

Aus dem Eduard Zintl-Institut für anorganische und physikalische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt

## Röntgenanalyse von Hämoglobin

(Eine Anmerkung zu einer Veröffentlichung von Joy Boyes-Watson und M. F. Perutz,<sup>1)</sup> zugleich ein Beitrag zur Auswertung von Fourier-Synthesen)

Von R. Brill

(Eingegangen am 15. November 1943)

Im Juliheft der „Nature“ veröffentlichen Boyes-Watson und Perutz<sup>1)</sup> eine Arbeit, in der nach einem sehr eleganten Verfahren eine eindimensionale röntgenographische Fourier-Synthese der Elektronendichte des Hämoglobin-Moleküls auf die kristallographische  $c$ -Achse durchgeführt wird. Angesichts der Tatsache, daß einerseits die Ausdeutung solcher eindimensionaler Synthesen oft nicht mit der notwendigen Eindeutigkeit möglich ist, und andererseits die von den Verfassern gefundenen Ergebnisse von grundsätzlicher Bedeutung zu sein scheinen, seien nachstehend das angewandte Verfahren sowie die Ergebnisse der Arbeit von Boyes-Watson und Perutz kritisch besprochen.

Die röntgenographische Fourier-Synthese beruht auf der Tatsache, daß sich die Elektronendichte in einem Kristall mit Symmetriezentrum in Abhängigkeit vom Ort als eine Fourier'sche Reihe darstellen läßt.

Es gilt:

$$\rho(xyz) = \frac{1}{V} \sum_{h=-\infty}^{+\infty} \sum_{k=-\infty}^{+\infty} \sum_{l=-\infty}^{+\infty} F_{hkl} \cos 2\pi(xh + yk + zl), \quad (1)$$

wobei  $\rho(xyz)$  die Elektronendichte am Ort  $xyz$  und  $V$  das Volumen des Elementarkörpers bedeuten. Die Koeffizienten  $F_{hkl}$  sind aus den Intensitäten der zugehörigen Röntgenreflexe  $hkl$  zu berechnen. Sie sind jedoch nur ihrem Absolutwert nach bekannt, ihrem Vorzeichen nach unbekannt.<sup>2)</sup>

Boyes-Watson und Perutz befassen sich zunächst mit dem einfachen Problem einer Projektion der Elektronendichte des Gitters auf eine einzige ausgezeichnete Richtung, nämlich die Normale der Basisfläche des Kristalls. In diesem Falle lautet die Fourier'sche Reihe bei Kristallen mit wenigstens einer auf der  $c$ -Achse senkrecht ste-

<sup>1)</sup> Nature 151, 714 (1943).

<sup>2)</sup> Im allgemeinen gilt  $F_{hkl} \sim \pm \sqrt{J_{hkl}}$ , wenn  $J_{hkl}$  die gemessene Intensität bedeutet.

henden digonalen Achse — eine solche Achse ist beim Hämoglobin vorhanden — :

$$\varrho(z) = \frac{1}{J_z} \sum_{l=-\infty}^{+\infty} F_{00l} \cos 2\pi lz. \quad (2)$$

wobei  $J_z$  die Identitätsperiode in Richtung der Basis-Normalen bedeutet. Die anderen Symbole haben die gleiche Bedeutung wie oben. Man braucht also für eine solche Projektion nur die Intensitäten von Röntgenreflexen der Form  $00l$  zu messen. (Mißt man die Intensitäten ihrer absoluten Größe nach, so erhält man die wirkliche Elektronendichte in Einheiten von Elektronen pro  $\text{Å}$ , mißt man sie relativ, so erhält man sie in willkürlichen Einheiten.)

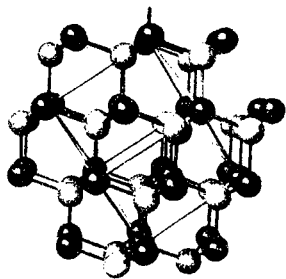


Fig. 1. Diamantgitter in einer Ansicht, die den Aufbau aus Schichten parallel zur Oktaederfläche erkennen läßt. Jede Schicht besteht aus einer mit weißen und einer mit schwarzen Kugeln besetzten Ebene. Der Abstand zwischen zwei solchen Ebenen ist sehr klein im Verhältnis zum Abstand zweier Schichten.

