

We wish to thank R. G. Treuting for the use of his IBM 704 programs for calculation of spacings and intensities; W. J. Romanow for his aid with the calculations; D. Dorsi for making the compounds; C. E. Miller for taking the photographs; and L. C. Lovell for measuring some of the films.

References

BATES, L. F. & NEWMANN, M. M. (1958). *Proc. Phys. Soc.* **72**, 465, 345.
 ENDTNER, F. & KLEMM, W. (1943). *Z. anorg. Chem.* **252**, 64.

HEUMANN, T. (1948). *Nachr. Wiss. Göttingen*, **1**, 21.
 NESBITT, E. A., WERNICK, J. H. & CORENZWIT, E. (1959). *J. Appl. Phys.* **30**, 365.
 NOWOTNY, H. (1942). *Z. Metallk.* **34**, 247.
 TEMPLETON, D. H. & DAUBEN, C. H. (1950). *Acta Cryst.* **3**, 261.
 THOMAS, L. H. & UMEDA, K. (1957). *J. Chem. Phys.* **26**, 293.
 VOGEL, R. from investigations of FÜLLING, W. (1947). *Metallforschung*, **2**, 97.
 WEINER, R. T., FREETH, W. E. & RAYNOR, G. V. (1957). *J. Inst. Met.* **86**, 185.

Acta Cryst. (1959). **12**, 665

Die Bestimmung genauer Schweratomparameter in isomorphen azentrischen Kristallen

VON W. HOPPE*

MRC-Unit for Molecular Biology, Cavendish Laboratory, University Cambridge, Cambridge, England

Eingegangen am 11. November 1958, revidiert 24. Februar 1959

The determination of accurate heavy atom parameters in acentric crystals is discussed in this paper.

(A) There are two possibilities for the determination of coordinates using all measured intensities:

(1) Correlation functions. The correlation functions are modulated by the structure of the crystal, thus disturbing the determination of the heavy atom coordinates. The influence of the crystal structure is discussed using convolution principles for the following correlation functions constructed with the observed structure factors F of the protein, F_1 of its heavy atom derivative, and f_1 of the heavy atoms only:

$$\begin{aligned} C\text{-function (coefficients } A_1 A_2; A_1 &= \{|F_1|^2 - |F|^2\}), \\ C'\text{-function (coefficients } A_1 A_2; A_1 &= \{|F_1|^2 - |F|^2 - f_1^2\}/2f_1), \\ C''\text{-function (coefficients } \varphi_1 \varphi_2; \varphi_1 &= A_1/|F|), \\ C'''\text{-function (coefficients } W_1 W_2; W_1 &= \{|F_1|^2 - |F|^2 - f_1^2\}). \end{aligned}$$

It is shown that pseudocentres of symmetry particularly disturb the determination. The calculation of the composing convolution structures in a special case (myoglobin) suggests that the structure of protein crystals is quite suitable for the use of correlation functions. An error theory, based on the Gaussian error distribution law, is given. Examples of the correlation functions (in the case of myoglobin) have been calculated.

(2) In the special case of one heavy atom in the asymmetric unit a determination of the heavy atom parameters with a simultaneous elimination of the influence of the crystal structure is in principle possible.

(B) In case preliminary coordinates of the heavy atom parameters and of the phases of the acentric crystal have been determined, modified refinement methods are possible (namely difference Fourier synthesis and least-squares refinement of the heavy atom parameters).

Die erste, nach der Methode des multiplen isomorphen Ersatzes berechnete azentrische Projektion eines azentrischen Kristalles (Hämoglobin) wurde von Blow (1957) bestimmt; vor kurzem gelang es Kendrew (1958) eine dreidimensionale Fouriersynthese eines Eiweisskristalles (Myoglobin) mit einer Auflösung von

6 Å zu rechnen, welche die Anordnung der Peptidketten und den Ort der Hämingruppe zeigte.

Nach der Theorie des multiplen isomorphen Ersatzes müssen zunächst die Schweratomparameter bestimmt werden, wobei es nötig ist, diese Parameter auf irgend einen Punkt im nicht zentrosymmetrischen Proteingitter zu beziehen. Im Falle der erwähnten Myoglobinstruktur (Raumgruppe $P2_1$) ist eine Schraubenachse entlang b ausgebildet, in welche man aus

* Gast aus dem Physikal. chem. Institut der T. H. München, München, Deutschland.

Symmetriegründen den Ursprung legen wird. Damit ist der Bezugspunkt für die x - und z -Parameter festgelegt, doch bleibt derjenige für die y -Koordinate völlig willkürlich. Während man zur Bestimmung der x - und z -Parameter die üblichen Methoden des isomorphen Ersatzes in zentrosymmetrischen Fall benutzen kann, muss man, worauf Harker als erster hinwies (Harker, 1956), Methoden ausbilden, welche auch die Bestimmung der y -Parameter gestatten. Die Harkersche Methode verwendet Intensitätsdifferenzen zwischen einzelnen ausgewählten gleichindizierten Reflexen von Schweratomderivaten und schweratomfreiem Protein zur Bestimmung dieser Parameter. Von Perutz (1956) wurde darauf hingewiesen, dass die beträchtlichen experimentellen Messfehler dieser naturgemäss geringen Differenzen, sowie der Einfluss von Abweichungen von einer genauen Isomorphie (welche in unübersichtlicher Weise manche Reflexe besonders beeinflussen kann), statistische Methoden empfehlenswert erscheinen lassen, in denen möglichst viele Reflexe zur Parameterbestimmung beitragen. Kürzlich wurden von Bragg (1958) neue Methoden zur Bestimmung von Schweratomparametern aus nichtzentrosymmetrischen Projektionen von Eiweisskristallen angegeben, welche auf einer Auswertung von Intensitätsdifferenzen im reziproken Raum beruhen. Die genannten Arbeiten lassen noch eine Anzahl von Fragen offen. So kann aus den Diagrammen von Perutz (1956) entnommen werden, dass die verwendeten Korrelationsfunktionen eine Untergrundruhe haben müssen, welche nicht von experimentellen Messfehlern, sondern von der Struktur des Proteins abhängig ist und somit, auch bei hypothetischen fehlerlosen Messungen, Verfälschungen der Schweratomparameter hervorruft; es wäre erwünscht, aus der Theorie der Korrelationsfunktionen Schlüsse über Art und Grösse dieser Unruhe zu ziehen und evt. Wege für ihre Verminderung und Beseitigung zu finden. Unklar ist ferner die Beziehung der Bragg'schen Methode zur statistischen Methode. Die vorliegende Arbeit wird sich mit diesen Fragen beschäftigen und ferner verschiedene Wege zur Schweratombestimmung von nicht zentrosymmetrischen Kristallen prüfen.

Zur Theorie der Korrelationsfunktionen

Wir betrachten zunächst die C' -Funktion und die C -Funktion nach Perutz (1956). In der C' -Funktion sind die Koeffizienten definiert durch $A_1 \cdot A_2$ mit

$$\begin{aligned} A_1 &= \{|F_1|^2 - |F|^2 - f_1^2\} 2f_1 \\ A_2 &= \{|F_2|^2 - |F|^2 - f_2^2\} 2f_2 \end{aligned} \quad (1)$$

(F = Strukturfaktor des Proteins, F_1 = Strukturfaktor des einen und F_2 = Strukturfaktor des anderen Schweratomderivates.)

Die Formel ist in dieser Form nur verwendbar, wenn die Schweratome — nicht das Protein! — ein

Symmetriezentrum im Kristall besitzen; f_1 und f_2 sind die Schweratombeiträge, bezogen auf diese Symmetriezentren.

