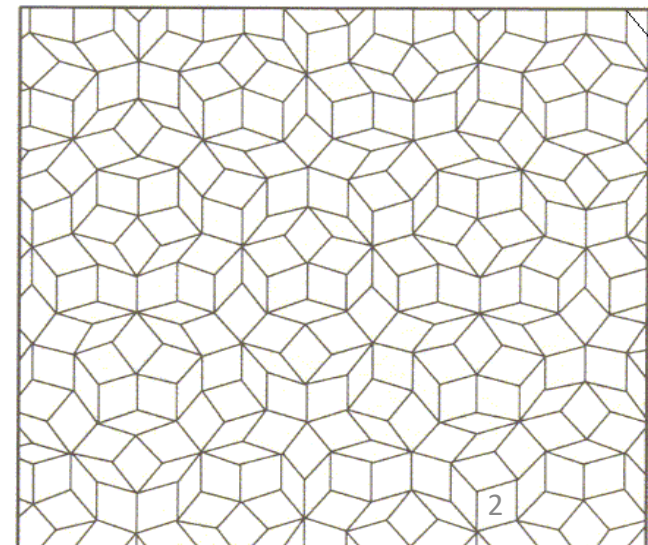
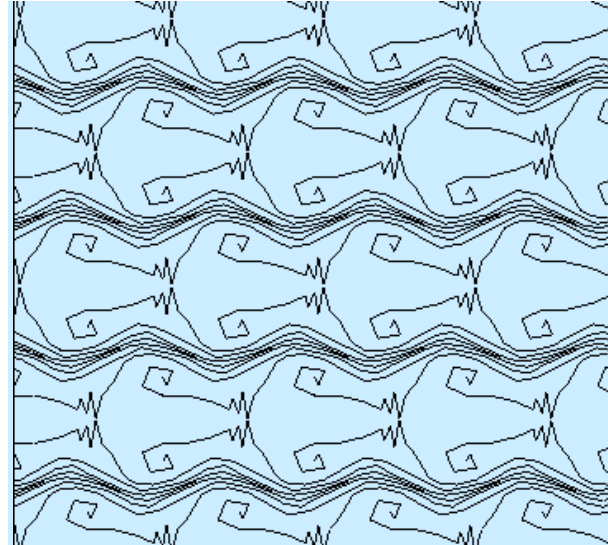
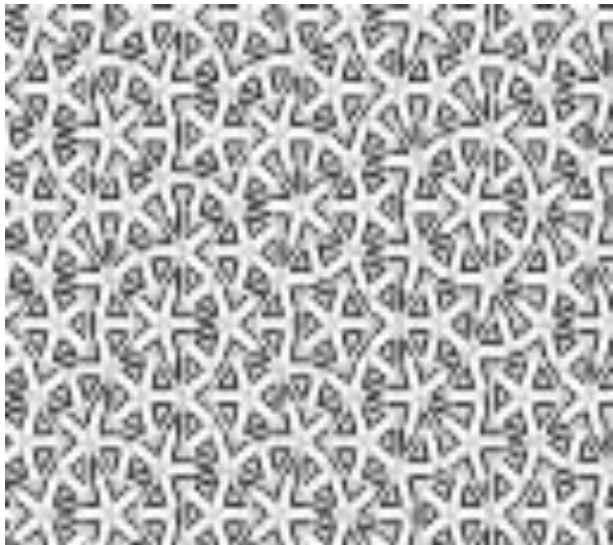
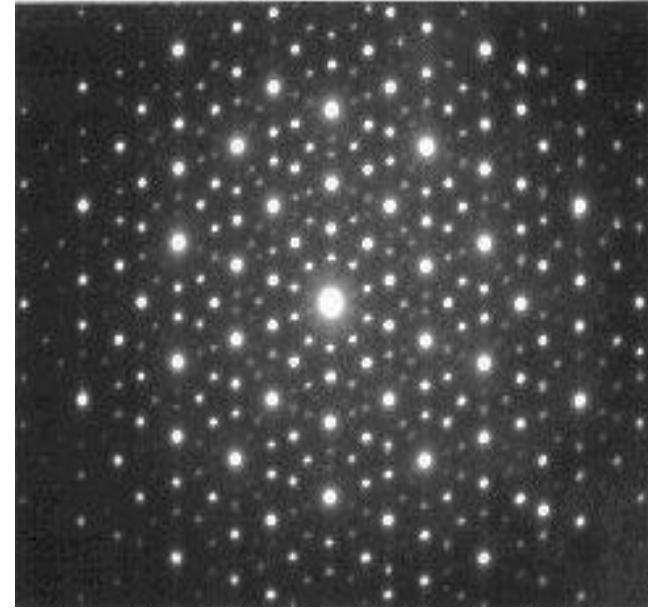
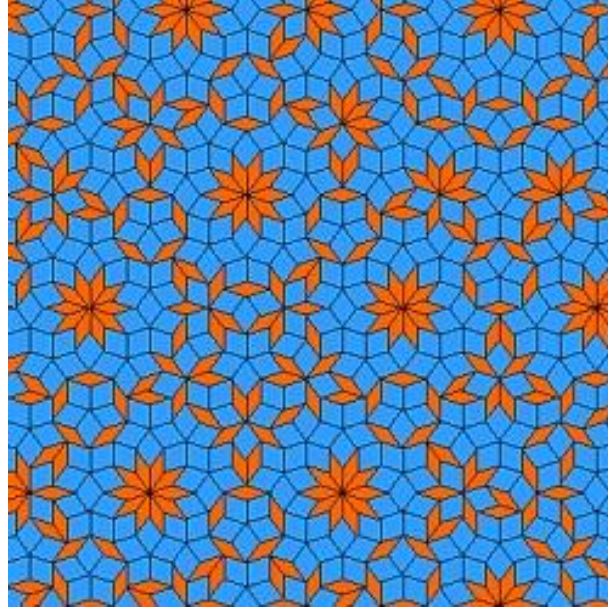
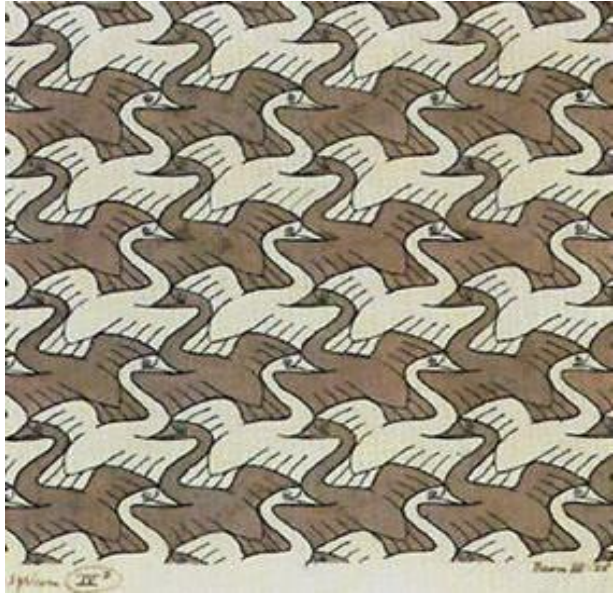


