

Étude des Pseudo-Lignes de Kikuchi Observées en Microscopie Electronique à Balayage*

PAR E. VICARIO, M. PITAVAL ET G. FONTAINE

Département de Physique des Matériaux, Laboratoire d'Emission Electronique, Faculté des Sciences,
43 Bd du 11 novembre 1918, 69 Villeurbanne, France

(Reçu le 22 janvier 1970)

Patterns resembling Kikuchi patterns have been observed with a scanning electron microscope on silicon single crystals. The contrast of lines and bands is discussed (for symmetric and asymmetric bands and for contrast inversion). The lines, circles and parabolae are explained. Across poles, lines with high indices allow measurement of either lattice parameter or wavelength of primary electrons.

Le microscope électronique à balayage permet d'observer, sur des échantillons monocristallins épais, des figures analogues aux lignes de Kikuchi obtenues en microscopie électronique par transmission. Mises en évidence pour la première fois par Coates (1967), ces pseudo lignes de Kikuchi ont été attribuées à l'absorption anormale des électrons primaires tombant sur le cristal sous incidence de Bragg pour une série donnée de plans réflecteurs (Booker, Shaw, Whelan & Hirsch, 1967). On trouvera dans l'article de Schulson & van Essen (1969) une discussion des conditions favorables à l'obtention de telles lignes.

Nous montrerons que les indices des plans actifs peuvent atteindre des valeurs élevées conduisant à des lignes dont la position varie rapidement avec la tension appliquée ou les modifications éventuelles du paramètre cristallin. Par analogie avec les figures de Kossel, l'observation des intersections fortuites de telles lignes permet une mesure des paramètres cristallins ou, réciproquement, l'étalonnage des longueurs d'onde

* Cet article recouvre une partie d'un travail de recherche qui constitue une thèse de Doctorat ès Sciences Physiques, enregistrée au C.N.R.S. sous le no. A.O.3989 et qui sera soutenue auprès de la Faculté des Sciences de Lyon le 29 octobre 1970, par E. Vicario.

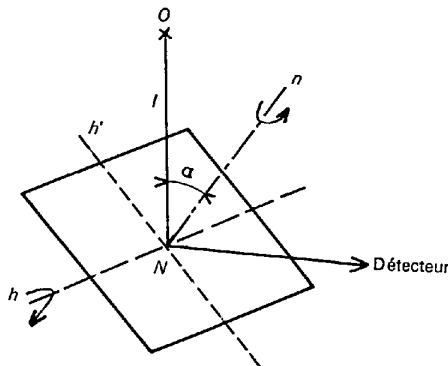


Fig. 1. Positions relatives de l'échantillon, du détecteur D et de la direction moyenne du faisceau incident I (IN et ND sont perpendiculaires à l'axe h ; Nn est la normale à l'échantillon).

du faisceau électronique. Au voisinage d'un axe de forte symétrie on observe des paraboles et des cercles dont nous montrons qu'ils correspondent en fait à des enveloppes de lignes dont on détermine les indices.

Malgré l'interprétation de Booker *et al.* (1967) le contraste des lignes n'est pas encore parfaitement compris et nous commencerons par en discuter les caractéristiques.

Les observations décrites dans cet article ont été faites sur des monocristaux de silicium de surface (111), mais nous avons déjà rapporté des observations analogues sur d'autres cristaux, Al et GaAs (Vicario, Pitaval, Dupuy & Uzan, 1968; van Nieuwenhuyze, Pinard, Pitaval, Vicario & Uzan, 1969).

Contraste des lignes et des bandes

La Fig. 1 schématise les positions relatives de l'échantillon, de la direction moyenne du faisceau incident I et du détecteur fixe. Pour obtenir des pseudo-lignes de Kikuchi fines la divergence angulaire du faisceau incident doit être aussi faible que possible et de l'ordre de 10^{-4} radian. Au cours du balayage, le faisceau incident pivote autour d'un point fixe O , faisant avec la direction moyenne I un angle au moins égal à l'angle de Bragg correspondant à des plans d'indices assez faibles pour des électrons de 30 keV (quelque 10^{-2} radian). La largeur du faisceau sur l'échantillon est de l'ordre de 50 à 200 microns et la largeur d'échantillon balayée de 1 à 5 mm. La nature du contraste des lignes observées dépend bien entendu du mode de fonctionnement utilisé, suivant que l'on détecte les électrons secondaires, rétrodiffusés ou absorbés par l'échantillon. Les résultats qui suivent valent pour les électrons rétrodiffusés ou secondaires, les contrastes obtenus avec le courant d'échantillon étant complémentaires.

(a) Pour une direction moyenne du faisceau incident perpendiculaire à la surface de l'échantillon ($\alpha=0$), les bandes apparaissent blanches, bordées de noir, par rapport au fond continu. Elles sont symétriques. Pour des plans réflecteurs de faibles indices, on observe, en plus de la bande, des lignes noires parallèles correspondant

aux réflexions de Bragg d'ordres supérieurs (Vicario, Pitaval, Dupuy & Uzan, 1968).

(b) Pour un échantillon incliné ($\alpha \gtrsim 10^\circ$) les bandes parallèles à la ligne de plus grande pente (h') restent symétriques: blanches bordées de deux lignes noires. Les autres bandes deviennent dissymétriques: elles sont bordées d'un côté par une ligne noire et de l'autre par une ligne blanche. Les lignes correspondant aux plans réflecteurs d'indices plus élevés sont soit blanches, soit noires: la ligne noire correspond à la plus grande incidence du faisceau primaire sur l'échantillon (Fig. 2). Contrairement à certains clichés de Coates (1967), et Shaw, Booker & Coates (1969), la dissymétrie du contraste observé ne nous semble pas due à une différenciation éventuelle du signal d'une bande symétrique: d'une part, sur un même cliché, on peut observer des bandes symétriques et des bandes dissymétriques et, d'autre part, le traitement du signal utilisé élimine au mieux les effets de différenciation (Vicario, Pitaval & Uzan, 1970).

