

Введение в рентгеноструктурный анализ макромолекул

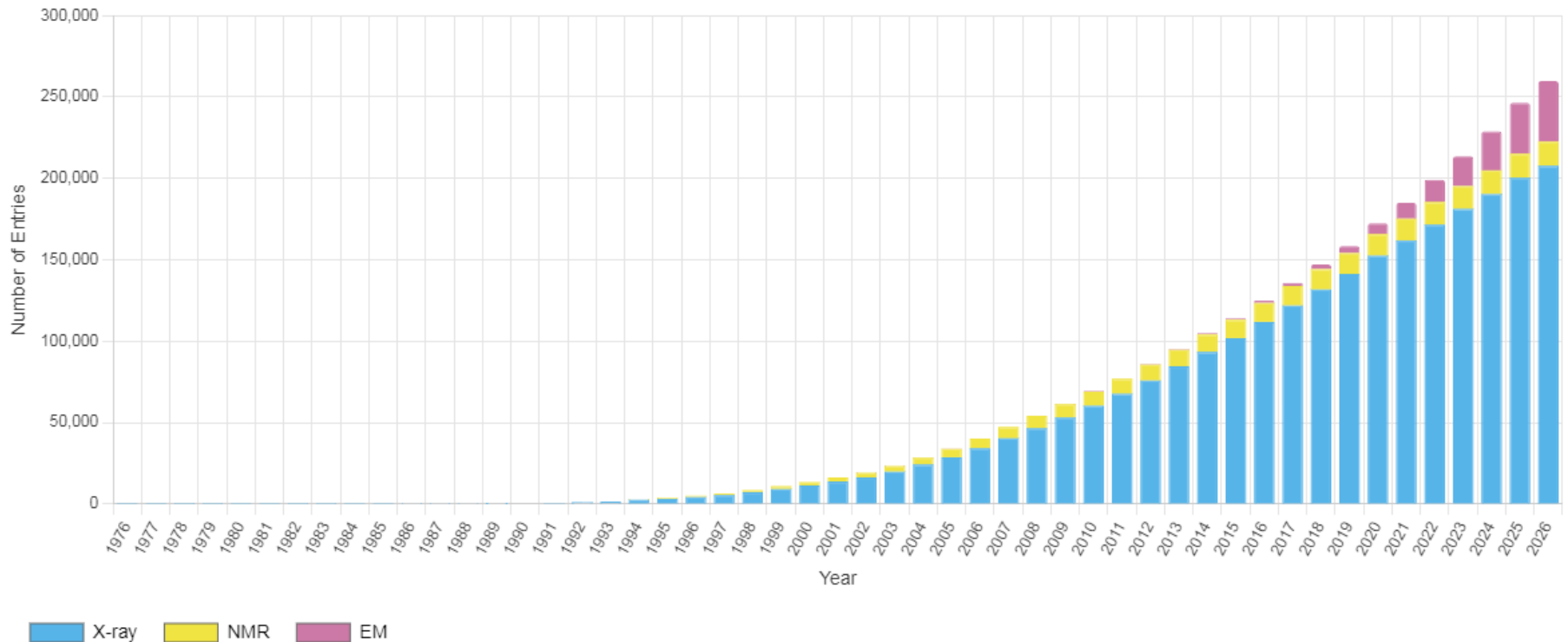
Часть 1

С.А. Спирин

Использованы материалы лекций В.Ю. Лунина

Содержимое Protein Data Bank

PDB Data Growth by Experimental Method

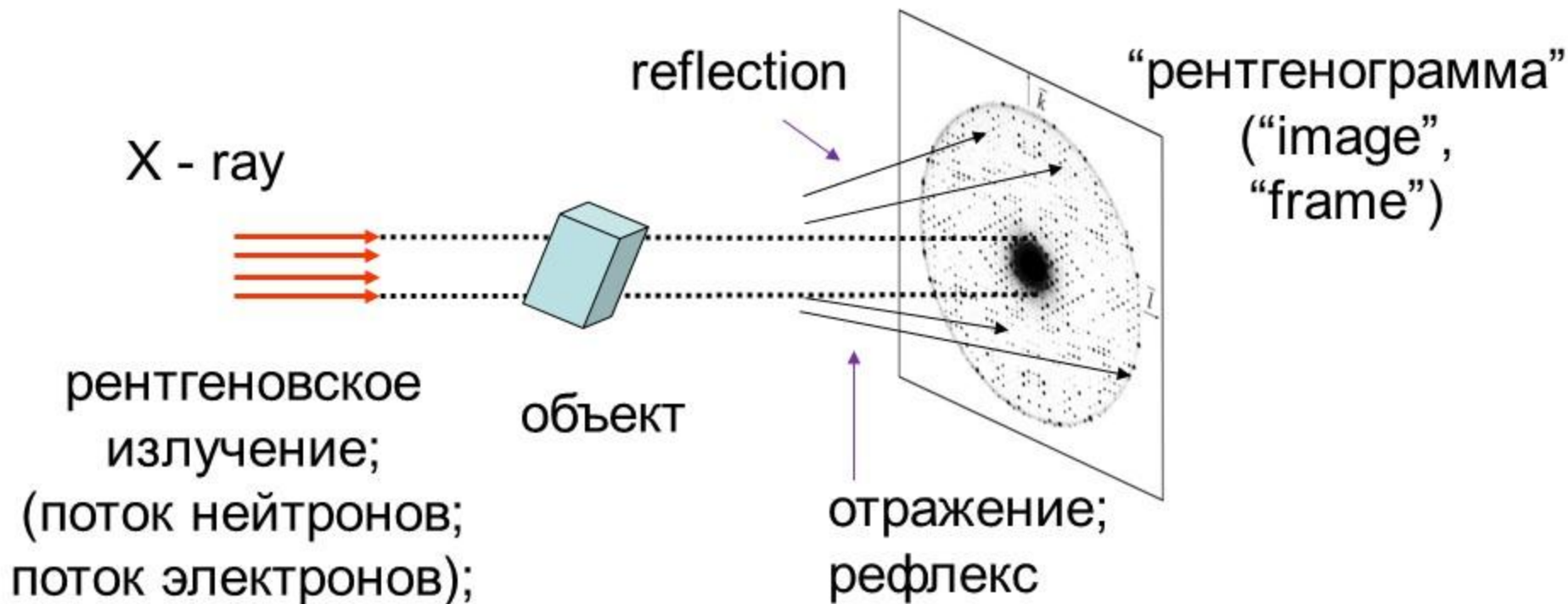


X-ray = рентгеноструктурный анализ (РСА)

NMR = ядерный магнитный резонанс (ЯМР)

EM = электронная микроскопия (ЭМ)

Дифракционный эксперимент



- изучаем «отраженные» от объекта лучи;
- нет фокусирующих линз;
- вращение объекта – трехмерный набор данных;
- необходимо «восстановить» структуру объекта

кристаллограф

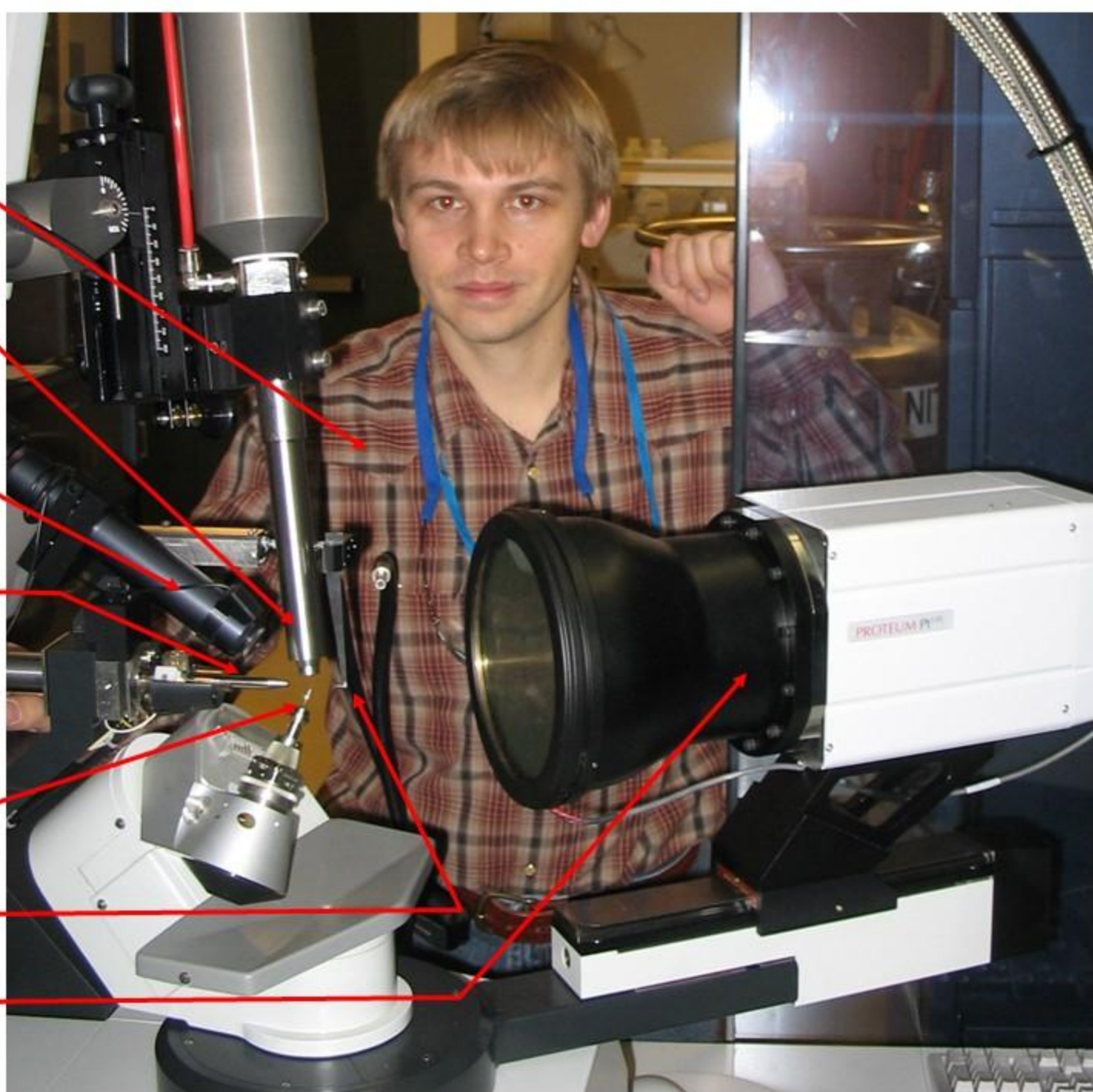
охлаждение
микроскоп

рентгеновский
пучок

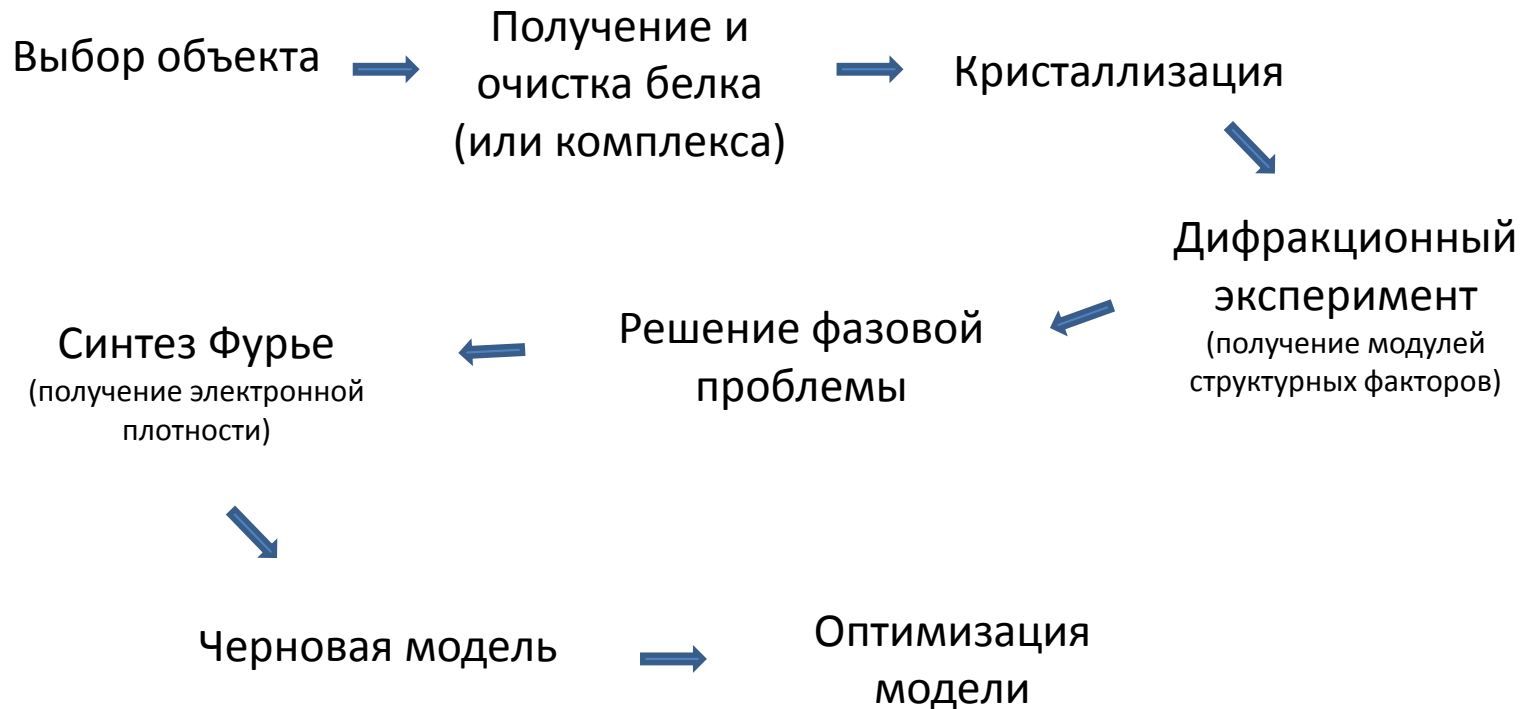
образец

заглушка

детектор



Процедура получения 3D-модели макромолекулы методом РСА



Рентгеновские лучи

Википедия: https://ru.wikipedia.org/wiki/Рентгеновское_излучение

Рентгеновское излучение — электромагнитные волны, энергия фотонов которых лежит на шкале электромагнитных волн между ультрафиолетовым излучением и гамма-излучением (от ~ 10 эВ до нескольких МэВ), что соответствует длинам волн от $\sim 10^3$ до $\sim 10^{-2}$ Å (от $\sim 10^2$ до $\sim 10^{-3}$ нм)^[1].

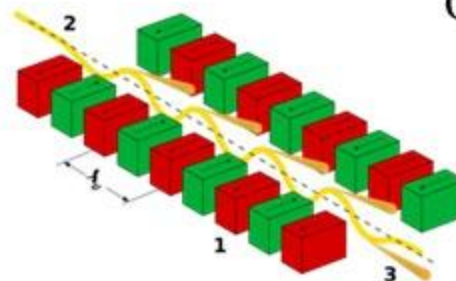
В рентгеноструктурном анализе используется излучение с длиной волны около 1 Å

Источники рентгеновского излучения

Синхротронное излучение.



Ондуляторы.



Генераторы с
вращающимся анодом.

Генераторы с жидким
анодом.

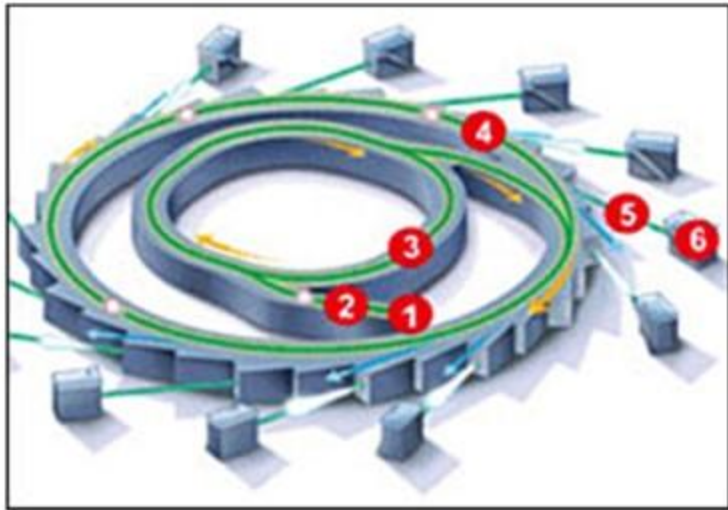
X-ray Free-Electrons Laser

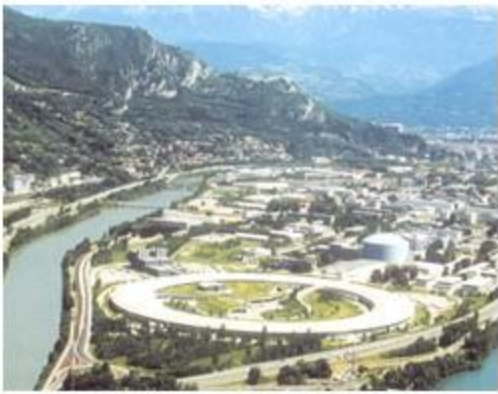


Villigen, Switzerland

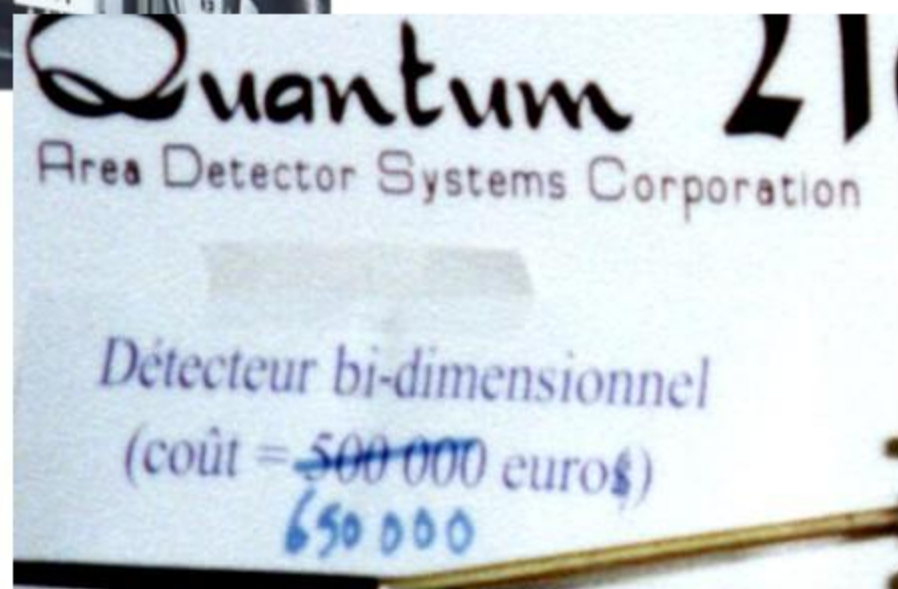
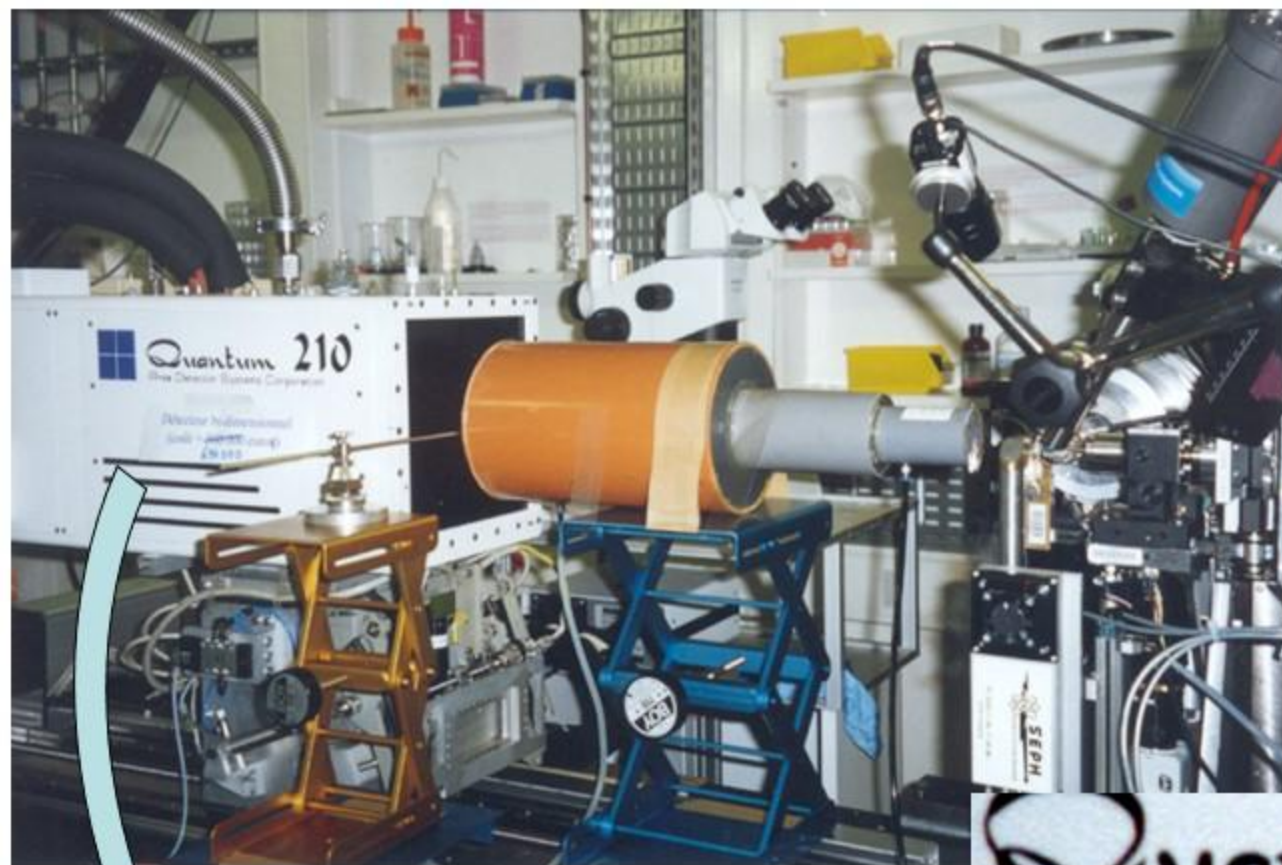


