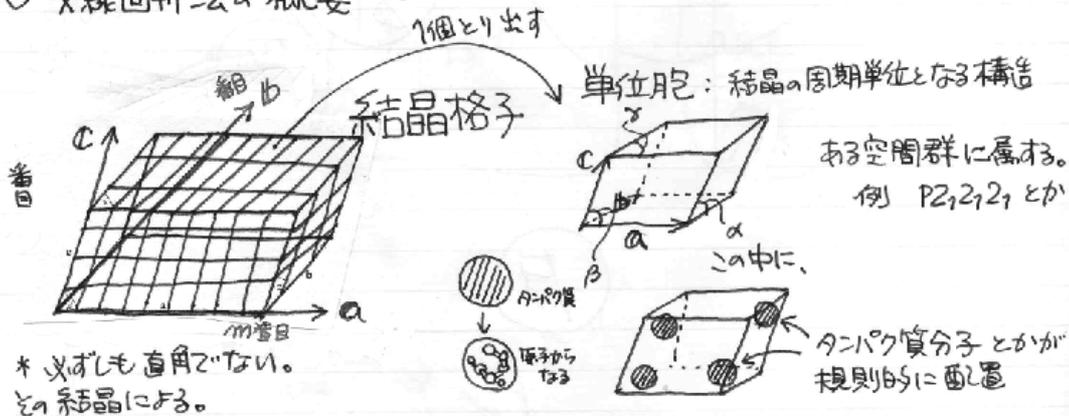


生物科学概論 参考資料 (X線結晶構造解析)

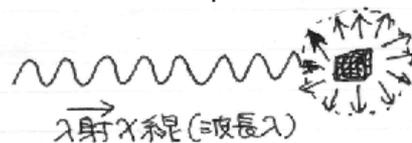
Campbell, J.W., et al. The Recording and Analysis of Synchrotron X-radiation Laue Diffraction Photographs. J. Appl. Cryst. (1989) 22, 483-497. に関する説明ノート

■ X線結晶構造解析の手法には、単色X線を用いて結晶を回転させることにより回折点を得るやり方と、白色X線を用いて結晶を回転せずに回折点を一度に得るやり方の2通りがある。この論文は、白色X線法のやり方の概観を述べると共に、実際の結晶(エンドウ豆レクチンタンパク質等)についてこれを試し、その結果を解析している。この研究から著者は、後者の手法は、前者とほぼ同量の回折写真を50倍速いスピードで与えることができるかと結論している。

〜 X線回折法の概要 〜



波長 λ の光 (X線) $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ とか



全方向に (反射球) にある λ にもとて散乱が起こる。

その散乱のルール

$$F_c(\mathbf{k}) = F(\mathbf{k}) \sum_{m=1}^M \exp(2\pi i m \mathbf{a} \cdot \mathbf{k}) \sum_{n=1}^N \exp(2\pi i n \mathbf{b} \cdot \mathbf{k}) \sum_{p=1}^P \exp(2\pi i p \mathbf{c} \cdot \mathbf{k}) \quad (1)$$

「実験化学講座10」
「回折」より →

\mathbf{k} : 原子からの散乱ベクトル

$F(\mathbf{k})$: 単位胞の構造因子 (個々の原子の散乱因子の項からなる)

$F_c(\mathbf{k})$: 結晶 (crystal) 構造因子

(1)は、 Σ のとる3項が、

$$\begin{matrix} (\mathbf{a} \cdot \mathbf{k}) \\ (\mathbf{b} \cdot \mathbf{k}) \\ (\mathbf{c} \cdot \mathbf{k}) \end{matrix} \left. \vphantom{\begin{matrix} (\mathbf{a} \cdot \mathbf{k}) \\ (\mathbf{b} \cdot \mathbf{k}) \\ (\mathbf{c} \cdot \mathbf{k}) \end{matrix}} \right\} \begin{matrix} \text{整数} \\ \text{となるときは値 } M, N, P \\ \text{が条件} \end{matrix}$$

