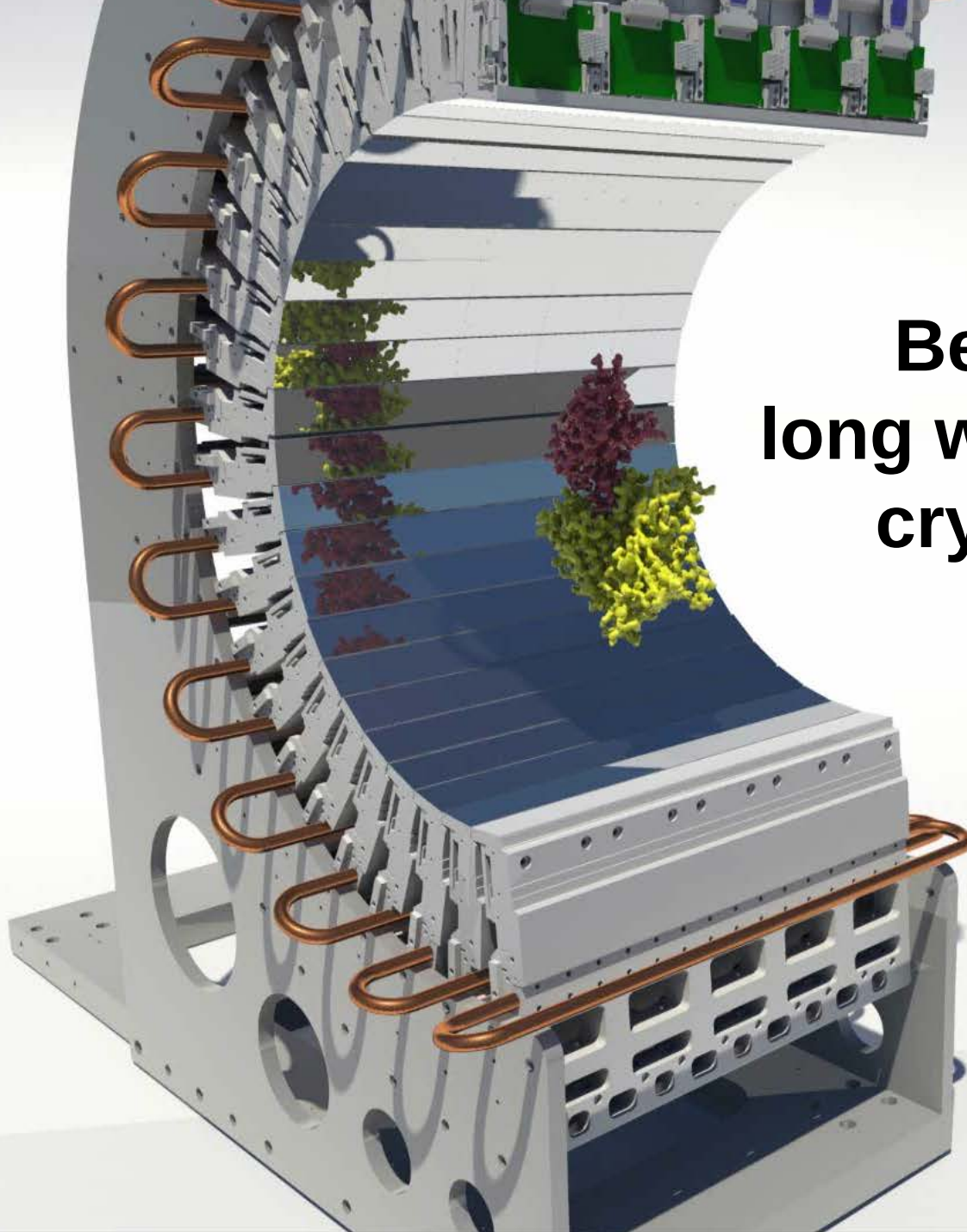




Beamline I23 – long wavelength X-ray crystallography

Ramona Duman

CCP4/DLS workshop
December 2019

I23 – First beamline for in-vacuum long-wavelength MX

➤ Experimental Phasing

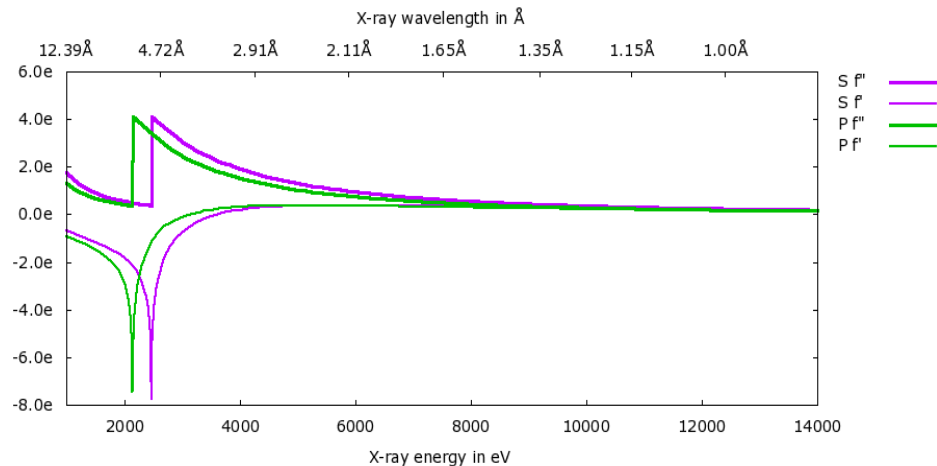
- SAD phasing from native proteins and DNA/RNA crystals by using anomalous signal from sulphur and phosphorus.
- SAD and MAD phasing for large complexes by using enormous anomalous signals from M-edges.

➤ Assist model building at low resolution

➤ Element specific analysis

➤ Beamline parameters:

Wavelength range: 1 - 5.9 Å
Beam size at sample: 100 - 500 µm (unfocused)
Photon flux: 5×10^{12} ph/s in 100 x 100 µm @ 4 keV



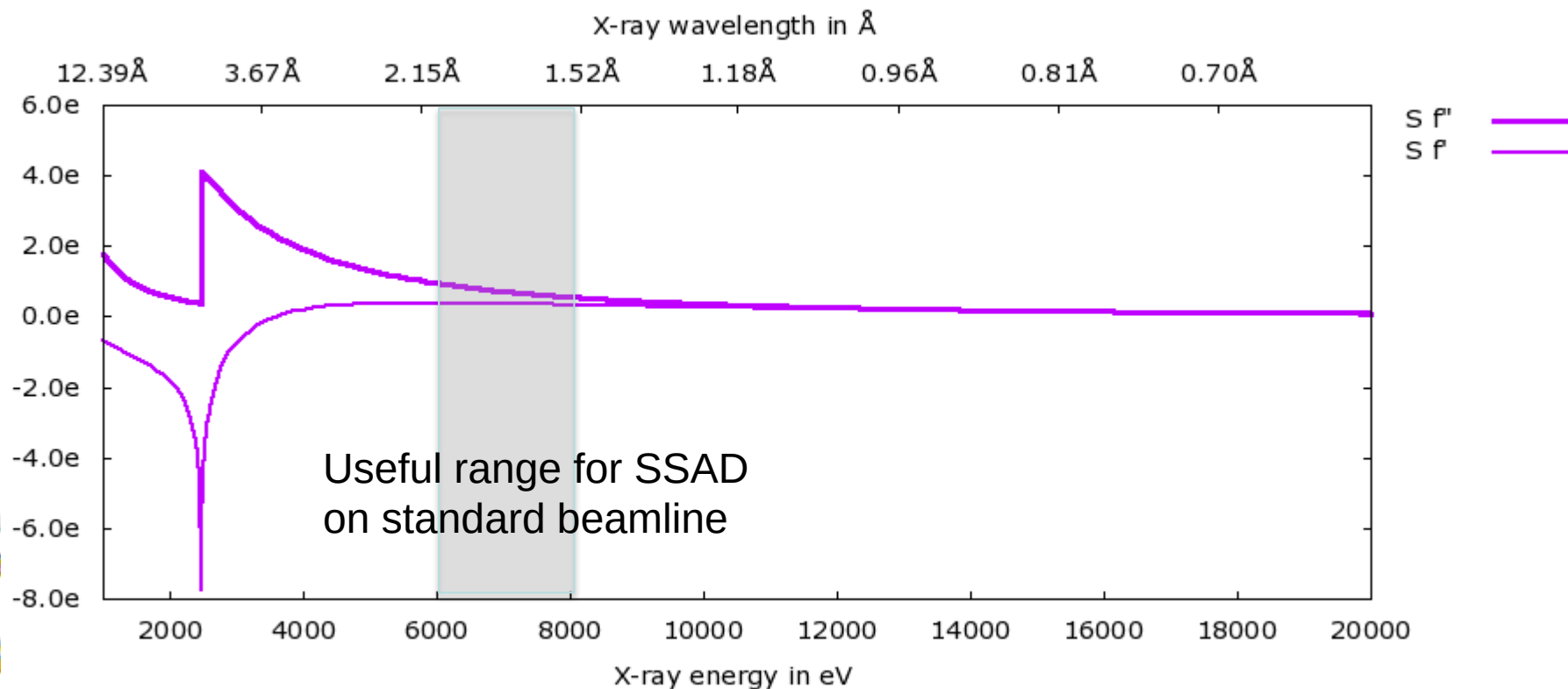
Native SAD

- Native SAD phasing uses the anomalous scattering signal of **light atoms** in the crystalline, native samples of macromolecules collected from single-wavelength X-ray diffraction experiments. These atoms include **S**, **P**, **Cl**, **K** and **Ca**...
- Native SAD phasing is challenging and is critically dependent on the collection of **accurate data** since the anomalous scattering signal from these light atoms is relatively small, often comparable to the noise level.
- Maximise accuracy of measuring anomalous differences by collecting **high multiplicity dataset** (single or multi-crystals if they are isomorphous).

Liu, Q. & Hendrickson, W. A. *Acta Cryst.* D69, (2013)

Liu, Q. *et al*, *Science*, (2012)

Why long wavelengths?





Why long wavelengths?

	E (keV)	λ (Å)
P	2.146	5.779
S	2.472	5.016
Cl	2.822	4.393
K	3.607	3.437
Ca	4.038	3.070



**Newly accessible X-ray absorption edges of
biologically important elements.**

- unique to I23

The diagram consists of three colored rectangular boxes arranged horizontally. The leftmost box is red and contains the text "K edges". The middle box is purple and contains the text "L edges". The rightmost box is green and contains the text "M edges".

Design and Interface Copyright © 1997 Michael Dayah (michael@dayah.com). <http://www.ptable.com/>

Challenges at long wavelengths

- Limited resolution:

- Bragg's law

Pilatus 12M (Dectris)

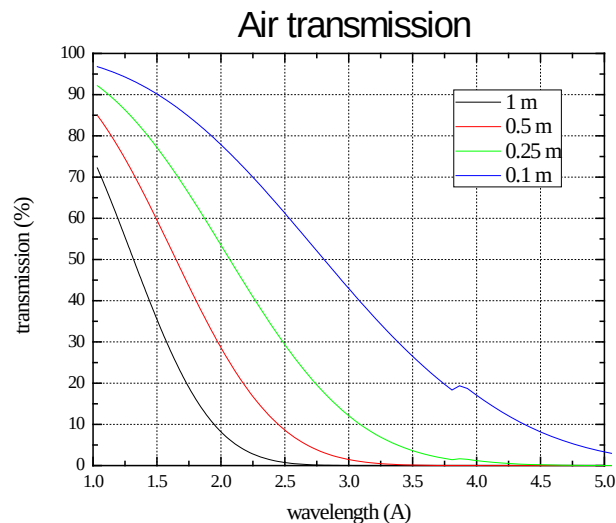
- Absorption:

- Air absorption
- Crystal, solvent and loop absorption

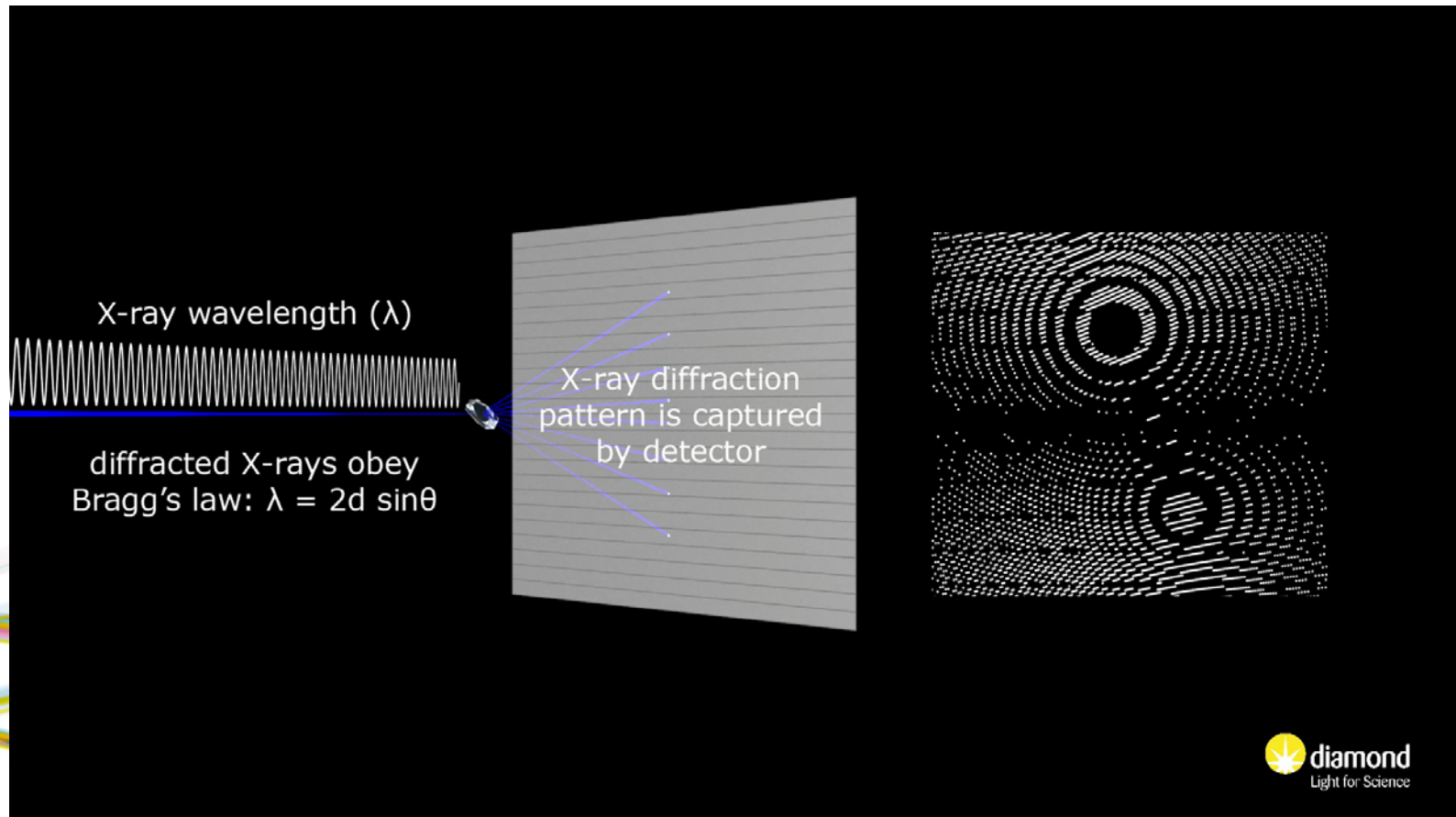


120 modules in vacuum
12,000,000 pixels
Half cylinder $r = 250$ mm
Width $z = 423.6$ mm
 $2\theta = \pm 100^\circ$ (40.3° laterally)

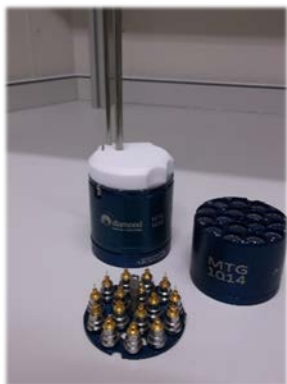
In-vacuum
crystallography:
Elimination of air scattering and
absorption



Challenges at long-wavelengths: Resolution



Sample preparation logistics



Tools sent to users

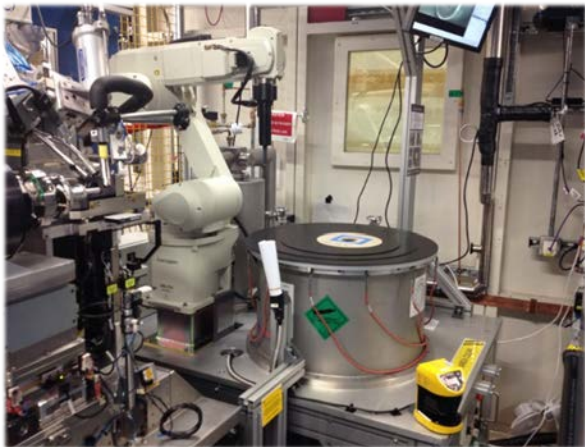


Users harvest and cryo-cool crystals



Samples sent to Diamond

Pre-screening on other MX beamlines



Transfer to I23 vacuum endstation

I23 thermally conductive sample holders and blocks



Diamond Cryogenic Sample Transfer System



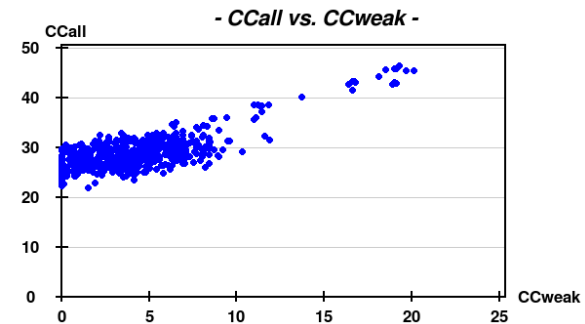
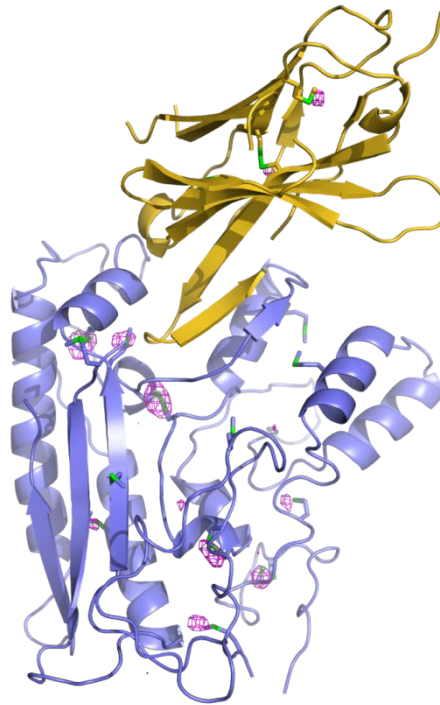
Sulfur SAD examples



Patch domain

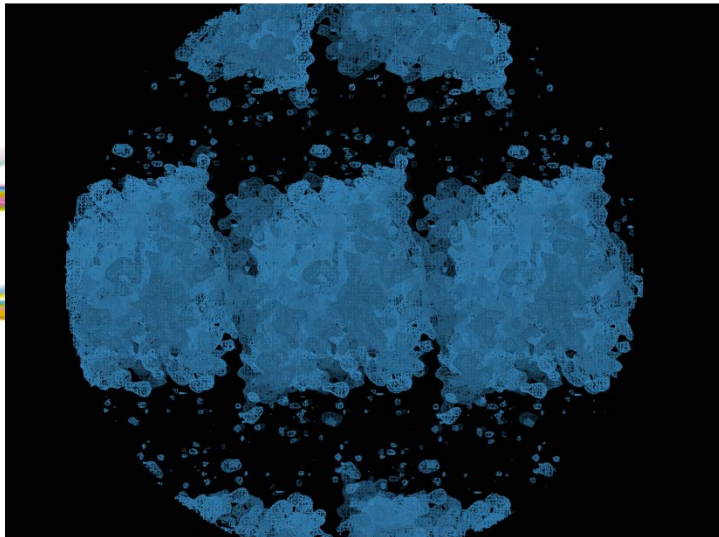
C. Siebold group

- Protein complex (antigen:nanobody)
- difficult and expensive to make
- SeMet failed/ HA screening/soaking
- 21 S / 427 amino acids
- Space group $P2_12_12_1$
- Solvent content: 0.48
- $\lambda = 2.75 \text{ \AA}$
- Bijvoet ratio 2.64% (1.55% at $\lambda = 2 \text{ \AA}$)
- Inverse beam $4 \times 200^\circ$ (single crystal)
- Data to $2.8 \text{ \AA}$ resolution

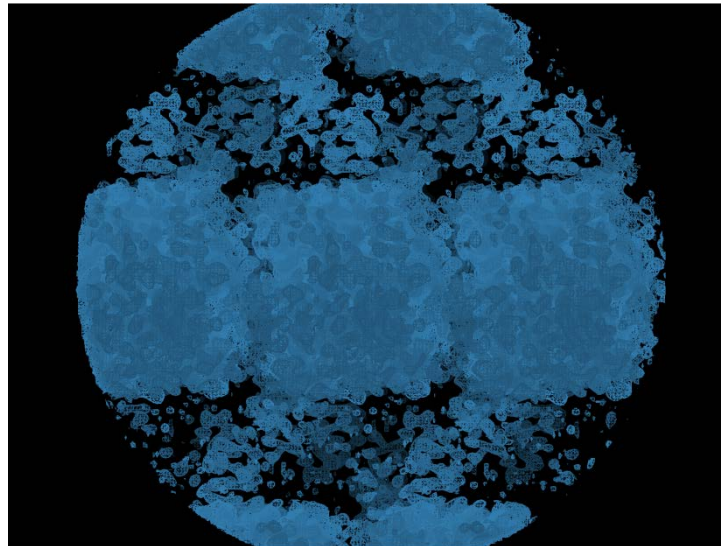


Anomalous peak:
4 - 9.5 σ
(11 - 15 σ for Pt)

User Pt soaks data



I23 data

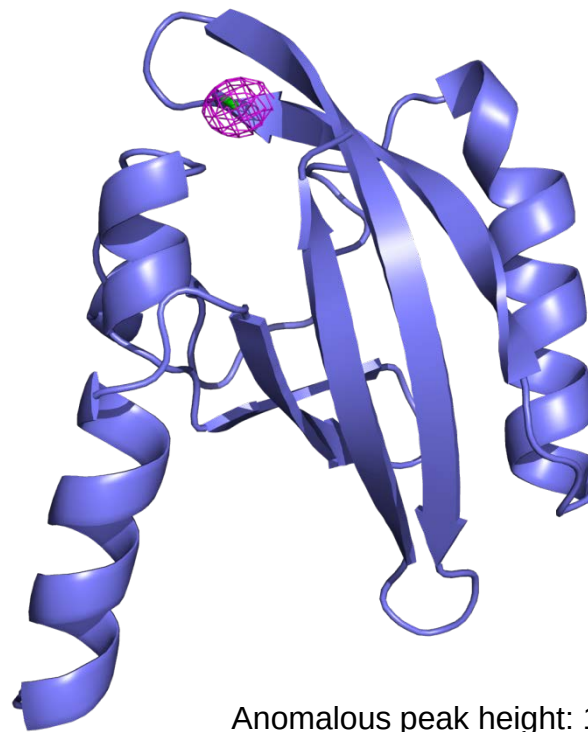
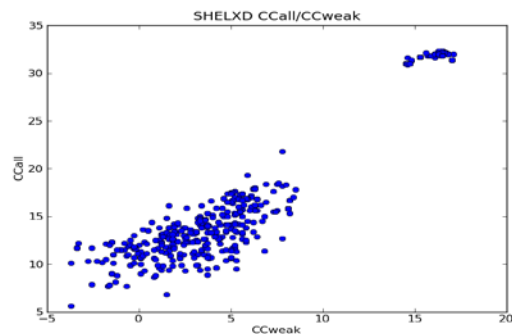




S-SAD 2

- MR not working
- Se-Met not possible (no MET)
- **1 S in 116 amino acids**
- 3 molecules in the asu
- Space group $P2_12_12$

- $\lambda = 2.75 \text{ \AA}$
- Bijvoet ratio 1.35% (0.6% at $\lambda = 2 \text{ \AA}$)
- Inverse beam $4 \times 180^\circ$ (single crystal)
- Solvent content: 0.45
- Data to $2.5 \text{ \AA}$ resolution