In der C -Funktion sind die Koeffizienten definiert durch Δ_1, Δ_2 mit

$$\begin{aligned} \Delta_1 &= \{|F_1|^2 - |F|^2\} \\ \Delta_2 &= \{|F_2|^2 - |F|^2\}. \end{aligned} \quad (2)$$

Die Funktionen haben die Form

$$C'(u, v, w) = \sum_h \sum_k \sum_l A_1 A_2 \cos 2\pi(hu + kv + lw) \quad (3)$$

bzw.

$$C(u, v, w) = \sum_h \sum_k \sum_l \Delta_1 \Delta_2 \cos 2\pi(hu + kv + lw). \quad (4)$$

Perutz (1956) gibt einige Beispiele der C' -Funktion bzw. C -Funktion einfacher Strukturen durch graphische Konstruktion, welche auch die Bildung eines 'Untergrundes' mit singulären Nebenmaxima zeigen. Die Betrachtung der Koeffizienten $A_1 \cdot A_2$ bzw. $\Delta_1 \cdot \Delta_2$ zeigt, dass sie aus Summen von Produkten von Struktur Faktoren bestehen, denen offenbar im Ortsraum Überlagerungen von Faltprodukten entsprechen müssen.

Bei Ableitung dieser Faltstruktur benützen wir nun die gleichen einfachen Regeln, welche in einer früheren Arbeit ähnlicher Zielsetzung benutzt wurden (Hoppe, 1957): Wir bilden die Koeffizienten der Reihen unter ausschliesslicher Verwendung der Darstellung mit imaginären Exponentialfunktionen, mit Deutung des Resultats als 'Strukturfaktor' bei gleichzeitigem Ablesen der, diesem 'Strukturfaktor' zu Grunde liegenden Struktur aus der Form der Faktoren.

Wir betrachten als spezielles Beispiel die Raumgruppe $P2_1$ (Raumgruppe der monoklinen Myoglobinnmodifikation), wobei wir die Schweratompunktage in der Form schreiben: $x, -\frac{1}{4} + y, z; \bar{x}, \frac{1}{4} + y, \bar{z}$.

Es folgt:

$$F_1 = F + f_1 \exp(2\pi i k y_1)$$

mit

$$\begin{aligned} f_1 &= f_{0,1} \exp(2\pi i (hx_1 - k\frac{1}{4} + lz_1)) \\ &\quad + f_{0,1} \exp(2\pi i (h\bar{x}_1 + k\frac{1}{4} + \bar{l}z_1)) \end{aligned} \quad (5)$$

($f_{0,1}$ = Atomformfaktor der Schweratome)

(ebenso F_2); f_1 beschreibt den Streubeitrag der beiden Schweratome in der Elementarzelle mit Bezug auf ihr Symmetriezentrum. Wir bilden nach (1) die Glieder

A_1 (bzw. A_2):

$$\begin{aligned} A_1 &= \{F_1 F_1^* - f_1^2 - F F^*\} / 2f_1 \\ &= \frac{1}{2} \{F^* \exp(2\pi i k y_1) + F \exp(-2\pi i k y_1)\} \end{aligned} \quad (6)$$

und $A_1 A_2$

$$\begin{aligned} A_1 A_2 &= \frac{1}{4} \{F F^* \exp(2\pi i k (y_1 - y_2)) \\ &\quad + F^2 \exp(2\pi i k (\bar{y}_1 + \bar{y}_2)) \\ &\quad + F^{*2} \exp(2\pi i k (y_1 + y_2)) \\ &\quad + F F^* \exp(2\pi i k (\bar{y}_1 - \bar{y}_2))\}. \end{aligned} \quad (7)$$

Bei dieser Ableitung ist wesentlich, dass f_1 reell geschrieben werden kann, d.h. dass die Schweratome einen zentrosymmetrischen Komplex (bekannter Struktur und Orientierung) in der Elementarzelle aufbauen. Ein analoger Fall liegt auch in Raumgruppe $P2$ vor, in welcher f_1 die Form annimmt:

$$f_1 = f_{0,1} \exp(2\pi i(hx_1 + ky_1)) + f_{0,1} \exp(2\pi i(h\bar{x}_1 + k\bar{y}_1)). \quad (8)$$

Bei nicht zentrosymmetrischen Komplexen lässt sich A_1 nicht mehr in der einfachen Form (6) schreiben.

Eine aus Fourierkoeffizienten A_1A_2 aufgebaute Reihe wird also nach (7) aus 4 Strukturen bestehen. Das erste Glied entspricht der Patterson des Proteins, dessen n -faches Nullmaximum den Ort $(0, y_1 - y_2, 0)$ einnimmt (n = Zahl der Atome in der Elementarzelle). Es entspricht dem Maximum mit n -facher Multiplizität in der Perutzschen Korrelationsfunktion; die Pattersonfunktion wird im vierten Glied zentrosymmetrisch wiederholt. Von besonderem Interesse sind jedoch das 2. und 3. Glied in (7), welche den Ort $-(y_1 + y_2)$ und $(y_1 + y_2)$ einnehmen. Sie bestehen aus dem Faltprodukt der Proteinstruktur mit sich selbst, bzw. dem enantiomorphen Produkt, deren jedes nur bei zentrosymmetrischen Strukturen gleich der Pattersonstruktur ist. Man kann bekanntlich diese Faltprodukte als ein Mass für die Zentrosymmetrizität einer Struktur ansehen: Jedes Maximum dieser Funktion kennzeichnet eine Gruppierung von Atomen mit Symmetriezentrum. Aus (7) lässt sich also sofort der Schluss ziehen, dass beträchtliche zentrosymmetrische Gruppierungen in einer sonst asymmetrischen Struktur die Auswertung mit der A_1A_2 -Funktion stören werden. Selbstverständlich stören auch starke Nebenmaxima der Pattersonfunktion, sei es, dass sie das Erkennen der Hauptmaxima wegen ihrer Stärke erschweren, oder sei es, dass Flanken benachbarter Seitenmaxima das Hauptmaximum verschieben.

Wir erkennen also, dass die A_1A_2 -Funktionen eigentlich nur dann untergrundfrei sind, wenn der untersuchte Kristall eine reine Zufallstruktur — also eigentlich überhaupt keine Struktur im kristallographischen Sinne — besitzt.

Es stellt sich nun die Frage, ob dieser verfälschende Einfluss der Kristallstruktur abgeschätzt oder evt. durch Modifikationen der A_1A_2 -Koeffizienten vermindert oder gar beseitigt werden kann. Der Einfluss von Glied 1 und 4 in (11) ist leicht zu bestimmen, denn die Pattersonfunktion kann ohne Phasenkenntnis berechnet werden. Hingegen erfordert die Berechnung der F^2 -Reihe die Eingabe der Phasen des Proteins. Man kann aber natürlich mit Vernachlässigung des Einflusses des Untergrundes Schweratomparameter bestimmen, Phasen ableiten, mit ihrer Kenntnis die F^2 -Reihe rechnen und so nachträglich den Einfluss des Untergrundes auf die A_1A_2 -Reihe bestimmen. Wir haben diese Rechnungen für die c -Projektion von Myoglobin Type A mit Verwendung der bekannten

Positionen der Schweratome durchgeführt, wobei die Phasenbestimmung für diese Projektion von einer Grenze von 6 Å Auflösung auf 2,7 Å Auflösung erweitert wurde*. Fig. 1 zeigt zunächst die Patterson

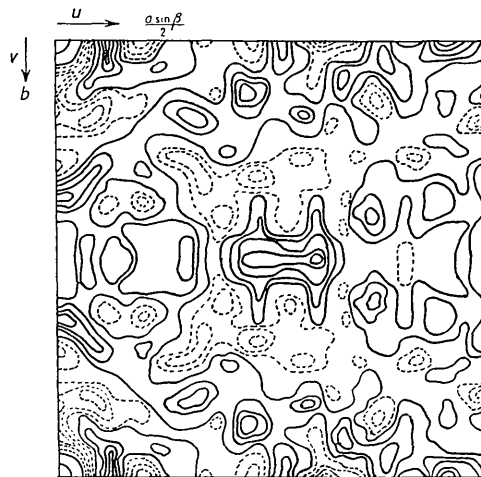


Fig. 1. Pattersonsynthese $P_{u,v}$ von Myoglobin (monokline Modifikation A , Raumgruppe $P2_1$, $a = 64,4$ Å, $b = 31,1$ Å, $c = 34,8$ Å, $B = 105,5^\circ$). Zur Beurteilung der Eignung als Korrelationsfunktion interessiert das Verhältnis vom Unterschied des tiefsten Minimums und höchsten Nebenmaximums zum Nullmaximum (ca. 18%). Vgl. Fig. 4, in welcher ein Schnitt $P_{0,v}$ dargestellt ist. Auflösung 2,7 Å.

