.</li> <li>-Incloure Rfree en l'mtz escalat.</li> <li>-Hi ha un monòmer a l'un assimètrica de 700 amin</li> </ul>	del final ja nitat oàcids	3	ge Project ProjectDir y File ase Project IS	Help
SFall	MTZ in PROJECT -	·	Browse	View		
Sfcheck Sftools	Override automatic definition of 'runs'     Exclude data resolution less than	to mark discontinuities in data Angstrom or greater than Ang	strom			-
Shelx C/D/E	MTZ out PROJECT -		Browse	View	tion	
ShelxS	Convert to SFs & Wilson Plot					
Sigma-A	Estimated number of residues in the asym	metric unit				
Sketcher	Data Harvesting	dentiner to append to column abels			a available	
SLoop	Define Output Datasets				savallable	wit
Solomon	Scaling Protocol					Xit
	Observations Used & Handling of Partials					

		- <b>Escalar</b> el fitxer .mtz sortida de imosflm.
CCP4 Program Suite 6.3.	0 CCP4Interface 2.2.0 running on guimxaia-ubuntu	- <b>Emprar</b> la versió antiga del Truncate.
Program List	5 22:48:34 RUNNING scala	
Refmac5	418 Jul 14 FINISHED check217 Jul 14 FINISHED check	-Incloure Rfree en l'mtz final ja
Reindex	1 17 Jul 14 KILLED check	escalat.
Revise		
Rotamer		-Obrir: ccp4i (en una terminal)
Rotaprep (now called Combat)	Scala - Scale Experimental Intensities	· 、 /
RSPS	Enter input MTZ file name (HKLIN)	-Escollir: en el llistat de programes,
Scala	Job title [No title given]	Scala -cal clicar 2 cons-
Scaleit	Customise Scala process (default is to refine & apply so	
Scalepack2mtz		Introduir hi: el fitxer mtz sortida
Sculptor		
2 miles	Ensure unique data & add FreeR column for 0.05 fi	d'imostim a MIZ in i donar-li un nom
Sequins	Extend reflections to higher resolution:	de sortida a MTZ out
SFall	Generate Patterson map and do peaksearch to check fo	
Sfcheck	MTZ in Full path /home/guimxala/Escriptori/UCE_2	-Run, empreu "old Truncate"
Sftools	Override automatic definition of 'runs' to mark discontin	- , - F
Shelx C/D/E	Exclude data resolution less than 38.347 Angstrom	Oslassianas "Ensure unimus data
Times: User: 0.3s Sys	T MTZ out Full path /home/guimxaia/Escriptori/UCE_	-Seleccioneu Ensure unique data
	Convert to SFs & Wilson Plot	FreeR column"
SUMMARY END </th <th>B Estimated number of residues in the asymmetric unit 700</th> <th></th>	B Estimated number of residues in the asymmetric unit 700	
guimxaia@guimxaia-ubuntu:~/	E Use dataset name as identifier to apper	-Ompliu el nombre de residus de la
Top level CCP4 directory is	I include the intensities in the output MTZ file(s)	unitat assimètrica
Using CCP4 programs from /x	t Date Horizoting	
	Data narvesting	

#### 5) ANÀLISI DE LES DADES -Obrir el fitxer .mtz amb el progama hklview. **HKLview 2.5** -Comparar intensitat reflexions Select item Edits allowed File: Alb1 as0771 10 001 scala1.mtz I=2n o I=2n+1 per veure si hi ha Display parameters Min 1 Max 1137 Main menu Scale low 1 Overlay 🔽 on high : 1137 extincions degudes a eixos 2, Colour V Black on white Pick area: Y: 11 hkl file $\mathbf{Z}$ : 11 Reread file Outer circle 1.47 Resolution. 1.47 k=0Display F Column label F New Sum partials No Zone normal ∩k1 h01 Output hk0 Pixel 0 0 0.00 hhl Resolution 0.000 Spacing A Nkl ZoomFactor Circle resolution A -Obrir: hklview NOMFITXER.mtz hNl 0.0 0.0 0.0 0.0 Zone normal 0 1 0 hkN (en una terminal) Zone level 0 Next level hkl O 0 0 0 sd: 0 Previous level Intensity displayed Level number -Zona h0l: clicar la zona h0l i fer-hi Symmetry applied Redraw image Column label: F\_New un zoom amb el botó esquerra Rescale image Cell dimensions: 84.1 97.7 153.4 damunt l'eix l Pick 90.0 90.0 90.0 Measure Circles -Clicar: les reflexions més intenses i Axes off Zoom mirar si són només parell (eix 2,) o Exit no (eix 2). Al requadre OUTPUT, apareix els valors de la intensitat (F) de les reflexions.

