

# Введение в биологическую кристаллографию

Лекция 2, 2024 г.

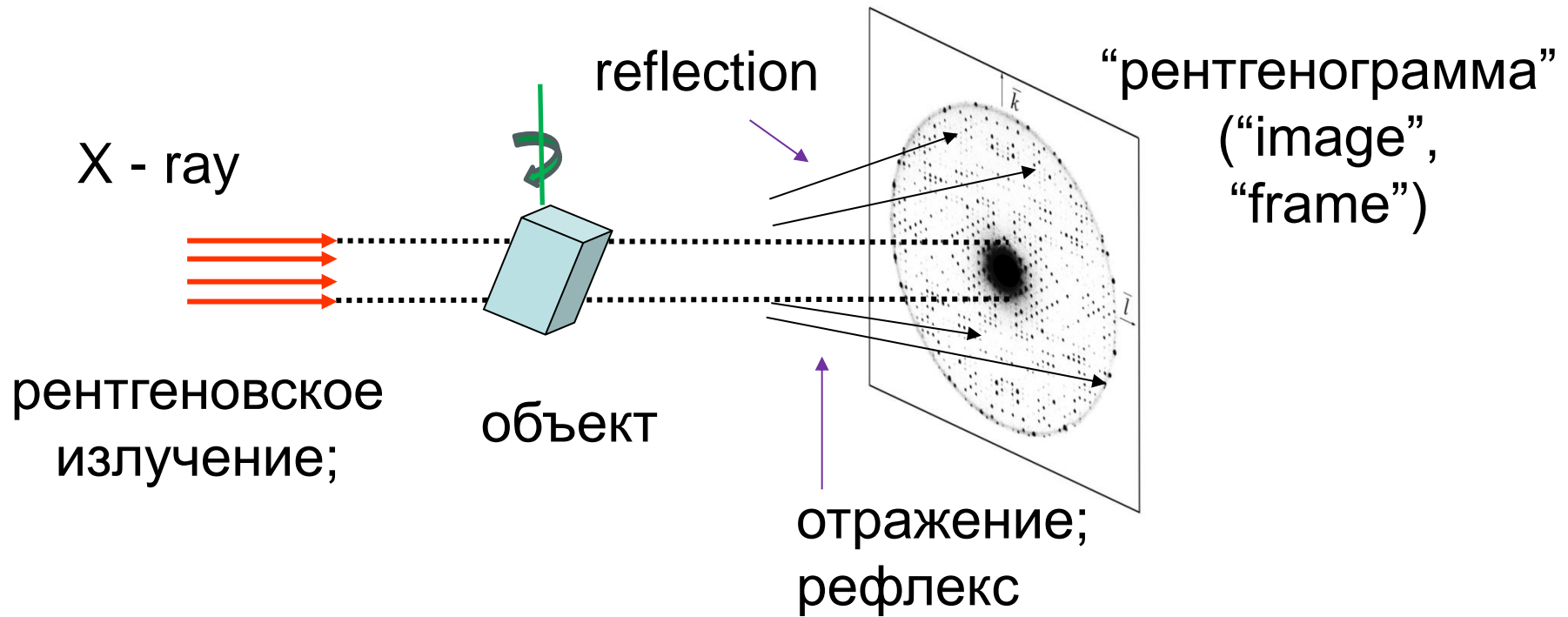
Владимир Юрьевич ЛУНИН

Институт Математических Проблем Биологии РАН

(филиал Института Прикладной Математики  
им. М.В. Келдыша РАН)

Пущино

# Дифракционный эксперимент



- измеряем интенсивность (энергию) «отраженных» от объекта лучей;
- вращение объекта – трехмерный набор данных;
- разные объекты – разная картина рассеяния;
- ХОТИМ «восстановить» структуру объекта.

## Первичный пучок

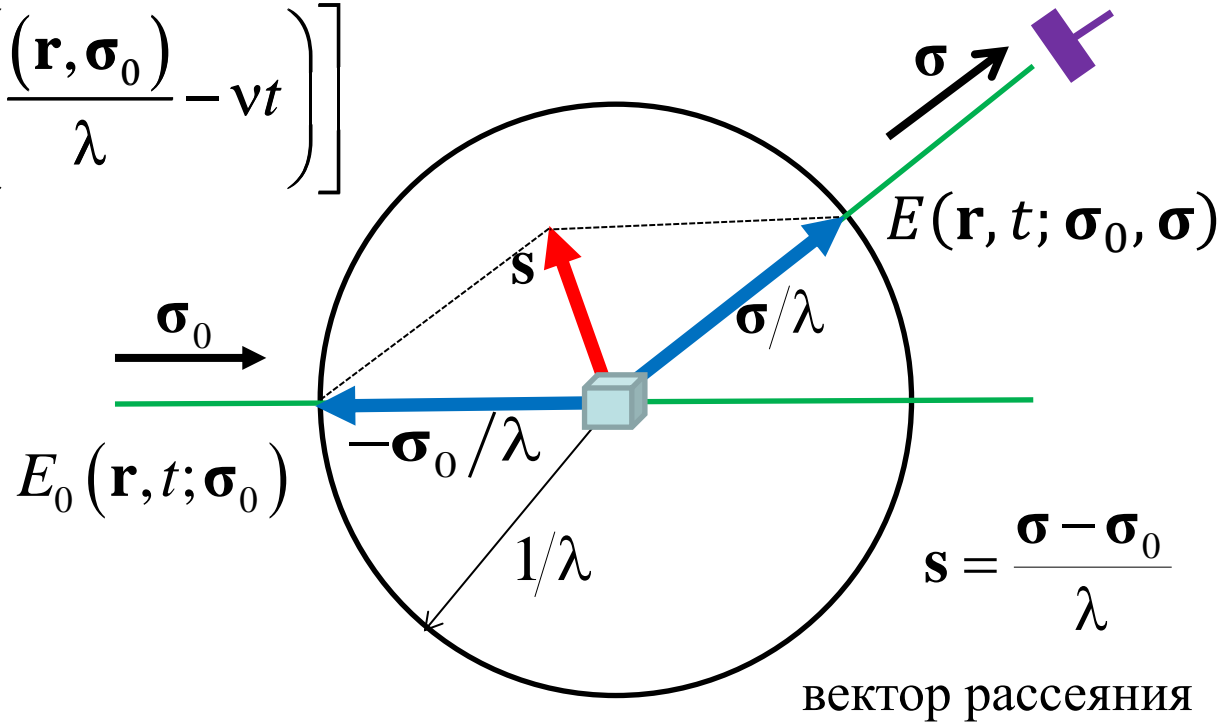
$$E_0(\mathbf{r}, t; \boldsymbol{\sigma}_0) = E_0 \sin \left[ 2\pi \left( \frac{(\mathbf{r}, \boldsymbol{\sigma}_0)}{\lambda} - vt \right) \right]$$

$$|\boldsymbol{\sigma}_0| = |\boldsymbol{\sigma}| = 1$$

$\lambda$  - длина волны

$R_{s-d}$  - расстояние  
объект-детектор

$$\varepsilon \approx 10^{-12}$$



## В окрестности пиксела детектора

$$E(\mathbf{r}, t; \boldsymbol{\sigma}_0, \boldsymbol{\sigma}) = \frac{\varepsilon}{R_{s-d}} E_0 F(\mathbf{s}) \sin \left[ 2\pi \left( \frac{(\mathbf{r}, \boldsymbol{\sigma})}{\lambda} \right) - \varphi(\mathbf{s}) \right]$$

Вся информация об объекте в структурном факторе

$$F(\mathbf{s}), \varphi(\mathbf{s})$$

Волна на детекторе:

$$E(t; \sigma_0, \sigma) = E(t; \mathbf{s}) = \frac{\varepsilon}{R_{s-d}} E_0 F(\mathbf{s}) \sin \left[ 2\pi \left( \frac{R_{s-d}}{\lambda} - \mathbf{v}t \right) - \varphi(\mathbf{s}) \right]$$

$\mathbf{s} = \frac{\sigma - \sigma_0}{\lambda}$  - вектор рассеяния, информация об эксперименте;

$F(\mathbf{s}), \varphi(\mathbf{s})$  - структурный фактор, информация о взаимном расположении электронов;

Измеряется интенсивность (энергия) рассеянных волн

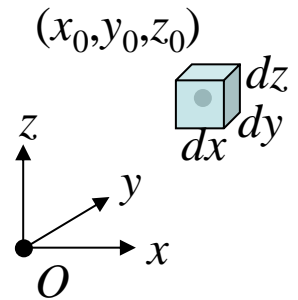
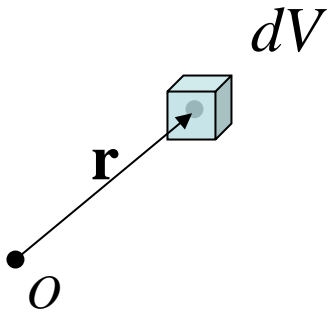
$$I(\mathbf{s}) = \left( \frac{\varepsilon E_0}{R_{s-d}} \right)^2 F^2(\mathbf{s}) \Delta t \propto F^2(\mathbf{s})$$

Эксперимент дает набор величин модулей структурных факторов  $F(\mathbf{s})$  для разных векторов рассеяния  $\mathbf{s}$ .

**Информация о фазах  $\varphi(\mathbf{s})$  в «стандартном» эксперименте теряется.**

# Функция распределения электронной плотности

$\rho(\mathbf{r})dV$  (или  $\rho(x_0, y_0, z_0)dxdydz$ ) -  
средний (по времени) заряд  
в объеме  $dV$

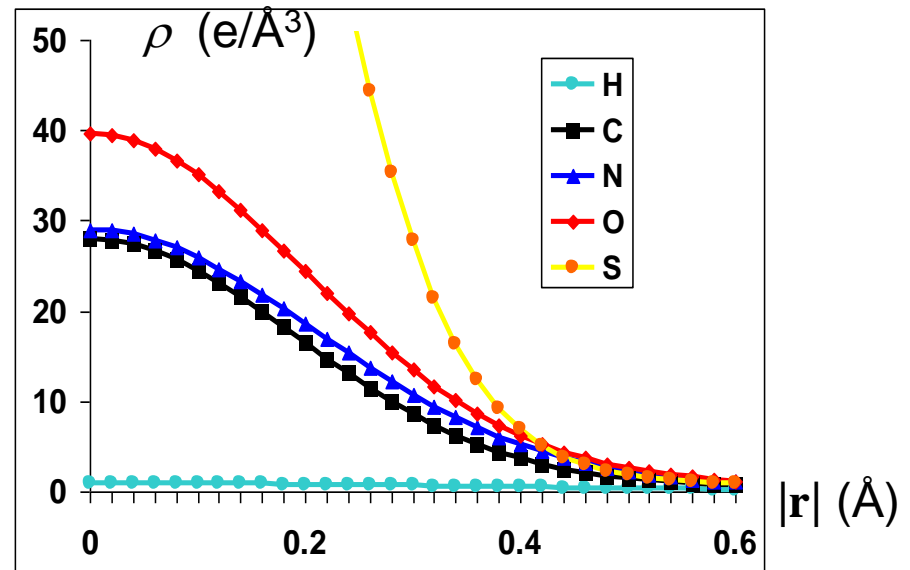


Для простых объектов можно  
найти из решения уравнения  
Шредингера

**Распределение электронной  
плотности в атоме**  
(гауссово приближение)

$$\rho(\mathbf{r}) \approx \alpha \exp\left(-\frac{|\mathbf{r}|^2}{\beta}\right)$$

**Таблицы:**  
5-гауссовое приближение

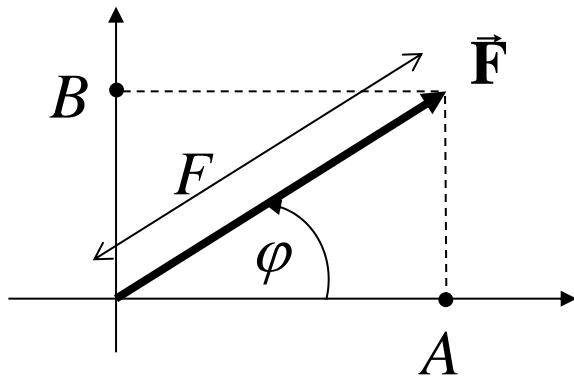


Известны для всех химических типов атомов

# Структурные факторы

$F(\mathbf{s}), \varphi(\mathbf{s})$  модуль и фаза структурного фактора для вектора рассеяния  $\mathbf{s}$

## Структурный фактор как вектор на плоскости



$A(\mathbf{s}), B(\mathbf{s})$  координаты вектора  $\vec{F}(\mathbf{s})$  на плоскости

$$A(\mathbf{s}) = F(\mathbf{s}) \cos \varphi(\mathbf{s}), \quad B(\mathbf{s}) = F(\mathbf{s}) \sin \varphi(\mathbf{s})$$

$$F = \sqrt{A^2 + B^2}, \quad \tan \varphi = \frac{B}{A}$$

## Структурный фактор как комплексное число

$$\begin{aligned} \mathbf{F}(\mathbf{s}) &= A(\mathbf{s}) + iB(\mathbf{s}) \\ &= F(\mathbf{s}) \cos \varphi(\mathbf{s}) + iF(\mathbf{s}) \sin \varphi(\mathbf{s}) \\ &= F(\mathbf{s}) e^{i\varphi(\mathbf{s})} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} e^{i\varphi} &= \cos \varphi + i \sin \varphi \\ F &= \sqrt{A^2 + B^2}, \quad \tan \varphi = \frac{B}{A} \end{aligned}$$

# ***Структурный фактор непрерывного распределения электронной плотности***

Распределение электронной плотности  $\rho(\mathbf{r})$

Структурный фактор  $F(\mathbf{s}), \varphi(\mathbf{s})$

$$A(\mathbf{s}) = F(\mathbf{s}) \cos \varphi(\mathbf{s}) = \int \rho(\mathbf{r}) \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}) dV_{\mathbf{r}}$$

$$B(\mathbf{s}) = F(\mathbf{s}) \sin \varphi(\mathbf{s}) = \int \rho(\mathbf{r}) \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}) dV_{\mathbf{r}}$$

$$F = \sqrt{A^2 + B^2}, \quad \tan \varphi = \frac{B}{A}$$

**Комплексная запись**

$$\mathbf{F}(\mathbf{s}) = \int \rho(\mathbf{r}) e^{i2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r})} dV_{\mathbf{r}}$$

# Рассеяние атомом

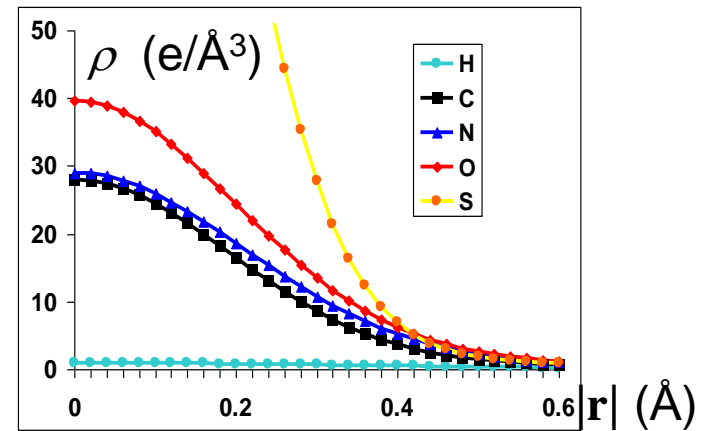
$$F(\mathbf{s}) = \sqrt{\left[ \int \rho(\mathbf{r}) \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}) dV_{\mathbf{r}} \right]^2 + \left[ \int \rho(\mathbf{r}) \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}) dV_{\mathbf{r}} \right]^2}$$

Для атома, находящегося в начале координат

$$\rho(\mathbf{r}) = C \left( \frac{4\pi}{B} \right)^{3/2} \exp\left( -\frac{4\pi^2 |\mathbf{r}|^2}{B} \right)$$

$$F(\mathbf{s}) = f(|\mathbf{s}|) \quad \varphi(\mathbf{s}) = 0$$

$$f(s) = C \exp\left( -B \frac{s^2}{4} \right)$$



$f(s)$  - фактор атомного рассеяния (атомный формфактор);  
известен для всех химических типов атомов.



# Структурный фактор для набора атомов

Координаты атомов

$$\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N$$

Факторы атомного рассеяния

$$f_1(s), f_2(s), \dots, f_N(s) \quad s = |\mathbf{s}|$$

Структурный фактор  $F(\mathbf{s}), \varphi(\mathbf{s})$

$$A(\mathbf{s}) = F(\mathbf{s}) \cos \varphi(\mathbf{s}) = \sum_{j=1}^N f_j(s) \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}_j)$$

$$B(\mathbf{s}) = F(\mathbf{s}) \sin \varphi(\mathbf{s}) = \sum_{j=1}^N f_j(s) \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}_j)$$

$$F = \sqrt{A^2 + B^2}, \quad \tan \varphi = \frac{B}{A}$$

**Комплексная запись**

$$\mathbf{F}(\mathbf{s}) = \sum_{j=1}^N f_j(s) e^{i2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}_j)}$$

# Метод проб и ошибок

Гипотетическая  
структура; координаты  
атомов  $(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N)$



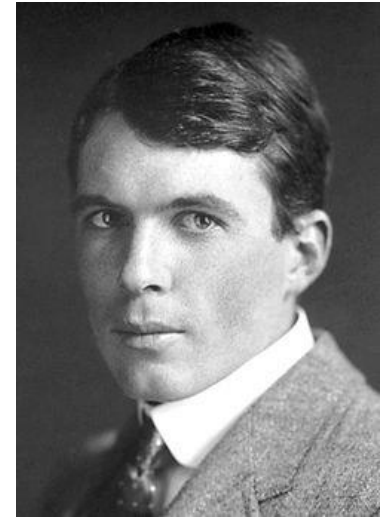
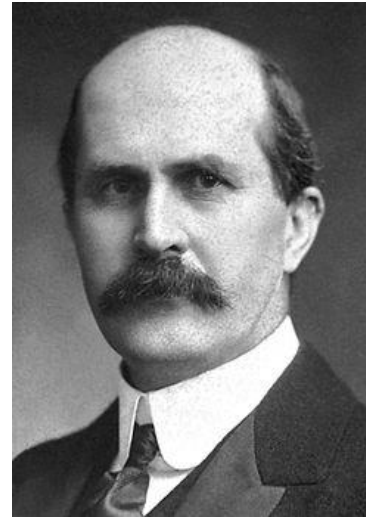
Расчет соответствующей  
картины дифракции

$$F(\mathbf{s}_1), F(\mathbf{s}_2), \dots, F(\mathbf{s}_K)$$



Сравнение с  
экспериментом

$$R = \sum_{k=1}^K \left( F^{obs}(\mathbf{s}_k) - F^{calc}(\mathbf{s}_k) \right)^2$$



Sir William Henry Bragg  
Sir William Lawrence Bragg

Нобелевская премия 1915 г.

# Определение структуры как задача МИНИМИЗАЦИИ

- имеем набор экспериментально определенных значений модулей структурных факторов  $F^{obs}(\mathbf{s}_1), F^{obs}(\mathbf{s}_2), F^{obs}(\mathbf{s}_3), \dots$
- для каждой пробной структуры  $\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3, \mathbf{r}_4, \dots$  умеем рассчитывать "теоретические" значения модулей

$$F^{calc}(\mathbf{s}) = \sqrt{\left[ \sum_j f_j(|\mathbf{s}|) \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}_j) \right]^2 + \left[ \sum_j f_j(|\mathbf{s}|) \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}_j) \right]^2}$$

- хотим подобрать координаты атомов структуры  $\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3, \mathbf{r}_4, \dots$  так, чтобы минимизировать расхождение между теоретическими и экспериментальными значениями

$$Q(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3, \dots) = \sum_k \left[ F^{obs}(\mathbf{s}_k) - F^{calc}(\mathbf{s}_k; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots) \right]^2 \Rightarrow \min$$

## Проблема

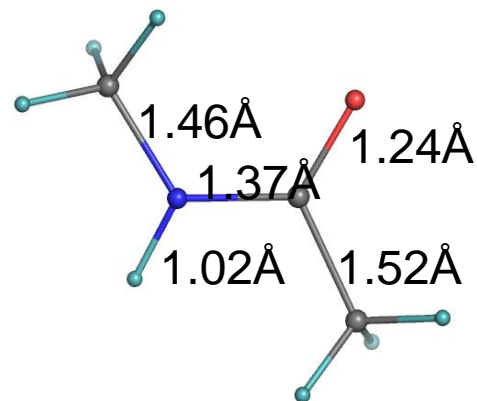
Число неизвестных значений координат может достигать сотен тысяч. Число экспериментальных наблюдений - миллионов. Такие задачи наука, на сегодняшний день, решать не умеет.

## Однако

Если удалось найти значения координат приближенно, то их можно уточнить, минимизируя погрешность  $Q(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)$

$$Q(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3, \dots) = \sum_k [F^{obs}(\mathbf{s}_k) - F^{calc}(\mathbf{s}_k; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots)]^2 \Rightarrow \min$$

Необходимая точность определения стартовых координат:  $\sim 0.7 \text{ \AA}$



Измеряется в эксперименте

$$I(\mathbf{s}) = \left( \frac{\varepsilon E_0}{R_{s-d}} \right)^2 F^2(\mathbf{s}) \Delta t \quad \varepsilon^2 \approx 10^{-24}$$



## Проблема

Интенсивность рассеяния отдельной молекулой слишком мала для регистрации.

## Возможное решение:

- увеличение мощности источника излучения;
- повышение чувствительности регистрирующего устройства;
- увеличение времени экспозиции;
- рассеяние большим числом идентичных молекул.

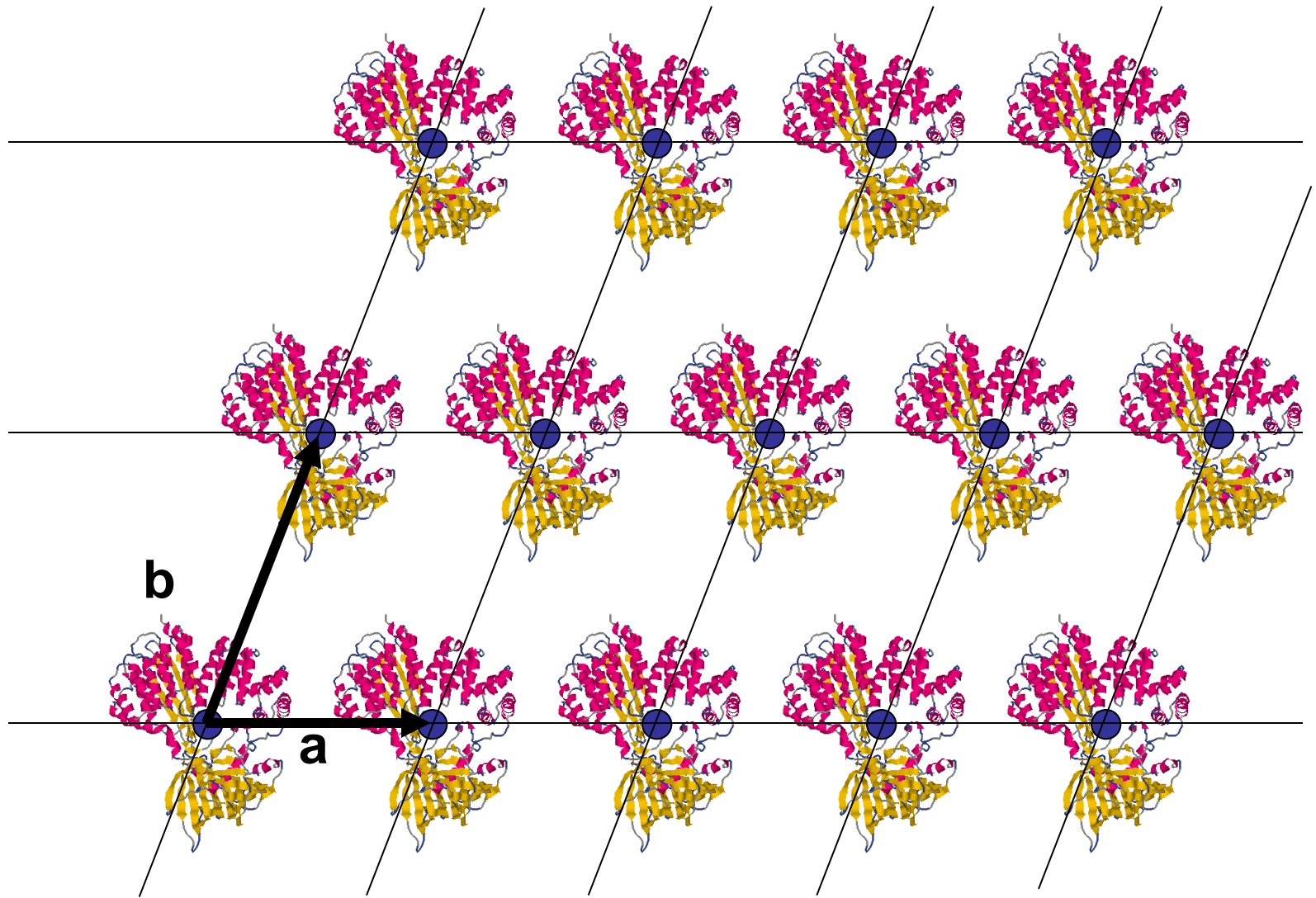
## Много молекул:

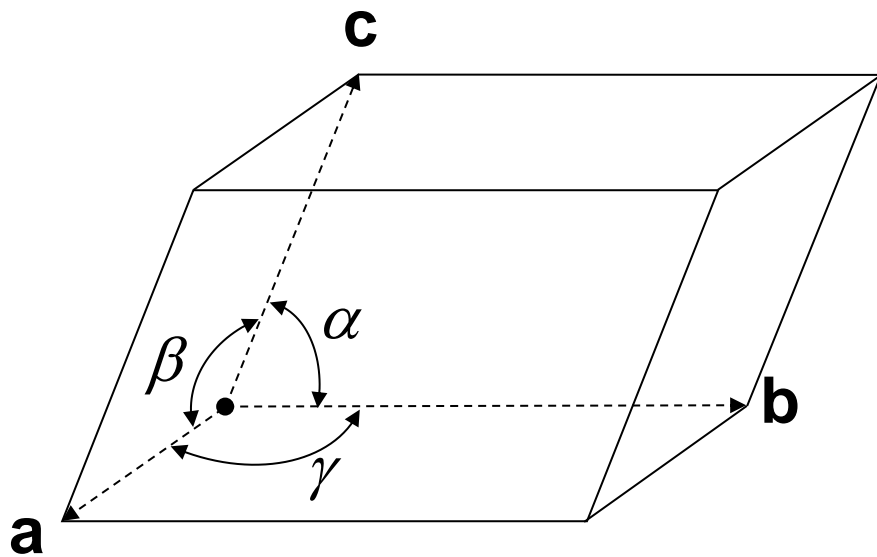
- растворы (малоугловое рентгеновское рассеяние, МУР);
- газы;
- порошки;
- **кристаллы.**

# Рассеяние кристаллами



Buried a thousand feet (300 meters) below Naica mountain in the Chihuahuan Desert, the cave was discovered by two miners excavating a new tunnel for the Industrias Peñoles company in 2000.