(c) Pour un échantillon très incliné, le contraste d'une bande symétrique s'inverse. En détectant les électrons rétrodiffusés seuls une bande symétrique blanche devient noire (Fig. 3) pour les valeurs de l'angle d'incidence α supérieures à une valeur critique ($\approx 63^\circ$) qui augmente lorsque l'énergie des électrons primaires diminue; l'angle critique correspond à une zone non contrastée où la bande disparaît sur quelques degrés. La Fig. 4, qui a été prise en détectant les électrons secondaires sous les mêmes conditions que pour la Fig. 3, montre clairement que cette inversion du contraste d'une bande n'est pas observée en secondaires.

L'interprétation de Booker *et al.* (1967) semble actuellement insuffisante pour expliquer et la dissymétrie du contraste et son inversion aux fortes incidences. Cette interprétation est basée sur le traitement dynamique de l'électron primaire, la normale à la surface de l'échantillon étant parallèle aux plans réflecteurs. Quand on modifie les conditions aux limites en tenant compte de l'inclinaison de la normale sur les plans réflecteurs on obtient bien une dissymétrie, mais elle est négligeable devant l'effet observé. (Vicario, Pitaval & Fontaine, 1970). L'inversion du contraste ressemble à celle qui est observée en Kikuchi par réflexion (Alam, Blackman & Pashley, 1954) et la dissymétrie présente une analogie avec celle qui est observée en microscopie électronique conventionnelle; les origines des lignes observées en balayage ou en transmission sont toutefois très différentes, puisque les positions géométriques des premières peuvent toutes s'expliquer à partir de l'angle d'incidence du faisceau primaire.

Description géométrique des lignes

Le balayage de l'écran d'observation se fait en synchronisme avec celui de l'échantillon: l'intensité d'un point M' de l'écran (Fig. 7) est proportionnelle au nombre d'électrons secondaires (ou rétrodiffusés) émis par

l'échantillon quand le faisceau incident atteint le point M de sa surface. Les pseudo-lignes de Kikuchi s'obtiennent quand le faisceau incident est en position de Bragg pour une famille de plans réflecteurs donnée; elles peuvent se déterminer par une construction géométrique analogue à celle des lignes de Kossel (James, 1962).

Soient $\pm g$ les vecteurs du réseau réciproque d'origine O (point de pivotement du faisceau primaire) correspondant à ces plans. De l'extrémité des vecteurs, on mène deux plans perpendiculaires à g ; ces plans coupent la sphère de centre O et de rayon $2/\lambda$ suivant deux cercles (Fig. 8). Les directions de balayage qui amènent le faisceau incident en position de Bragg sont obtenues en joignant O à un point quelconque de ces cercles: elles définissent un double cône de sommet O , d'axe g . Les pseudo-lignes de Kikuchi finalement observées sont

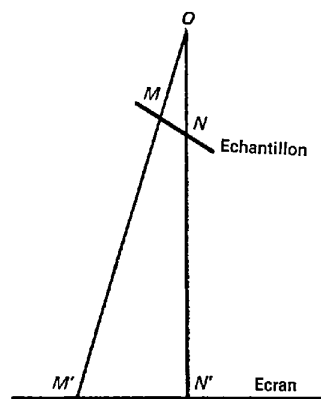


Fig. 7. L'intensité d'un point M' de l'écran d'observation est proportionnelle au nombre d'électrons émis par le point M correspondant de l'échantillon.

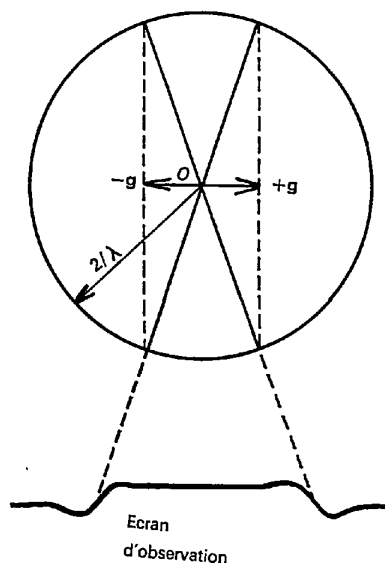


Fig. 8. Les bandes de Kikuchi sont des hyperboles (intersections d'un cône d'axe g avec l'écran d'observation).

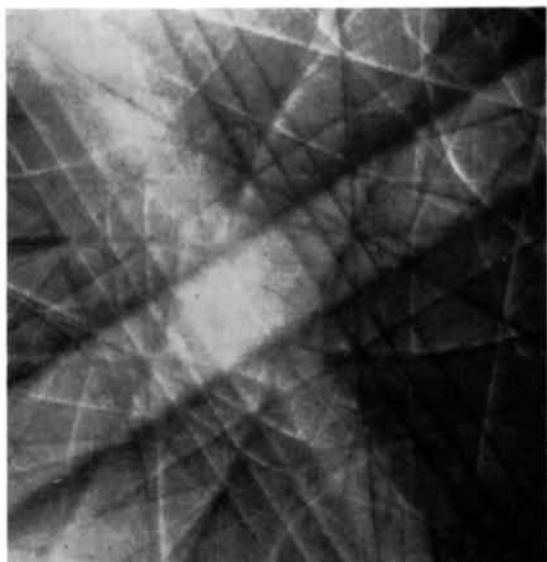


Fig.2. La bande (220) symétrique est orientée suivant la ligne de plus grande pente du cristal.