182 P6322

(0,0,2n)

								S	Screw Az	kis	
							symbol	concerned orientation	reflections	<b>reflection conditions</b> (observable reflections)	
Bravais Lattice	Candidates	<b>Reflection Conditions</b>	Bravais Lattice	Candidates	Reflection Conditions	5	21	[100]	H00	H = 2n	
	195 P23			75 P4				[010]	0K0	K = 2n	
	198 P213	(2n,0,0)		76 P41	(0,0,4n)*			[004]	0.01	I O	
Primitive Cubic	207 P432			77 P42	(0,0,2n)			[001]	UOL	L = 2R	
T filling of the	207 P432 208 P4232	(2n.0.0)		/8 P43	(0,0,4n)*		<b>4</b> <sub>1</sub> , <b>4</b> <sub>3</sub>	[100]	H00	H = 4n	
	212 P4332	(4n,0,0)*	Dedanaltina	89 P422				[010]	OVO	K = An	
	213 P4132 (4n,0,0)* Tetragonal	Tetragonal	90 P4212	(0,2n,0)			[010]	UKU	K = 411		
	197 I23		retragonar	91 P4122	(0,0,4n)*			[001]	00L	L = 4n	
I Contourd Cubio	199 1213			92 P41212	2 (0,0,4n),(0,2n,0)**		4	[100]	1100	H = 2n	
I Centered Cubic	211 1432			93 P4222 94 P42212	(0,0,2n) (0,0,2n) $(0,2n,0)$		42	[100]	поо	H = 211	
	214 14132	(4n,0,0)		95 P4322	(0,0,4n)*			[010]	0K0	K = 2n	
	196 F23			96 P43212	(0,0,4n),(0,2n,0)**			[001]	001	I = 2n	
F Centered Cubic				79 I4				[001]	UOL	L - 211	
i contenta cabie	209 F432	(4 - 0.0)	I Centered	80 141	(0,0,4n)		<b>3</b> <sub>1</sub> , <b>3</b> <sub>2</sub>	[00.1]	00.L	L = 3n	
	210 F4132 (4n,0,0) Tetragon	Tetragonal	97 1422			6 6	[00.1]	00.1	L = Cr		
Primitive 146 R3			98 I4122	(0.0.4n)		01, 05	[00.1]	00.L	L = 611		
Rhombohedral	155 R32			16 P222	(0,0,2n)		6 <sub>2</sub> , 64	[00.1]	00.L	L = 3n	
	143 P3		Primitive 1 Orthorhombic 1	17 P2221	(2n,0,0),(0,2n,0)		C	[00.4]	00.1	L _ 2=	
	144 P31	(0,0,3n)*		Orthorhombic 18 1	18 P21212	(2n,0,0),(0,2n,0),		03	[00.1]	00.L	L = 2h
	145 P32	(0,0,3n)*		19 P212121	(0,0,2n)				grandos do Brite Pictor (New	n de Andre an ainste na ann de Runder à centre an ainste na de Ru	
			C Centered	20 C2221	(0,0,2)						
	149 P312	(0, 0, 2n)*	Urthornombic LContered	21 C222	(0,0,2n) *						
	151 P3112 153 P3212	$(0,0,3n)^*$	Orthorhombic	23 1222	*					かん さき はいりょう しまたい だいがん さき はたりょう しまたい たいがん	
			F Centered	21 1212121				Lat	tice Type	•	
	150 P321 152 P3121	(0,0,3n)*	Orthorhombic	22 F222		symbol	observab	le reflections	exti	nguished reflections	
	154 P3221	(0,0,3n)*	Monoclinic	4 P21	(0,2n,0)	Р	HKL arbi	trarv	non		
Primitive	168 P6		C Centered		(0,,0)	- T	H+K+I = '	2n	H+K+I = 2	n+1	
Hexagonal	169 P61	(0,0,6n)*	Monoclinic	5 C2		-	II'K'L-A		II • K • L = 2		
	170 P65	(0,0,6n)*	Primitive Triclini	e		F	H,K,L all even or odd		H+K=2n+1	or K+L=2n+1 or H+L=2n+1	
	171 P62	(0,0,3n)**		1 P1		Α	K+L = 2n		K+L = 2n+1	l	
	172 P64 173 P63	$(0,0,3n)^{++}$ (0,0,2n)			Ĺ	P	$H \downarrow I = 2n$		$H_{\pm}I = 2n_{\pm}$	1	
		(*,*,=-)			L L L L L L L L L L L L L L L L L L L		11+L - 211		II · L = 2II ·	1	
	177 P622	(0.0.6n)*				L	H+K = 2n		H+K = 2N+	1	
	178 P6122	(0,0,6n)*				R <sup>*</sup>	-H+K+L=3	n or H-K+L=3	n		
	180 P6222	(0,0,3n)**			-	9-1-1-1-1-1-1-	2-5915-4395-27575-277	an an an an an Albert De Carrent an an an	II. •	- A MARINE AND A STRUCTURE OF A MARINE AND A M	
	181 P6422	(0,0,3n)**									