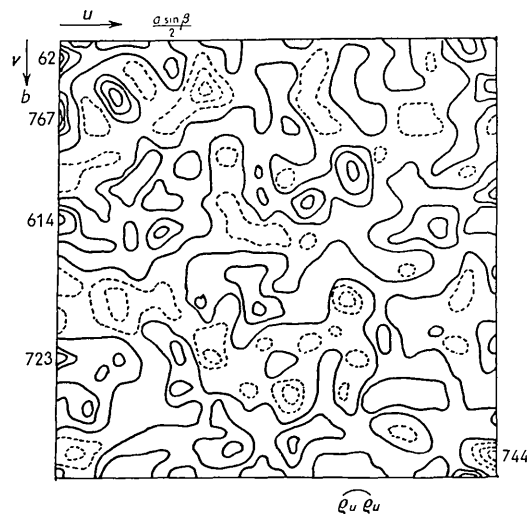


Fig. 2. F^2 -Synthese $P'_{u,v}$ von Myoglobin (Synthese der gleichen Fourierkoeffizienten wie in Fig. 1, doch mit doppelter Proteinphase). Fehlen eines Nullmaximums; die Nebenmaxima kennzeichnen die Zentrosymmetrizität der Struktur. Vgl. in Fig. 4 den Schnitt $P'_{0,v}$. Auflösung 2,7 Å.

dieser Projektion, Fig. 2 die Fourier-synthese der F^2 -Reihe. Es zeigt sich, dass offenbar die F^2 -Reihe im wesentlichen welligenkeitsbestimmend ist: Ihre ma-

* Ich danke Herrn Dr. J. C. Kendrew für Überlassung der für diese Rechnungen benötigten experimentellen Daten.

ximale Welligkeit ist etwa doppelt so gross wie die Welligkeit der Pattersonstruktur. Fig. 4 zeigt je einen Schnitt entlang der Linie $(0, y, 0)$ durch die Patterson- und die F^2 -Reihe.

Die Welligkeit der Funktionen in Fig. 1 und 2 ist recht beträchtlich. Die Verhältnisse verbessern sich, wenn von der zweidimensionalen Reihe zur dreidimensionalen Reihe übergegangen wird. Die maximale Welligkeit, welche z.B. bei der zweidimensionalen Patterson 18% des Nullmaximums beträgt, sinkt bei der dreidimensionalen Patterson auf ca. 8%. Hingegen dürfte die Genauigkeit der Schweratomparameterbestimmung kaum wesentlich steigen, wenn man die Auflösung erhöht. Liegt nämlich das Pattersonnullmaximum auf der Flanke stärkerer Seitenmaxima, so kann eine Erhöhung der Auflösung sogar den Parameter verschlechtern.

Man kann sich fragen, ob diese strukturelle Untergrundschwankung in C' -ähnlichen Reihen mit modifizierten Koeffizienten verkleinert werden kann. Eine dieser Modifikationen (C'' -Funktion) ist aus (7) leicht abzuleiten. Dividiert man nämlich $A_1 A_2$ mit $F \cdot F^*$ so erhält man:*

$$\begin{aligned} \varphi_1 \varphi_2 = A_1 / |F| \cdot A_2 / |F| = \frac{1}{4} \{ & \exp(2\pi i k(y_1 - y_2)) \\ & + \exp(2\pi i k(\bar{y}_1 + \bar{y}_2)) \exp(2i\omega) \\ & + \exp(2\pi i k(y_1 + y_2)) \exp(-2i\omega) \\ & + \exp(2\pi i k(\bar{y}_1 - \bar{y}_2)) \} . \end{aligned} \quad (9)$$

(ω = Phase des Proteins.)

In dieser Reihe ist der Einfluss der Absolutwerte der Proteinstrukturparameter eliminiert, nicht jedoch der

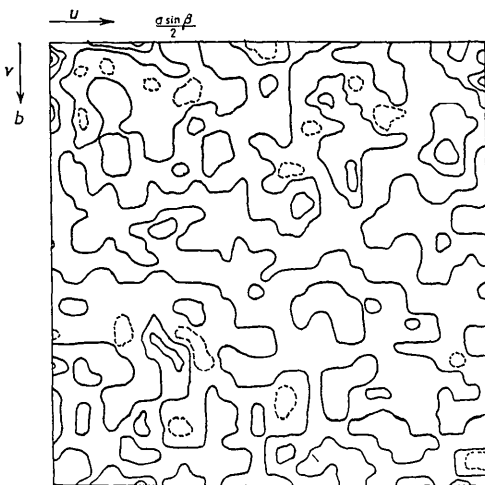


Fig. 3. Phasensynthese $P''_{u,v}$ von Myoglobin (Synthese von Einheitsfourierkoeffizienten mit doppelter Proteinphase) Geringere Welligkeit als bei $P'_{u,v}$. Vgl. in Fig. 4 den Schnitt $P'_{0,v}$. Auflösung 2,7 Å.

* Die $\varphi_1 \cdot \varphi_2$ -Funktion wurde nach anderen Gesichtspunkten von H. W. Wyckoff abgeleitet (unveröffentlicht) und in einer leicht modifizierten Form zur Bestimmung der Schweratomparameter der 6-Å-Auflösung benutzt (frdl. Mitteilung Dr. J. C. Kendrew; vgl. Fig. 7-9).

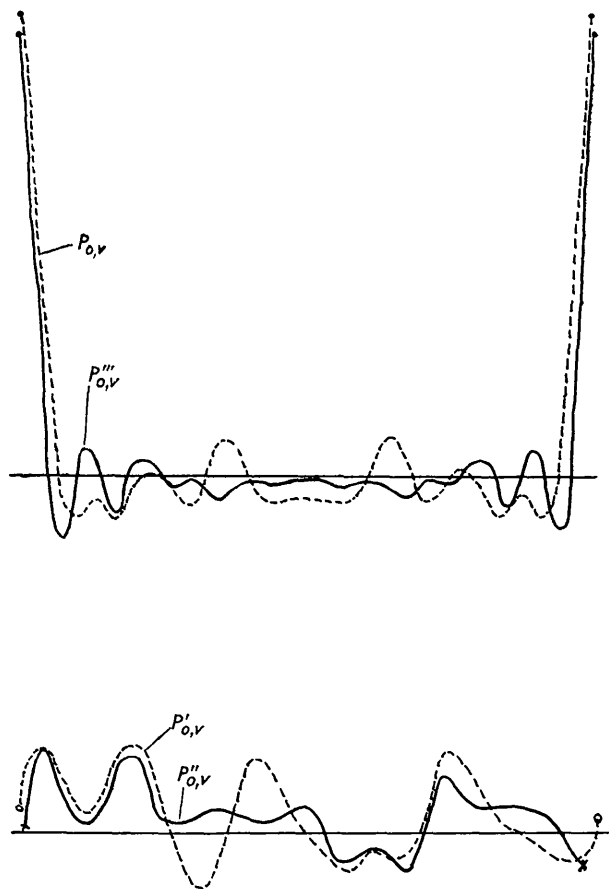


Fig. 4. Vergleich der für die Berechnung der C' - und C'' -Funktion wichtigen Schnitte durch die Korrelationsfunktionen von Myoglobin, c -Projektion

- 1) $P_{0,v}$ (Pattersonfunktion),
- 2) $P''_{0,v}$ (F^2 -Reihe mit doppelter Proteinphase),
- 3) $P'_{0,v}$ (Phasensynthese, Einheitsfourierkoeffizienten mit doppelter Proteinphase),
- 4) $P''_{0,v}$ (Synthese der Einheitsfourierkoeffizienten mit Phase Null).