Grenoble, France









Одномерная электромагнитная волна

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

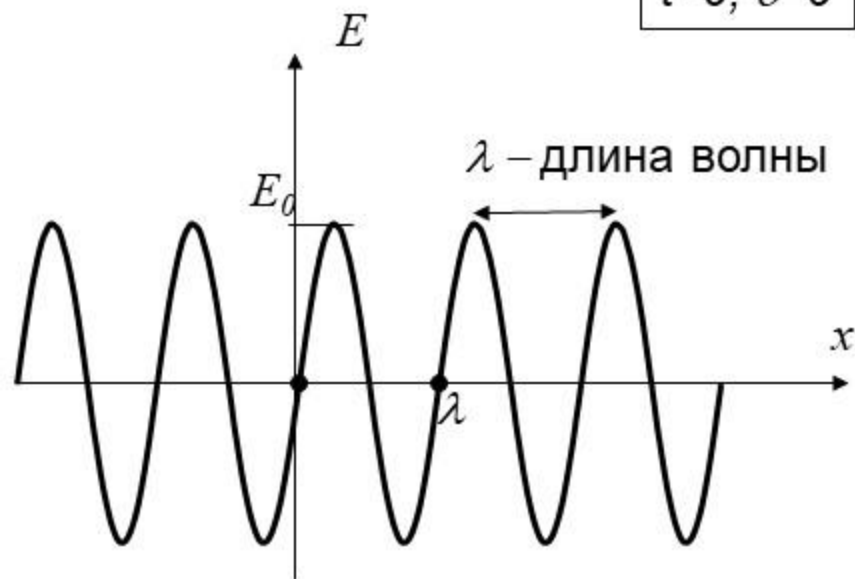
$$E(x,t) = E_0 \sin \left[2\pi \left(\frac{x}{\lambda} - vt + \delta \right) \right]$$

↑
амплитуда волны

↑
"пространственная"
компонента

$$E_0 \sin \left[2\pi \frac{x}{\lambda} \right]$$

$$t=0, \delta=0$$



"МГНОВЕННЫЙ СНИМОК",
время фиксировано

Одномерная электромагнитная волна

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

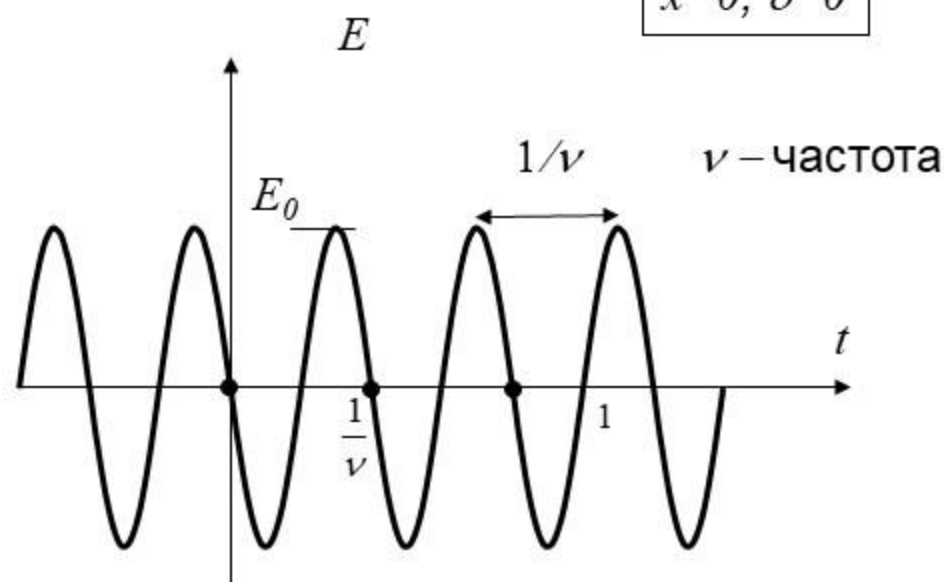
↑
амплитуда волны

"пространственная"
компонента

"временная" компонента

$$E_0 \sin[-2\pi vt]$$

$$\boxed{x=0, \delta=0}$$

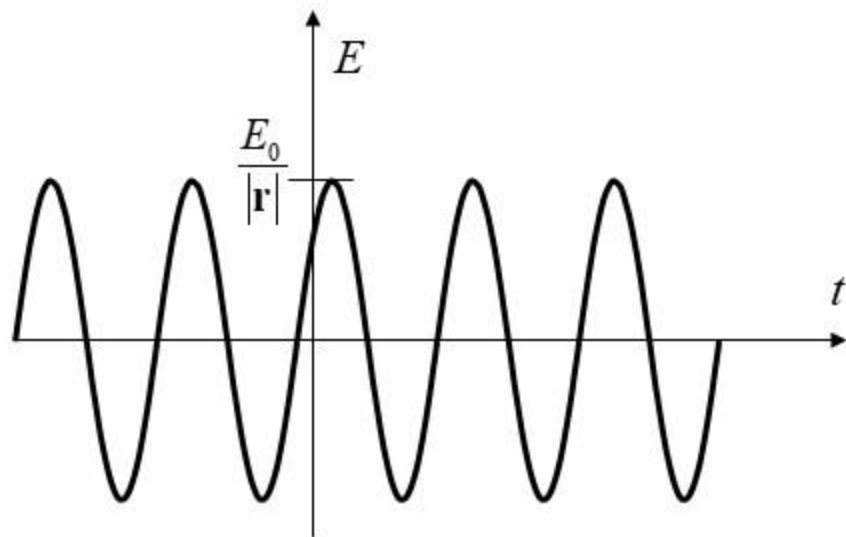


(ν колебаний в единицу времени)

фиксирована точка наблюдения

Сферическая электромагнитная волна

В фиксированной точке пространства — синусоидальное изменение поля во времени.



Одномерная волна

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

Сферическая волна

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

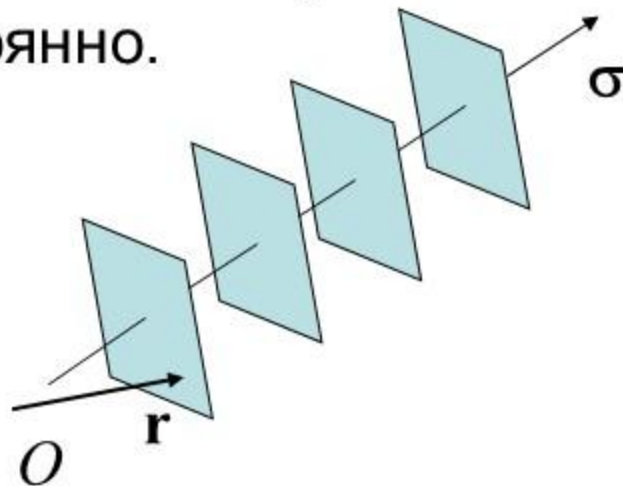
Плоская электромагнитная волна

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

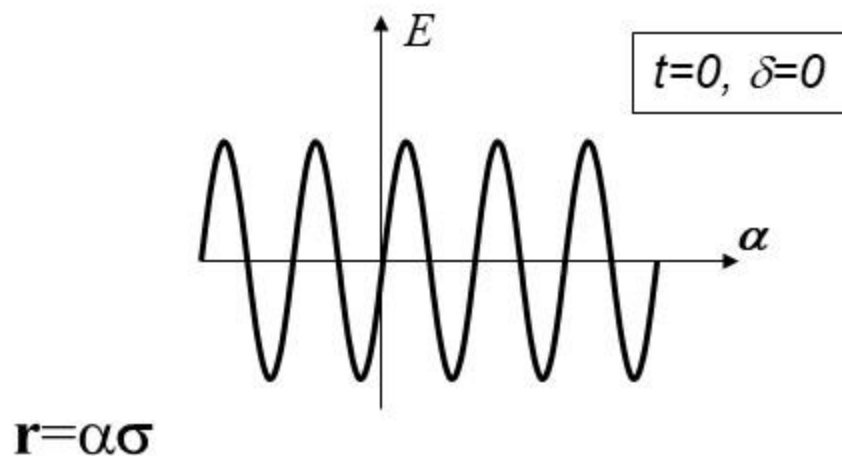
$|\boldsymbol{\sigma}|=1$, $\boldsymbol{\sigma}$ – направление распространения волны
 $(\mathbf{r}, \boldsymbol{\sigma})$ – проекция $\mathbf{r}$ на направление $\boldsymbol{\sigma}$

“Мгновенный снимок” (момент времени фиксирован)

В любой плоскости, перпендикулярной направлению $\boldsymbol{\sigma}$, поле постоянно.



Вдоль $\boldsymbol{\sigma}$ поле меняется синусоидально.

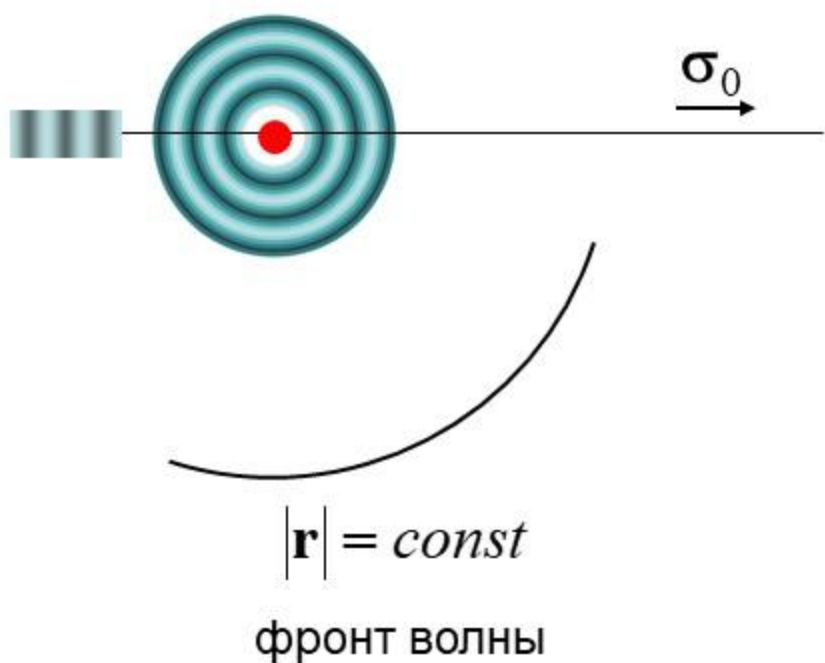


Как задать направление луча?

Направление в пространстве принято задавать
вектором единичной длины

Проекция любого вектора $\mathbf{r}$ на направление, заданное
единичным вектором σ , равно **скалярному произведению**
 $(\mathbf{r}, \sigma)$

Рассеяние рентгеновских лучей электроном



падающая волна

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



уравнения Ньютона,

осцилляция электрона



уравнения Максвелла

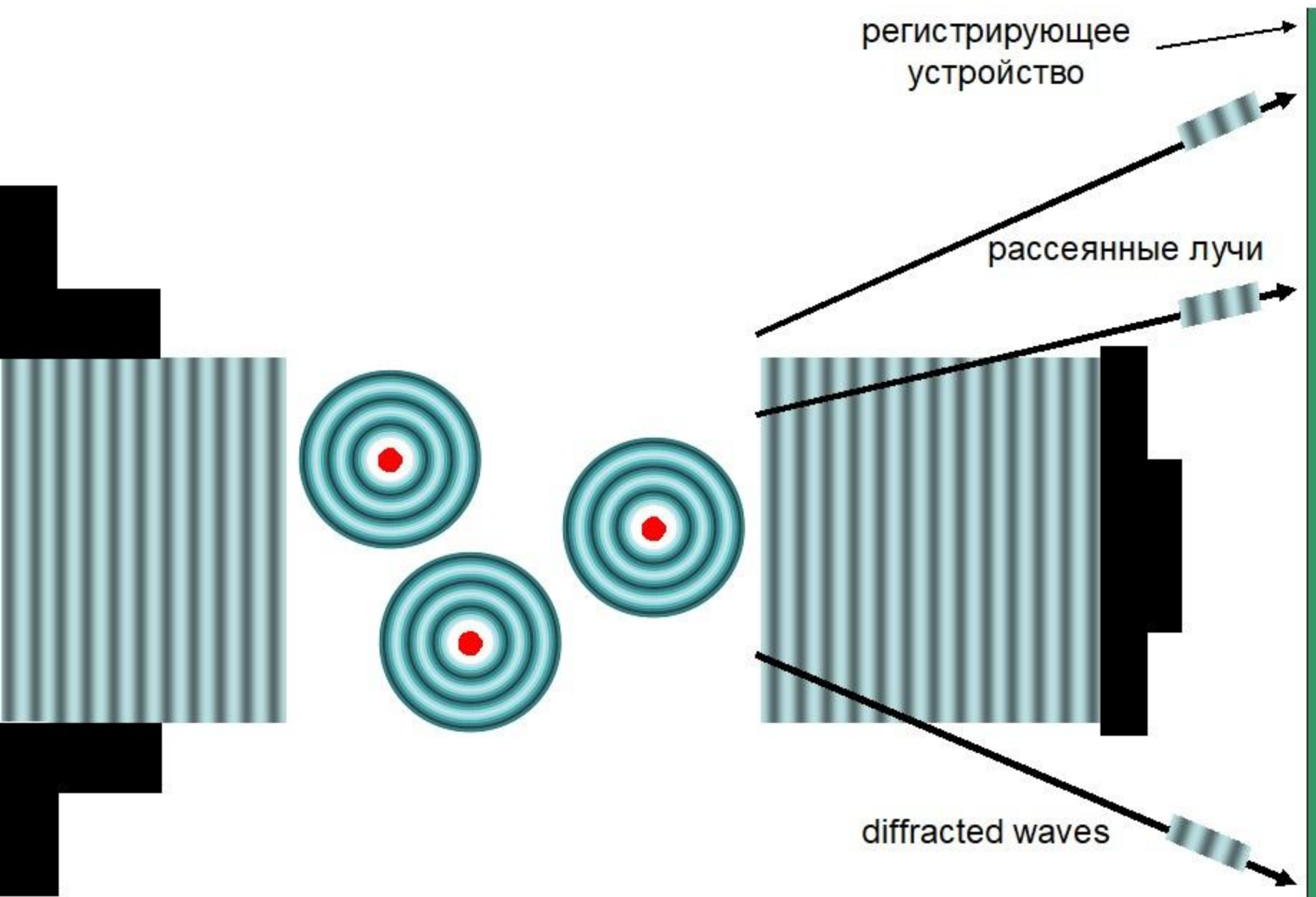
рассеянная волна

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

$$\frac{\varepsilon}{|\mathbf{r}|} \approx 10^{-12}$$



Рассеяние системой электронов



Вектор рассеяния

Везде далее направление падающего луча (то есть единичный вектор с таким направлением) будем обозначать σ_0 .

Лучи от объекта рассеиваются во все стороны. Интенсивность рассеянных лучей измеряется детектором. Каждой точке детектора соответствует своё направление σ от объекта в эту точку.

По причинам, которые будут вскоре ясны, удобнее для обозначения точки детектора вместо направления σ использовать так называемый

вектор рассеяния S

$$S = \frac{\sigma - \sigma_0}{\lambda}$$

Здесь λ — длина волны

Таким образом, **каждой точке детектора соответствует свой вектор S**

Модуль и фаза структурного фактора

В каждую точку детектора s приходит рассеянная волна.

В результате в этой точке зависимость E от времени выглядит так:

$$E(t) \propto F(s) E_0 \sin[2\pi(-\nu t) - \varphi(s)]$$

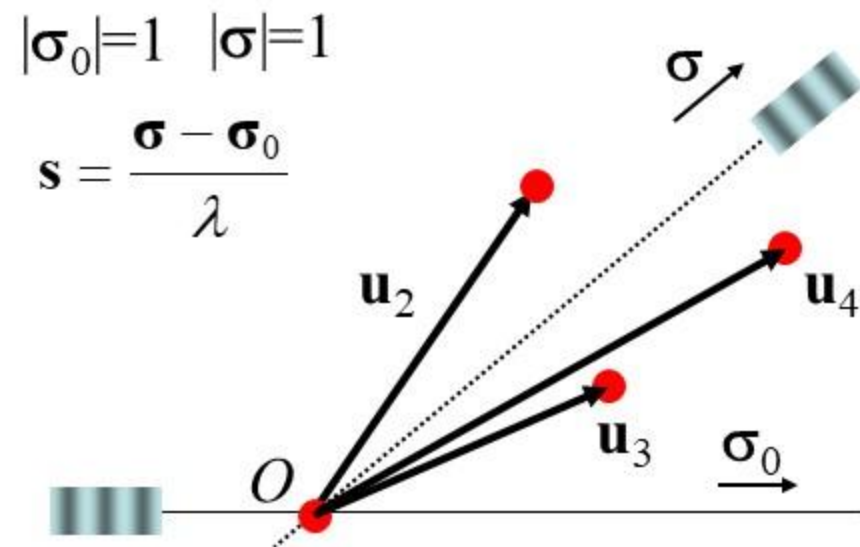
$F(s)$ называется **модулем структурного фактора** (в точке s)

$\varphi(s)$ называется **фазой структурного фактора**

Детектор измеряет энергию падающей волны, т.е. **квадрат** $F(s)$

Фаза непосредственно не наблюдаема!

Рассеяние волны системой электронов



$F(\mathbf{s})$ - модуль структурного фактора;
 $\varphi(\mathbf{s})$ - фаза структурного фактора;

$$F(\mathbf{s}) \cos \varphi(\mathbf{s}) = \sum_j \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{u}_j)$$

$$F(\mathbf{s}) \sin \varphi(\mathbf{s}) = \sum_j \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{u}_j)$$

$$E(t) \propto F(\mathbf{s}) E_0 \sin[2\pi(-\nu t) - \varphi(\mathbf{s})]$$

Интенсивность рассеянной волны

$$I(\mathbf{s}) = I(\sigma_0, \sigma) \propto \left[\sum_j \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{u}_j) \right]^2 + \left[\sum_j \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{u}_j) \right]^2$$

Электронная плотность

Определение. Электронная плотность — это функция от точки пространства, значение которой равно количеству электронов в малой окрестности данной точки, делённому на объём этой окрестности.

Более строго — это предел такого отношения при стремлении объёма к 0

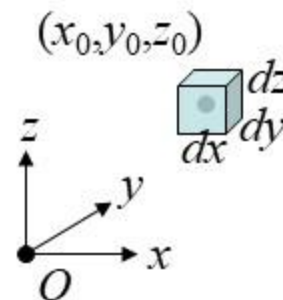
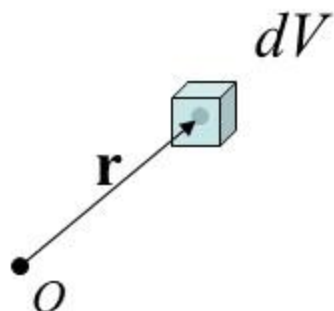
Поскольку электрон — скорее поле, чем точечная частица (учите квантовую механику!) и «размазан» в пространстве, упомянутое «количество электронов» не обязано быть целым.