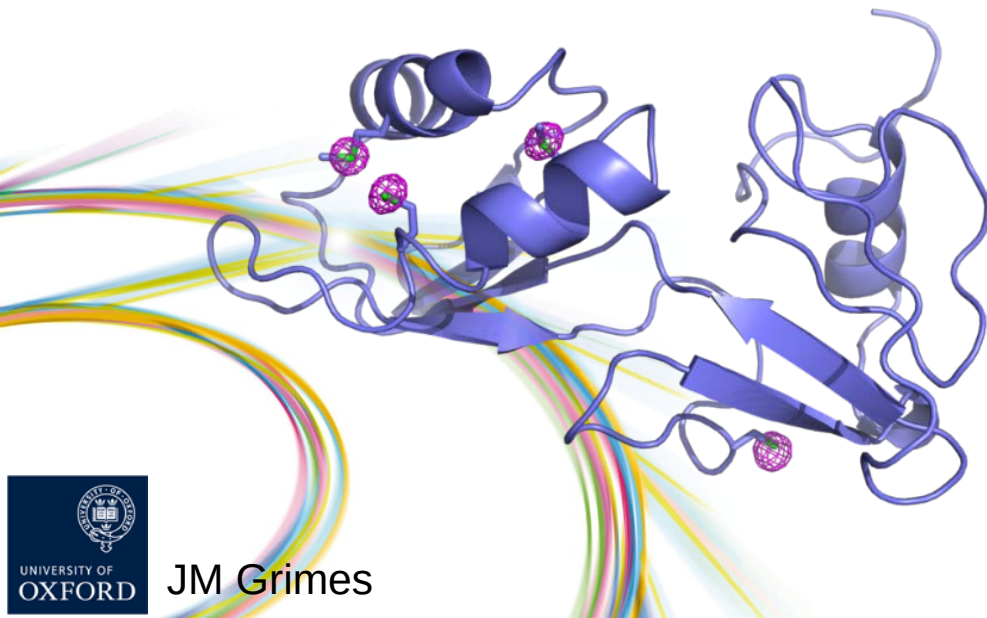
Anomalous peak height: 12 – 17 σ

Phases improved with 3-fold averaging

RRM

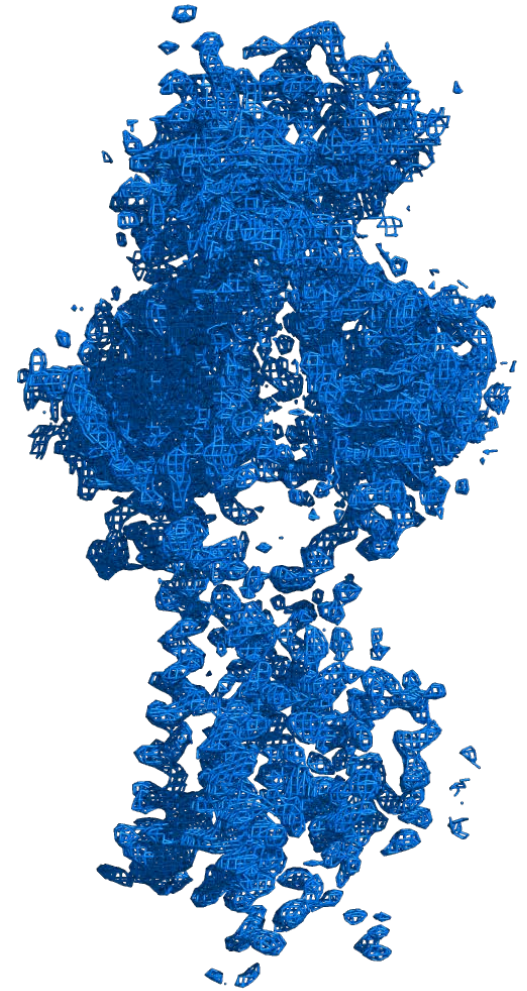
- 4 S /157 residues
- Single crystal
- Multiplicity: 6.1
- Space group: C2
- Max. resolution 1.8 Å
- 50% solvent content
- $\lambda = 2.7552 \text{ Å}$

Data collection	S-SAD ($\lambda=1.78\text{Å}$)
Space group	C2
Number of crystals	16
Cell dimensions	111.3, 47.2, 32.3, 90.0, 98.9, 90.0
Resolution (Å)	55.0 - 2.0
R_{merge}	14.0 (25.9)
I/σ	67.1 (8.5)
$CC_{1/2}$	1.0 (1.0)
Completeness (%)	93.3 (42.5)
Redundancy	167.5 (15.4)



Membrane protein: ACRB

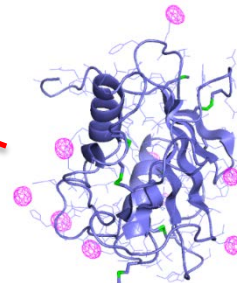
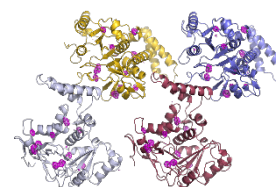
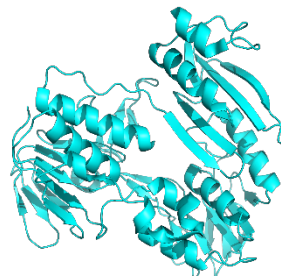
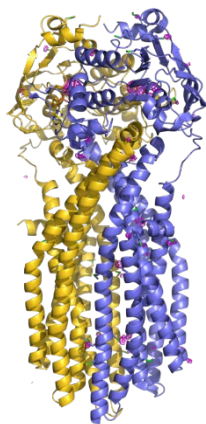
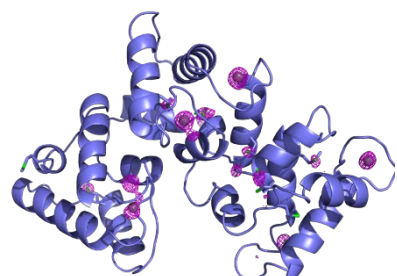
- 1049 residues
- 42 Met, 2 Cys
- Space group: *H*32
- Max. resolution 3.4 Å
- Multiplicity 80
- 72% solvent content
- $\lambda = 3.02$ Å
- S location for building!



Other SAD examples

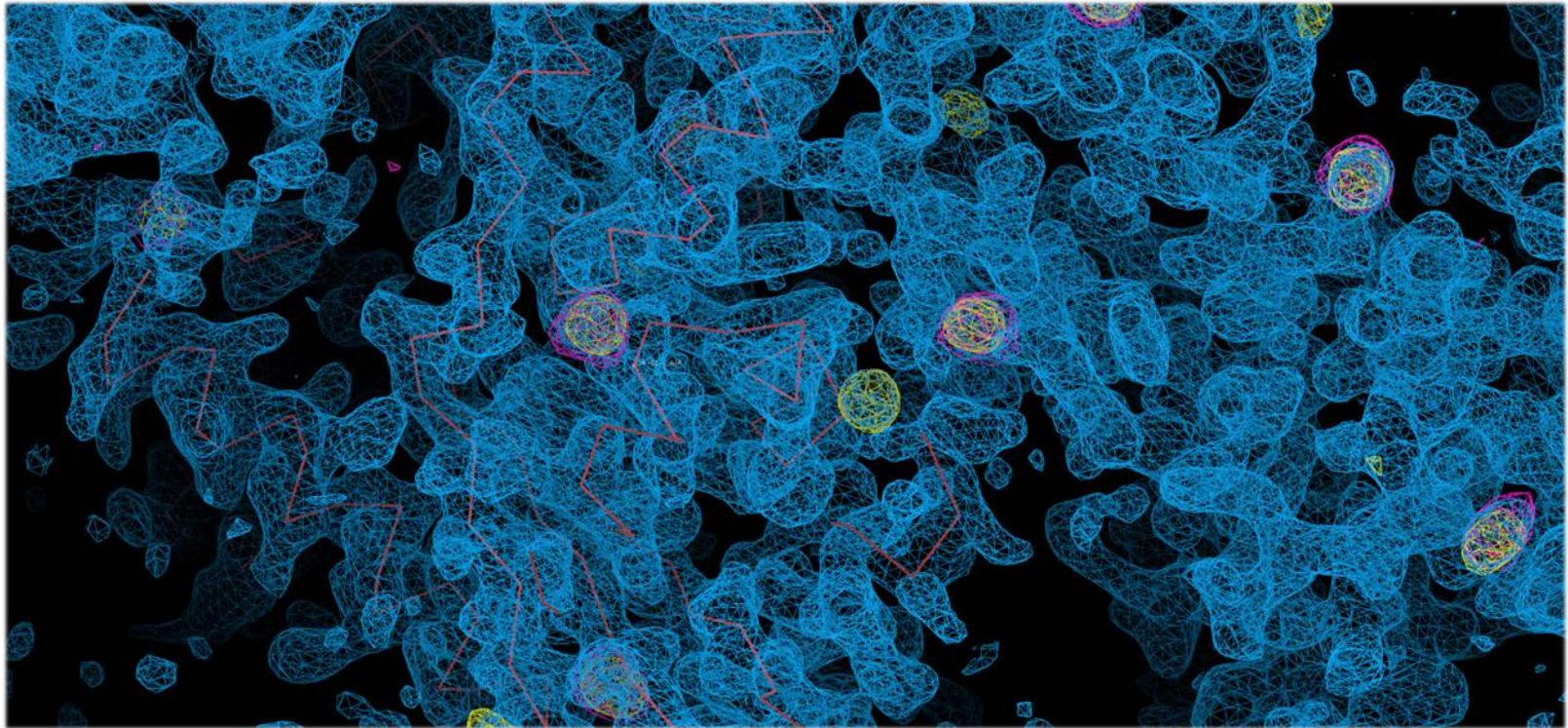


Other types of SAD phasing



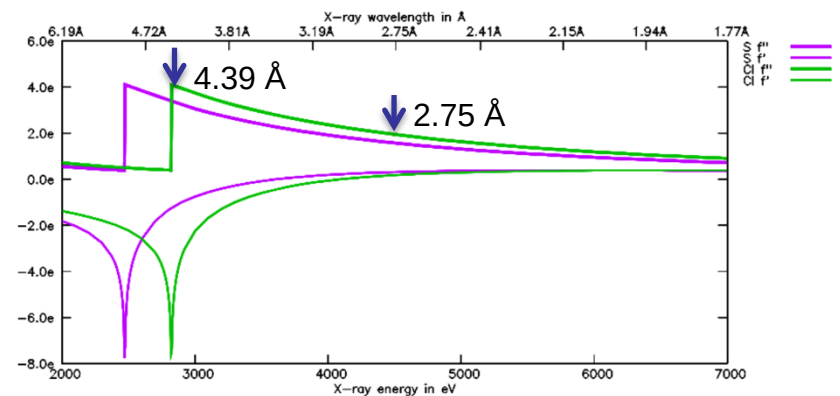
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

S-Cl SAD



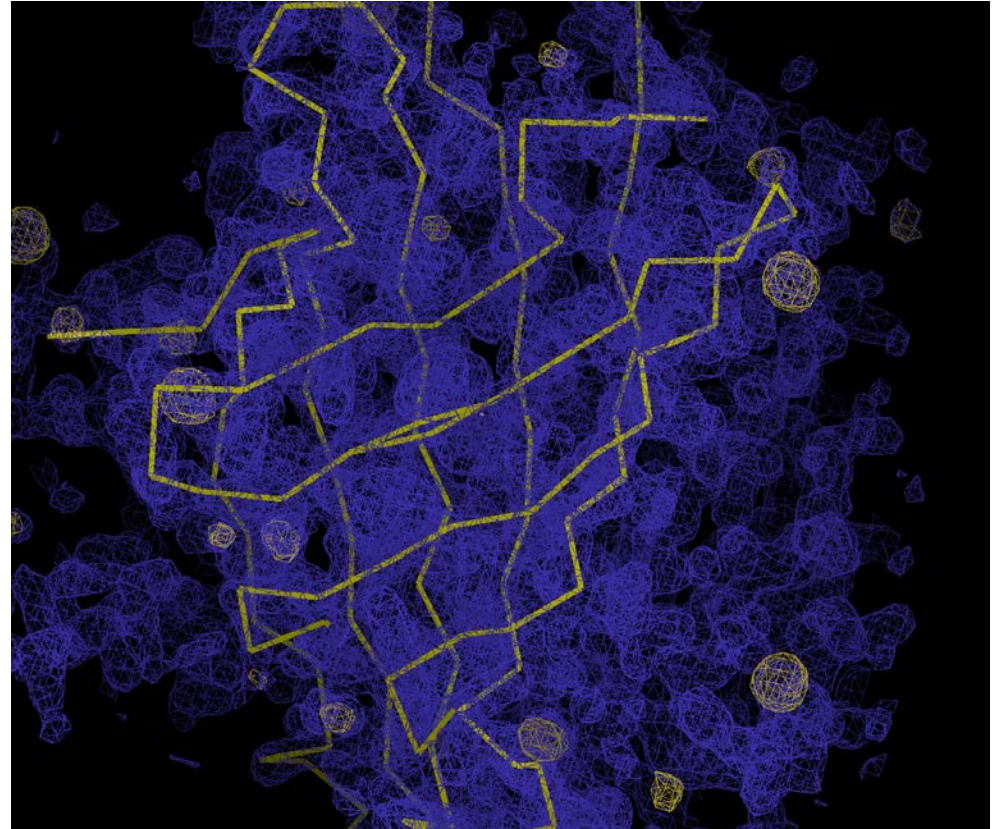
Crystals only grew after proteolytic cleavage