Es sei zunächst anhand eines einfachen Beispiels die Durchführung einer solchen ein-dimensionalen Fourier-Synthese besprochen. Wir wählen dazu die Projektion der Elektronendichte des Diamantgitters auf eine senkrecht zur Oktaederfläche stehende Richtung. Wie Figur 1 zeigt, bildet das Diamantgitter Doppelschichten von Atomen parallel zur Oktaederfläche. Wir erhalten also eine Projektion dieser Doppelschichten auf eine auf den Schichten senkrecht stehende Gerade. Unsere Formel für die Elektronendichte lautet in diesem Falle [in geringfügiger Abweichung von (2)]:

$$\varrho(z) = \frac{1}{J_z} \sum_{h=-\infty}^{+\infty} F_{hhh} \cos 2\pi h \cdot z. \quad (3)$$

Die Werte für  $F_{hhh}$  entnehmen wir ihrer absoluten Größe nach aus den sorgfältigen Messungen von Brill, Grimm, Hermann und Peters:<sup>3)</sup>

Tabelle 1.

$hhh$	$F_{hhh}$
111	+2,333
222	±0,138
333	+0,835
444	+0,891
555	+0,470

Die Vorzeichen der  $F$ -Werte sind hier bekannt, da sie sich aus dem Diamantgitter berechnen lassen bis auf das von 222, das wir positiv wählen.

<sup>3)</sup> Ann. Phys. [5], 34, 393 (1939).

Wegen der geringen Intensität des 222-Reflexes ist es unwesentlich, ob wir in die Rechnung mit dem richtigen Vorzeichen eingehen (vgl. w. u.).

Mehr Meßwerte als in der Tabelle angegeben, stehen uns nicht zur Verfügung. Die höheren Ordnungen sind zu schwach, um noch gemessen werden zu können. Damit wird aus (3)

$$\rho(z) = \frac{2}{J_z} \{6,000 + 2,333 \cos 2\pi z + 0,138 \cos 2\pi 2z + \\ + 0,835 \cos 2\pi 3z + 0,891 \cos 2\pi 4z + 0,470 \cos 2\pi 5z\}. \quad (4)$$

Hierbei ist zu beachten, daß  $F_{hhh} = F_{-h-h-h}$ , und ferner  $F_{000}$  gleich der gesamten Elektronenzahl eines C-Atoms ist. Unsere Summe besteht nur aus 6 Gliedern. Sie wäre mit hinreichender Näherung als vollständig anzusehen, wenn wir annehmen dürften, daß alle Koeffizienten  $F_{hhh}$  mit  $h > 5$  so klein sind, daß alle übrigen Summanden zu vernachlässigen sind.

Die Funktion  $\rho(z)$  nach Gl. (4) ist nun in Fig. 2 als ausgezogene Linie graphisch dargestellt.\*) Die Zeichnung enthält außerdem noch die graphische Darstellung der einzelnen Glieder der in der Klammer von Gl. (4) enthaltenen Summanden; sie sind jeweils durch die zugehörigen  $hhh$ -Zahlen gekennzeichnet. Man erkennt durch Vergleich der oberen mit den unteren Kurven deutlich, daß die Periodizität von  $\rho(z)$  durch die ziemlich starke Welle 111 gegeben wird. Dieser starken Welle werden nun die Feinheiten durch die Überlagerungen der anderen Wellen aufgeprägt. (Eine Messung der ersten Ordnung allein könnte uns über diese Feinheiten keine Auskunft geben. Sie käme etwa der Abbildung des sichtbar zu machenden Gegenstandes mit einer nur sehr unscharf zeichnenden Linse gleich. Feinheiten, die kleiner sind als die Wellenlänge der zugehörigen Ordnung, lassen sich nicht abbilden.) Die zweite Ordnung macht praktisch nichts aus, da die Amplitude der zugehörigen Welle zu klein ist. Die dritte Ordnung (333) verstärkt offenbar, ebenso wie 444 und 555, das Hauptmaximum. Die beiden anderen Maxima von 333, die bei  $z = \frac{1}{3}$  und  $z = \frac{2}{3}$  liegen, werden durch die Gegenwirkung von 444 und 555 aufgehoben. Am Punkte  $z = \frac{1}{4}$  sind die Amplituden von 111, 333 und 555 gleich Null. Hier kann sich daher das dort befindliche Maximum von 444 auswirken, welches wesentlich für das Auftreten des Maximums auf der  $\rho(z)$ -Kurve in der Nähe von  $z = \frac{1}{4}$  verantwortlich ist. Die schwache Verschiebung dieses Maximums nach  $z = \frac{1}{5}$  hin wird offenbar durch das Mitspielen der Welle der fünften Ordnung verursacht. Wir sehen so, wie die Funktion  $\rho(z)$  durch das Zusammenwirken der einzelnen Teil-