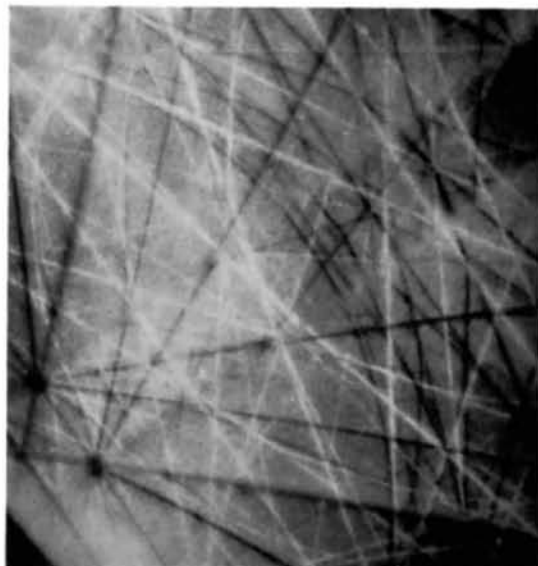


Fig.3. Inversion du contraste de la bande (220) pour les électrons rétrodiffusés. Incidence moyenne du faisceau 63° . Tension des électrons primaires 30 kV.

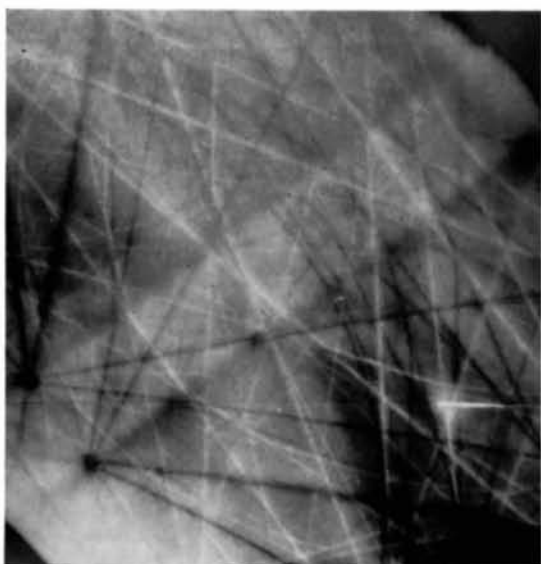


Fig.4. Cliché obtenu avec les électrons secondaires dans les mêmes conditions que le cliché 2.



Fig.5. Exemple de paraboles symétriques respectivement blanche et noire, au voisinage de l'axe [011].

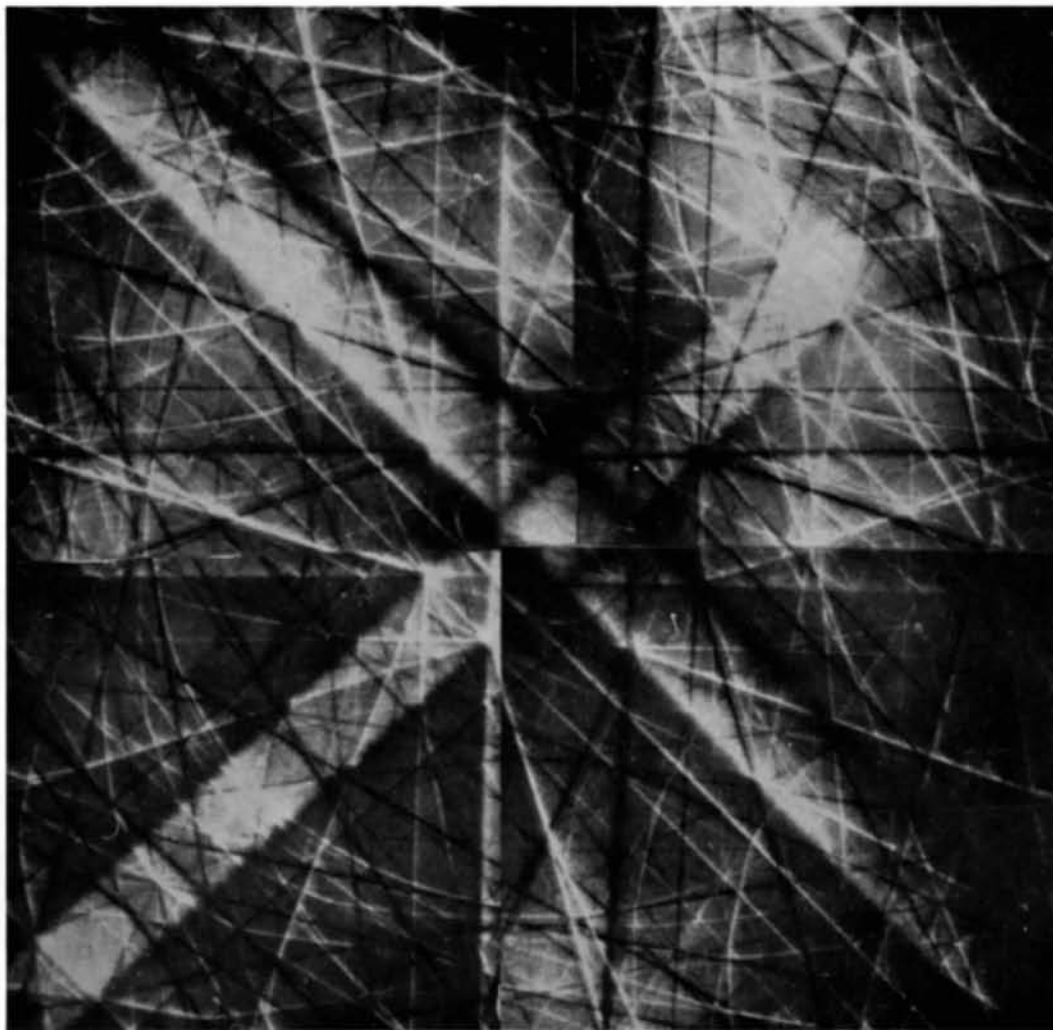


Fig.6. Cercle centré sur l'axe [001].