- 2 Å resolution data collected at $\lambda=2.75$ Å: 4 Cys (10-14 σ) and 3 Cl (6-15 σ) in 200 residues
- Dataset at $\lambda=4.42$ Å to confirm the Cl



CI-SAD

- When no S present ...
- Streptavidin – by accident
- 2.75 Å/ 4.5keV
- 124 aa, 1.8 Å res

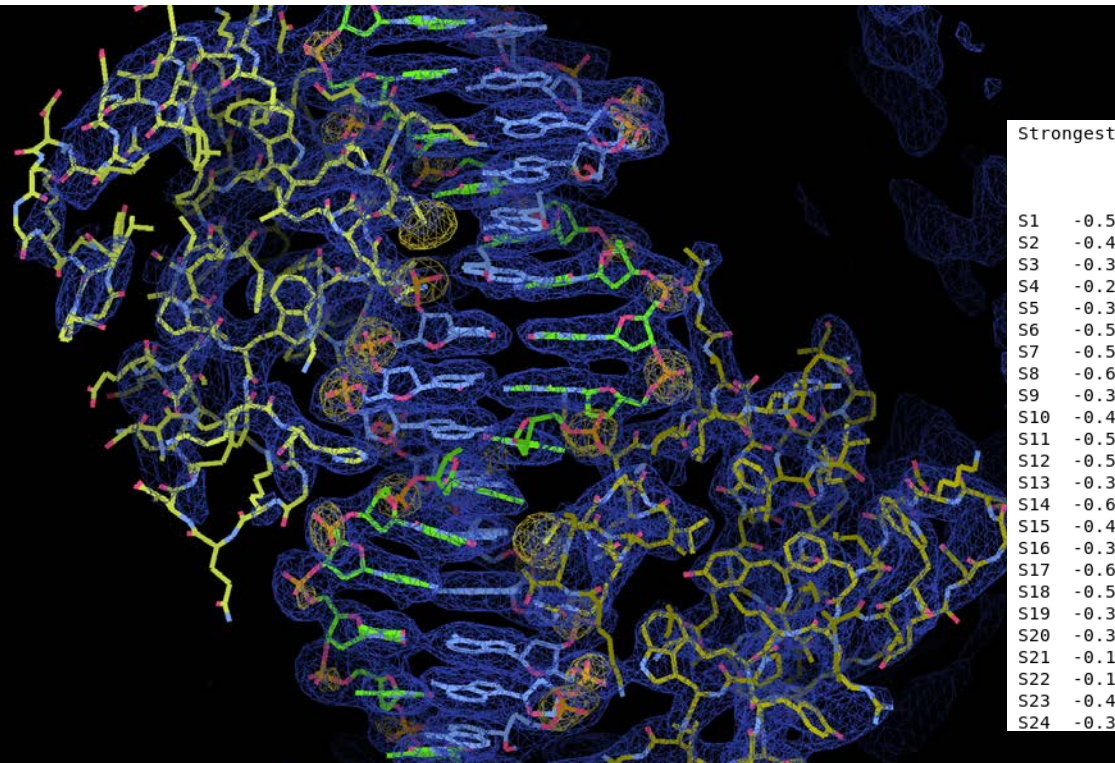
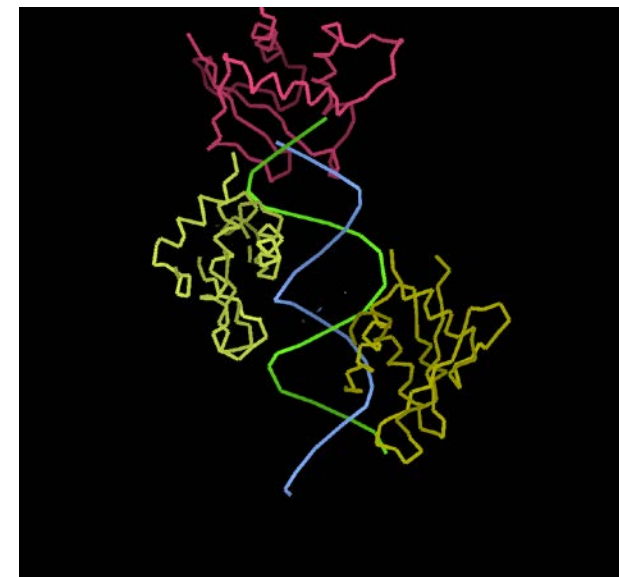


Strongest unique anomalous peaks

	X	Y	Z	Height(sig)	SOF	Nearest atom	
CL1	0.12007	0.28673	0.20421	21.69	1.000	0.161	CL_A:CL154
CL2	0.25070	-0.11130	0.27163	18.22	1.000	0.147	CL_A:CL152
CL3	0.55049	0.15263	0.35564	17.03	1.000	0.035	CL_A:CL150
CL4	0.11652	0.20638	0.34395	11.53	1.000	0.366	CL_A:CL155
CL5	0.24511	-0.01222	0.30005	8.79	1.000	0.369	CL_A:CL151
CL6	0.30127	-0.12587	0.25139	8.75	1.000	0.164	CL_A:CL153
CL7	0.21334	0.06462	0.34445	8.02	1.000	0.336	CL_A:CL156

S-P SAD

- DNA-protein complex: transcription factor
- 3 copies of protein + 2 nucleotide chains
- 3 S + 42 P
- $\lambda = 2.7552 \text{ \AA}$
- 2.6 A resolution

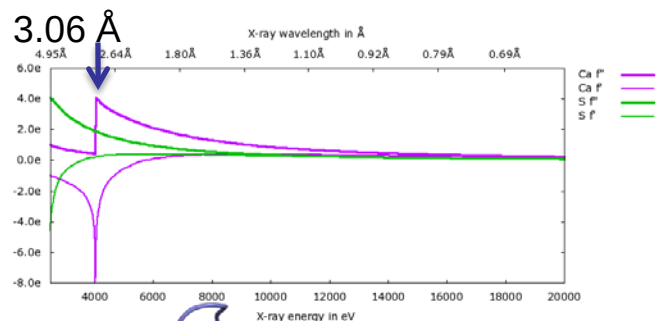


Strongest unique anomalous peaks

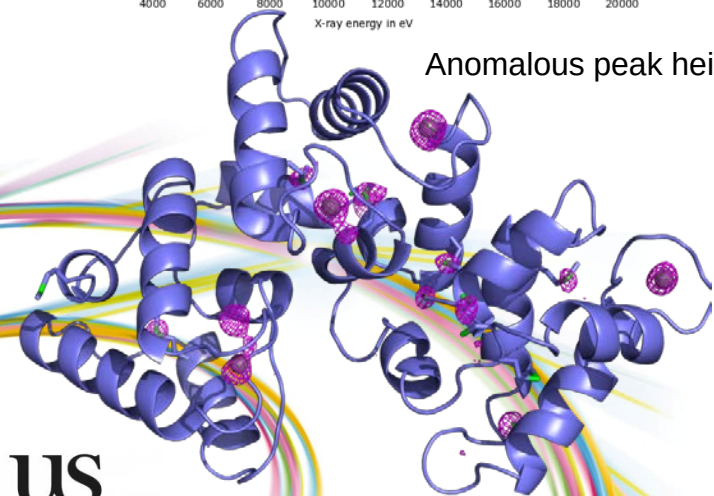
	X	Y	Z	Height(sig)	SOF	Nearest atom
S1	-0.50462	-0.07487	-0.61799	18.30	1.000	0.218 SG_A:CYS79
S2	-0.47304	-0.04165	-0.68116	13.56	1.000	0.058 P_E:DT13
S3	-0.32113	-0.03346	-0.66971	13.16	1.000	0.132 P_D:DC13
S4	-0.29208	0.03690	-0.64865	13.16	1.000	0.214 SG_B:CYS79
S5	-0.33852	0.01449	-0.68998	13.02	1.000	0.193 P_D:DG14
S6	-0.51915	0.04316	-0.62131	12.82	1.000	0.193 P_E:DG11
S7	-0.51146	-0.00334	-0.65367	12.76	1.000	0.129 P_E:DT12
S8	-0.61710	-0.13862	-0.64571	11.79	1.000	0.177 P_D:DA6
S9	-0.30427	-0.06975	-0.63729	11.17	1.000	0.222 P_D:DC12
S10	-0.42176	-0.09297	-0.68401	10.09	1.000	0.185 P_E:DT14
S11	-0.53982	-0.10472	-0.57872	9.10	1.000	0.428 P_D:DG8
S12	-0.59388	-0.12196	-0.60533	8.64	1.000	0.243 P_D:DA7
S13	-0.37394	0.06571	-0.70305	8.09	1.000	0.248 P_D:DA15
S14	-0.60130	-0.17344	-0.68630	8.05	1.000	0.183 P_D:DA5
S15	-0.46872	-0.09583	-0.54937	8.03	1.000	0.281 P_D:DA9
S16	-0.37520	-0.13285	-0.66534	7.84	1.000	0.321 P_E:DC15
S17	-0.63336	-0.19672	-0.58281	7.65	1.000	0.432 P_E:DA20
S18	-0.56681	-0.20419	-0.56273	7.35	1.000	0.750 P_E:DT19
S19	-0.32583	-0.08189	-0.59164	7.28	1.000	0.588 P_D:DA11
S20	-0.30758	0.06400	-0.56801	7.00	1.000	0.335 P_E:DT8
S21	-0.17451	0.05391	-0.63012	6.88	1.000	0.355 P_E:DT6
S22	-0.13409	0.11855	-0.69574	6.67	1.000	0.867 P_E:DA4
S23	-0.46447	0.07793	-0.59757	6.66	1.000	0.253 P_E:DG10
S24	-0.38112	-0.09080	-0.55818	6.33	1.000	0.104 P_D:DA10

Ca-SAD

- 4 Calcium in 261 amino acids
- Space group $P2_12_12$
- $\lambda = 3.02 \text{ \AA}$
- Inverse beam $2 \times 200^\circ$
- Data to $2.1 \text{ \AA}$ resolution



Anomalous peak height: 13 – 29 σ



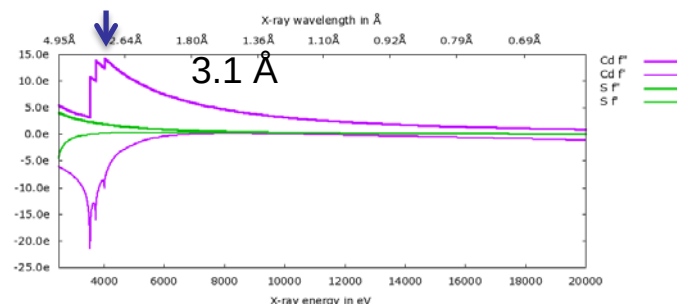
US
UNIVERSITY
OF SUSSEX

J.W. Noble

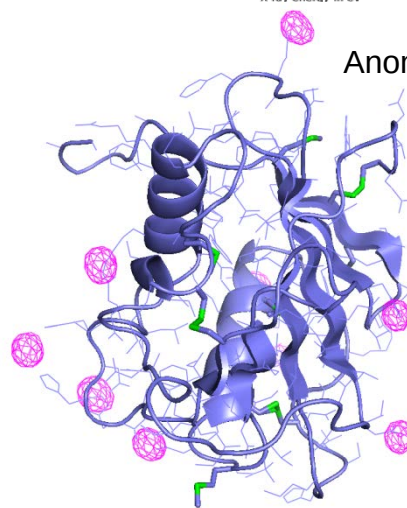
Noble, J. W., Almalki, R., Roe, S. M., Wagner, A., Duman, R. & Attack, J. R. (2018). Acta Cryst. D74, 1008-1014.

