

## Über die Meß-Strategie bei der Untersuchung der Röntgen-Kleinwinkelstreuung verdünnter Lösungen von Biopolymeren, 2. Mitt.

Von

**Gregor Damaschun und Hans-Volker Pürschel**

Physikalisches Institut der Friedrich Schiller-Universität Jena,  
Max Wien-Platz 1, DDR

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 16. August 1968)

Der maximale Abstand der Meßpunkte bei der Registrierung von Röntgen-Kleinwinkelstreu曲ven ist durch die Beziehung  $\Delta b = (2L)^{-1}$  gegeben.  $L$  ist der größte Durchmesser der untersuchten Objekte. Falls keine obere Schranke für  $L$  vor der Messung bekannt ist, können Schranken für die Größe von  $L$  mittels Ungleichungen aus dem ermittelten Streumassenradius  $R_s$  abgeschätzt werden. Zu diesem Zweck wird für verschiedene Modellformen der Formfaktor  $q_{76} = L(R_s)^{-1}$  berechnet.

*Techniques of Small-Angle X-Ray Measurements in Studies of Diluted Solutions of Biopolymers, II.*

The largest distance between the sampling points by recording of the small-angle x-ray scattering is given as  $\Delta b = (2L)^{-1}$ .  $L$  is the largest diameter of the objects of examination. If no upper limit of  $L$  is known before of the measuring, one can estimate limits for the value of  $L$  with help of unbalanced equations by means of the measured radius of gyration  $R_s$ . For this end is the shape factor  $q_{76} = L(R_s)^{-1}$  calculated for different types of particles.

In einer vorangehenden Abhandlung<sup>1</sup> wurde gezeigt, daß der vollständige Verlauf der Röntgen-Kleinwinkel- (RKW-)streu曲ve einer verdünnten monodispersen Lösung von Makromolekülen aus diskreten Meß-

<sup>1</sup> G. Damaschun, J. J. Müller und H.-V. Pürschel (1. Mitt.), Mh. Chem. **99**, 2343 (1968).

werten rekonstruiert werden kann. Der maximale Abstand zwischen den Meßpunkten ist dann durch die Bedingung

$$\Delta b = (2X)^{-1}, \quad b = \frac{2 \sin \vartheta}{\lambda} \quad (1)$$

vorgeschrieben, wobei  $\vartheta$  der Braggsche Winkel,  $\lambda$  die Wellenlänge der benutzten Röntgenstrahlung und  $X$  die obere Grenzfrequenz der Streukurve ist. Ist  $X$  nicht durch die Apparatur bestimmt — also kleiner als der Durchmesser des Kohärenzbereiches der Röntgen-Kamera<sup>2</sup> —, so gilt bei Untersuchung verdünnter monodisperser Lösungen  $X = L$ ;  $L$  ist der größte Durchmesser der untersuchten gelösten Teilchen. Falls  $L$  vor der Messung bekannt ist, oder eine obere Schranke für  $L$  abgeschätzt werden kann, wird man daher den Meßpunktabstand etwa zu

$$(4L)^{-1} \leq b \leq (2L)^{-1} \quad (2)$$

wählen.

Unter Umständen liegt jedoch vor der Messung keine Information über den größten Durchmesser der Untersuchungsobjekte vor. Im folgenden soll gezeigt werden, wie eine obere Schranke für  $L$  aus dem Verlauf der Streukurve an wenigen Meßpunkten abgeschätzt werden kann. Voraussetzung für die Gültigkeit dieser Abschätzung ist, daß ein verdünntes System ohne Ordnungseffekte untersucht wird.