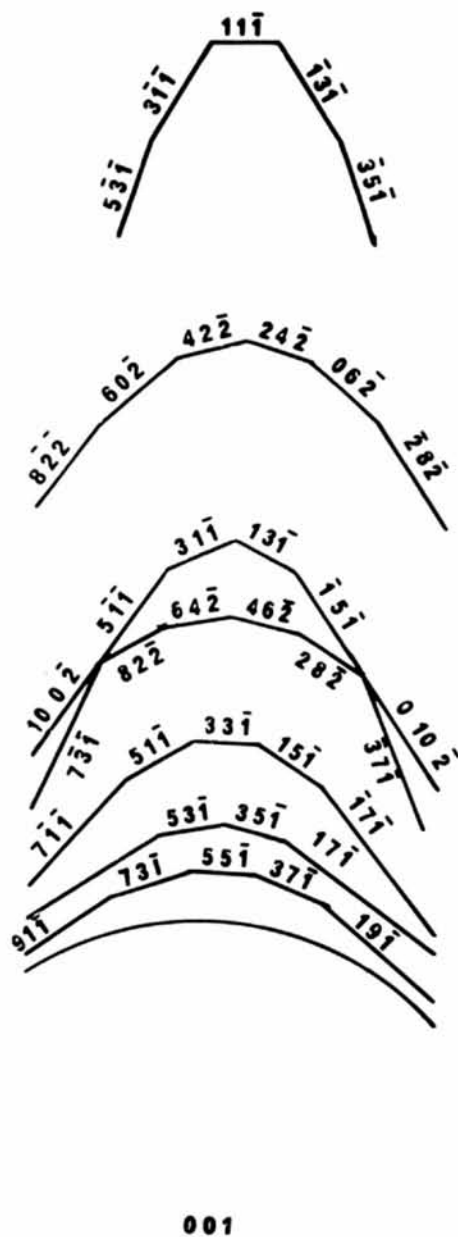
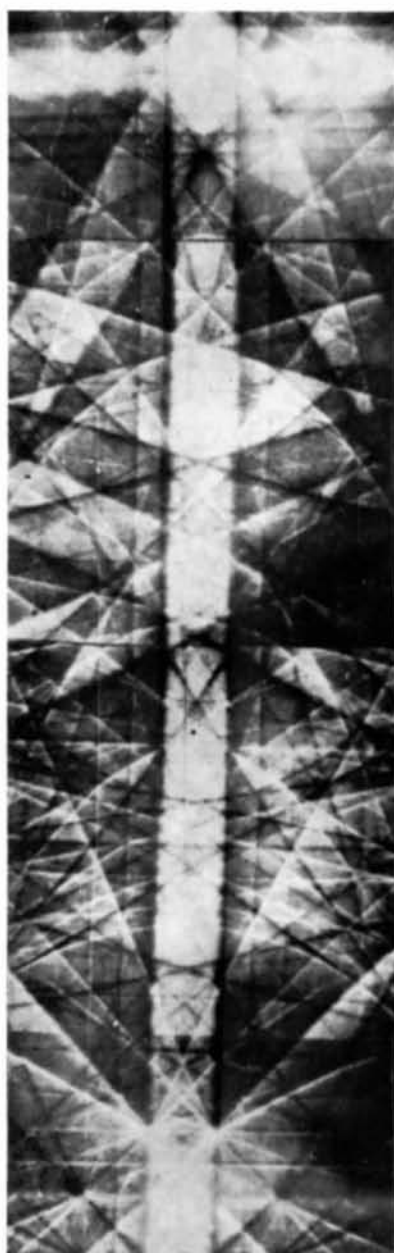
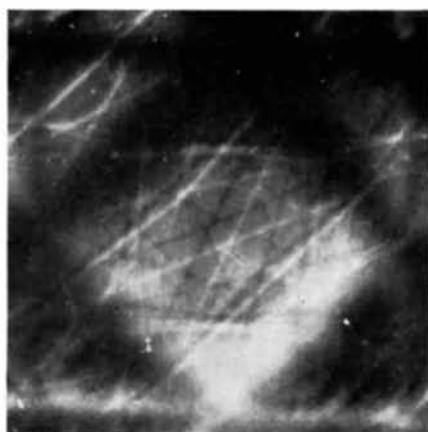
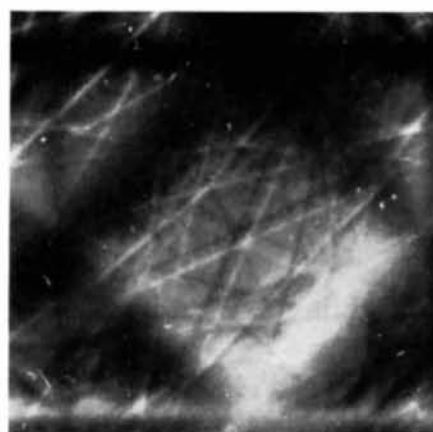


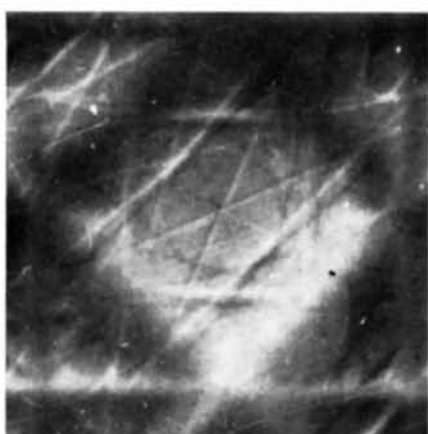
Fig.9. Paraboles le long d'une bande (220).