Cd-SAD

- 11 S / 146 amino acids
- Space group $P6_322$
- $\lambda = 2.75 \text{ \AA}$
- Inverse beam $2 \times 180^\circ$
- Data to $3 \text{ \AA}$ resolution
- Initially collected as S-SAD



Anomalous peak height: 10 – 17 σ



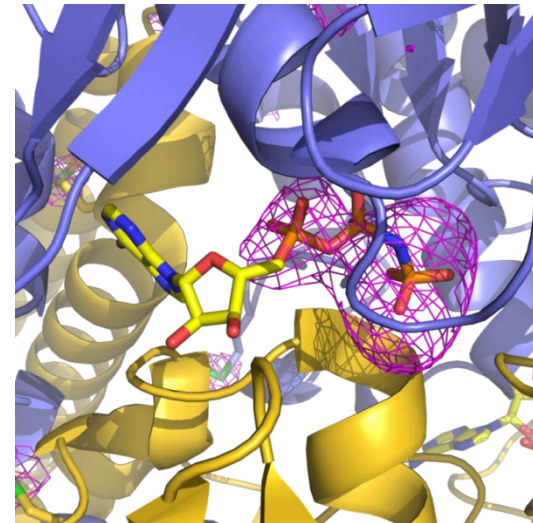
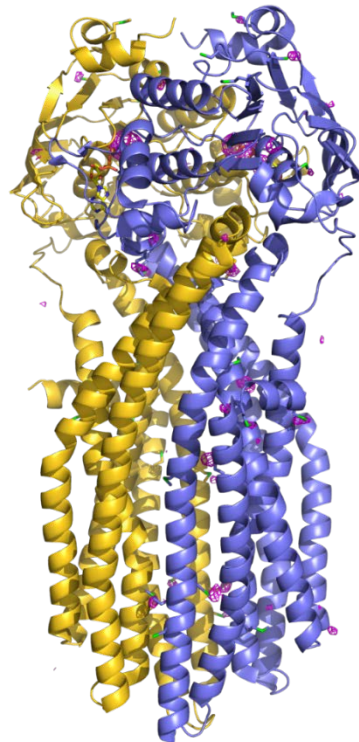
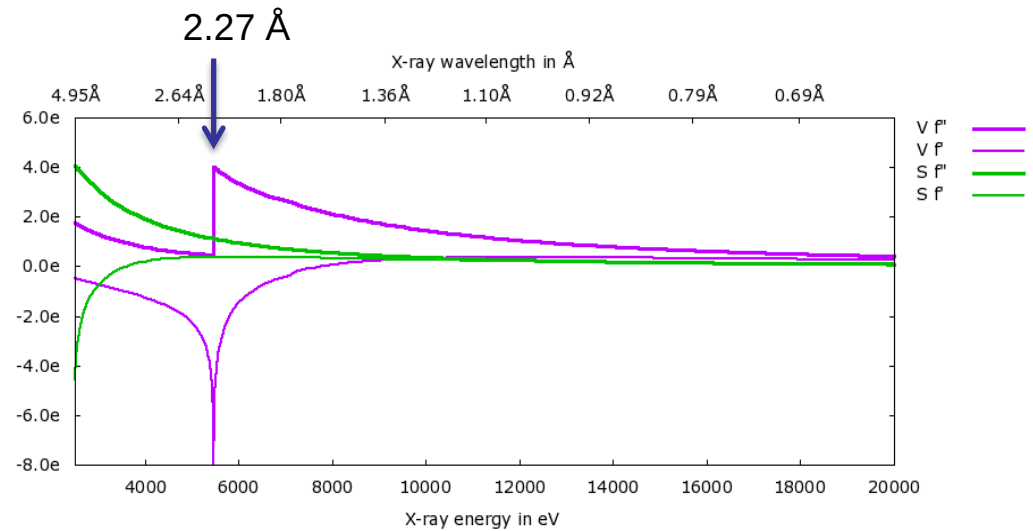
T.A. Bowden



Pryce, R., Ng, W.M., Zeltina, A., Watanabe, Y., El Omari, K., Wagner, A., Bowden, T.A., Structure-based classification defines the discrete conformational classes adopted by the arenaviral GP1, Journal of Virology Dec 2018. 93 (1) e01048-18

V-SAD

- 19 sulphurs in 580 amino acids
- 1 Vanadium
- 2 molecules in the asu
- Space group C2
- $\lambda = 2.26 \text{ \AA}$
- Inverse beam $2 \times 180^\circ$
- Solvent content: 0.7
- Data to $3.8 \text{ \AA}$ resolution
- Very anisotropic ($\rightarrow$ Staraniso)



Bountra, K., et al. (2017). "Structural basis for antibacterial peptide self-immunity by the bacterial ABC transporter McjD." *The EMBO Journal* **36**(20): 3062-307

Imperial College
London

Research Complex
at Harwell

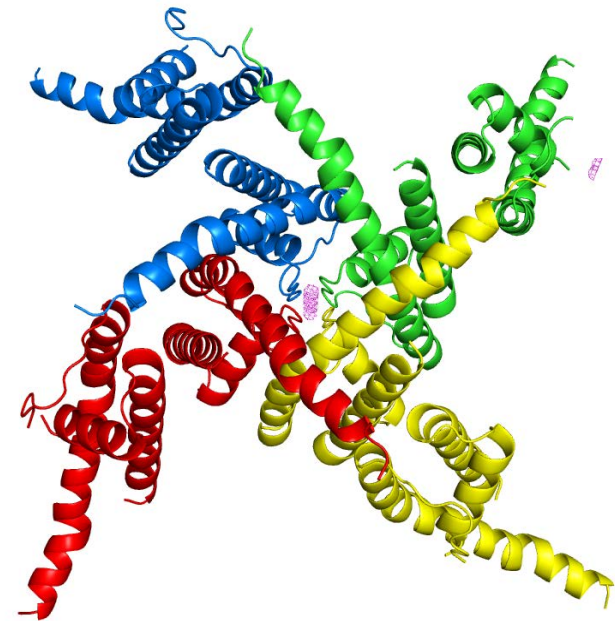
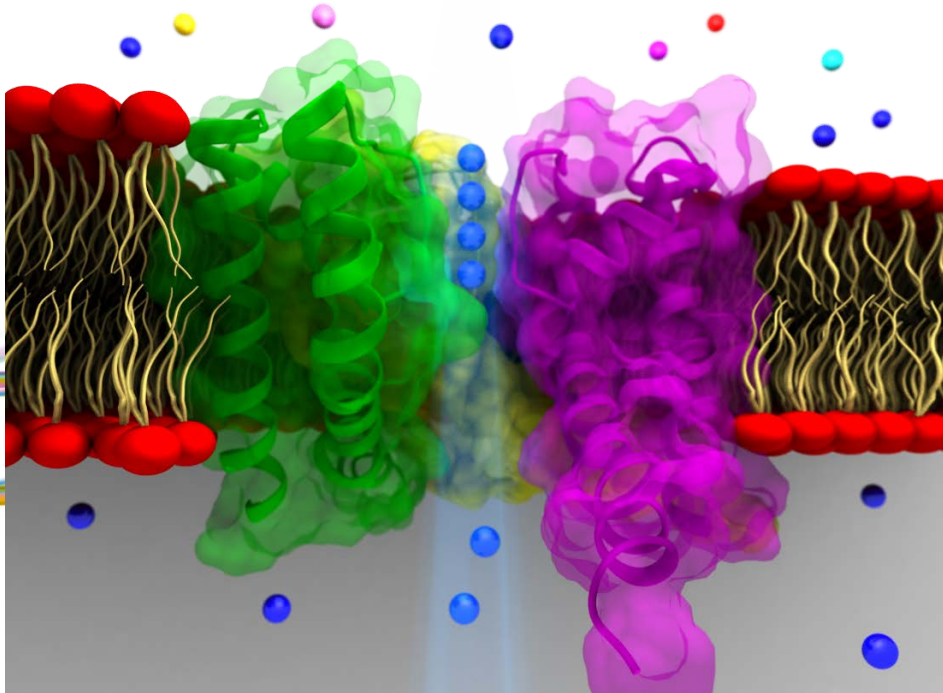
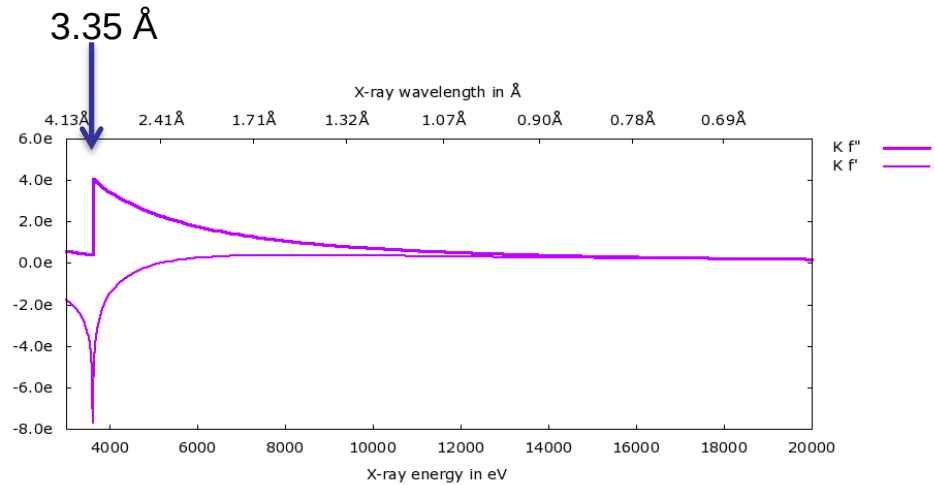
Kostas Beis



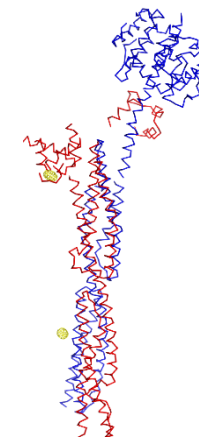
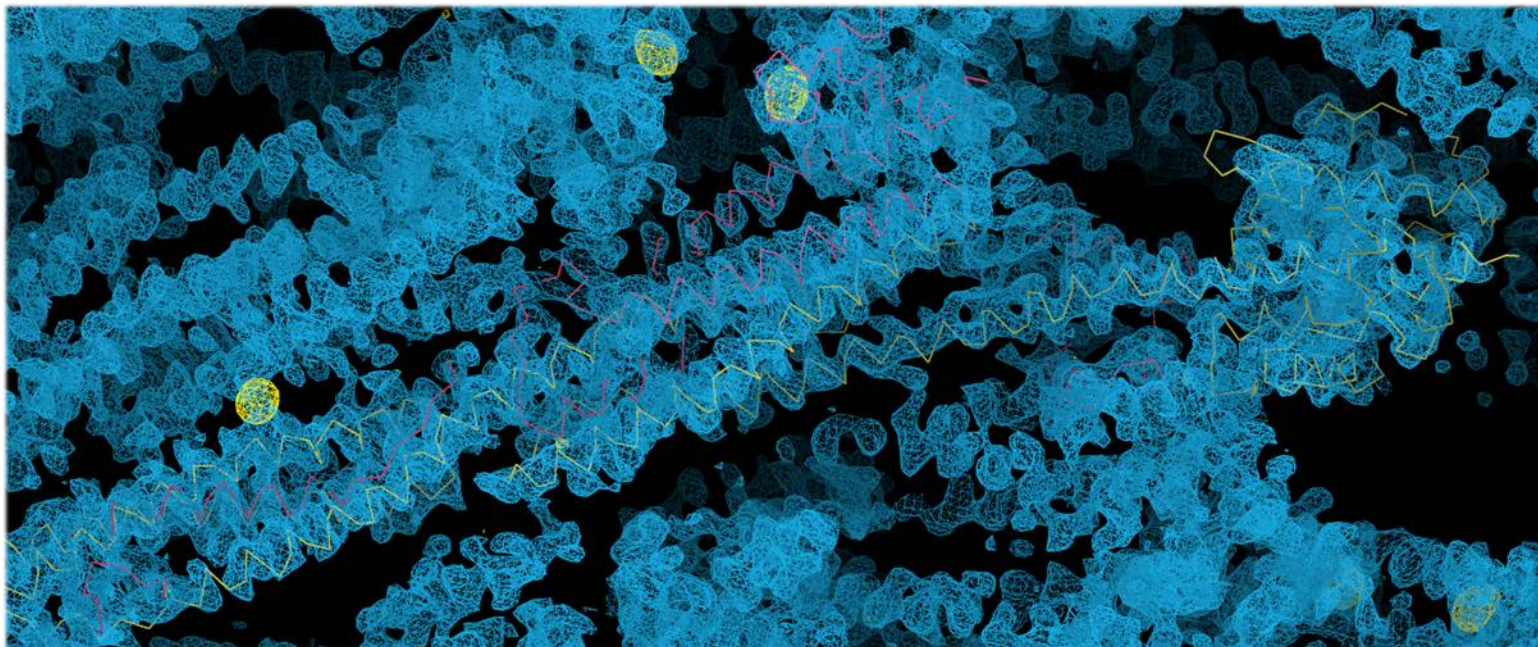
K-SAD

