Исследование структуры наносистем методом малоуглового рентгеновского и нейтронного рассеяния

В.В. Волков

Институт кристаллографии имени А.В. Шубникова Российской академии наук

vvo@ns.crys.ras.ru

volkicras@mail.ru

Основная литература:

- 1. Д. И. Свергун, Л. А. Фейгин. "Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние". Москва, "Наука", 1986, 279с.
- 2. А. Н. Бекренев, Л. И. Миркин. «Малоугловая рентгенография деформации и разрушения материалов». Москва: МГУ, 1991. 247с.
- 3. O. Glatter, O. Kratky. "Small-Angle X-ray Scattering". Academic Press Inc. (London) Ltd, 1982, 515p.
- 4. A. Guinier and G. Fournet. "Small-Angle Scattering of X_Rays". John Wiley & Sons, Inc. (New York), 1955, 268p.
- 5. Б. К. Вайнштейн. Дифракция рентгеновских лучей на цепных молекулах. Москва, Издательство АН СССР, 1963г., 372с.



- Малоугловое рассеяние когерентное диффузное рассеяние монохроматических рентгеновских лучей и нейтронов вблизи первичного луча на апериодических флуктуациях электронной плотности в материалах (напр., при наличии микропор в твердом теле).
- Картина малоуглового рассеяния, как и дифракционная картина, является • результатом интерференции лучей, когерентно рассеянных на образце. При типичных длинах волн излучения в диапазоне от 0,05 до 0,5 нм малоугловое рассеяние позволяет исследовать структуры размерами от единиц до нескольких сотен нанометров. Интерференционная картина рассеяния формируется сложением множества вторичных когерентно рассеянных волн, которые отличаются друг от друга по фазе. Фазовые отличия и амплитуды слагаемых зависят от пространственного распределения электронной плотности, то есть от структуры объекта, и определяют форму экспериментальной кривой рассеяния I(s), анализ которой позволяет определить электронный радиус инерции и максимальный размер наночастиц в монодисперсных системах и их распределение по размерам в полидисперсных образцах.

<mark>Мәтот измерени</mark>й

Метод определения структурных параметров частиц в монодисперсных системах и распределения по размерам частиц (неоднородностей) в полидисперсных системах основан на математической обработке результатов измерений угловой зависимости интенсивности рассеянного образцом рентгеновского излучения при прохождении такого излучения сквозь образец.

Схема малоуглового эксперимента по упругому рассеянию



Схема синхротронной станции в КИСИ



Амплитуда ЭМ волны в точке г

$$A = A_0 e^{-i\varphi} = A_0 e^{-i(\boldsymbol{k}_0 \boldsymbol{r} + \alpha_0)}$$

- амплитуда источника;

 A_{θ}

r

 k_0

φ

e^{i \varphi}

 α_0

- вектор текущей координаты;
 - волновой вектор, перпендикулярный плоскости фронта волны, задающий направление распространения и длину волны;
 - фаза, или фазовый сдвиг, равный в текущей точке $k_0 r + \alpha_0$;
 - осциллирующая функция (по формуле Эйлера: $e^{i\varphi} = \cos \varphi + i \sin \varphi$);
- начальный фазовый сдвиг фронта, будем считать его равным 0.

В дальнейшем мы будем рассматривать кинематическое, или первое Борновское, приближение к рассеянию, т.е. не будем учитывать повторное рассеяние уже рассеянных волн.

Интерференционная картина формируется сложением множества вторичных рассеянных волн (принцип суперпозиции), которые имеют одинаковую амплитуду, длину волны и отличаются по фазе. Фазовые отличия зависят от пространственного распределения электронной плотности, т.е. от структуры объекта.



<mark>П</mark>олнпии супернозипии

Амплитуду рассеяния образцом можно представить в виде суммы всех вторичных волн, рассеянных всеми структурными единицами объекта. Если $f_i(s)$ – амплитуда рассеяния *i*-го центра (атома, молекулы, ...), то:

$$A_{s}(s) = \sum_{i=1}^{N} f_{i}(s) \cdot e^{isr_{i}}$$
 N – число
центров (атомов)

Например, атомная амплитуда рассеяния выражается функцией (в силу близости симметрии электронной плотности атома к сферической, *s* и *r* здесь скалярные величины, как мы это увидим дальше):



Кривые атомных амплитуд расселния рентеновских лучед f_р для некоторых элементов (по данным Doyle, Turner, 1968)



Кривые атомных амплитуд рассенния электронов f_Эдля некоторых элементов (по данцым Doyle, Turner, 1968) Номер кривой_соответствует померу элемента

$$f(s) = 4\pi \int_{0}^{\infty} r^{2} \rho_{a}(r) \frac{\sin sr}{sr} dr$$

Здесь $\rho_a(\mathbf{r})$ – радиальная функция электронной плотности атома.

Так как число электронов (атомов) в образце велико, а расстояния между ними достаточно малы по сравнению с длиной волны, то обычно работают с непрерывной функцией рассеивающей электронной плотности, $\rho(\mathbf{r})$. Это распределение концентрации электронов в пространстве. $\rho(\mathbf{r})dV$, где dV - элемент объема, дает число электронов в этом элементе, расположенном в точке пространства, заданной координатами \mathbf{r} . Такое описание соответствует и квантовомеханическому подходу – средняя по времени электронная плотность определяется квадратом волновой функции системы: $\rho(\mathbf{r}) = |\Psi(\mathbf{r})|^2$. Для малых углов функцию рассеяния одним электроном $f_i(\mathbf{s})$ можно положить равной константе, и вынести за знак суммирования. Тогда суммирование заменяется интегрированием по всему облученному объему, с точностью до этой константы:

$$A(\mathbf{s}) = \iiint_{V} dV_{\mathbf{r}} \cdot \rho(\mathbf{r}) \cdot e^{i\mathbf{s}\mathbf{r}} = \int \rho(\mathbf{r}) \cdot e^{i\mathbf{s}\mathbf{r}} \cdot d\mathbf{r}$$

Эта наиболее общая формула есть преобразование Фурье от функции плотности (структуры), т.е. разложение функции амплитуды A(s) в непрерывный спектр гармонических составляющих, с коэффициентами $\rho(r)$:

$$\rho(\mathbf{r}) = \int A(\mathbf{s}) \cdot e^{-i\mathbf{s}\mathbf{r}} \cdot d\mathbf{s}$$



На практике измеряют не амплитуду, а интенсивность рассеяния, которая пропорциональна потоку энергии, потоку квантов через единицу площади. Энергия пропорциональна квадрату скорости (поля). То есть, она пропорциональна квадрату амплитуды, котороая есть комплексная величина:

$$I(\mathbf{s}) = A(\mathbf{s}) \cdot A^*(\mathbf{s}) = \iint d\mathbf{r}_1 \cdot d\mathbf{r}_2 \cdot \rho(\mathbf{r}_1) \cdot \rho(\mathbf{r}_2) \cdot e^{i\mathbf{s}(\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2)}$$

Интеграл зависит от относительных расстояний между двумя центрами, $(r_1 - r_2)$. Двойное интегрирование принято выполнять в два этапа: сначала - суммировать все пары с одинаковыми относительными расстояниями, $|\mathbf{r}| = |\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|$ = const, а потом - суммировать по относительным расстояниям, включая и фазовый множитель.