Einfluss ihrer Phasen: Glied 1 und 4 liefern reine Punktstrukturen, hingegen sind Glieder 2 und 3 Überlagerungen von Einheitsfourierkoeffizienten mit doppelter Proteinphase. In Fig. 3 haben wir die 'Phasensynthese' dargestellt. (Vgl. auch Fig. 4). Als wesentliches Ergebnis ergibt sich im Falle des Myoglobins tatsächlich ein gewisses Verkleinern der Untergrundschwankung. Allerdings können die Resultate der Theorie mit der wirklich berechneten C'' -Funktion (wie übrigens auch der anderen Funktionen) nur mit gewissen Vorbehalten verglichen werden, da Messfehler starke Verfälschungen hervorrufen können. Besonders gross ist der Einfluss dann, wenn der Quotient von $A_1 A_2$ oder $\varphi_1 \cdot \varphi_2$ gegen Null geht. In Fig. 5 und 6 sind Vergleiche zwischen, aus Faltprodukten aufgebauten C'' -Funktionen und den experimentellen Funktionen durchgeführt; die Übereinstimmung ist bei

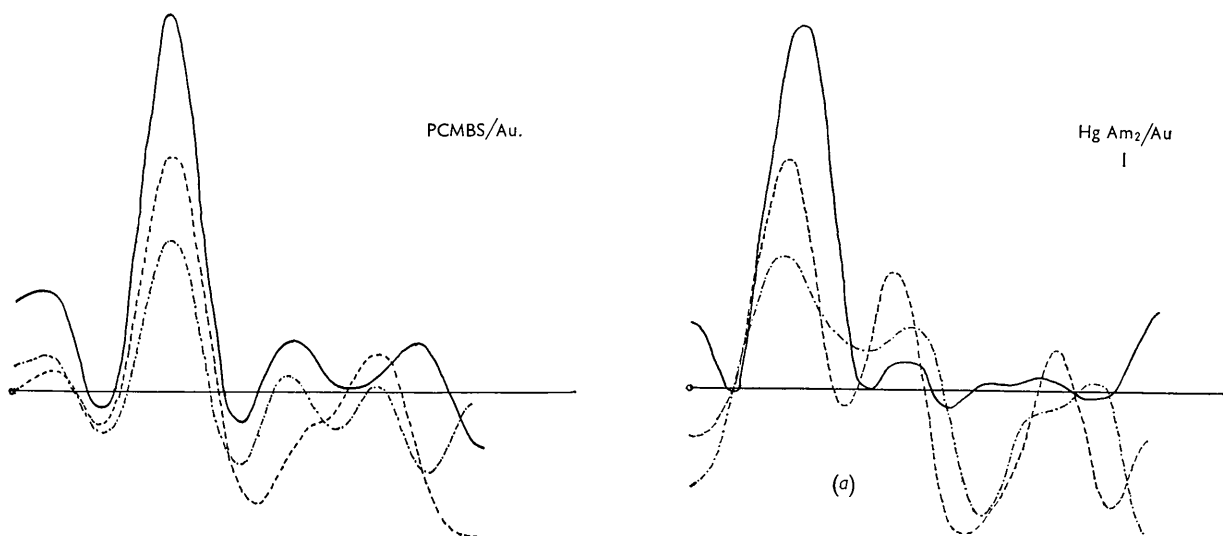


Fig. 5. Vergleich der synthetisch aus $P'_{0,v}$ und $P''_{0,v}$ zusammengesetzten C'' -Funktion (ausgezogen) mit der aus Werten von $|F_1|$ (Myoglobin + *p*-Chlormercuribenzolsulfosäure) $|F_2|$ (= Myoglobin + Goldchlorid) und $|F|$ (= Myoglobin) berechneten Funktion $C'_{0,v}$ mit 2 verschiedenen empirischen Korrekturen für $\varphi_1 \cdot \varphi_2$: für $f_1, f_2, |F| > 0$ (strichpunktirt und strichliert; ich danke Herrn Dr. Kendrew für die Überlassung dieser, für die dreidimensionale Fouriersynthese von Myoglobin verwendeten Kurven).

Die Ähnlichkeit zwischen den konstruierten und berechneten C'' -Funktionen ist wegen des verschiedenen Einflusses der Messfehler nur in groben Zügen vorhanden.

Berücksichtigung der starken Messfehler befriedigend. Um die erwähnte Unbestimmtheit mit fallenden f_1 und F zu verringern, war in einer der experimentellen Funktionen (strichpunktirte Kurve) f_1 durch $f_1 + \Delta f$, sowie $|F|$ durch $|F| + \Delta|F|$ ersetzt worden (Δf und $\Delta|F|$ sind empirische Konstanten); während in der anderen (strichlierte Kurve) zusätzlich Werte von $\varphi_1 \varphi_2 > 1$ auf 1 reduziert wurden. In ähnlicher Weise kann die Struktur der C -Funktion studiert werden.

Eine, zu (5)–(9) analoge Ableitung ergibt nämlich:

$$\begin{aligned} \Delta_1 \Delta_2 = & f_1 f_2^* F F^* \exp(2\pi i k (y_1 - y_2)) \\ & + f_1^* f_2 F F^* \exp(2\pi i k (\bar{y}_1 - \bar{y}_2)) \\ & + f_1 f_2 F^{*2} \exp(2\pi i k (y_1 + y_2)) \\ & + f_1^* f_2^* F^2 \exp(2\pi i k (\bar{y}_1 + \bar{y}_2)) \\ & + f_1 f_1^* f_2 F^* \exp(2\pi i k y_2) \\ & + f_1 f_1^* f_2^* F \exp(2\pi i k \bar{y}_2) \\ & + f_2 f_2^* f_1 F^* \exp(2\pi i k y_1) \\ & + f_2 f_2^* f_1^* F \exp(2\pi i k \bar{y}_1) + f_1 f_1^* f_2 f_2^* . \quad (10) \end{aligned}$$

f_1 (bzw. f_2) bedeutet wieder wie in (5) den Beitrag der Schweratomgruppe in Bezug auf einen, dieser Gruppe zugeordneten Punkt. Die Bedingung $f_1 = f_1^*$ kann fallen gelassen werden, da nicht, wie in (6), eine Division mit f_1 (zur Eliminierung von f_1) vorgesehen ist. In der neungliedrigen Reihe (10) enthalten nur die Glieder 1 und 2 schweratomparameterbestimmende Pattersonnullmaxima mit n -fachem Gewicht. Vernach-

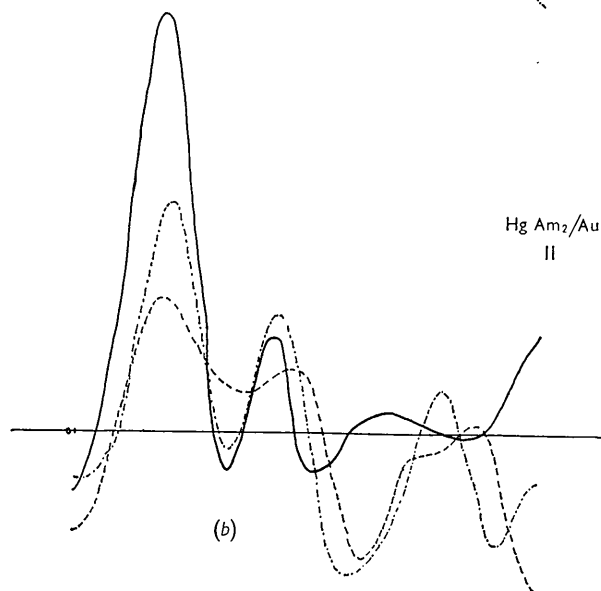


Fig. 6. Wie Fig. 5, doch mit $|F_1|$ (= Myoglobin + Goldchlorid) und $|F_2|$ (= Myoglobin + Quecksilberpräzipitat ($\text{Hg}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$)).

Fig. 6(a) (ausgezogene Kurve) ist mit einem etwas anderen Schweratomparameter konstruiert als (b). Man beachte die starke Abhängigkeit der Struktur der Nebenmaxima vom Schweratomparameter. (a) (welche mit den, aus den experimentellen Kurven entnommenen Schweratomlagen konstruiert wurde), zeigt eine Verschiebung des Hauptmaximums nach rechts, welche in (b) etwas überkompensiert wurde.