を持つという関数。

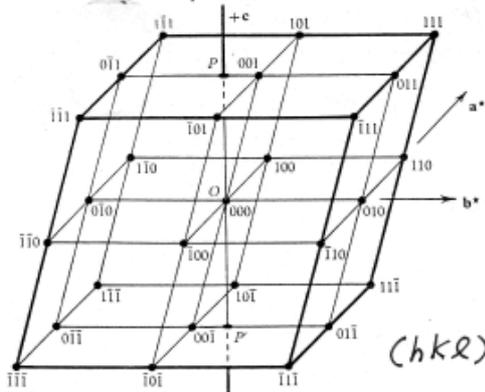
式を見ただけでは意味がやや不明なため、逆格子空間というものを定義し、散乱を視覚的にイメージできるようにする。

$$\begin{matrix} \mathbf{a} \cdot \mathbf{a}^* = 1 & \mathbf{a} \cdot \mathbf{b}^* = 0 & \mathbf{a} \cdot \mathbf{c}^* = 0 \\ \mathbf{b} \cdot \mathbf{a}^* = 0 & \mathbf{b} \cdot \mathbf{b}^* = 1 & \mathbf{b} \cdot \mathbf{c}^* = 0 \\ \mathbf{c} \cdot \mathbf{a}^* = 0 & \mathbf{c} \cdot \mathbf{b}^* = 0 & \mathbf{c} \cdot \mathbf{c}^* = 1 \end{matrix} \quad \text{となる } \mathbf{a}^*, \mathbf{b}^*, \mathbf{c}^* \text{ を定義。}$$

$\mathbf{a}^*, \mathbf{b}^*, \mathbf{c}^*$ 軸からなる空間を逆格子空間という。

イメージは、もとの (実空間) の結晶格子によく似ていて、

"SINGLE CRYSTAL
DIFFRACTOMETRY"
Arndt, J.W. →
Willis, B.T.M. (1966)
より



このイメージ

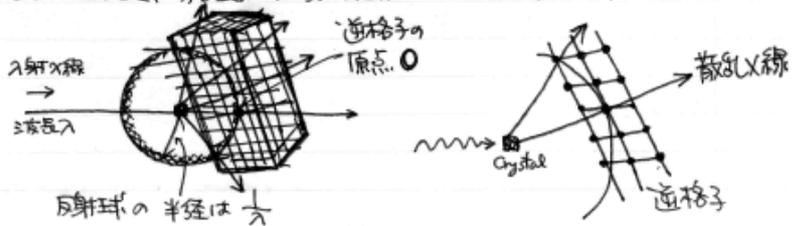
《逆格子空間》

各格子点を表すベクトルは、

$$h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^* \quad (2)$$

と表される。

X線散乱が起こる (1)式が値をとる) ということは、(2)式が (1)式
の値と等しいということ。これは図でかくと、逆格子点と回折球表面が
交わるということ。よって、結晶から交わる点に向かって散乱が起こる。



結晶構造は、

- (1) 各回折点かどの逆格子点に由来するかを決め(指数付け)、
 - (2) その反射強度を読み取り ($I(hkl)$)、
 - (3) 構造因子に変換し ($|F(hkl)|^2 = I(hkl)$)
 - (4) 位相をつけてフーリエ変換する ($\rho(x,y,z) = \frac{1}{V} \sum \sum \sum F(hkl) e^{-2\pi i(hx+ky+lz)}$)
- と、その3次元電子密度図が得られる。

■ シンクロトロン (本文 3. Outline of experiment, §3.1, 3.2)

シンクロトロン(電子加速器)の任意の接線方向からは、さまざまな波長の重ねあわせの放射X線(白色X線)を取り出すことができる。

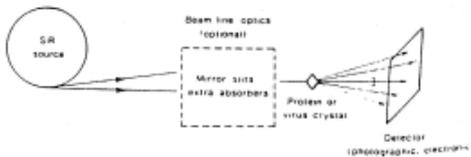


Fig. 1. Geometry of the experiment. The 'white' beam of X-rays was incident on the stationary crystal and the diffraction pattern was recorded on a flat film. We used an Arndt-Wonacott camera and took care to minimize the time that the white beam hit the collimator housing.