<u>Первый этап</u> расчета модельной интенсивности есть вычисление так называемой автокорреляционной функции:

$$P(\mathbf{r}) = \int d\mathbf{r}_1 \cdot \rho(\mathbf{r}_1) \cdot \rho(\mathbf{r}_2) = \int d\mathbf{r}_1 \cdot \rho(\mathbf{r}_1) \cdot \rho(\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}) \Big|_{|\mathbf{r}| = |\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2| = const}$$

Эта функция, известная как функция Паттерсона, центросимметрична, т.к. каждая пара точек учитывается дважды, для расстояний **r** и -**r**. **P**(**r**) трактуется как функция распределения количества электронных пар в зависимости от расстояния внутри пары.

Смысл функции Паттерсона $P(\mathbf{r}) = \int d\mathbf{r}_1 \cdot \rho(\mathbf{r}_1) \cdot \rho(\mathbf{r}_1 - \mathbf{r})$

где $r = r_1 - r_2$ величина сдвига, есть запись свертки функции структуры с самой собой (самосвертки):









Диаграммы, показывающие распределение электронной плотности ρ(r) и соответствующей функции Паттерсона P(r). а — для двух атомов, находящихся в положениях, определяемых векторами г, и г_в; б — для трек атомов и в — для четырех атомов, образующих параллелограмм.

Связь между прямым и обратным пространствами גוען אאפרסרססקח

Второй шаг расчета интенсивности есть суммирование по пространству Паттерсона, т.е. по пространству электронных пар (по всем длинам и всем ориентациям пар источников вторичного, рассеянного излучения):

$$I(\boldsymbol{s}) = \int P(\boldsymbol{r}) \cdot e^{i\boldsymbol{s}\boldsymbol{r}} \cdot d\boldsymbol{r}$$

что тоже есть Фурье-преобразование. Оно теперь связывает интенсивность рассеяния *I*(*s*) (экспериментально измеряемую величину) и автокорреляционную функцию, которая, к сожалению, только косвенно связана со структурой объекта, но может быть непосредственно вычислена по экспериментальным данным с помощью обратного Фурье-преобразования:

$$P(\mathbf{r}) = \int I(\mathbf{s}) \cdot e^{-i\mathbf{s}\mathbf{r}} \cdot d\mathbf{s}$$

Малоугловое рассеяние: усреднение по всем ориентациям в пространствах

Пусть $d\Omega$ - элемент телесного угла в обратном пространстве. Так как ориентацию структуры при усреднении по Ω мы считаем **фиксированной** ($d\omega = const$), то можно отделить часть, не зависящую от угла в обратном пространстве:

$$\langle I(\mathbf{s}) \rangle_{\Omega} = \frac{1}{4\pi} \cdot \int_{r=0}^{\infty} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot r^2 dr \cdot d\omega \int_{\Omega=0}^{4\pi} e^{i\mathbf{s}\mathbf{r}} d\Omega =$$

$$= \int_{r=0}^{\infty} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot r^2 dr \cdot d\omega \cdot \left[\frac{1}{4\pi} \cdot \int_{\Omega=0}^{4\pi} e^{i\mathbf{s}\mathbf{r}} d\Omega \right] = \int_{r=0}^{\infty} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot r^2 dr \cdot d\omega \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} =$$

выделим часть, не зависящую от телесного угла в прямом пространстве:

$$=\int_{r=0}^{\infty} r^2 dr \cdot \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot d\omega \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} = 4\pi \cdot \int_{r=0}^{\infty} r^2 dr \cdot \left\{\frac{1}{4\pi} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot d\omega\right\} \cdot \frac{\sin(sr)}{sr}$$

Выражение в фигурных скобках есть не что иное, как формула <u>усреднения функции</u> <u>Паттерсона</u> по ориентациям в прямом пространстве. Это замечательный результат: мы получили, что усреднение интенсивности в обратном пространстве связано с усреднением в прямом пространстве. Усредненная функция Паттерсона называется <u>корреляционной</u> <u>функцией</u>: <u>4</u> π

$$\gamma(\mathbf{r}) = \left\langle P(\mathbf{r}) \right\rangle_{\omega} = \frac{1}{4\pi} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(\mathbf{r}) \cdot d\omega$$

Рассеяние от неупорядоченных систем - усреднение

Порошки, аморфные среды, растворы частиц, растворы биополимеров,... Особенности таких систем: отсутствует дальний порядок; хаотическая ориентация рассеивающих флуктуаций. Следовательно, интенсивность рассеяния должна быть усреднена П0 ориентациям рассеивающих мотивов.

Формула усреднения фазового множителя (Дебай, 1927 г.):

$$\langle e^{isr} \rangle = \frac{1}{4\pi} \int_{0}^{2\pi} d\varphi \int_{0}^{\pi} e^{isr} \sin \theta \cdot d\theta =$$

$$= \frac{1}{4\pi} \cdot 2\pi \cdot \int_{0}^{\pi} e^{i(sr\cos\theta)} \sin \theta \cdot d\theta =$$

$$= \frac{1}{2} \cdot \int_{0}^{\pi} [\cos(sr\cos\theta) + i\sin(sr\cos\theta)] \cdot \sin \theta \cdot d\theta =$$

$$= \frac{1}{2} \cdot \int_{0}^{\pi} [\cos(sr\cos\theta) + i\sin(sr\cos\theta)] \cdot [-d(\cos\theta)] =$$

$$= \frac{1}{2} \cdot \int_{0}^{1} [\cos(sr\cdot u) + i\sin(sr\cdot u)] \cdot [-du] =$$

$$= \frac{1}{2} \cdot \int_{-1}^{1} \frac{1}{sr} \cdot [\cos(sr\cdot u) + i\sin(sr\cdot u)] \cdot d(sr\cdot u) =$$

$$= \frac{1}{2} \cdot \frac{1}{sr} \cdot [\sin(sr\cdot u) - i\cos(sr\cdot u)] \quad \Big|_{-1}^{1} =$$

$$= \frac{1}{2sr} \cdot [\sin(sr) - \sin(-sr) - i\cos(sr) + i\cos(-sr)] =$$

$$= \frac{1}{2sr} \cdot 2\sin(sr) = \frac{\sin(sr)}{sr}$$

Связь между прямым и обратным пространствами для одного неориентированного объекта

По определению Порода (1948) и Вилсона (1949), $\gamma(r)$ - это функция распределения усредненного по ориентациям сдвинутого объема в зависимости от величины сдвига. Это определение вытекает из определения функции Паттерсона, как самосвертки функции рассеивающей плотности.

$$I(s) = \langle I(s) \rangle_{\Omega} = 4\pi \int_{r=0}^{\infty} r^2 \gamma(r) \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} dr$$

$$\gamma(r) = \left\langle P(r) \right\rangle_{\omega} = \frac{1}{2\pi^2} \int_{s=0}^{\infty} s^2 I(s) \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} ds$$

Здесь $l^2 \gamma(l) = p(l) - \frac{\phi}{\psi}$ можно придать вероятностные свойства, отнормировав ее.