\*) Der Einfachheit halber ist als Ordinate  $\frac{1}{2}\rho(z) \cdot I_z$  gewählt.

funktionen zustande kommt und erkennen, daß jede zu den langen Wellen (niederer Ordnung) hinzutretende kürzere Welle (höherer Ordnung) das durch jene vorgegebene Bild verfeinert. Die erkennbaren Einzelheiten stehen in direktem Zusammenhang mit der Wellenlänge der kürzesten für die Fourier-Synthese noch benützten Fourier-Welle. Sie ist etwa mit der Feinheit der Teilung eines Maßstabes zu vergleichen, mit dem wir irgendein Muster ausmessen wollen.

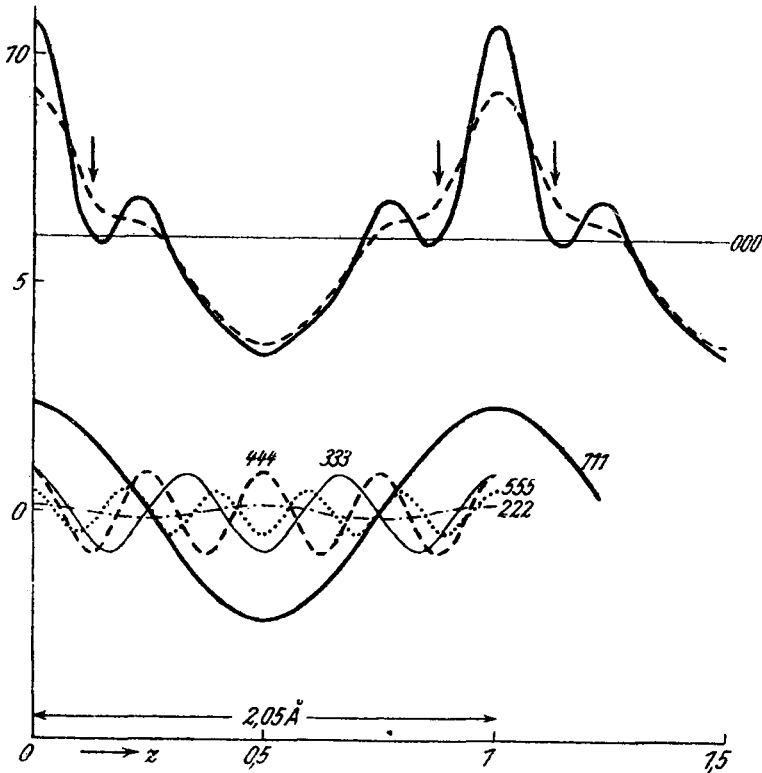


Fig. 2. Eindimensionale Fourier-Synthese von Diamant auf die Normale der Oktaederfläche. Obere ausgezogene Kurve ohne, gestrichelte mit Korrektur für das geringe Auflösungsvermögen. Die unteren Kurven stellen die einzelnen Fourier-Wellen dar, deren Superposition zu der oberen ausgezogenen Kurve führt.

Wenn wir nun die so bestimmte Funktion  $\rho(z)$  dazu benutzen wollen, um uns ein Bild vom Gitter zu machen, so würden wir, wenn wir vom Diamantgitter nur wüßten, daß es Schichten parallel zu 111 bildet, so zu dem Schluß gelangen, daß diese Schichten aus drei Einzelschichten bestehen, von denen die mittlere — da ja das Gitter nur aus einer Atomart besteht — mit Atomen dichter besetzt ist, als die beiden benachbarten. Wir würden wohl auch aus dem Abstand der drei zugehörigen Maxima als

Entfernung der äußeren von der mittleren Schicht der Wert  $z = 0,23$  oder, da  $z = 1$  einer Länge von  $2,06 \text{ \AA}$  entspricht, im absoluten Maß  $0,473 \text{ \AA}$  ausrechnen.