Иногда говорят, что электронная плотность — это средний по времени заряд, приходящийся на малую окрестность, относительно объёма.

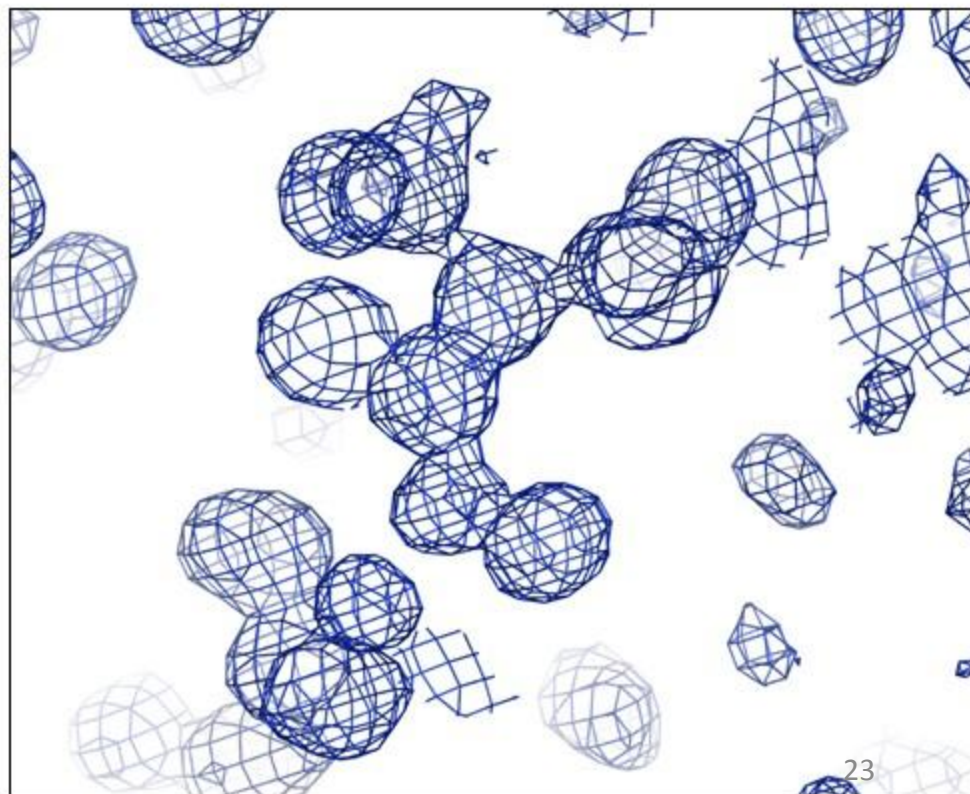
Electron density distribution

$\rho(\mathbf{r})$ (или $\rho(x,y,z)$) - функция распределения электронной плотности

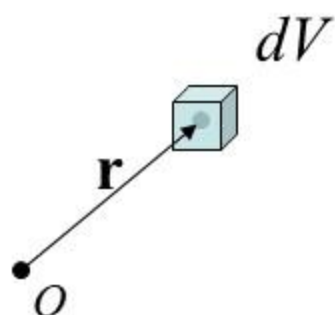
$\rho(\mathbf{r})dV$ (или $\rho(x_0,y_0,z_0)dxdydz$) - средний (по времени) заряд в объеме dV



Распределение электронной плотности в белке альдоз-редуктазе (экспериментально полученная карта – “синтез Фурье электронной плотности”).

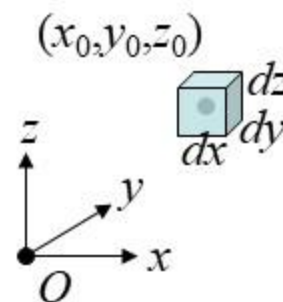


Функция распределения электронной плотности



$\rho(\mathbf{r})$ (или $\rho(x,y,z)$) - функция распределения электронной плотности

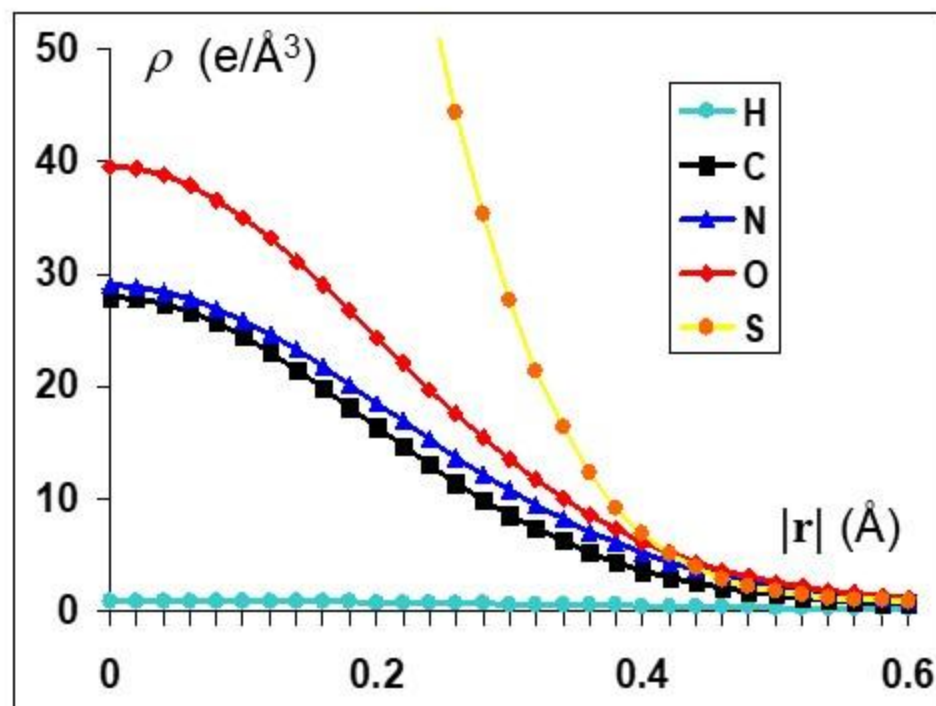
$\rho(\mathbf{r})dV$ (или $\rho(x_0,y_0,z_0)dxdydz$) - средний (по времени) заряд в объеме dV



Распределение электронной плотности в атоме
(гауссово приближение)

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

Таблицы:
5-гауссовое приближение



Рассеяние атомом

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

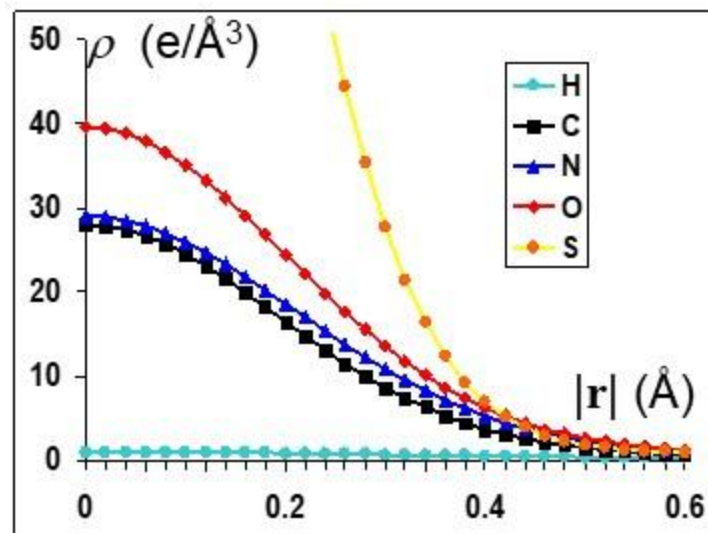
Для атома, находящегося в начале координат

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

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

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

$f(s)$ - фактор атомного рассеяния
(атомный формфактор)



$$F(\mathbf{s})\cos\varphi(\mathbf{s})=$$

$$F(\mathbf{s})\sin\varphi(\mathbf{s})=$$

Электроны в точках
 $\mathbf{u}_1, \mathbf{u}_2, \dots$

$$\sum_j \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{u}_j)$$

$$\sum_j \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{u}_j)$$

Непрерывное
распределение $\rho(\mathbf{r})$

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

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

Атомы с формфакторами
 $f_j(s)$ в точках $\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots$

$$\sum_j f_j(|\mathbf{s}|) \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}_j)$$

$$\sum_j f_j(|\mathbf{s}|) \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}_j)$$

$F(\mathbf{s})$ - модуль структурного фактора
(structure factor magnitude);

$\varphi(\mathbf{s})$ - фаза структурного фактора
(structure factor phase)

Основы рентгеноструктурного анализа

- амплитуда регистрируемой суммарной волны зависит от взаимного расположения рассеивающих электронов; измеряя эту амплитуду, мы получаем возможность делать выводы о взаимном расположении электронов в объекте;
- амплитуда зависит от направления, в котором расположен детектор; измеряя амплитуду в разных направлениях, мы получаем набор независимых измерений;

- результаты эксперимента определяются расположением электронов; поэтому та информация, которую мы можем извлечь из эксперимента - это распределение электронной плотности в изучаемом объекте; координаты атомов - это упрощенное описание электронной плотности; метод РСА дает больше, нежели просто координаты атомов;
- если нам известна структура, мы можем рассчитать и амплитуду, и фазу суммарной волны, но в эксперименте может быть измерена только амплитуда.

Прямая задача теории рассеяния

Знаем:

распределение электронной плотности в объекте

Хотим:

предсказать картину рассеяния (энергии волн, распространяющихся в разных направлениях)

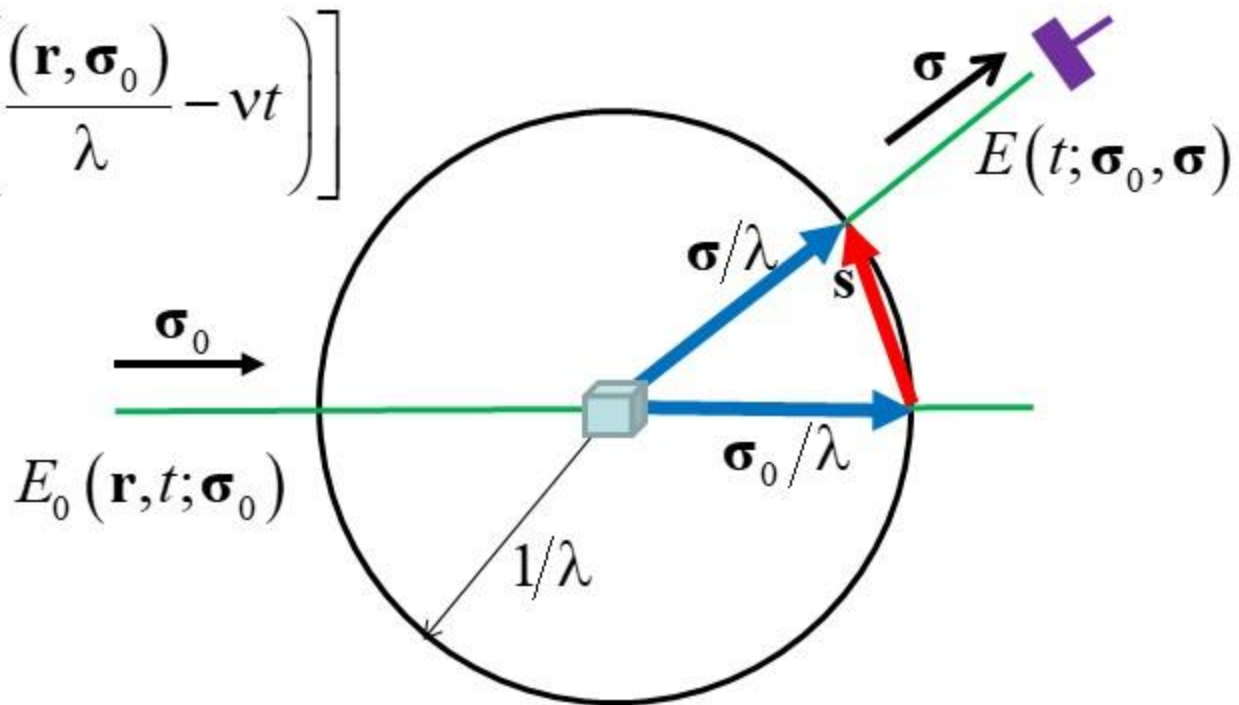
$$E_0(\mathbf{r}, t; \boldsymbol{\sigma}_0) = E_0 \sin \left[2\pi \left(\frac{(\mathbf{r}, \boldsymbol{\sigma}_0)}{\lambda} - vt \right) \right]$$

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

λ - длина волны

R_{s-d} - расстояние
объект-детектор

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



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

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

Вся информация об объекте – в структурном факторе

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

Волна на детекторе:

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

Зависит от комбинации $\mathbf{s} = \frac{\boldsymbol{\sigma} - \boldsymbol{\sigma}_0}{\lambda}$ - вектор рассеяния

Вся информация об объекте – в структурном факторе

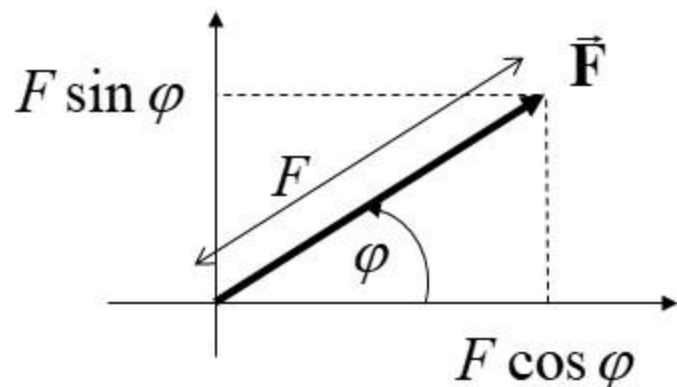
$$F(\mathbf{s}), \varphi(\mathbf{s})$$

$$A = F(\mathbf{s}) \cos \varphi(\mathbf{s}) =$$

$$B = F(\mathbf{s}) \sin \varphi(\mathbf{s}) =$$

$$\int \rho(\mathbf{r}) \cos 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}) dV_r$$

$$\int \rho(\mathbf{r}) \sin 2\pi(\mathbf{s}, \mathbf{r}) dV_r$$



$$F(\mathbf{s}) = \sqrt{A^2 + B^2}$$

$$\varphi(\mathbf{s}) = \arctg \frac{B}{A}$$

решение
прямой
задачи

Эксперимент

Волна на детекторе:

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

Измеряется интенсивность (энергия) рассеянных волн

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

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.

Прямая задача теории рассеяния:

Знаем: $\rho(\mathbf{r})$. **Предсказываем:** $I(\mathbf{s}) \propto F^2(\mathbf{s})$ для разных $\mathbf{s}$.

Обратная задача теории рассеяния:

Знаем: $F^{obs}(\mathbf{s})$ для разных $\mathbf{s}$. **Хотим найти** $\rho(\mathbf{r})$.

Метод проб и ошибок

$$\mathbf{r}_j, j = 1, \dots, N$$

координаты атомов

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_j \rho_{type_j}(\mathbf{r} - \mathbf{r}_j)$$

электронная плотность

$$F^{calc}(\mathbf{s}_k), k = 1, \dots, M$$

структурные факторы

$$Q(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = \sum_k \left(F^{calc}(\mathbf{s}_k; \mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) - F^{obs}(\mathbf{s}_k) \right)^2$$

критерий

Метод проб и ошибок

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



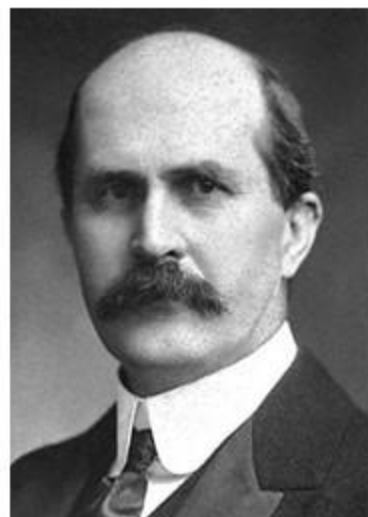
Расчет соответствующей
картины дифракции

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



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

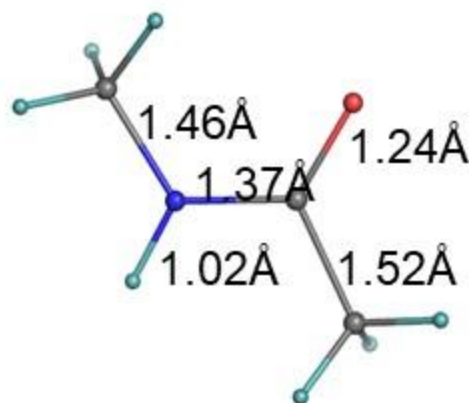
Число неизвестных значений координат может достигать сотен тысяч. Число экспериментальных наблюдений - миллионов. Такие задачи наука, на сегодняшний день, решать не умеет.

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: $\sim 0.7 \text{ \AA}$



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;
- газы;
- порошки;
- **кристаллы.**

Кристаллы



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.

Кристаллы

Определение. Кристаллом называется объект, чья электронная плотность ρ удовлетворяет условиям:

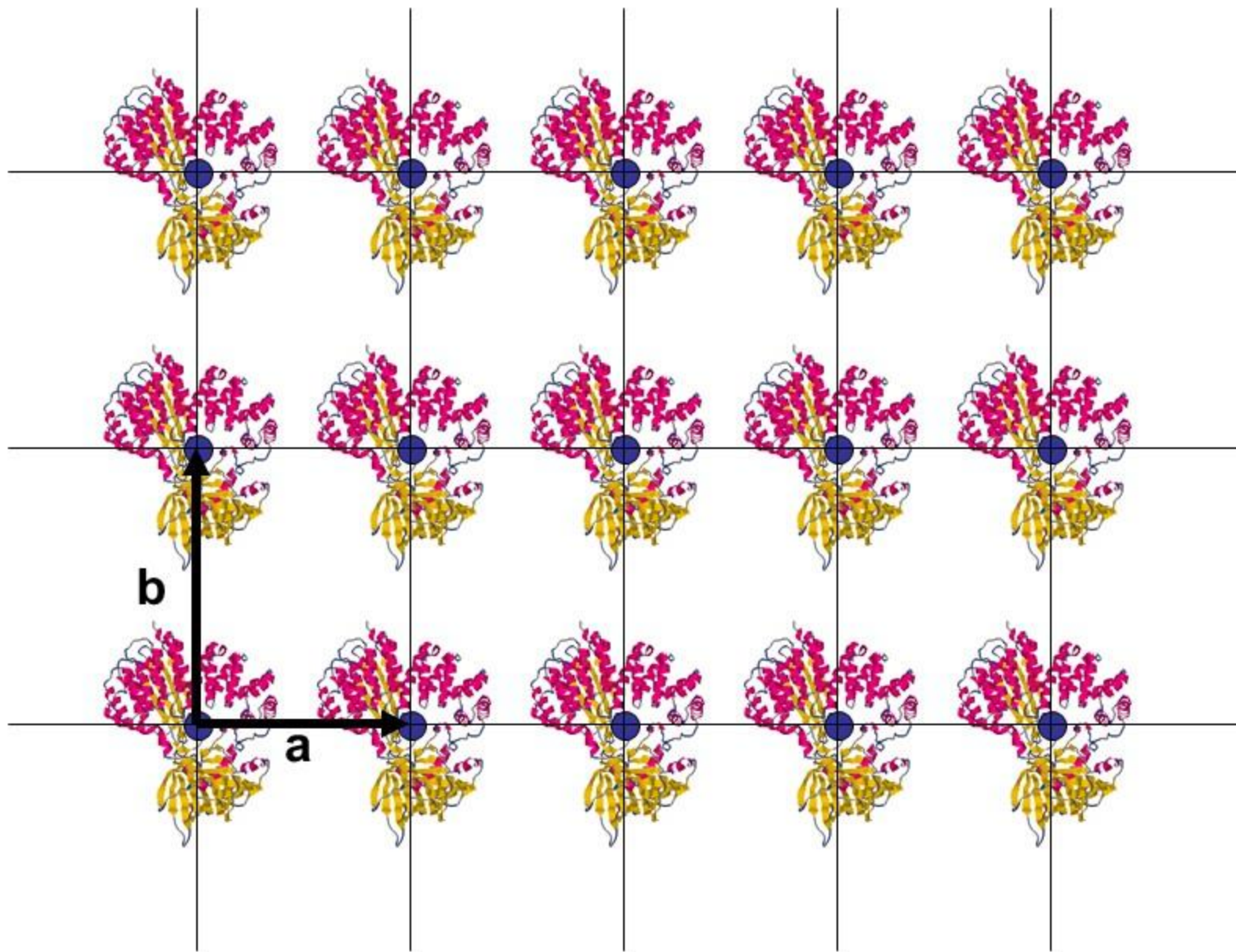
$$\rho(\mathbf{r}) = \rho(\mathbf{r}+\mathbf{a}) = \rho(\mathbf{r}+\mathbf{b}) = \rho(\mathbf{r}+\mathbf{c})$$