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

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



# Рассеяние двумя молекулами

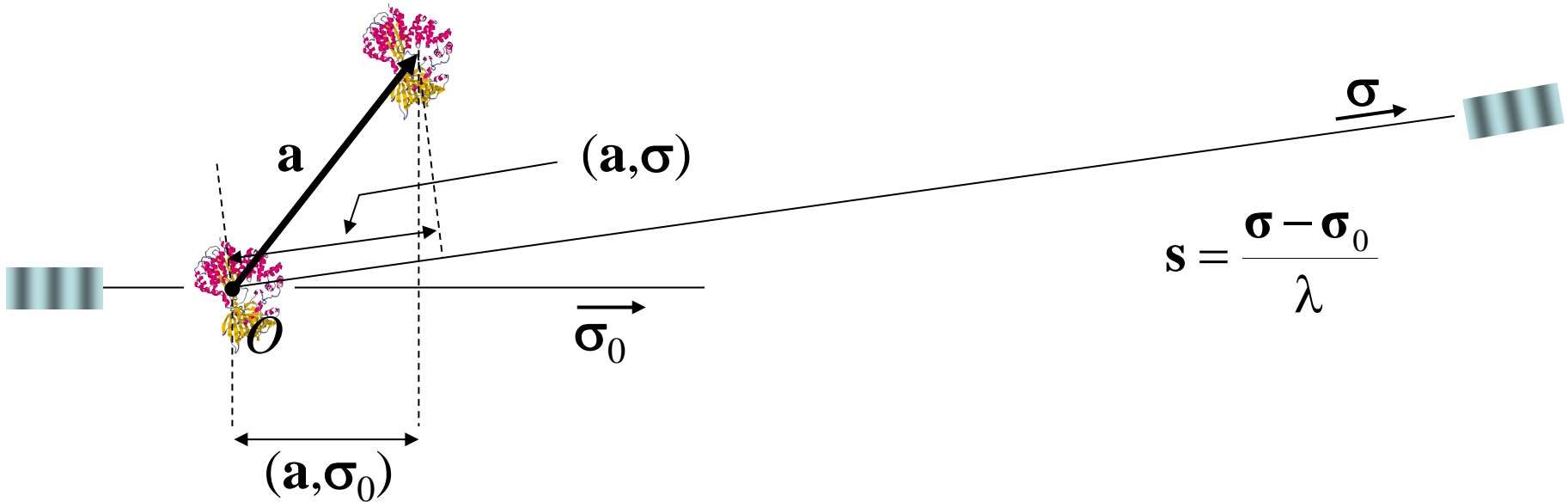
Волна на детекторе:

$$E(\mathbf{r}, t; \boldsymbol{\sigma}_0, \boldsymbol{\sigma}) = \frac{\varepsilon}{R_{s-d}} E_0 F(\mathbf{s}) \sin \left[ 2\pi \left( \frac{(\mathbf{r}, \boldsymbol{\sigma})}{\lambda} \right) - \varphi(\mathbf{s}) \right]$$

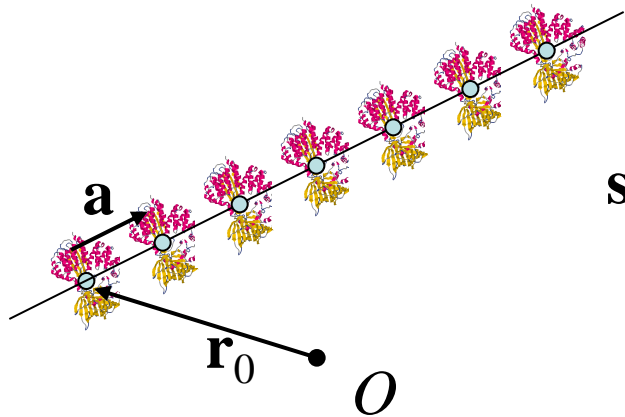
$A$

$\omega$

$$E(t) = A \sin(\omega)$$

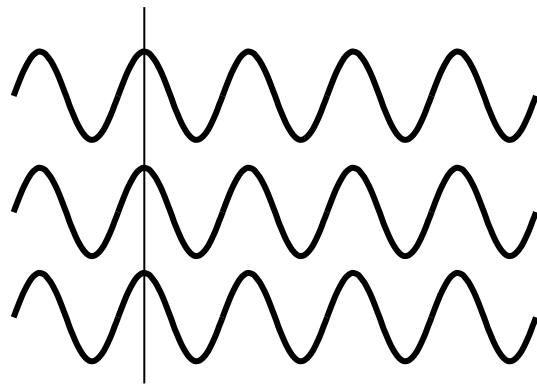


$$E_1(t) = A \sin(\omega) \quad E_1(t) = A \sin(\omega - 2\pi\Delta) \quad \Delta = (\mathbf{s}, \mathbf{a})$$



$$\mathbf{s} = \frac{\boldsymbol{\sigma} - \boldsymbol{\sigma}_0}{\lambda} \quad \Delta = (\mathbf{s}, \mathbf{a})$$

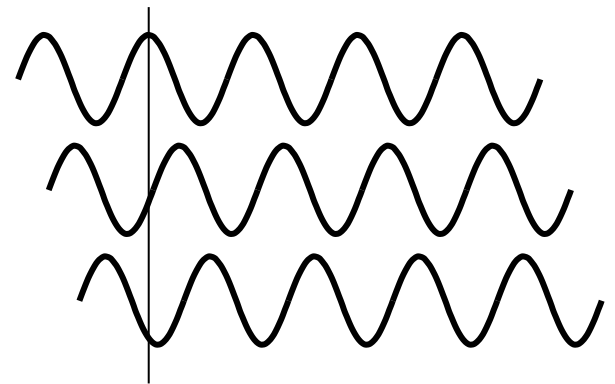
$$A\{\sin[\omega] + \sin[\omega - 2\pi\Delta] + \sin[\omega - 2\pi \cdot 2\Delta] + \sin[\omega - 2\pi \cdot 3\Delta] + \dots\}$$



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

волны усиливаются

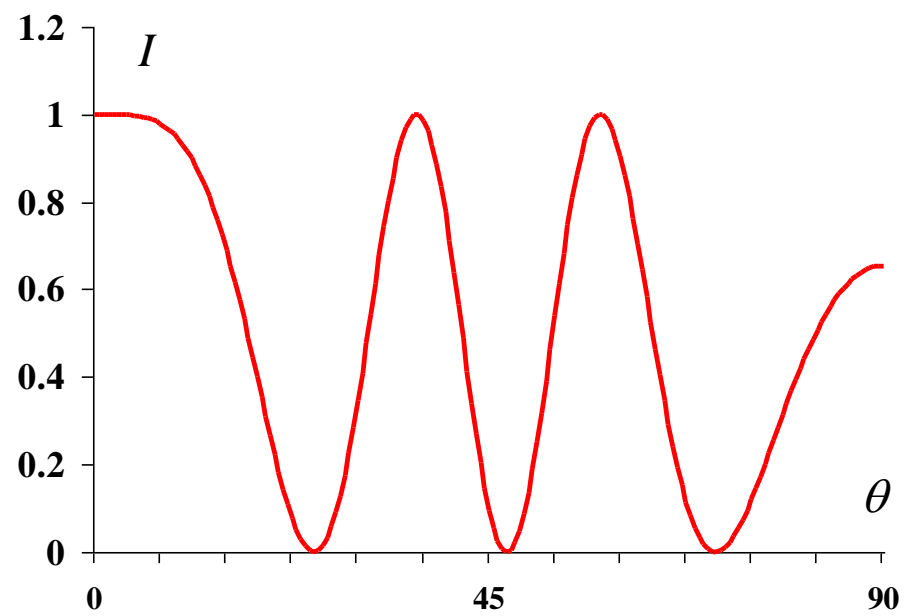
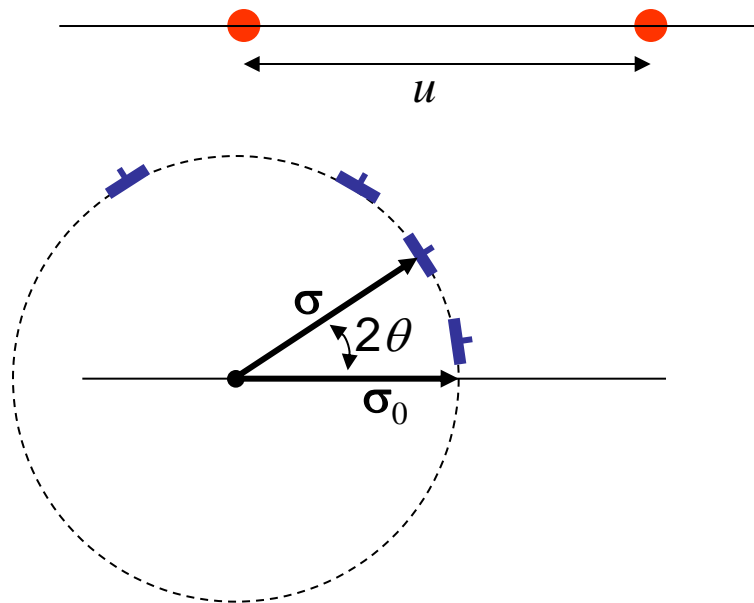
амплитуда волны  $\frac{\varepsilon}{R_{s-d}} E_0 F(\mathbf{s}) N_{mol}$

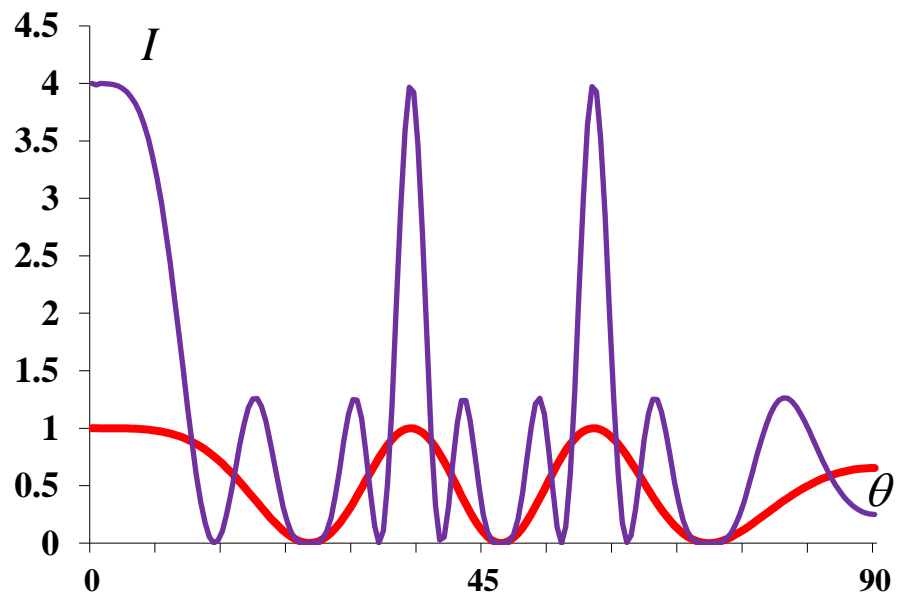
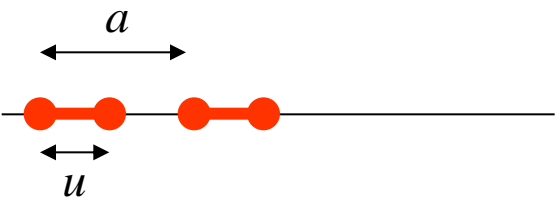
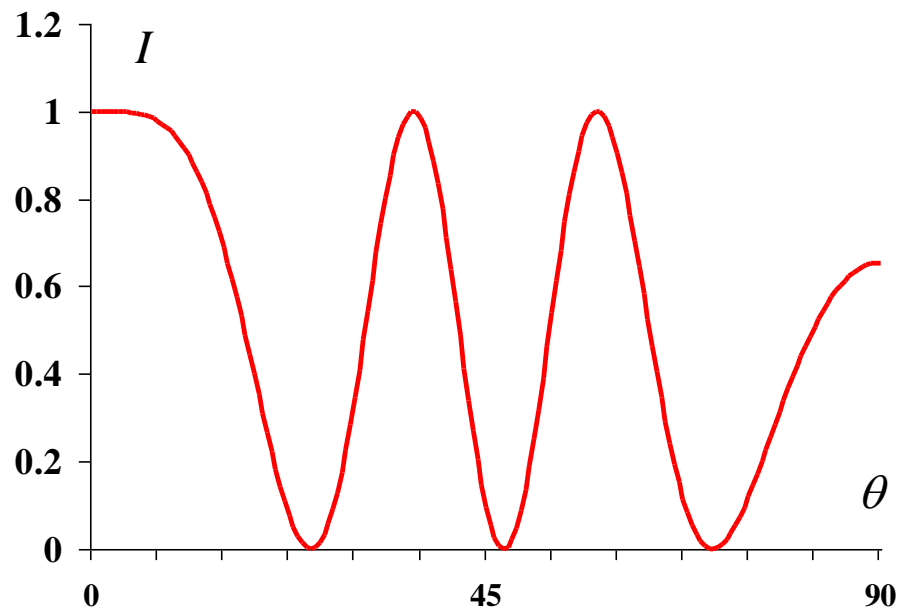
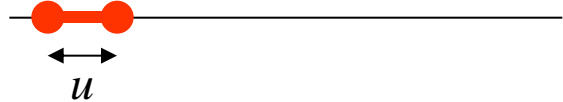


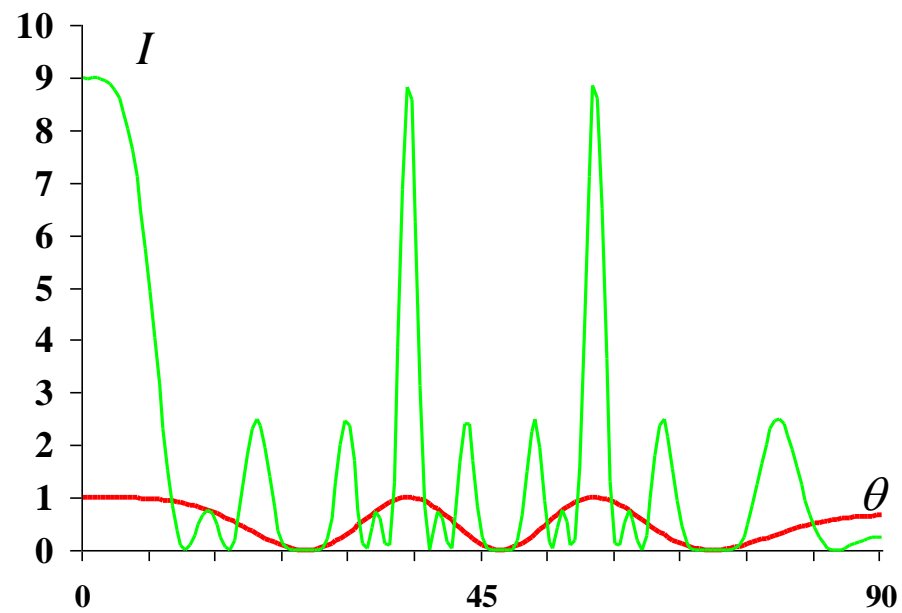
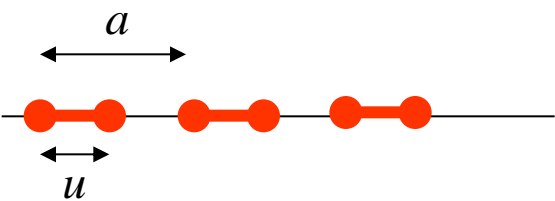
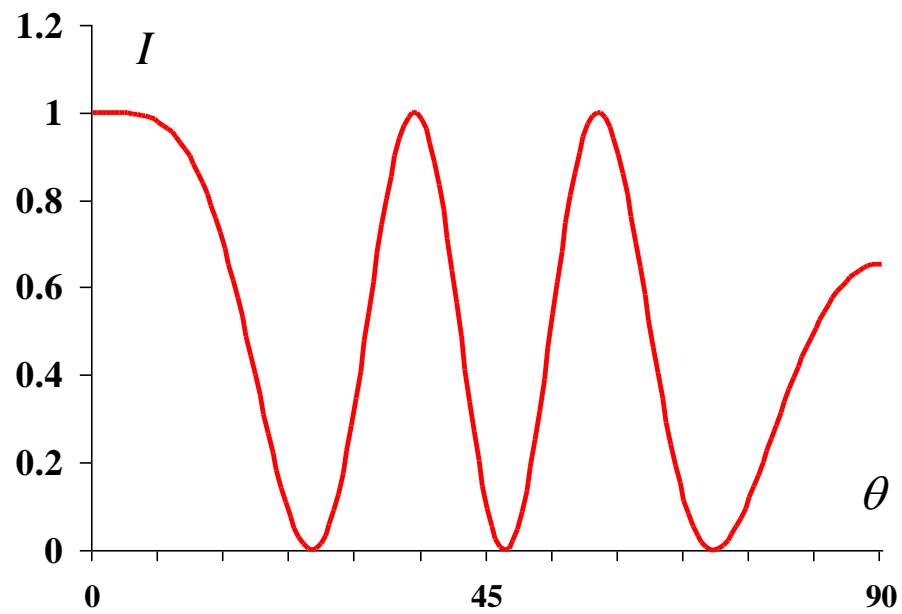
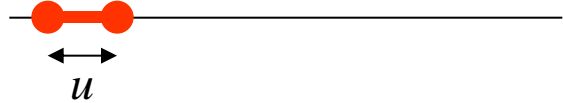
$(\mathbf{s}, \mathbf{a}) = h$  - нецелое

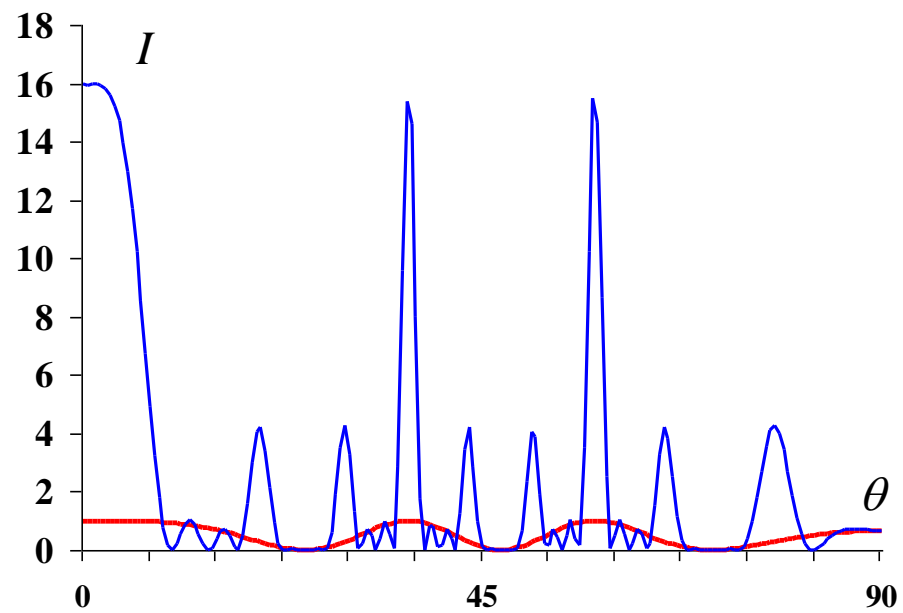
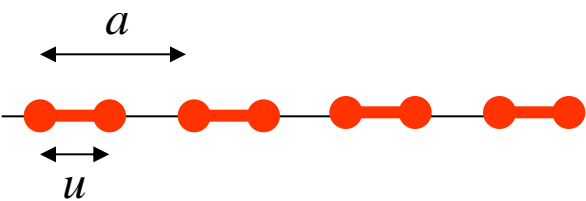
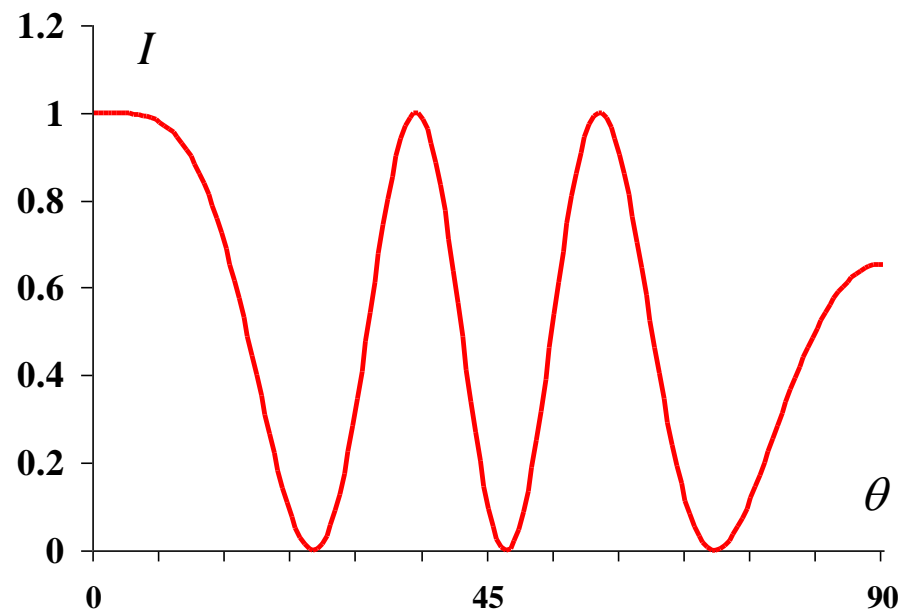
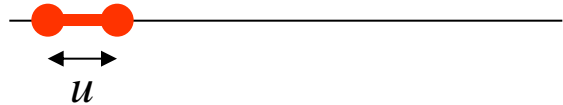
усиления нет

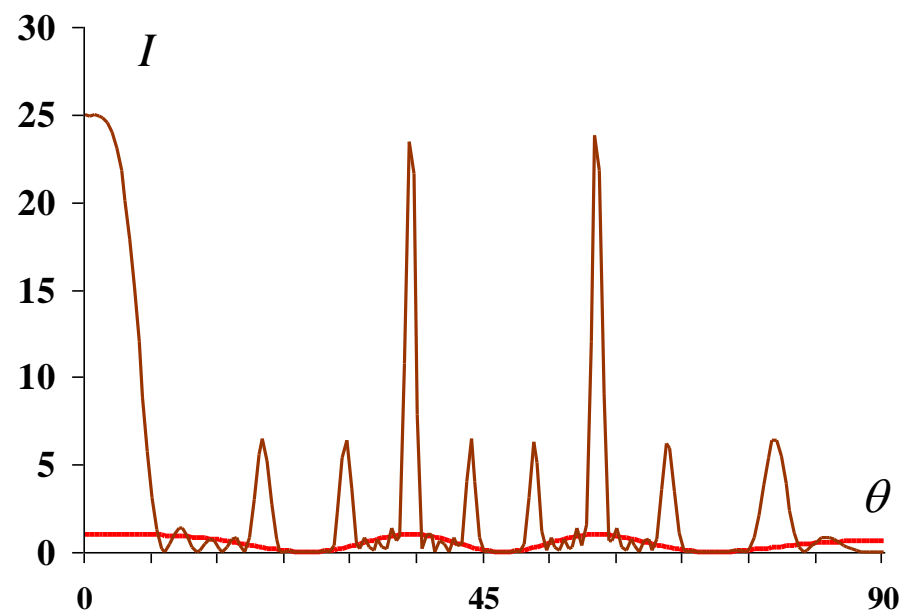
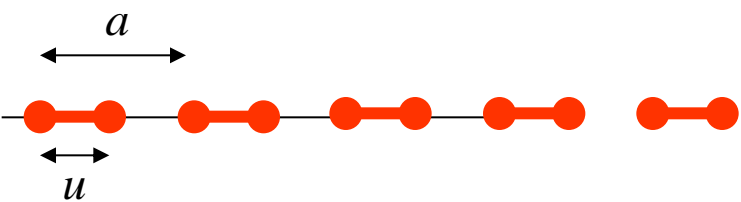
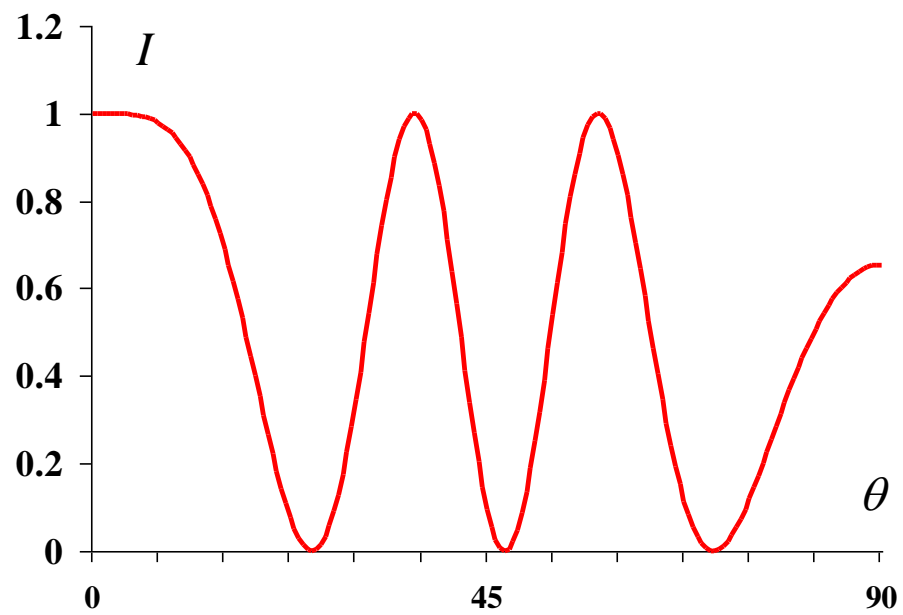
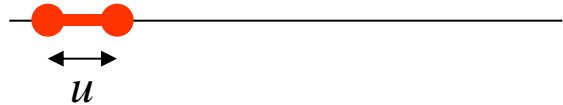
амплитуда волны  $\approx 0$

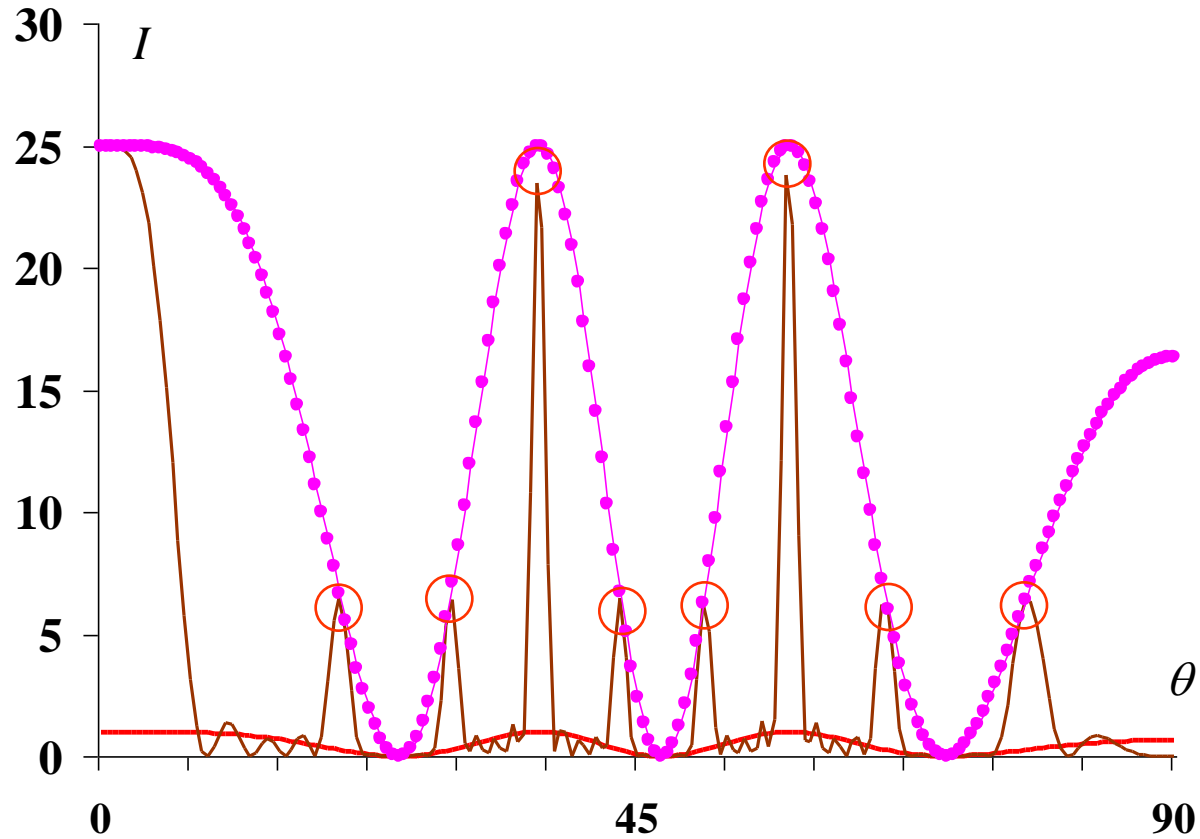
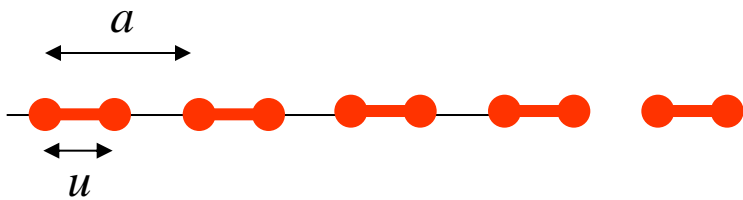








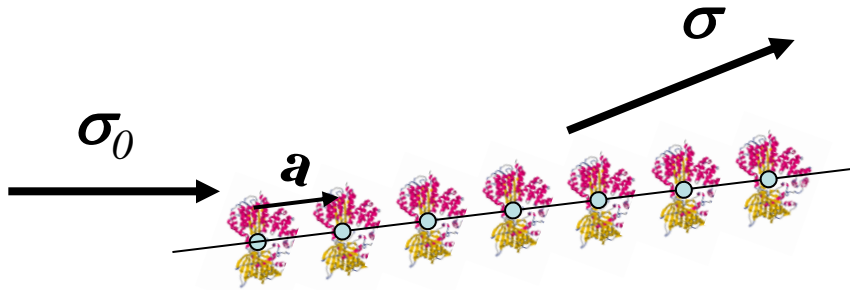




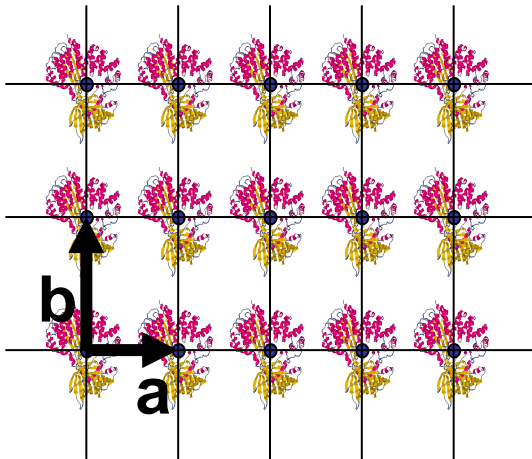
- усиление сигнала в 25 раз для некоторых углов рассеяния
- потеря информации для других направлений



# Условия Лауэ



$$\Delta = \left( \frac{\sigma - \sigma_0}{\lambda}, \mathbf{a} \right) = h \quad \text{integer}$$



$$\left( \frac{\sigma - \sigma_0}{\lambda}, \mathbf{b} \right) = k \quad \text{integer}$$

трехмерный кристалл

$$\left( \frac{\sigma - \sigma_0}{\lambda}, \mathbf{c} \right) = l \quad \text{integer}$$

$h, k, l$  – индексы (Miller indices) рефлекса

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 !!!