Ein Vergleich mit dem Diamantgitter lehrt, daß diese Schlüsse alle falsch wären. Wie die Fig. 1 erkennen läßt, besteht jede Schicht nur aus zwei dicht benachbarten Einzelschichten, die beide gleich stark mit Atomen besetzt sind. Der Abstand dieser Einzelschichten beträgt  $0,514 \text{ \AA}$ . Die zu erwartenden beiden Maxima müßten an den durch Pfeile auf der  $\varrho(z)$  Kurve gekennzeichneten Stellen liegen. An diesen Stellen finden wir gerade Minima.

Der Grund für diese große Diskrepanz zwischen Ergebnis der Rechnung und der Wirklichkeit liegt nun nicht etwa daran, daß die Messungen falsch sind oder in der Rechnung ein Fehler steckt, sondern allein daran, daß die von uns gemachte Voraussetzung, daß die Reflexe  $hhh$  mit  $h > 5$  eine von Null nicht merklich verschiedene Intensität besitzen, falsch sein muß. In diesem Falle haben wir in unserer Fourier'schen Reihe eine ganze Anzahl von Gliedern nicht berücksichtigt, die die von uns berechnete Funktion  $\varrho(z)$  noch weiter modulieren würden. Wir hätten also ein der Wirklichkeit entsprechendes Bild nur dann zu erwarten, wenn uns ihre Berücksichtigung möglich gewesen wäre.

Es gibt nun ein Verfahren, das es uns gestattet, wenigstens zu erkennen, inwieweit dem ohne die höheren Ordnungen erhaltenen Bild eine Realität zukommt. Es beruht im wesentlichen darauf, daß wir durch eine künstlich (rechnerisch) angebrachte Temperaturverwackelung das zu betrachtende Bild so unscharf machen, daß es mit dem durch die Länge der kürzesten in (4) enthaltenen Welle gegebenen, „groben Maßstab“ noch hinreichend genau zu vermessen ist. Auf die Einzelheiten dieses Verfahrens können wir hier nicht eingehen.<sup>4)</sup> Rein formal beruht es darauf, daß wir jeden  $F_{hhh}$ -Wert mit einem Faktor  $e^{-M}$  multiplizieren, wobei  $M = \beta \Sigma h^2$  ist.  $M$  wächst also quadratisch mit steigendem  $h$ . Die Konstante  $\beta$  wählt man so, daß der  $F$ -Wert der höchsten gemessenen Ordnung nahezu Null wird. Man ist dann einigermaßen sicher, daß die noch höheren Ordnungen durch den Faktor  $e^{-M}$  praktisch verschwinden, sodaß ihre Vernachlässigung nunmehr berechtigt ist.

Wir wählen hier  $\beta$  so, daß  $F_{555} = 0,105$  wird. Die Amplitude der zugehörigen Welle wird also etwa so groß wie die von 222. Benützen wir die so bestimmten  $F_{hhh} \cdot e^{-M}$ -Werte zur Fourier-Synthese, so ergibt sich die gestrichelte  $\varrho(z)$ -Kurve (Fig. 2). Diese zeigt gegenüber der ausgezogenen den ganz wesentlichen Unterschied, daß die beiden Minima rechts

<sup>4)</sup> Vgl. dazu. Brill, Grimm, Hermann und Peters Ann. Phys. [5], 34, 393 (1939); C. Hermann, Z. Elektrochem. 46, 425 (1940).

und links vom Hauptmaximum fortgefallen sind; sie sind also nicht reell und können auch — wie man leicht überlegt — bei der Überlagerung von zwei Atomschichten niemals auftreten. Hingegen lassen sich Kurven von der Art der gestrichelten leicht durch Überlagerung von zwei Glockenkurven erhalten, wie dies z. B. Fig. 3 zeigt. Aus der gestrichelten  $\rho(z)$ -

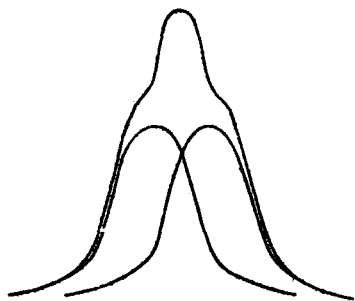


Fig. 3. Entstehung einer Kurve ähnlich der gestrichelten in Fig. 2 durch Superposition zweier Glockenkurven.