# План

1. Кристалл из белков
2. Основная кристаллографическая (элементарная) ячейка ( $a, b, c$ ).
3. Функция ЭП  $\rho(\mathbf{r})$  в элементарной ячейке
4. Физическая основа метода
5. Задача определения координат атомов x-ray:
  1. восстановить  $\rho(\mathbf{r})$  в ячейке по данным x-ray эксперимента с кристаллом
  2. Найти координаты центров атомов по  $\rho(\mathbf{r})$
6. Однократный эксперимент – фиксировано направление  $\sigma_0$  рентгеновского излучения из источника
7. Условие Лауэ на направление  $\sigma$ , в котором рассеянные волны от всех ячеек кристалла интерферируют
8. Разложение  $\rho(\mathbf{r})$  в ячейке в ряд Фурье
9. Координаты  $(h, k, l)$  детектируемого сигнала и какую информацию о  $\rho(\mathbf{r})$  даёт интенсивность излучения в направлении  $\sigma$  на детекторе.
10. Как получается картина рефлексов на детекторе
11. Что даёт вращение кристалла
12. В чём состоит фазовая проблема и методы её решения
13. Оптимизация модели
14. Дополнительная информация в модели из PDB

# 1. Кристалл

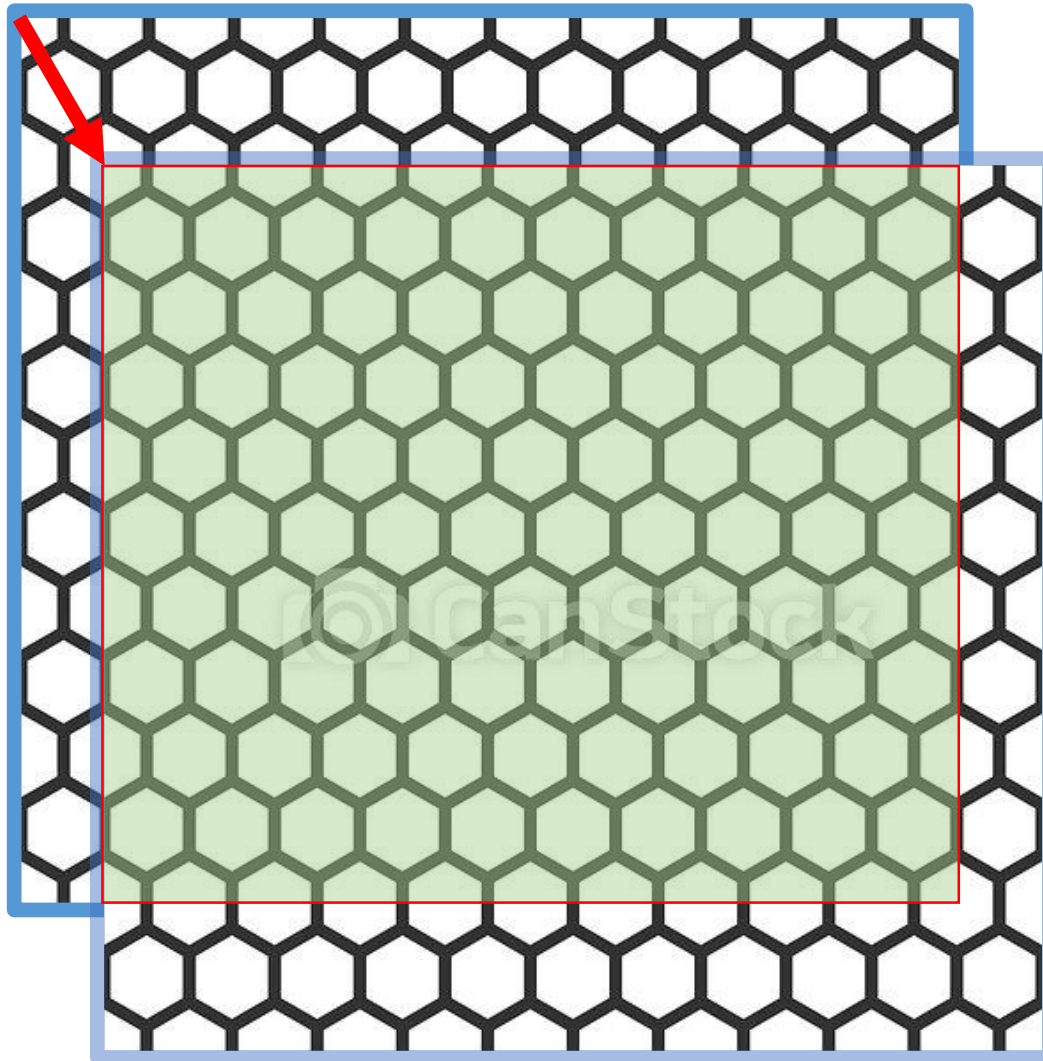
Как отличить кристаллическую конфигурацию от некристаллической?



Математическое определение кристаллической конфигурации.  
*Под конфигураций имеется виду расположение атомов в образце*

- 1. Симметрия** – движение пространства, совмещающее объект сам с собой. Т.е. образ объекта в результате движения совпадает с исходным объектом
- 2. Конфигурация объектов в пространстве называется кристаллической**, если она обладает тремя **трансляционными симметриями**, на **некомпланарные** векторы  **$\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$ ,  $\mathbf{c}$** , т.е. векторы не лежащие в одной плоскости. На слайде 2 кристаллы лев. верх. и сред. ниж. **ТОЛЬКО** Математически кристалл неограничен по всем направлениям. Физический кристалл ограничен. Поэтому для него следует уточнить: конфигурация совпадает со своим сдвигом на пересечении исходной конфигурации с её сдвигом (слайд 4).
- 3. Элементарная ячейка кристалла и неоднозначность выбора векторов  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$ ,  $\mathbf{c}$ .** (слайды 5 - 6)