Условия дифракции

(Лауэ):

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

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

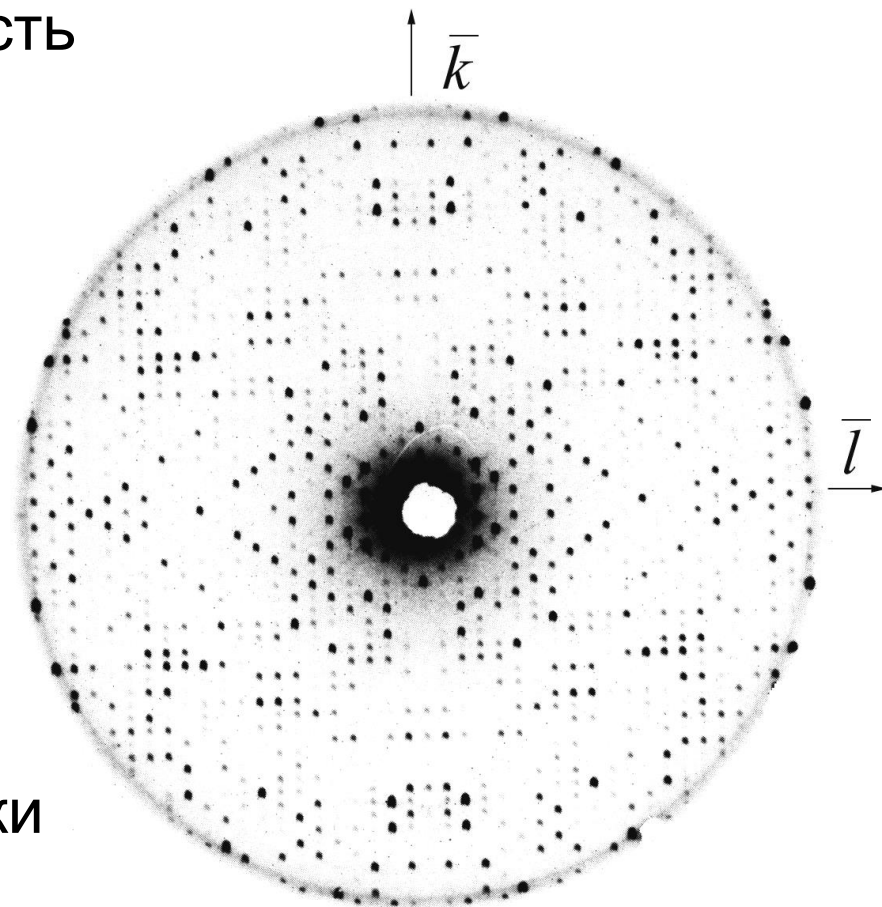
$$(\mathbf{s}, \mathbf{c}) = l$$

$h, k, l$  - целые числа

(индексы рефлекса)

$\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}$  - ребра элементарной ячейки

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



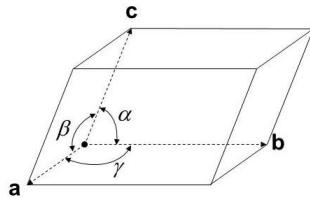
# «Прямое» и «обратное» пространства

## Real and reciprocal spaces

### Прямое пространство (real, or direct space)

Физическое пространство, в котором расположен изучаемый объект

элементы: вектора  $\mathbf{r}$   
длина: ангстремы, Å  
базис:  $\{\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}\}$



координаты (относительные, fractional):  $\mathbf{r} = x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c}$   
решетка (периоды):

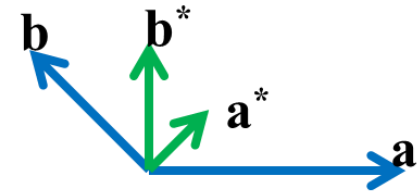
$$\mathcal{R} = \{j\mathbf{a} + m\mathbf{b} + n\mathbf{c}\}$$

$j, m, n$  — целые

### Обратное пространство (reciprocal space)

Математическая конструкция (сопряженное пространство).  
Пространство векторов рассеяния, рефлексов.

элементы: вектора рассеяния  $\mathbf{s}$   
длина:  $1/\text{Å}$   
базис:  $\{\mathbf{a}^*, \mathbf{b}^*, \mathbf{c}^*\}$



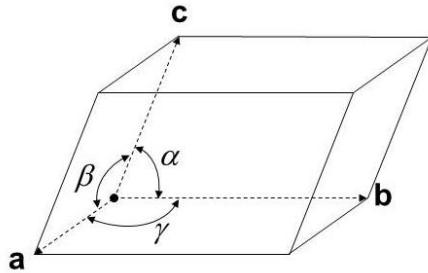
координаты (индексы Миллера):  
 $\mathbf{s} = h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^*$   
решетка (периоды):

$$\mathcal{R}' = \{h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^*\}$$

$h, k, l$  — целые

# «Прямое» и «обратное» пространства Real and reciprocal spaces

$\{\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}\}$



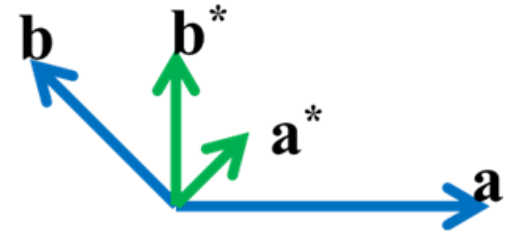
*Базис обратного пространства*

$\{\mathbf{a}^*, \mathbf{b}^*, \mathbf{c}^*\}$

$$\begin{aligned} (\mathbf{a}^*, \mathbf{a}) &= 1, (\mathbf{a}^*, \mathbf{b}) = 0, (\mathbf{a}^*, \mathbf{c}) = 0 \\ (\mathbf{b}^*, \mathbf{a}) &= 0, (\mathbf{b}^*, \mathbf{b}) = 1, (\mathbf{b}^*, \mathbf{c}) = 0 \\ (\mathbf{c}^*, \mathbf{a}) &= 0, (\mathbf{c}^*, \mathbf{b}) = 0, (\mathbf{c}^*, \mathbf{c}) = 1 \end{aligned}$$

Для ортогонального базиса

$$\mathbf{a}^* = \frac{1}{a^2} \mathbf{a}, \quad \mathbf{b}^* = \frac{1}{b^2} \mathbf{b}, \quad \mathbf{c}^* = \frac{1}{c^2} \mathbf{c}$$



*Координаты векторов*

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

$$\mathbf{s} = h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^*$$

$$x = (\mathbf{r}, \mathbf{a}^*), \quad y = (\mathbf{r}, \mathbf{b}^*), \quad z = (\mathbf{r}, \mathbf{c}^*)$$

$$h = (\mathbf{s}, \mathbf{a}), \quad k = (\mathbf{s}, \mathbf{b}), \quad l = (\mathbf{s}, \mathbf{c})$$

*Скалярное произведение векторов*

*Условия дифракции Лауэ*

$$(\mathbf{r}, \mathbf{s}) = hx + ky + lz$$

$$\mathbf{s} \in \mathfrak{R}'$$

# Структурный фактор непрерывного распределения электронной плотности

Координаты векторов

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

$$\mathbf{s} = h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^*$$

$$x = (\mathbf{r}, \mathbf{a}^*), \quad y = (\mathbf{r}, \mathbf{b}^*), \quad z = (\mathbf{r}, \mathbf{c}^*)$$

$$h = (\mathbf{s}, \mathbf{a}), \quad k = (\mathbf{s}, \mathbf{b}), \quad l = (\mathbf{s}, \mathbf{c})$$

Скалярное произведение векторов

$$(\mathbf{r}, \mathbf{s}) = hx + ky + lz$$

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

Структурный фактор  $F_{hkl} = F(h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^*)$ ,  $\varphi_{hkl} = \varphi(h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^*)$ ,

$$F_{hkl} = \sqrt{A_{hkl}^2 + B_{hkl}^2}$$

$$\operatorname{tg} \varphi_{hkl} = \frac{B_{hkl}}{A_{hkl}}$$

$$A_{hkl} = \int \tilde{\rho}(x, y, z) \cos[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

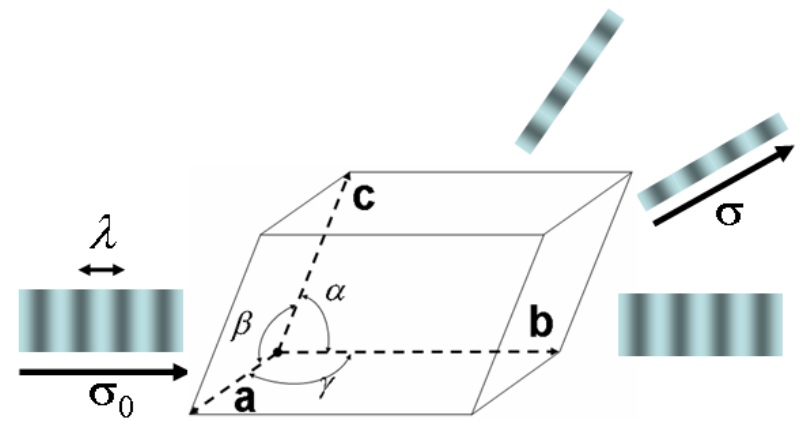
$$B_{hkl} = \int \tilde{\rho}(x, y, z) \sin[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

Рентгеновский эксперимент с монокристаллом позволяет измерить интенсивность волн, рассеянных в направлениях, определяемых условиями:

$h=(\mathbf{s},\mathbf{a})$  ,  $k=(\mathbf{s},\mathbf{b})$  ,  $l=(\mathbf{s},\mathbf{c})$  - целые

$$\mathbf{s}=(\boldsymbol{\sigma}_0-\boldsymbol{\sigma})/\lambda$$

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



$h,k,l$  - целые





Амплитуда и фаза рассеянной волны зависят от распределения электронной плотности в элементарной ячейке и могут быть рассчитаны по формулам

$$F_{hkl} = \sqrt{A_{hkl}^2 + B_{hkl}^2} \quad \text{tg } \varphi_{hkl} = \frac{B_{hkl}}{A_{hkl}}$$

$$A_{hkl} = \int_V \rho(x, y, z) \cos[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

$$B_{hkl} = \int_V \rho(x, y, z) \sin[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

# Кристалл

-  По расположению пятен на рентгенограмме можно определить параметры ячейки кристалла.
-  Позволяет радикально увеличить амплитуду рассеянной волны для некоторых («Брэгговских») рефлексов.
-  Теряется информация о модулях структурных факторов для остальных рефлексов.
-  Проблема получения кристаллов.

Bernal J.D., Crowfoot D.C., Nature, 143, 794 (1934)  
первые рентгенограммы пепсина

Perutz M.F. 1937 тема диссертации – определение кристаллической структуры гемоглобина

1950 – 1960

- появление ЭВМ;
- “двухшаговое” решение структуры;

Perutz M.F., Kendrew J.C. Нобелевская премия 1962 г.  
структуры гемоглобина и миоглобина

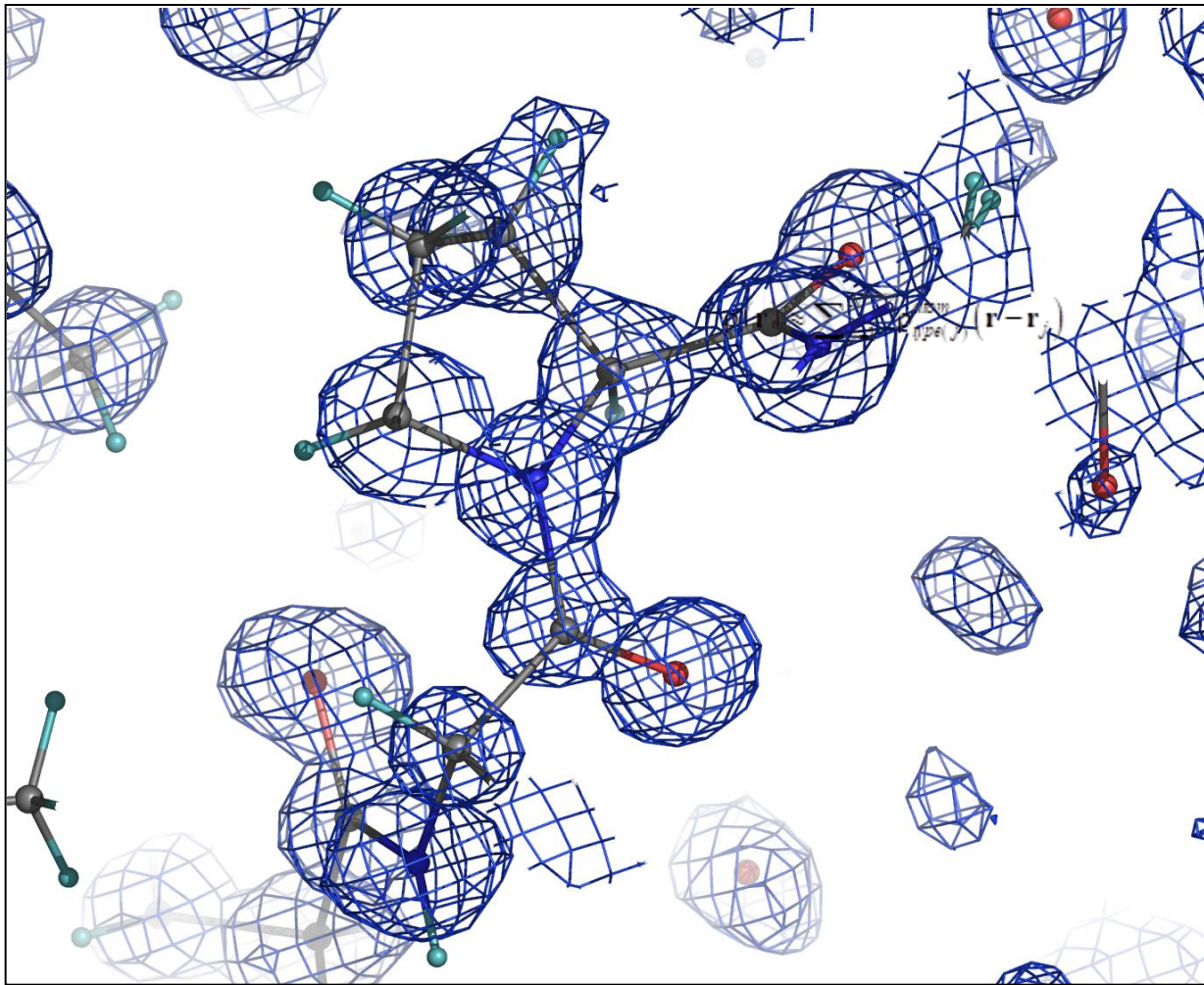
1965 – лизоцим

1967 – рибонуклеаза, химотрипсин, карбоксипептидаза



# Интерпретация распределения электронной плотности

$$\rho(\mathbf{r}) \approx \sum_{j=1}^{N^{atoms}} \rho_{type(j)}^{atom}(\mathbf{r} - \mathbf{r}_j)$$



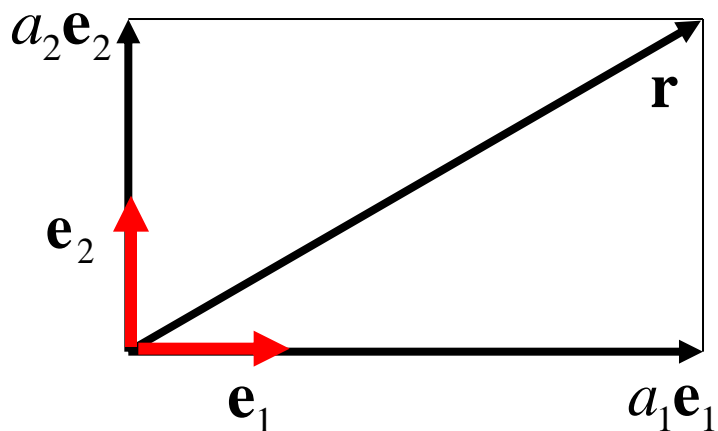
Уточнение  
модели

**PDB**

# Ряды Фурье



Жан Батист Жозеф Фурье  
1768 - 1830



$$\mathbf{r} = a_1\mathbf{e}_1 + a_2\mathbf{e}_2$$

$\mathbf{e}_1, \mathbf{e}_2$  - базисные вектора

$a_1, a_2$  - коэффициенты разложения

$$\mathbf{r} = a_1\mathbf{e}_1 + a_2\mathbf{e}_2 + a_3\mathbf{e}_3$$

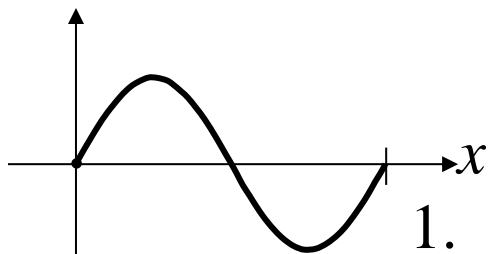
$$\rho(x) = a_1e_1(x) + a_2e_2(x) + a_3e_3(x) + \dots$$

$e_1(x), e_2(x), e_3(x), \dots$  - базисные функции  $(1, x, x^2, x^3, \dots)$

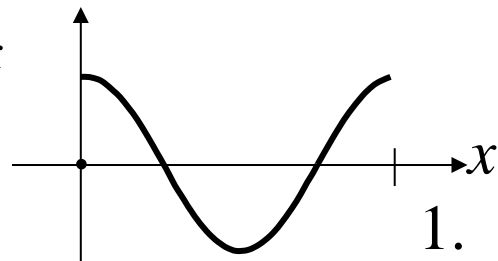
$a_1, a_2, a_3, \dots$  - коэффициенты разложения

*базисы из степенных функций – Грегори, Ньютон XVII век*

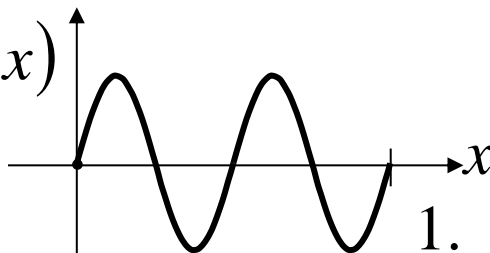
$$\sin 2\pi x$$



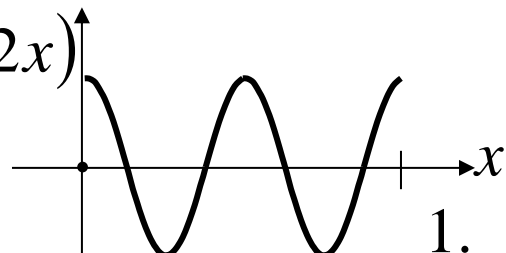
$$\cos 2\pi x$$



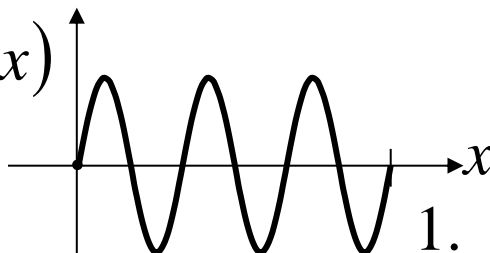
$$\sin 2\pi(2x)$$



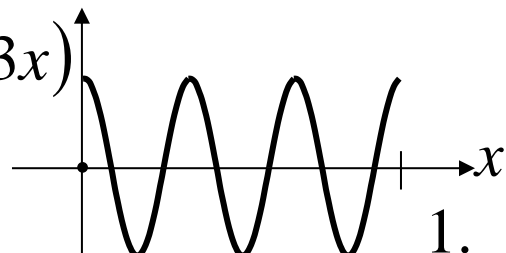
$$\cos 2\pi(2x)$$



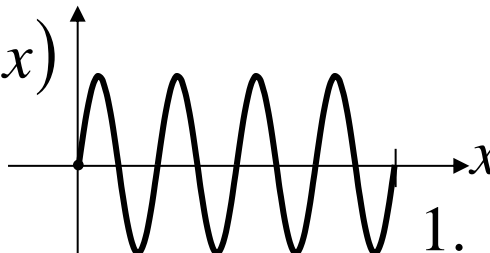
$$\sin 2\pi(3x)$$



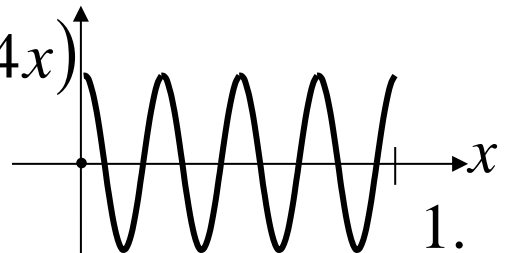
$$\cos 2\pi(3x)$$



$$\sin 2\pi(4x)$$



$$\cos 2\pi(4x)$$



$$\sin 2\pi(hx)$$

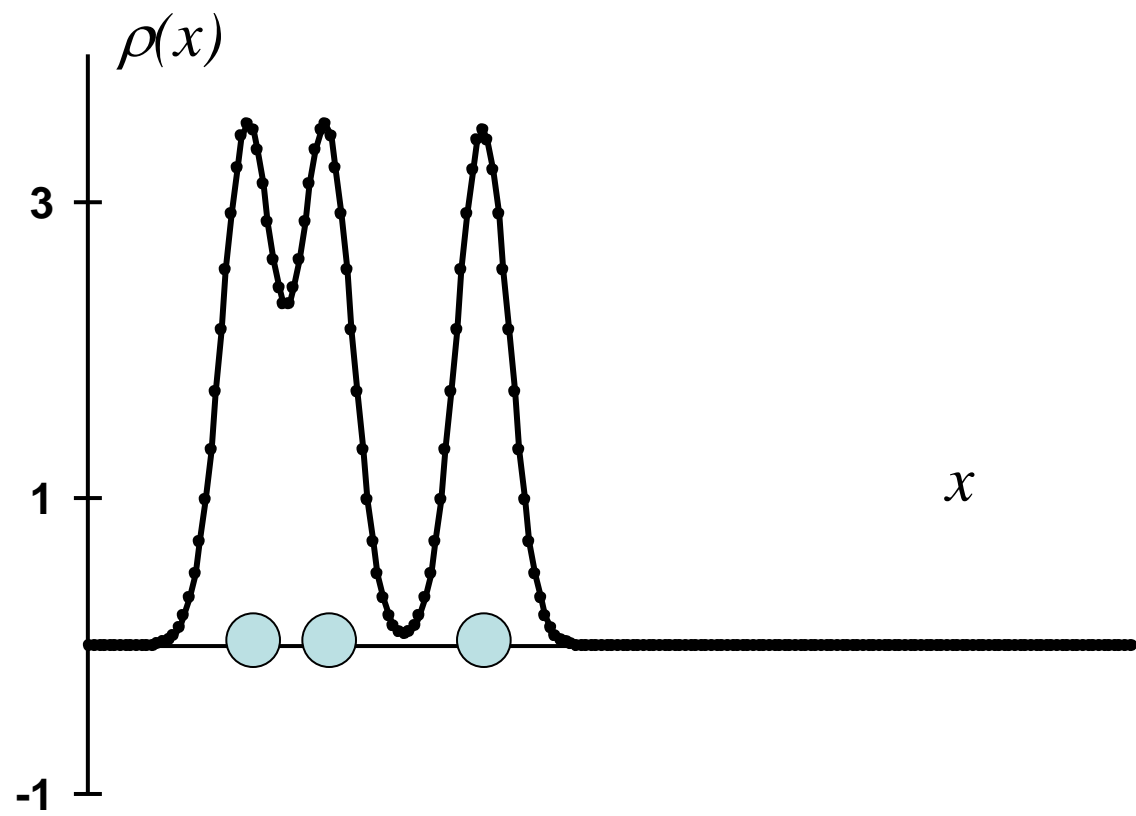
$$\cos 2\pi(hx)$$

# "Классический" ("тригонометрический") ряд Фурье

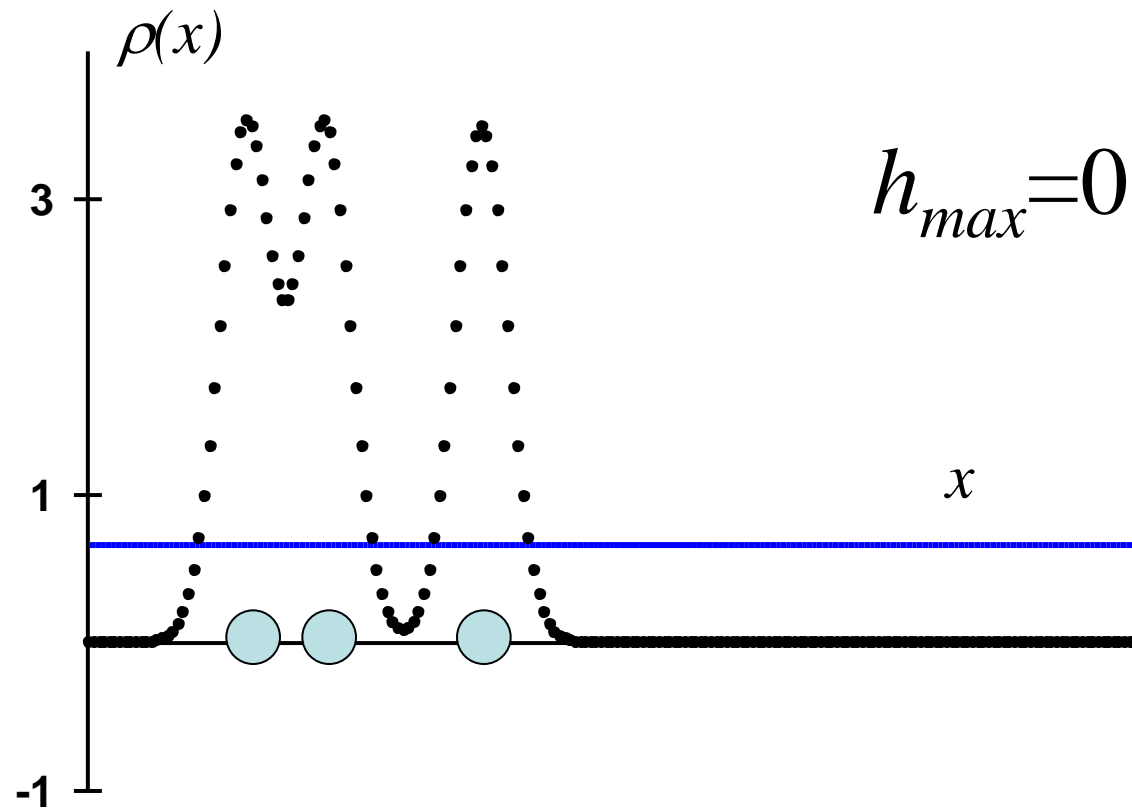
Любая функция может быть приближена на отрезке  $[0,1]$  комбинацией "синусов и косинусов".

$$\begin{aligned}\rho(x) = & A_0 \\ & + A_1 \cos 2\pi x + B_1 \sin 2\pi x \\ & + A_2 \cos 2\pi(2x) + B_2 \sin 2\pi(2x) \\ & + A_3 \cos 2\pi(3x) + B_3 \sin 2\pi(3x) \\ & + \dots\end{aligned}$$

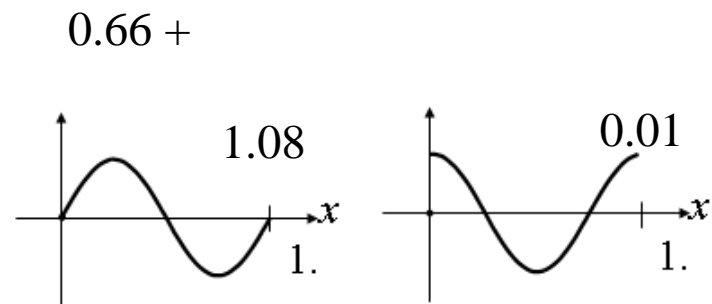
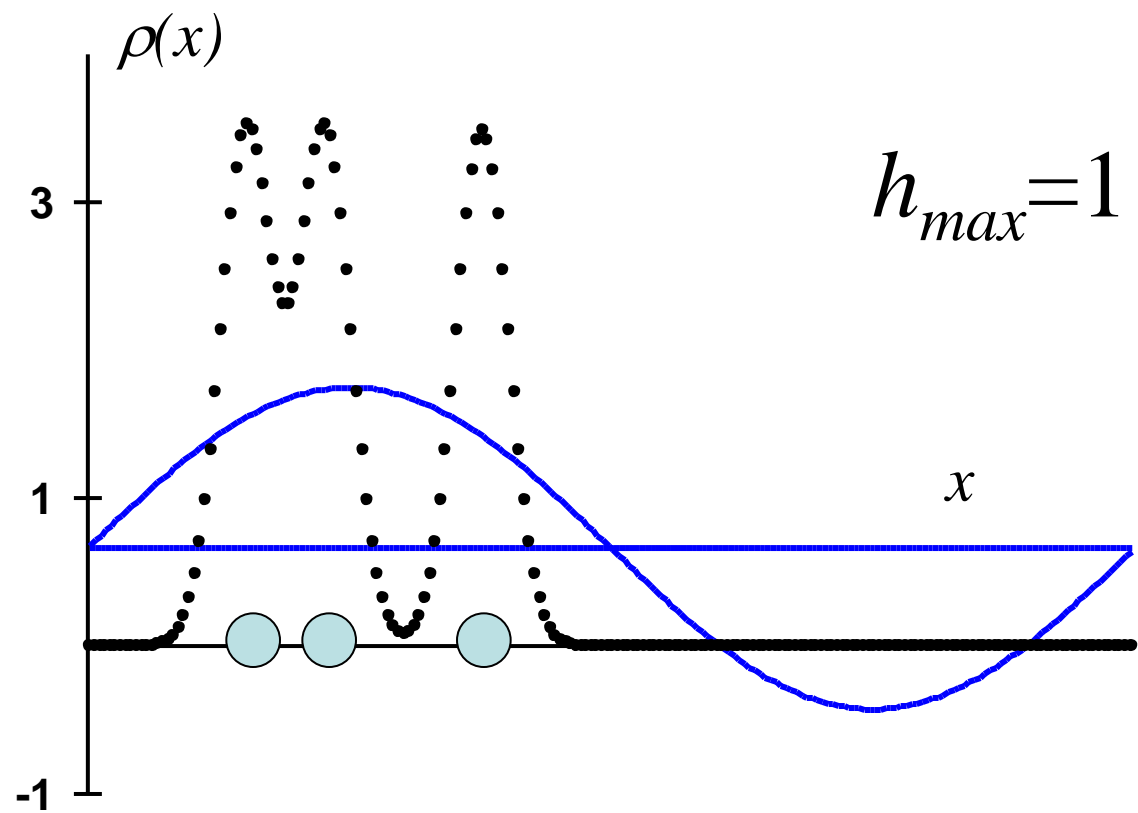
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_h \left\{ A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx) \right\}$$