Kurve würden wir also — bei Unkenntnis des Gitters — zu entnehmen haben, daß jede Schicht entweder in drei oder aber in zwei Schichten zu unterteilen ist. Es taucht also hier wegen des Wegfalls der das Maximum flankierenden Minima eine neue Strukturmöglichkeit auf, die — wie wir wissen — mit der Wirklichkeit übereinstimmt. Aus der gestrichelten  $\rho(z)$ -Kurve jedoch eindeutig zwischen diesen zwei Möglichkeiten zu entscheiden, dürfte sehr schwer fallen. Ja es ist sogar

schwierig, die Kurve zu analysieren, auch wenn man die Existenz von Doppelschichten und die Lage der Maxima als bekannt voraussetzt. Die Schwierigkeiten entstehen hier dadurch, daß das *C*-Atom nicht kugelsymmetrisch ist. Näher kann aber hierauf an dieser Stelle nicht eingegangen werden.

Jedenfalls ergibt sich aus dem Vorstehenden, mit welchen Schwierigkeiten die Ausdeutung einer solchen eindimensionalen Fourier-Synthese in einem einfachen Fall verknüpft ist. Insbesondere zeigte es sich, daß man zumindest bei jeder Ausdeutung sich durch Einführung einer entsprechenden Temperaturverwacklung davon überzeugen muß, wieweit das erhaltene Ergebnis denn überhaupt reell sein kann.

Bei der Fourier-Synthese im Hämoglobin ist zunächst die Aufgabe der Bestimmung der richtigen Vorzeichen der gemessenen *F*-Werte zu lösen.<sup>5)</sup> Das geschieht bei Boyes-Watson und Perutz auf sehr elegante Weise. Zunächst wird die Tatsache benützt, daß sich die Streuintensitäten der 00*l*-Reflexe mit dem Lösungsmittelgehalt ändern. Vorhergehende Untersuchungen hatten gezeigt, daß die Moleküle schachtelförmig und in Schichten parallel zur Basis (001) angeordnet sind. Eine Änderung des Lösungsmittelgehaltes — also der Schrumpfung — bedingt nun eine Veränderung des Basis-Netzebenen-Abstandes. Man ist daher durch Messung der Streuintensitäten bei verschiedenem Lösungsmittelgehalt

<sup>5)</sup> Da eine vorhergehende Strukturbestimmung ergeben hatte, daß die *b*-Achse digonal ist, kommen Phasenverschiebungen  $\neq n\pi$  nicht vor.

in der Lage, die „molekulare Streukurve der Molekül-Schichten“ zu erhalten (vgl. Fig. 4), d. h. man erhält auf diese Weise nicht nur Kenntnis von der Streuintensität, die von dem Schicht-Molekül unter einem ganz bestimmten, durch den Gitterbau gegebenen Streuwinkel emittiert wird, sondern auch von der Intensität, die in die Nachbarschaft unter etwas anderen Winkeln gestreut wird. (Dies gilt aber nur unter der Voraussetzung, daß die Abmessungen innerhalb des streuenden Moleküls bei der Schrumpfung unverändert bleiben, also nur eine intermolekulare Schrumpfung eintritt. Schrumpft das Molekül als Ganzes, so gilt dies nicht.)

Bei Variation des Streuwinkels kann die Intensität zu- oder abnehmen. Findet man nun z. B. beim Übergang zu größeren Streuwinkeln bei ein und derselben Ordnung eine Abnahme der Intensität bis auf Null und darauf wieder eine Zunahme, so kann man schließen, daß an einer solchen Nullstelle der Fourierkoeffizient  $F_{001}$ , also die Wurzel aus der Streuintensität, das Vorzeichen ändert.