# Трансляционная симметрия физического кристалла (двумерного)



“ Физический кристалл” в синей рамке

В голубой рамке его образ при сдвиге на красный вектор

Пересечение кристалла с образом залито зелёным и в красной рамке

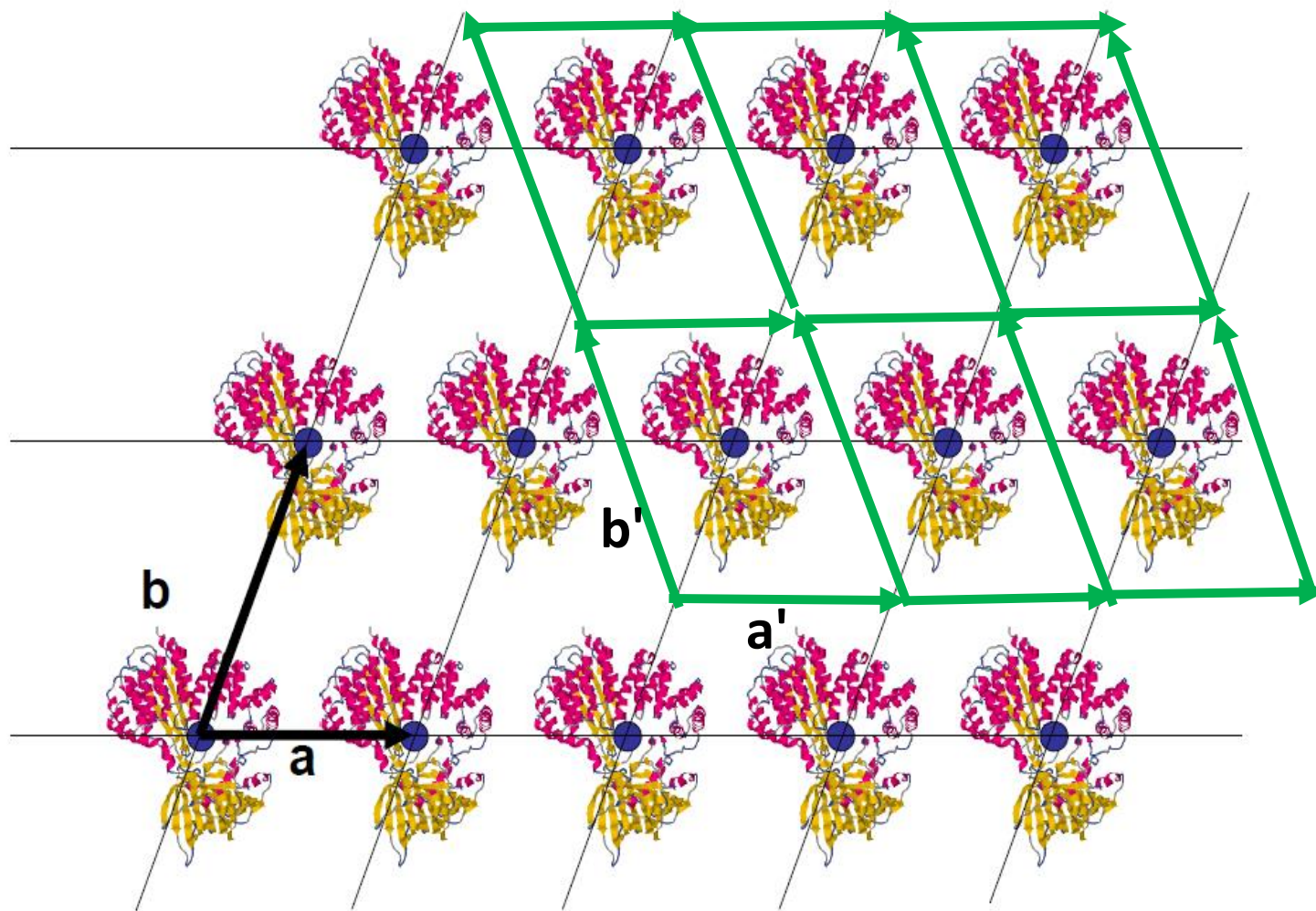
На пересечении кристалл совмещается с образом.

Значит красный вектор – трансляционная симметрия физического кристалла

## 2. Элементарная ячейка. Неоднозначность выбора

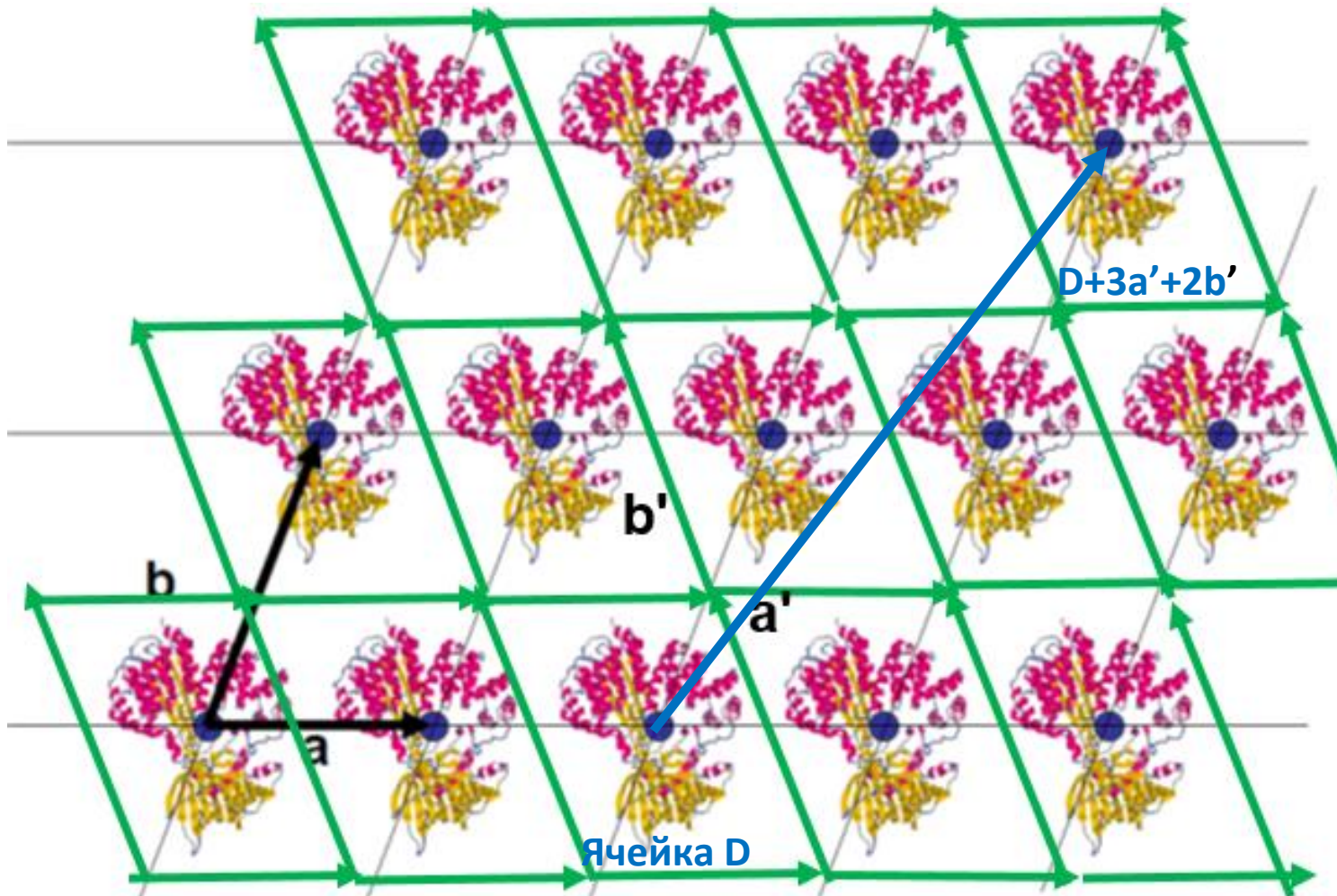
Одна элементарная ячейка порождается векторами  $\mathbf{a}$  и  $\mathbf{b}$