Es fällt auf, dass die Fig. 6 eine schlechtere Übereinstimmung mit der berechneten Kurve zeigt als Fig. 5. Da auch die Differenzfouriersynthese von Myoglobin + $\text{Hg}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$ wesentlich stärkere Untergrundschwankungen zeigt als bei den anderen Schweratomverbindungen (frdl. Privatmitteilung von Dr. J. C. Kendrew), kann vielleicht angenommen werden, dass entweder die Isomorphie stärker gestört wird, oder dass (mit geringerer Wahrscheinlichkeit) Einlagerung des Schweratoms auch an anderen Stellen des Moleküls erfolgen kann.

lässt man den Untergrund, so lässt sich (10) in erster Näherung schreiben als

$$A_1 A_2 \sim c f_2 f_1^* \exp(2\pi i(\bar{y}_1 - \bar{y}_2)) + c f_2^* f_1 \exp(2\pi i(y_1 - y_2)). \quad (11)$$

(c = Multiplizität des Pattersonnullmaximums); d.h. die Pattersonnullmaxima bilden eine, mit den beiden enantimorphen Faltprodukten der Schweratomkomplexe besetzte Struktur, wobei diese Faltprodukte um den doppelten relativen b -Parameter $2(y_1 - y_2)$ gegeneinander verschoben sind. Die Diskussion des Untergrundes von (10) ist allerdings entsprechend der Gliederzahl von (10) unerfreulich. Es ist daher günstiger, die C -Funktion in eine, zwischen C' -Funktion und C -Funktion liegende C'' -Funktion zu ändern, in welcher die Koeffizienten durch

$$W_1 W_2 = (F_1 F_1^* - F F^* - f_1 f_1^*)(F_2 F_2^* - F F^* - f_2 f_2^*) \quad (12)$$

definiert seien. Die Pattersonnullmaxima besetzen die gleiche Struktur wie in (15), es wird aber die neungliedrige Reihe wieder auf eine viergliedrige reduziert:

$$W_1 W_2 = f_1 f_2^* F F^* \exp(2\pi i k(y_1 - y_2)) + f_1^* f_2^* F^2 \exp(2\pi i k(y_1 + y_2)) + f_1 f_2 F^{*2} \exp(2\pi i k(y_1 + y_2)) + f_1^* f_2 F F^* \exp(2\pi i k(\bar{y}_1 - \bar{y}_2)) \quad (13)$$

welche der Reihe (7) analog gebaut ist. Es sind nur die 'Punkte' $\pm(y_1 - y_2)$ durch Schweratomfaltprodukte ersetzt. Im Fall $P2_1$ mit einem Schweratom in der asymmetrischen Einheit ergibt es sich z.B. nach (5) und nach (13)

$$f_1 f_2 = f_{0,1} \cdot f_{0,2} \{ \exp(2\pi i[h(x_1 + x_2) - k\frac{1}{2} + l(z_1 + z_2)]) + \exp(2\pi i[h(x_2 - x_1) + l(z_2 - z_1)]) + \exp(2\pi i[h(\bar{x}_2 - \bar{x}_1) + l(\bar{z}_2 - z_1)]) + \exp(2\pi i[h(\bar{x}_1 + \bar{x}_2) + k\frac{1}{2} + l(\bar{z}_1 + \bar{z}_2)]) \} \quad (14)$$

$$f_1 = f_1^*; \quad f_2 = f_2^*;$$

zu einer Punktstruktur mit den Punktlagen

$$x_1 + x_2, \quad \frac{1}{2}, z_1 + z_2; \quad x_2 - x_1, 0, z_2 - z_1; \\ \bar{x}_1 + \bar{x}_2, \quad -\frac{1}{2}, \bar{z}_1 + \bar{z}_2; \quad x_1 - x_2, 0, z_1 - z_2.$$

Fehlertheorie der Korrelationsfunktionen

Diese Theorie der Korrelationsfunktionen setzt voraus, dass keine Messfehler vorliegen. Diese Bedingung ist bei Proteinen sehr schlecht erfüllt. Die in den verschiedenen Korrelationsfunktionen verwendeten Koeffizienten enthalten durchwegs relativ kleine Intensitäts- bzw. Strukturfaktordifferenzen, welche mit grossen Fehlern behaftet sein müssen. Bei dem Versuch einer theoretischen Erfassung dieser Fehler stösst man zunächst auf die ganz allgemeine in der Fehlertheorie der Strukturanalyse auftretende Schwierigkeit der Unkenntnis des Fehlers in Abhängigkeit von der Messgrösse. Wir betrachten die Verhältnisse mit den beiden

üblichen Annahmen $\Delta|F| = \text{const.}$ und $\Delta|F|^2 = \text{const.}$ Ferner ist sicher die Annahme berechtigt, dass diese Fehler für Schweratomderivate und für Proteine bei gleichen experimentellen Bedingungen ungefähr gleich sind. Die Koeffizienten der Korrelationsfunktionen sind dann zusammengesetzte Funktionen mehrerer Messgrössen, deren Fehlerfunktionen nach dem Gauschen Fehlerfortpflanzungsgesetz

$$F(x_1 \dots x_2 \dots x_n) = \left(\sum_{i=1}^n \left(\Delta x_i \cdot \frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (15)$$

berechnet werden können. Es ergibt sich dann:

(1) C' -Funktion, $\Delta|F| = \text{const.}$

$$f(x_1, x_2, x_3) = A_1 A_2 \\ x_1 = |F_1|; \quad x_2 = |F_2|; \quad x_3 = |F| \quad (16)$$

$$\Delta f_1 = \Delta|F| \left(\sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

mit

$$\frac{\partial f}{\partial x_1} = \frac{|F_1| A_2}{f_1} \quad \frac{\partial f}{\partial x_3} = - \left(\frac{A_2}{f_1} + \frac{A_1}{f_2} \right) F. \\ \frac{\partial f}{\partial x_2} = \frac{|F_2| A_1}{f_2}$$

(2) C' -Funktion, $\Delta|F|^2 = \text{const.}$ (vgl. (7)).

$$f(x_1, x_2, x_3) = A_1 A_2 \\ x_1 = |F_1|^2; \quad x_2 = |F_2|^2; \quad x_3 = |F|^2 \quad (17)$$

$$\Delta f_2 = \Delta|F|^2 \left(\sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

mit

$$\frac{\partial f}{\partial x_1} = \frac{A_2}{2f_1} \quad \frac{\partial f}{\partial x_3} = -\frac{1}{2} \left(\frac{A_2}{f_1} + \frac{A_1}{f_2} \right) \\ \frac{\partial f}{\partial x_2} = \frac{A_1}{2f_2}$$

(3) C'' -Funktion, $\Delta|F| = \text{const.}$ (vgl. (9)).

$$f(x_1, x_2, x_3) = \varphi_1 \varphi_2 \\ x_1 = |F_1|; \quad x_2 = |F_2|; \quad x_3 = |F| \quad (18)$$

$$\Delta f_3 = \Delta|F| \left(\sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

mit

$$\frac{\partial f}{\partial x_1} = \frac{\varphi_2}{2f_1 |F|} \quad \frac{\partial f}{\partial x_3} = -\frac{1}{|F|} \left(\frac{\varphi_1 \varphi_2}{|F|} + \frac{\varphi_1}{2f_2} + \frac{\varphi_2}{2f_1} \right) \\ \frac{\partial f}{\partial x_2} = \frac{\varphi_1}{2f_2 |F|}$$