Trotzdem daß die Verfasser nur Messungen bei 3 verschiedenen Lösungsmittelgehalten vornehmen konnten, ist ihre Streukur verhältnismäßig eng besetzt, weil die

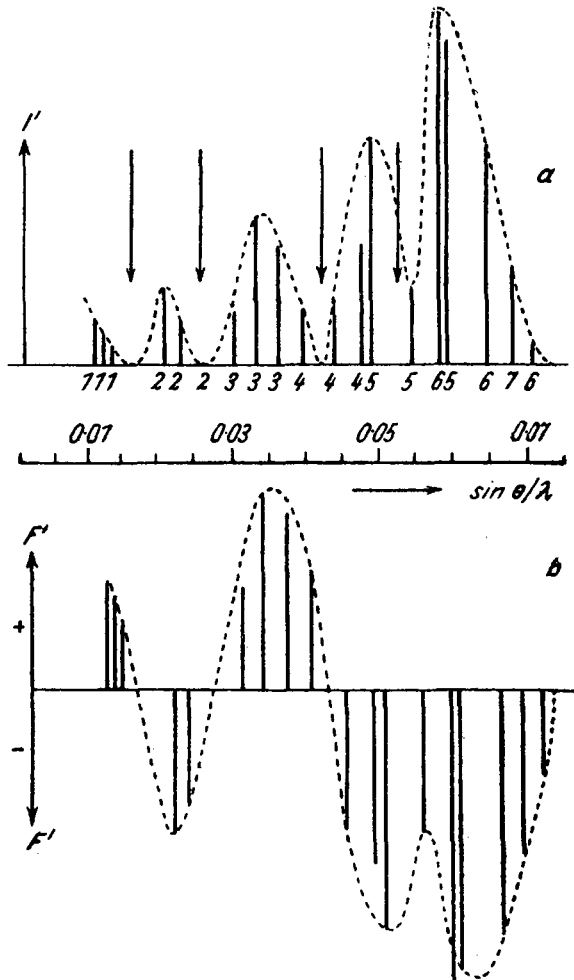


Fig. 4. Graphische Darstellung der Intensitäten der Basisreflexionen von Hämoglobin in Abhängigkeit vom Beugungswinkel ( $\theta$ ) und vom Schrumpfungsgrad. Die verschiedenen Ordnungen sind durch die angeschriebenen Zahlen gekennzeichnet. Mit zunehmendem Beugungswinkel nimmt der Schrumpfungsgrad ab. Die obere Kurve enthält die gemessenen Intensitäten, die untere die Fourierkoeffizienten.

Netzebenenabstände recht groß und damit die  $\frac{\sin \vartheta}{\lambda}$ -Werte recht klein sind. Diese Streukurve weist Minima auf, von denen allerdings nur das von 002 bei einem bestimmten Lösungsmittelgehalt gesichert ist. Da beiderseits der Minima die Vorzeichen der Fourier-Koeffizienten verschieden sein sollten, lassen sich so zunächst einige Vorzeichen von Koeffizienten relativ zueinander bestimmen und die Zahl der Möglichkeiten ein-schränken. Es werden weiterhin die Intensitäten der 00*l*-Reflexe zweier Methämoglobin-Präparate miteinander verglichen, von denen das eine als Lösungsmittel eine konzentrierte Ammonsulfatlösung, das andere reines Wasser enthält. Das Streuvermögen der Ammonsulfatlösung ist größer als das des Wassers. Aus dem Unterschied der Intensitäten der Basisreflexe bei beiden Präparaten kann ebenfalls auf das Vorzeichen der Fourierkoeffizienten geschlossen werden, da die Dicke der Proteinschichten, die Dicke der Flüssigkeitsschichten und ihr Abstand bekannt ist.

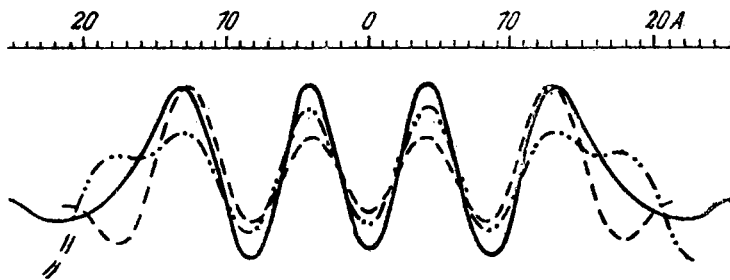


Fig. 5. Eindimensionale Fourier-Synthese von Hämoglobin bei verschiedenen Schrumpfungszuständen. — ganz feuchter Kristall, — — — — erster, — . . — zweiter Schrumpfungsgrad.