0.66 +

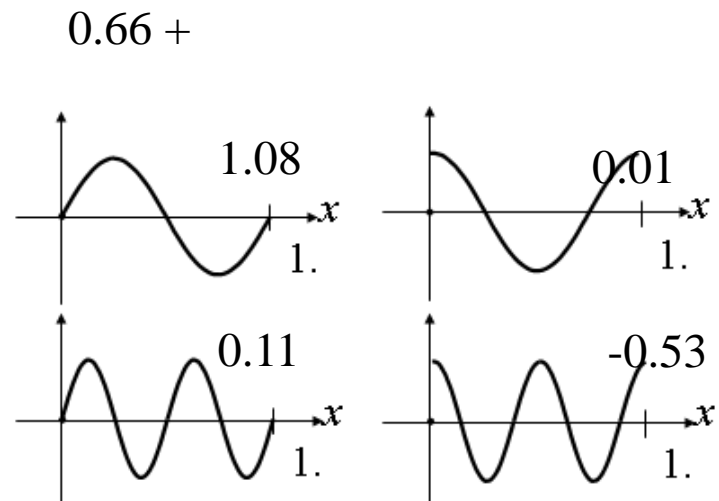
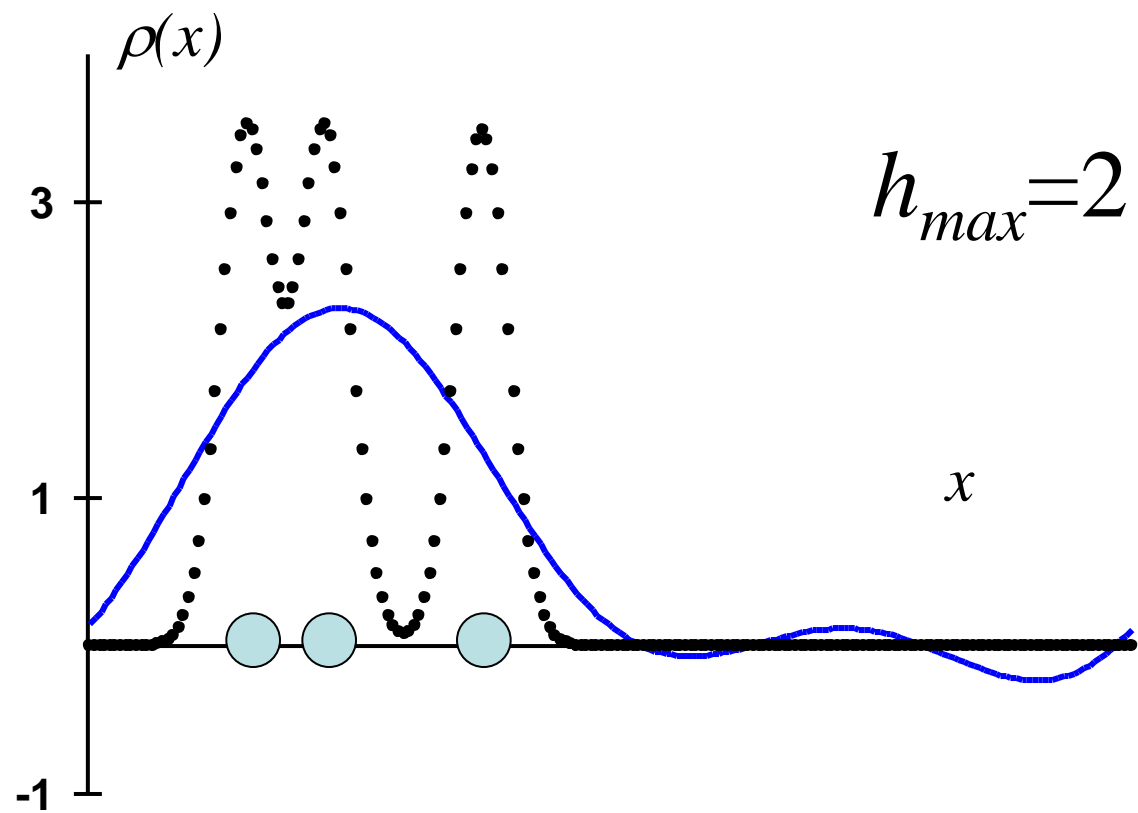


$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

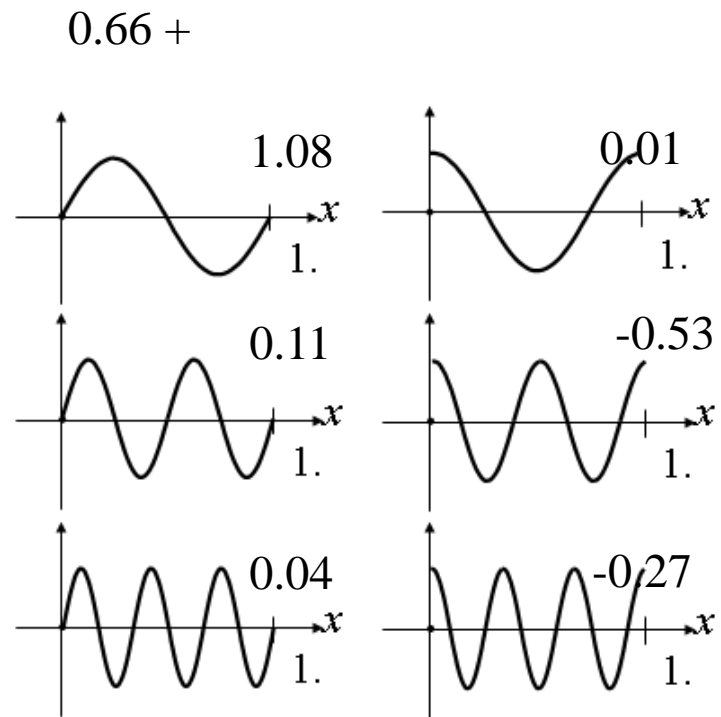
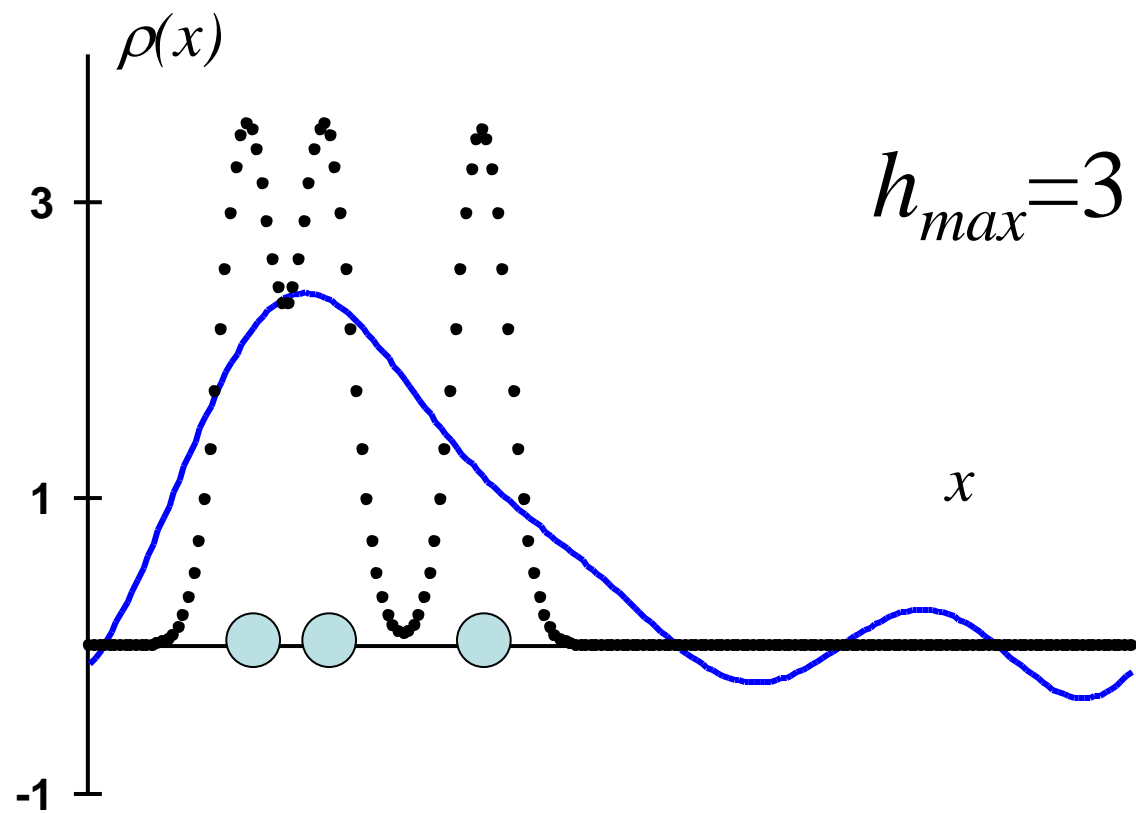


$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

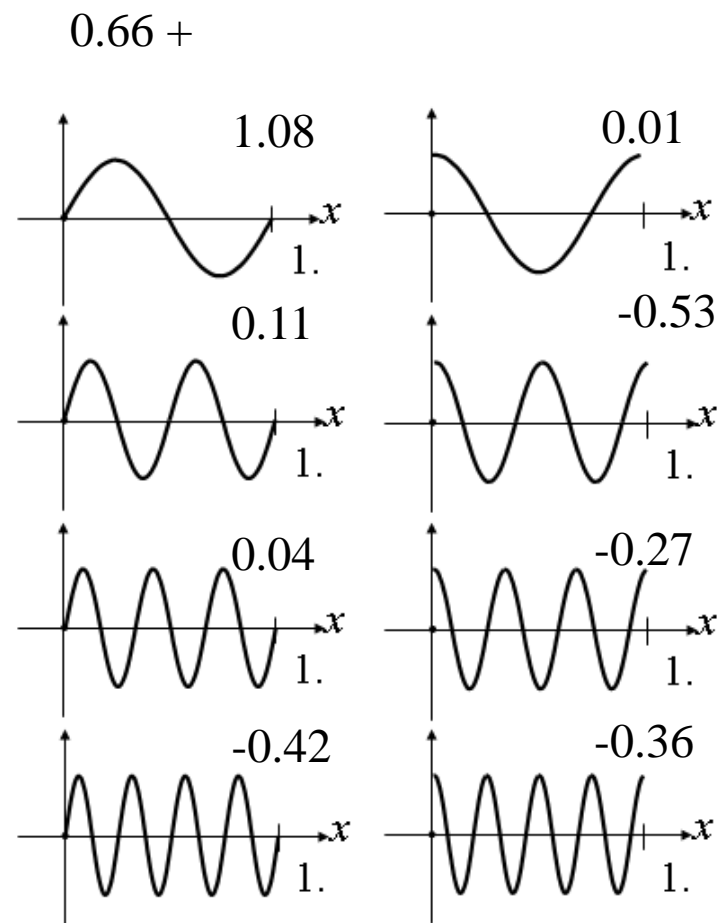
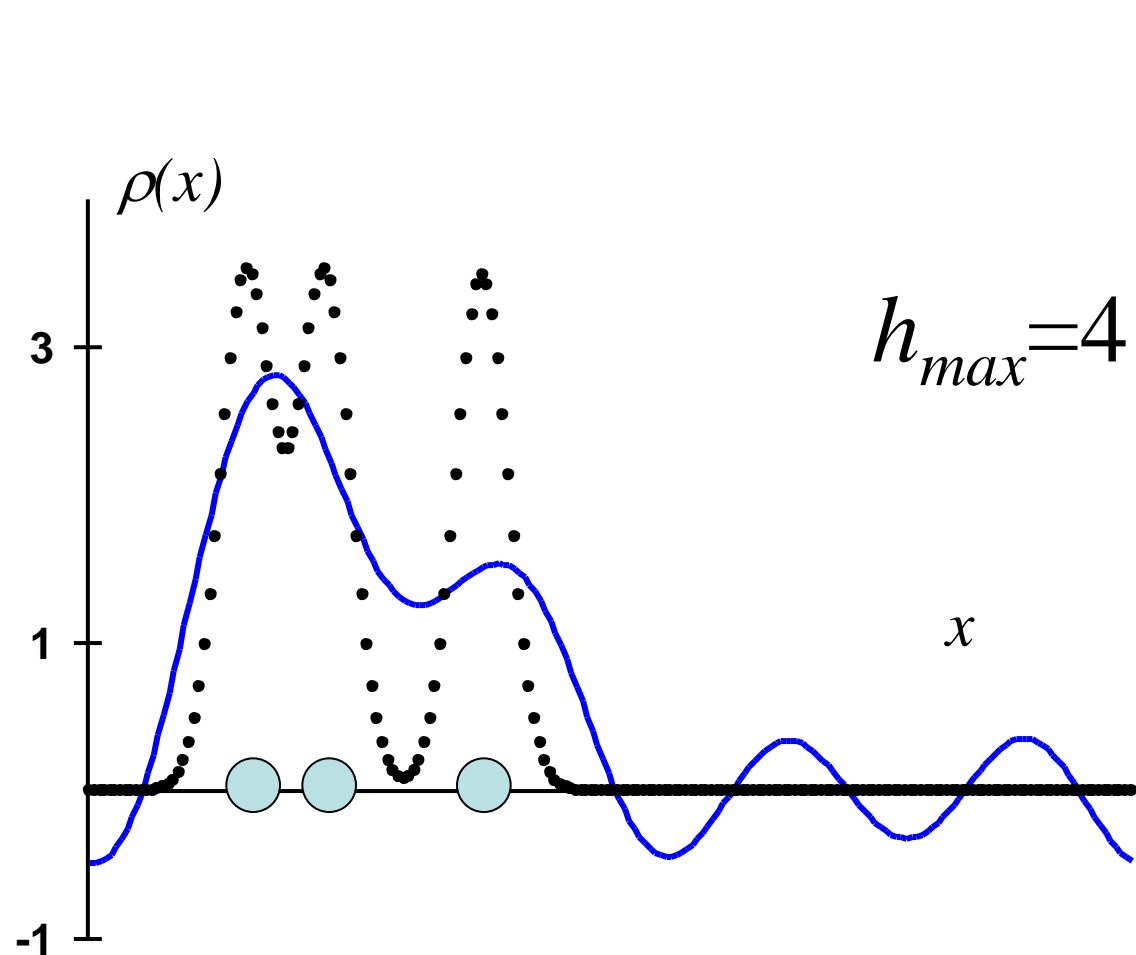




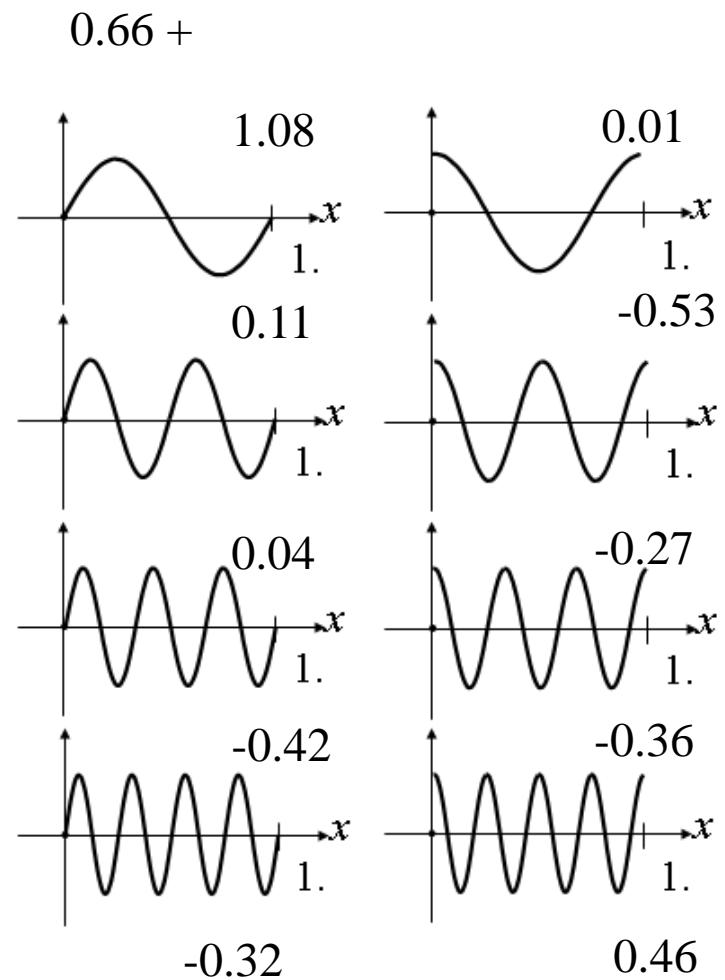
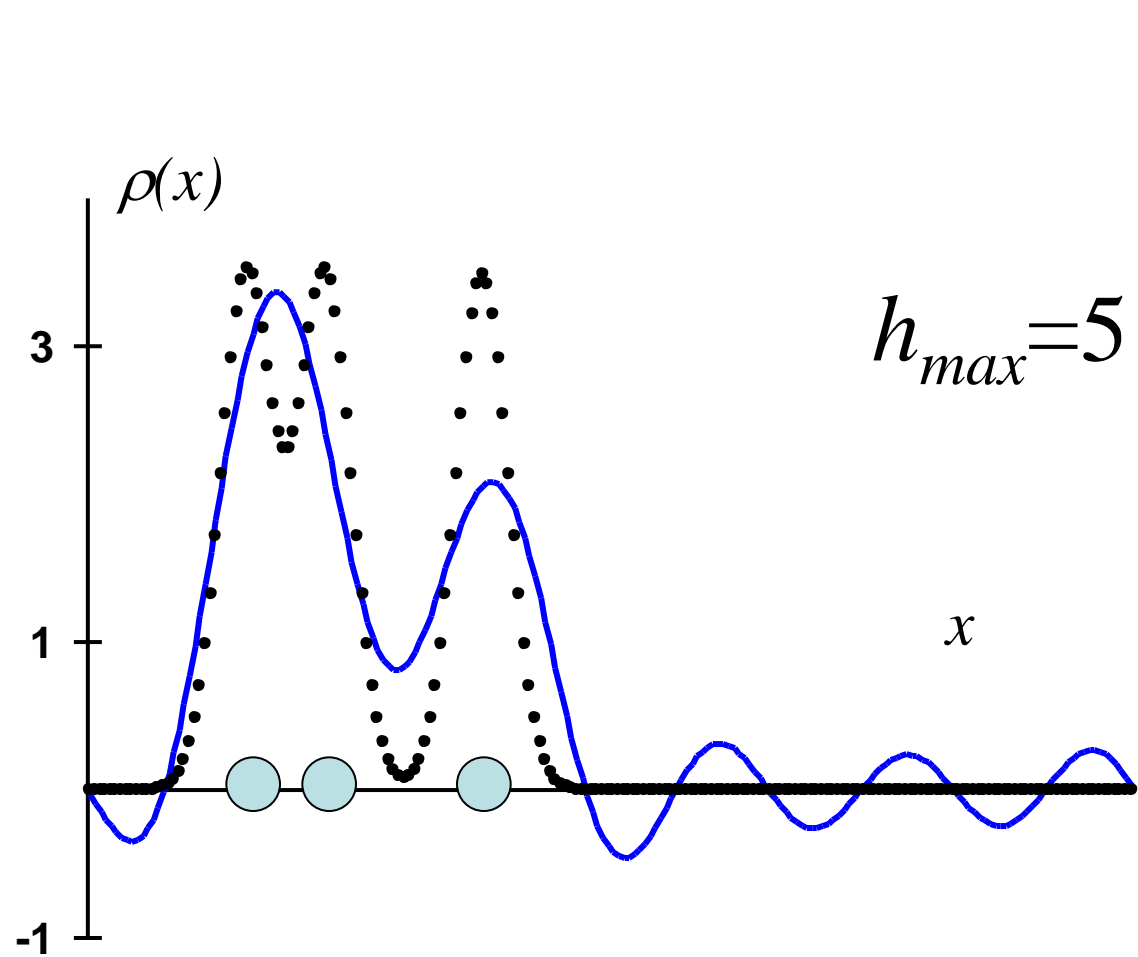
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



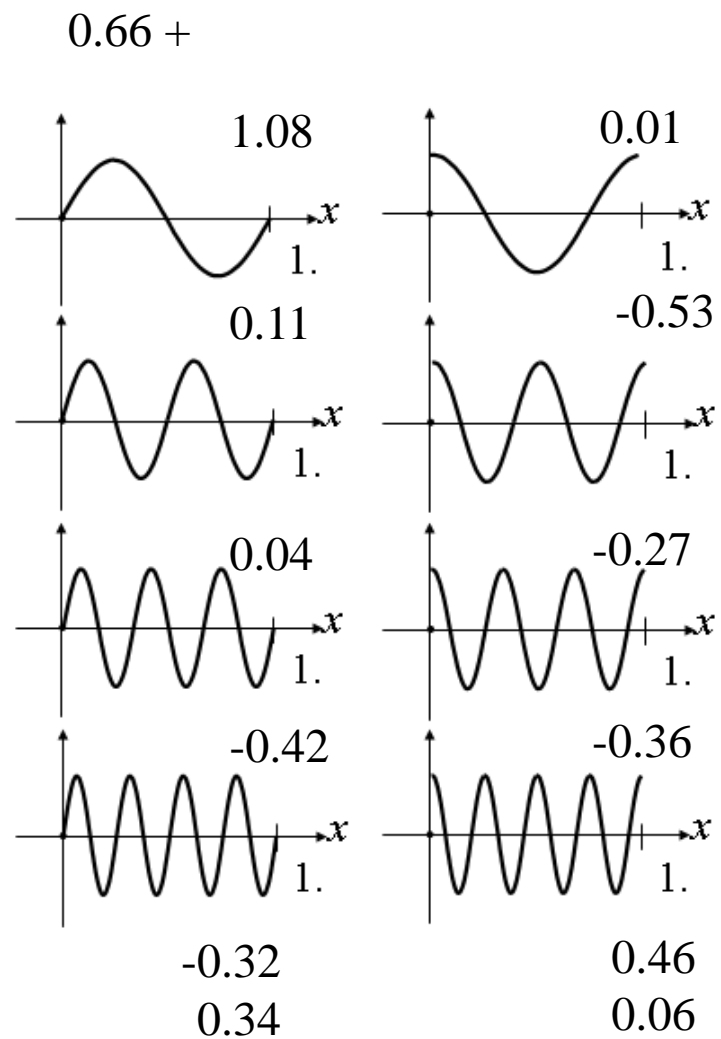
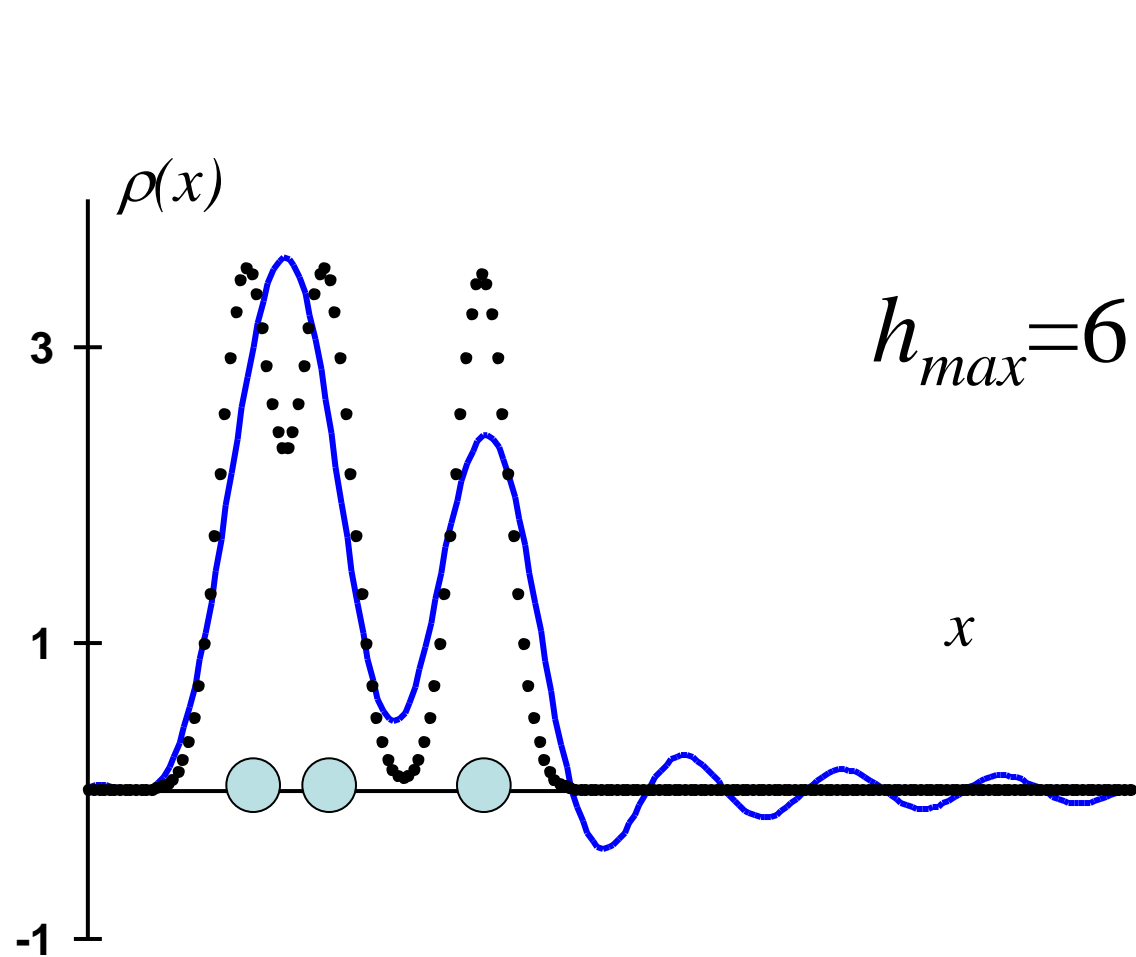
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



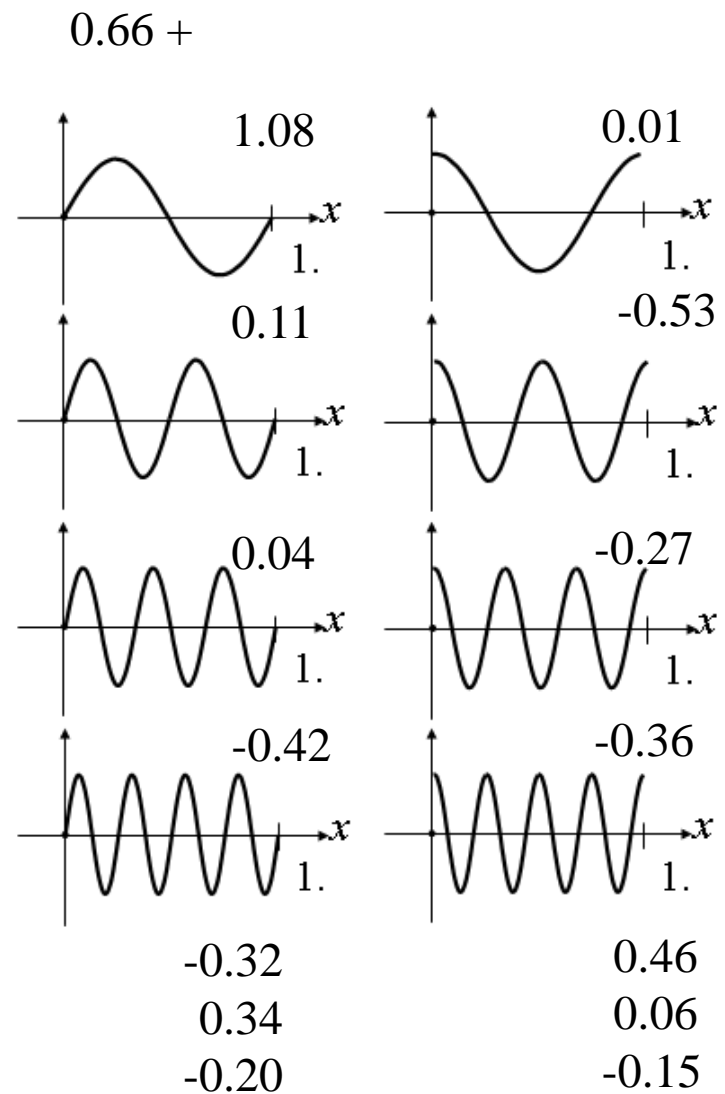
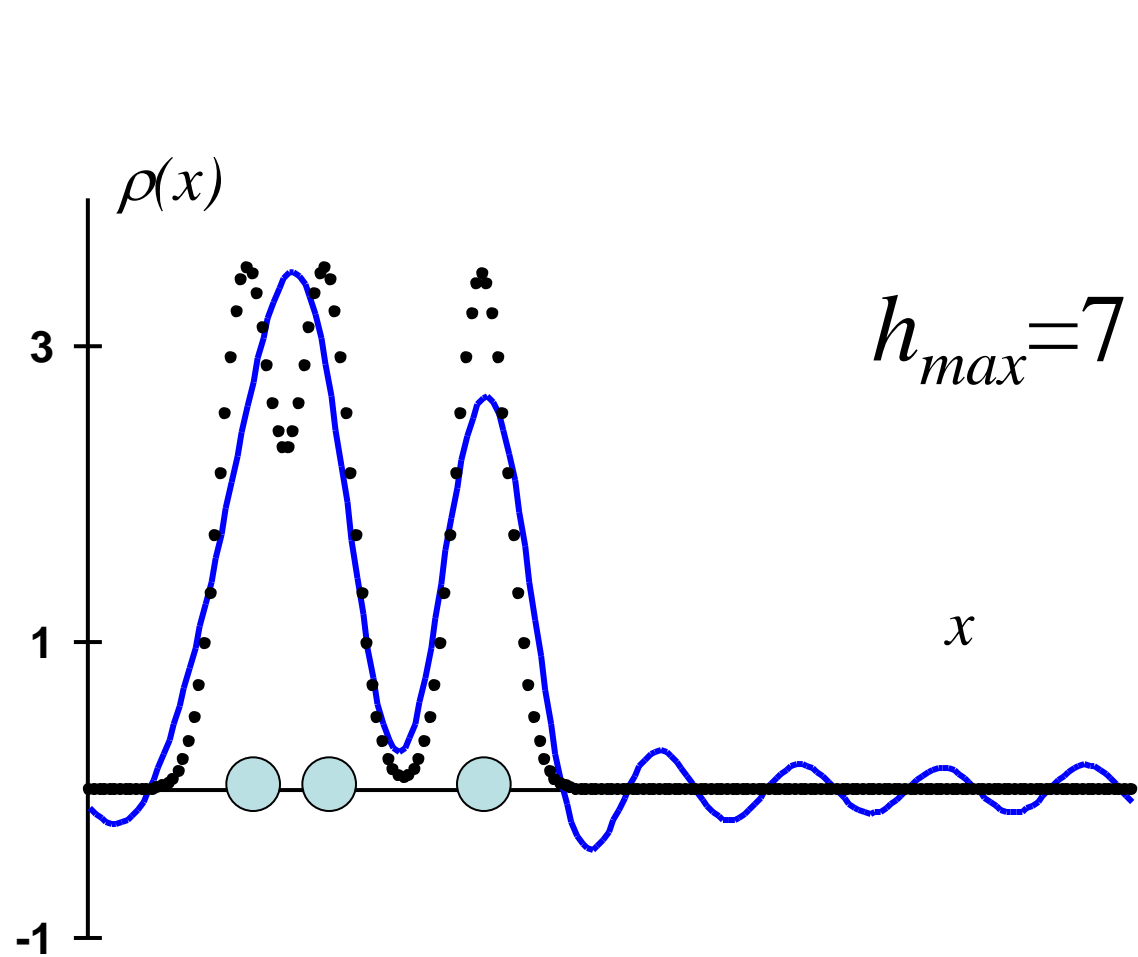
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