Другая – векторами  $\mathbf{a}'$  и  $\mathbf{b}'$

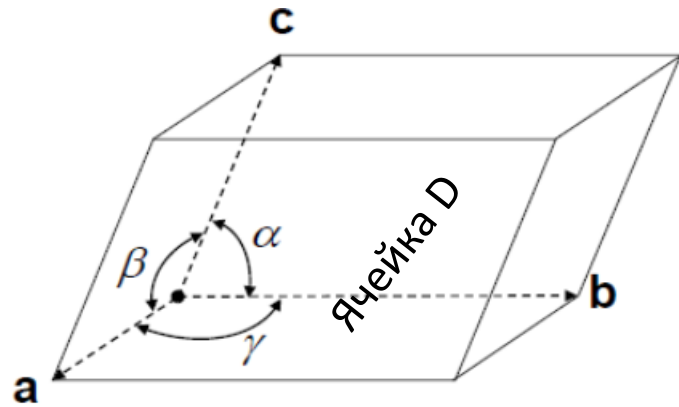


При депонировании файла в PDB выбирают элементарную ячейку так, чтобы не “разрывать” молекулы

# Трансляционная симметрия на вектор $3a' + 2b'$ примененная к ячейке D



### 3. Функция ЭП в элементарной ячейке



$\rho(\mathbf{r})$  в абсолютных координатах 3D пространства  $\mathbf{r} = (X, Y, Z)$  из ячейки  $D$ . Выбор начала координат и осей  $X, Y, Z$  не фиксирован

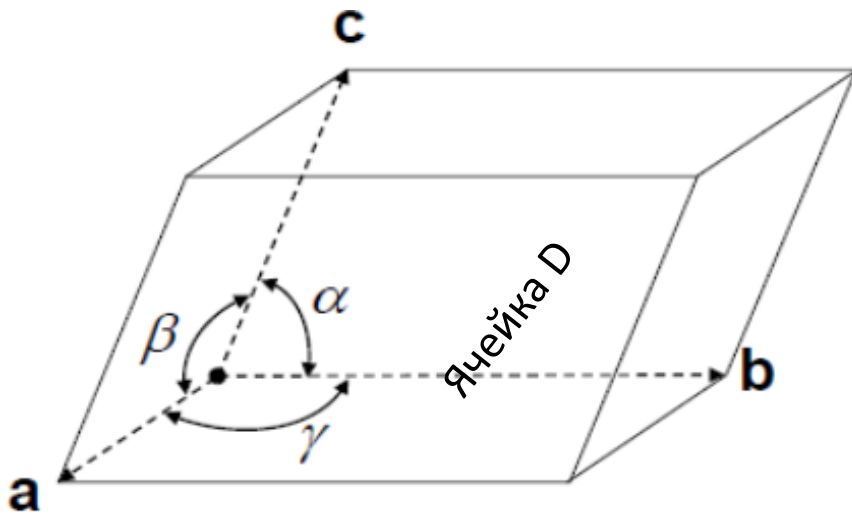
Относительные координаты  $(x, y, z)$  имеет точка  $\mathbf{r} = x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c}$ . Начало координат – вершина ячейки, оси идут вдоль векторов  $\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}$ . Для точки  $\mathbf{r}$  остаётся в пределах ячейки

В лекциях используются и абсолютные, и относительные координаты. Функция ЭП в **абсолютных координатах** обозначается  $\rho(\mathbf{r}) = \rho(x, y, z)$ . Здесь я абсолютные координаты обозначил большими  $X, Y, Z$  чтобы не путаться.

Функция ЭП в ячейке в **относительных координатах** обозначается

$$\tilde{\rho}(x, y, z) = \rho(x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c}) \quad 0 \leq x, y, z \leq 1$$

Функции ЭП для всех ячеек кристалла РАВНЫ в силу определения кристалла.



Атомы в любой ячейке кристалла получаются из атомов ячейки D с помощью трансляционной симметрии на вектор