Общий случай рассеяния от системы из N общинаковых рассеивающих объектов

$$\langle I(\mathbf{s}) \rangle = \langle N \rangle \langle f^2(\mathbf{s}) \rangle + + \langle f(\mathbf{s}) \rangle^2 \iint_V 1 \cdot \frac{\sin(sr_{ij})}{sr_{ij}} \cdot \frac{d\upsilon_i}{\upsilon} \frac{d\upsilon_j}{\upsilon} + + \langle f(\mathbf{s}) \rangle^2 \iint_V [W_{ij} - 1] \frac{\sin(sr_{ij})}{sr_{ij}} \frac{d\upsilon_i}{\upsilon} \frac{d\upsilon_j}{\upsilon}$$

Соотношение Цернике и Принса:

$$I(s) = N \cdot f^2(s) \cdot \left\{ 1 + \frac{1}{\upsilon} \int_0^\infty 4\pi r^2 \left[W(r) - 1 \right] \frac{\sin(sr)}{sr} \cdot dr \right\}$$

W(r) – радиальная статистическая функция размещения объектов в пространстве

Малоугловое рассеяние

Монодисперсные системы: растворы белков

определение формы молекул и их внутренней структуры с учетом аминокислотной последовательности по данным рассеяния до разрешения 5-10 А.

Коррекция кристаллических структур высокого разрешения для раствора

Определение неизвестных фрагментов структуры

Позиционирование доменов и фрагментов с известной структурой Полидисперсные системы: смеси белков, наноэмульсии, наночастицы

Определение структуры компонентов (формфакторов, структурных факторов), параметров полидисперсности и относительных вкладов компонентов Произвольные конденсированные системы: нанокомпозиты, гели, аэрозоли, полимеры, сплавы, мезопористые материалы и т.п.

Прямое моделирование внутренней структуры неупорядоченных или частично упорядоченных многофазных систем с помощью малых объемных элементов (молекулярно-массовое распределение, доменная структура, фазовый состав, межфазные границы), параметры фрактальности и т.д.

Рассеяние от систем с различной структурной организацией



Функциональные связи между прямым и обратным пространствами



Косвенное преобразование $p_1 h(t_1)$ + $p_2 h(t_2)$ $H(\omega) = \int_{0}^{\infty} h(t) e^{i\omega t} dt$ + $p_3 h(t_3)$ h(t) есть набор базисных функций $e^{i\omega_j t_k}$, взвешенная сумма которых по всем значениям t воспроизводит исходную функцию $H(\omega)$. Следовательно, мы можем найти веса p_k (коэффициенты разложения, или коэффициенты Фурье, если базис ортогональный) путем решения системы

линейных уравнений:

$$\sum_{k=-\infty}^{\infty} h(t_k) e^{i\omega_j t_k} = H(\omega_j)$$

В качестве базисных функций мы можем взять усредненные фазовые множители $S_{ij} = \frac{\sin(q_i r_j)}{q_i r_j}$ (преобразование Ханкеля) или даже неортогональный (но линейно независимый) набор известных формфакторов.

Косвенное преобразование

 $S_{ij} = rac{\sin(q_i r_j)}{q_i r_j}$ $\begin{array}{l} qi - i$ -ое значение угла рассеяния в единицах модуля вектора рассеяния, нм-1; $r_j - j$ -ое значение расстояния, нм; M - 4число угловых отсчетов измерений интенсивности рентгеновского излучения.

Составляют *K* ≥ 30 вспомогательных диагональных матриц (*k* = 1,2,3,..., *K*) размером *N* × *N* (далее – матрицы регуляризации) так, чтобы все диагональные элементы матрицы регуляризации равнялись одному и тому же малому положительному числу αk (далее – параметр регуляризации), вычисляемому по формуле

α_k = 10^{k-16} где *k* – порядковый номер матрицы регуляризации.

Вычисляют значения функций распределения

$$p_j^{(k)} = p^{(k)}(r_j)$$

(j = 1, 2, 3, ..., N, k = 1, 2, 3, ..., K), составляющих вектор $\vec{p}^{(k)}$, по формуле

 $\vec{p}^{(k)} = \left[S^T S + A^{(k)} \right]^{-1} S^T \vec{I}$, где S – матрица системы линейных уравнений (матрица ядра преобразования),

А – диагональная матрица, составленная из величин α.

Косвенное преобразование Ханкеля: программа GNOM



Косвенное преобразование по базису формфакторов: программа GNOM



Пакет обработки данных МУР: *PRIMUS*

🔢 primus _ 8 × File Tools BinAsc Gnom Peak Help - 🗆 × GNOM Parameters × 🚜 Graphics Window 🖪 Help Window Subtracted data Input1 Subtr06.dat PLOT Select nBeq log I Program PRIMUS perfoms tl data files such as: aver: Input2 none nEnd Select (1) d27000.dat and curve fitting and eva (2) d28000.dat such as radius of gyratic Output gnom.out iUnits. (3) Subtr06.dat zero intensity and molecy 4.0 Rmax 0.0 Rmin 0.0 The program PRIMUS allow: Job. which is convinient for P(Rmin)=0 P(Rmax)=0 The program is written by Display Search Compute Errors Version 1.0 20.01.02 Run Cancel 2.0 Reset Dialog x nBeg Sync nEnd Active. Flle Name Rande Units Conc Multiplier d27000.dat 1.000 1.000 # Select d28000.dat 1.000 1.000 #2 Select 0.0 1.000 1.000 d29000.dat Select #3 d30000.dat 1.000 1.000 #4 Select d31000.dat 1.000 1.000 #5 Select d32000.dat 1.000 1.000 #6 Select -2.01.0 2.0 3.0 S d33000.dat 1.000 1.000 701 #7 Select 1.000 d34000.dat 1.000 701 #8 Select E:\PROTEINS\Conti_01\Conti.c01 20-Feb-2002 14:09:29 1.000 d35000.dat 701 1.000 #9 Command Window Select Working directory: E:\PROTEINS\Conti 01\Conti.c01\ d36000.dat 1.000 1.000 #10 Select File to be opened: d20000.dat Plot: view experimental data Plot: view experimental data Divide Plot Subtract Adjust Guinier Flat Clear Subtract: manipulation with data Averagé ZerConw Subcst Divest Adjmul Porod Rod Finish Sasplot Merge ZerConc Subtr06.dat 701 ÷ 1.000 1.000 OUT Select ,

Полидисперсные смеси наночастиц

Сложные смеси: разные формфакторы частиц, полидисперсность, межчастичная интерференция





Моделирование полидисперсных систем частиц: трехкомпонентная смесь агломератов молекул ПАВ (АОТ) и двух типов обращенных мицелл воды в масле

$$I(s) = const \sum_{k=1}^{n} \varphi_k I_{k0}(s, R_{0k}, \Delta R_k) S_k(s, R_k^{sh}, \eta_k, \tau_k)$$

V

Суммарная интенсивность k-ой системы, Структурный фактор (учет межчастичной интерференции) для k-ой системы R – средний размер, ΔR - дисперсия lg I, relative суммарная интенсивность 6 малоуглового рассеяния, K = 35 цилиндрические мицеллы 4 Агломераты АОТ • 3 Сферические мицеллы 0.5 1.0 1.5 0.0 s, nm-1





ности в системах, полученных в результате <u>минимизаци</u> <u>внутренней энергии</u> R₀ – среднее значение размера частицы (матожидание) ΔR – дисперсия распределения $\Gamma(z)$ – Гамма-функция

распределение по размерам (по длинам хорд) флуктуаций плотности в системах, полученных в результате <u>минимизации их</u>

Распределение Шульца:

Интерпретация данных рассеяния от водно-масляной эмульсии трехкомпонентной смесью наночастиц.