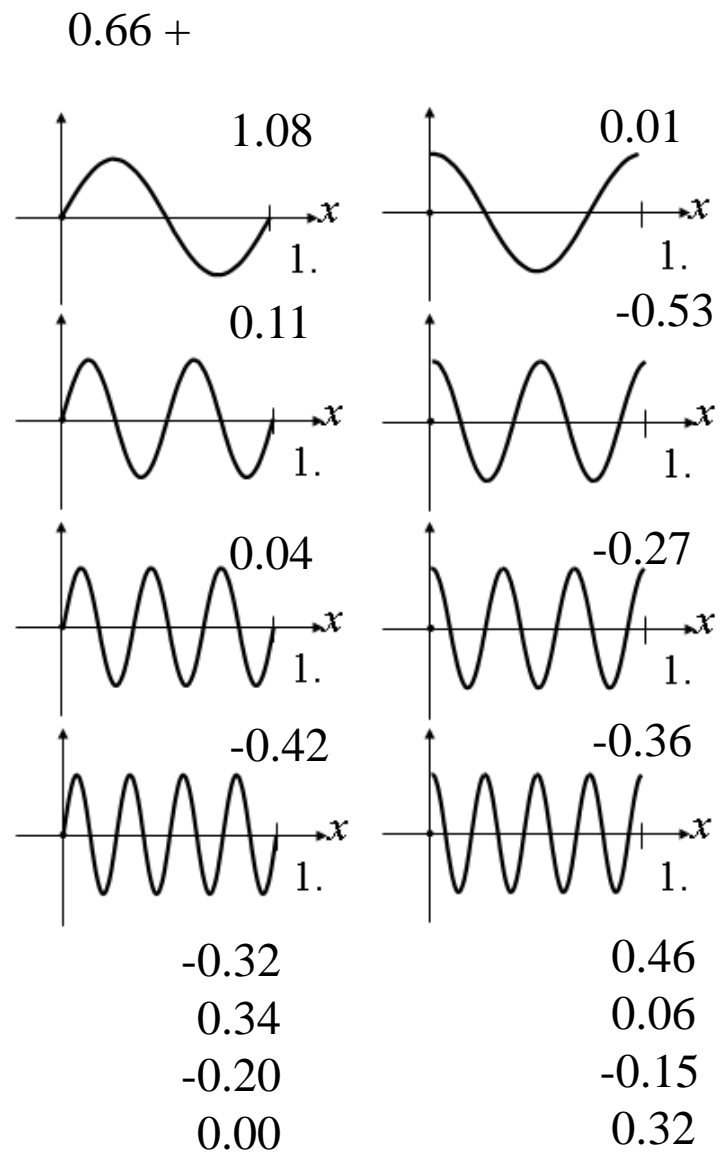
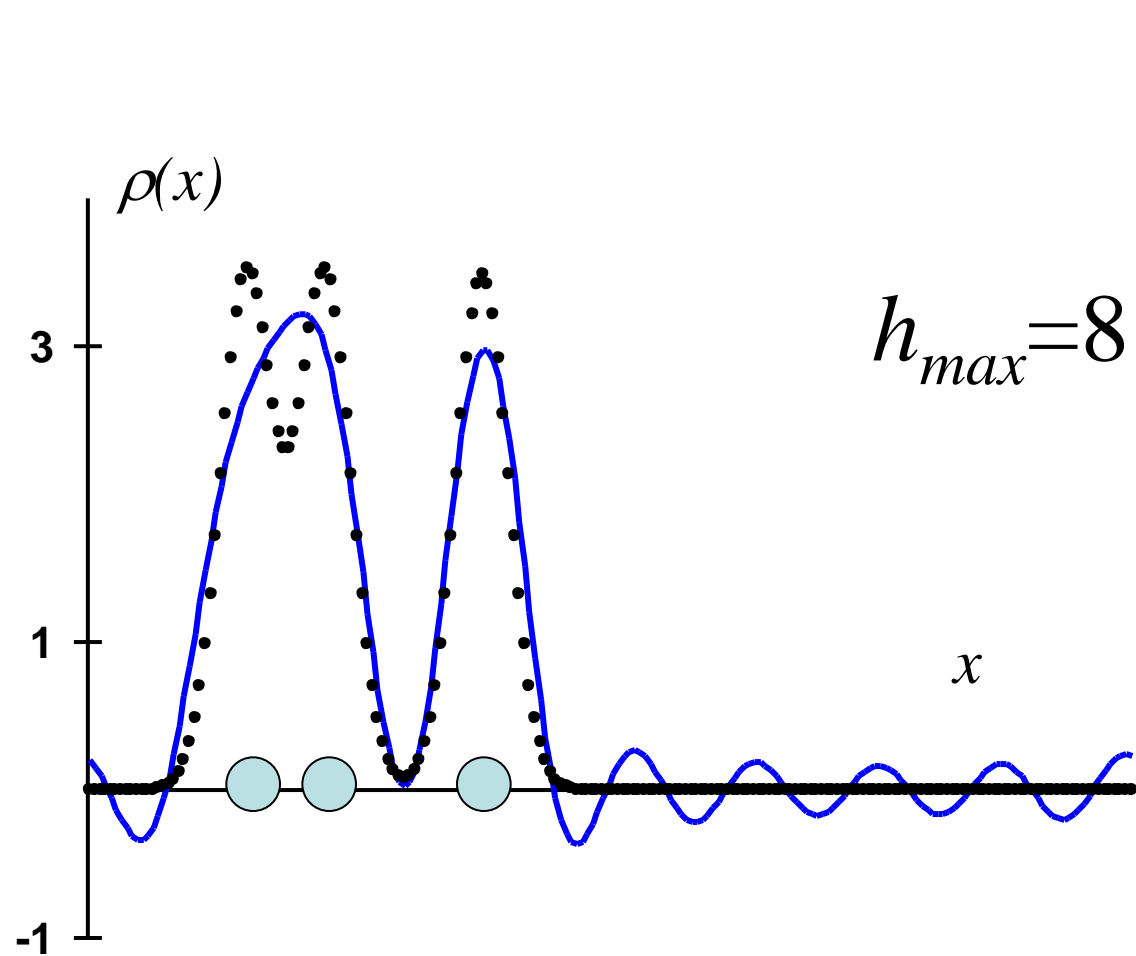
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



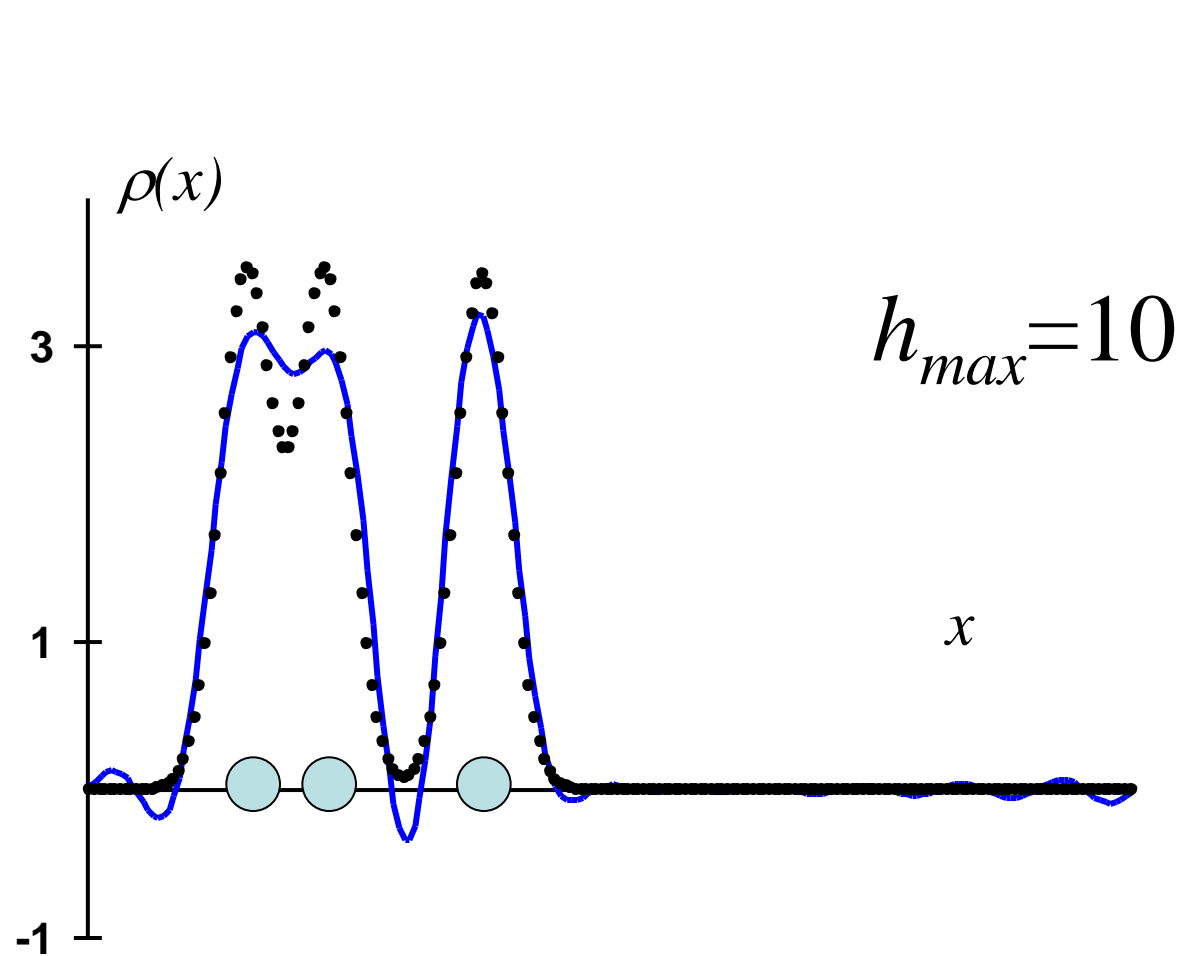
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



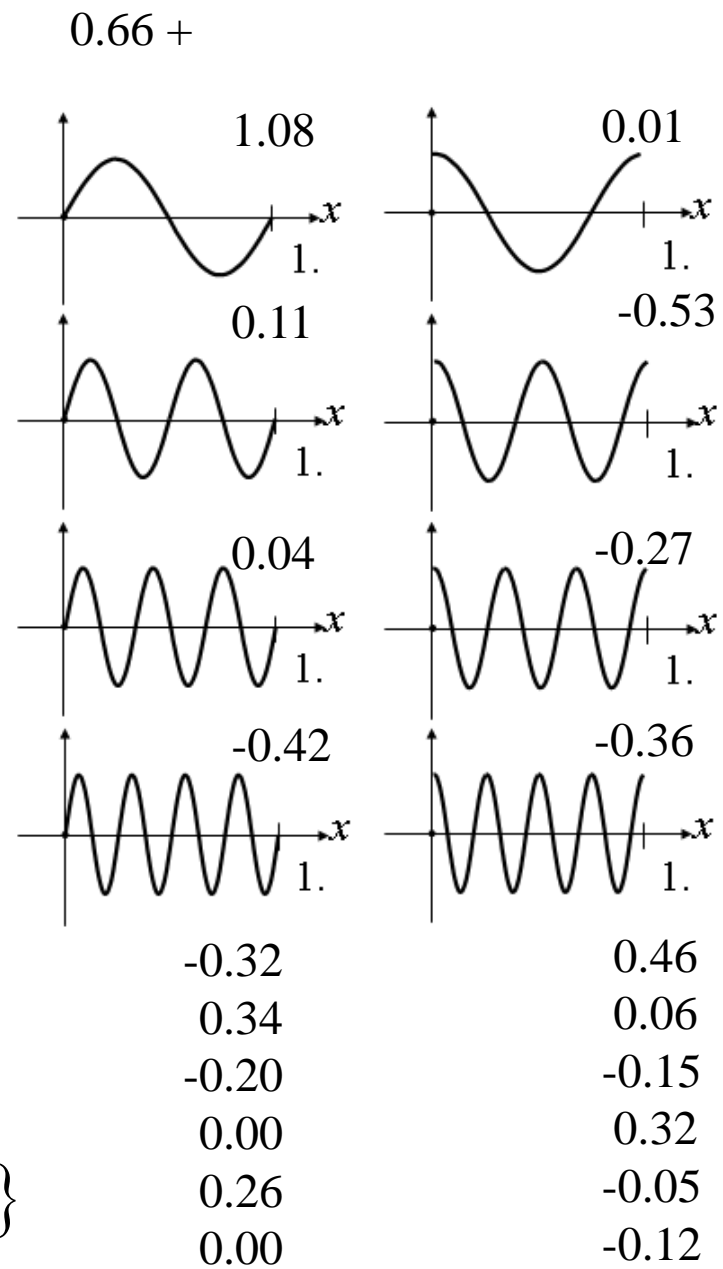
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



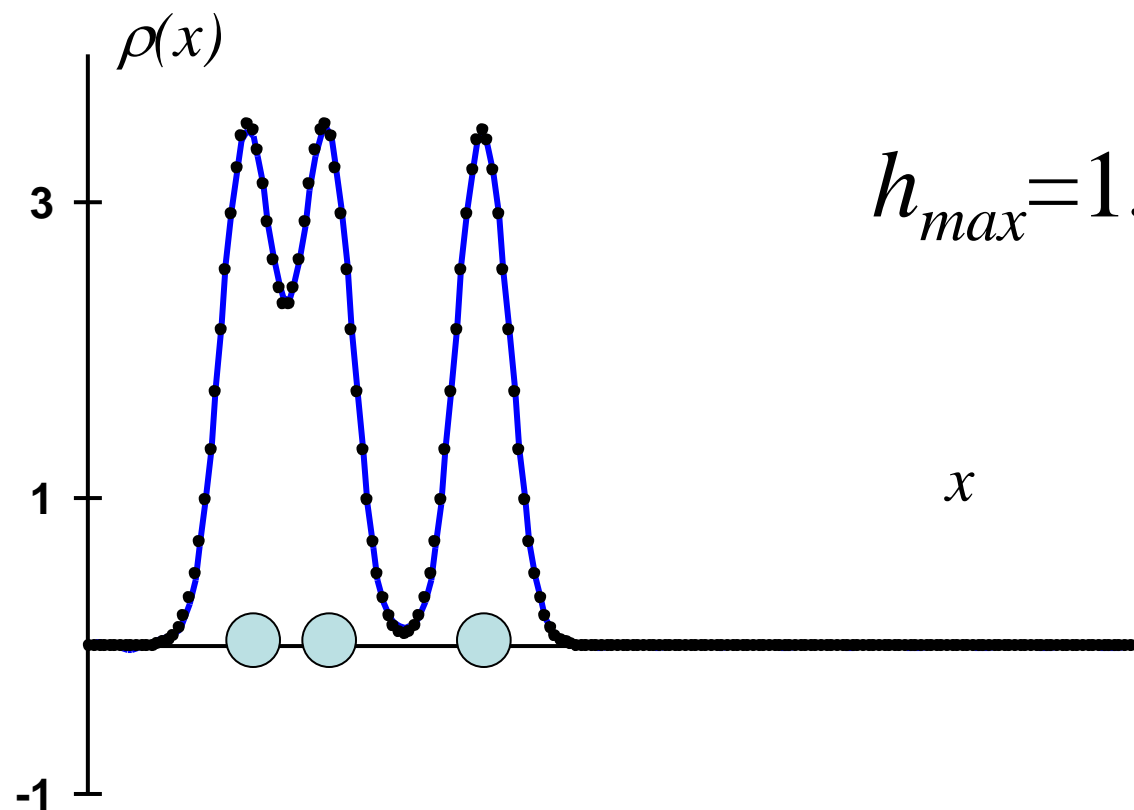
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

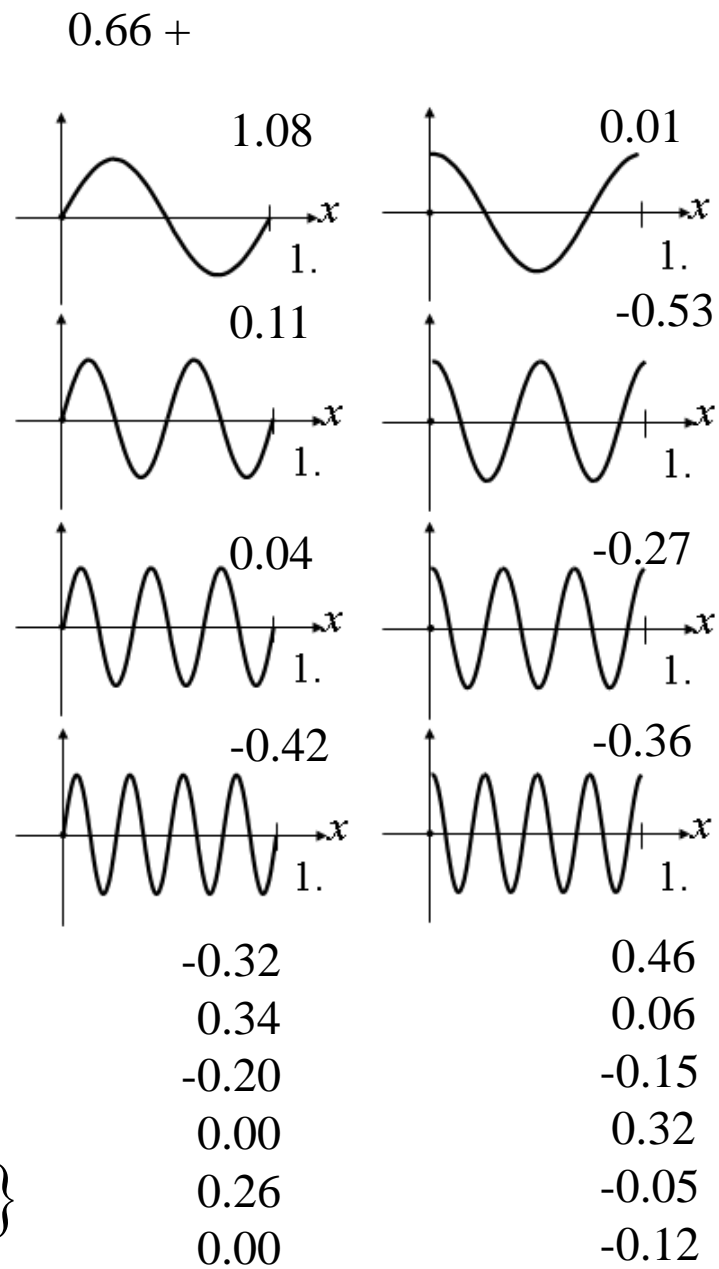




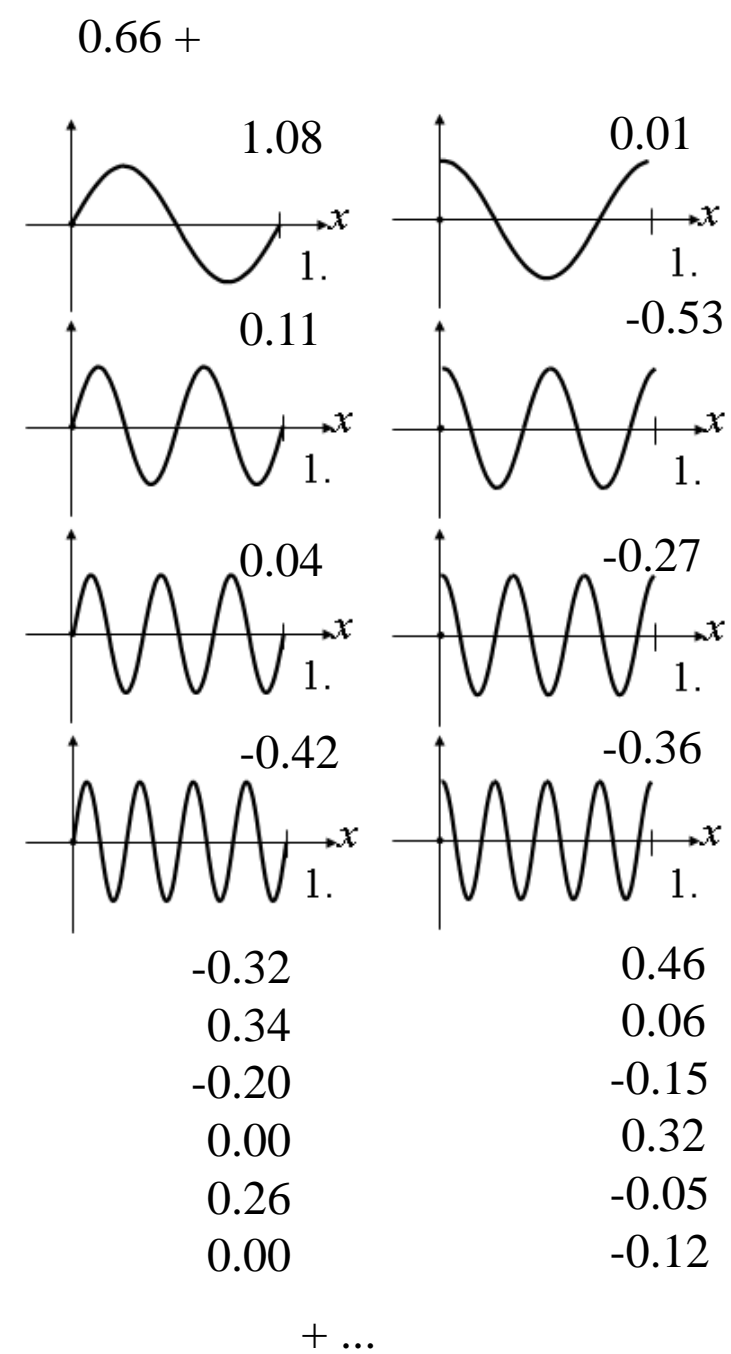
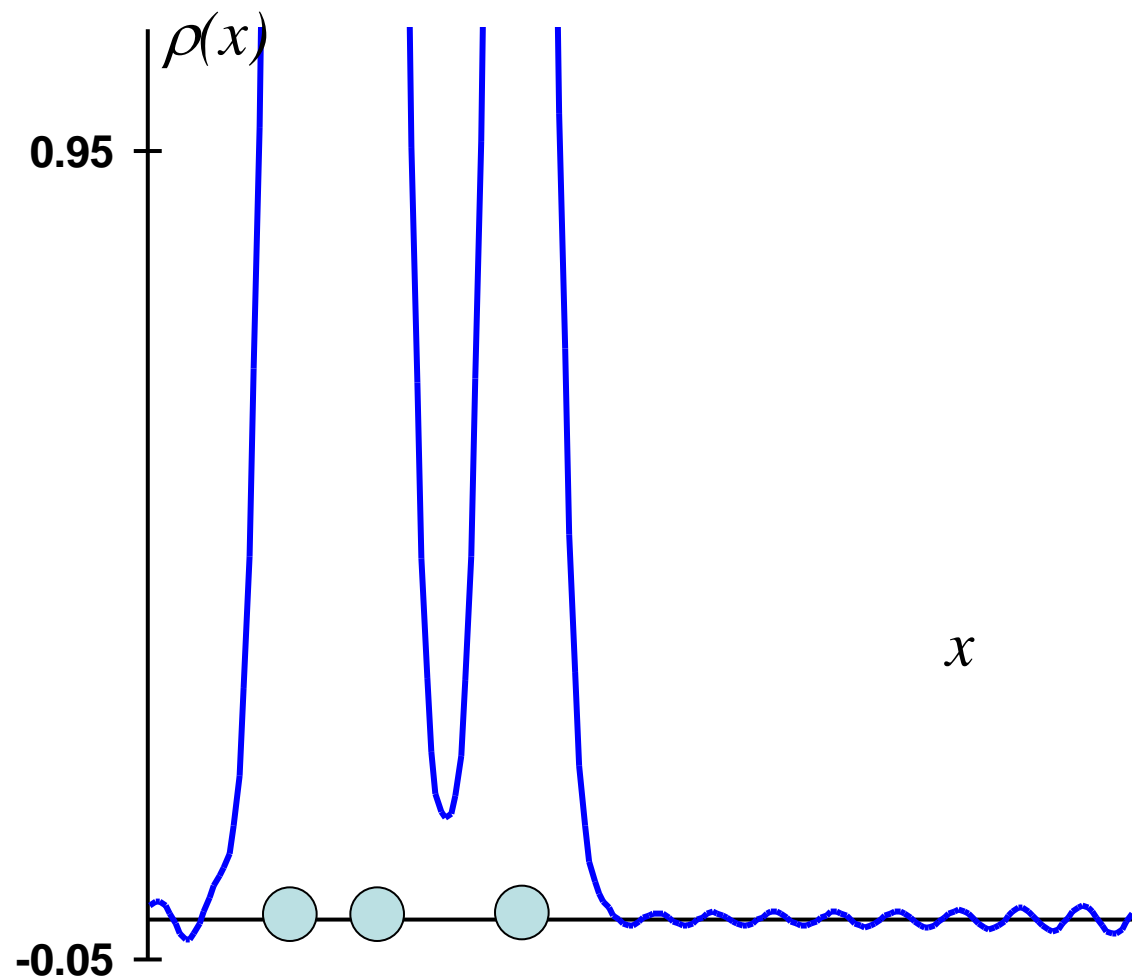