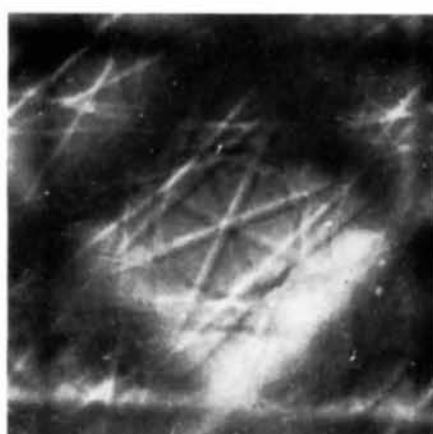
25,5 kV



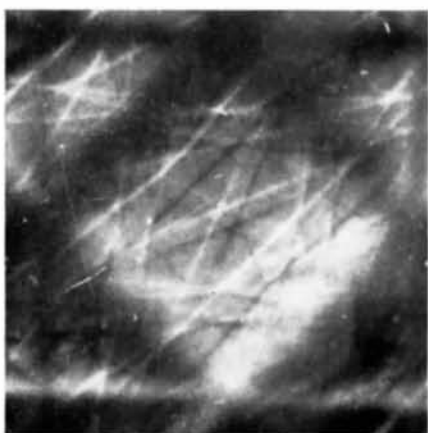
26 kV



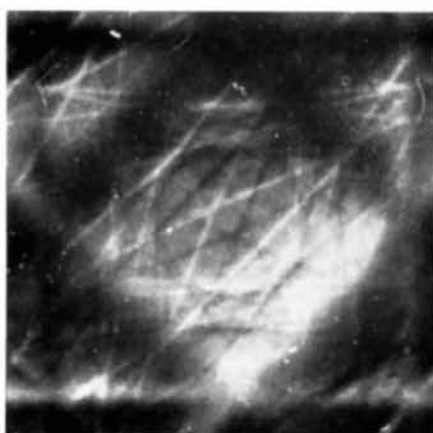
26,5 kV



27 kV



27,5 kV



28 kV

Fig. 10. Lignes d'indices élevés au voisinage de l'axe [001].

donc des coniques, intersection de ce cône par le plan d'observation.

Aux tensions utilisées ($V \approx 30$ keV), la longueur d'onde associée aux électrons est très faible ($\approx 7.10^{-2}$ Å) et les angles de Bragg petits ($\approx 10^{-2}$ radian), il s'en suit qu'un vecteur g actif doit être presque perpendiculaire à la direction moyenne du faisceau incident. Dans ce cas, on voit que les pseudo-lignes de Kikuchi observées sont des hyperboles. En fait, les ordres de grandeur sont tels que ces hyperboles sont toujours assimilables à des droites dans la région d'observation. Par exemple, pour la bande (246) du silicium, la variation de largeur est inférieure à 1 % de part et d'autre d'un écran d'observation de 10 cm de côté.

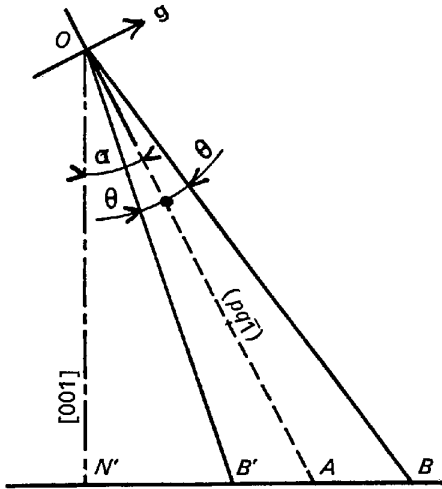


Fig. 11. Quand OA se rapproche de ON' , θ augmente; $N'B$ possède un minimum. Le point A est sensiblement au milieu de BB' .

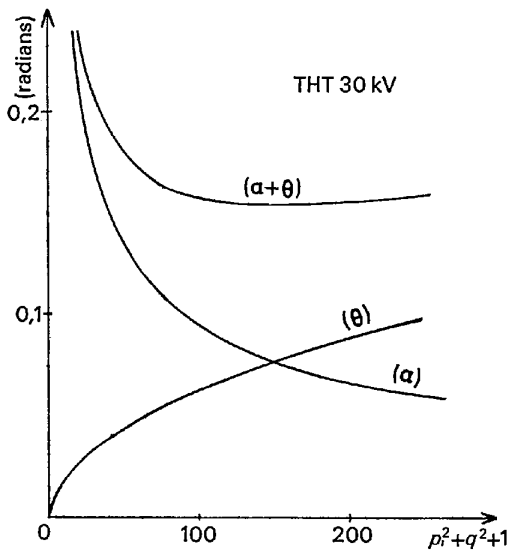


Fig. 12. Variation des angles. α entre le plan $(pq\bar{1})$ et l'axe $[001]$ θ de Bragg. $(\alpha+\theta)$ entre le bord de la bande et l'axe $[001]$.

Enveloppes de lignes

Sur de nombreuses photographies dont on voit quelques exemples (Figs. 6 et 9), on remarque, en plus des lignes droites, un certain nombre de paraboles et de cercles. Une étude plus attentive montre qu'il s'agit en fait d'enveloppes de lignes rectilignes.

Cercles

On peut observer des cercles d'un diamètre important centrés sur les axes de plus grande symétrie $[001]$, $[011]$ et $[111]$. Nous nous limiterons à expliquer l'origine du cercle centré sur l'axe $[001]$. Considérons un plan $(pq\bar{1})$ faisant un angle α avec l'axe $[001]$ parallèle à la direction moyenne du faisceau incident (Fig. 11). Parmi différents plans de type $(pq\bar{1})$, à celui dont p^2+q^2+1 à la plus grande valeur, correspond l'angle de Bragg θ le plus grand et l'angle α le plus petit. Les courbes de la Fig. 12, obtenues en considérant que p^2+q^2+1 varie de façon continue, montrent qu'en partant des faibles indices, l'angle α diminue plus vite que θ n'augmente, $(\alpha+\theta)$ diminue, la ligne correspondant au point B de la Fig. 11 se rapproche de l'axe $[001]$. Pour les valeurs de p^2+q^2+1 suffisamment élevées, α diminue moins vite que θ n'augmente, $(\theta+\alpha)$ augmente, la ligne s'éloigne de l'axe. Il existe donc une valeur de $(\alpha+\theta)$ pour laquelle les lignes $(pq\bar{1})$ sont à une distance de l'axe $[001]$ qui reste stationnaire quand les indices varient (Shinohara, 1935).