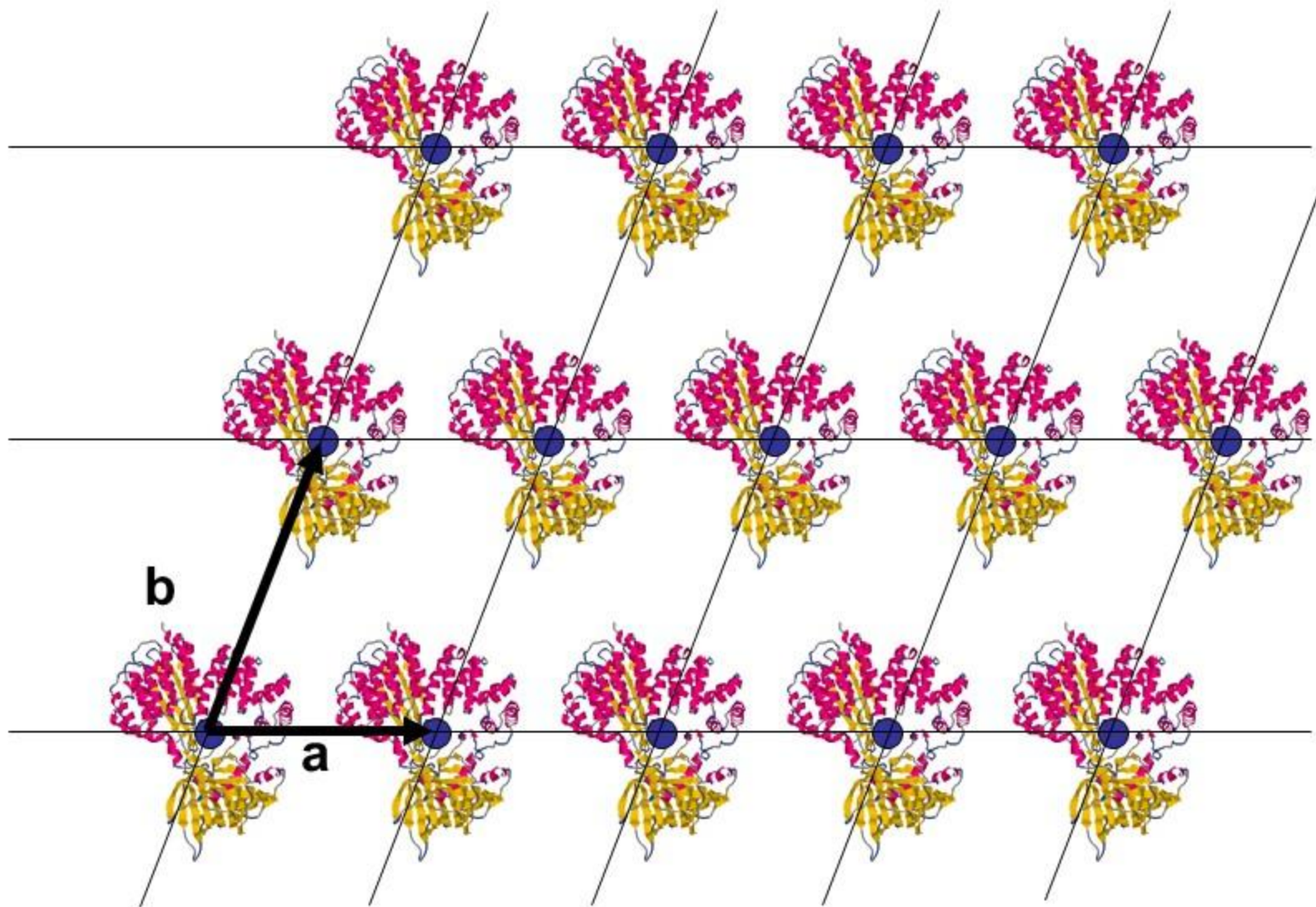
где $\mathbf{r}$ — точка пространства (=вектор из начала координат), а

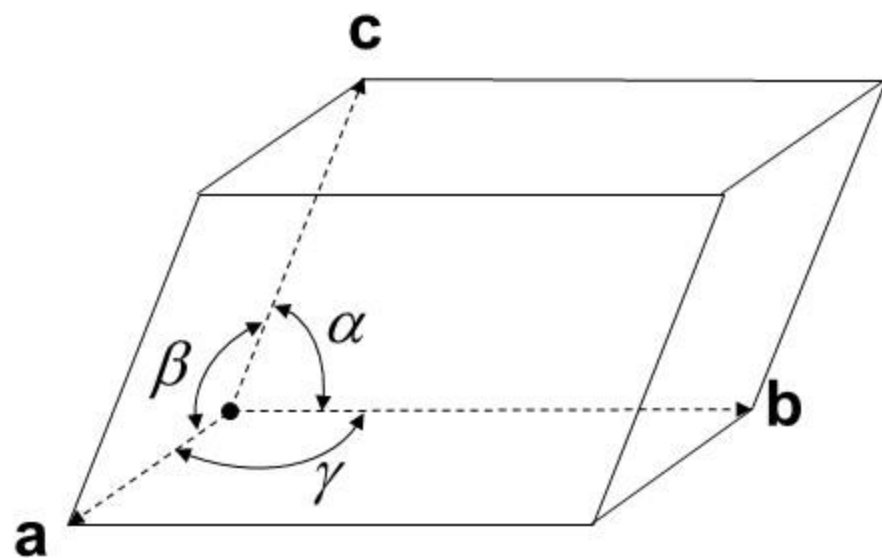
$\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$, $\mathbf{c}$ — три **некомпланарных** вектора

(равенства должны быть верны для любой точки кристалла $\mathbf{r}$, для которой сдвиги на $\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$, $\mathbf{c}$ не выводят за пределы кристалла)

$\mathbf{a}$, $\mathbf{b}$, $\mathbf{c}$ — называются **рёбрами элементарной ячейки** кристалла







элементарная ячейка
(unit cell)

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

содержимое элементарной ячейки полностью
определяет «внутреннюю» структуру кристалла

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

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

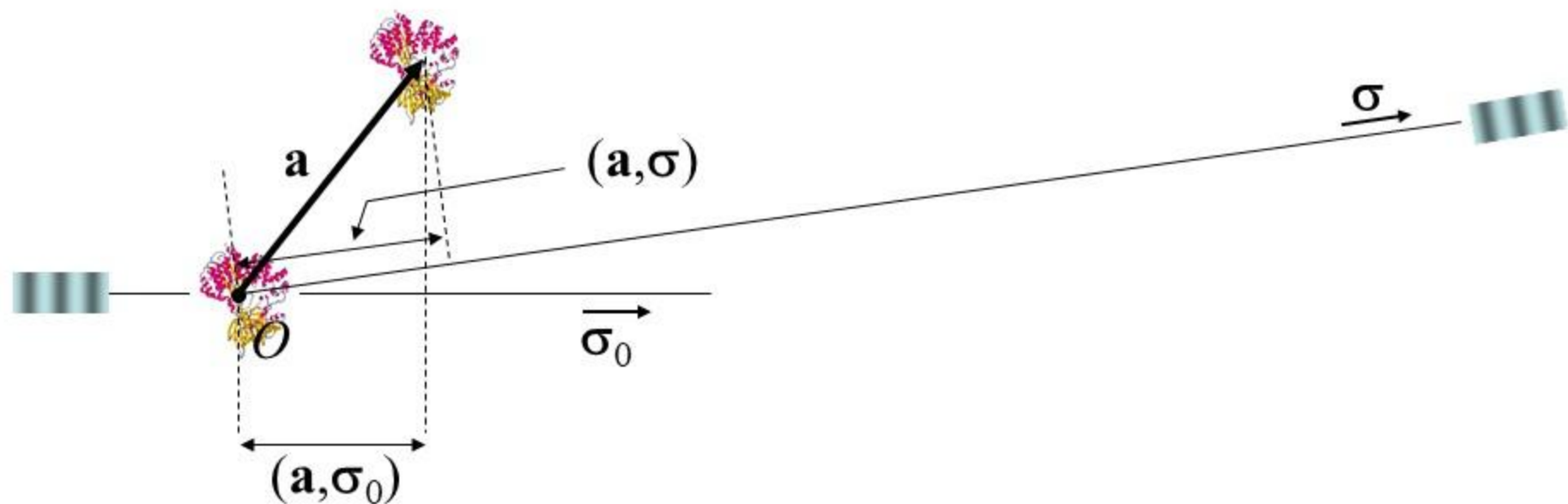
x, y, z – относительные
(кристаллографические)
координаты

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

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

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

Рассеяние рентгеновских лучей двумя молекулами



- В «точке» детектора складываются два электрических поля
- Можно измерить амплитуду суммарной волны

$$E_1(t) \propto F(s) E_0 \sin[\omega]$$

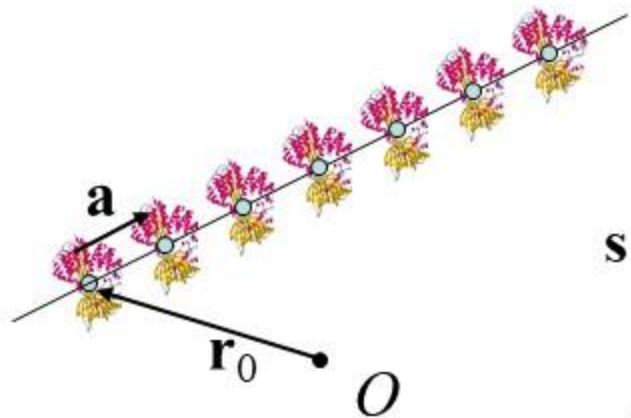
$$E_2(t) \propto F(s) E_0 \sin[\omega - 2\pi\Delta]$$

$F(s)$ -модуль структурного фактора молекулы

$$\Delta = (a, s)$$

$$\omega = 2\pi \left(\frac{R_{s-d}}{\lambda} - vt \right) - \varphi(s)$$

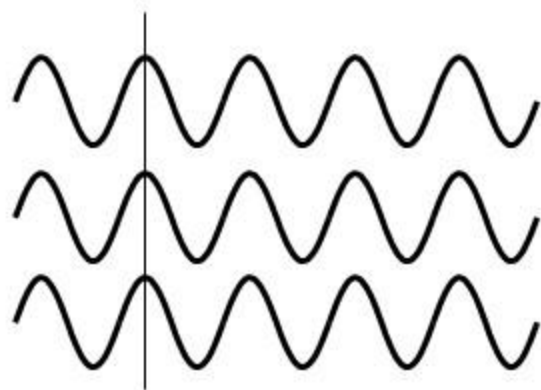
$$s = \frac{\sigma - \sigma_0}{\lambda} \quad \text{вектор рассеяния}$$



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

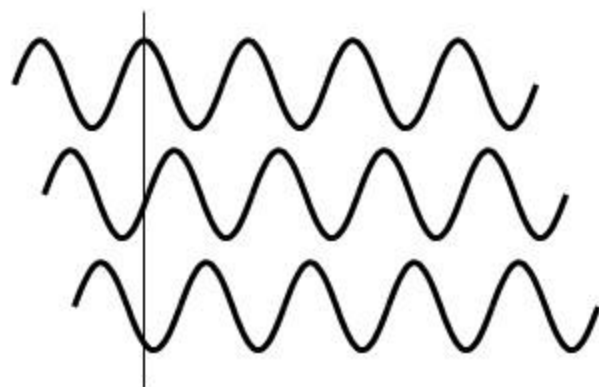
$$\Delta = (\mathbf{s}, \mathbf{a})$$

$$F(\mathbf{s}) E_0 \left\{ \sin[\omega] + \sin[\omega + 2\pi(\Delta)] + \sin[\omega + 2\pi(2\Delta)] + \sin[\omega + 2\pi(3\Delta)] \dots \right\}$$



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

амплитуда волны $F(\mathbf{s}) E_0 N_{mol}$



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

амплитуда волны ≈ 0

Рассеяние рентгеновских лучей на кристалле

Факт. Если два объекта таковы, что один из них получается из другого сдвигом на вектор $\mathbf{a}$, то рассеянный сигнал от них усиливается в направлениях σ таких, что скалярное произведение $(\mathbf{a}, (\sigma - \sigma_0)/\lambda)$ — целое число.

Следствие. Сигнал от кристалла многократно усилен в точках детектора s , удовлетворяющих **условиям Лауэ**:

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

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

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

где h, k, l — целые числа

В остальных направлениях сигналы от ячеек кристалла, наоборот, гасят друг друга. Поэтому на детекторе видны только отдельные точки.

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):

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

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

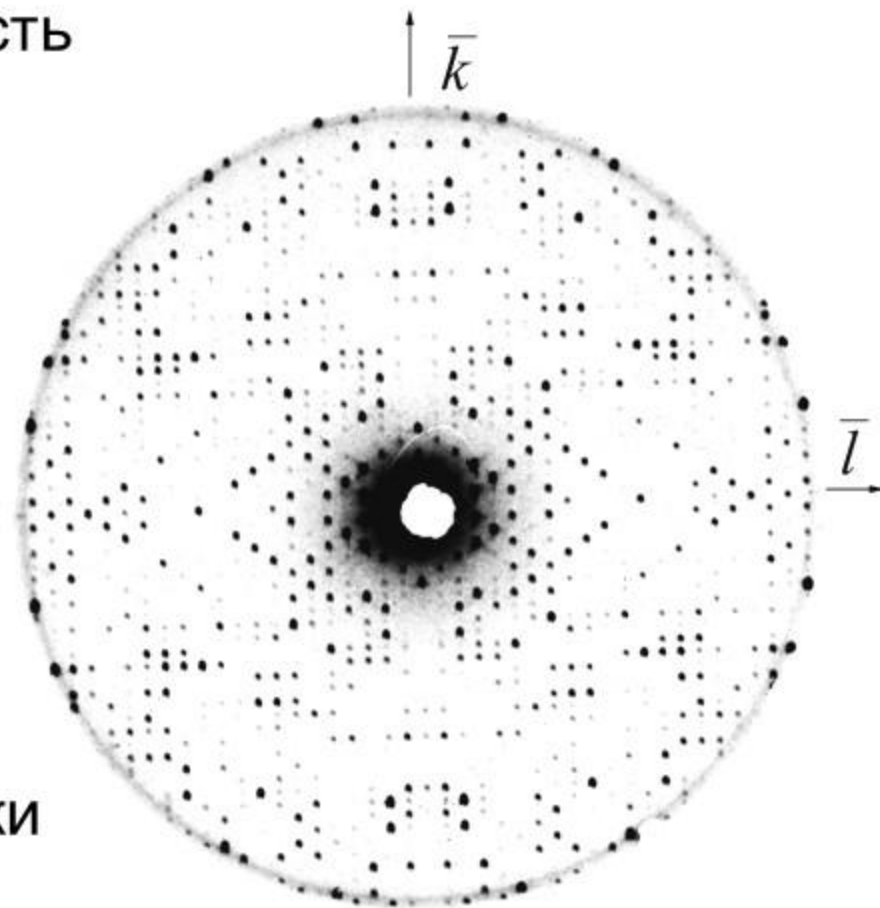
$$(\mathbf{s}, \mathbf{c}) = l$$

h, k, l - целые числа

(индексы рефлекса)

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

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



Кристалл

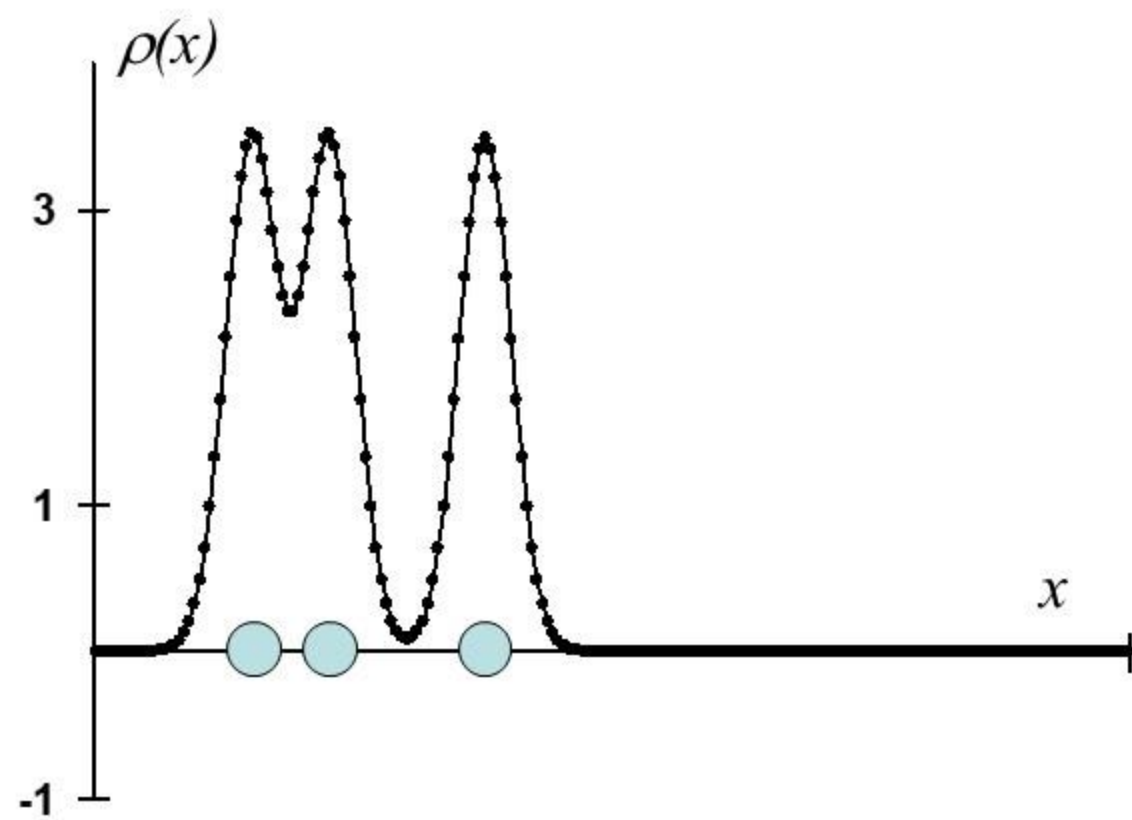
-  Позволяет радикально увеличить амплитуду рассеянной волны для некоторых («Брэгговских») рефлексов.
-  Теряется информация о модулях структурных факторов для остальных рефлексов.
-  Проблема получения кристаллов.

"Классический" ("тригонометрический") ряд Фурье

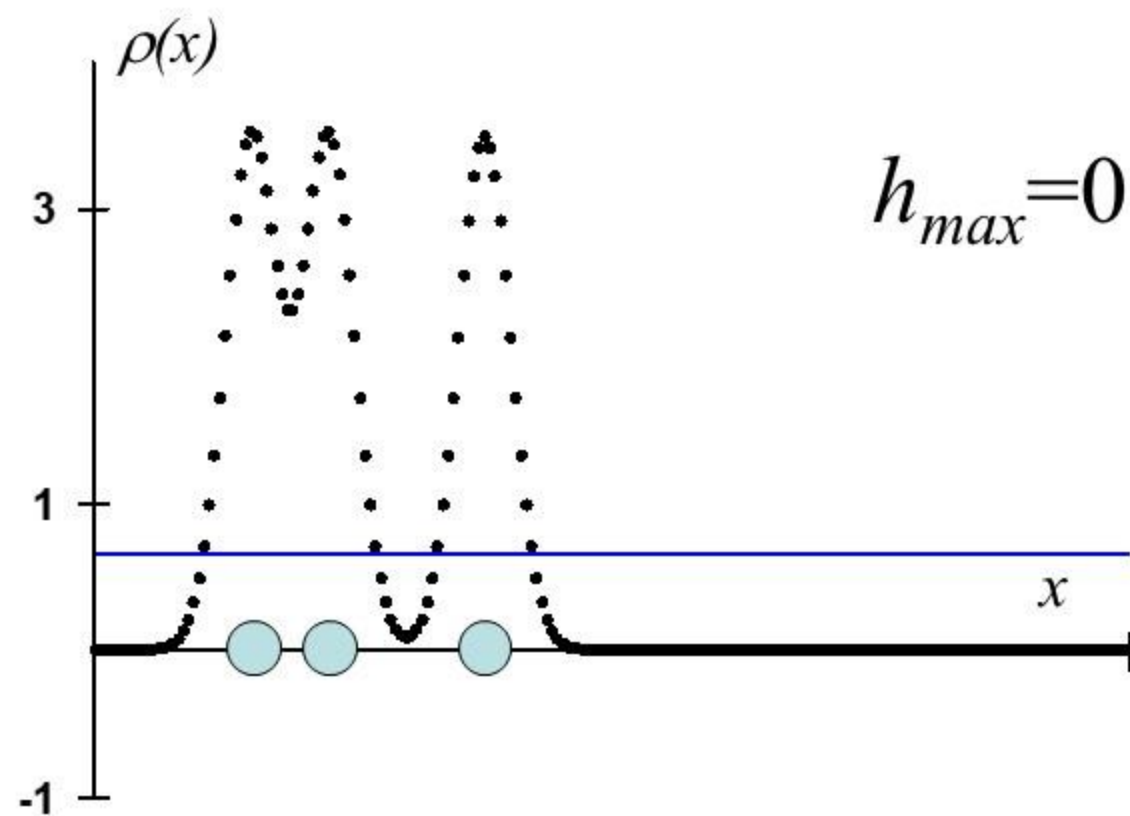
Любая функция может быть приближена на отрезке $[0,1]$ комбинацией "синусов и косинусов".