Na/K ion transporter

- 0 sulfurs in 96 amino acids
- Tetramer (2 K per monomer)
- Space group *I*4
- $\lambda = 3.35 \text{ \AA}$
- Inverse beam $2 \times 180^\circ$
- Data to $2.2 \text{ \AA}$ resolution (limited by detector)

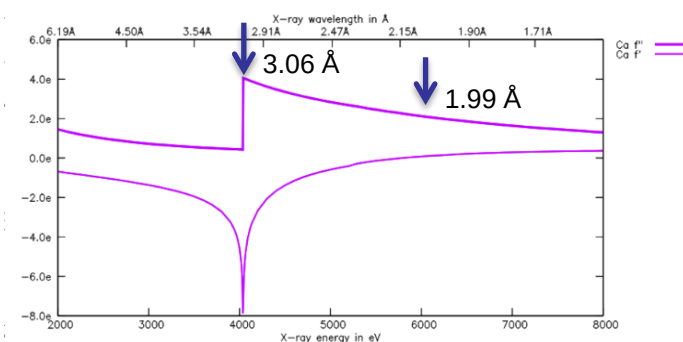


Anomalous peak height: $27 - 37 \sigma$



SUBSET OF INTENSITY DATA WITH SIGNAL/NOISE ≥ -3.0 AS FUNCTION OF RESOLUTION

RESOLUTION LIMIT	NUMBER OF REFLECTIONS OBSERVED	NUMBER OF REFLECTIONS UNIQUE	NUMBER OF REFLECTIONS POSSIBLE	COMPLETENESS OF DATA	R-FACTOR observed	R-FACTOR COMPARED expected	I/SIGMA	R-meas	CC(1/2)	Anomal Corr	SigAno	Nano	
11.00	118803	1163	1166	99.7%	3.5%	3.9%	118803	185.67	3.5%	100.0*	99*	16.978	364
10.00	41909	392	392	100.0%	3.7%	4.2%	41909	167.93	3.7%	100.0*	98*	10.714	149
9.00	57262	568	568	100.0%	4.5%	4.7%	57262	138.89	4.5%	100.0*	98*	9.743	215
8.00	97780	938	938	100.0%	7.1%	6.6%	97780	98.06	7.2%	100.0*	96*	7.026	377
7.00	153762	1489	1489	100.0%	14.5%	13.3%	153762	50.99	14.5%	100.0*	86*	4.284	610
6.00	278329	2683	2684	100.0%	38.1%	37.6%	278329	19.49	38.2%	99.8*	67*	2.207	1130
5.50	214464	2128	2128	100.0%	65.3%	65.6%	214464	10.69	65.6%	98.9*	31*	1.623	919
5.00	314243	3110	3110	100.0%	50.4%	50.9%	314243	10.03	50.7%	99.5*	26*	1.518	1362
4.70	252401	2527	2531	99.8%	70.6%	71.8%	252401	9.22	70.9%	99.5*	16*	1.216	1108
4.50	193536	2081	2083	99.9%	111.5%	114.7%	193536	5.60	112.1%	98.7*	10	1.050	928
4.30	238975	2494	2494	100.0%	175.8%	183.1%	238975	3.49	176.8%	97.1*	9	0.878	1114
4.10	270481	3018	3019	100.0%	328.7%	345.9%	270481	1.70	330.5%	92.1*	3	0.699	1354
4.00	158505	1766	1768	99.9%	420.8%	442.6%	158505	1.24	423.1%	89.7*	7	0.646	789
3.90	168839	1937	1937	100.0%	601.0%	637.2%	168839	0.79	604.5%	84.9*	4	0.576	882
3.80	102474	2082	2082	100.0%	902.1%	959.2%	102474	0.34	911.4%	38.6*	-2	0.534	939



- 3.8 Å resolution
 - Peak $\lambda=3.066$ Å, $f'=-6.74$, $f''=6.55$
 - High remote $\lambda=1.994$ Å, $f'=0.27$ and $f''=2.1$

- 1.5 Ca to 895 amino acids (1 on 2-fold axis)
- 15 σ anomalous peak heights

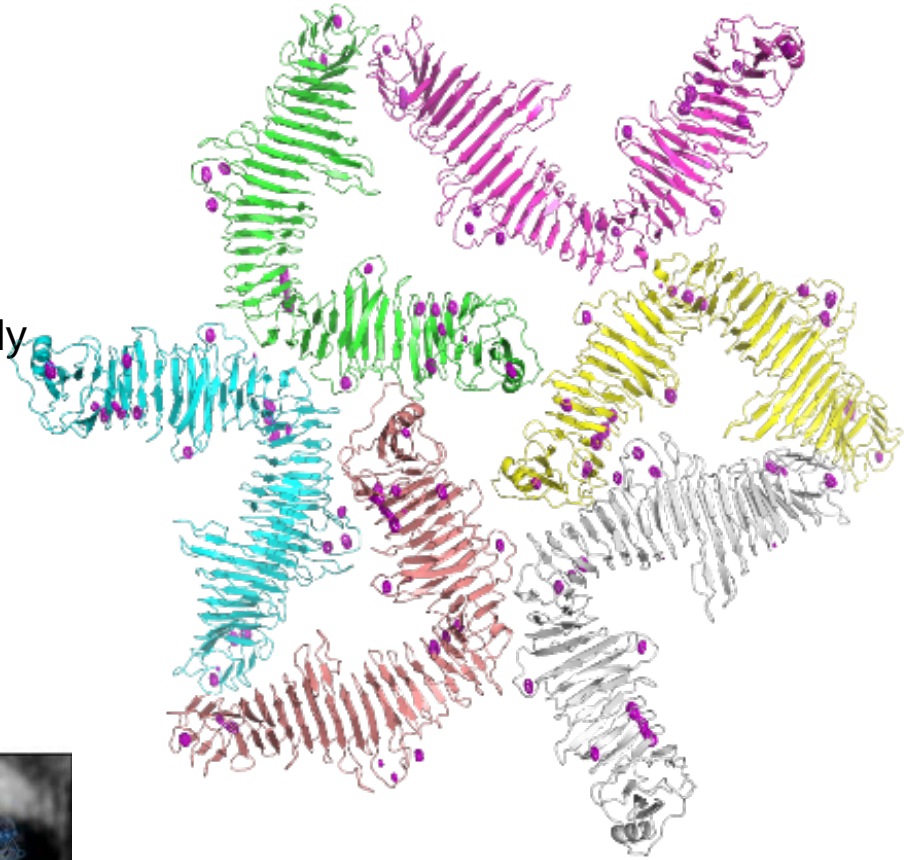
Element identification

Anomalous difference maps

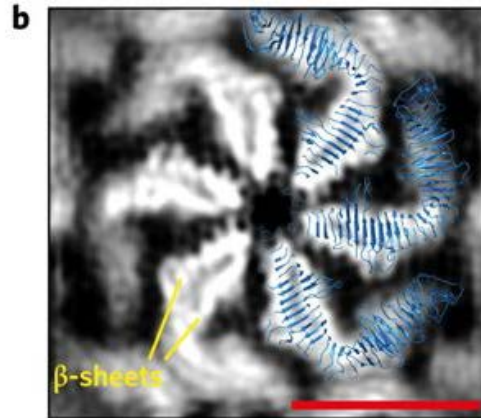
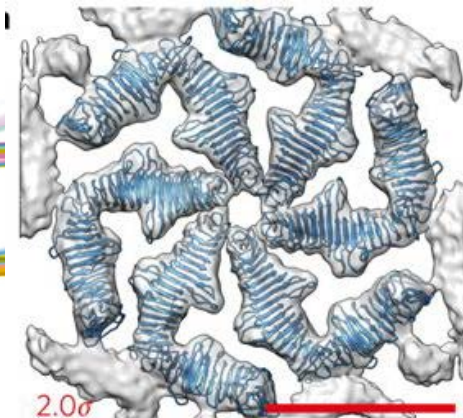


Ca identification

- Journal reviewer commented on Ca identification
- RsaA protein responsible for S-layer assembly
- Ca^{2+} important for S-layer lattice formation
- Data collected at $\lambda = 3.02 \text{ \AA}$
- 19 Ca built in 471 amino acids
- Space group $P2_12_12_1$
- $3.5 \text{ \AA}$ resolution



X-ray structure of RsaA



Cryo-ET structure of the S-layer

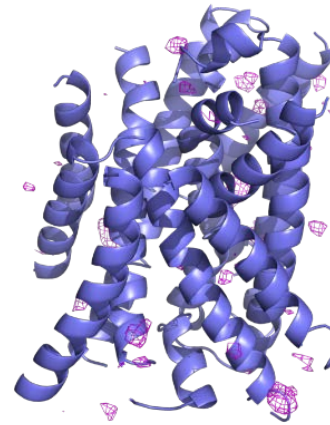
Bharat, T. A. M., et al. (2017). "Structure of the hexagonal surface layer on *Caulobacter crescentus* cells." *Nature Microbiology* **2**: 17059.

Tanmay Bharat
Jan Löwe



S identification

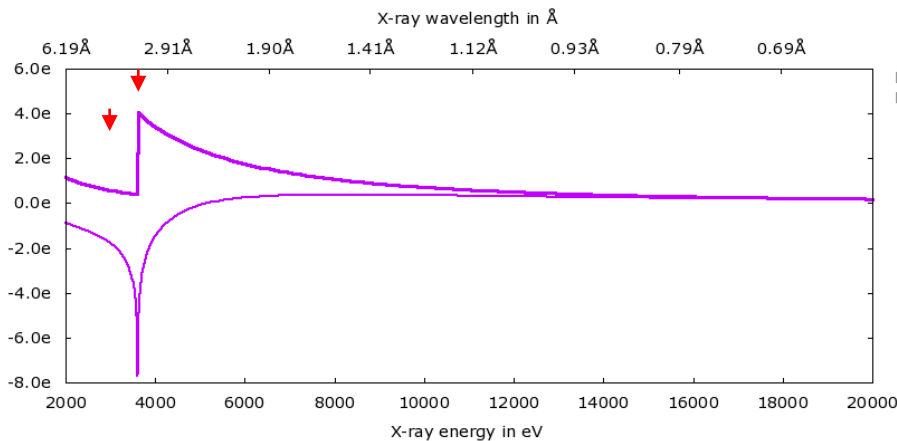
- Help with sequence assignment
- Membrane protein (LCP)
- 13 sulfurs in 471 amino acids
- Space group $P2_12_12_1$
- $\lambda = 3.1 \text{ \AA}$



S. Newstead

K identification

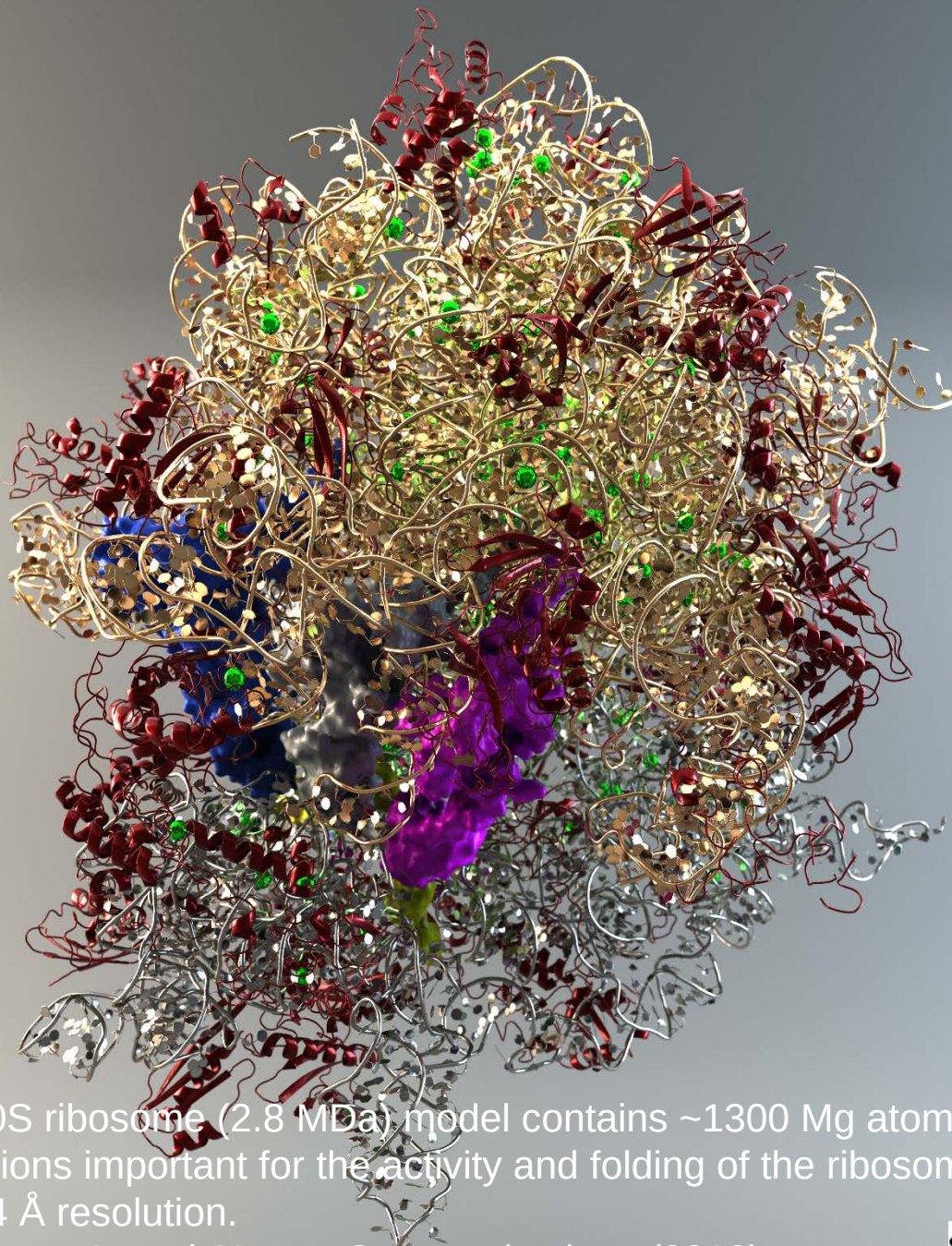
- Experiments above and below the K-edge ($\lambda=3.44 \text{ \AA}$).