### Die Formfaktoren

Aus der *RKW*-Streukurve einer verdünnten monodispersen Lösung von Makromolekülen können u. a. folgende charakteristische Konstanten der Moleküle<sup>3</sup> ermittelt werden:

1. Die mittlere Durchschußlänge  $\bar{l}$
2. Die Charakteristiklänge  $l_c$
3. Die Charakteristikfläche  $f_c$
4. Das Volumen  $v_c$
5. Der mittlere Atomabstand  $\bar{a}$
6. Der Streumassenradius  $R_s$
7. Der größte Durchmesser  $L$ .

Diese charakteristischen Konstanten lassen sich alle durch die Momente der Sehnendichteverteilung darstellen, die ihrerseits durch das Molekül bestimmt ist<sup>3</sup>.

Durch Quotientenbildung aus jeweils zwei dieser Konstanten können 21 Formfaktoren  $q_{kl} = q_k/q_l$  gebildet werden, von denen 7 linear unab-

<sup>2</sup> G. Damaschun, Exper. Techn. Physik (im Druck).

<sup>3</sup> G. Damaschun und H.-V. Pürschel, Acta biol. med. germ. **21**, 401 (1968).

hängig sind. Sie stellen ein dimensionsloses Maß für die Konformation der untersuchten Moleküle dar. Während zur Bestimmung des größten Durchmessers der untersuchten Objekte der gesamte Verlauf der Streukurve bekannt sein muß<sup>4-7</sup>, kann ein Näherungswert  $\tilde{R}_s$  für den Streumassenradius  $R_s$  bereits aus wenigen Meßpunkten der Streukurve bei kleinen Winkeln  $b_0$  bestimmt werden:

$$\tilde{R}_s = - \left. \frac{3 \Delta \log I(b)}{4 \pi^2 \Delta (b^2)} \right|_{b \approx b_0} \quad (3)$$

Der Probenpunktastand ist aber durch den größten Durchmesser  $L$  bestimmt<sup>1</sup>.

Falls nun eine Relation

$$\min (q_{76}) < q_{76} = L R_s^{-1} < \max (q_{76}) \quad (4)$$

existiert, könnte man aus einer zu Beginn der Messung näherungsweise durchgeführten Bestimmung des Streumassenradius nach Gl. (3) eine untere und obere Schranke für den Abstand der weiteren Meßpunkte abschätzen.

Eine Relation der Form (4) existiert im allgemeinen Fall leider nicht. Bei Beschränkung auf wahrscheinliche Molekülformen läßt sich aber eine entsprechende Beziehung angeben.

### Der Formfaktor $q_{76}$

Es werden, wie in der Theorie zur *RKW*-Streuung in erster Näherung üblich, einfache Körper angenommen, die die Umrisse der untersuchten Moleküle oder Molekülaggregate approximieren:

#### 1. *Hohlkugeln*

$R$  = Außenradius,  $r = kR$  = Innenradius

$$R_s^2 = \frac{3(1-k^5)}{5(1-k^3)} R^2, \quad L = 2R, \quad q_{76} = 2 \sqrt{\frac{5(1-k^3)}{3(1-k^5)}}$$

1.1 Dünne Kugelschale ( $k = 1$ ):  $q_{76} = 2$ .

<sup>4</sup> A. G. Malmon, Biochim. Biophys. Acta **26**, 233 (1957).

<sup>5</sup> G. Damaschun, G. Kley, J. J. Müller und H.-V. Pürschel, Acta biol. med. germ. **20**, 409 (1968).

<sup>6</sup> G. Damaschun, J. J. Müller und H.-V. Pürschel, Physik. Verh. **19**, 155 (1968).

<sup>7</sup> G. Damaschun und H.-V. Pürschel, Acta biol. med. germ. **21**, 865 (1968).