(4) C'' -Funktion, $\Delta|F|^2 = \text{const.}$

$$f(x_1, x_2, x_3) = \varphi_1 \varphi_2 \\ x_1 = |F_1|^2; \quad x_2 = |F_2|^2; \quad x_3 = |F|^2 \quad (19)$$

$$\Delta f_3 = \Delta |F|^2 \left(\sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

mit

$$\frac{\partial f}{\partial x_1} = \frac{\varphi_2}{2f_1|F|} \quad \frac{\partial f}{\partial x_3} = -\frac{1}{|F|} \left(\frac{\varphi_1 \varphi_2}{|F|} + \frac{\varphi_1}{2f_2} + \frac{\varphi_2}{2f_1} \right).$$

$$\frac{\partial f}{\partial x_2} = \frac{\varphi_1}{2f_2|F|}$$

Von den dreidimensionalen (bzw. zweidimensionalen) Korrelationsfunktionen ist wegen der speziellen Lage der schweratomanzeigenden Maxima nur $C'(0, v, 0)$ oder $C''(0, v, 0)$ (vgl. (3)) (bzw. $C'(0, v)$, $C''(0, v)$, $C'(v, 0)$, $C''(v, 0)$) zu rechnen. Die dreidimensionalen (bzw. zweidimensionalen) Reihen reduzieren sich damit zu eindimensionalen Reihen, deren Koeffizienten Summen über reziproke Gitterebenen (bzw. Gittergeraden) oder, was bis auf unwesentliche Faktoren gleich ist, Mittelwerte dieser Geraden und Ebenen sind. Z.B. (vgl. (3)):

$$C'_{(0, v, 0)} \cong \sum_k R_k \cdot \cos 2\pi kv$$

$$R_k = \frac{1}{n} \sum_h \sum_l S_{(hkl)} \quad (n = \text{Anzahl der Glieder}) \quad (20)$$

mit

$$S_{(hkl)} = A_{1(hkl)} \cdot A_{2(hkl)}$$

$$S_{(hko)} = \frac{1}{2} A_{1(hko)} \cdot A_{2(hko)}, \text{ ebenso } S_{(hol)} \text{ und } S_{(okl)}$$

$$S_{(h00)} = \frac{1}{4} A_{1(h00)} \cdot A_{2(h00)}, \text{ ebenso } S_{(000)} \text{ und } S_{(00l)}$$

Man kann nun diese Mittelwerte durch gewichtete Mittelwerte ersetzen, wobei zur Gewichtsbestimmung die Fehlergleichungen (15) bis (19) Anwendung finden (p = Gewicht, n -Anzahl der Glieder)

$$p = \frac{(\Delta F)^2}{(\Delta f)^2} = \frac{1}{\sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2} \quad R'_k = \frac{\sum_h \sum_l p S}{\sum_h \sum_l p} \quad (21)$$

Man beachte, dass die gewichtete C' - bzw. C'' -Funktion — ebenso wie die ungewichteten Funktionen — voraussetzen, dass der Einfluss der Struktur des Proteins vernachlässigbar ist, dass also Absolutwerte und Phasen (oder in C'' Phasen allein) in Näherung einer Zufallsverteilung gehorchen; die Gewichtsfunktion soll den Einfluss der experimentellen Fehler reduzieren. Die Analyse der, die Korrelationsfunktionen zusammensetzenden Faltprodukte im Falle des Myoglobins zeigt, dass die Voraussetzung recht gut erfüllt ist; man vergleiche z.B. $P_{0,v}$ und $P''_{0,v}$ in Fig. 4: Die Abbruchfehler in $P''_{0,v}$ sind von der Grössenordnung der Pattersonmaxima. Die gewichtete C' - bzw. C'' -Funktion erscheint daher gut geeignet, die ersten Näherungswerte der Schweratomparameter zu finden.

Die Berechnung der Gewichte wird am besten in elektronischen Rechenmaschinen durchgeführt.

Entfernung des strukturellen Untergrundes in azentrischen Verbindungen mit einem einzigen schweren Atom in der asymmetrischen Einheit

Ist nur ein einziges schweres Atom in der asymmetrischen Einheit enthalten, so ist im Prinzip eine Bestimmung seiner Lage mit Ausschaltung des Einflusses der strukturellen Untergrundsunruhe der Korrelationsfunktionen möglich. Das Vorgehen soll am Beispiel der Raumgruppe $P2_1$ erläutert werden. Aus (6) folgt:

$$A_1 = \frac{1}{2}|F| \cos(2\pi ky_1 - \omega) \quad (22)$$

$(\omega = \text{Phase des azentrischen Kristalles})$

und φ_1 (vgl. (9)):

$$\varphi_1 = \cos(2\pi ky_1 - \omega). \quad (23)$$

Bis auf eine Vorzeichenzweideutigkeit lassen sich die Argumente von φ_1 bzw. φ_2 ausrechnen. Nun ergeben sich 4 Werte (je nach Vorzeichen der Argumente) für die Summe der beiden Argumente:

$$\arccos \varphi_1 + \arccos \varphi_2 \begin{cases} \pm [2\pi k(y_1 + y_2) - 2\omega] \\ \pm [2\pi k(y_1 - y_2)] \end{cases}$$

und für die Differenz

$$\arccos \varphi_1 - \arccos \varphi_2 \begin{cases} \pm [2\pi k(y_1 - y_2)] \\ \pm [2\pi k(y_1 + y_2) - 2\omega] \end{cases}. \quad (24)$$

Berechnet man daher sowohl Summe wie Differenz der Argumente, so wird immer einer der beiden Werte bis auf das Vorzeichen das Argument $2\pi k(y_1 - y_2)$ wiedergeben. Diese Eigenschaft lässt sich zu einer neuartigen Bestimmung der y -Koordinate des schweren Atoms ausnützen. Berechnet man nämlich für $k = \text{const.}$ die Summen und Differenzen der Argumente (bzw. um die Vorzeichenzweideutigkeit zu eliminieren, deren Cosinuswerte, also

$$u^\pm = \cos(\arccos \varphi_1 \pm \arccos \varphi_2) \quad (25)$$

und trägt diese Doppelwerte u^\pm mit steigendem k auf, so werden — vorausgesetzt, dass Messfehler ausgeschlossen sind — die Hälfte aller u -Werte (für $k = \text{const.}$) in einen einzigen Punkt zusammenfließen, während die andere Hälfte regellos zwischen $+1$ und -1 verteilt ist. Denn es muss ja immer entweder u^+ oder u_- gleich dem von h und l unabhängigen Werte $\cos 2\pi k(y_1 - y_2)$ sein. Durch diese Punkte kann man daher eine Cosinuskurve legen, welcher das $(y_1 - y_2)$ entnommen werden kann. Diese Auswertmethode gestattet auch ein Verständnis der C'' -Funktion im reziproken Raum. Es gilt, wie aus (24) und (25) abgeleitet werden kann,

$$\frac{1}{2}(u^+ + u_-) = \varphi_1 \cdot \varphi_2$$

$$= \frac{1}{2} \{ \cos 2\pi k(y_1 - y_2) + \cos [2\pi k(y_1 + y_2) - 2\omega] \} \quad (26)$$

d.h. die $\varphi_1 \cdot \varphi_2$ -Werte sind das arithmetische Mittel aus dem 'richtigen' und dem 'falschen' u -Wert. Diese arithmetischen Mittel werden nun, wie in (20) ausge-

führt, ihrerseits über alle h und l summiert (gemittelt). Auf der rechten Seite von (26) tritt das konstante Glied $\cos 2\pi k(y_1 - y_2)$ neben dem mit h und l veränderlichen und von den Phasen des azentrischen Kristalls abhängigen Glied $\cos [2\pi k(y_1 - y_2) - 2\omega]$ auf. Sind die Phasen statistisch verteilt, so gilt offenbar

$$\frac{1}{2} \sum_h \sum_l \{ \cos 2\pi k(y_1 - y_2) + \cos [2\pi k(y_1 + y_2) - 2\omega] \} \sim \frac{1}{2} \cos 2\pi k(y_1 - y_2) \quad (27)$$

d.h., man erhält — bis auf einen unwesentlichen Faktor — einen Näherungswert für $\cos 2\pi k(y_1 - y_2)$. Trägt man diese Mittelwerte gegen k auf, so erhält man eine Näherungsdarstellung der gleichen Cosinuskurve, die auch nach der u^\pm -Methode erhalten wurde; bei nicht-statistischer Verteilung der Phasen treten allerdings Deformationen der Cosinuskurve auf, welche bei der Aufsummation der Fourierreihe die mit Faltprodukten diskutierten Untergrundsunruhe der C'' -Funktion hervorrufen. Die u^\pm -Methode kann also den Einfluss der Struktur des azentrischen Kristalls auf die y -Parameterbestimmung gänzlich eliminieren. Freilich setzt sie voraus, dass nur ein einziges schweres Atom in der asymmetrischen Einheit vorhanden ist, ferner, dass keine Messfehler auftreten. Die letzteren kann man berücksichtigen, wenn man in genau gleicher Weise wie bei der C' - und C'' -Funktion die mittleren Fehler von u^\pm berechnet und Gewichte einführt. Man schreibt zweckmässig (25) in der Form

$$u^\pm = \varphi_1 \varphi_2 \pm ((1 - \varphi_1)^2 (1 - \varphi_2)^2)^{\frac{1}{2}} = \varphi_1 \varphi_2 \pm \varrho_2 \quad (28)$$