Подгонка методом нелинейных наименьших квадратов рассеяния от модели, описываемой полидисперсной смесью взаимодействующих водных мицелл двух типов и агломератов ПАВ.

Расхождения между экспериментальными и теоретическими кривыми обусловлены неучетом агломератов.



Проблема плохой обусловленности задачи



Температурные зависимости объемных долей сферических и цилиндрических водных мицелл в масле и агломератов ВАП, с=10%

Красн: сферические мицеллы зел: цилинцрические желт: ПАВ Volume fractions



Рассеяние от полиоктадецилсилоксановых

изтолос имелитаки онака и изтолат



Расчет объемных распределений по размерам D_v(R) наночастиц золота в матрице полиоктадецилсилоксана



Starodoubtsev S.G., ..., Volkov V.V., Dembo K.A., Klechkovskaya V.V., Shtykova E.V., Zanaveskina I.S. Microelectronic Engineering (2003). V.69, P.324-329
Образование металлических наночастиц золота в структурированных полимерных матрицах полиоктадецилсилоксана



формирование структурированной матрицы насыщение матрицы раствором соли

восстановление соли до металла катализаторы (Ag, Au, Pt); магнитоэластики (наночастицы магнитных

материалов)

Особенности кривых малоуглового рассеяния кля полимерных систем с наночастицами



Присутствие Брэгговских пиков → Сильное центральное рассеяние от наночастиц металлов → Взаимное расположение пиков соответствует ламеллярному характеру упаковки в полимерных системах.



• Положение бреэгговских пиков определяет основной характеристический размер образца – периодичность структуры $= 2\pi/q_{max}$.

◆ Рамер кристаллитов *L* определяется полушириной максимума интенсивности рассеяния в угол 2*θ*.

Взаимное расположение вторичных пиков определяет характер упаковки в системе. В итронтоци йоннортя электронной плотноси перпендикулярном к плоскости ламели направлении оп кривой расселния

$$\rho(r) = \sum_{l=1}^{N} s_l A(s, l) \cos(\pi s r) = \sum_{l=1}^{N} s_l [\pm \sqrt{S(l)}] \cos(\pi s r)$$

N – число Брэгговских пиков, $s_l u S(l)$ – положение и площадь l-го пика.

Решение, имеющее физический смысл (с неотрицательной плотностью), находят путем перебора всех вариантов знаков при амплитудах пиков.

Пофили плотности бислоев полиоктадецилсилоксана



Анизотропное рассеяние от частично ориентированных структурных мотивов: SANS исследование азотных дефектов в



алмазе типа ІаВ



400 ppm N

580 ppm N

SANS от деформированных алмазов







Deformation in SiC (dislocations)

Deformation in hard silicates (mechanical twinning) Deformation in mixture of hard silicates and SiC

Структурные инварианты наночастиц для монодисперсных разбавленных систем

Монодисперсные системы частиц



Малоугловое рентгеновское рассеяние от монодисперсных систем (растворов белков)





Сводка интегральных параметров наночастиц, определяемых по данным МУР от монодисперсных разбавленных систем ° сін(си)

$$I(s) = \langle I(s) \rangle_{\Omega} = 4\pi \int_{r=0}^{\infty} p(r) \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} dr$$

$$I(s) = I(0) \cdot \exp(-R_g^2 \cdot s^2 / 3)$$
 (формула Гинье),

где $I(0) \sim N \cdot (V \cdot \rho)^2 \sim N \cdot M^2$; $\mathbf{R}_g^2 = \int \rho(r) \cdot r^2 \, \mathrm{d}r \int \rho(r) \, \mathrm{d}r = \int r^4 \cdot \gamma(r) \, \mathrm{d}r / 2 \int r^2 \gamma(r) \, \mathrm{d}r$

$$V = 4 \cdot \pi \int r^2 \cdot \gamma(r) \, \mathrm{d}r = 4 \cdot \pi \int p(r) \, \mathrm{d}r$$

 $S = \lim \{4 \ V [(1 - \gamma_0(r))/r]\}$ $l_m = 2 \int \gamma_0(r) \ dr;$

D_{max}

радиус инерции

объем и плотность

интегральный радиус инерции

объем

площадь поверхности

средний размер

максимальный размер

График Гинье: определение радиуса инерции наночастиц

Для самых малых углов справедливо приближение:

$$\frac{\sin(sr)}{sr} = 1 - \frac{s^2 r^2}{3!} + \frac{s^4 r^4}{5!} - \dots$$
$$\ln[I(s)] \cong \ln[I(0)] - \frac{4\pi^2}{3} R_g^2 s$$

Линейная аппроксимация позволяет найти: I(0) (интенсивность рассеяния в нулевой угол) R_g (тангенс угла наклона)

$$R_{g}^{*} = \sqrt{\frac{\sum \frac{q_{i}^{2}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}} \sum \frac{I_{i}^{2} \ln I_{i}}{\sigma_{i}^{2}} - \sum \frac{q_{i}^{2}I_{i}^{2} \ln I_{i}}{\sigma_{i}^{2}} \sum \frac{I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}}{\sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}} \sum \frac{I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}} - \left(\sum \frac{q_{i}^{2}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}\right)^{2}}{\sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}} \sum \frac{I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}} - \left(\sum \frac{q_{i}^{2}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}\right)^{2}}{\sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}} + \frac{1}{2} \sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}}{\sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}}} + \frac{1}{2} \sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}}{\sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}} + \frac{1}{2} \sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}}{\sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}} + \frac{1}{2} \sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}}{\sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}} + \frac{1}{2} \sum \frac{q_{i}^{4}I_{i}^{2}}{\sigma_{i}^{2}}} + \frac{1}{2} \sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}{\sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}} + \frac{1}{2} \sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}{\sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}} + \frac{1}{2} \sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}{\sum \frac{q}{\sigma_{i}^{4}}}} + \frac{1}{2$$



 $q = s / 2\pi$

Однозначная задача: расчет интенсивности рассеяния

от известной структуры



$$I(s) = \left\langle I(s) \right\rangle_{\Omega} = 4\pi \int r^2 \gamma(r) \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} dr$$
$$\gamma(r) = \left\langle P(r) \right\rangle_{\omega} = \frac{1}{2\pi^2} \int s^2 I(s) \cdot \frac{\sin(sr)}{sr} ds$$