2. *Ellipsoide*

$a \leq b = aq_1 \leq c = aq_2 =$  Halbachsen

$$R_s^2 = \frac{1 + q_1^2 + q_2^2}{5} a^2, L = 2q_2 a, q_{76} = 2q_2 \sqrt{\frac{5}{1 + q_1^2 + q_2^2}}$$

2.1 Kugel ( $q_1 = q_2 = 1$ ):  $q_{76} = 2\sqrt{5/3} = 2,58$

2.2 Unendlich gestrecktes Rotationsellipsoid

$$(q_2 \rightarrow \infty, q_1 = 1): q_{76} = 2\sqrt{5} = 4,47$$

2.3 Unendlich abgeplattetes Rotationsellipsoid

$$(q_2 = q_1 \rightarrow \infty): q_{76} = \sqrt{10} = 3,16$$

3. *Kreiszyylinder*

$R =$  Radius,  $H =$  Höhe  $= 2qR$

$$R_s^2 = \frac{3 + 2q^2}{6} R^2, L^2 = 4(1 + q^2) R^2, q_{76} = 2 \sqrt{\frac{6(1 + q^2)}{(3 + 2q^2)}}$$

3.1 Kreiszyylinder für  $q = 1$ :  $q_{76} = 2\sqrt{12/5} = 3,10$

3.2 Kreisscheibe ( $q = 0$ ):  $q_{76} = 2\sqrt{2} = 2,83$

3.3 Zylinderstab ( $q \rightarrow \infty$ ):  $q_{76} = \sqrt{12} = 3,46$

4. *Hohlzylinder*

$R =$  Außenradius,  $r = kR =$  Innenradius,  $H = 2qR =$  Höhe

$$R_s^2 = \frac{3(1 + k^2) + 2q^2}{6} R^2, \quad q_{76} = 2 \sqrt{\frac{6(1 + q^2)}{3(1 + k^2) + 2q^2}}$$

$$L^2 = 4(1 + q^2) R^2,$$

4.1 Kreisring ( $q = 0, k = 1$ ):  $q_{76} = 2$ .

5. *Prismen*

$A \leq B = Aq_1 \leq C = Aq_2 =$  Kantenlängen

$$R_s^2 = \frac{1 + q_1^2 + q_2^2}{12} A^2, L^2 = (1 + q_1^2 + q_2^2) A^2, q_{76} = \sqrt{12} = 3,46$$

6. *Doppelkegel*

$R =$  Radius der beiden zusammenliegenden Grundflächen

$H = 2qR =$  doppelte Kegelhöhe

$$R_s^2 = (3 + q^2) R^2/20, \quad L = \max(2qR, 2R)$$

$$q_{76} = 2 \sqrt{\frac{20q}{3+q^2}} \text{ für } q > 1, \quad q_{76} = 2 \sqrt{\frac{20}{3+q^2}} \text{ für } q < 1$$

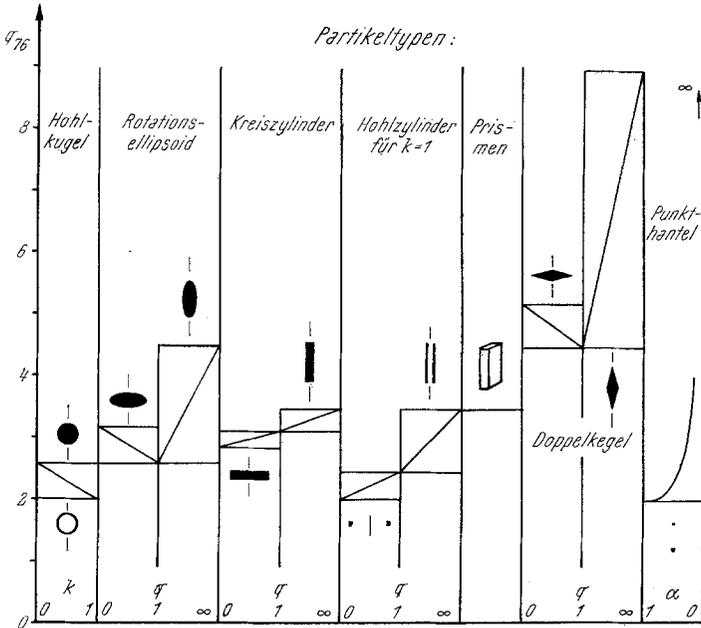


Abb. 1. Abhängigkeit des Formfaktors  $q_{76} = L(R_s)^{-1}$  von den Parametern verschiedener Partikeltypen (schematisch)