Von den Koeffizienten $\varphi_1 \varphi_2$ der C'' -Funktion unterscheiden sich u^\pm um die (bis auf das Vorzeichen bekannte) Korrektur ϱ_2 für die Untergrundsunruhe. Die Ergebnisse der Rechnung werden für die beiden Fälle $\Delta|F| = \text{const.}$ und $\Delta|F|^2 = \text{const.}$ angeführt.

$$\Delta|F| = \text{const.}$$

$$\begin{aligned} \varrho(x_1, x_2, x_3) &= \varphi_1 \varphi_2 \pm \varrho_2 \\ x_1 &= |F_1|; \quad x_2 = |F_2|; \quad x_3 = |F| \\ \frac{\partial \varrho}{\partial x_i} &= \frac{\partial(\varphi_1 \varphi_2)}{\partial x_i} \pm \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_i} \\ \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_1} &= - \frac{(1 - \varphi_2)^2 \varphi_1 |F_1|}{f_1 |F| \varrho_2} \\ \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_2} &= - \frac{(1 - \varphi_1)^2 \varphi_2 |F_2|}{f_2 |F| \varrho_2} \\ \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_3} &= \frac{1}{2 \varrho_2 |F|^2} \left[(1 - \varphi_2^2) \frac{|F_1|^2 + |F|^2 - f_1^2}{f_1} \right. \\ &\quad \left. + (1 - \varphi_1^2) \varphi_2 \frac{|F_2|^2 + |F|^2 - f_2^2}{f_2} \right]. \quad (29) \end{aligned}$$

Da die $\partial(\varphi_1 \varphi_2)/\partial x_i$ aus (18) bekannt sind, lässt sich nun der Fehler $\Delta \varrho_\pm$ berechnen:

$$\Delta \varrho_\pm = \Delta|F| \left\{ \sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial(\varphi_1 \varphi_2)}{\partial x_i} \pm \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_i} \right)^2 \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (30)$$

Für $\Delta|F|^2 = \text{const.}$ folgt analog:

$$\begin{aligned} \varrho(x_1, x_2, x_3) &= \varphi_1 \varphi_2 \pm \varrho_2 \\ x_1 &= |F_1|^2; \quad x_2 = |F_2|^2; \quad x_3 = |F|^2 \\ \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_1} &= - \frac{(1 - \varphi_2)^2 \varphi_1}{2 f_1 |F| \varrho_2} \\ \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_2} &= - \frac{(1 - \varphi_1)^2 \varphi_2}{2 f_2 |F| \varrho_2} \\ \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_3} &= \frac{1}{4 \varrho_2 |F|^3} \cdot \left[(1 - \varphi_2^2) \varphi_1 \frac{|F_1|^2 + |F|^2 - f_1^2}{f_1} \right. \\ &\quad \left. + (1 - \varphi_1^2) \varphi_2 \frac{|F_2|^2 + |F|^2 - f_2^2}{f_2} \right] \\ \Delta \varrho_\pm &= \Delta|F|^2 \left\{ \sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial(\varphi_1 \varphi_2)}{\partial x_i} \pm \frac{\partial \varrho_2}{\partial x_i} \right)^2 \right\}^{\frac{1}{2}}. \quad (31) \end{aligned}$$

Es kann vielleicht der Vollständigkeit wegen noch erwähnt werden, dass sich diese Methode verallgemeinern lässt, wenn eine der Schweratomverbindungen n schwere Atome enthält. An die Stelle einer Zweideutigkeit des Winkel tritt dann eine 2^n -Deutigkeit, die im Prinzip analog durch Punktkoinzidenz gelöst werden kann. Praktische Bedeutung besitzen diese verallgemeinerten Methoden wegen der Messfehler jedoch nicht.

Beziehungen zwischen den statistischen Methoden und der Bragg-Methode (Bragg, 1958)

Da sich die vorliegende Arbeit im Wesentlichen nur mit den Methoden zur Bestimmung der azentrischen Bezugskordinaten befasst, ist nur der 6. Abschnitt der Braggschen Arbeit (1958) von Interesse. Man kann zeigen, dass die von Bragg eingeführten Winkelfunktionen $\cos \psi_2$ und $\cos \psi_1$, nichts anderes sind als unsere Grössen φ_2 und φ_1 . Setzt man nämlich in der dortigen Fig. 6 entsprechend unserer Nomenklatur $P = F$, $S_2 = f_2$, $S_1 = f_1$, so lässt sich die Länge der Vektoren F_2 bzw. F_1 nach den Cosinussatz aus den Seiten F , f_2 und aus dem von diesen Seiten eingeschlossenen Winkel $\pi - \psi_2$, ausdrücken:

$$F_2^2 = F^2 + f_1^2 - 2Ff_1 \cos(\pi - \psi_2). \quad (32)$$

Hieraus folgt sofort:

$$\cos \psi_2 = \varphi_2$$

(analog für φ_1).

Bragg ersetzt allerdings die genauen Formeln durch einen Näherungsausdruck, der nur für grosse F gültig ist. Man erkennt ferner, dass auch die Braggsche Methode nur für den Fall eines einzigen schweren Atoms in der asymmetrischen Einheit anwendbar ist — denn nur dann sind ja die Vektorkonstruktionen seiner Fig. 6 sinnvoll. In der Auswertung unterscheidet sich jedoch die Braggsche Methode wesentlich von der u^\pm -Methode, da dort Phasendifferenzen als Excentritäten der Ellipsen bestimmt werden, während bei uns korrigierte Werte der Fourierkoeffizienten der

C'' -Funktion berechnet werden. Die Braggschen Näherungswerte für φ_2 und φ_1 sind einfacher zu berechnen als unsere genauen Werte, was jedoch bei der Berechnung in Rechenautomaten kaum eine Rolle spielt.

Das u^\pm -Verfahren lässt sich bequem mit Verwendung der gewichteten Werte automatisieren (Bestimmung der Koinzidenzmaxima aus der Verteilungsfunktion von u^+ und u_-).

Verfeinerung der Schweratomkoordinaten

Die Bragg- und die u^\pm -Methode gewinnen die Unabhängigkeit vom Untergrund durch Eliminierung der mit den Phasen des azentrischen Kristalls behafteten Glieder. Man kann aber auch so vorgehen, dass mit noch ungenauen Werten der Schweratomparameter zunächst Näherungswerte für die Phasen nach der Methode des multiplen isomorphen Ersatzes bestimmt werden; diese werden dann zur Eliminierung der durch diese Phasen bedingten Störungen der Schweratombestimmung benutzt. Ein solches Verfahren kann mit verbesserten Näherungswerten beliebig oft wiederholt werden; es kann als ein Sonderfall der bekannten Atomkoordinatenverfeinerung aufgefasst werden. Abweichend vom üblichen Vorgehen wird allerdings nur ein Teil der Atomkoordinaten (Schweratome) verfeinert; die restlichen Koordinaten gehen in der Form von Phasenwinkeln ein und bleiben während der Rechnung konstant.

Es ist ein Vorteil dieser Methoden, dass zur Bestimmung des Bezugspunktes sämtliche Schweratomderivate und nicht nur ein einziges benutzt werden. Denn die Phasenwinkel — welche ja den Bezugspunkt repräsentieren — werden aus allen zur Untersuchung herangezogenen Schweratomverbindungen gewonnen. Für die Rechnung selbst benutzt man sinngemäss modifizierte Differenzfouriersynthesen oder Rechnungen nach der Methode der kleinsten Quadrate.