A. Rozov & G. Yusupova

igbmc
institut de génétique et de
biologie moléculaire et cellulaire



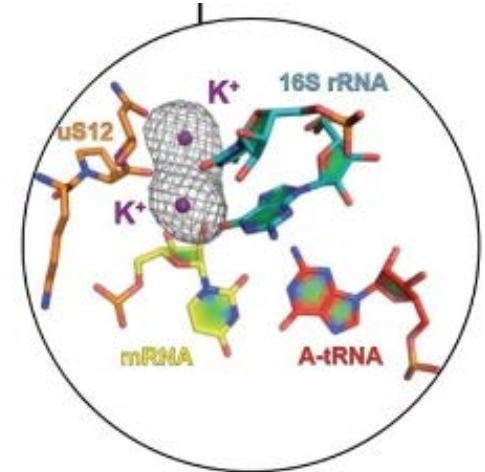


- 70S ribosome (2.8 MDa) model contains ~1300 Mg atoms.
- K ions important for the activity and folding of the ribosome.
- ~4 Å resolution.
- Rozov A *et al.* Nature Communications (2019).

Peptidyl transferase center



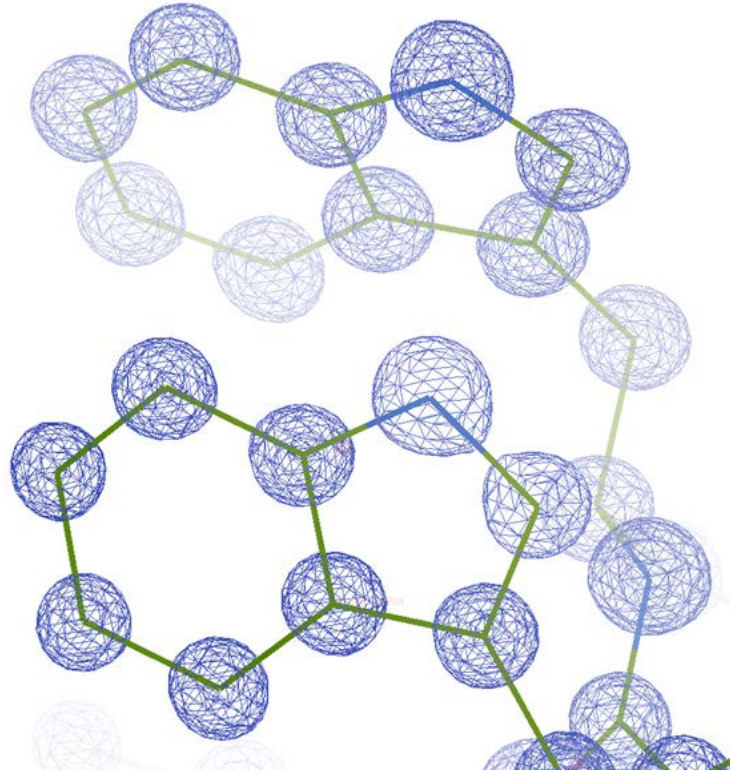
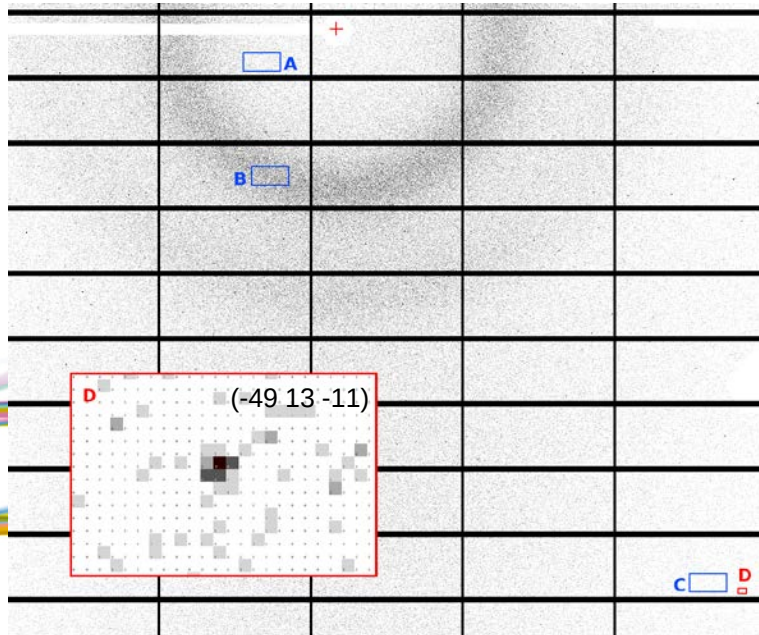
Decoding center



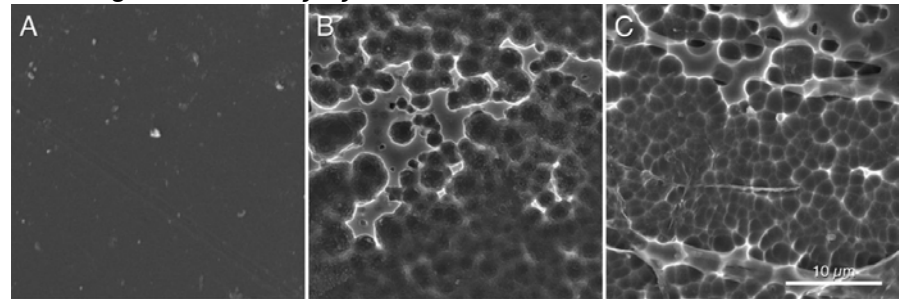
High-resolution data

PETase – plastic degrading enzyme

- Space group $P2_12_12_1$
- $\lambda = 1.24 \text{ \AA}$
- Data to $0.92 \text{ \AA}$ resolution
- No signs of specific radiation damage
- Very low background (1.6 counts in water ring, 0.1 counts at $1.0 \text{ \AA}$ resolution)



PET degradation assay by PETase



Austin, H. P., et al. (2018). "Characterization and engineering of a plastic-degrading aromatic polyesterase." Proceedings of the National Academy of Sciences

Mark Allen
John McGeehan

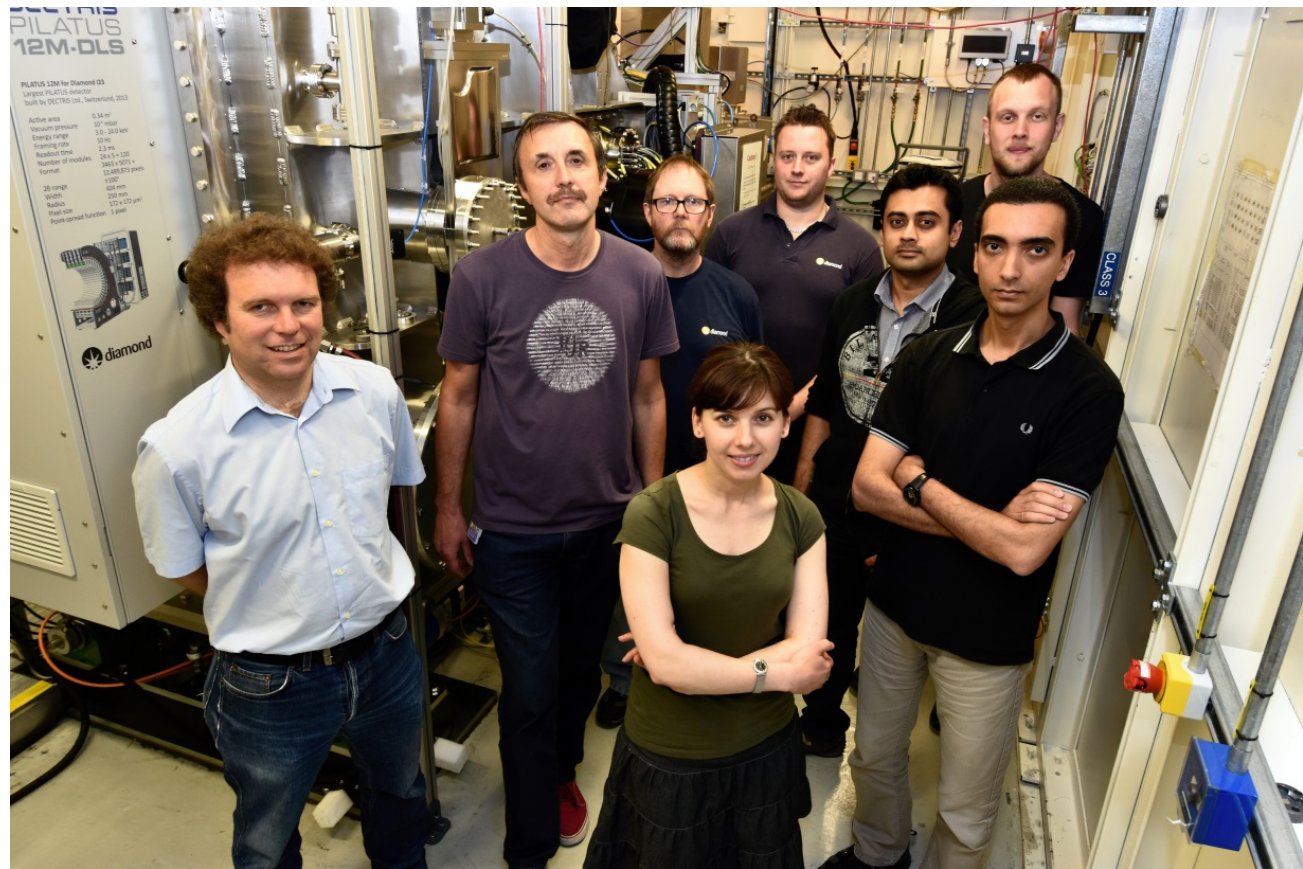
Conclusions

- I23 delivers a high anomalous signal-to-noise ratios thanks to:
 - reduction of background (in vacuum)
 - Increase of anomalous signal (long wavelength)
- High multiplicity for S-SAD is not needed anymore even with low symmetry SG. Useful if non-isomorphous crystals!
- Minimum of 1S / 116 residues (so far).
- Successful SAD experiments with S, K, P, Cl, Ca, V, Cd, I, Au.
- Unique opportunities to identify Cl, K, Ca ions.