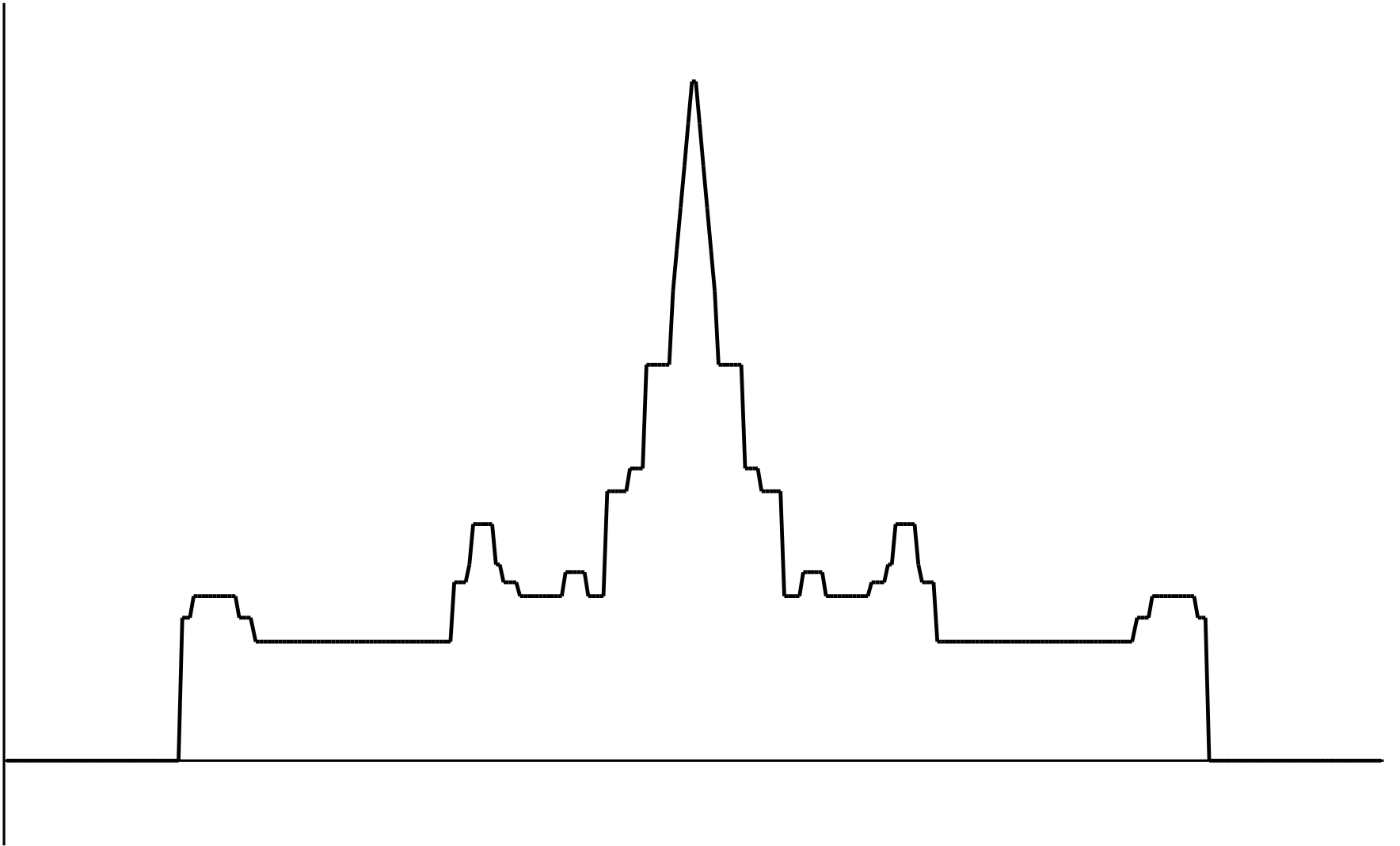
$$h_{max} = 15$$

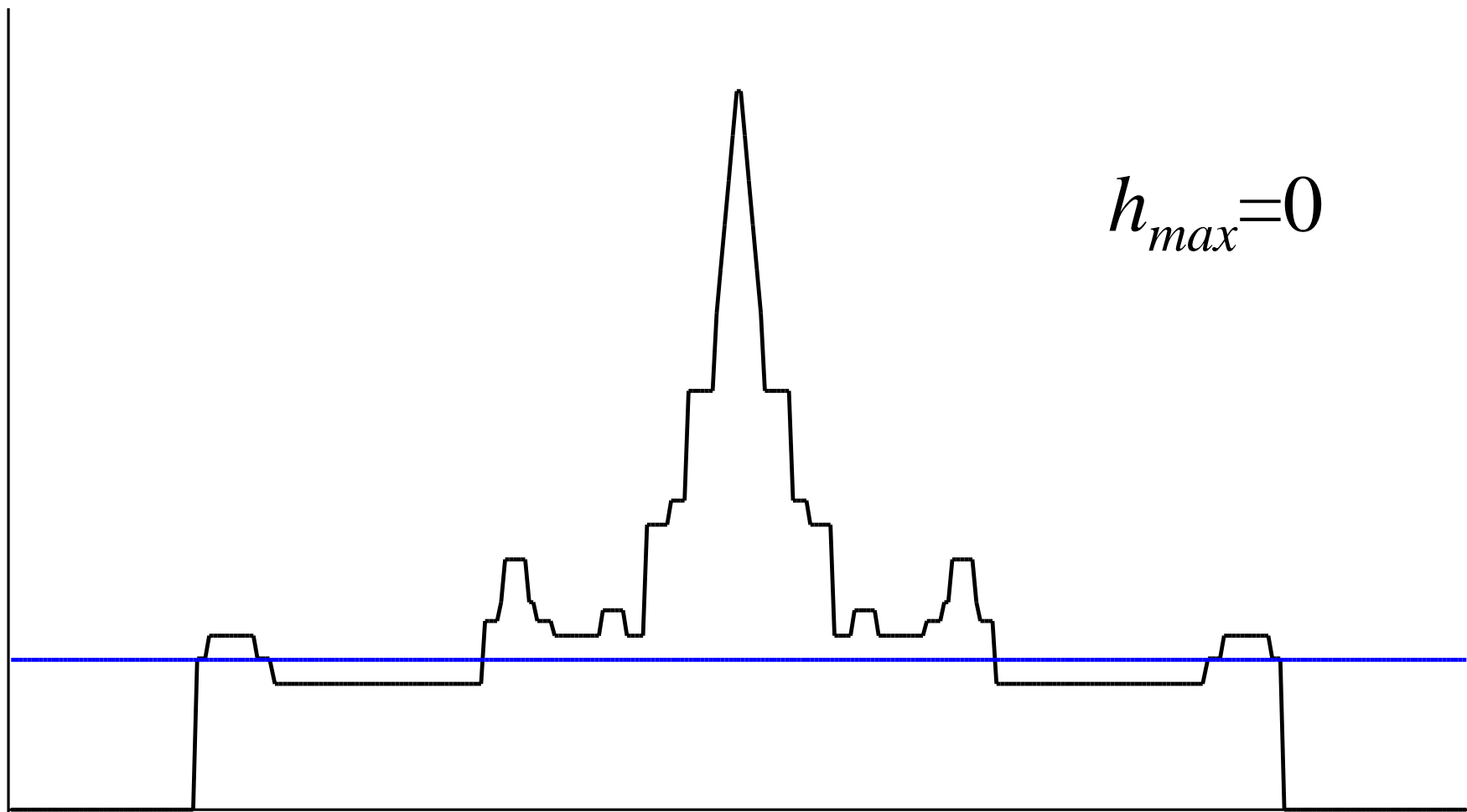
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



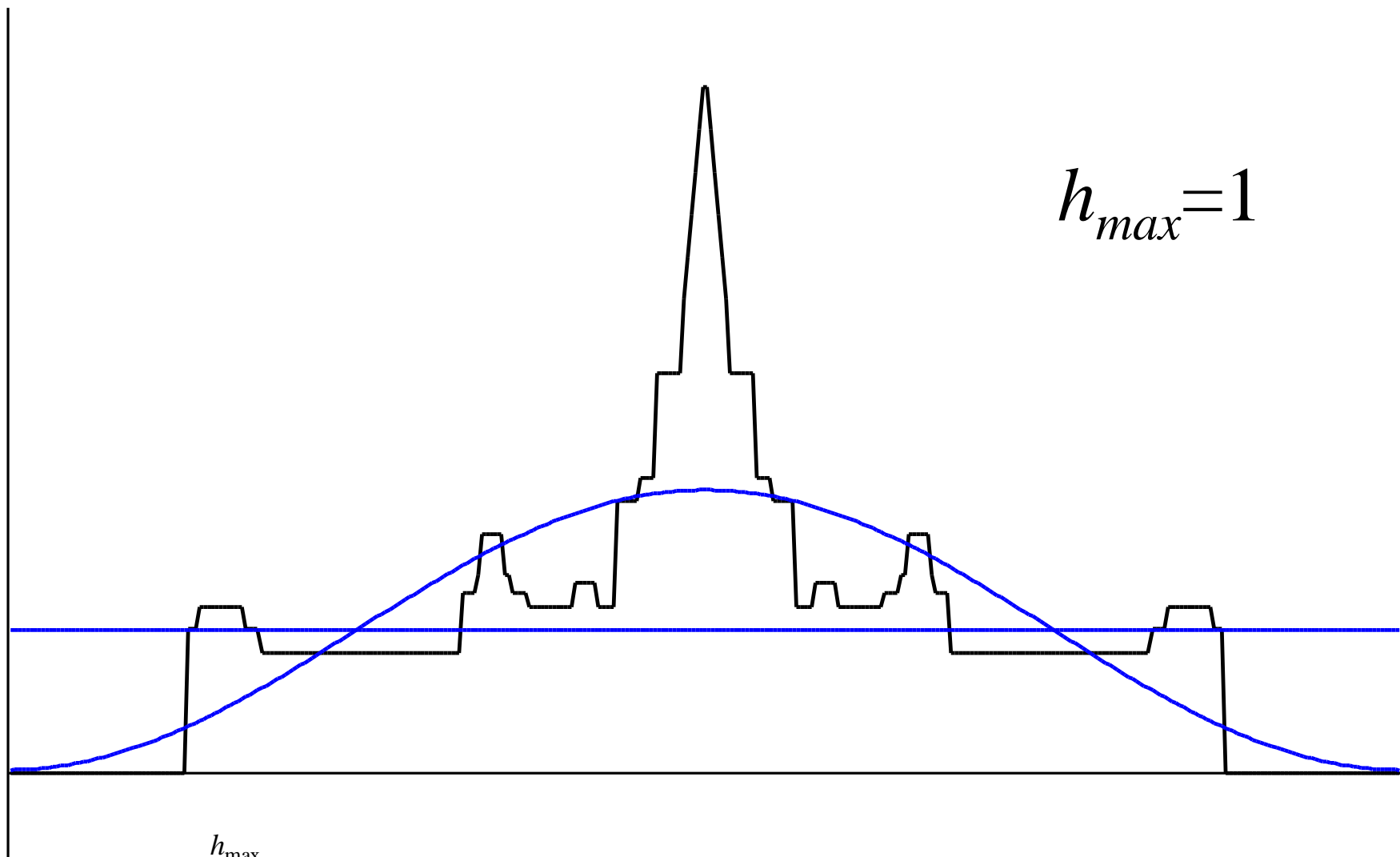
+ ...



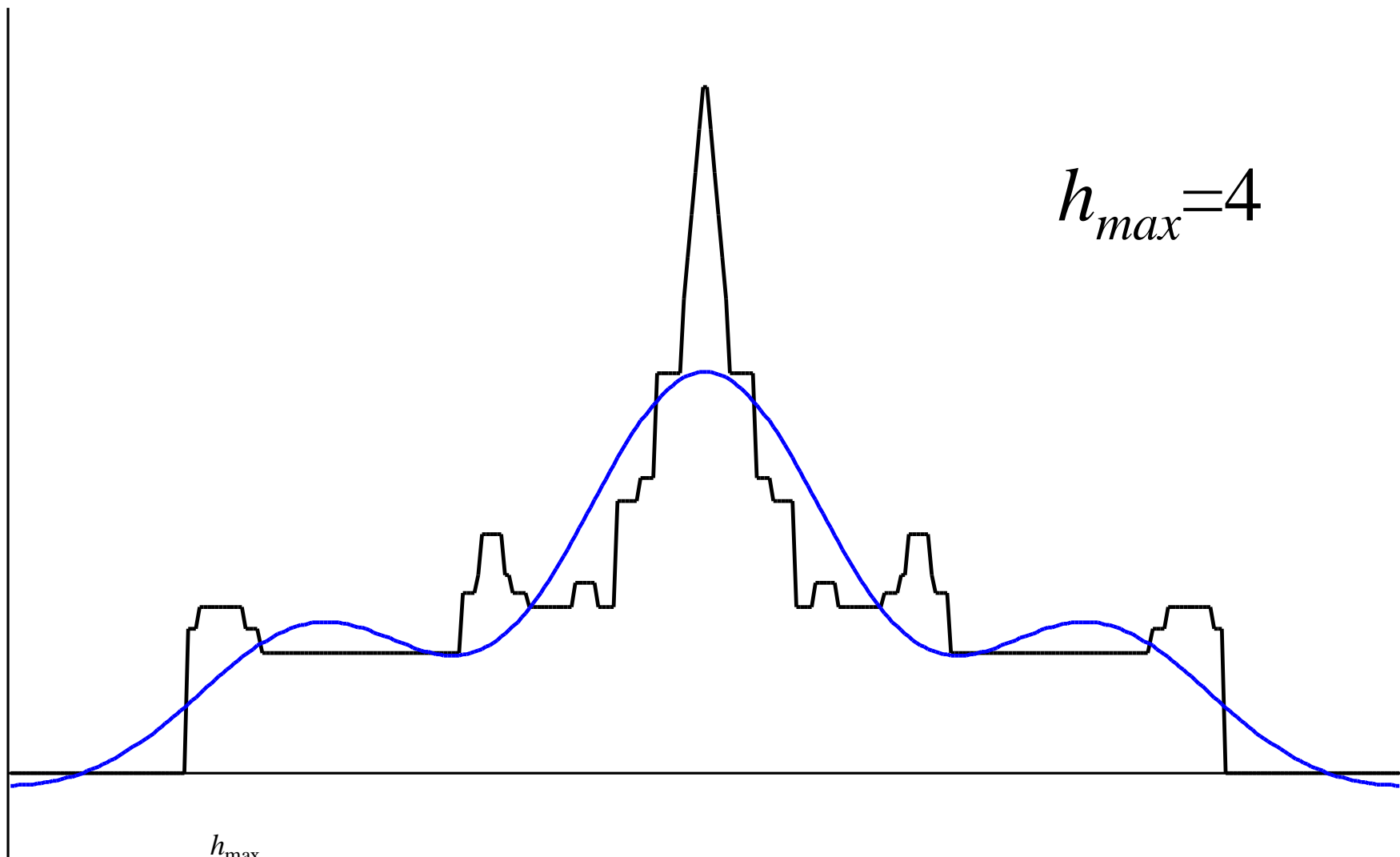




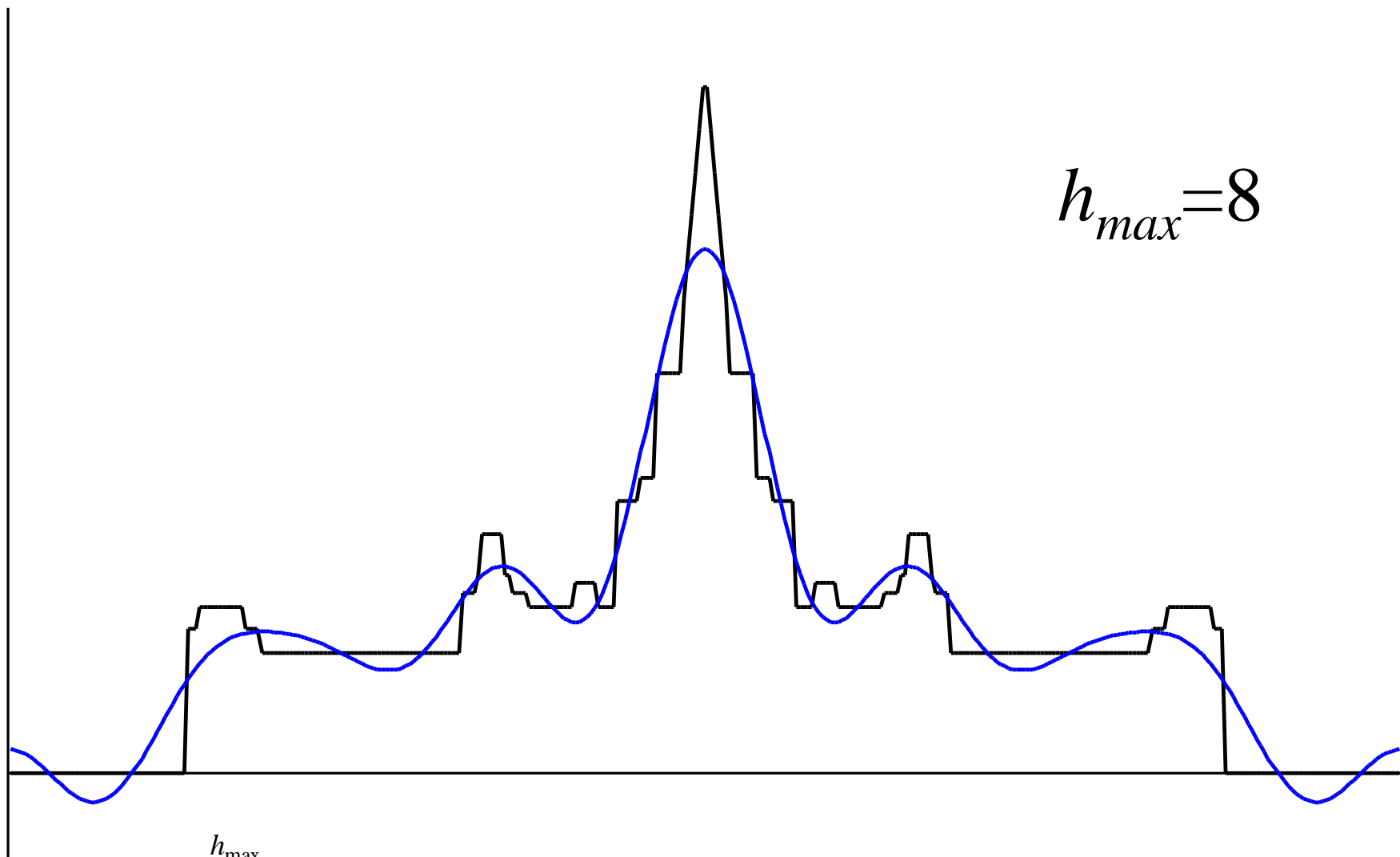
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



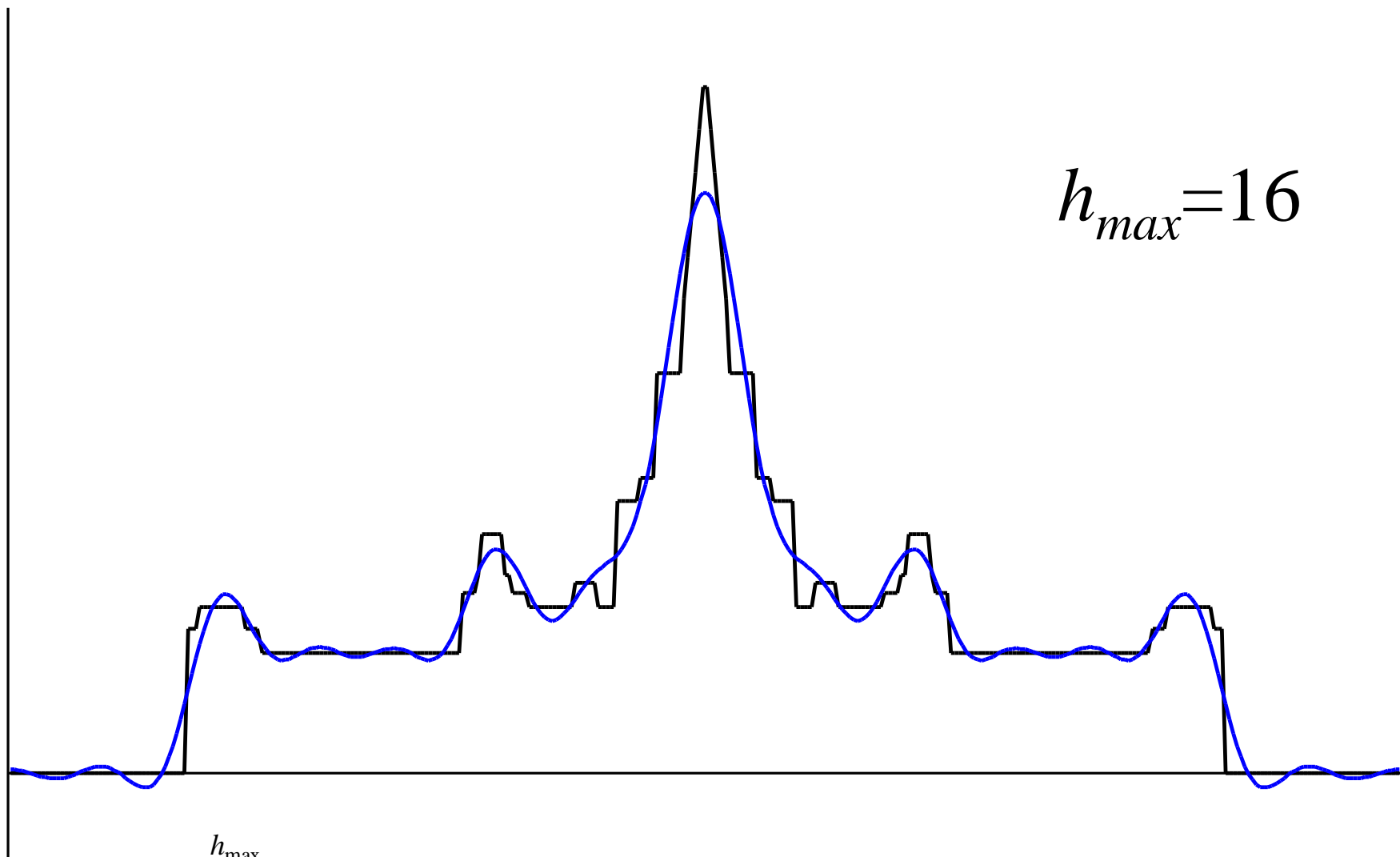
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

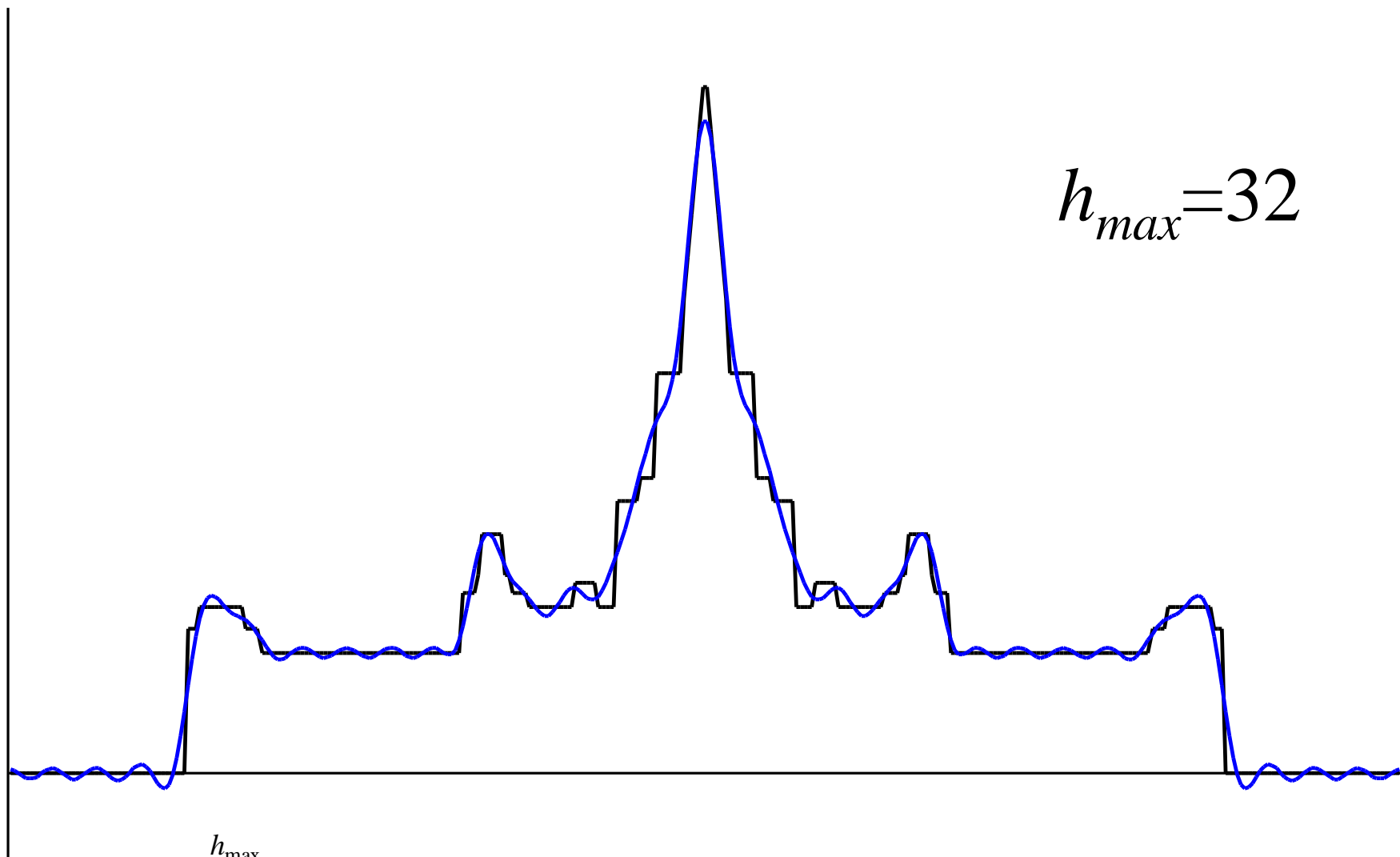


$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



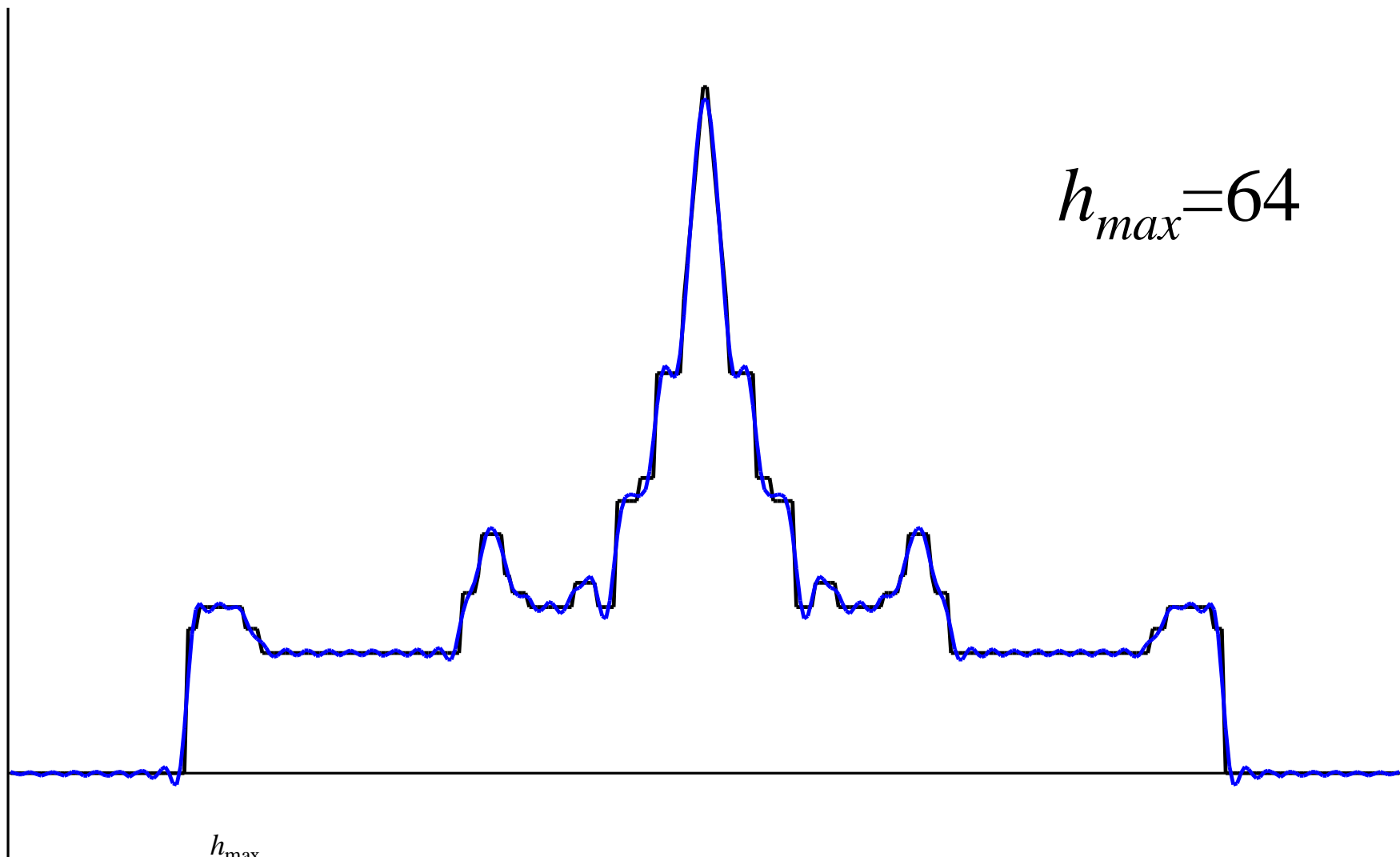
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$





$h_{max}=32$

$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

# Вычисление коэффициентов ряда Фурье

Любая функция на отрезке  $[0,1]$  может быть разложена, при этом единственным образом, в ряд Фурье.

**Фурье – синтез.**

$$\rho(x) = A_0 + \sum_h \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

Коэффициенты разложения **ВЫЧИСЛЯЮТСЯ** по формулам

$$A_h = \int_0^1 \rho(x) \cos[2\pi(hx)] dx \quad B_h = \int_0^1 \rho(x) \sin[2\pi(hx)] dx$$

**Коэффициенты не надо угадывать, их можно вычислить ! Фурье – анализ.**

# Модуль и фаза коэффициента Фурье

$$\rho(x) = \sum_h \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

$$A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx) = F_h \cos[2\pi(hx) - \varphi_h]$$

$$A_h = F_h \cos \varphi_h = \int_0^1 \rho(x) \cos [2\pi(hx)] dx$$

$$B_h = F_h \sin \varphi_h = \int_0^1 \rho(x) \sin [2\pi(hx)] dx$$

$$F_h = \sqrt{A_h^2 + B_h^2} \quad \text{tg } \varphi_h = \frac{B_h}{A_h}$$

$$\rho(x) = F_0 + \sum_h F_h \cos[2\pi(hx) - \varphi_h]$$

$F_h, \varphi_h$  - модуль и фаза коэффициента Фурье, отвечающего частоте  $h$

Любая функция на отрезке  $[0,1]$  может быть представлена в виде ряда Фурье.