Plus quantitativement, cherchons la valeur de p^2+q^2+1 correspondant à la position pour laquelle $(\alpha+\theta)$ est minimum. Posons

$$x = \sqrt{p^2+q^2+1}, \quad b = \lambda/2a.$$

a est le paramètre du cristal cubique
 λ la longueur d'onde associée aux électrons incidents.
 On obtient

$$\sin \alpha = 1/x \quad \sin \theta = bx,$$

d'où l'on déduit

$$\sin(\alpha+\theta) = \sqrt{(1/x^2)-b^2} + b\sqrt{x^2-1}.$$

Le minimum de $(\alpha+\theta)$ s'obtient en annulant la dérivée de $(\alpha+\theta)$ par rapport à x .

On obtient

$$bx^4 \sqrt{(1/x^2)-b^2} = \sqrt{x^2-1}$$

soit

$$x^2 = 1/b.$$

La solution obtenue correspond à des plans tels que $\sin \alpha = \sin \theta$: pour ces plans, les électrons diffractés se propagent parallèlement à l'axe $[001]$.

En fait, il est exceptionnel que des plans vérifient exactement cette relation, mais il y a toujours des plans dont les indices sont tels que p^2+q^2+1 est voisin de la valeur théorique. La condition est d'ailleurs facile à réaliser du fait que pour cette valeur, $(\alpha+\theta)$ varie lentement avec la somme des carrés des indices. Le Tableau

1 indique les distances d'une ligne à l'axe [001] pour différents couples (pq) proches de la valeur théorique; la tension d'accélération du faisceau primaire a été fixée à 30 kV; tension à laquelle ont été prises les photographies du montage de la Fig. 6.

Nous avons calculé la distance en prenant une échelle angulaire 10^{-2} rad. = 3,88 mm correspondant à un cercle de 63 mm de rayon. La courbe (Fig. 13) obtenue expérimentalement montre que, pour le cercle, $1 - \cos(\alpha + \theta)$ est bien proportionnel à la longueur d'onde des électrons primaires. Comme le cercle est formé par les plans ($pq1$) tels que $p^2 + q^2 + 1 = \frac{2a}{\lambda}$ ce ne sont pas toujours les mêmes plans qui donnent les cercles; leurs indices dépendent de la tension d'accélération du faisceau incident.

A 30 kV, le minimum est atteint pour $x^2 = p^2 + q^2 + 1 = 152$. On trouve, en admettant une erreur de 0,4 mm sur la mesure du rayon de 63 mm:

8 plans de type 11 1 1
 8 plans de type 9 7 1
 8 plans de type 11 3 1
 8 plans de type 11 5 1
 4 plans de type 9 9 1
 8 plans de type 11 7 1
 8 plans de type 13 1 1
 8 plans de type 13 3 1

soit au total 60 plans pour le cercle complet.

Par rapport au fond continu, une moitié du cercle est blanche et l'autre moitié noire, cette dernière correspondant aux plus fortes incidences du faisceau primaire sur l'échantillon. Compte tenu des conditions de contraste signalées dans la première partie, la zone de non contraste séparant les deux parties du cercle correspond bien à un diamètre horizontal h (Fig. 1). Pour le même échantillon de surface (111), le cercle observé autour de l'axe [111] est entièrement blanc: il correspond à une incidence constante du faisceau primaire sur l'échantillon. On peut noter que si la ligne ($p\bar{q}1$) est tangente au cercle, la ligne ($\bar{p}q1$) définissant l'autre bord de bande, passe au voisinage du centre du cercle. Nous étudierons ces lignes dans une quatrième partie.

Paraboles

Les paraboles que l'on observe au voisinage des bandes de type (220) sont visiblement constituées de segments rectilignes (Fig. 9); mais l'on peut montrer que les enveloppes de ces segments sont bien des paraboles. En effet les plans (pqr), ($p'q'r'$) et ($2\bar{2}0$) appartiennent à une même zone lorsque leurs vecteurs dans l'espace réciproque sont coplanaires, soit pour

$$\frac{r}{r'} = \frac{p+q}{p'+q'} \quad (1)$$

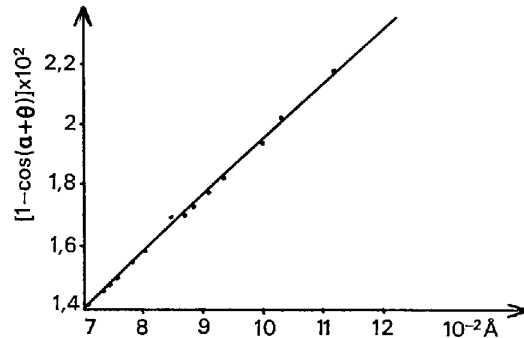


Fig. 13. Variations expérimentales du diamètre du cercle [001]

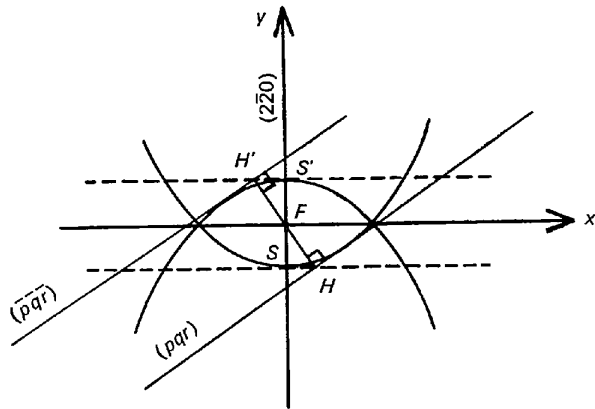


Fig. 14. Les bandes correspondant aux plans (pqr) et ($2\bar{2}0$) enveloppent deux paraboles de foyer F .