7) "RESOLDRE" L'ESTRUCTURA PER RM		-Anar al CCP4i, i escollir Molrep.				
Molrep - Molecular Replacement  This interface is for version 11.0 of Molrep			- <b>Fer el RM</b> , amb: -el model baixat del PDB, -l'output de l'escalat (MTZ) -limitant la màx. resolució a 3.5Å			
Job title						
Do molecular replacement - performing rotation and tr	anslation fu	nction	-			
Get input structure factors from MTZ file - Input fixed model Multi-copy search Use sequence						
MTZ in PROJECT -		Browse	View			
Use Intensities FP SIGFP		-	_			
Model in PROJECT -		Browse	View			
Coords out PROJECT -		Browse	View			
Experimental Data (Resolution, ANISO, DIFF, BADD, INVER, DSCALE,)						
The Model (SIM,COMPL,SURF,NMR,NCSM,DSCALEM)						
Search Parameters (NMON,NP,NPT,PST,STICK,LOCK,)						
Infrequently Used Parameters (MODE,SAPTF,RAD,PACK,SCORE,LMIN,NOSG)						
Run — Save or Restore —		Close	•			

	-Anar al CCP4i, i escollir Molrep.
Molrep - Molecular Replacement	- <b>Fer el RM</b> , amb: -el model baixat del PDB, -l'output de l'escalat (MTZ) -limitant la màx. resolució a 3.5Å
Job title	
Do molecular replacement — performing rotation and translation	function —
Get input structure factors from MTZ file —	
Input fixed model	
Multi-copy search	
MTZ In Full path A xala/Escriptorl/UCE_2014/ALBERT/Alb1_as0771_10_001_scala1.m	tz Browse View
Use Intensities	New
Model in Full path //home/guimxaia/Baixades/4G33.pdb	Browse View
Experimental Data (Resolution,ANISO,DIFF,BADD,INVER,DSCALE,)	-Introduir:
Use data to maximum resolution 3.5	
minimum resolution	format "_scala.mtz) al camp <b>IVI I Z IN</b>
Use default scaling	-fitxer de coordenades del PDB
Apply additional Boverall factor (Badd)	(format XXXX.pdb) al camp <i>Model in</i>
The Model (SIM,COMPL,SURF,NMR,NCSM,DSCALEM)	
Search Parameters (NMON,NP,NPT,PST,STICK,LOCK,)	-Clicar: la casella Experimental
Intrequently Used Parameters (MODE,SAPTE,RAD,PACK,SCORE,LMIN,NOSG)	Data, perquè s'obri un desplegable
Run - Save or Restore -	-Introduir: el 3.5 a <i>max. resolution</i>