$$\mathbf{t} = u\mathbf{a} + v\mathbf{b} + w\mathbf{c}$$

с ЦЕЛЫМИ числами  $u, v, w$

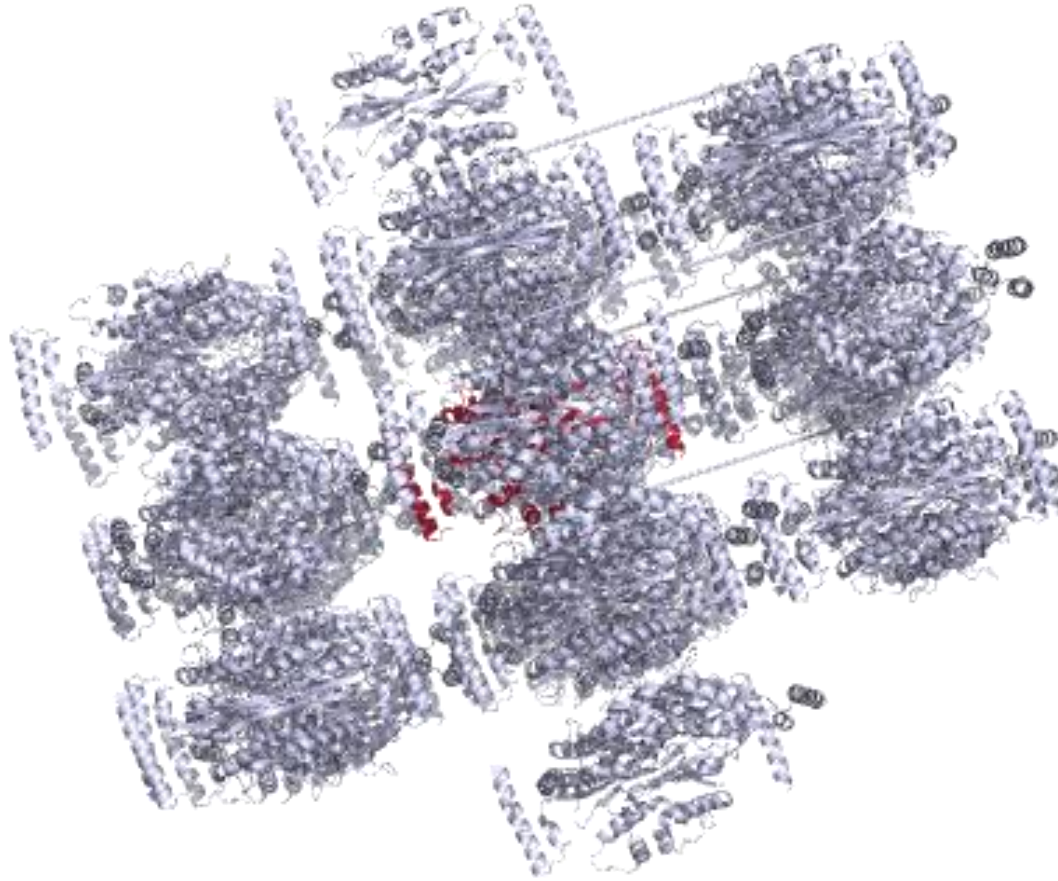
Двумерный аналог см. на слайде 6.

Это утверждение справедливо для идеального кристалла и в теории.

В физическом кристалле бывают локальные отклонения от идеального кристалла. Если их не много, то для расшифровки функции ЭП в ячейке можно с ними не считаться



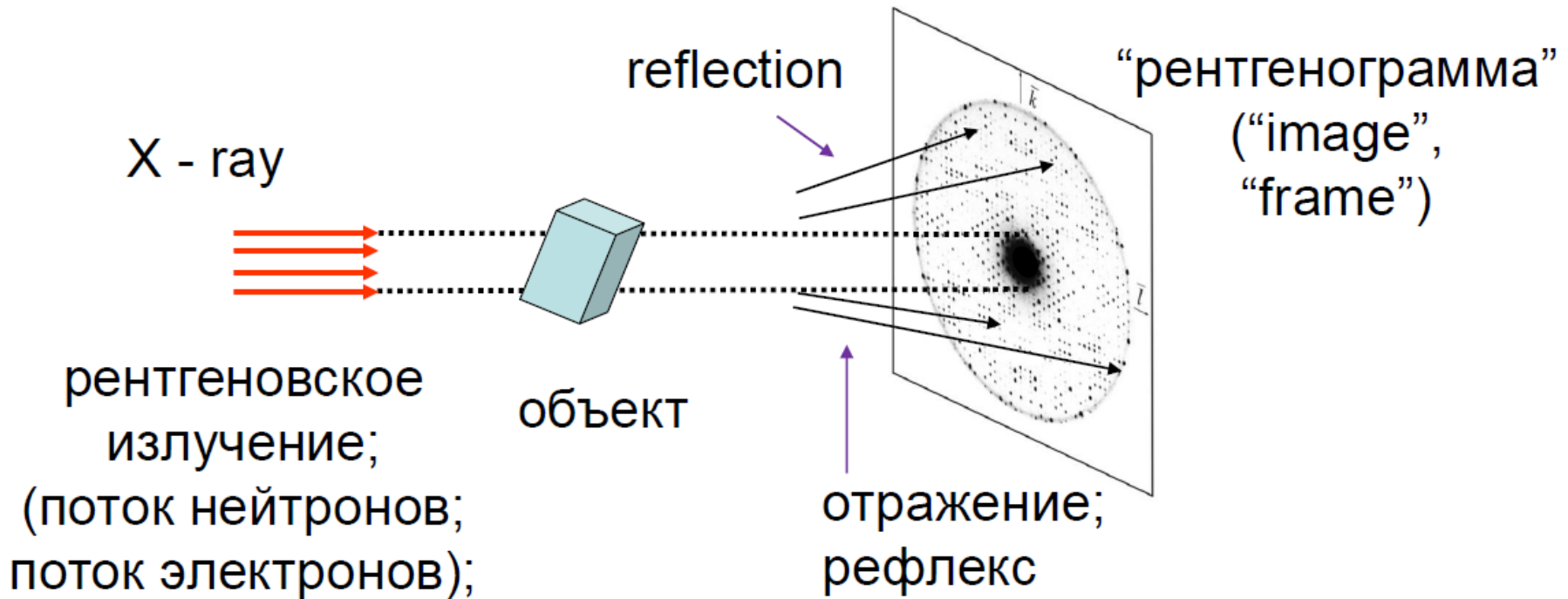
Кристалл из молекул белка образуется за счёт энергетически выгодных контактов субъединиц



Некоторые контакты могут быть природными – как в гомодимере. Чаще контакты энергетически выгодны по случайным причинам. В этом и состоит трудность кристаллизации белков

# 4. Физическая основа метода

## Дифракционный эксперимент



Каждая точка кристалла  $\mathbf{r}(x,y,z)$  по воздействию линейного падающего рентгеновского излучает сферическую электромагнитную волну с той же длиной волны и маленькой амплитудой

Формулы демонстрируют во сколько раз амплитуда  
рассеянной волны меньше амплитуды падающей волны  
 $|\mathbf{r}|$  - расстояние от источника до точки  $\mathbf{r}$