Tableau 1

Indices	$p^2 + q^2 + 1$	θ (radians)	α (radians)	$\alpha + \theta$ (radians)	Distances à l'axe (mm)
7 7 1	99	0,065350	0,100674	0,166024	64,4733
9 5 1	107	0,067926	0,096825	0,164751	63,9792
11 1 1	123	0,072822	0,090289	0,163111	63,3424
9 7 1	131	0,075185	0,087482	0,162667	63,1698
11 3 1	131	0,075185	0,087482	0,162667	63,1698
11 5 1	147	0,079658	0,082591	0,162249	63,0075
9 9 1	163	0,082919	0,079325	0,162244	63,0057
11 7 1	171	0,085930	0,076545	0,162475	63,0953
13 1 1	171	0,085930	0,076545	0,162475	63,0953
13 3 1	179	0,087922	0,074814	0,162736	63,1966
11 9 1	203	0,093648	0,070244	0,163892	63,6456
13 7 1	219	0,097279	0,067626	0,164905	64,0390

Les plans d'une même zone donnent des bandes, dont les milieux passent par un même point, qui est l'intersection de l'écran fictif d'observation et de l'axe de zone passant par le point O de pivotement du faisceau. En fait, l'axe de zone étant en général incliné par rapport à la direction moyenne du faisceau incident, le point ainsi obtenu n'est qu'approximativement au milieu des différentes bandes (Fig. 11), mais l'inclinaison de l'axe de zone sur le plan d'observation étant toujours faible, nous négligerons cet effet. Soit F l'intersection sur l'écran d'observation du milieu des bandes (pqr) et ($2\bar{2}0$), cette dernière bande étant choisie comme direction de l'axe Fy (Fig. 14). La largeur d'une bande (pqr) est telle que:

$$FH = FH' = \frac{\lambda LG}{2a} \sqrt{p^2 + q^2 + r^2}.$$

LG étant la constante du microscope correspondant à la distance fictive L entre l'écran d'observation et le point de pivotement du faisceau; G est le grandissement correspondant.

D'autre part si α est l'angle entre le plan (pqr) et le plan ($2\bar{2}0$), donc l'angle entre les bandes correspondantes,

$$\cos \alpha = \frac{p - q}{\sqrt{2(p^2 + q^2 + r^2)}}$$

on en déduit les coordonnées x et y des points H et H'

$$\left. \begin{aligned} x &= \pm FH \cos \alpha = \pm \frac{\lambda LG}{2a} (p - q) \\ y &= \mp FH \sin \alpha = \mp \frac{\lambda LG}{2a} \sqrt{\frac{(p + q)^2}{2} + r^2} \end{aligned} \right\} (2)$$

En comparant (1) et (2), on voit que y reste constant pour des plans (pqr) de la zone d'axe OF quand ces plans ont même indice r . Les bandes des plans en zone avec les bandes de type ($2\bar{2}0$) enveloppent donc des paraboles de sommet S et de foyer F ainsi qu'on peut le voir sur la Fig. 9 où les bandes donnant les paraboles ont été indexées.

Si les plans ($2\bar{2}0$) sont parallèles à la ligne de plus grande pente du cristal, les bandes enveloppant les paraboles sont blanches du côté correspondant à la plus faible incidence, noires de l'autre côté, et dans ce cas, qui est celui de la Fig. 5, on observe une parabole blanche et une noire symétriques par rapport au foyer. D'autre part le cercle peut être considéré comme la limite des paraboles. En effet il est la limite des bandes correspondant aux plans qui se rapprochent de l'axe $[001]$ et les sommets des paraboles successives correspondent à de tels plans. Finalement, on peut sans aucun doute attribuer la netteté particulière des paraboles et des cercles observés au renforcement des bandes dans les régions d'intersection (Vicario, Pitaval & Fontaine, 1970).

Axes de zone

Le paragraphe précédent décrit des observations relatives aux lignes (hkl) correspondant au point B de la Fig. 11. Les lignes (hkl) correspondant à l'autre bord de bande (point B' , Fig. 11) sont situées au voisinage de l'axe de zone. Nous avons déjà décrit ces lignes au centre de l'axe $[001]$ (Vicario & Pitaval, 1969). D'indices élevés, elles donnent des figures dont la forme varie rapidement avec l'énergie des électrons incidents (Fig. 10).

Par analogie avec les lignes de Kossel, la coïncidence fortuite de trois lignes de Kikuchi permet en principe de déterminer le paramètre cristallin avec une bonne précision si la longueur d'onde des électrons est connue et réciproquement (Høier, 1969). Par exemple, on montre aisément que les lignes (11,5,1), (5,11,1) et (5,11,1) se croisent exactement sur l'axe de zone $[001]$ pour une longueur d'onde λ des électrons incidents telle que

$$147\lambda = 4a.$$

Pour cette valeur les lignes sont d'ailleurs hors de contraste par confusion des lignes noires et blanches. La précision sur la mesure de λ est donc théoriquement la même que sur la mesure du paramètre a . Nous discuterons ultérieurement les limitations expérimentales imposées essentiellement par l'estimation de la coïncidence exacte (Pitaval, Fontaine & Durupt, 1970).

Conclusion

Bien que l'origine des lignes observées en microscopie électronique à balayage ne soit pas la même que celle des lignes de Kikuchi observées en microscopie électronique conventionnelle, les figures obtenues sont géométriquement analogues (Wilman, 1948a, b). Paraboles et cercles observés peuvent s'interpréter comme enveloppes de lignes. La position des lignes d'indices élevés qui apparaissent au voisinage des axes de zone varie rapidement avec des variations éventuelles du paramètre cristallin: elles doivent permettre une mesure précise de ces variations.