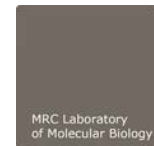
I23 Team

- Armin Wagner
- Kamel El Omari
- Vitaliy Mykhaylyk
- Chris Orr
- Vinay Grama
- Adam Prescott
- Arvinder Palaha
- James O'Hea
- Paul Hathaway
- Kevin Wilkinson

- Dave Stuart

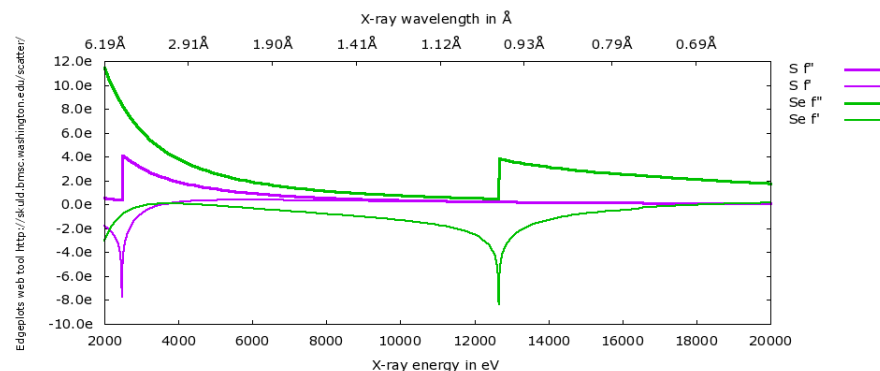


- Wolfgang Kabsch
- Gerard Bricogne

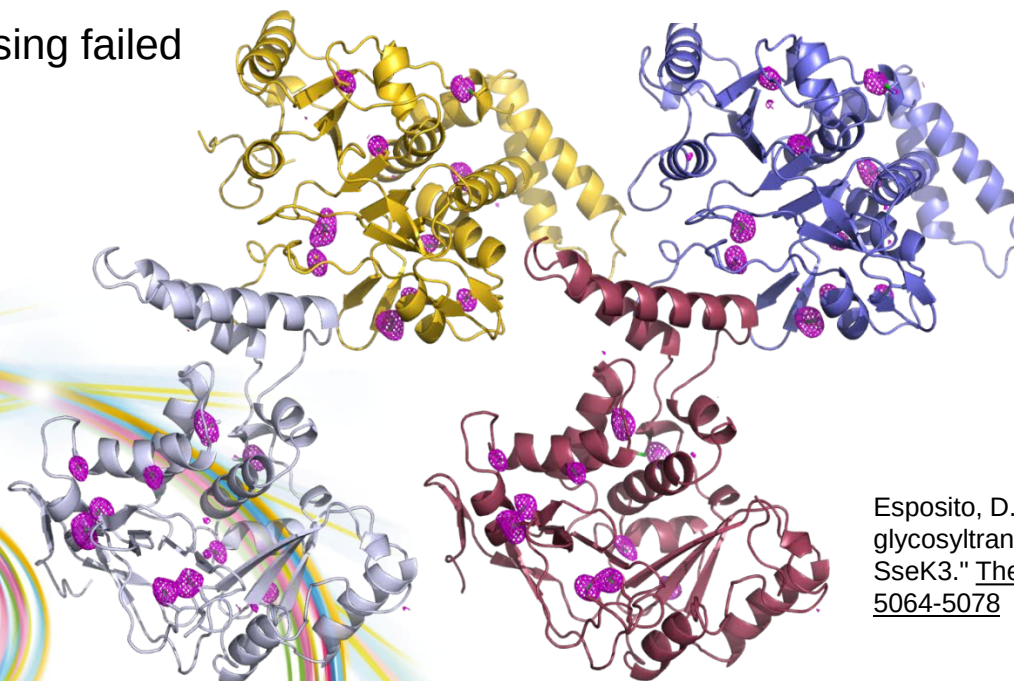


SSEK

- 5 Cys, 5 SeMet in 322 amino acids
- 4 molecules in the asu with **tNCS**
- Space group $P2_1$
- $\lambda = 2.75 \text{ \AA}$
- Bijvoet ratio 2.1%
- Inverse beam $8 \times 180^\circ$ (single crystal)
- Solvent content: 0.48
- Data to $2.1 \text{ \AA}$
- SeMet phasing failed



Anomalous peak
height: $7 - 16 \sigma$



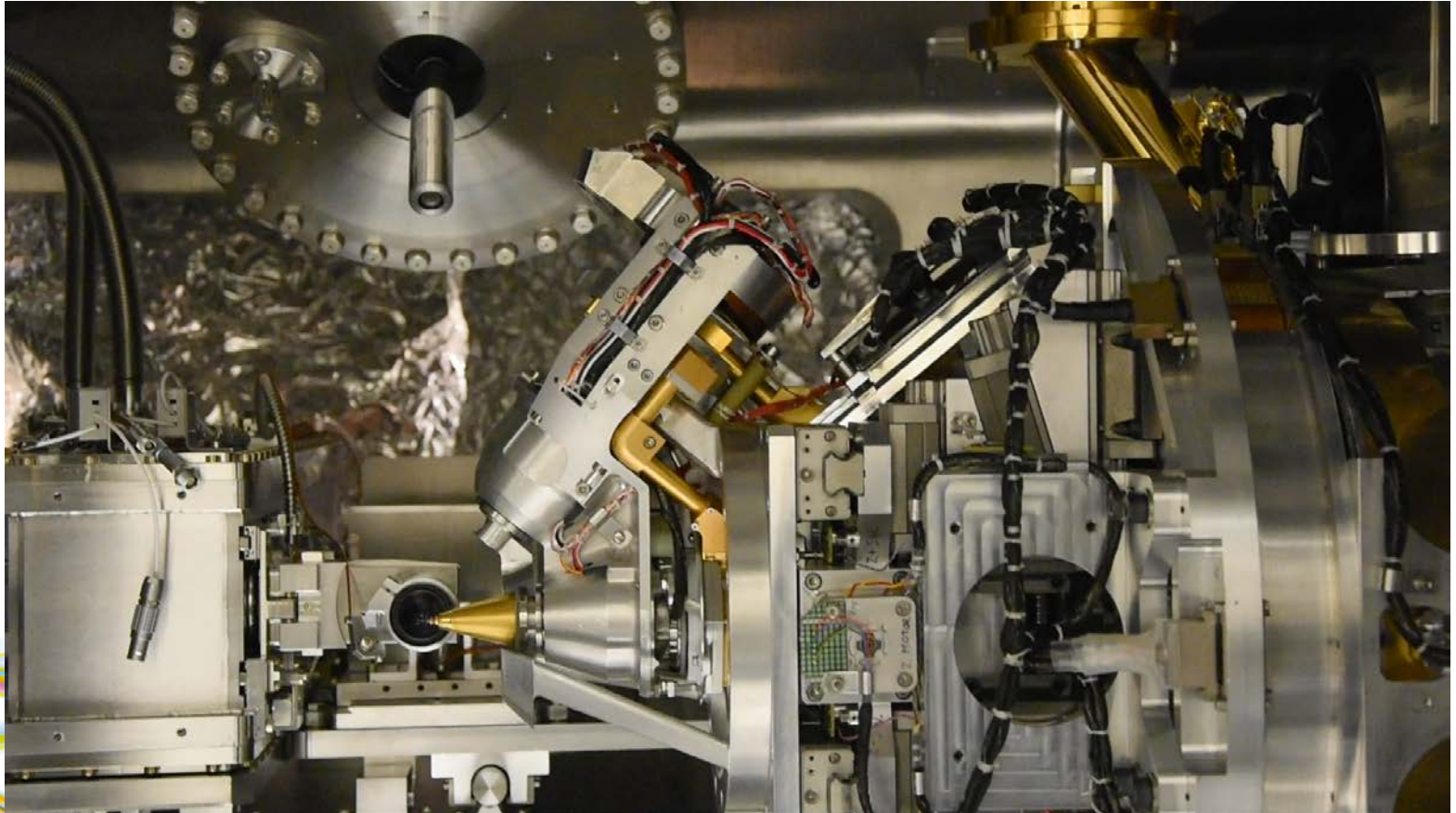
$\lambda = 2.75 \text{ \AA}$

$f''(\text{S}) = 1.57 \text{ e}^-$

$f''(\text{Se}) = 3.14 \text{ e}^-$

Esposito, D., et al. (2018). "Structural basis for the glycosyltransferase activity of the Salmonella effector SseK3." *The Journal of Biological Chemistry* **293**(14): 5064-5078

Multi-axis goniometer

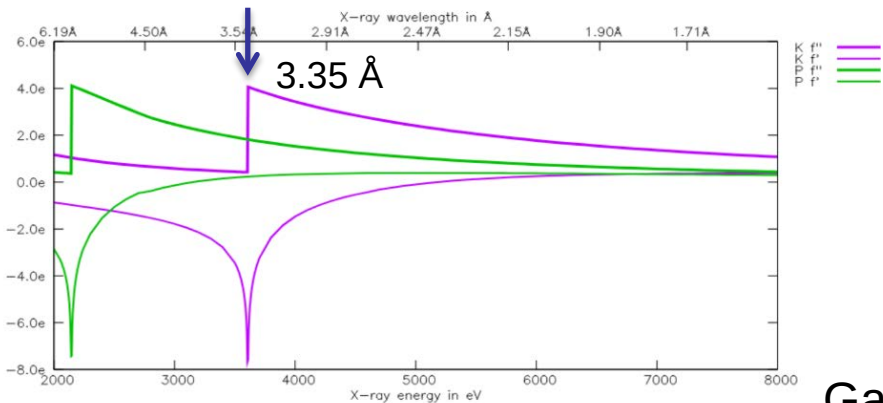
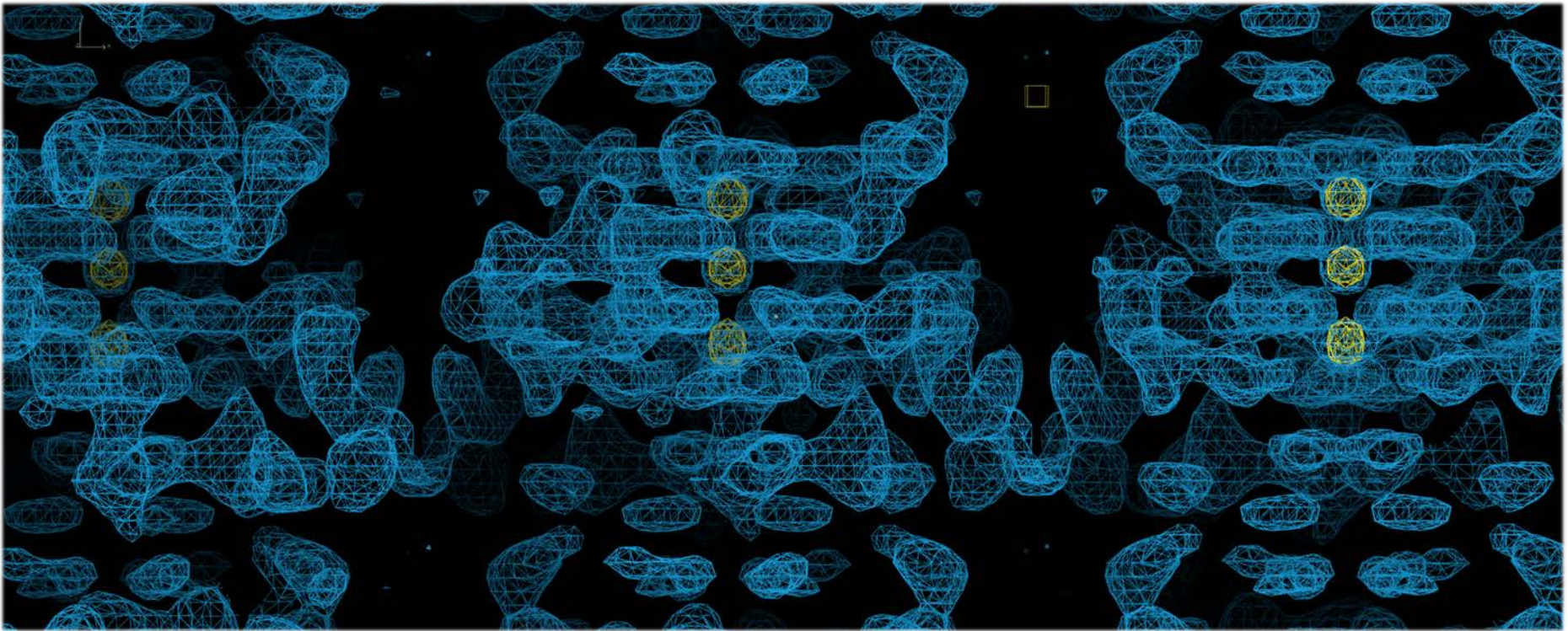


Science & Technology Facilities Council
UK Astronomy Technology Centre



K-SAD

RNA



- $\lambda=3.35 \text{ \AA}$ ($f' = -3.29$, $f'' = 3.9$)
- resolution $2.2 \text{ \AA}$, limited by detector
- P2: 30 24 31 90 107 90
- 14 RNA nucleotides/asu
- 3 K on 2 fold axis
- Anomalous peak heights $8-10 \sigma$

Gary Parkinson