I(s) однозначно определена в обратном пространстве Фурье-преобразованием одномерной функции распределения по расстояниям *p(r)* в прямом пространстве:

$$p(r) = r^{2} \cdot \gamma(r)$$

$$\gamma(r)|_{r=|r_{1}-r_{2}|=const} = \left\langle \rho(r_{1}) \cdot \rho(r_{2}) \right\rangle_{\varpi} = \left\langle P(r) \right\rangle_{\omega} = \frac{1}{4\pi} \int_{\omega=0}^{4\pi} P(r) \cdot d\omega,$$

$$e\partial e \qquad P(r) = \int dr_{1} \cdot \rho(r_{1}) \cdot \rho(r_{1}-r)$$

р(r) (и, соответственно, l(s)) однозначно вычисляются для известных структур, что лежит в основе методов определения формы молекул по данным рассеяния Го функции распределения по расстояниям *р(r)* можно также устойчиво найти инварианты:

Электронный радиус инерции, максимальный диаметр и интенсивность рассеяния в нулевой угол:

$$R_{g}^{2} = \frac{\int_{0}^{D_{\max}} r^{2} p(r) dr}{2 \int_{0}^{D_{\max}} p(r) dr} \qquad \qquad I(0) = 4\pi \int_{0}^{D_{\max}} p(r) dr$$

$$R_{g} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{N-1} r_{j}^{2} p_{opt}(r_{j}) + r_{j+1}^{2} p_{opt}(r_{j+1})}{2 \sum_{j=1}^{N-1} p_{opt}(r_{j}) + p_{opt}(r_{j+1})}}$$

Данный расчет основан на использовании уже всей кривой рассеяния и поэтому более надежен, чем аппроксимация Гинье. Это позволяет надежно распознать случаи нарушения монодисперсности (например, агрегацию) наночастиц.

Нарушение монодисперсности: агрегация



A. Tardieu et al., LMCP (Paris)









Определение формы частиц в монодисперсных разбавленных системах

Формула суммирования Дебая – основа методов моделирования структуры по данным рассеяния

Если частица представлена дискретным набором из N элементов (например, атомов), то интенсивность рассеяния от структуры можно представить в виде:

$$i_1(\mathbf{s}) = \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} f_i(\mathbf{s}) f_j(\mathbf{s}) e^{2i\pi (\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j)\mathbf{s}}$$

где *f_i*(s) – амплитуды рассеяния от структурных элементов, а сферически усредненная интенсивность малоуглового рассеяния будет выражена формулой:

$$i_1(s) = \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} f_i(s) f_j(s) \frac{\sin 2\pi r_{ij} s}{2\pi r_{ij} s}$$
 где $r_{ij} = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|$

Основные шаги структурной интерпретации данных МУР

построение математической модели структуры (параметризация),

вычисление теоретической интенсивности *I(s)* рассеяния от модели (прямое моделирование),

сравнение ее с экспериментальными данными (вычисление критерия невязки),

коррекция параметро модели исходя из величины невязки и тенденции ее изменения (минимизация невязки) и переход к следующей итерации прямого моделирования. Останов по достижению минимального значения или выполнения других (совокупности) критериев качества решения.





S



Представление формы белковой молекулы в виде мультипольного разложения



Программа SASHA

Программа моделирования формы частиц SASHA находит параметры модели – коэффициенты сферических гармоник *f_{lm}* путем минимизации невязки между теоретической и экспериментальной кривыми рассеяния:

$$\min_{\substack{i \\ f_{lm}}} \left\{ \frac{\sum_{i} \left[\left(I_{\exp}(s_{i}) - qI(s_{i}) \right) W(s_{i}) \right]^{2}}{\sum_{i} \left[I_{\exp}^{2}(s_{i}) W^{2}(s_{i}) \right]} + \sum_{i} g_{k}^{2} W_{k} \right\}$$

Весовая функция:

«Совмещающий множитель»:

Штрафные члены:

a) за отрицательность расстояний от начала координат до поверхности:

b) за сдвиг центра тяжести [X_c, y_c, z_c] из начала координат from the origin:

с) за «сложность» поверхности (W_M – молекулярный вес):

(использование дополнительной информации)

$$g_1 = \int_{\forall F(\omega) < 0} F(\omega) d\omega$$

 $W(s_i) = s_i^2 / \sigma(s_i)$

 $q = (\mathbf{I}_{\text{exp}} \cdot \mathbf{I}) / \|\mathbf{I}\|^2$

$$g_2 = x_c, g_3 = y_c, g_4 = z_c.$$

 $g_5 = \frac{(R_g^{exp})^3}{W_M}$

Программа SASHA: определение формы белковых молекул в растворе

Analyze Solution Scattering Automatically	
Style: Frame Facet Gouraud Function: Show Hide Delete Config File Command τ L	oad) (Active v) No 9. shout (Quit)
	Active structure attributes Type: Single Edges : T Invisible Colour: T aquamarine HLHSR: E Enable Visible: All Transp.%: 25 T Annotation: 7 TRANSFORMATION: Man Def Reset 180 Rotate X: -53 -180 180 180
Shape determination Input intensity file [.dat]: sacctet Angular units (1-4): 2 Fitting range (fractional): 1.0 Output file [.flm]: shout Init annewimation [.flm]:	Rotate Y. 34 -180 -1 -180 Rotate Z: 0 -180 -1 -180 Shift X : 0 -210 -1 -180 Shift Y : 0 -210 -1 -100 -100 Shift Y : 0 -210 -100 -100 -100 -100 Shift Z : 0 -315 -100 -100 -100 -100 Scale (%): 100 10 -100 $-$
Maximum order of harmonics: 4 Apply the filter: N Go Stop Resume Cancel	MKPlot s, I(s)exp, I(s)calc for shout.flm12-JUN-1996 Wed Jun 12 18:57:00 1996 Y
$y_{z \to z}$	10.5 10.0 9.5 9.0 8.5 8.0 7.5 7.0
Reper: Visible MESSAGE: shout is loaded Length: 20 40	0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 0.30 X

Информативность данных малоуглового рассеяния

Вывод из теоремы Котельникова-Шеннона:

число независимых параметров,

описывающих кривую рассеяния, равен

$$N_s = s_{max} D_{max} / \pi,$$

где *D_{max}* макимальный размер частицы. Обычно *N_s* невелико: 10 ÷ 20.

N_s определяет максимально допустимый интервал угловых отсчетов в малоугловом эксперименте:



Следовательно, структура рассеивающей частицы должна быть параметризована небольщим количеством параметров, что ограничивает пространственное разрешение.

Информативность данных малоуглового рассеяния



Примеры восстановления формы белков в растворе без использования дополнительной информации о структуре



Программа DAMMIN: определение структуры белков в растворе

Структура молекул или частиц моделируется набором плотноупакованных шариков, расположенных внутри области с диаметром равным максимальному размеру частицы. Программа варьирует расположение шариков, минимизируя разницу между экспериментальной кривой рассеяния и рассчитанной от шариковой модели.