So gelingt die Vorzeichenfestlegung bis auf zwei Möglichkeiten, von denen aber eine auszuschließen ist, weil sie mit den sonstigen Befunden (Ausmaße und Dichte des Moleküls) nicht zu vereinbaren ist. Unabhängig von der Wahl der Vorzeichen jedoch wird von den Verfassern zunächst ohne nähere Begründung festgestellt, daß nur eine einzige Lösungsmittelschicht intermolekular vorhanden sein kann, während jede beliebige Vorzeichenkombination das Vorhandensein von intramolekularem Wasser ausschließt.

Das Resultat der mit der endgültigen Vorzeichenwahl erhaltenen Fourier-Synthese ist in Fig. 5 wiedergegeben. Es zeigt folgendes: Man sieht auf der rechten und linken Seite zwei flache Minima. Diese Minima deuten die Verfasser als beiderseitige Begrenzung des Schichtmoleküls und Ort des Lösungsmittels. Die vier Maxima werden dem Molekül selbst zugeschrieben. Sie zeigen, daß dieses seinerseits in vier Schichtebenen unterteilt ist, die voneinander um etwas weniger als 9 Å entfernt sind.



Es liegt natürlich außerordentlich nahe, diesen Schichtabstand zu identifizieren mit dem bei wohl fast allen natürlichen Eiweißkörpern auftretenden in der Nähe von etwa  $10 \text{ \AA}$  liegenden Netzebenenabstand. Diesen Abstand deutet ja Astbury als hervorgerufen durch die Seitenketten der linearen Eiweißmoleküle, die ihrerseits Schichten bilden. So deuten denn auch die Verfasser ihre Ergebnisse in diesem Sinne, indem sie schließen, daß das Hämoglobin-Molekül aus 4 Schichten besteht, die die in der Schichtebene gefalteten Hauptketten enthalten, während die Seitenketten senkrecht aus diesen Schichten herausragen, wobei Seitenketten mit hydrophilen Endgruppen an den äußersten beiden Schichten vorkommen, während die Seitenketten zwischen den anderen Schichten hydrophobe Endgruppen tragen müssen, weil — wie oben erwähnt — an den Innenseiten der Schichten kein Wasser enthalten ist und weil auch der Vergleich mit dem Ammonsulfatlösung enthaltenden Hämoglobin zeigt, daß dieses nur an den äußersten Schichten eine Erhöhung der Elektronendichte bewirkt.<sup>6)</sup> Dieses Ergebnis erscheint so einleuchtend und so gut mit dem von Astbury aus seinen klassischen Untersuchungen entwickelten Bild vom Bau der Eiweißkörper übereinzustimmen, daß man sehr geneigt ist, es zu acceptieren und als weiteren Beweis für die Richtigkeit der Astbury'schen Vorstellungen anzusehen.

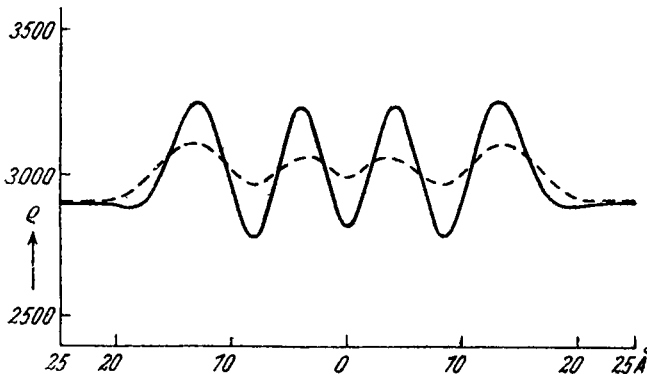


Fig. 6. Projektion der Elektronen-Dichte von Methämoglobin auf die auf der Basis senkrecht stehende Richtung. Die ausgezogene Kurve wurde ohne die gestrichelte mit Korrektur für das geringe Auflösungsvermögen erhalten.