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

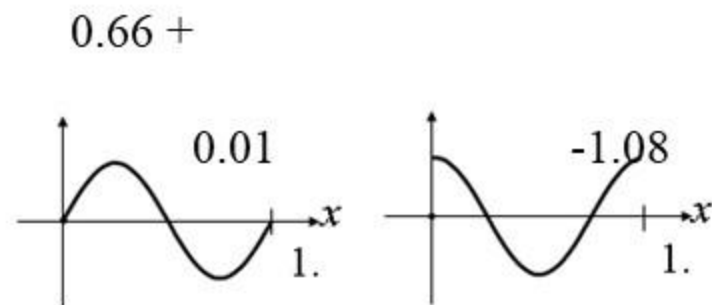
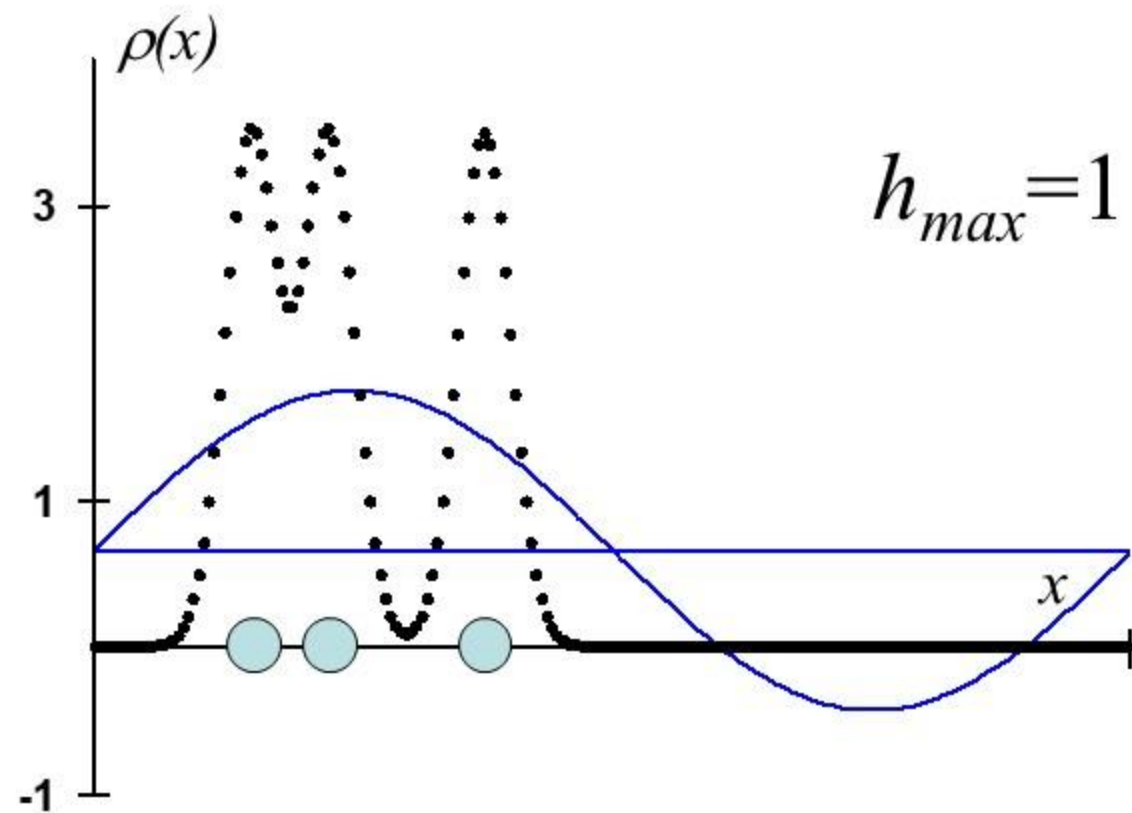
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_h \left\{ A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx) \right\}$$



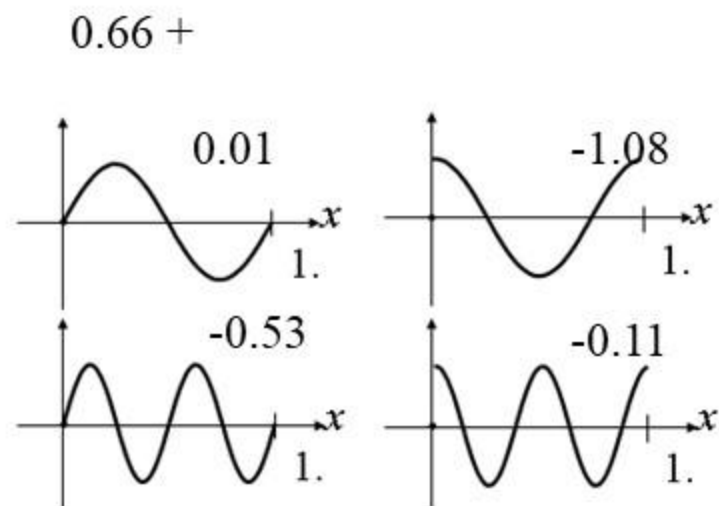
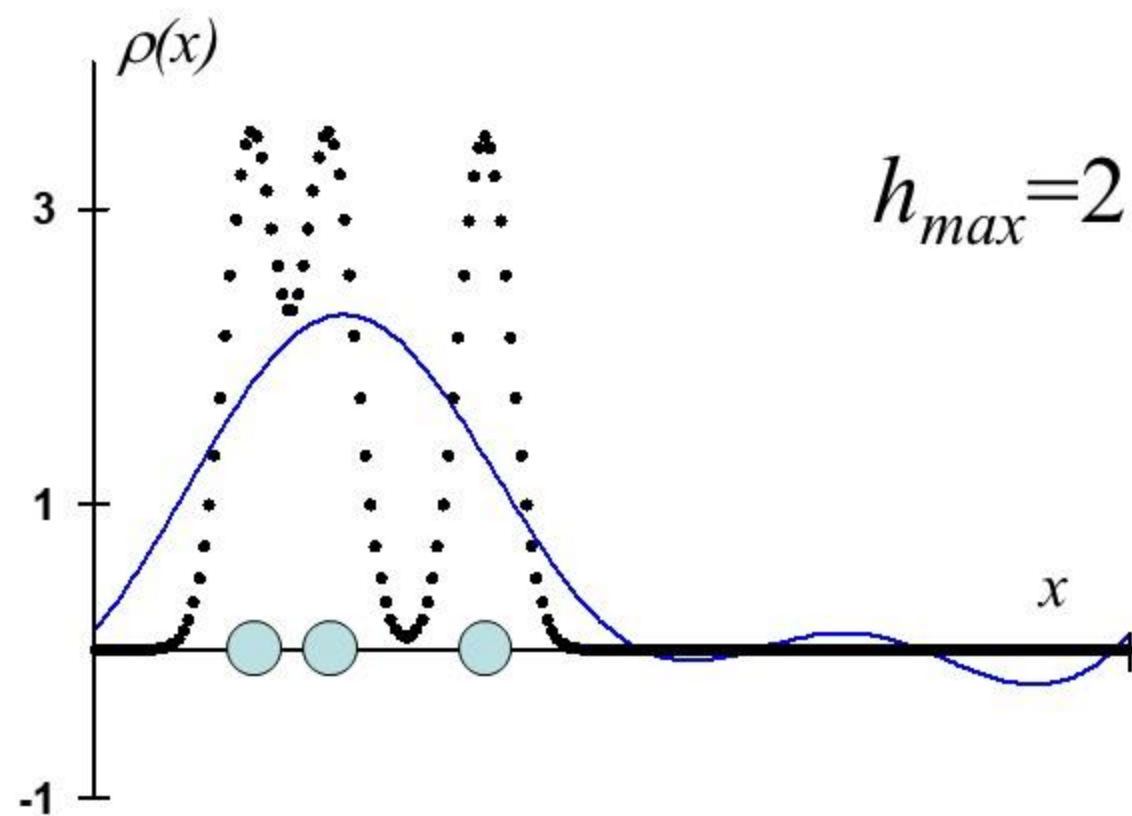
0.66 +



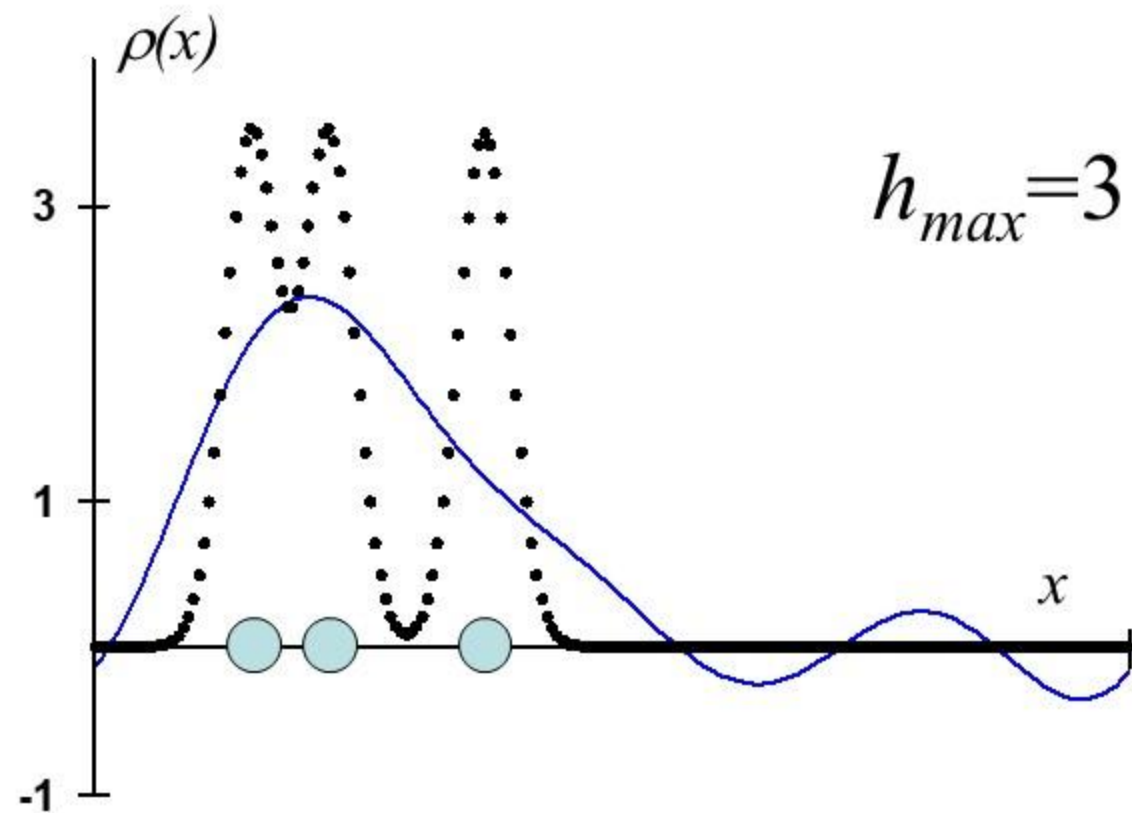
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



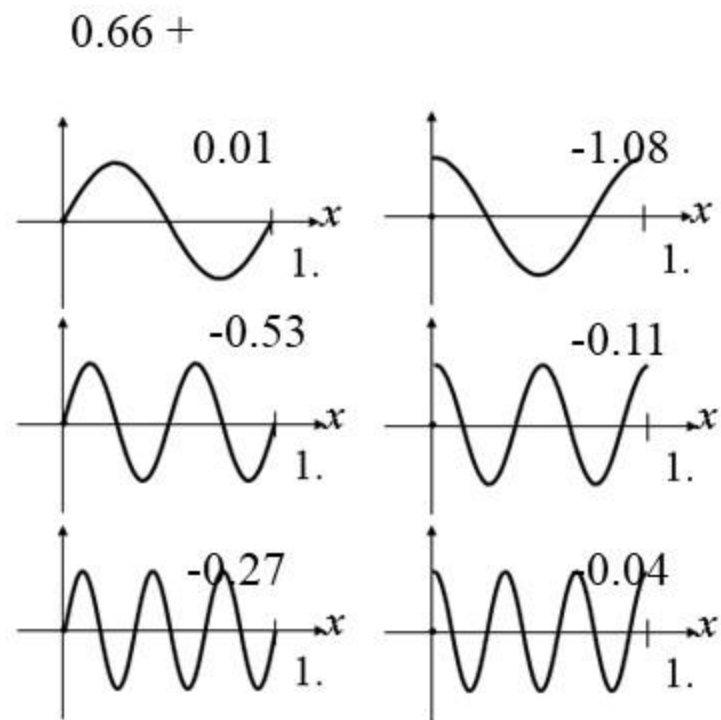
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



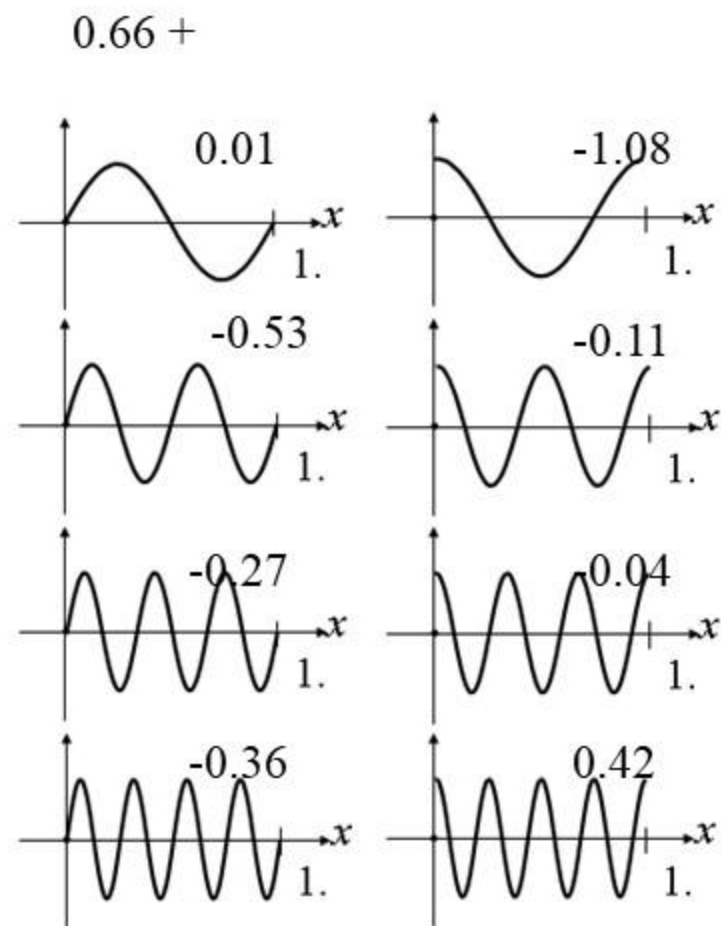
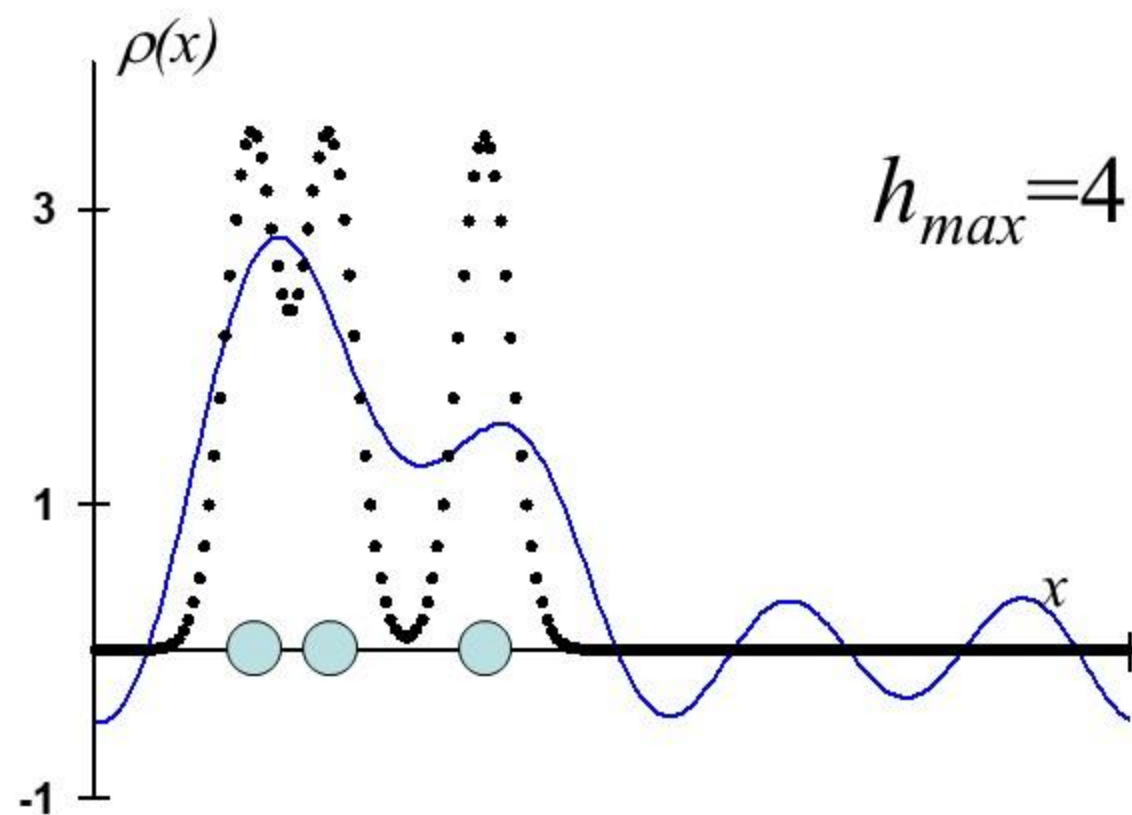
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