Программа DAMMIN

Программа ищет пространственное расположение шариков, из которых строится модель компактной структуры путем минимизации суммарной квадратичной невязки между экспериментальной и теоретической кривыми рассеяния методом моделирования отжига:

$$f(\mathbf{x}) = \chi^2 [I_{\exp}(s), I(s, \mathbf{x})] + \alpha P(\mathbf{x})$$

где χ есть невязка, P(x) – набор штрафных членов за некомпактность с весами $\alpha > 0$

Рассеяние от шариковой модели

$$I(s, \mathbf{x}) = 2\pi^2 \sum_{l=0}^{L} \sum_{m=-l}^{l} |A_{lm}(s)|^2$$

Частичные амплитуды

 $A_{lm}(s) = i^l \sqrt{2/\pi} \sum_j j_l(sr_j) Y_{lm}(\omega_j)$

Суммирование ведут по всем шарикам, принадлежащим структуре





На каждом шаге поиска проводится добавление или удаление только одного шарика. Это позволяет быстро пересчитывать рассеяние от всей структуры.

Программа DAMMIN Steps of Simulated Annealing

- Aim: find a configuration of *M* variables {*x*} minimizing a function *f*(*x*) of these variables.
- **1.** Start from a random configuration x at a "high" temperature T.
- 2. Make a small step (random modification of the configuration) $x \rightarrow x'$ and compute the difference $\Delta = f(x') - f(x)$.
- 3. If $\Delta < 0$, accept the step; if $\Delta > 0$, accept it with a probability $e^{-\Delta/T}$
- 4. Make another step from the old (if the previous step has been rejected) or from the new (if the step has been accepted) configuration.
- 5. Anneal the system at this temperature, i.e. repeat steps 2-4 "many" times (say, 100K tries or 10K successful tries, whichever comes first), then decrease the temperature (T' = cT, c<1).
- 6. Keep cooling the system until no improvement in f(x) is observed during definite number of tries.

Analysis of "Soft Ambiguity": The main idea is to find common features in a series of independent reconstructions

Программа DAMMIN: определение строения макромолекул и наночастиц по данным МУР

dammin43gw File Edit View State Window Help Graphics Window 276109 CPU: 0.613E+03 SqF: 0.1860 a: 3 Per: 0.4144 Sca: 0.241E-07 T= 0.316E-04 Rf =0.01440 Los: 0.1126 DisCog: 0.0117 Scale = 0.265E-07 303530 CPU: 0.664E+03 SqF: 0.1761 9 Per: 0.4445 Sca: 0.258E-07 331838 CPU: 0.715E+03 SqF: 0.1628 lg I 7 Per: 0.4107 Sca: 0.256E-07 361203 CPU: 0.768E+03 SqF: 0.1559 2 Per: 0.4163 Sca: 0.293E-07 391120 CPU: 0.822E+03 SqF: 0.1440 7 Per: 0.4123 Sca: 0.249E-07 421736 CPU: 0.877E+03 SaF: 0.1341 2 Per: 0.3936 Sca: 0.263E-07 0.0 452614 CPU: 0.931E+03 SqF: 0.1256 6 Per: 0.3787 Sca: 0.247E-07 484101 CPU: 0.987E+03 SqF: 0.1171 3 Per: 0.4038 Sca: 0.272E-07 516350 CPU: 0.104E+04 SqF: 0.1124 6 Per: 0.3910 Sca: 0.265E-07 a: 549668 CPU: 0.110E+04 SqF: 0.1064 5 Per: 0.3944 Sca: 0.264E-07 -1_Ø 583599 CPU: 0.116E+04 SqF: 0.0995 a: 6 Per: 0.3807 Sca: 0.266E-07 a: 617150 CPU: 0.122E+04 SqF: 0.0957 4 Per: 0.3850 Sca: 0.276E-07 a: 651458 CPU: 0.129E+04 SoF: 0.0897 O Per: 0.3716 Sca: 0.306E-07 a: 686329 CPU: 0.135E+04 SqF: 0.0842 -2.05 Per: 0.3764 Sca: 0.278E-07 721177 CPU: 0.141E+04 SqF: 0.0833 O Per: 0.3722 Sca: 0.272E-07 a: 756062 CPU: 0.147E+04 SqF: 0.0779 1 Per: 0.3819 Sca: 0.261E-07 0.10 0.20 0.30 0.00 0.40 791730 CPU: 0.153E+04 SqF: 0.0762 s, 1/A 7 Per: 0.3946 Sca: 0.274E-07 827969 CPU: 0.159E+04 SqF: 0.0714 9 Per: 0.3751 Sca: 0.261E-07 Gnom file : gnolyz.out 12-May-2001 20:04:14 a: 864518 CPU: 0.166E+04 SqF: 0.0673 RI: 0.02357 LOS:0.1150 D15:0.0255 Per: 0.3736 Sca: 0.248E-07 j: 34 T: 0.433E-04 Suc: 10367 Eva: 901587 CPU: 0.172E+04 SqF: 0.0641 Rf: 0.02144 Los:0.1180 Dis:0.0113 Per: 0.3816 Sca: 0.251E-07 i: 35 T: 0.390E-04 Suc: 10367 Eva: 938681 CPU: 0.179E+04 SgF: 0.0607 Rf: 0.01587 Los:0.1120 Dis:0.0113 Per: 0.3965 Sca: 0.251E-07

x1: 0.01140 10:01140 10:01140 10:010 10:010 00:000 00:0000 00:0000 00:0000 00:000 00:000 00:000 00:000 00:000 00:000

_ 8 ×

Step 0 Temperature = 0.100E-02 Chi= 36.38



Step 1 Temperature = 0.100E-02 Chi= 37.47



Step 2 Temperature = 0.900E-03 Chi= 31.57



Step 4 Temperature = 0.729E-03 Chi= 26.08



Step 8 Temperature = 0.478E-03 Chi= 18.51



Step 11 Temperature = 0.349E-03 Chi= 13.11



Step 20 Temperature = 0.135E-03 Chi = 5.63



Step 25 Temperature = 0.798E-04 Chi = 3.33


Step 30 Temperature = 0.471E-04 Chi = 1.82



Step 35 Temperature = 0.278E-04 Chi = 1.56



Step 45 Temperature = 0.970E-05 Chi = 1.10



Step 50 Temperature = 0.573E-05 Chi = 1.05



Step 60 Temperature = 0.200E-05 Chi = 1.04



Step 64 Temperature = 0.131E-05 Chi = 1.04



Определение структуры myosin head S1



Примеры восстановления формы белков в растворе без использования дополнительной информации о структуре





Определение формы молекул белков в растворе по данным МУР с использованием дополнительной информации: исследование иммуноглобулина М и ревматоидного фактора.



Reports, Vol. 48, No. 1, 2003, pp. 98–105.