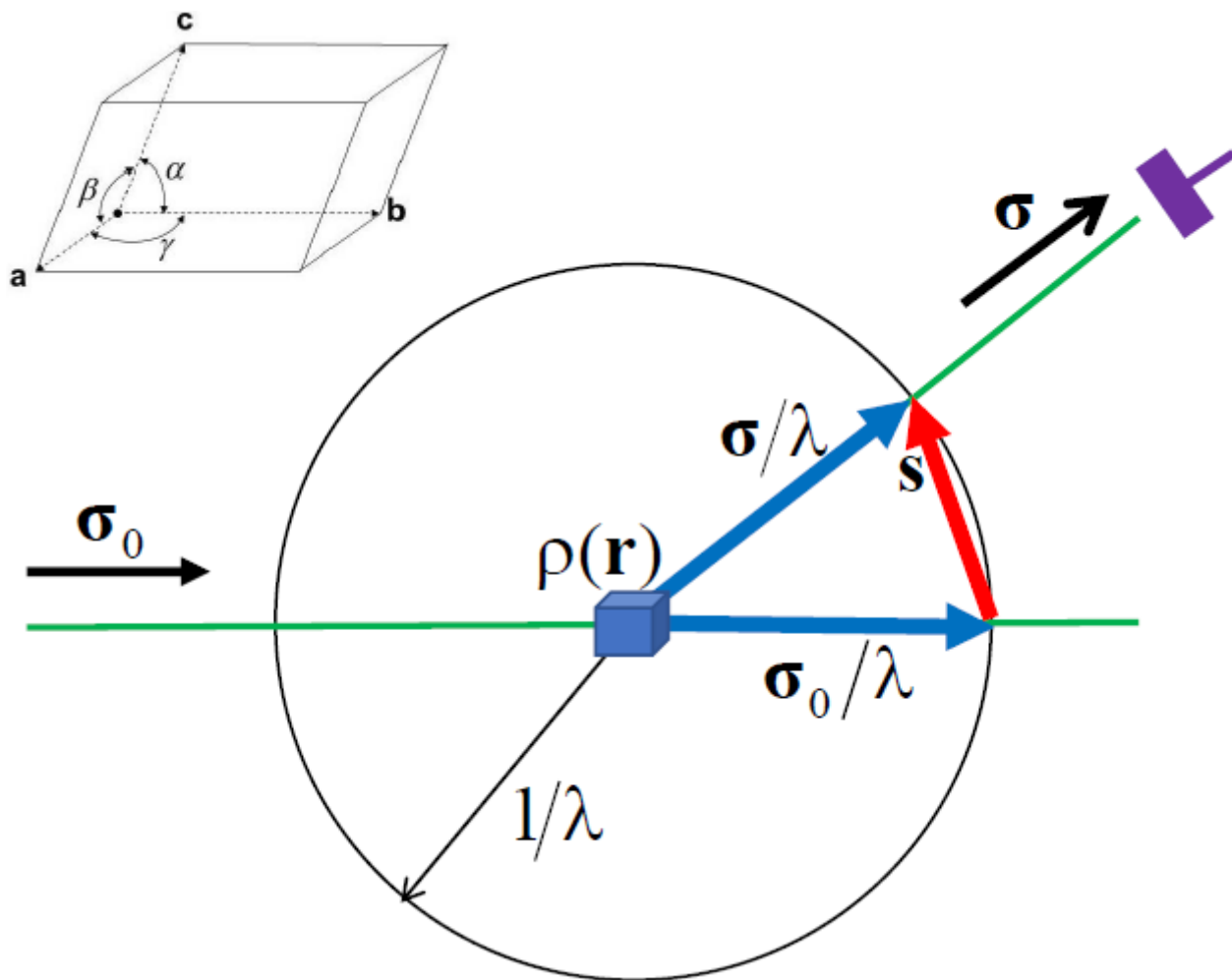
## Сферическая волна

$$E(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{|\mathbf{r}|} E_0 \sin \left[ 2\pi \left( \frac{|\mathbf{r}|}{\lambda} - vt + \delta \right) \right]$$

***рассеянная волна***

$$E(\mathbf{r}, t) = \frac{\varepsilon}{|\mathbf{r}|} E_0 \sin \left[ 2\pi \left( \frac{|\mathbf{r}|}{\lambda} - vt + \delta \right) \right] \quad \frac{\varepsilon}{|\mathbf{r}|} \approx 10^{-12} \quad !!!$$

Рассеянная волна на точке детектора в направлении  $\sigma$  суммируется по всем точкам кристалла. Можно суммировать сначала по точкам каждой ячейки, а потом суммировать волны, рассеянные ячейками кристалла, по всем ячейкам



Различие волн, рассеянных разными ячейками кристалла, зависит только от положения ячеек

6. Условие Лауэ на направление  $\sigma$  в котором сдвиг фаз рассеянных волны от любых двух ячеек равен целому числу длин волн и их амплитуды складываются

$$(\mathbf{s}, \mathbf{a}) = h$$

$$(\mathbf{s}, \mathbf{b}) = k$$

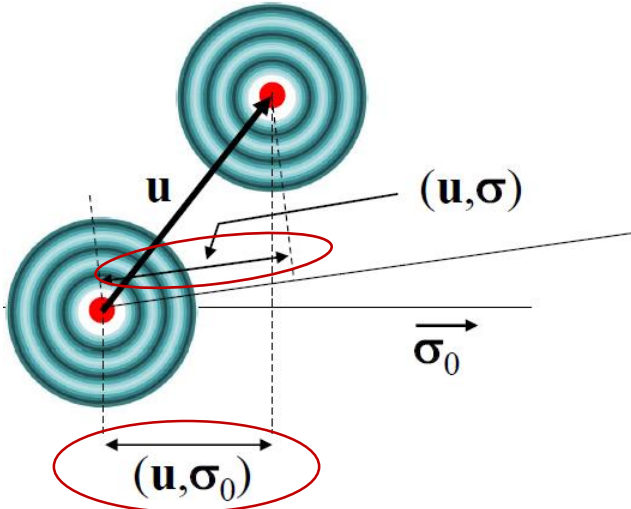
$$(\mathbf{s}, \mathbf{c}) = l$$

$h, k, l$  - целые числа

$$\mathbf{s} = \frac{\boldsymbol{\sigma} - \boldsymbol{\sigma}_0}{\lambda} \text{ - вектор рассеяния}$$

$\mathbf{a}, \mathbf{b}$  и  $\mathbf{c}$  – образующие элементарной ячейки

Демонстрация для “двух электронов”



Направление на детектор  $\sigma = \sigma (h, k, l)$   
определяется по целым числам  $h, k, l$ ,  
 $\sigma_0$  и векторами ячейки  $\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}$ .

линейные размеры кристалла  $0.1 \text{ мм} = 10^6 \text{ \AA}$   
линейные размеры элементарной ячейки  $100 \text{ \AA}$

количество копий молекулы в кристалле  $(10^4)^3 = 10^{12}$

Кристалл усиливает интенсивность  
в  $10^{24}$  раз !!!

В результате на детекторе в направлениях  $\sigma = \sigma (h, k, l)$   
и ТОЛЬКО в них появляется сигнал!!!

## 7. Разложение $\rho(\mathbf{r})$ в ячейке в ряд Фурье.

Как и любую функцию,  $\rho(\mathbf{r})$  в элементарной ячейке можно разложить в ряд Фурье.