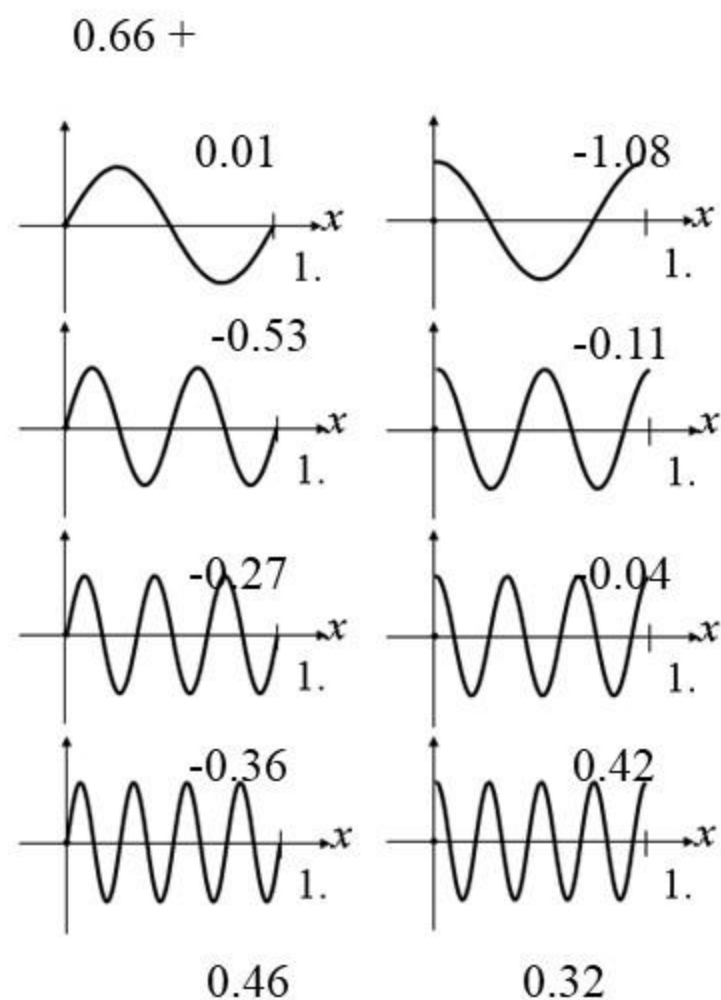
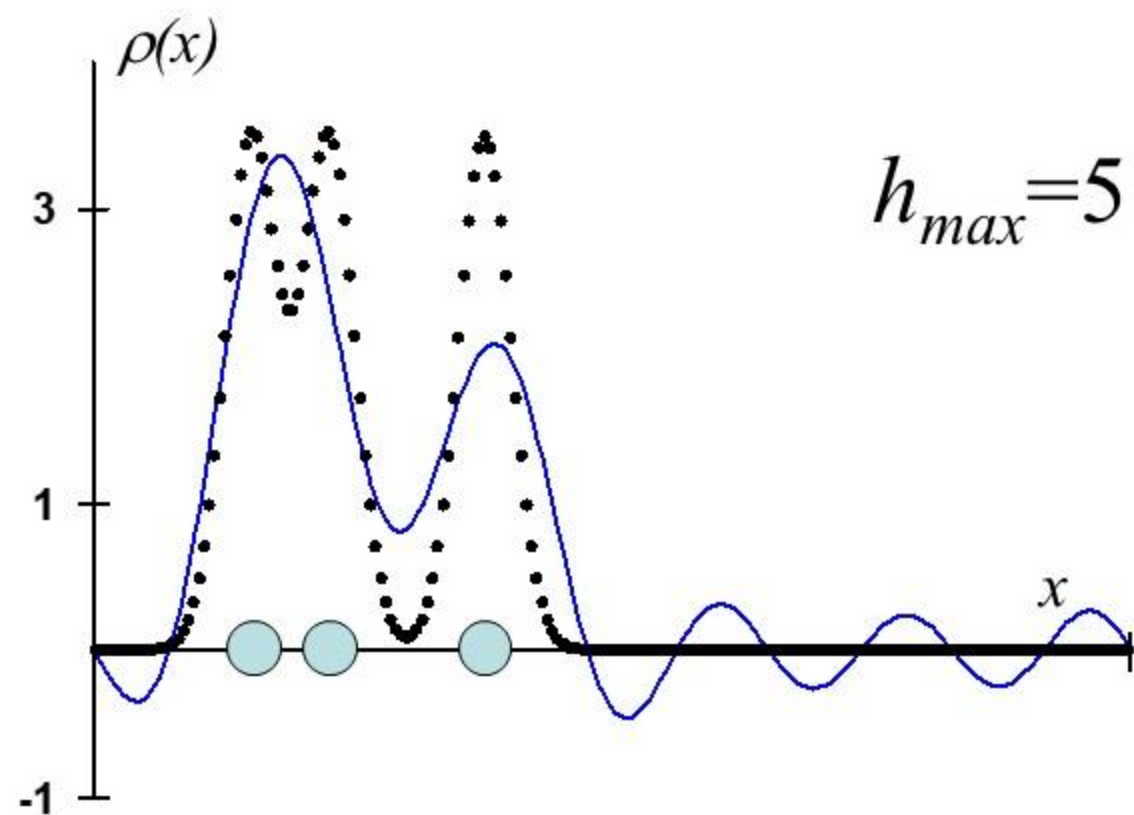
$$h_{\max} = 3$$



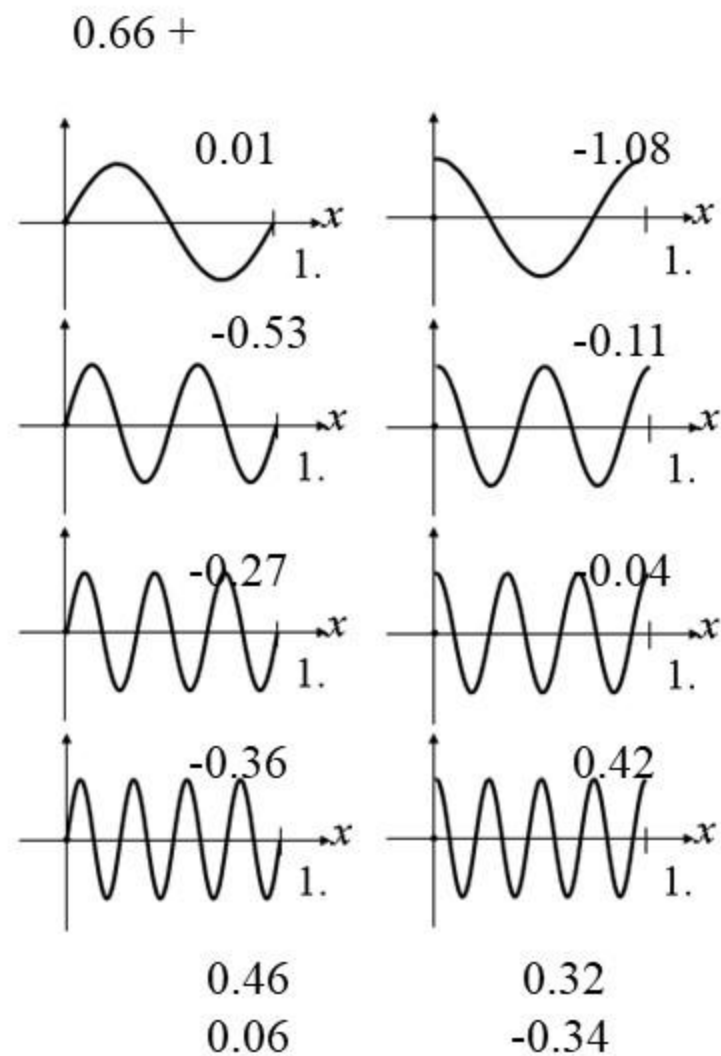
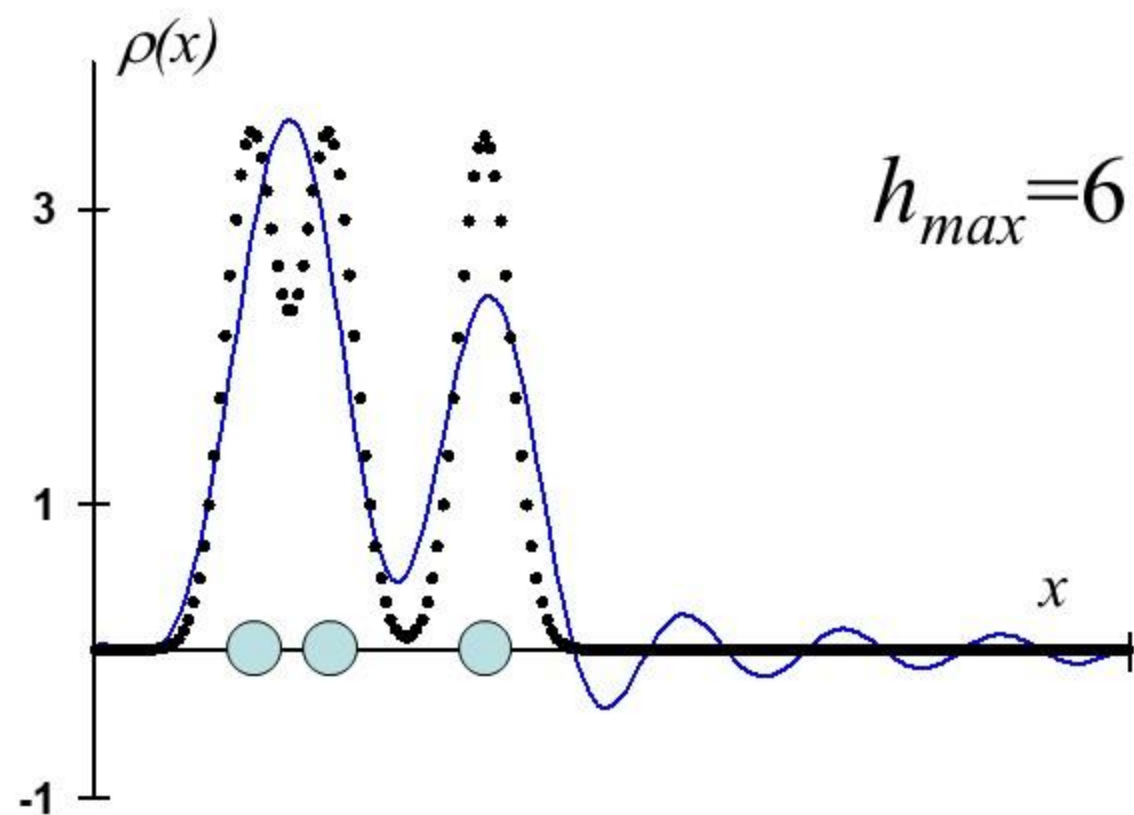
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



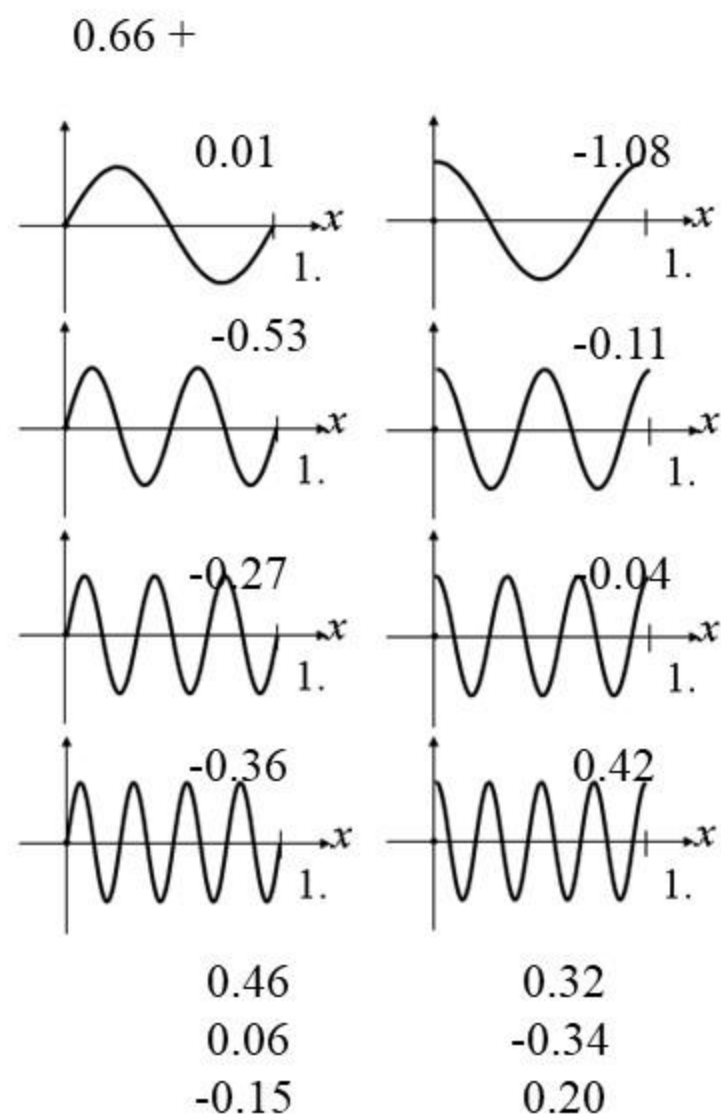
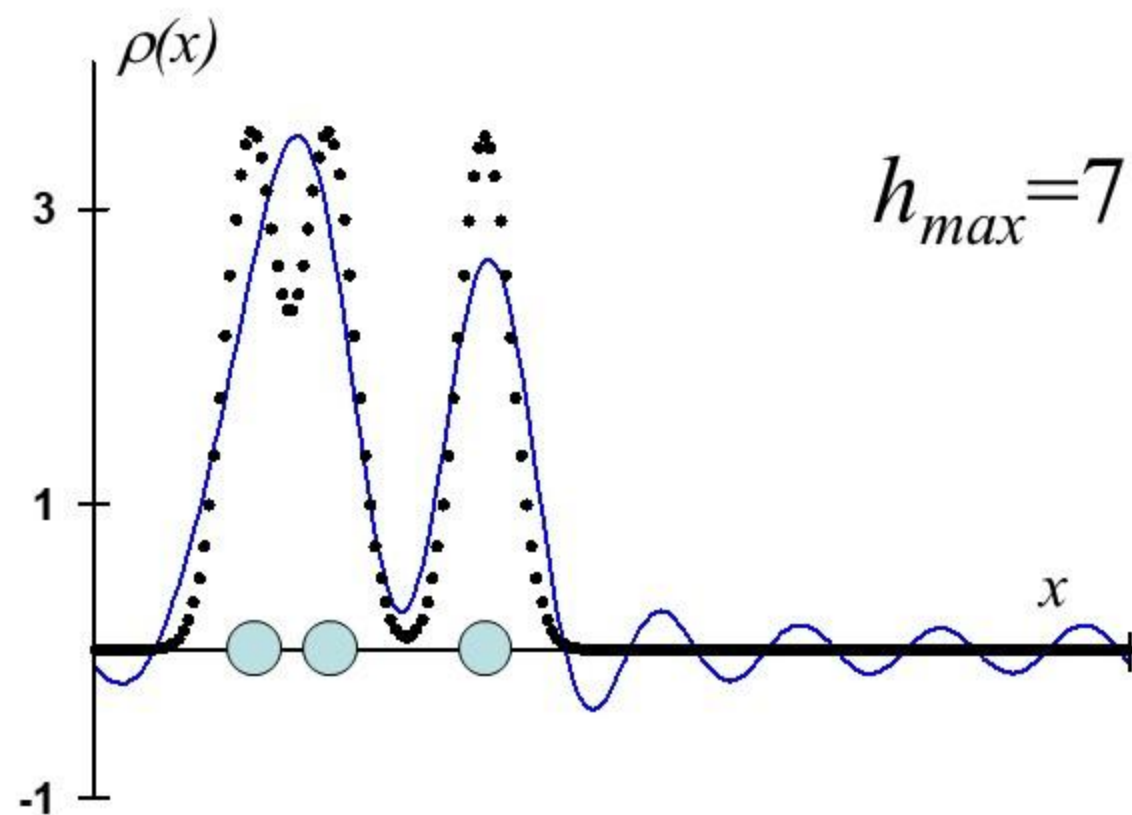
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



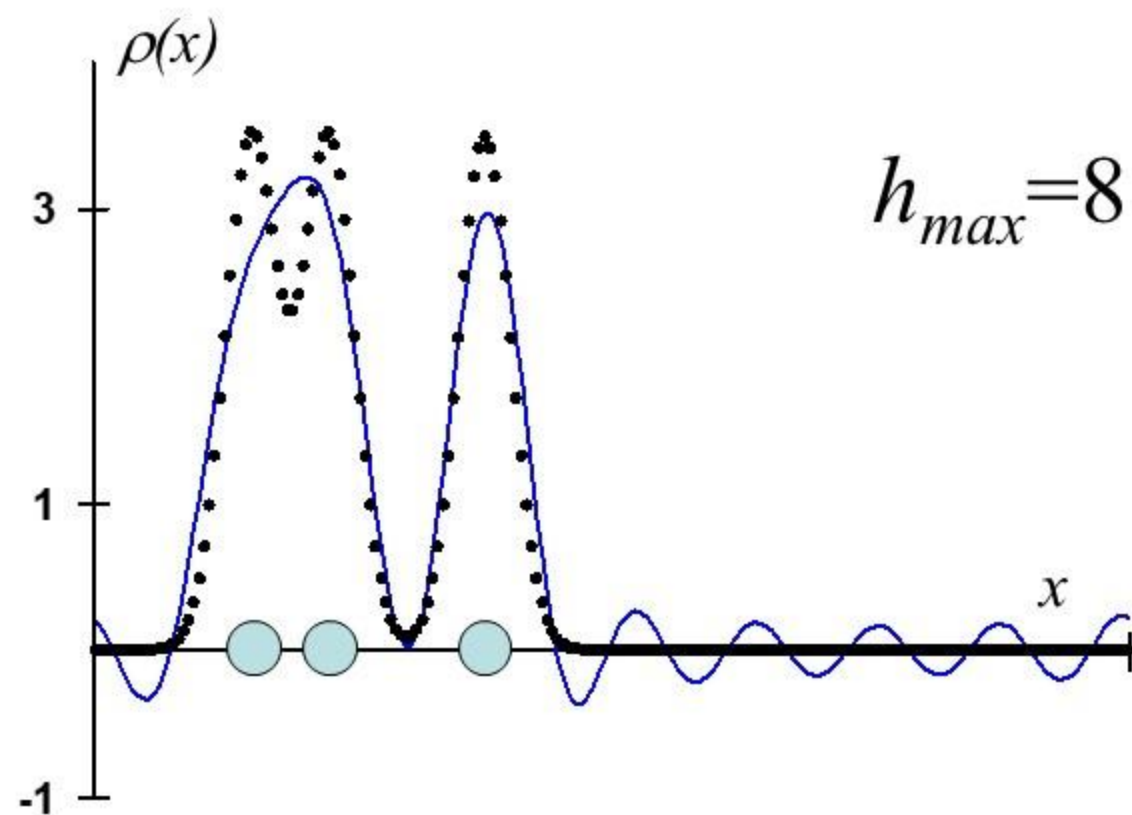
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$



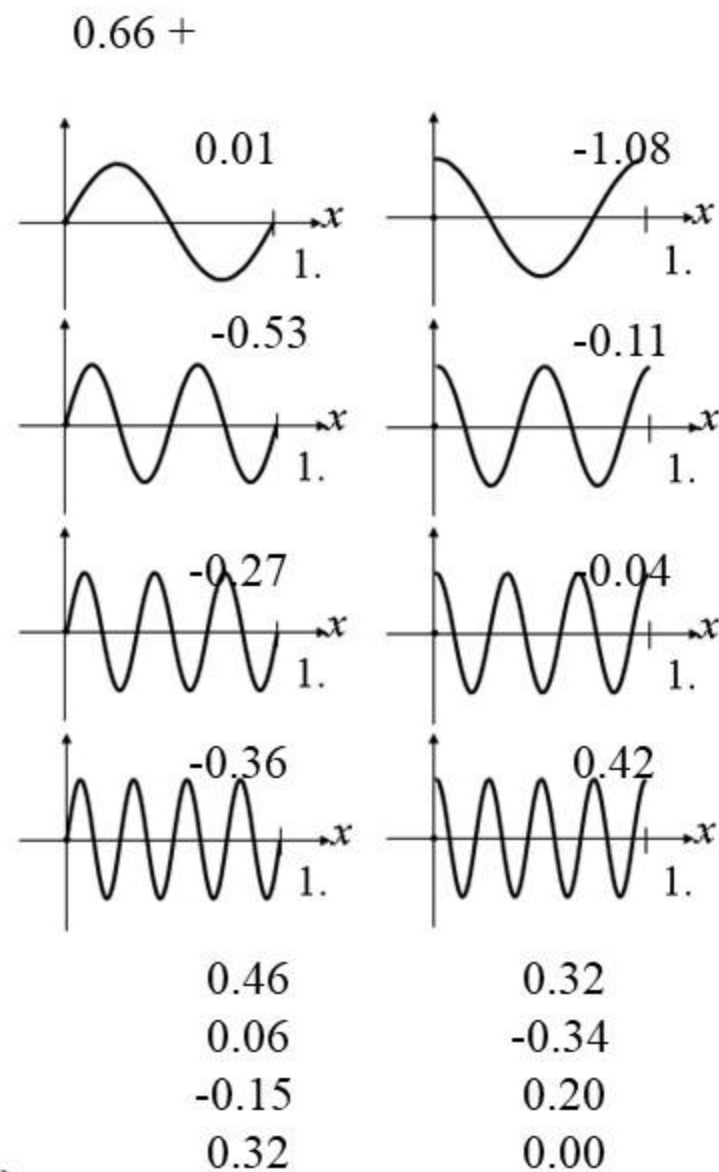
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{\max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