Форма молекулы иммуноглобулина М (эксперимент и теория - график (б))

Форма молекулы ревматоидного фактора (эксперимент и теория - график (с)) V. V. Volkov*, R. L. Kayushina*, V. A. Lapuk**, et al. Crystallography

Определение различий формы молекул иммуноглобулина М (IgM) и ревматоидного фактора IgM-RF по данным малоуглового рассеяния от раствора.



Вывод: найденная модель IgM-RF отличается от структуры IgM асимметрией F(ab)₂ областей пентамера (обведены овалами).

Данные рассеяния от растворов Fab и Fab-RF фрагментов и модельные кривые рассеяния от решений DAMMIN



Функции распределений по расстояниям для Fab и Fab-RF фрагментов, рассчитанные по программе GNOM



Сравнение DAM/IMIN моделей Fab и Fab-RF фрагментов с известной атомной структурой Fab области IgG. раммих: Svergun, D.1. (1999) Вюрбул. J. 76, 2879-2886]



Fab from IgG1,

(rejected from known atomic structure of [L.J.HARRIS, E.SKALETSKY, A.MCPHERSON. J.MOL.BIOL. (1998), V. 275, p.861])



Fab-RF

Ab initio программа GASBOR

При разрешении 0.5 нм белок строится в виде ансамбля *К* модельных псевдо-аминокислотных остатков, "закреплённых" в местах расположения C_α атомов с координатами {*r_i*}.



Рассеяние от модели рассчитывается по формуле Дебая

$$Y_{DR}(s) = \sum_{i=1}^{K} \sum_{j=1}^{K} g_i(s) g_j(s) \frac{\sin sr_{ij}}{sr_{ij}}$$

Версия программы, оптимизированная под системы PC Windows, DEC Alpha, Red Hat Linux позволяет строить модели, состоящие из 8000 остатков

Версия программы для SGI IRIX 64 и MacOSX позволяет моделировать структуры из 4000 и 2000, соответственно.

Использование дополнительной информации в GASBOR



Программы DAMMIN и GASBOR: определение строения белковых молекул в растворе по данным мало- и среднеуглового рентгеновского рассеяния.



Программа GASBOR: восстановлений структурыyeast hexokinase по данным рассеяния в малые исредние углыMonomerDimer





Методы, использующие модели высокого разрешения в качестве дополнительной информации

- моделирование жёсткими телами (rigid body refinement)
- проверка и уточнение моделей, структура которых предсказана различными методами или моделей, полученных методом рентгеновской кристаллографии
- добавление подвижных небольших петель или доменов

Программный пакет CRYSOL/CRYSON: расчет рассеяния от атомной структуры макромолекул в растворе

$$\mathbf{I}(\mathbf{s}) = \left\langle \left| \mathbf{A}(\mathbf{s}) \right|^2 \right\rangle_{\Omega} = \left\langle \left| \mathbf{A}_{a}(\mathbf{s}) - \rho_{s} \mathbf{A}_{s}(\mathbf{s}) + \delta \rho_{b} \mathbf{A}_{b}(\mathbf{s}) \right|^2 \right\rangle_{\Omega}$$

- *A_a(s)*: атомное рассеяние в вакууме
- A_s(s): рассеяние исключенным объемом

A_b(s): рассеяние гидратной оболочкой

Программа CRYDAM: представление структуры шариками разных типов



- Учитывает гидратный слой на поверхности молекулы
- Вычисляет профили рентгеновского и нейтронного рассеяния
- Моделирует структуры белков, нуклеиновых кислот и их комплексы
- Применима для широкого диапазона углов рассеяния

Effect of the hydration shell, X-rays

lg I, relative



Вычисление рассеяния от атомных моделей в растворе позволяет :

- Анализировать подобие (различие) между макромолекулами в растворе и в кристалле
- Проверять теоретически предсказанные модели
- Уточнять четвертичную структуру сложных частиц с помощью относительного вращения субъединиц

"Məroд твёрдых тел" rigid body refinement

•Атомная структура каждой из двух субъединиц известна.

•Комплекс произольной архитектуры может быть построен с помощью перемещения и/или вращения одной из субъединиц.

•Параметры, определяющие структуру модели: эйлеровы углы вращения и три координаты.



"Метод твёрдых тел" rigid body refinement

•Атомная структура каждой из двух субъединиц известна.

•Комплекс произольной архитектуры может быть построен с помощью перемещения и/или вращения одной из субъединиц.

•Параметры, определяющие структуру модели: эйлеровы углы вращения и три координаты.



Программа MASSHA: поиск структур белков в растворе из фрагментов



Структура молекулы активной формы (R), найденная по кристаллографическим данным.

Структура молекулы неактивной формы АТС (Т), найденная по кристаллографическим данным, совпадает с результатами МУР.

Коррекция кристаллографических структур для раствора: структура аспартат транскарбамилазы



3 nm

х

Уточнение кристаллической структуры PDC по данным малуглового рентгеновского рассеяния от раствора



J. Biol. Chem. 275, 297-303.

Позиционирование є субъединицы F-ATP synthase по данным малоуглового рассеяния



Позиционирование є субъединицы F-ATP synthase по данным малоуглового рассеяния



العداد المدالم (الم) المدانية المالية مالية المالية المالية مالية مالية مالية مالية م

Компоненты цитоскелета эукариот.

ПФ включены в состав разветвленной филаментной сети, которая вовлечена в различные клеточные процессы, такие как перемещение и деление.



Стратегия обработки данных рассеяния растворами виментина в диапазоне концентраций белка от 2.1 до 17мг/мл при рН = 7.0, 7.5 и 8.4 с добавлением NaCl от 0 до 160 мМ





Оценка эффективной молекулярной массы: поиск монодисперсных растворов (тетрамер, октамер, 32-мер).

Построение моделей соответствующих олигомеров.

$$I(s) = \sum_{k} v_k I_k(s)$$



 определение доли каждого структурного ансамбля;

 сравнение функций распределения по расстояниям в поперечном сечении *p_{cr}(r)*, рассчитанных для каждой кривой.

Критерий сходства:

$$\chi^{2} = \frac{1}{N-1} \sum_{j} \left[\frac{I(s_{j}) - I_{\exp}(s_{j})}{\sigma(s_{j})} \right]^{2}$$

Модели 32-мера: пробные и финальная



Сочетание различных методов: структура вертексного комплекса бактериофага PRD1



Добавление подвижных небольших доменов к известной структуре



- Димерный белок: DHFR + GST
 - ✓ добавление линкера длиной 21 остатка
 - ✓ добавление домена GST (159 остатков)



Petoukhov, M.V., Eady, N.A.J., Brown, K.A. & Svergun, D.I. (2002) Biophys. J. 83, 3113

Добавление подвижных небольших петель или доменов к известной структуре

На практике, получение неполных моделей, в которых отсутствуют петли или домены, происходит в случаях, когда:

- подвижные петли разупорядочены и не видны в кристалле

структурные части белковых молекул (петли и домены) могут
быть отрезаны генно-инженерными методами в процессе
подготовки их к кристаллизации

 – большие белки часто разделяются на домены и последние изучаются независимо друг от друга

Используя экспериментальные данные рассеяния раствором белка, можно, зная структуру высокого или низкого разрешения одной из его частей построить недостающие.