В относительных координатах

$$\mathbf{r} = x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c}$$

$x, y, z$  – относительные  $0 \leq x, y, z \leq 1$

$$\tilde{\rho}(x, y, z) = \rho(x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c})$$

разложение выглядит так:

$$\tilde{\rho}(x, y, z) \approx F_{000} + \sum_{hkl} F_{hkl} \cos \left[ 2\pi (hx + ky + lz) - \varphi_{hkl} \right]$$

# Математическая теорема:

$$\tilde{\rho}_S(x, y, z) \approx \sum_{(hkl) \in S} F_{hkl} \cos[2\pi(hx + ky + lz) - \varphi_{hkl}]$$

Амплитуда рассеянной волны в направлении  $\sigma(h, k, l)$  совпадает (пропорциональна) коэффициенту  $F_{hkl}$  в разложении в ряд Фурье.

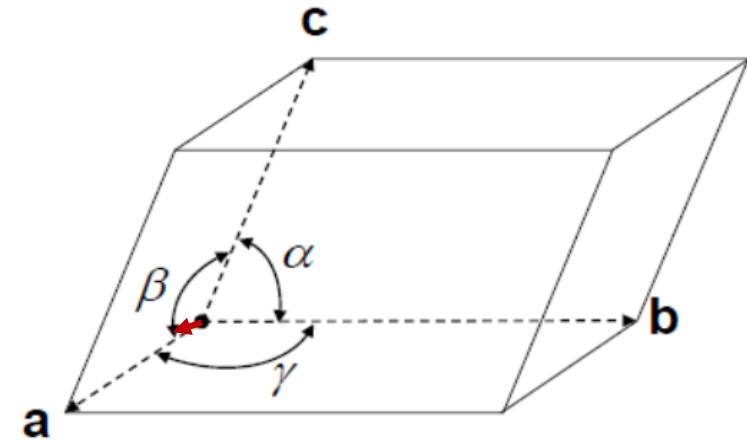
ДОКАЗАТЕЛЬСТВО. Вычислим и то и другое – формулы совпадают



## 9. Как связана картина рефлексов на детекторе с элементарными ячейками кристалла

- Из формулы для вектора рассеяния  $\mathbf{s}$  следует, что  $\boldsymbol{\sigma} = \boldsymbol{\sigma}_0 + \lambda \mathbf{s}$
- Введем обозначение  $\mathbf{s}_{hkl}$  для вектора рассеяния такого, что  $(\mathbf{s}_{hkl}, \mathbf{a}) = h$ ,  $(\mathbf{s}_{hkl}, \mathbf{b}) = k$ ,  $(\mathbf{s}_{hkl}, \mathbf{c}) = l$ . И ещё обозначения:  
 $\mathbf{s}_a = \mathbf{s}_{100} : (\mathbf{s}_a, \mathbf{a}) = 1, (\mathbf{s}_a, \mathbf{b}) = 0, (\mathbf{s}_a, \mathbf{c}) = 0$ ; аналогично,  $\mathbf{s}_b = \mathbf{s}_{010}$ ,  $\mathbf{s}_c = \mathbf{s}_{001}$
- Из определения векторов рассеяния следует, что  $\mathbf{s}_{hkl} = h\mathbf{s}_a + k\mathbf{s}_b + l\mathbf{s}_c$  для доказательства достаточно посчитать скалярные произведения  $\mathbf{s}_{hkl}$  с векторами  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  и  $\mathbf{c}$
- Таким образом концы векторов  $\mathbf{s}_{hkl}$  образуют решетку в пространстве, которая называется двойственной к решетке концов целочисленных комбинаций векторов  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  и  $\mathbf{c}$
- Нас интересуют направления  $\boldsymbol{\sigma}_{hkl} = \boldsymbol{\sigma}_0 + \lambda \mathbf{s}_{hkl}$  на детектор, в которых детектируется сигнал:  
$$\boldsymbol{\sigma}_{hkl} = \boldsymbol{\sigma}_0 + \lambda(h\mathbf{s}_a + k\mathbf{s}_b + l\mathbf{s}_c)$$
- Таким образом происходит проекция трехмерной двойственной решетки на плоскость детектора в направлении  $\boldsymbol{\sigma}_0$
- При маленьких  $h, k, l$  отклонение  $\boldsymbol{\sigma}_{hkl}$  от  $\boldsymbol{\sigma}_0$  маленькое, сигнал попадает в заглушку
- Чем большие  $h, k, l$ , тем отклонение большее, и значит определяются коэффициенты Фурье с меньшим разрешением, т.е. более частые синусоиды,
- Позволяющие различать более мелкие детали в ячейке с белком.

# Найдём вектор $\mathbf{s}_a = \mathbf{S}_{100}$



$$\sigma_{100} = \sigma_0 + \lambda \mathbf{s}_a$$

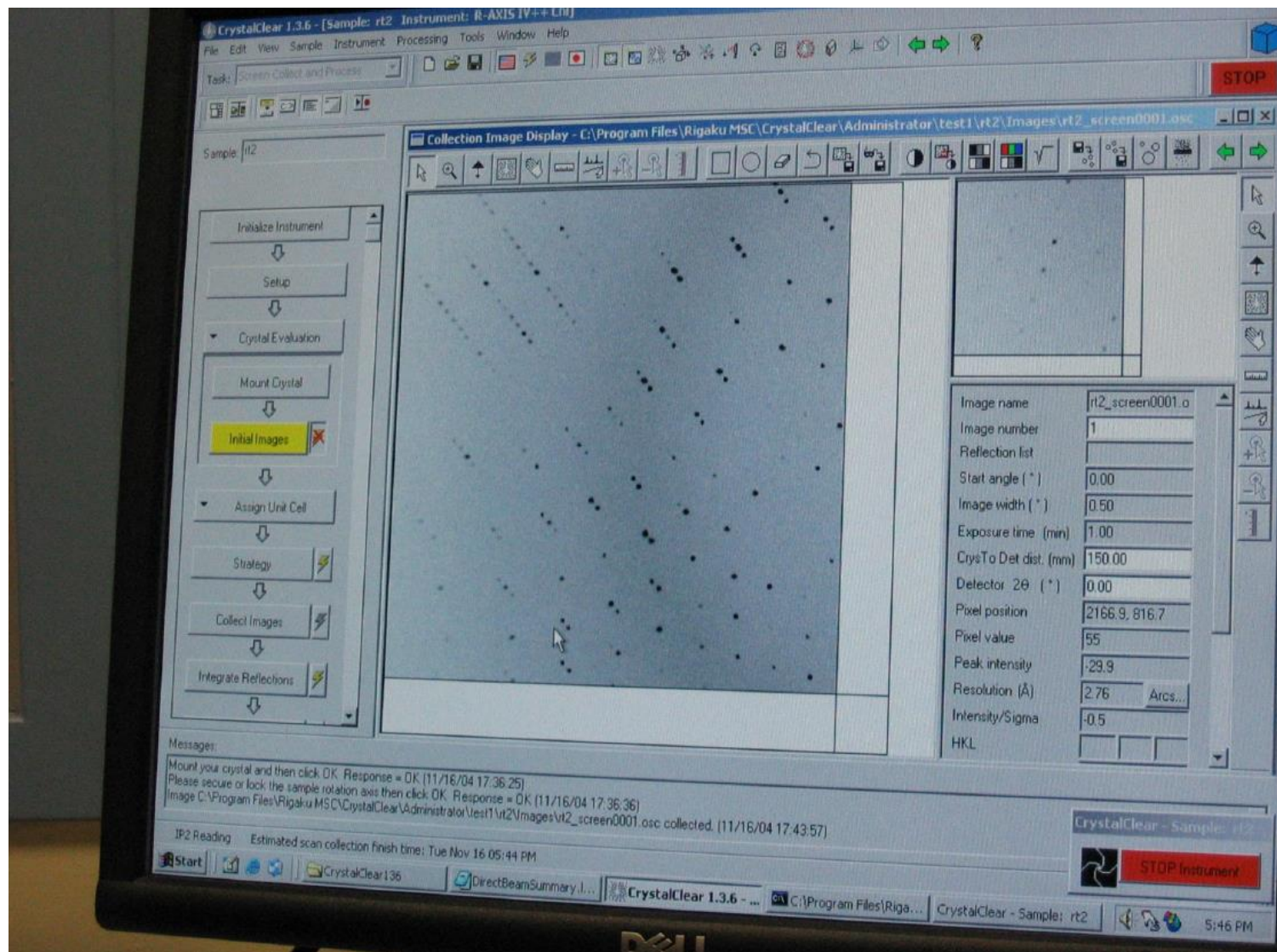
Типичная длина волны  $\lambda$  в рентгеновской кристаллографии белков  $1 \text{ \AA}$ . Значит. Направление  $\sigma_{100}$  отклоняется  $\sigma_0$  совсем немного.