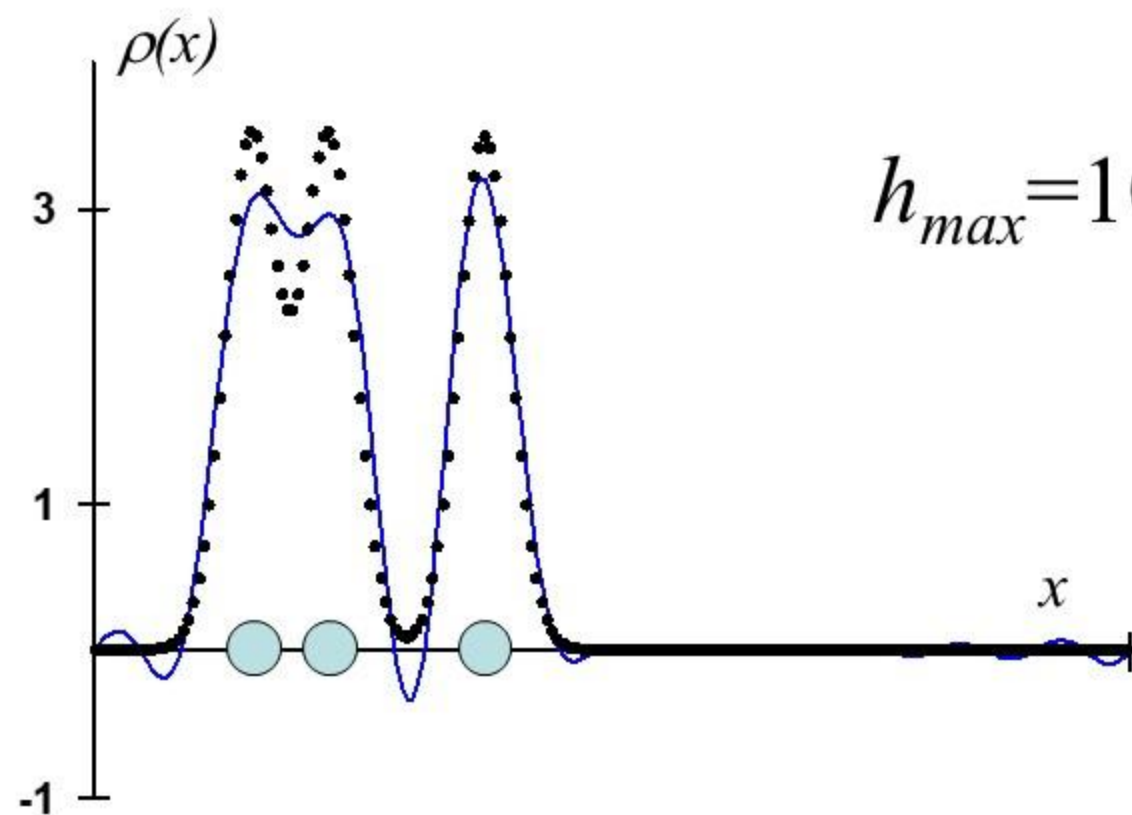


$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

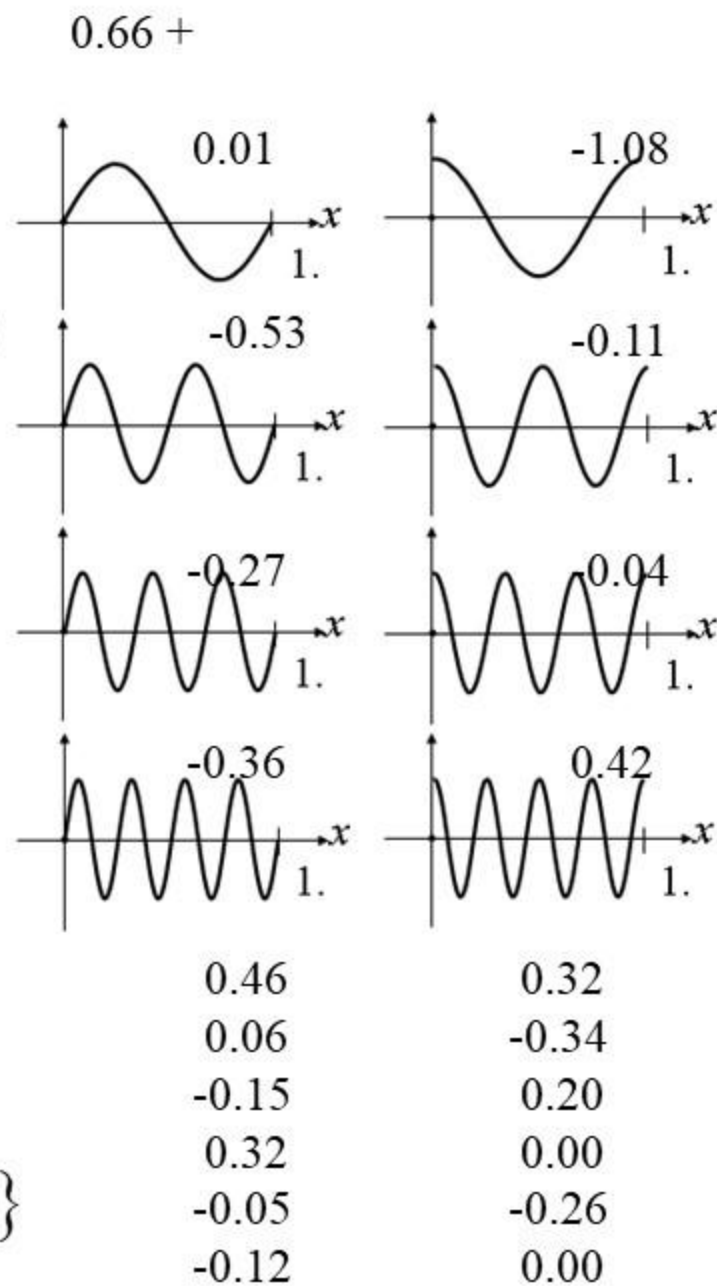


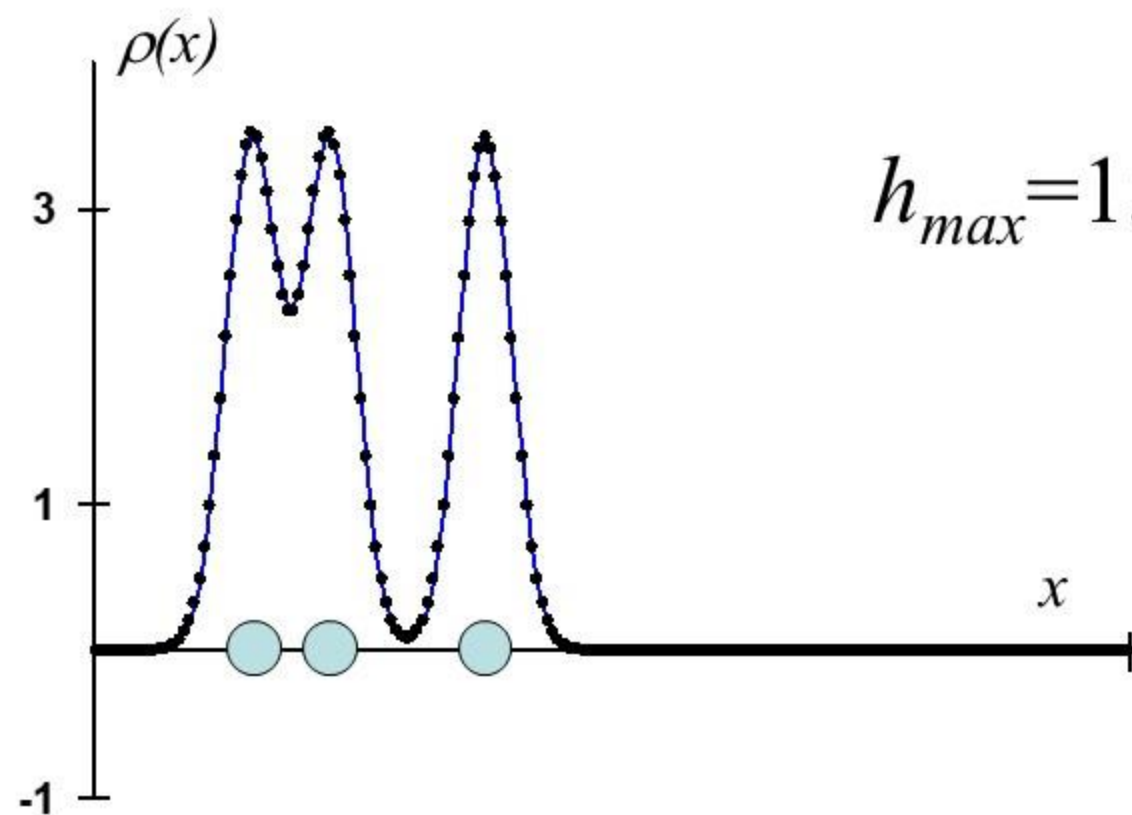
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$





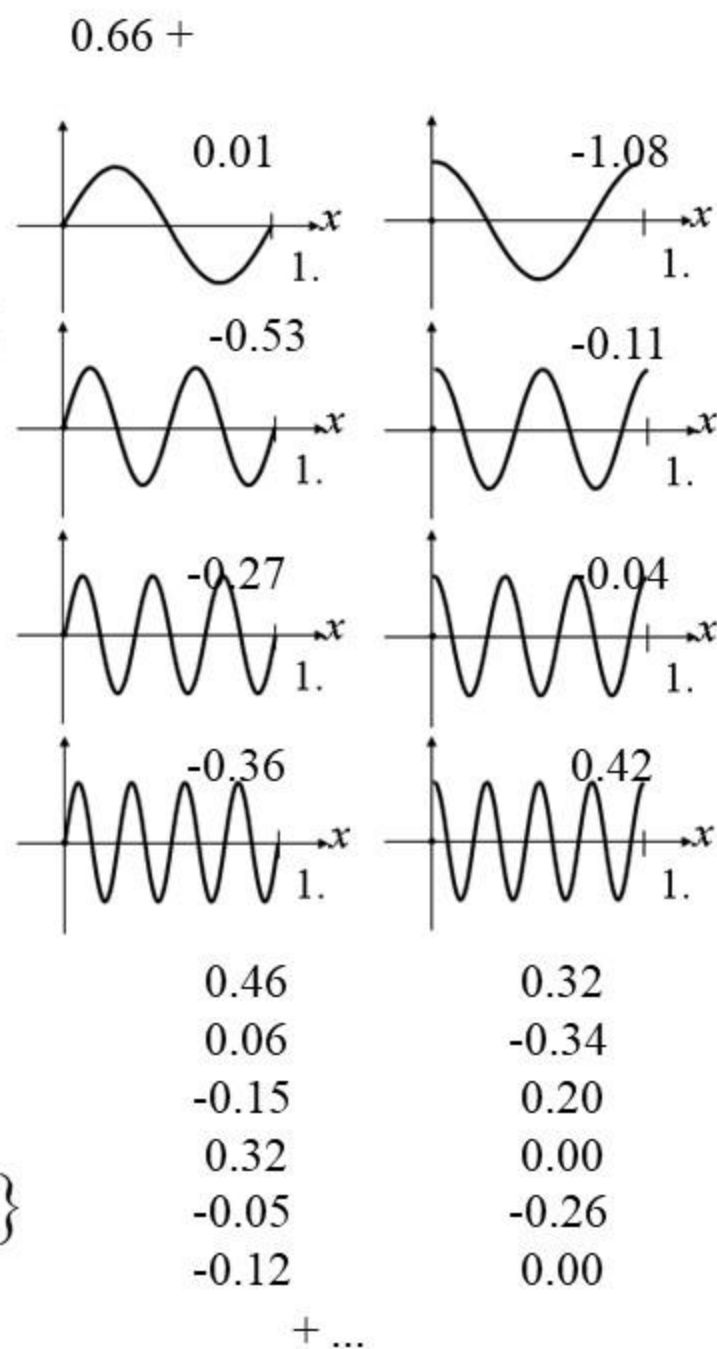
$$\rho(x) \approx A_0 + \sum_{h=1}^{h_{max}} \{A_h \cos 2\pi(hx) + B_h \sin 2\pi(hx)\}$$