Нейтронное рассеяние: вариация контраста
Рассеивающий контраст



Варьирование контраста: рентгеновское рассеяние и рассеяние нейтронов

Рентгеновские лучи Влияние сахарозы или соли

PHK, 550 e/nm³

60% сахарозы, 430 e/nm³

белок, 410 е/nm³

 H_2O , 344 e/nm³

нейтроны Изотопное замещение H/D

D-белки, "130%" D₂O D-PHK, "120%" D₂O

 $D_2O, 6.38 \times 10^{10} \text{ cm}^{-2}$

H-PHK, 70% D₂O

Н-белки, 40% D₂O

H₂O, -0.59×10¹⁰ cm⁻²

Нейтронное рассеяние от растворов рибосомы 70S: вариация контраста путем частицного дейтерирования

0% D₂O 40% D₂O 70% D₂O



Protonated 70S ribosome, HH30+HH50



Hybrid 70S with 23S RNA deuterated, HH30+HD50



Вариация контраста в малоугловом рассеянии нейтронов: определение структуры рибосомы *Е.coli* и ее субъединиц в растворе

<mark>10</mark>нм







Шариковая модели субчастицы 50S рассчитанная по данным малоуглового рассеяния при разрешении 3 nm (май 2000) Для сравнения: кристаллическая структура 50Ѕпри разрешении 0.24 nm *H.marismortui* (Steitz group, August 2000) Ионоталовосо bассания систем нано-растил малодого bассачния от раздавленных монотораторательных от раздавленных

- *ab initio* форму и структуру низкого разрешения
- вероятные конфигурации недостающих частей в структурах высокого разрешения
- подтверждение сходства или различия структуры биомакромолекул в кристалле и растворе
- ЗD модели многокомпонентных комплексов с использованием метода моделирования жёсткими телами
- количество различных олигомеров в смесях

Малоугловое рассеяние дополняет другие структурные методы

- белковая кристаллография
 - структура может быть неполной
 - конфигурация молекулы в кристалле может отличаться от конфигурации в растворе
- методы ЭПР и ЯМР
 - структуры больших молекул не подлежат исследованию этими методами
- электронная и атомно-силовая микроскопия
 - молекулы жёстко фиксируются на подложке, что может
 - приводить к искажению их структуры
 - анализ и интерпретация данных зачастую требуют больших затрат времени
- крио-электронная микроскопия

- анализ и интерпретация данных зачастую требуют больших затрат времени

Метод малоуглового рассеяния наиболее эффективен в сочетании с другими методами исследования структуры и обладает уникальными возможностями



Бактериальная целлюлоза – новые материалы для

медицины





12

10

Распределения по размерам наночастиц серебра, рассчитанные по данным малоуглового рентгеновского рассеяния



Медицинская диагностика по данным малоуглового рассеяния от тканей организма.



Основная литература:

- 1. Д. И. Свергун, Л. А. Фейгин. "Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние". Москва, "Наука", 1986, 279с.
- 3. Б. К. Вайнштейн. Дифракция рентгеновских лучей на цепных молекулах. Москва, Издательство АН СССР, 1963г., 372с.
- 4. А. Н. Бекренев, Л. И. Миркин. «Малоугловая рентгенография деформации и разрушения материалов». 247с.
- 5. O. Glatter, O. Kratky. "Small-Angle X-ray Scattering". Academic Press Inc. (London) Ltd, 1982, 515p.
- 6. A. Guinier and G. Fournet. "Small-Angle Scattering of X_Rays". John Wiley & Sons, Inc. (New York), 1955, 268p.

Области применения: определяемые параметры

- объемные распределения рассеивающих неоднородностей по размерам в изотропных дисперсных системах различной природы (наночастицы, поры, кластеры дефектов в монокристаллах, выделения фаз в сплавах, неоднородности в стеклах и т.д.);
- распределения по диаметрам сильно вытянутых или по толщинам плоских нанообразований как в случае их частичной упорядоченности, так и в хаотических системах;
- функции распределения и радиусы корреляции наноразмерных неоднородностей в конденсированных системах;
- удельную площадь границы раздела между фазами и/или толщину межфазной границы в двухфазных системах;
- параметры внутренней структуры (размеры флуктуаций плотности, толщина межфазных границ, типичные формфакторы флуктуаций) для конденсированных разупорядоченных и частично упорядоченных произвольных систем путем прямого компьютерного моделирования пространственного распределения плотности;
- в случае изотропных монодисперсных систем, или систем с узким распределением по размерам рассеивающих неоднородностей, определяют максимальный размер частиц или пор; радиус инерции частиц; объем и площадь их поверхности, форму наночастиц при разрешении 1/3-1/5 от максимального размера.
- Рассеяние тепловых нейтронов: используют особенности рассеяния поляризованных нейтронов на ядрах с селективно ориентированными ядерными спинами – различные приемы вариации контраста и исследования релаксаций.

Благодарю за внимание!

Ambiguity in shape determination: determination of structure coordinates from distance distribution function or SAS pattern.

What is unambiguous: the relationships $\rho(r) \rightarrow p(r) \leftrightarrow l(s)$.

This is why we can uniquely calculate theoretical intensity from structure models.

What is ambiguous: the backward relation $\rho(r) \leftarrow p(r)$. ("Hard ambiguity"). This is why we have to impose additional requirements on the sought structure – low resolution, symmetry, known anisomerty, etc. The requirements should reduce the ambiguity. However, there are some more ambiguities, which principally cannot be resolved (e.g. enanthiomorphs).

In practice, one meets another kind of ambiguity ("Soft ambiguity") related with solution unstability. Using Monte-Carlo methods, different structures may be obtained which have almost the same p(r) and consequently close l(s). The question is whether one can assess the extent of this ambiguity and do something against it.

<u>Theoretical ambiguity</u>: the same distance distribution p(r) may correspond to different structures.

This example was published by Mireille Boutin and Gregor Kemper in: "On Reconstructing n-Point Configurations from the Distribution of Distances or Areas", Mathematics, abstract math. AC/0304192 April 15, 2003, p.1-21.



Stable solutions



Stable solutions

Prism 1:2:4





Average NSD ≈ 0.5

cylinder 2:5







0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 S

– data

SASHA

DAMMIN

10⁰

10⁻¹

10⁻²

10⁻³









ring 1:3:2







Fair stability Tube 1:3:3



Average NSD \approx 1.0

Spread region Most probable volume









Hollow spheres

Coaxial cavities are restored with more stability than the shifted ones...



Now consider *ab initio* restoration of complex structures.

We will try to restore helix particles from simulated SAS data calculated on different angular ranges from two helicoidal bodies of the same length and diameter:

Here, the inner structure seems to be more pronounced than for the 4.5turns model on the right



This model is expected to be too complex to be restored...

OK, we will try and see what happen

2.5-turns

4.5-turns

Complex particle: 2.5-turns helix

How to see the frequently occuring distances





Dependence of p(r) calculated from SAS patterns from s_{max}





Complex particle: 4.5-turns helix