	-Anar a refmac.
8) CALCULAR EL MAPA DE DENSITAT	-Fer un Refinament de Cos Rígid:
	-la sortida de MOLREP,
😣 🖻 🗊 Run Refmac5	-l'output de l'escalat (MTZ)
Observed amplitude (FP) and obligatory sigma (SIGFP)	-limitant a 5 cicles de refinament
Job title	-limitant la màx. resolució
Do rigid body refinement - using no prior phase information - input	entre 20 i 2.0Å
Input fixed TLS parameters	
no — twin refinement	
MTZ in PROJECT -	Browse View
FPSigma	
MTZ out PROJECT -	Browse View
PDB in PROJECT -	Browse View
PDB out PROJECT -	Browse View
Refmac keyword file PROJECT -	Browse View
Refinement Parameters	
Rigid Domains Definition	
	Edit list - Add Domain Definition
Monitoring and Output Options	
Scaling	
Run - Save or Restore -	Close

	-Anar a refmac.			
Image: Second state sta	-Fer un Refinament de Cos Rígid: -la sortida de MOLREP, -l'output de l'escalat (MTZ) -limitant a 5 cicles de refinament -limitant la màx. resolució entre 20 i 2.0Å			
no — twin refinement				
MTZ in       Full path       e/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/Alb1_as0771_10_001_scala.mtz         FP       F_New       Sigma       SiGF_Ne         MTZ out       Full path       /home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_rigid1.mtz         PDB in       Full path       /home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/4G33_molrep1.pdb         PDB out       Full path       /home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_rigid1.pdb	-Seleccionar: -" <i>rigid body refinement</i> " en el primer desplegable -MTZ in: el fitxer sortida d'Scala			
Refmac keyword file PROJECT -				
Do 5 cycles of maximum likelihood rigid body refinement Use hydrogen atoms: generate all hydrogens — and ✓ output to coordinate file	- <b>PDB in</b> : el fitxer sortida de MOLREP.			
✓ Resolution range from minimum 200       to 2.0         ✓ Use automatic weighting       ✓ Use experimental sigmas to weight Xray terms         Refine overall B-factor       ✓ Exclude data with freeR label         ✓ Exclude data with freeR label       FreeR_flag	- <b>out</b> : va bé posar un nom més fàcil en la sortida "*_rigid1.mtz o .pdb"			
Rigid Domains Definition	-Canviar: el nombre de cicles en el			
Edit list     A       Monitoring and Output Options     A	desplegable <b>Refin. Parameters</b> a 5			
Run — Save or Restore —	- <b>Limitar</b> : la ressolució mínima (a 20)			



#### -Obrir el programa coot.

### -Fer un Refinament de Cos Rígid:

- -la sortida de MOLREP,
- -l'output de l'escalat (MTZ)
- -limitant a 5 cicles de refinament
- -limitant la màx. resolució

entre 20 i 2.0Å

-Anar a: una terminal i escriure-hi >coot
-Obrir: les coordenades (fitxer \*rigid1.pdb) i l'MTZ que conté les fases (fitxe \*rigid1.mtz)





## -Obrir el programa coot.

# -Fer un Refinament de Cos Rígid:

- -la sortida de MOLREP,
- -l'output de l'escalat (MTZ)
- -limitant a 5 cicles de refinament
- -limitant la màx. ressolució entre 20 i 2.0Å

Define an Atom for Centering

 -Mutar: serveix per mutar i autorefinar el residu canviat. Un cop activat (amb un clic) cal situar-se damunt el residu a canviar i clicar-lo amb el botó esquerra.