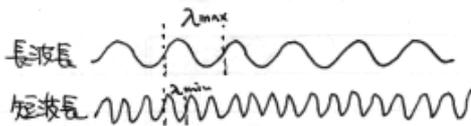
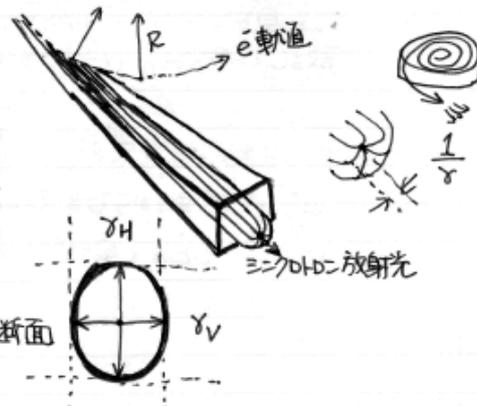


Table 1. Values of SRS station parameters in Laue modes

Station (mode)	γ_H (mrad)†	γ_V (mrad)†	λ_{min} (Å)††	λ_{max} (Å)††	Relative intensity§
9.6 (unfocused*)	0.8	0.03	0.25	2.6	1
9.6 (line focused†)	0.8	0.21	0.5	2.6	16
9.7 (unfocused)	1.2	0.05	0.25	2.6	2.4
9.5 (point focused‡)	1.2	0.125	0.5	2.6	197.4**

* This mode only available March 1984–December 1984 prior to installation of pre-mirror.
 † After installation of pre-mirror. For a discussion of station 9.6 see Helliwell *et al.* (1986).
 ‡ From a toroid mirror due to be installed in late 1989. For a discussion of the design of station 9.5 see Brammer *et al.* (1988).
 § Calculated from angular acceptances and focal spot as appropriate. No allowance made for truncation of spectrum (for ease of comparison).
 ¶ Symbols: γ_H , γ_V are respectively horizontal and vertical cross-fire angles; λ_{min} , λ_{max} are respectively minimum and maximum wavelengths.
 ** In June 1987 the high-brightness lattice (HBL) was installed and the source sizes reduced. The entries for 9.5 and 9.6 (line focused) are for the HBL. The other entries are virtually identical for SRS and HBL.
 †† These values are nominally indicative of the photon wavelength range in the beam in each instrument mode. There are photons somewhat outside this range but at very low flux. Spots recorded on the Laue photographs at the extremes of this bandpass will be relatively weak. The values estimated from the Laue photographs themselves for λ_{min} and λ_{max} will depend on the chemical fog and the general X-ray background level on the film etc.

ラウエ回折写真法

白色X線を結晶に当てて散乱を起こせると、反射球の半径は $1/\lambda_{\max} \sim 1/\lambda_{\min}$ の分布を持つことになる。単色X線では単一の球表面からしか反射が起きないのに対し、白色X線ではこの分布内からの多数の反射がおこる。このおに、白色X線を用いて瞬時に多数の反射を起こせる方法をラウエ法という。

§3.3 Details of test samples and data collection

- (a) インドウ豆Lクチン (分子量25,000)
 - 金属タンパク質 コニカバリニAなどがこのLクチンに属している。
 - 空間群 $P2_12_12_1$ 結晶の大きさ ($a=59.3\text{\AA}$, $b=69.5\text{\AA}$, $c=135.5\text{\AA}$)
 - このタンパク質はX線照射により壊れにくい。また他のタンパク質に比べて散乱強度が著しく強い。単色X線により像が既に得られている。
- (b) BPD (分子量228)
 - 低分子量有機化合物
 - 空間群 $Pna2_1$
- (c) RHCOP (分子量1393)
 - 有機金属結晶
 - 空間群 $P2_1/m$

R_{merge} : 同細線の強度がどれくらい同じにあるかを示す指標。
 例えばラウエ群 mmm に属する結晶は等価点が多い。

$$\begin{aligned} &(hkl), (\bar{h}\bar{k}\bar{l}), \\ &(\bar{h}kl), (h\bar{k}l), (h\bar{k}\bar{l}), \\ &(\bar{h}k\bar{l}), (h\bar{k}l), (h\bar{k}\bar{l}) \end{aligned}$$

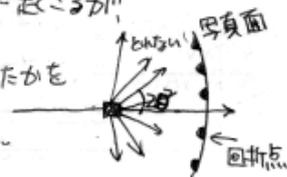
この8点の強度は「皆等しくなるはず」。しかし、実際には強度の測定誤差性、いくつかの因子、実験上のエラーから等しくならない。その程度を

$$R_{\text{merge}} = \left[\sum_{hkl} \sum_{i=1}^n |I_i - \bar{I}_{hkl}| \right] / \left[\sum_{hkl} n \bar{I}_{hkl} \right]$$

という指数で表わす。つまり R_{merge} はゼロに近い程、それらのエラーが小さいことを示すことになる。

分解能: 反射は $2d\sin\theta = \lambda$ の条件を満足することで起こるが、

θ の大きさを反射は実験上取りにくい。
 どのほど大きな θ のところの反射点が解析されたかを
 示す必要がある。この限界を $\theta = \alpha$ として
 分解能をという。 d が小さくなると、データが
 詳細に解析されることになる。