**Фурье – синтез.**

$$\rho(x) = F_0 + \sum_h F_h \cos[2\pi(hx) - \phi_h]$$

Коэффициенты разложения **ВЫЧИСЛЯЮТСЯ** по формулам

$$F_h = \sqrt{A_h^2 + B_h^2} \qquad \operatorname{tg} \varphi_h = \frac{B_h}{A_h}$$

где

$$A_h = F_h \cos \varphi_h = \int_0^1 \rho(x) \cos[2\pi(hx)] dx$$

$$B_h = F_h \sin \varphi_h = \int_0^1 \rho(x) \sin[2\pi(hx)] dx$$

# Ряды Фурье для функций нескольких переменных

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

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

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

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

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

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

$$F_{hkl} = \sqrt{A_{hkl}^2 + B_{hkl}^2}$$

$$\operatorname{tg} \varphi_{hkl} = \frac{B_{hkl}}{A_{hkl}}$$

$$A_{hkl} = \int_{0 \leq x, y, z \leq 1} \tilde{\rho}(x, y, z) \cos[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

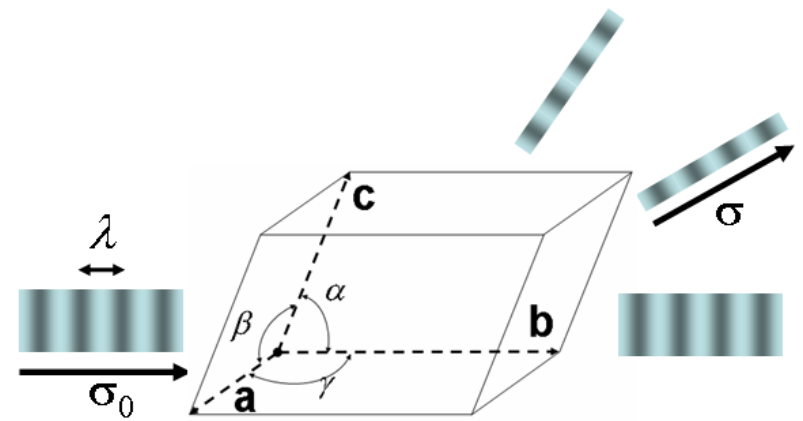
$$B_{hkl} = \int_{0 \leq x, y, z \leq 1} \tilde{\rho}(x, y, z) \sin[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

Рентгеновский эксперимент с монокристаллом позволяет измерить интенсивность волн, рассеянных в направлениях, определяемых условиями:

$h=(\mathbf{s},\mathbf{a})$  ,  $k=(\mathbf{s},\mathbf{b})$  ,  $l=(\mathbf{s},\mathbf{c})$  - целые

$$\mathbf{s}=(\boldsymbol{\sigma}_0-\boldsymbol{\sigma})/\lambda$$

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



$h,k,l$  - целые

Амплитуда и фаза рассеянной волны зависят от распределения электронной плотности в элементарной ячейке и могут быть рассчитаны по формулам

$$F_{hkl} = \sqrt{A_{hkl}^2 + B_{hkl}^2} \quad \text{tg } \varphi_{hkl} = \frac{B_{hkl}}{A_{hkl}}$$

$$A_{hkl} = \int_V \rho(x, y, z) \cos[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

$$B_{hkl} = \int_V \rho(x, y, z) \sin[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

Структурные факторы, отвечающие Брэгговским рефлексам совпадают с коэффициентами в разложении в ряд Фурье функции распределения электронной плотности.

$$\rho(x, y, z) = \sum_{\substack{hkl \\ \text{целые}}} F_{hkl} \cos[2\pi(hx + ky + lz) - \varphi_{hkl}]$$

Знание значений модулей и фаз структурных факторов дает возможность рассчитать "синтез Фурье электронной плотности"

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

Синтез Фурье рассчитывается по набору рефлексов S, для которых известны и модули и фазы структурных факторов.

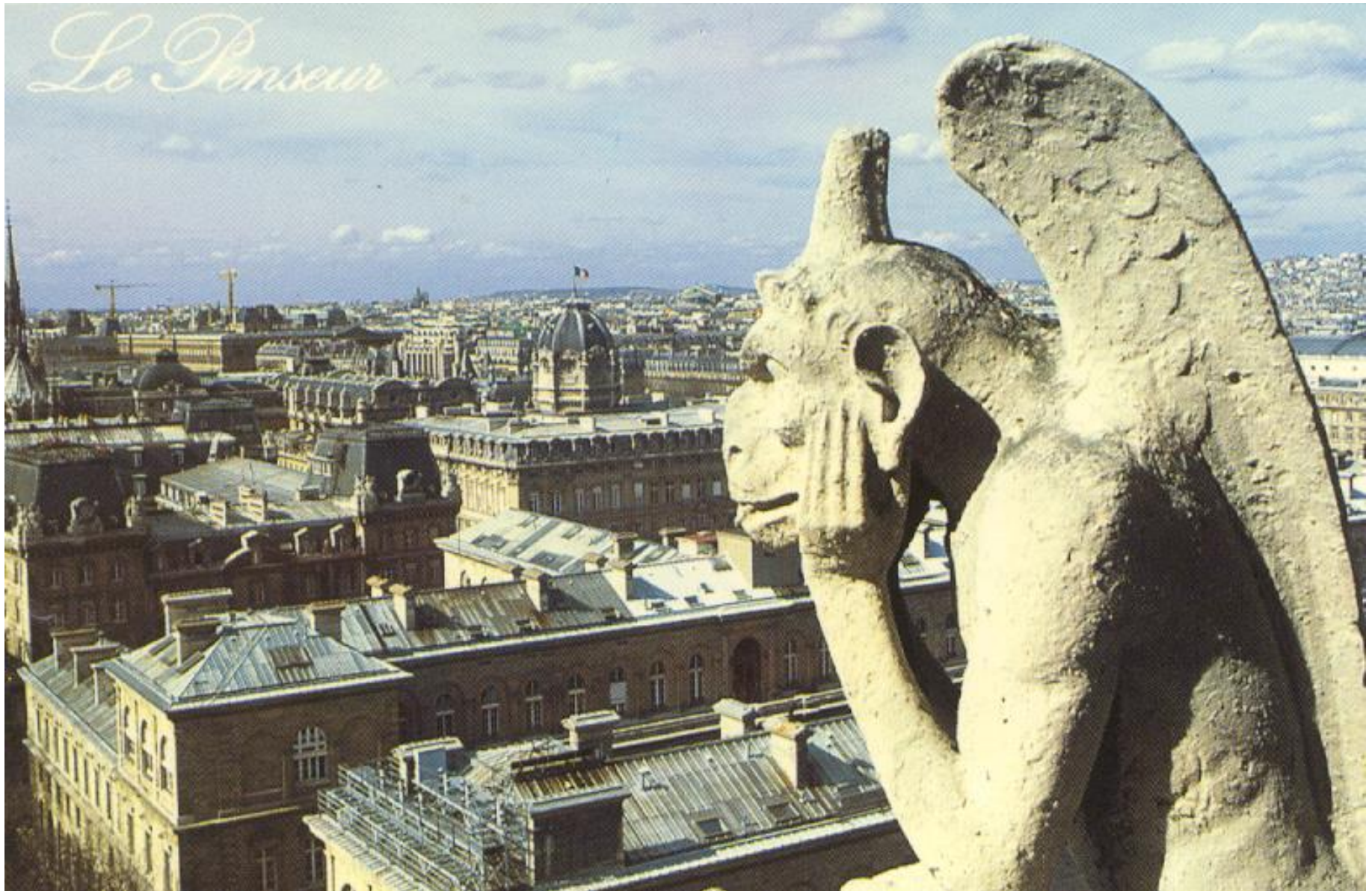
Расчет значений фаз является центральной,

**“Фазовой проблемой”**

при расшифровке структуры методом РСА



# Фазовая проблема



# Подходы к решению фазовой проблемы

SIR - Single Isomorphous Replacement  
Однократное изоморфное замещение;

MIR - Multiple Isomorphous Replacement  
Множественное изоморфное замещение;

AD - Anomalous Dispersion  
Аномальное рассеяние;

MAD - Multiwavelength Anomalous Diffraction  
Многоволновое аномальное рассеяние;

MR - Molecular Replacement  
Молекулярное замещение;

Direct Methods (*ab initio* methods)  
"Прямые" методы.

Молекулярное замещение

Molecular replacement

# Метод молекулярного замещения

## 1. Постулаты:

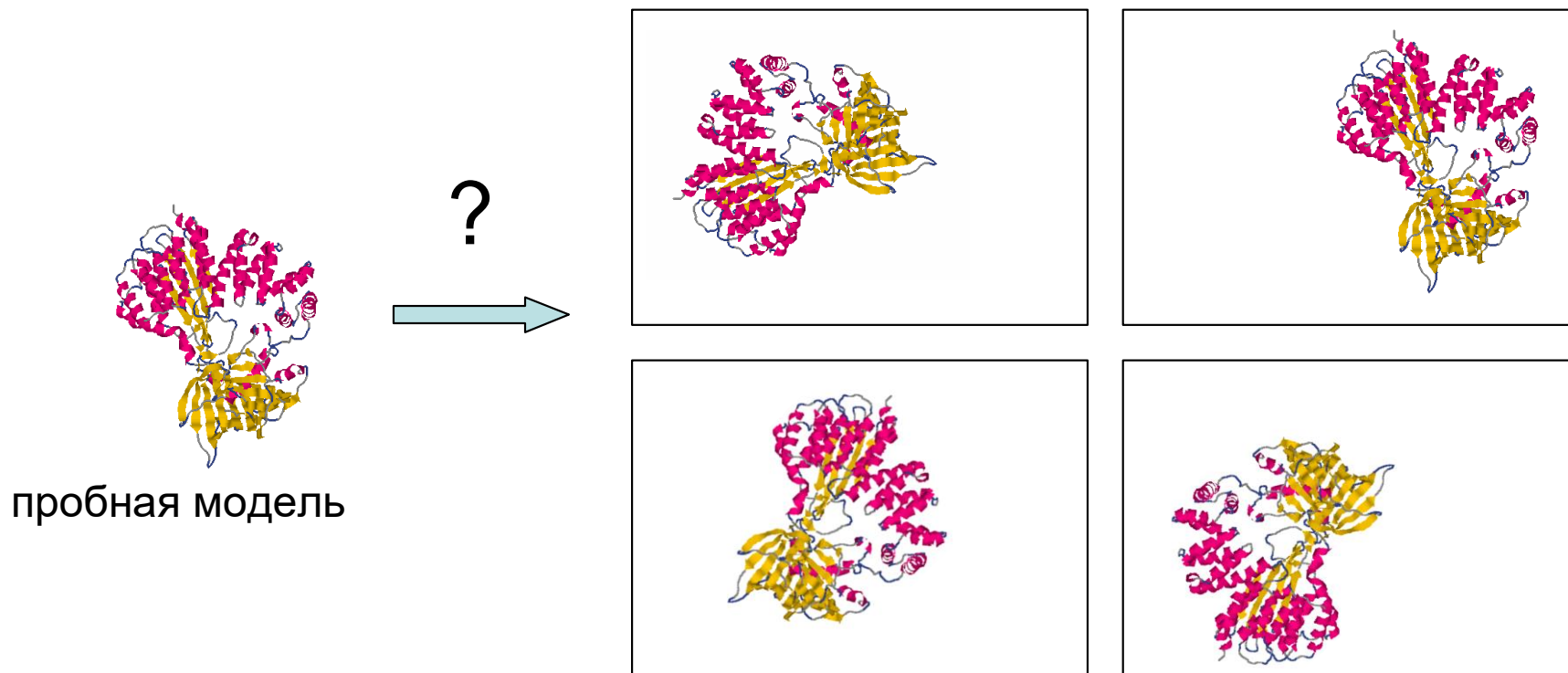
- белок – цепочка разнообразных аминокислотных остатков, свернутая в пространстве;
- последовательность типов аминокислот в цепочке определяет пространственную структуру белка;
- цепочки с похожей (гомологичной) последовательностью имеют похожую пространственную структуру.
- значения фаз, рассчитанные по модели гомологичного белка могут служить приближением к искомым значениям фаз.

# Метод молекулярного замещения

## 2. Программа действий:

- найти в банке структур белок с похожей последовательностью и уже известной структурой;
- известную структуру использовать в качестве первого приближения к искомой структуре; рассчитать фазы; построить синтезы Фурье;
- внести корректировки в модель в соответствии с рассчитанными синтезами.

# MR - Molecular Replacement Молекулярное замещение;



В общем случае положение твердого тела определяется шестью параметрами  $(\alpha, \beta, \gamma, t_x, t_y, t_z)$ .

↑↑↑  
углы вращения

↑↑↑  
вектор трансляции

MR - Molecular Replacement  
Молекулярное замещение;

Оптимальное размещение пробной модели

Для каждого допустимого набора параметров  $(\alpha, \beta, \gamma, t_x, t_y, t_z)$  можно рассчитать соответствующие значения модулей структурных факторов  $F_{hkl}^{calc}(\alpha, \beta, \gamma, t_x, t_y, t_z)$

Хотим иметь наилучшее совпадение с экспериментально определенными модулями  $F_{hkl}^{obs}$

$$\sum_{hkl} \left( F_{hkl}^{calc}(\alpha, \beta, \gamma, t_x, t_y, t_z) - F_{hkl}^{obs} \right)^2 \Rightarrow \min$$

Задачу можно разделить на два этапа: поиск углов вращения ("функция вращения") и поиск трансляции ("функция трансляции").

MR - Molecular Replacement  
Молекулярное замещение;

С нахождением оптимальной ориентации и положения пробной модели работа не кончается!

Надо откорректировать (или построить заново) модель.



MR - Molecular Replacement  
Молекулярное замещение;

- 😊 • один из наиболее используемых методов решения фазовой проблемы;
- 😊 • чем больше белков исследовано, тем шире возможности метода;
- 😞 • необходимо наличие гомологичной пробной модели;
- 😞 • результат зависит от обоснованности гипотезы о пространственной гомологии между пробной моделью и исследуемой структурой.

Phaser (R.Read *et al.*)

MolRep, BALBES (A.Vagin *et al.*)

AMoRe (J.Navaza *et al.*)

MR - Molecular Replacement  
Молекулярное замещение;

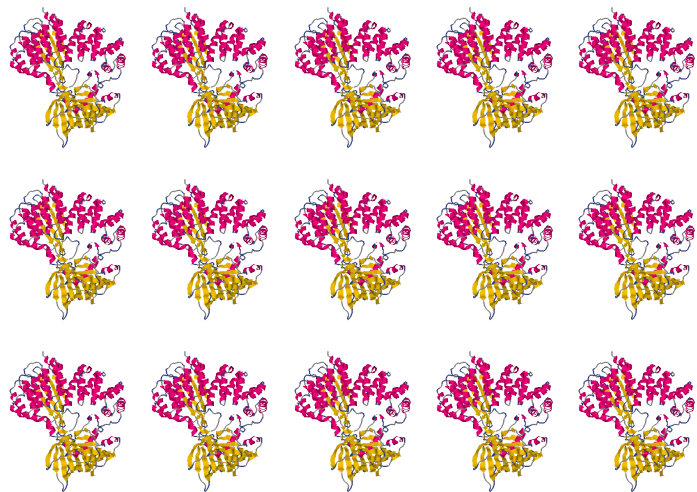
Где взять гомологичную пробную модель?

- среди структур, определенных РСА;
- среди структур, определенных ЯМР;
- электронная микроскопия;
- теоретическое предсказание модели.
- построение модели по базе известных структур (AlphaFold)

# Метод изоморфного замещения

"нативный" белок

изоморфное производное



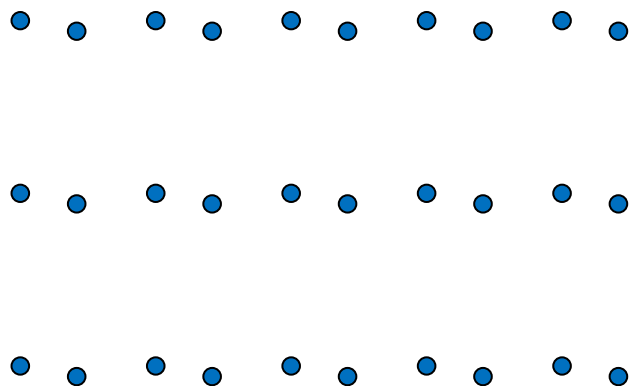
эксперимент

$\{F^P\}$

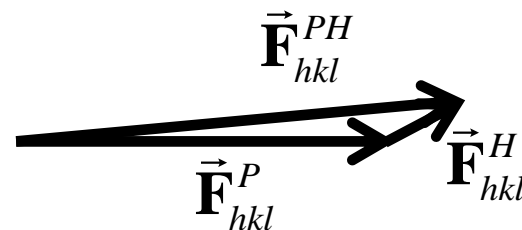
эксперимент

$\{F^{PH}\}$

подструктура тяжелых атомов



?



$$F_{hkl}^H \approx \left| F_{hkl}^{PH} - F_{hkl}^P \right|$$

## Шаг 1. Определение подструктуры «тяжелых атомов»

- небольшое число атомов:  $\{\mathbf{r}_j^H\}, j = 1, \dots, m$

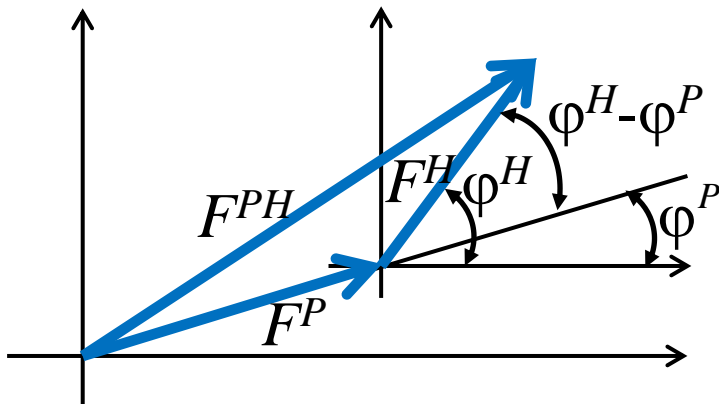
$$F_{hkl}^H \approx |F_{hkl}^{PH} - F_{hkl}^P|$$

- расчет модулей и фаз  $F_{hkl}^H, \varphi_{hkl}^H$

## Шаг 2. Расчет значения фазы для каждого коэффициента Фурье

$$(F^{PH})^2 = (F^P)^2 + (F^H)^2 + 2F^P F^H \cos(\varphi^P - \varphi^H)$$

$$\vec{F}_{hkl}^{PH} = \vec{F}_{hkl}^P + \vec{F}_{hkl}^H$$



$F^P, F^{PH}$  - получили из эксперимента

$F^H, \varphi^H$  - определили на Шаге 1

$\varphi^P$  - находим из уравнения; для каждого коэффициента

нативный белок  $F^P, \varphi^P$

изоморфное производное  $F^{PH}, \varphi^{PH}$

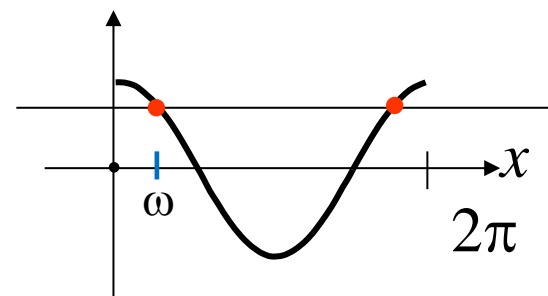
подструктура тяжелых атомов  $F^H, \varphi^H$

уравнение  $(F^{PH})^2 = (F^P)^2 + (F^H)^2 + 2F^P F^H \cos(\varphi^P - \varphi^H)$

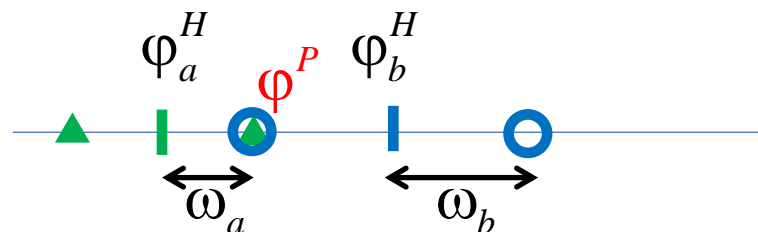
$$\cos(\varphi^P - \varphi^H) = \frac{(F^{PH})^2 - (F^P)^2 - (F^H)^2}{2F^P F^H}$$







$$\varphi^P = \varphi^H \pm \omega$$

$$\omega = \arccos \frac{(F^{PH})^2 - (F^P)^2 - (F^H)^2}{2F^P F^H}$$



решение не единственно  
(проблема снимается при  
наличии двух производных)



-  метод позволяет решать фазовую проблему;
-  наличие каналов в кристаллах белка позволяет получать производные;
-  изоморфизм имеет место лишь приближенно;
-  проблема определения мест присоединения тяжелых меток;
-  проблема создания тяжелых меток для больших макромолекулярных комплексов
-  фазы определяются неоднозначно; необходимо несколько производных.

MIR - Multiple Isomorphous Replacement

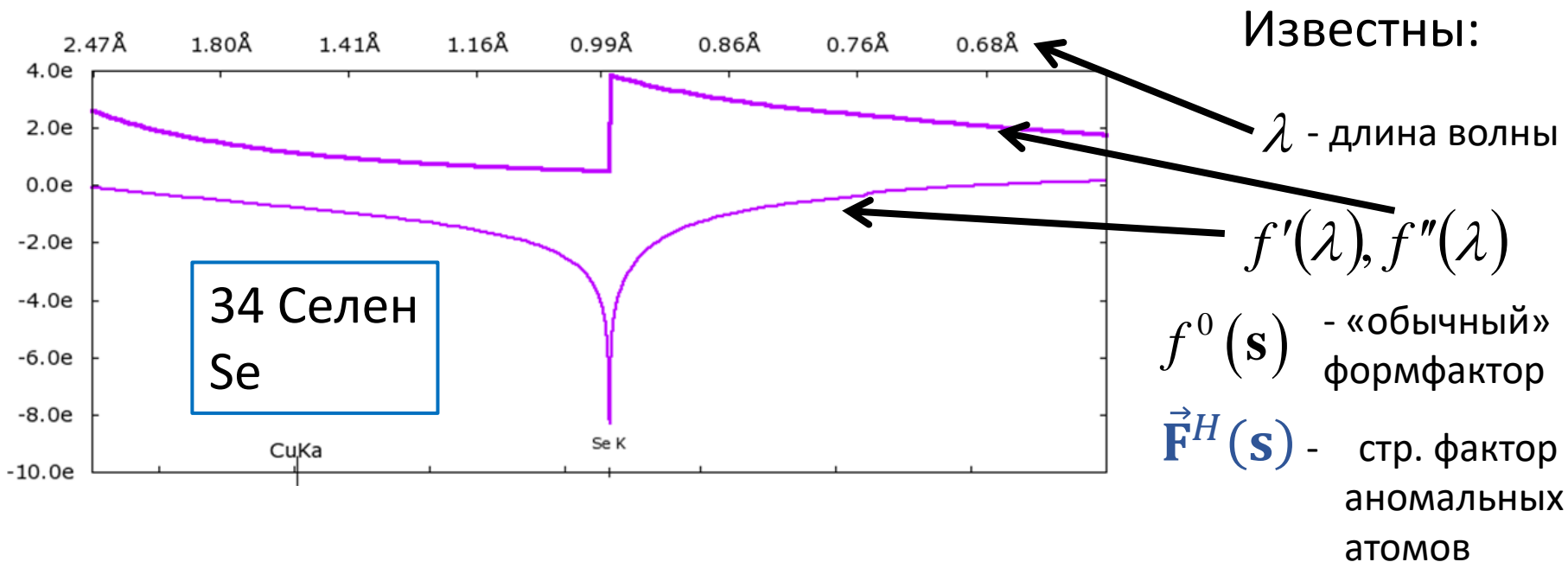
Множественное изоморфное замещение;

# AD - Anomalous Dispersion / Аномальное рассеяние

Кинематическая теория рассеяния:  $I^{obs}(\mathbf{s}) = |\vec{\mathbf{F}}_P(\mathbf{s})|^2$

Наличие аномально рассеивающих атомов:

$$I^{obs}(\mathbf{s}; \lambda) = \left| \vec{\mathbf{F}}^P(\mathbf{s}) + \frac{f'(\lambda)}{f^0(\mathbf{s})} \vec{\mathbf{F}}^H(\mathbf{s}) + \frac{f''(\lambda)}{f^0(\mathbf{s})} \vec{\mathbf{F}}^H(\mathbf{s}) \right|_{rot 90^\circ}^2$$



$F_P(\mathbf{s}), \varphi_P(\mathbf{s})$  - НЕИЗВЕСТНЫ

# AD - Anomalous Dispersion

## Аномальное рассеяние



- метод позволяет решать фазовую проблему;



- в белках встречаются аномально рассеивающие атомы; можно использовать производные с тяжелыми атомами;



- требуется наличие аномально рассеивающих атомов;



- требуются эксперименты при разных длинах волн (синхротрон);



- проблема определения мест нахождения аномально рассеивающих атомов;



- фазы определяются неоднозначно;

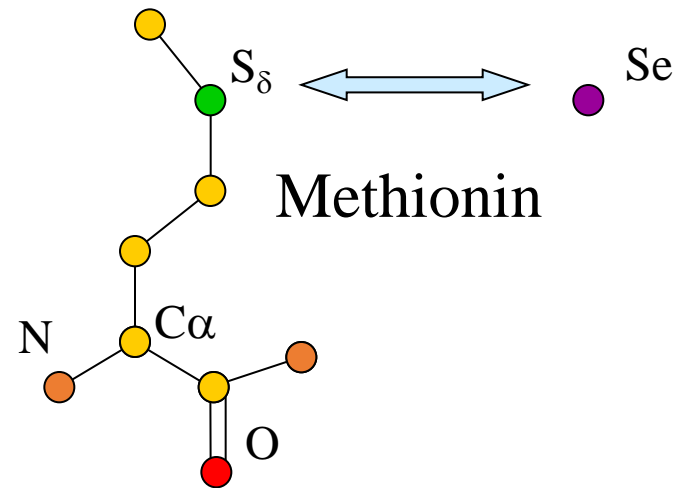


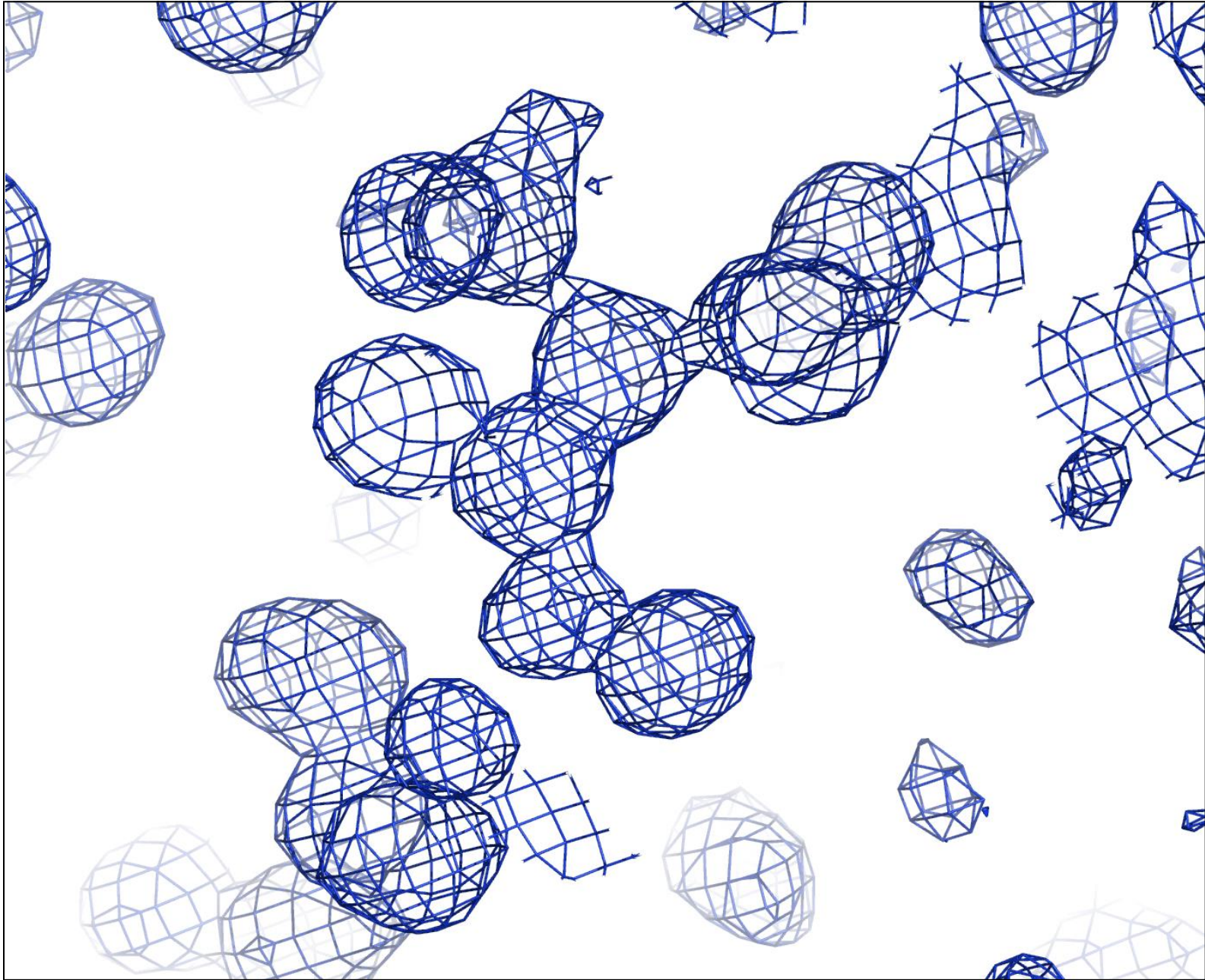
# MAD - Multiwavelength Anomalous Diffraction

## Многоволновое аномальное рассеяние;

В основе подхода лежит изменение интенсивности аномального рассеяния при изменении длины волны.