- $(\mathbf{s}_a, \mathbf{b}) = 0, (\mathbf{s}_a, \mathbf{c}) = 0$   
поэтому  $\mathbf{s}_a$  перпендикулярен плоскости  $(\mathbf{b}, \mathbf{c})$
- $(\mathbf{s}_a, \mathbf{a}) = 1$  Линейные размеры элементарной ячейки порядка  $100 \text{ \AA}$
- Если угол  $\tau$  между перпендикуляром к  $(\mathbf{b}, \mathbf{c})$  и вектором  $\mathbf{a}$  мал, то длина вектора  $\mathbf{s}_a$  порядка  $0.01 \text{ \AA}$  :  
 $(\mathbf{s}_a, \mathbf{a}) = |\mathbf{s}_a| |\mathbf{a}| \cos(\tau)$
- Попытался изобразить  $\mathbf{s}_a$  красной стрелкой; масштаб соблюсти не удалось

# 11. Что даёт вращение кристалла

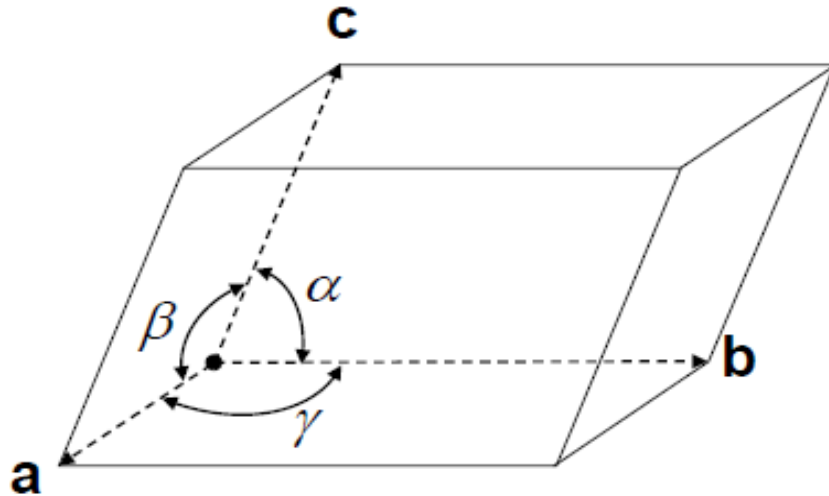
- При фиксированном положении кристалла происходит однократное измерение амплитуды  $F_{hkl}$  в направлении  $\sigma_{hkl}$  определяемом вектором рассеяния  $\mathbf{s}_{hkl}$ :  
 $(\mathbf{s}_{hkl}, \mathbf{a}) = h, (\mathbf{s}_{hkl}, \mathbf{b}) = k, (\mathbf{s}_{hkl}, \mathbf{c}) = l$ ; по формуле  
$$\sigma_{hkl} = \sigma_0 + \lambda \mathbf{s}_{hkl}$$
- Вращение кристалла приводит к изменению направления  $\sigma_0$  падения излучения источника относительно кристалла. Измерение интенсивности излучения в новом направлении  $\sigma_{hkl}$  даёт независимое измерение амплитуды  $F_{hkl}$
- При небольшом изменении  $\sigma_0$  происходит небольшое изменение направления  $\sigma_{hkl}$  так как ячейки кристалла не изменились, поэтому вектор  $\mathbf{s}_{hkl}$  не изменился (*удобнее представлять себе, что кристалл остался на месте, а повернулся источник; ясно что это равносильно*) Поэтому отождествление точек детектора с теми же  $hkl$  не представляет проблемы.
- См. следующий слайд. Этим слайдом Лунин демонстрирует как решается эта проблема

# Он-лайн вывод результатов измерений интенсивностей излучения рассеяния при вращении кристалла (из лекции Лунина)



The end

## 2. Основная кристаллографическая ячейка. Функция ЭП



элементарная ячейка  
(unit cell)

$a, b, c, \alpha, \beta, \gamma$   
параметры элементарной  
ячейки  
(unit cell parameters)

содержимое элементарной ячейки полностью определяет «внутреннюю» структуру кристалла

$$\rho(\mathbf{r}) = \rho(\mathbf{r} + \mathbf{a}) = \rho(\mathbf{r} + \mathbf{b}) = \rho(\mathbf{r} + \mathbf{c})$$

$$\mathbf{r} = x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c}$$

$x, y, z$  – относительные  
(кристаллографические)  
координаты

$$\tilde{\rho}(x, y, z) = \rho(x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c})$$

элементарная ячейка – куб  
 $0 \leq x, y, z \leq 1$

$\tilde{\rho}(x, y, z)$  имеет период 1. по всем переменным.

**Кристаллографические координаты в ячейке изменяются от 0 до 1**

$$\tilde{\rho}(x, y, z) = \rho(x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c})$$