Nun fällt aber auf, daß die Maxima der in Fig. 5 angegebenen Kurve sehr genau um  $\frac{1}{8}$  der Identitätsperiode senkrecht zur Schichtebene auseinanderliegen. Aus den Daten der Fig. 4 läßt sich entnehmen, daß höchstwahrscheinlich nur 6 Ordnungen der  $00l$ -Reflexe für die Fourier-Synthese verwendet wurden. In diesem Falle wäre die Welle von  $\frac{1}{8}$  Identitätsperiode die kürzeste in der Rechnung enthaltene, sodaß über die Realität der Maxima nach den obigen Darlegungen über das Diamantgitter nichts auszusagen ist. Es ist daher notwendig, auch hier eine Fourier-

<sup>6)</sup> Diese Tatsache ist nicht beweisend, weil eine Eindiffusion von  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  in die inneren Schichten behindert sein kann.

Synthese mit „künstlicher Temperaturverwackelung“ auszuführen. Ich habe das anhand der Daten, die in den Zeichnungen der Arbeit von Boyes-Watson und Perutz enthalten sind, versucht. Das Resultat der Rechnung ist in Fig. 6 wiedergegeben.<sup>7)</sup> Die ausgezogene Kurve stellt wieder die Fourier-Synthese ohne Korrektur, direkt mit den gemessenen Werten dar, während die gestrichelte Kurve das geringe Auflösungsvermögen berücksichtigt. Die ausgezogene Kurve entspricht in ihrem Verlauf der von Boyes-Watson und Perutz angegebenen. Die gestrichelte Kurve, die nach unseren Ausführungen allein der Auswertung zugrunde zu legen ist, läßt folgendes erkennen:

1. Der Verlauf steht durchaus im Einklang mit dem Befund von Boyes-Watson und Perutz, daß ein zusammenhängendes Molekül von etwa 35 Å Dicke vorhanden ist. Außerhalb dieses Moleküls, also an der rechten und linken Seite der Zeichnung finden wir eine gleichmäßige und etwas niedrigere Elektronendichte als innerhalb desselben.

2. Die gestrichelte Kurve läßt auch noch die in der ausgezogenen vorhandenen 4 Maxima erkennen, jedoch hat eine wesentliche Verflachung stattgefunden, sodaß man unter Berücksichtigung der Tatsache, daß der Untergrund sehr stark ist,<sup>\*)</sup> dieser Wellung kaum eine besondere Bedeutung zuschreiben kann. Wenn man das dennoch tun will, so ist festzustellen, daß außer der Höhenverschiebung auch noch eine Verschiebung der Lage der Maxima stattgefunden hat. Die beiden innersten Maxima weisen nur noch eine Entfernung von 6,5 Å voneinander auf, während die äußeren von der inneren etwa 10 Å entfernt sind. Der Abstand von 6,5 Å scheint zu klein, als daß er durch Seitenketten, die länger sind als ein Methyl, hervorgerufen werden kann,<sup>8)</sup> während der Abstand von 10 Å mit dem sonst bei Eiweißkörpern gefundenen gut übereinstimmt.

Die Durchführung der Fourier-Synthese bei Methämoglobin unter Berücksichtigung des sogenannten Abbrucheffektes gibt also zwar ein Bild, welches mit den von Boyes-Watson und Perutz gefundenen Daten über die Ausdehnung des Moleküls gut übereinstimmt. Alle Ausdeutungen, die darüber hinausgehen, scheinen aber außerordentlich unsicher, sodaß der Vorbehalt, den die Verfasser in ihrer Arbeit selbst machen, daß nämlich endgültige Schlüsse aus ihren Befunden zunächst nicht zu ziehen seien, durchaus zurecht besteht.

\*) Man beachte den Maßstab auf der Ordinate!

7) Hierbei ist nur die Synthese des Präparates mit maximalem Lösungsmittelgehalt nachgerechnet und zwar unter Benutzung der für dieses Präparat angegebenen 7 Ordnungen.

8) Vgl. dazu die Befunde beim Seidenfibroin, wo Abstände im 5,2—6 Å durch die Methylgruppe des Alanin-Restes erzeugt werden [R. Brill, Z. phys. Ch. (B) 53, 61 (1943)].