- один из активно используемых методов решения фазовой проблемы;
- возможность использования селен-метиониновых производных;
- проблема определения мест нахождения аномально рассеивающих атомов;
- не всегда получается.





aldose reductase, 0.9Å, MAD



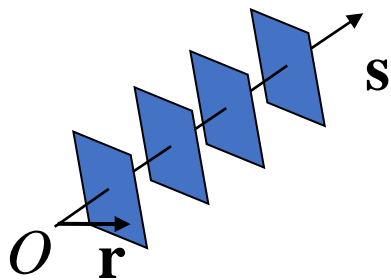
# Разрешение

Каждому вектору рассеяния  $\mathbf{s}$  соответствует гармоника Фурье

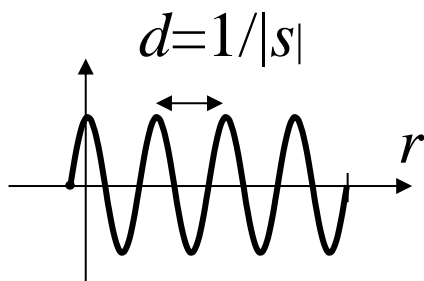
$$H_{\mathbf{s}}(\mathbf{r}) = \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r})$$

$$(\mathbf{s}, \mathbf{r}) = |\mathbf{s}| |\mathbf{r}| \cos \widehat{\mathbf{s} \mathbf{r}}$$

проекция  $\mathbf{r}$  на направление  $\mathbf{s}$



в плоскости, перпендикулярной к направлению  $\mathbf{s}$ , значения  $H_{\mathbf{s}}(\mathbf{r})$  постоянны



вдоль направления  $\mathbf{s}$   
 $H_{\mathbf{s}}(\mathbf{r}) = \cos(2\pi|\mathbf{s}|r)$ ;  
период  $d = 1/|\mathbf{s}|$

Величина периода  $d = 1/|\mathbf{s}|$  называется *разрешением*, соответствующим:

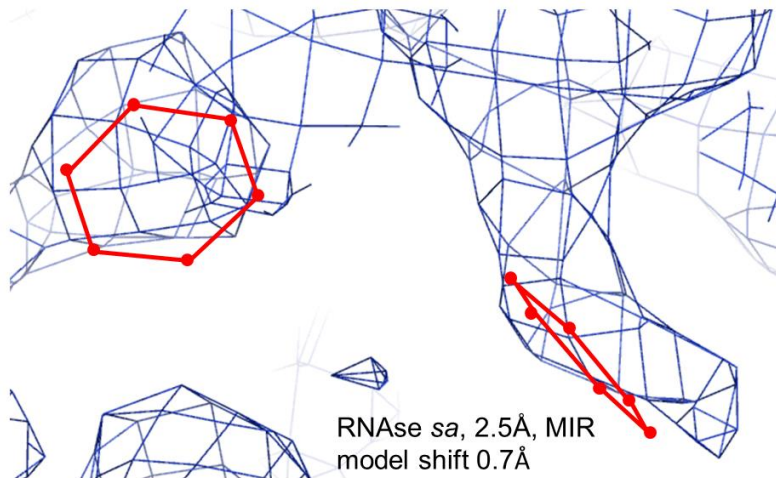
- гармонике Фурье  $H_{\mathbf{s}}(\mathbf{r})$ ;
- рефлексу  $\mathbf{s}$ ;
- структурному фактору  $F(\mathbf{s})$ ,  $\varphi(\mathbf{s})$ .

Величина  $d_{min}$  называется *разрешением*, соответствующим набору рефлексов  $\mathbf{S}$  и соответствующему синтезу Фурье, если в наборе присутствуют все рефлексы разрешения  $d \geq d_{min}$ .

# Разрешение синтеза Фурье

Разрешение – формальная характеристика. Она учитывает только количество включенных в работу рефлексов и дает теоретическую оценку качества «идеального» синтеза. Ошибки в используемых значениях структурных факторов ухудшают визуальное качество синтеза.

Разрешение дает оценку величины набора экспериментальных данных и визуального качества карт. Оно не совпадает с точностью определения координат.



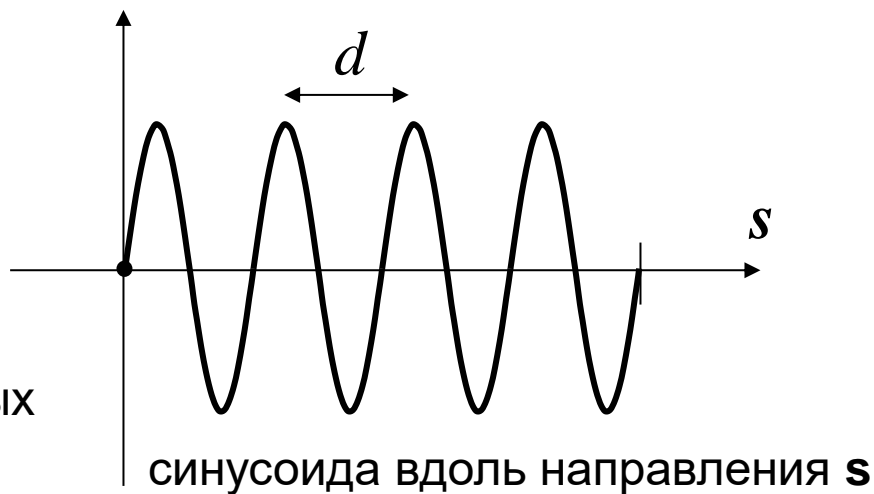
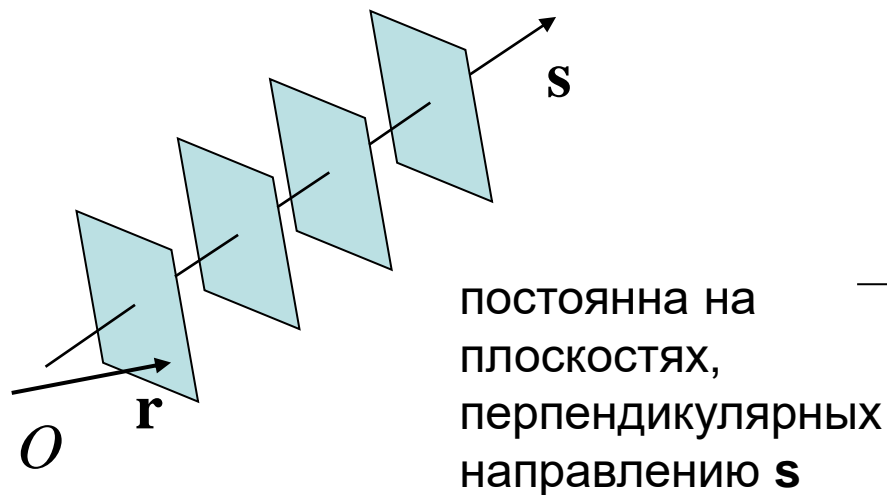
При работе с набором данных разрешения 2Å, типичной оценкой точности определения координат атомов после уточнения является величина 0.02Å.

# Гармоника Фурье

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

$$H_s(\mathbf{r}) = \cos[2\pi(hx + ky + lz)] = \cos[2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r})]$$

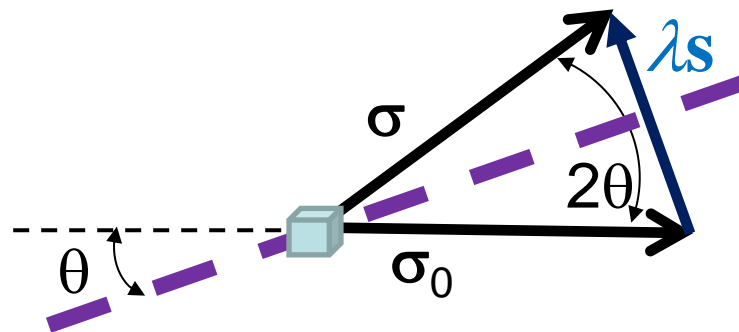
$$h = (\mathbf{s}, \mathbf{a}), k = (\mathbf{s}, \mathbf{b}), l = (\mathbf{s}, \mathbf{c})$$



**Разрешение**, соответствующее гармонике Фурье

$d = \frac{1}{|\mathbf{s}|}$  - расстояние между соседними максимумами в направлении  $\mathbf{s}$ ;

$$|\mathbf{s}| = \frac{2 \sin \theta}{\lambda} \quad d = \frac{\lambda}{2 \sin \theta}$$

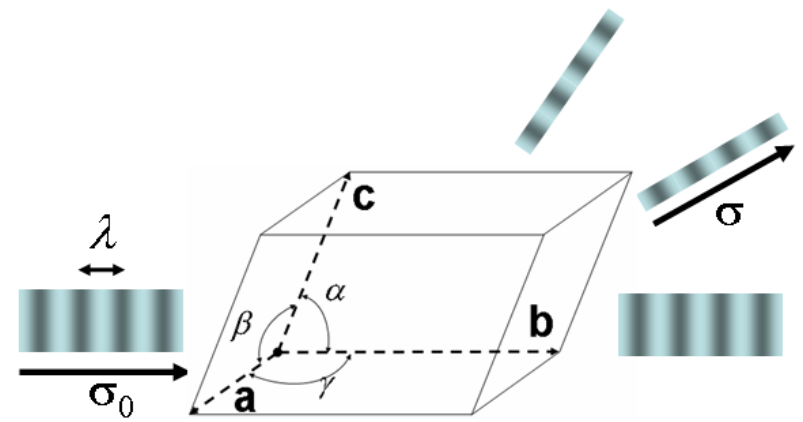


Рентгеновский эксперимент с монокристаллом позволяет измерить интенсивность волн, рассеянных в направлениях, определяемых условиями:

$h=(\mathbf{s},\mathbf{a})$  ,  $k=(\mathbf{s},\mathbf{b})$  ,  $l=(\mathbf{s},\mathbf{c})$  - целые

$$\mathbf{s}=(\boldsymbol{\sigma}_0-\boldsymbol{\sigma})/\lambda$$

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



$h,k,l$  - целые

Амплитуда и фаза рассеянной волны зависят от распределения электронной плотности в элементарной ячейке и могут быть рассчитаны по формулам

$$F_{hkl} = \sqrt{A_{hkl}^2 + B_{hkl}^2} \quad \text{tg } \varphi_{hkl} = \frac{B_{hkl}}{A_{hkl}}$$

$$A_{hkl} = \int_V \rho(x, y, z) \cos[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

$$B_{hkl} = \int_V \rho(x, y, z) \sin[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

Структурные факторы, отвечающие Брэгговским рефлексам совпадают с коэффициентами в разложении в ряд Фурье функции распределения электронной плотности.

$$\rho(x, y, z) = \sum_{\substack{hkl \\ \text{целые}}} F_{hkl} \cos[2\pi(hx + ky + lz) - \varphi_{hkl}]$$

Знание значений модулей и фаз структурных факторов дает возможность рассчитать "синтез Фурье электронной плотности"

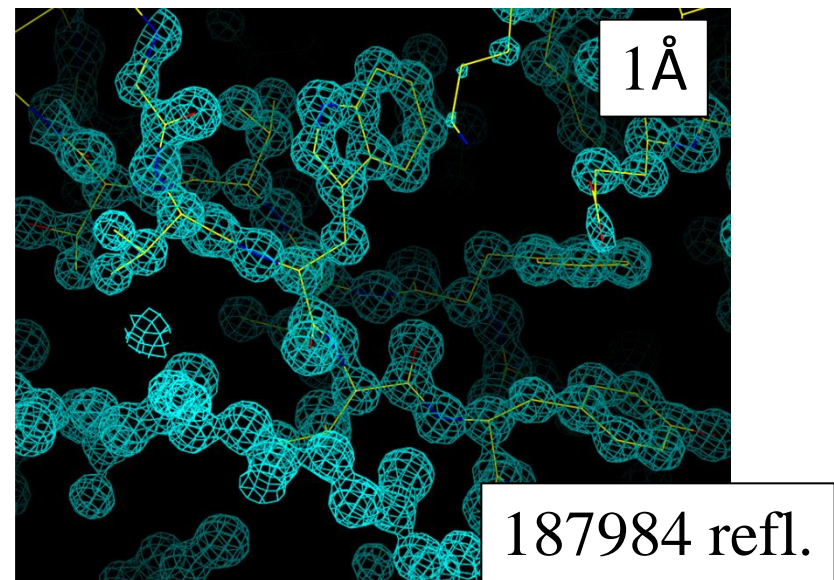
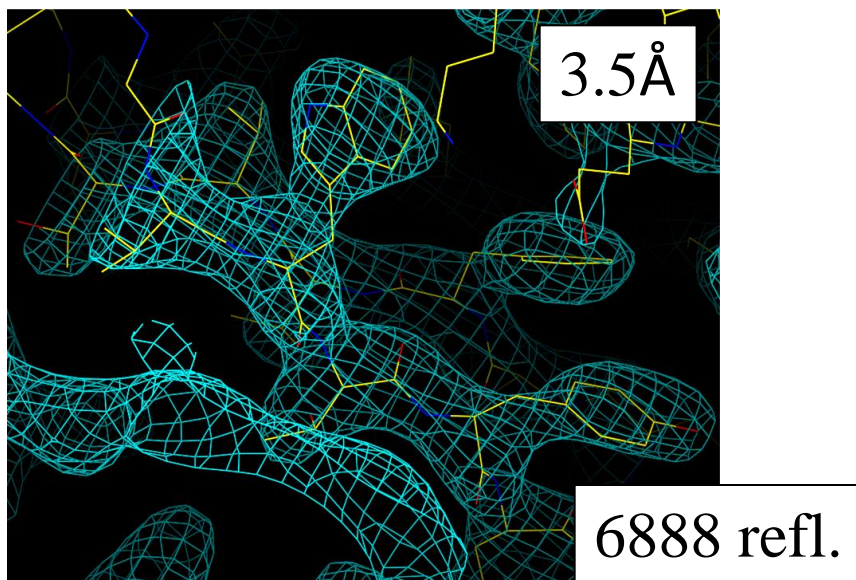
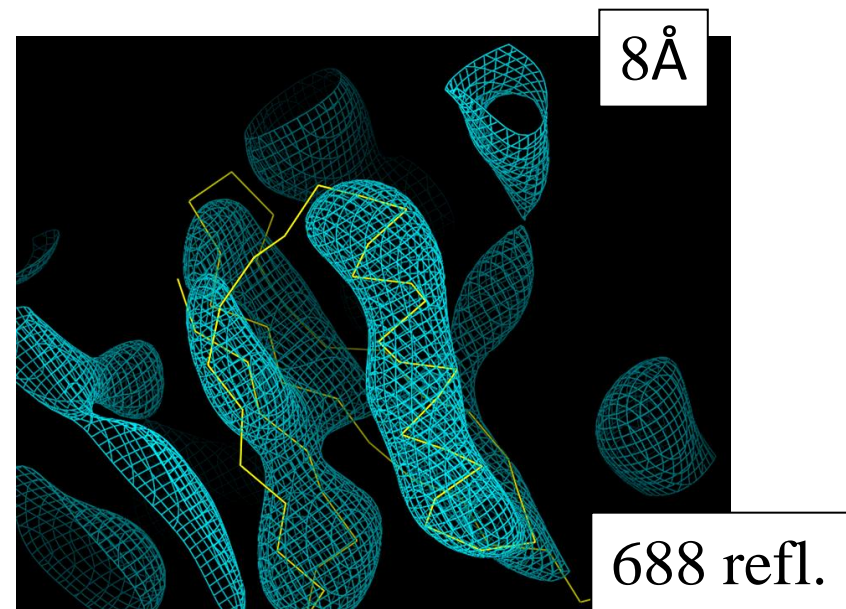
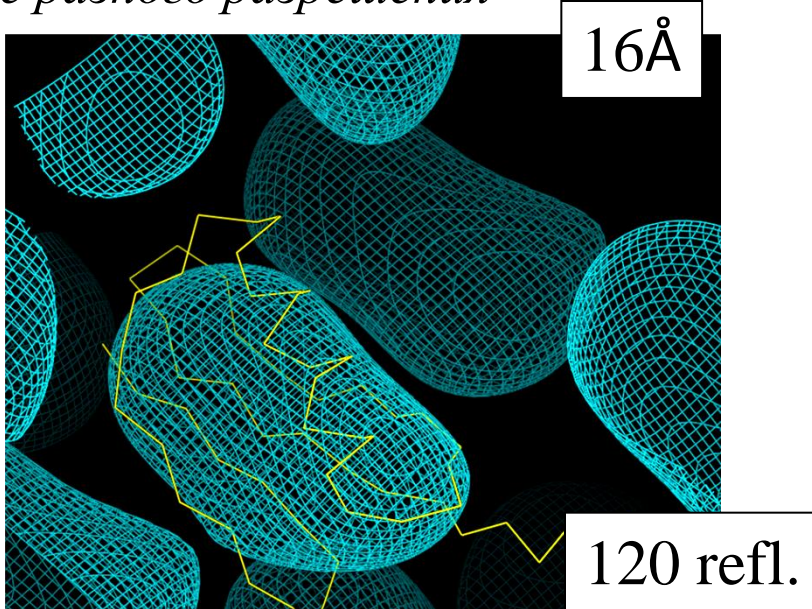
$$\tilde{\rho}_S(x, y, z) \approx \sum_{(hkl) \in S} F_{hkl} \cos[2\pi(hx + ky + lz) - \varphi_{hkl}]$$

Синтез Фурье рассчитывается по набору рефлексов  $S$ , для которых известны и модули и фазы структурных факторов.

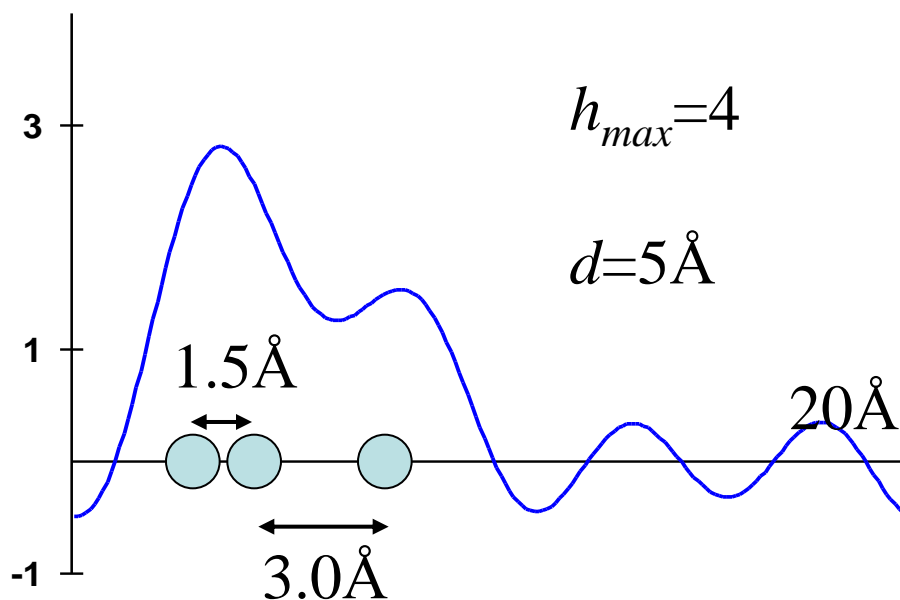
Говорят, что синтез рассчитан с разрешением  $d$ , если в расчет включены все гармоники Фурье с периодом (разрешением) большим или равным  $d$ .



*Изображение областей высокой плотности для белка Protein G, полученные на основе синтезов Фурье разного разрешения*



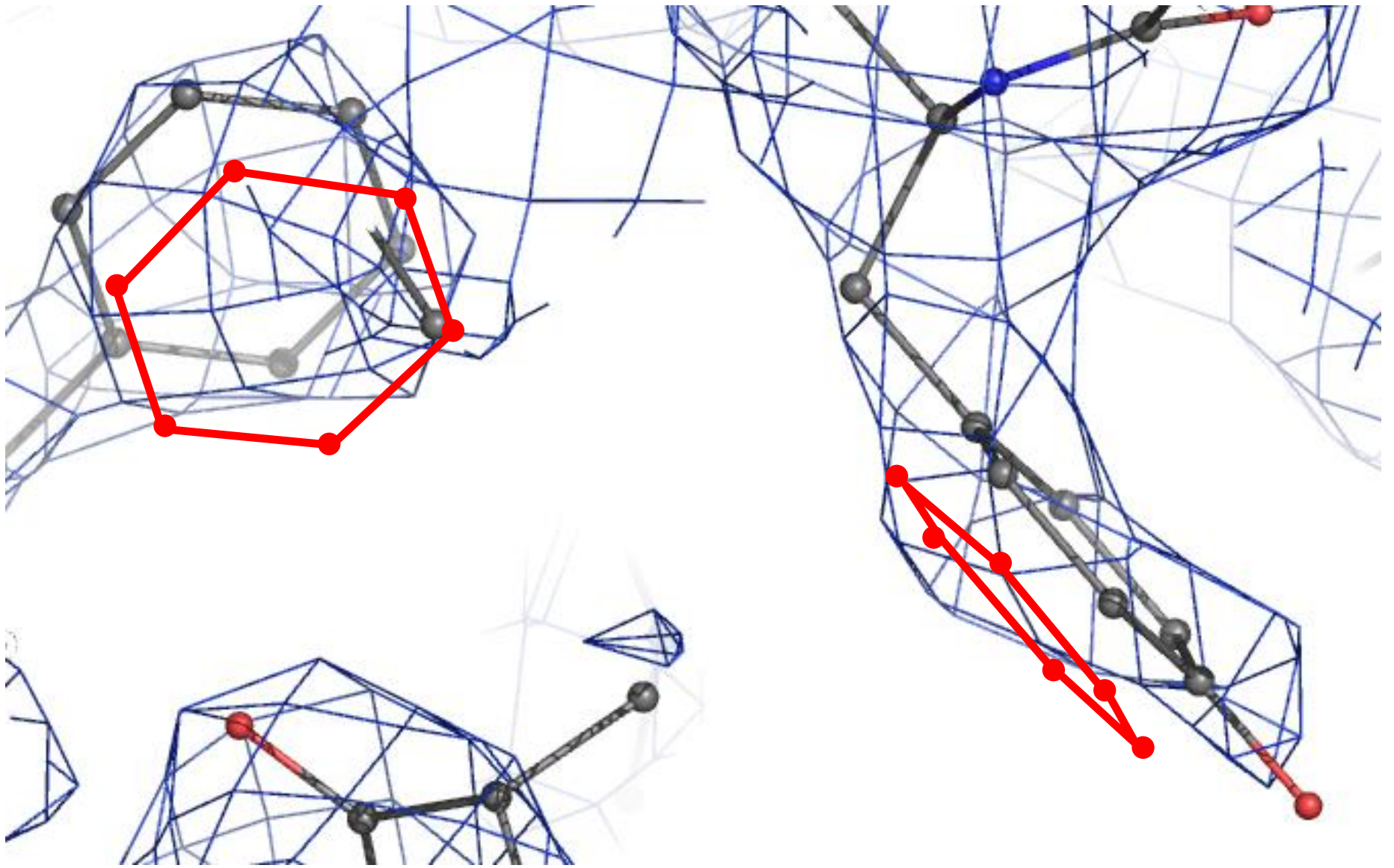
Разрешение набора структурных факторов характеризует размер деталей, «видимых» на картах распределения электронной плотности. Оно не связано прямо с точностью определения координат атомов методом РСА!



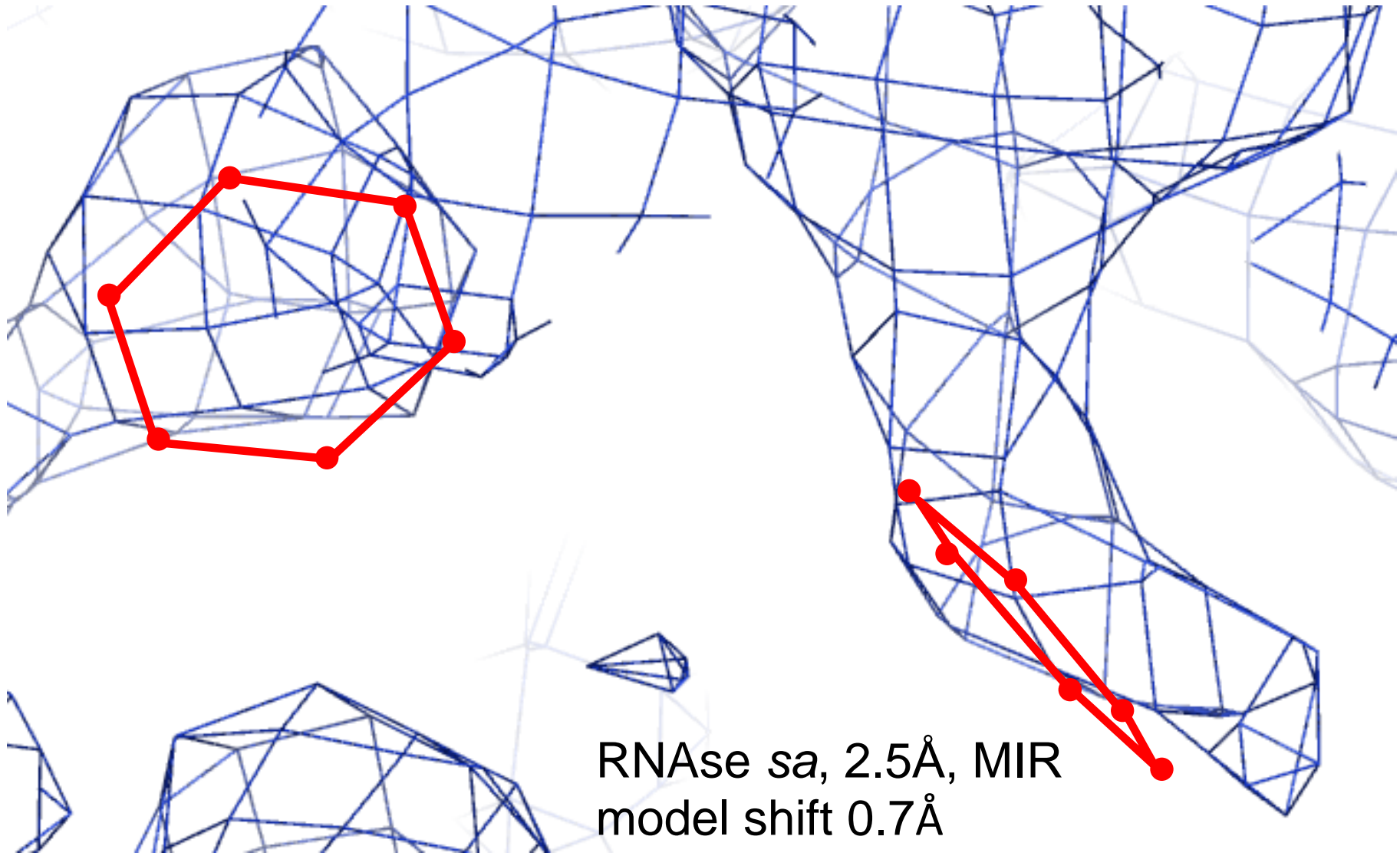
- электронная плотность является суммой вкладов атомов;
- форма вклада атома известна; неизвестны - координаты центра.



точность определения координат выше, нежели номинальное разрешение синтеза Фурье



RNase sa, 2.5Å, MIR



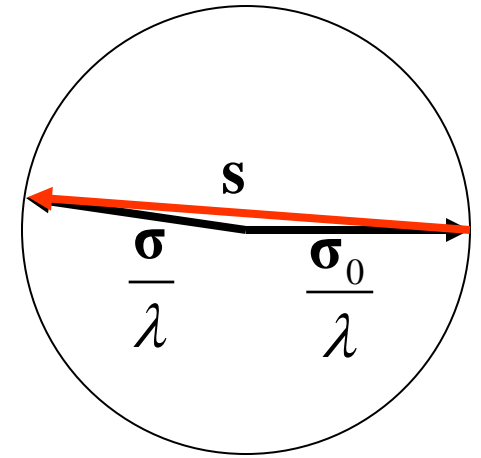
$$|\mathbf{s}|_{\max} = \frac{2}{\lambda}$$

$$d_{\min}^{\text{theoretical}} = \frac{\lambda}{2}$$

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

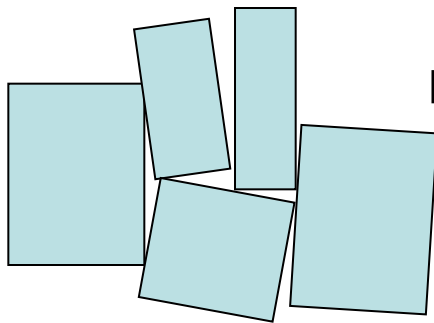
$$|\boldsymbol{\sigma}| = |\boldsymbol{\sigma}_0| = 1$$

$$d = \frac{1}{|\mathbf{s}|}$$

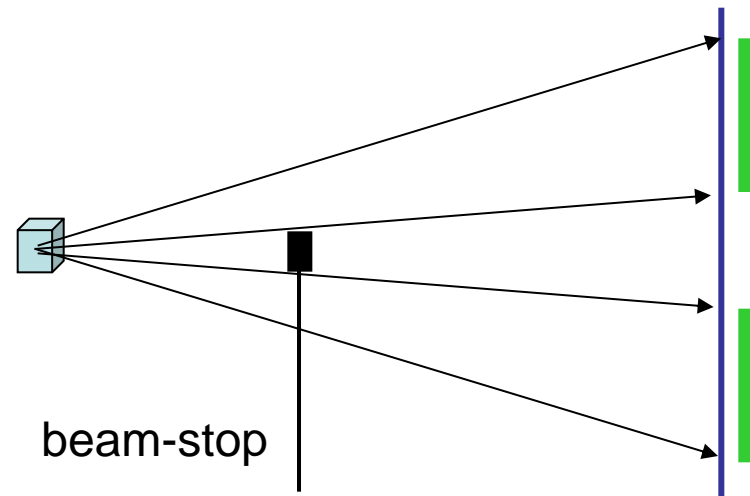


Разрешение:

- теоретический предел  $\lambda/2$ ;
- недостаток чувствительности детектора – ухудшает разрешение;
- дефекты кристалла – ухудшают разрешение;
- “beam-stop” мешает регистрировать низкоугловые рефлексы.



“Мозаичность  
кристалла”



Разрешение набора структурных факторов, измеряемых в реальном эксперименте, определяется качеством кристалла.

crambin, 0.54 Å (Teeter et al., 1993); 0.48 Å (2011)

antifreeze protein, 0.62 Å (Ko et al., 2003);

aldose reductase, 0.66 Å (Howard et al., 2004)].

```
REMARK 3
REMARK 3 DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK 3 RESOLUTION RANGE HIGH (ANGSTROMS) : 1.4
REMARK 3 RESOLUTION RANGE LOW (ANGSTROMS) : 30.0
REMARK 3 DATA CUTOFF (SIGMA (F)) : NONE
REMARK 3 COMPLETENESS FOR RANGE (%) : 97.0
REMARK 3 NUMBER OF REFLECTIONS : 53449
REMARK 3
```