-Desar: després dels canvis
 pertinents, cal desar les noves
 coordenades: *File / Save Coordinates* ) donar-li un nou nom,
 per ex. "\*ref2\_0.pdb".

Mutate & AutoFit... (click on an atom)

	Aques
😣 🖱 🗊 Run Refmac5 Initial parameters from /home/guimxaia/CCP4_DATABASE/12_refmac5.d	🖬 "refina
	compte
Job title Rigid body refinement using isotropic B factors	coorde
Do restrained refinement — using no prior phase information — input	
Input fixed TLS parameters	Earon
no - twin refinement	-raren
Use Prosmart: no -	a -10 c
MTZ in Full path //home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/Alb1_as0771_10_001_C2221_scala.mtz	limit
FP F_New - Sigma SIGF_Ne	entr
MTZ out Full path //home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_ref2.mtz	
PDB in Full path //home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_ref2_0.pdb	_Si fall
PDB out Full path /home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_ref2.pdb	
LIB in Full path //home/guimxaia/PROJECT_11_lib.cif Merge LIE	
Output lib PROJECT - V89F rigid2 0.cif	veure
	final de
	format
Refinement Parameters	el cam
Do 10 cycles of maximum likelihood restrained refinement	
Use hydrogen atoms: generate all hydrogens — and 🔽 output to coordinate file	nou.
✓ Resolution range from minimum 20.0 to 2.0	
✓ Use automatic weighting ✓ Use experimental sigmas to weight Xray terms	
use jelly-body refinement with sigma 0.02	
Refine isotropic - temperature factors	
Image: Second	
Setup Geometric Restraints	
Setup Non-Crystallographic Symmetry (NCS) Restraints	
Run — Save or Restore —	Close

-Obrir el programa refmac. t cop caldrà fer un ament amb restriccions" en es d'un "*rígid*", del fitxer de enades modificat amb **coot**.

#### n:

cicles de refinament ant la màx. resolució e 20 i 2.0Å

 $\checkmark$ 

#### a:

arx2 damunt del projecte per quin missatge dóna. Si al e tot, ha creat una llibreria de .cif, copiar-la, introduir-la en p LIB i còrrer Refmac de

Run Refmac5 Initial parameters from /home/guimxaia/CCP4_DATABASE/12_refmac5.de      Job title Rigid body refinement using isotropic B factors      Do restrained refinement using no prior phase information input     Input fixed TLS parameters     no input twin refinement	- <b>Obrir</b> : refmac des de ccp4i. Una bona opció és apretar tecla Majúsc+dos clics damunt l'antic treball de refmac ja corregut anteriorment.			
Use Prosmart: no MTZ in Full path //home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/Alb1_as0771_10_001_C2221_scala.mtz FP F_NewSigma SIGF_New NTZ autNewSigmaSigmaSIGF_New	-Seleccionar: "restrained refinement" en el desplegable.			
PDB in Full path //nome/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_ref2.mtz	-Modificar: els noms dels fitxers de			
PDB out Full path //home/guimxaia/Escriptori/UCE 2014/ALBERT/V89F ref2.pdb	sortida i entrada. El d'entrada és el			
	ndh que acabem de mutar			
	pub que acabem de mutar.			
Output lib PROJECT - V89F_rigid2_0.clf	Browse View			
Refmac keyword file PROJECT	Browse View			
Data Harvesting				
Refinement Parameters				
Do 10 cycles of maximum likelihood restrained refinement				
Use hydrogen atoms: generate all hydrogens — and 🔽 output to coordinate file				
■ Resolution range from minimum 20.0 to 2.0 –Obrir: el (	desplegable "Refinement			
✓ Use automatic weighting ✓ Use experimental sigmas to weight Xray terms	rs". Lindicar-li que són 10			
use jelly-body refinement with sigma 0.02	ofinament, i als límits de			
Refine isotropic - temperature factors				
Exclude data with freeR label     FreeR_flag     with value of 0     FesoIUCIO.				
Setup Geometric Restraints				
Setup Non-Crystallographic Symmetry (NCS) Restraints				
Run — Save or Restore —	Close			

🛞 🗩 🗊 Run Refmac5 Initial parameters from /home/guimxaia/CCP4_DATABASE/12_refmac5.def	
	-I lik
Job title Rigid body refinement using isotropic B factors	mire
Do restrained refinement - using no prior phase information - input	
Input fixed TLS parameters	bé c
no 🛁 twin refinement	l'opc
Use Prosmart: no - (I	final
MTZ in Full path //home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/Alb1_as0771_10_001_C2221_scala_mtz	form
FP F_New - Sigma SIGF_New	
MTZ out Full path /home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_ref2.mtz	COI.1
PDB in Full path //home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_ref2_0.pdb	ante
PDB out Full path //home/guimxaia/Escriptori/UCE_2014/ALBERT/V89F_ref2.pdb	
LIB in Full path //home/guimxala/PROJECT 11_lib.cif Merge LIBIN	-Rf/
Output lib PROJECT ~ V89F_rigid2_0.cif	mire
Refmac keyword file PROJECT -	valo
Data Harvesting	dete
Refinement Parameters	Felic
Do 10 cycles of maximum likelihood restrained refinement	i rofi
Use hydrogen atoms: generate all hydrogens — and 🔽 output to coordinate file	iten
✓ Resolution range from minimum 20.0 to 2.0	
Use automatic weighting Use experimental sigmas to weight Xray terms	
use jelly-body refinement with sigma 0.02	
Refine isotropic - temperature factors	
Exclude data with freeR label FreeR_flag - with value of 0	
Setup Geometric Restraints	
Setup Non-Crystallographic Symmetry (NCS) Restraints	
Run — Save or Restore —	Clos

-Llibreria: si falla el refinament, mirar el fitxer de control (log out) -o bé clicant dos cops al damunt o bé a l'opció "*View Files From Job*". Si al final de l'arxiu, ha creat un fitxer de format \*.cif, copiar-lo amb Ctrl+C i col·locar-lo en el treball de refmac anterior i fer-lo còrrer de nou.

-**Rf/Rfree**: si ha arribat fins el final, mireu de nou el log out, i tindreu els valors **Rfactor** i **Rfree** que determinen la qualitat del model. Felicitats, ja teniu l'estructura resolta i refinada!

**V** 

# FER UNA FIGURA DE L'ESTRUCTURA

😣 🗐 🗊 The PyMC	DL Molecular Graphics System
<u>F</u> ile <u>E</u> dit <u>B</u> uild <u>M</u> ovi	ie <u>D</u> isplay <u>S</u> etting S <u>c</u> ene M <u>o</u> use <u>W</u> izard <u>P</u> lugin
Open Save Session Save Session As Save Molecule Save Image As	.imgmosflm_20140804_211630.sumReset.imgmosflm_20140804_221424.matUnpick.imgmosflm_20140804_221424.sumI.imgrefmac-from-coot-0.logI.imgrefmac-version-tmp.logI
	ewer
<u>L</u> og	
<u>R</u> esume	
Append	
Close Log	
к <u>u</u> n	
Quit	
Re <u>i</u> nitialize	
Skin	

-**Obrir** el pdb originat amb el darrer refinat de refmac.

-Amagar (H): el format de la representació de "*lines*" i mostrar (S) el format "*cartoon*".

-**Centrar** (*PyMOL*> *center*): en el residu que vulgueu mostrar

-Mostreu-lo en format sticks

-Fer una captura de pantalla en format .png (**png**), tot canviant el fons a blanc.

Mouse Mode 3-Button Viewing Buttons L M R Wheel & Keys Rota Move MovZ Slab Shft +Box -Box Clip MovS Ctrl +/- PkAt Pk1 MvSZ CtSh Sele Orig Clip MovZ SnglClk +/- Cent Menu DblClk Menu - PkAt Selecting Residues State 1/ 1	

PyMOL>



PUMOL N