- 6.1 Doppelkegel für  $q = 1$  :  $q_{76} = \sqrt{20} = 4,47$
- 6.2 Doppelkegel-Scheibe ( $q = 0$ ):  $q_{76} = 2\sqrt{20/3} = 5,17$
- 6.3 Doppelkegel-Nadel ( $q \rightarrow \infty$ ) :  $q_{76} = 2\sqrt{20} = 8,95$

7. Punkthantelmodell

$a_1 \leq a_2 = qa_1 =$  Abstände der beiden punktförmigen Ladungen vom gemeinsamen Ladungsschwerpunkt

$$R_s^2 = qa_1^2, \quad L = (1 + q)a_1, \quad q_{76} = (1 + q)/\sqrt{q}$$

- 7.1 Symmetrische Punkthantel ( $q = 1$ ):  $q_{76} = 2$
- 7.2 Extrem unsymmetrische Punkthantel ( $q \rightarrow \infty$ ):  $q_{76} \rightarrow \infty$ .

## Der Meßpunktabstand

Die im vorigen Kapitel erhaltenen Ergebnisse, insbesondere die Grenzwerte der Quotienten  $q_{76}$  bei verschiedenen Umrißfiguren der Objekte, sind in der Abb. 1 zusammengestellt. Im allgemeinen Fall gilt die Ungleichung

$$2 R_s < L < \infty . \quad (5)$$

Da so extreme Formen (Punkthantelmodell!), bei denen fast die gesamte Ladung um den Schwerpunkt konzentriert ist und nur ein kleiner Teil sich in großer Entfernung von diesem befindet, bei globulären Molekülen und Molekülaggregaten sicher selten auftreten, kann an Stelle der Ungleichung (5) die Abschätzung

$$R_s q_{76 \min} < L \leq R_s q_{76 \max} \quad (6)$$

gesetzt werden. Für die Größen  $q_{76 \min}$  und  $q_{76 \max}$  gilt dann

$$q_{76 \min} = 2 \text{ und } q_{76 \max} \approx 9. \quad (7)$$

Falls man aus Vorkenntnissen über die untersuchten Objekte die Form eines gestreckten Doppelkegels als unwahrscheinlich ausschließen kann und als Grenzfall eines gestreckten Körpers ein gestrecktes Rotationsellipsoid annimmt, kann mit  $q_{76} = 4,5$  gerechnet werden.

Für den Abstand der Meßpunkte, bei dem noch kein Verlust an Information über die untersuchten Objekte auftritt, gilt dann die Abschätzung

$$\Delta b \leq \frac{1}{2L} \text{ und } \frac{1}{2R_s q_{76 \max}} \leq \frac{1}{2L} < \frac{1}{2R_s q_{76 \min}}, \quad (8)$$

d. h., weiter als  $\frac{1}{4} R_s$  darf  $\Delta b$  in keinem Fall gewählt werden; es ist in den meisten Fällen nicht notwendig, die Schrittweite kleiner als  $\frac{1}{4} R_s q_{76 \max}$  zu machen.

Da die Quotienten  $q_{76}$  auch zur Formbestimmung herangezogen werden können<sup>3</sup>, sieht man aus der Abb. 1, daß durch die Bestimmung von  $q_{76}$  eine eindeutige Unterscheidung zwischen Doppelkegel, Ellipsoid und Hohlkugel als Modelle für die untersuchten Objekte möglich ist.

Bemerkenswert ist ferner, daß die Größe  $q_{76}$  eine Forminvariante für alle rechtwinkligen Prismen ist.