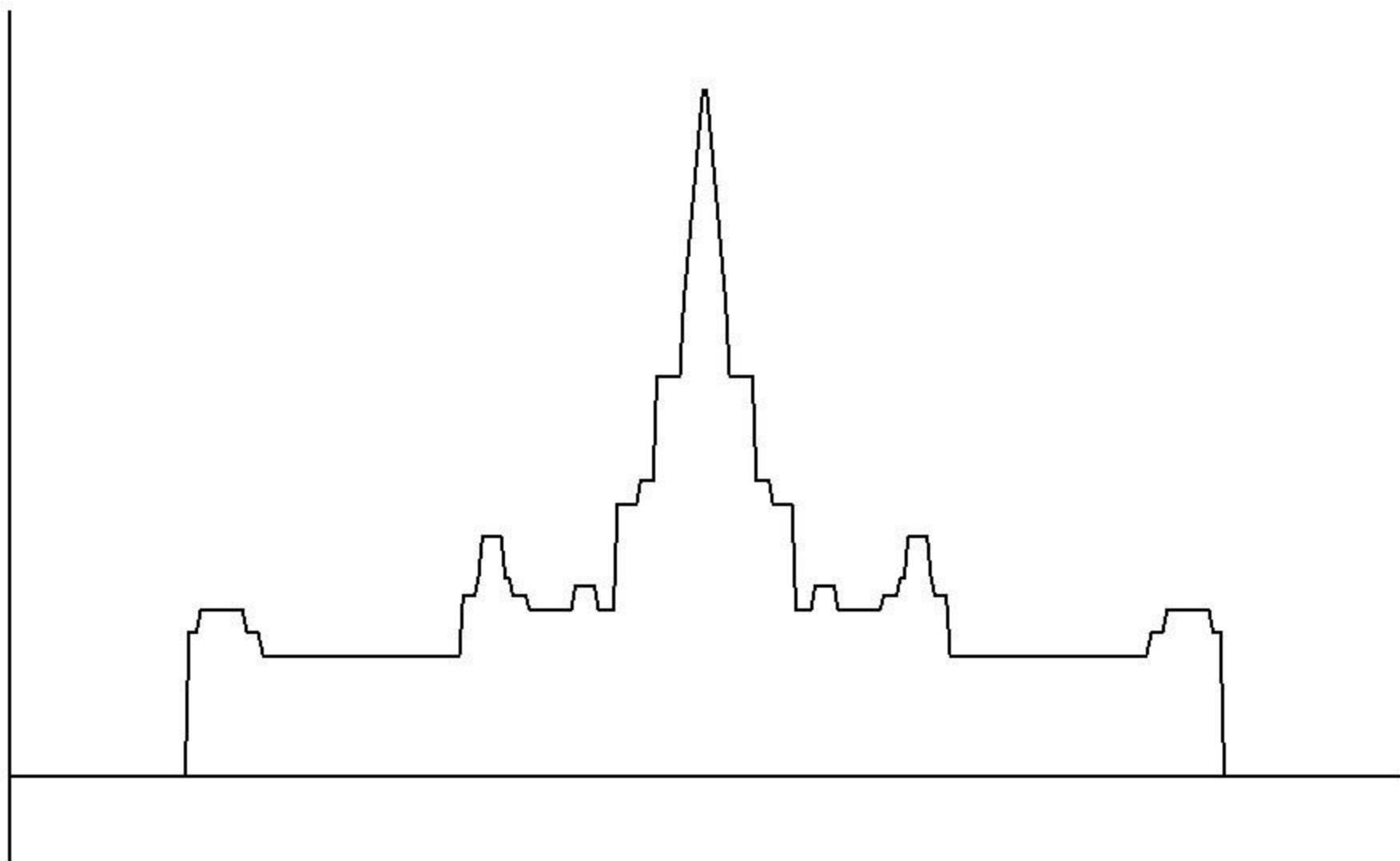




$$h_{\max}=15$$

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



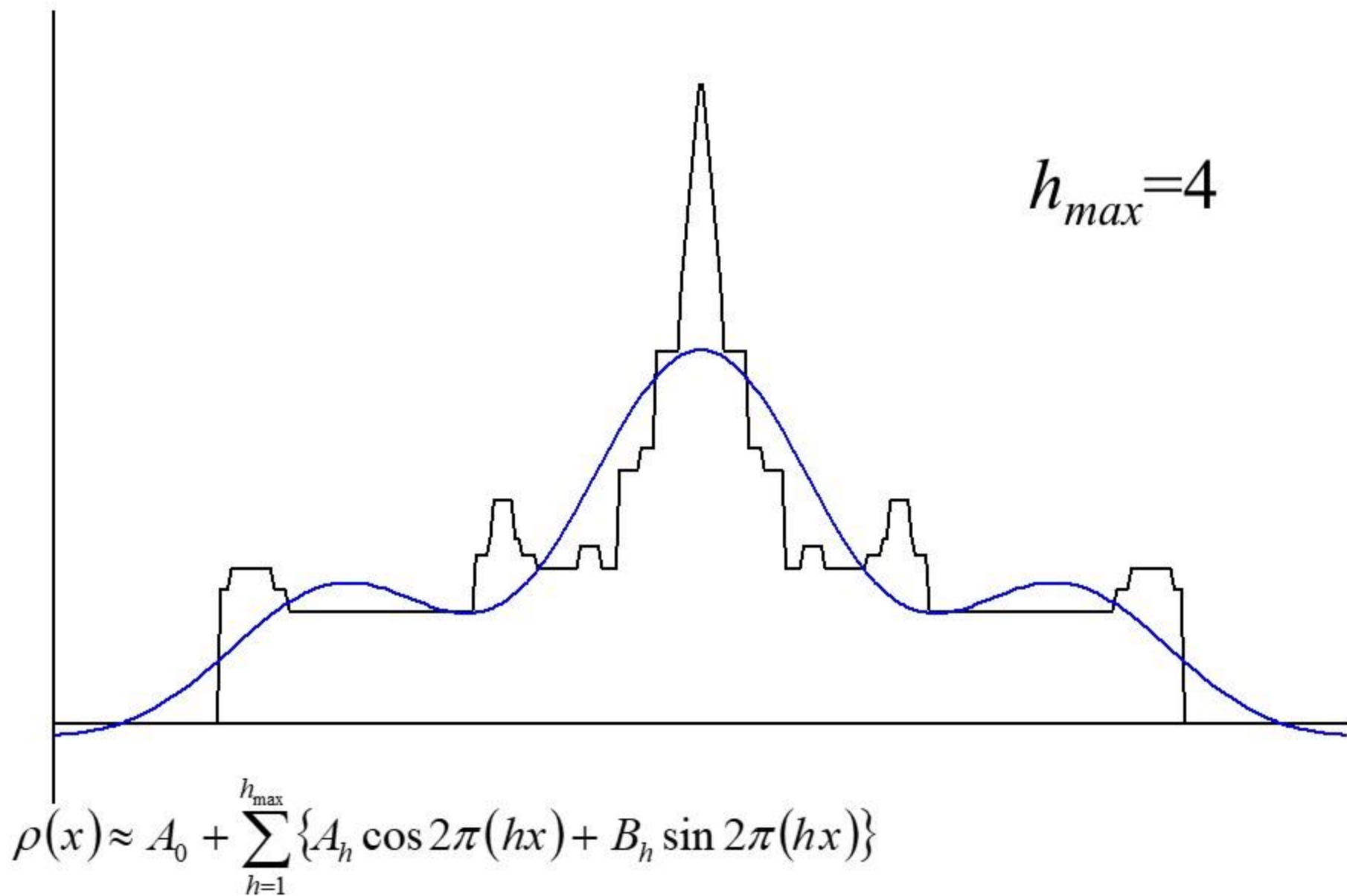


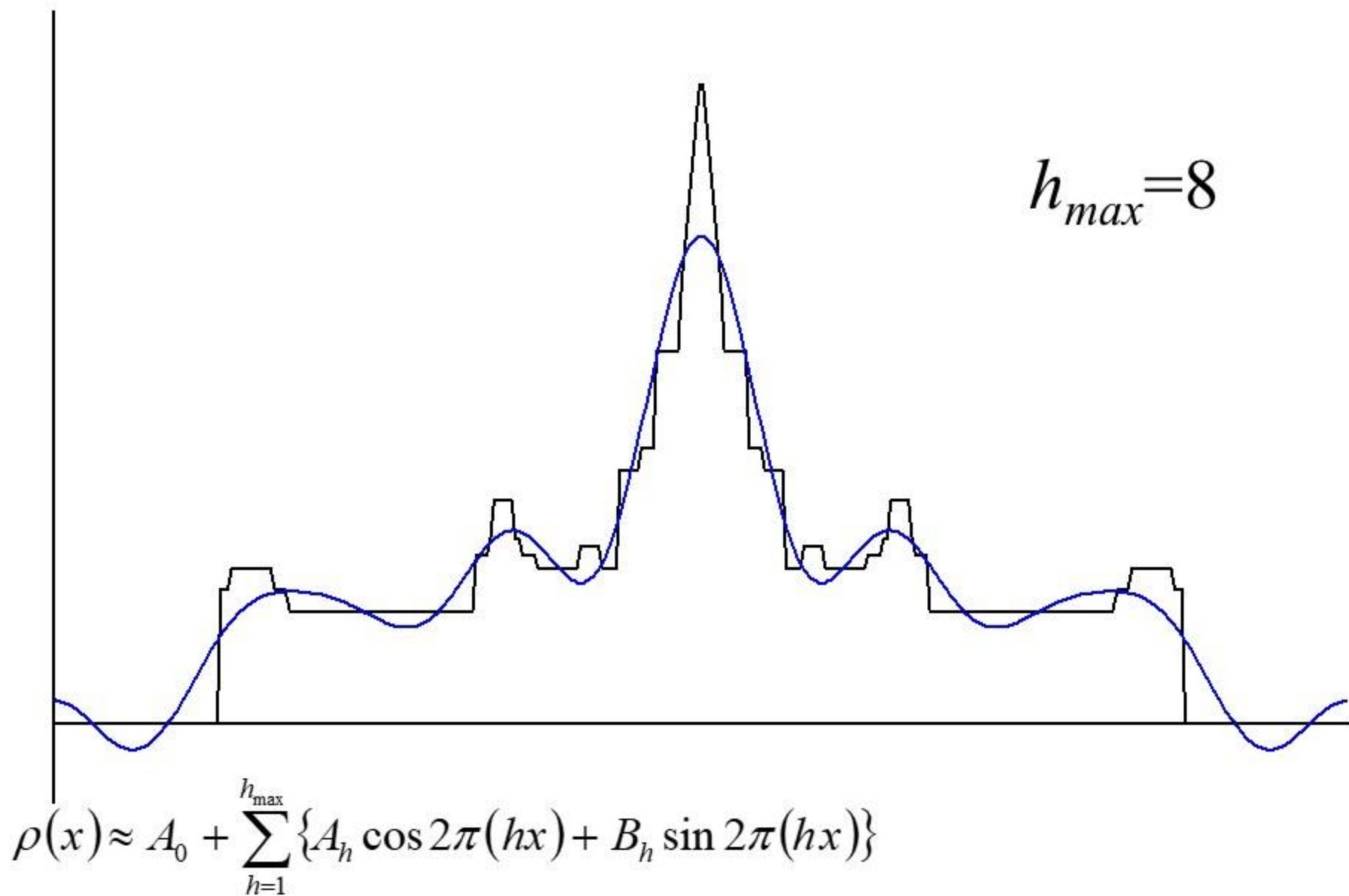
$$h_{max}=0$$

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

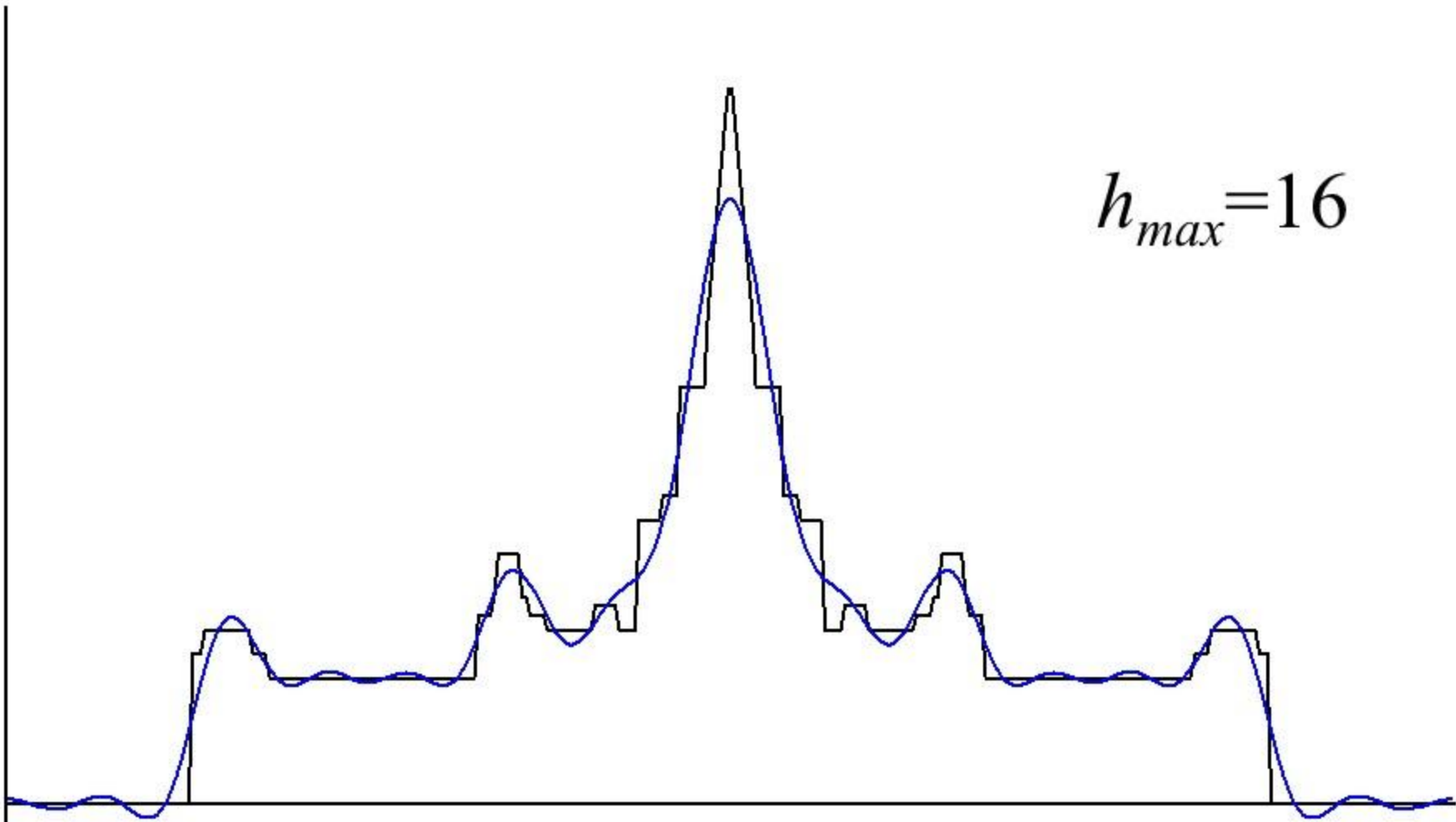
$$h_{max}=1$$

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



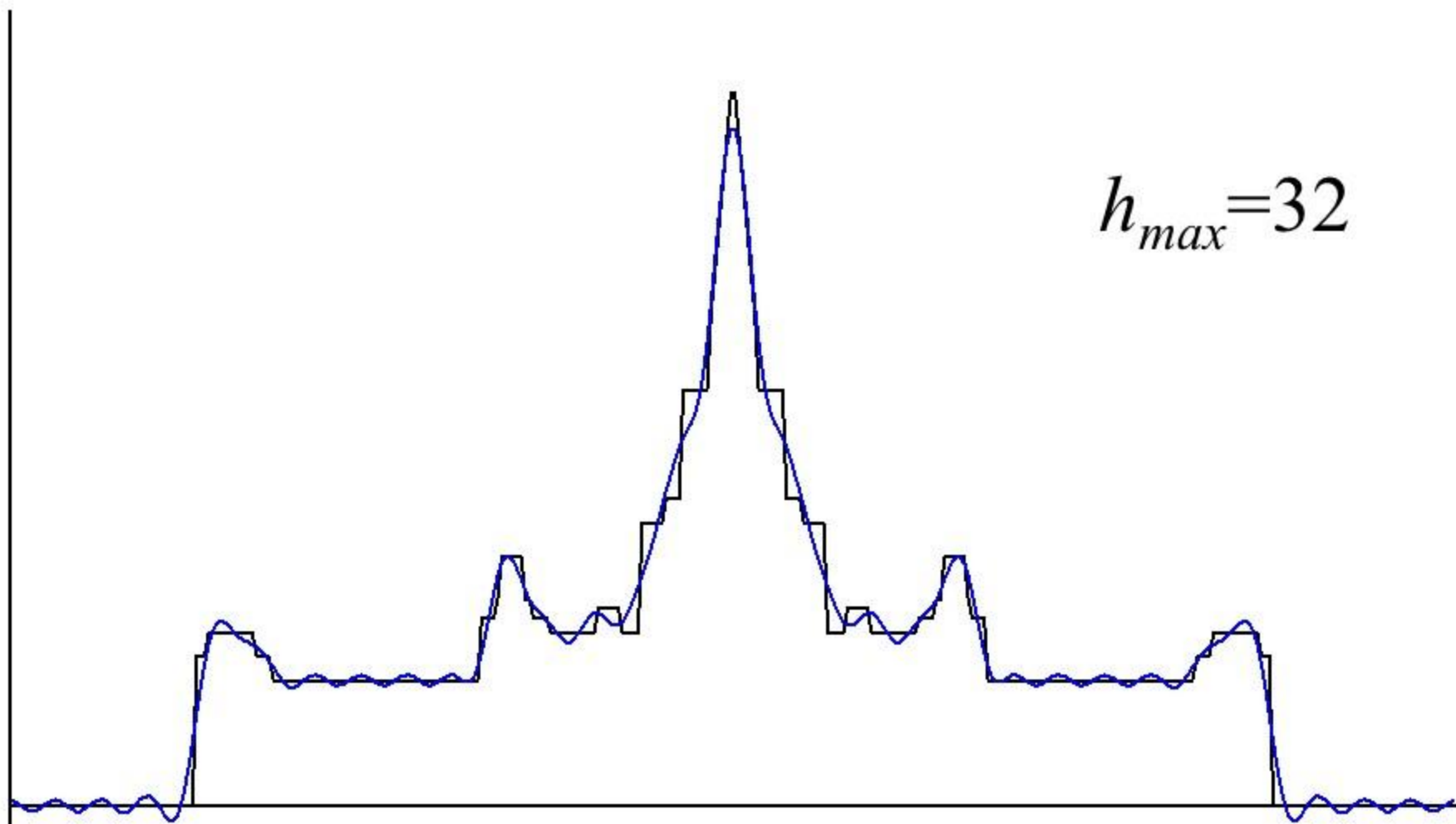


$$h_{max}=16$$


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

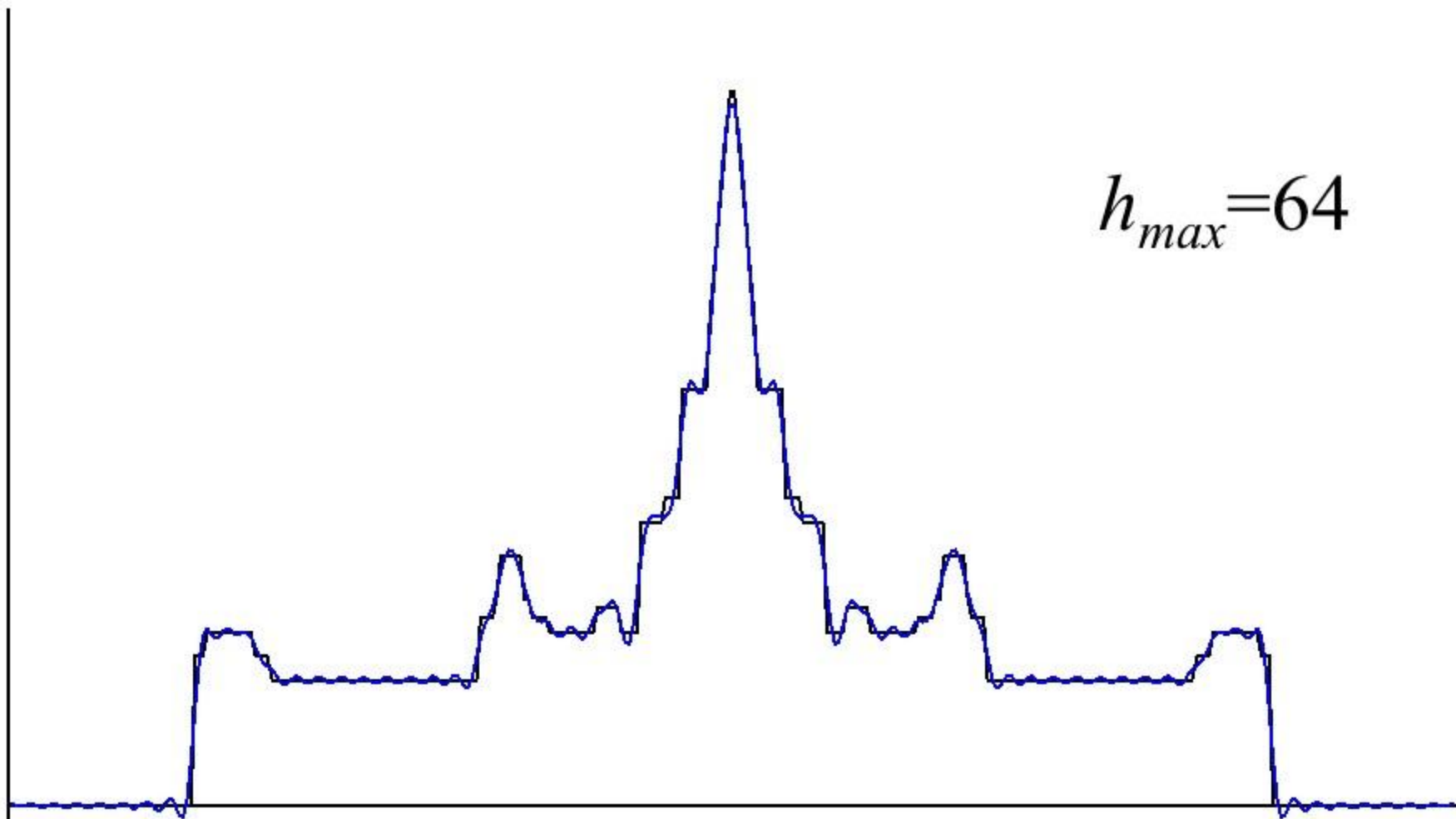
$$h_{max}=32$$

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



$$h_{max}=64$$

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



Вычисление коэффициентов ряда Фурье

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

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

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 !

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.

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

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

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

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

Интенсивность рассеянного луча пропорциональна квадрату коэффициента ряда Фурье

для разложения в ряд Фурье электронной плотности в **относительных** координатах

$$I(\mathbf{s}) \sim F_{hkl}^2$$

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

Ряд Фурье:

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

x, y, z — относительные координаты:

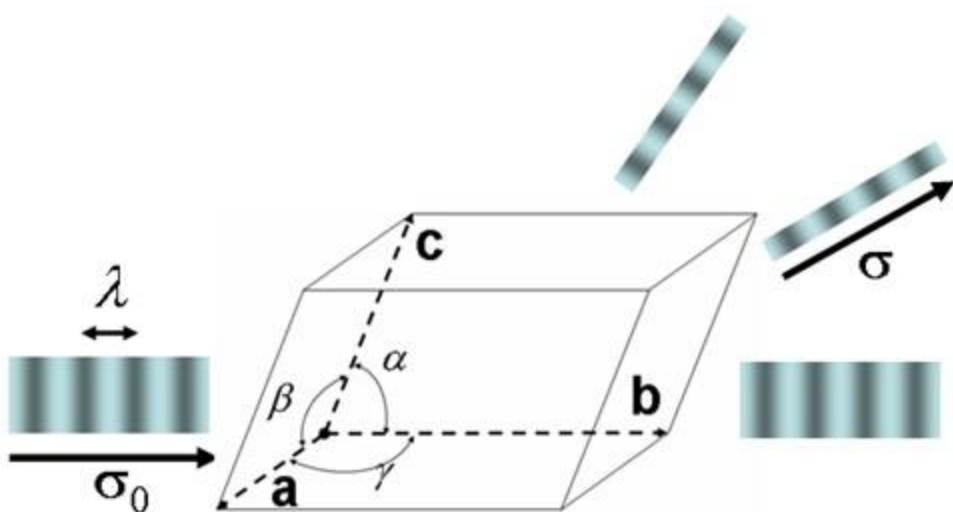
$$\mathbf{r} = x\mathbf{a} + y\mathbf{b} + z\mathbf{c}$$

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

Обратите внимание на диапазоны суммирования для ряда и для синтеза!

S — это множество рефлексов, для которых удалось:

(а) измерить F , (б) получить φ



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

h, k, l - целые

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

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

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

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

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

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

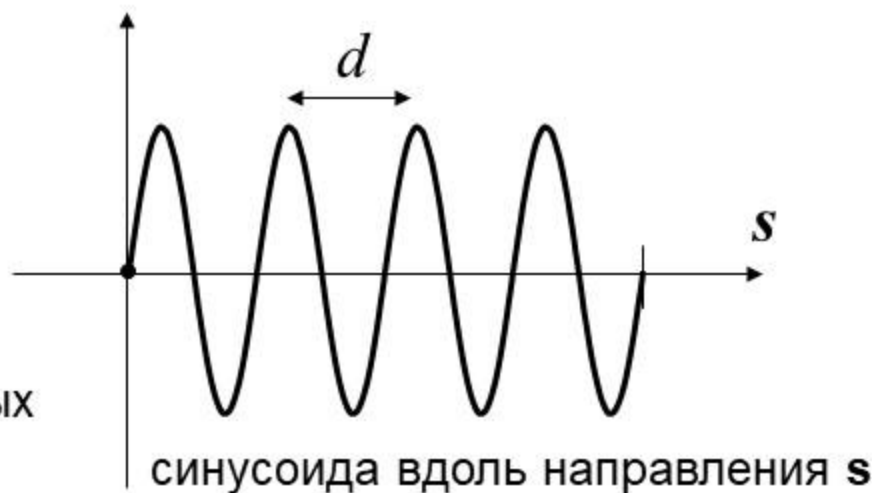
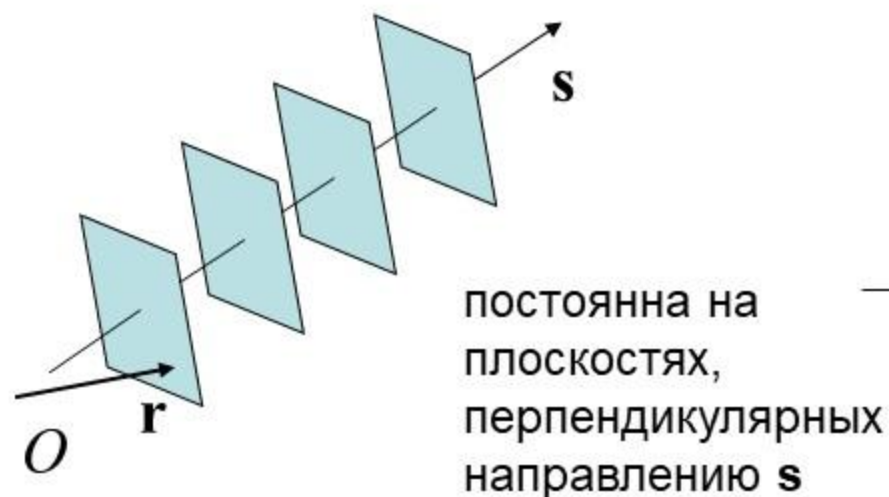
$$B_{hkl} = \int_V \rho(x, y, z) \sin[2\pi(hx + ky + lz)] dx dy dz$$

Гармоника Фурье

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

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

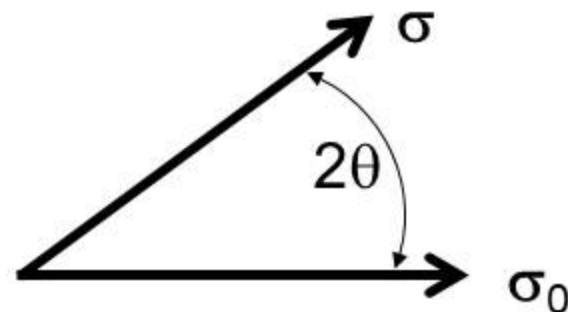
$$h = (\mathbf{s}, \mathbf{a}), k = (\mathbf{s}, \mathbf{b}), l = (\mathbf{s}, \mathbf{c})$$



Разрешение, соответствующее гармонике Фурье

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

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



- Т.Бландел, Л.Джонсон. Кристаллография белка. "Мир", Москва, 1979
- М.А.Порай-Кошиц. Основы структурного анализа химических соединений. Москва, "Высшая школа", 1989
- Ч.Кантор, П.Шиммел. Биофизическая химия, том 2. Москва, "Мир", 1984
- International Tables for Crystallography, vol. F. Crystallography of biological macromolecules. Second Edition. Wiley, 2012
- И.Сердюк, Н.Закаи, Дж.Закаи. Методы в молекулярной биофизике. т.2. М.КДУ, 2010
- Urzhumtsev A.G., Lunin V.Y. (2019). Introduction to crystallographic refinement of macromolecular atomic models. *Crystallography Reviews*. 25:3, 164-262.