1. Differenzfouriersynthese

Es sei angenommen, dass mit vorläufig bestimmten Schweratomkoordinaten Näherungswerte für die Phasen des schweratomfreien azentrischen Kristalls bestimmt wurden, so dass dessen Real- und Imaginärteil A, B bekannt ist. Aus der bekannten Lage der Schweratome kann man Real- und Imaginärteil a, b des Schweratombeitrags berechnen. Aus diesen Grössen lässt sich der Strukturfaktor eines 'synthetischen' Schweratomderivates ableiten:

$$A'_1 = A + a, \quad B'_1 = B + b.$$

Als Glieder der Differenzsynthese (Real- und Imaginärteil a_2, b_2) werden die Differenzen der experimentell gemessenen Struktur Faktoren des Schweratomderivats F_1 (versehen mit den Phasen des 'syntheti-

schen' Schweratomderivats) und dem synthetischen Schweratomderivat verwendet:

$$\begin{aligned} a_2 &= \frac{(A+a)F_1}{(A+a)^2 + (B+b)^2} - A - a \\ b_2 &= \frac{(B+b)F_1}{(A+a)^2 + (B+b)^2} - B - b. \end{aligned} \quad (34)$$

Die Form der Dichteverteilung in der Umgebung des, in die Rechnung eingegebenen Schweratoms gibt dann in bekannter Weise Auskunft über die vorzunehmenden Korrekturen. Bei dieser Auswertung ist es vorteilhaft, dass die allgemeine Untergrundsunruhe ein Mass für die Fehler liefert, welche durch Phasenfehler, Abweichungen von der Isomorphie der Derivate etc. auftreten. Sie zeigt in sehr anschaulicher Weise zu welcher Grenze die Verfeinerung der Atomkoordinaten überhaupt noch sinnvoll ist: Abweichungen von der Grössenordnung der allgemeinen Untergrundsunruhe sind sicherlich kaum reell. Man kann auch $a_2 + a$ und $b_2 + b$ als Koeffizienten verwenden und erhält dann direkt das Schweratommaximum. Diese Methode ist allerdings weniger zu empfehlen, da Abbrucheffekte der starken Maxima sowohl in der Bestimmung der Maxima wie in der Diskussion des Untergrundes stören können.

2. Methode der kleinsten Quadrate

Diese Methode gestaltet sich hier besonders einfach, da nur wenige Schweratomparameter — im Falle des Einatomderivates nur 3 — zu variieren sind. Sie kann daher auch ohne elektronische Rechenmaschinen durchgeführt werden.

Es gilt bekanntlich allgemein

$$\sum w(|F_o| - |F_c|)^2 = \text{Min} \quad (35)$$

(F_o beobachteter, F_c berechneter Strukturfaktor). Mit der gleichen Nomenklatur wie bei der Differenzsynthese folgt

$$\sum w\{|F_1| - ((A+a)^2 + (B+b)^2)^{\frac{1}{2}}\}^2 = \text{Min}$$

wobei für a und b die entsprechenden trigonometrischen Ausdrücke einzusetzen sind, während F_1, A und B konstant sind. Im Falle eines völlig azentrischen Kristalles, welcher nur ein einziges schweres Atom in der Elementarzelle enthält, wäre z.B.

$$\begin{aligned} a &= f \cos 2\pi(hx_1 + ky_1 + lz_1) \\ b &= f \sin 2\pi(hx_1 + ky_1 + lz_1). \end{aligned}$$

In der weiteren Auswertung wird völlig analog dem üblichen Verfahren vorgegangen (Ausrechnung der partiellen Differentialquotienten, Aufstellung und Lösung der Normalgleichungen etc.). Die Verfeinerungsverfahren haben den Vorteil, die Messfehler zu berücksichtigen. Sie führen ausserdem gleichzeitig auch zu einer Verfeinerung der zentrischen Koordinaten (z.B. x und z in $P2_1$ und $P2$).

Schlussbemerkung

Welche Methoden man zur genauen Schweratomparameterbestimmung heranziehen wird, hängt vom Problem ab. Im Falle von Eiweisskristallen ist, wie die Betrachtung der Korrelationsfunktionen gezeigt hat, der quasistatistische Zusammenhang der Reflexe so ausgeprägt, dass die gewichtete C' - oder C'' -Funktion bereits gute Näherungswerte liefern sollte, die nachträglich noch verfeinert werden können. In niederatomigeren azentrischen Kristallen kann allerdings die u_{\pm}^{\pm} -Funktion bessere Resultate liefern. Von den Verfeinerungsmethoden scheint uns die Differenzfouriersynthese die geeignetere zu sein, da sie nicht nur die Schweratomparameter zu verbessern gestattet, sondern auch die Güte der gefundenen Struktur beurteilen lässt. Allerdings ist die Rechnung nach der Methode der kleinsten Quadrate insbesondere im dreidimensionalen Fall schneller und einfacher, so dass es sich vielleicht empfiehlt, zur Abkürzung der Rechenarbeit zuerst die beste Lösung nach der Methode der

kleinsten Quadrate zu suchen und diese dann durch eine Differenzsynthese zu prüfen.

Die vorliegende Arbeit wurde anlässlich eines Gastaufenthalts am Cavendish-Laboratorium, Universität Cambridge, Cambridge, England, durchgeführt.

Ich darf auch an dieser Stelle den Herren Dr. M. F. Perutz und Dr. J. C. Kendrew bestens für die Gastfreundschaft danken. Dem Verband der Chemischen Industrie-Fonds der Chemischen Industrie danke ich für eine Reisebeihilfe.

Literaturverzeichnis

- BLOW, D. (1957). Doctoral Thesis, Univ. of Cambridge, Cambridge, England.
 BRAGG, W. L. (1958). *Acta Cryst.* **11**, 70.
 HARKER, D. (1956). *Acta Cryst.* **9**, 1.
 HOPPE, W. (1957). *Z. Elektrochem.* **61**, 1076.
 KENDREW, J. C. (1958). *Nature, Lond.* **81**, 662.
 PERUTZ, M. F. (1956). *Acta Cryst.* **9**, 867.

Acta Cryst. (1959). **12**, 674

A Neutron-Diffraction Study of Potassium Cobalticyanide

BY N. A. CURRY AND W. A. RUNCIMAN*

Atomic Energy Research Establishment, Harwell, Berks, England

(Received 4 September 1958 and in revised form 19 January 1959)

The methods of neutron diffraction, which permit a distinction to be made between carbon and nitrogen atoms, have been used to extend the earlier X-ray studies of $K_3Co(CN)_6$. It appears that the carbon atoms are in positions adjacent to the cobalt ions. The methods of Fourier synthesis and least squares have been used to obtain improved atomic co-ordinates and values for the Debye-Waller temperature factors. The length of the C-N bonds is 1.15 Å.

Introduction

Cyanide complexes are of considerable interest, the platinocyanides showing marked dichroism and fluorescence, and iron-group cyanides having been studied by paramagnetic-resonance techniques. The structures of some cyanides have been investigated by X-rays, but these do not distinguish whether the carbon or nitrogen atoms are next to the central metal ion. However, neutron diffraction often enables one to distinguish between atoms which are neighbours in the periodic table. (Bacon, 1955, Chapter VIII). It was felt that it would be easiest to study a cyanide for which preliminary X-ray information was available, and which did not contain any water of crystallization involving additional work in the location of hydrogen atoms. Potassium cobalticyanide, $K_3Co(CN)_6$, is suit-

able, having been studied using X-ray methods by Barkhatov & Zhdanov (1942) and by Barkhatov (1942). Furthermore, a consideration of the scattering amplitudes, Table 1, indicates that neutron diffraction will be suitable for the determination of carbon and nitrogen positions, since the scattering amplitudes of these atoms are considerably different, and are the largest present; whereas for X-rays the heavy metal atoms are predominant.

Table 1. *Scattering amplitudes for neutrons and X-rays*
(10^{-12} cm.)

Atom	Neutrons	X-rays	
		$\sin \theta/\lambda = 0$	$\sin \theta/\lambda = 0.5 \text{ \AA}^{-1}$
C	0.66	1.69	0.48
N	0.94	1.97	0.53
K	0.35	5.3	2.2
Co	0.28	7.6	3.4

* Now at the Department of Physics, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand.