



REFINEMENT OF PROTEIN STRUCTURES

J. Vévodová

National Centre for Biomolecular Research, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2,
611 37 Brno, Czech Republic

The final step of the structure solution is the process of refinement of a macromolecular structure, which can be defined as a gradual adjustment of the real space model parameters so that the maximum possible agreement with the experimental data is achieved.

In all cases of the phase problem solution, the phases obtained are estimated, and often the set of estimates is incomplete. Electron-density maps, calculated using measured amplitudes and first phase estimates, are often difficult or impossible to interpret. As phase improvement and extension proceed, the electron-density maps become clearer and easier to interpret. The iterative process of structure refinement eventually leads to a structure that is in good agreement with the experimental data. The complexity of this task requires a combination of iterative refinement methods based on mathematical principles and of manual building and rebuilding of the three-dimensional real space model of the structure.

The refinement starts either with model derived from an existing structure (MR) or with the most evident part(s) of the structure built according to the electron density maps calculated using the initial phase estimation (MAD, SIR or MIR). In case of model obtained by MR for each (non-hydrogen) atom of the rebuilt model, four parameters are refined: three coordinates (x , y and z) and the isotropic temperature factor frequently called B -value. Also, the new bulk solvent correction parameters and positions of hydrogen atoms are calculated and optimized. After several steps of the refinement, the model is used for calculation of the new phases of the structure factor. These phases together with observed structure factor amplitudes

are utilized for calculation of the more accurate electron density maps. The decrease of the R -factors (R_{cryst} and R_{free}) after each step of structure refinement indicates the correctness of the structure solution and refinement. The refinement is finished when the structural model explains all significant parts of the electron density maximum and when R -factors values are minimal.

Presently the refinement procedure is involved in the CCP4 software package [4] or in CNS [5] or XPLOR [6] programs. Map fitting could be done by computer graphics. Computer programs such as O [7] or XtalView [8] produce a realistic 3D display of electron density maps.

1. Rhodes, G. (1993) *Crystallography Made Crystal Clear*, pp. 29, Academic Press, Saint Diego.
2. Drenth, J. (1994) *Principles of Protein X-ray Crystallography*, Springer-Verlag, NY.
3. McRee, D.E. (1993) *Practical protein Crystallography*, Academic Press, Saint Diego.
4. Collaborative Computational Project, Number 4. (1994) *Acta Cryst.* **D50**, 760-763.
5. Brünger, A. T., Adams, P. D., Clore, G. M., DeLano, W. L., Gros, P., Grosse-Kunstleve, R. W., Jiang, J. S., Kuszewski, J., Nilges, M. and Pannu, N. S. (1998) *Acta Cryst.* **D54**, 905-921.
6. Brünger, A. T. (1992) *X-PLOR (version 3.0) Manual*, Yale University, New Haven, Connecticut, USA.
7. Jones, T. A., Zou, J. Y., Cowan, S. W. and Kjeldgaard, M. (1991) *Acta Cryst.* **A47**, 110-119.
8. McRee, D. E. (1999) *J.* **125**, 156-165.

HODNOCENÍ KVALITY KRYSTALOVÝCH STRUKTUR MAKROMOLEKUL

Pavína Řezáčová

Ústav molekulární genetiky Akademie věd ČR, Flemingovo n. 2, 166 37 Praha 6

Úvod

Rentgenová krystalografie je hlavní technikou získání detailní informace o atomové struktuře makromolekul. Typické problémy makromolekulární krystalografie: difrakční data získaná na omezeném rozlišení a nepřesná fázová informace, nevyhnutelně ovlivňují kvalitu map elektronových hustot a následně se odrazí i v kvalitě konečného modelu. Chyby se mohou vyskytnout v každém kroku určování krystalové struktury: od experimentálních chyb měření až po chyby při interpretaci mapy elektronové hustoty a upřesňování modelu.

V současné době existuje mnoho metod pro ověření kvality modelu, které lze rozdělit do dvou základních skupin. První skupina hodnotí kvalitu modelu podle jeho shody s experimentálními daty. Druhá skupina ověřovacích metod hodnotí geometrické a konformační para-

metry modelu srovnáním se standardními hodnotami odvozenými z krystalových struktur malých molekul nebo struktur makromolekul určených na vysokém rozlišení. Tématu hodnocení a ověřování kvality struktur se věnuje řada přehledných článků [např. 1, 2, 3].

Hodnocení a ověřování kvality modelu shodou s experimentálními daty

Nejdůležitějším měřítkem kvality daného atomového modelu je jeho shoda s experimentálními daty. Tato metoda ověření kvality modelu odhalí jak systematické chyby ovlivňující správnost modelu, tak náhodné chyby odrážející se na jeho přesnosti. Hodnocení shody lze provádět buď globálně (shoda celého modelu s daty), anebo existují i kriteria pro hodnocení lokální shody