Note ajoutée aux épreuves: Depuis l'envoi de cet article, l'inversion du contraste d'une bande aux fortes incidences a également été observée par E. D. Wolf & T. E. Everhart (communication privée) pour une position différente du détecteur (annulaire autour du faisceau incident I), confirmant que l'effet n'est pas dû à la position géométrique de ce détecteur.

Références

- ALAM, M. N., BLACKMAN, M. & PASHLEY, D. M. (1954). *Proc. Roy. Soc. A* **221**, 224.
 BOOKER, G. R., SHAW, A. M. B., WHELAN, M. J. & HIRSCH, P. B. (1967). *Phil. Mag.* **16**, 1185.
 COATES, D. G. (1967). *Phil. Mag.* **16**, 1179.
 HØIER, R. (1969). *Acta Cryst.* **A25**, 516.
 JAMES, R. W. (1962). *The Optical Principles of the Diffraction of X-rays*. London: Bell.

- PITAVAL, FONTAINE, G. & DURUPT, P. (1970). Septième Congrès International de Microscopie Electronique, Grenoble.
- SCHULSON, E. M. & VAN ESSEN, C. G. (1969). *J. Sci. Instrum.* **2**, 247.
- SHAW, A. M. B., BOOKER, G. R. & COATES, D. G. (1969). *J. Sci. Instrum.*, **2**, 243.
- SHINOHARA (1935). *Phys. Rev.* **47**, 730.
- VAN NIEUWENHUYZE, F., PINARD, P., PITAVAL, M., VICARIO, E. & UZAN, R. (1969). *C.R. Acad. Sci. Paris*, **B 268**, 1409.
- VICARIO, E. & PITAVAL, M. (1969). *C.R. Acad. Sci. Paris*, **B 269**, 287.
- VICARIO, E., PITAVAL, M., DUPUY, C. & UZAN, R. (1968). *C.R. Acad. Sci. Paris*, **B 267**, 874.
- VICARIO, E. PITAVAL, M. & FONTAINE, G. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **B 270**, 1402.
- VICARIO, E., PITAVAL, M. & UZAN, R. (1970). *J. Sci. Instrum.* **3**, 323.
- WILMAN, H. (1948a). *Proc. Phys. Soc.* **60**, 341.
- WILMAN, H. (1948b). *Proc. Phys. Soc.* **61**, 416.

Acta Cryst. (1971). **A27**, 6

A Method for the Extension and Refinement of Crystallographic Protein Phases Utilizing the Fast Fourier Transform

BY A. N. BARRETT*

Department of Biology, Columbia University, New York, U.S.A.

AND M. ZWICK†

Department of Biochemistry, Stanford University, School of Medicine, Stanford, California, U.S.A.

(Received 26 August 1969 and in revised form 16 March 1970)

A method is formulated for refining and/or extending a set of crystallographic phases by real-space convolution utilizing the fast Fourier-transform algorithm. The method is applied to extending a set of myoglobin phases and the results show that high-resolution structural information can be obtained from high-resolution intensities and low-resolution phases.

Increasing interest is being shown in the application of the Karle & Hauptman (1956) tangent formula to refining and/or extending a set of crystallographic protein phases. Tangent formula calculations are presently done as reciprocal-space convolutions, and computer-time considerations limit the number of reflections which can be considered. Moreover, the non-negativity property of the electron-density function, which is assumed by this method, is only approximately satisfied when applied to data short of atomic resolution, and cannot be directly imposed on these data. Nor can other desirable adjustments of the electron-density function be made easily. We present a real-space method for phase extension and refinement involving the calculation of sharpened electron densities by a fast Fourier-transform algorithm, which minimizes these difficulties and is much simpler conceptually.

It is closely related to, but not analytically equivalent to, the tangent formula, and is also similar to the 'phase correction' techniques of Hoppe & Gassmann (1968). The method is here applied to predicting a set of myoglobin phases between 3 and 2 Å resolution. The

predicted phases were generated from 2 Å intensities and from 3 Å phases obtained by the method of multiple isomorphous replacement. The extended (2 Å) electron density map showed noticeable improvement over the 3 Å map.

The method

Sayre (1952) showed that a relationship between structure factors (F 's) can be derived from the fact that, for structures composed of like atoms, the electron density function, $\rho(x, y, z)$, and its square are very nearly alike. Applying this condition to a sharpened electron density function or E map (QE), consisting essentially of point atoms, calculated from normalized structure factors (E 's), one obtains the self-convolution

$$E_{\mathbf{h}} = C_{\mathbf{h}} \sum_{\mathbf{k}} E_{\mathbf{k}} E_{\mathbf{h}-\mathbf{k}}, \quad (1)$$

where C is real and, in principle, constant for a given resolution, and the E 's are complex. Equating real and imaginary parts of equation (1), and dividing, yields the tangent formula:

$$\tan \varphi_{\mathbf{h}} = \frac{\sum_{\mathbf{k}} |E_{\mathbf{k}} E_{\mathbf{h}-\mathbf{k}}| \sin(\varphi_{\mathbf{k}} + \varphi_{\mathbf{h}-\mathbf{k}})}{\sum_{\mathbf{k}} |E_{\mathbf{k}} E_{\mathbf{h}-\mathbf{k}}| \cos(\varphi_{\mathbf{k}} + \varphi_{\mathbf{h}-\mathbf{k}})}. \quad (2)$$

* Present address: Abteilung Dr K. C. Holmes, Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, 69 Heidelberg 1, Jahnstrasse 29, Germany.

† Present address: Department of Biophysics, University of Chicago, Chicago, Illinois 60637, U.S.A.