§4. Factors affecting the intensity of a spot

(i) いちばん知りたいのは各反射点の強度である。ラウエ法では、しかし、読んだ反射強度をそのまま解析に使うことはできない。なぜなら反射強度が波長 λ に依存して変化するからである(強度の波長依存性)。

◎ 長波長のX線は透過率が低く、反射強度を弱めてしまう。
一方短波長のX線は透過率が高い。

(ii) 入射X線の極化も強度に影響を及ぼす(後述)。

(iii) 長波長のX線は試料や試料管によっても吸収されカットされる。

(iv) 露光する写真板の特性により反射強度が変わる。

(v) ローレンツ因子(後述)によっても強度が変わる。

(vi) 異相分散効果(もしあれば)によっても変わる。

(vii) λ^4 が強度に反比例する。

これらのことにより強度が変わるので、あとで補正をすることになる。

§5. Intensity measurement from Laue diffraction patterns - the software package

5.1 overview of the stages in intensity measurement

強度を
測定する
ためのプログラム

↓
実際の強度測定は次のステップで進む。

GEN (a) 写った回折点の位置を見て、どのラウエ群に属するか(即ちどの空間群に属しているか)を予測。

GENLAUE (b) (a)の見直しをする。

INTLAUE (c) 回折点の強度を読取る。(複数枚の写真板を置いて、これに感光させる) 後述

AFSCALE (d) どの複数枚の写真板の間の特性の違いを補正する。極化因子とローレンツ因子、 λ と散乱方向に対する写真板の傾斜などを補正する。

UNSCRAM (e) 反射が"重なっている"強度を解読する。

(LAVENORM (f) 波長 λ に対する強度依存性を補正する。補正は、 λ の範囲を絞って
or LAUESCALE 単色X線の上に条件を整えておいたラウエ回折図を使い、ほんのり単色X線を透過させた写真を用いて行う。

(LAVENORM, (g) (f)の見直しをする。
ROTA VATA,
AGROVATA

5.2 Film scanning

強度の読みに使った装置は Joyce-Loebl Scandig-3 密度計。

これは 2400x2400 の網目に分けて強度が読み、その強度は 1~255 の数値で表わされる。磁気テープに記録。

5.3 Geometrical principles

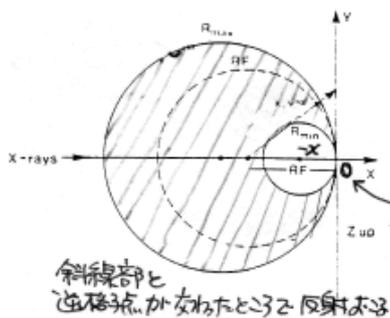
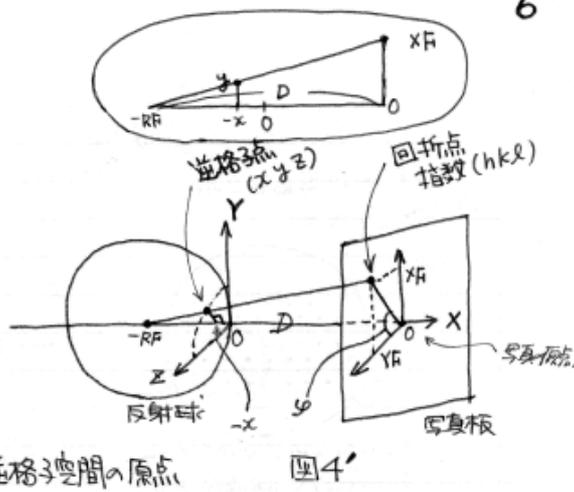


Fig. 4. Geometry of Laue diffraction; see § 5.3.



逆格子空間の原点を O とし、 X, Y, Z 座標を図4のように定義するとこの反射球の方程式は、

$$(x - RF)^2 + y^2 + z^2 = RF^2$$

となる。変形して、

$$x^2 - 2RFx + RF^2 + y^2 + z^2 = RF^2$$

$$\therefore \boxed{RF = (x^2 + y^2 + z^2) / 2x}$$

図4のように写真板を配置すると、 XF, YF と RF の関係は次のようになる。

$$\frac{D}{-RF - (-x)} = \frac{XF}{y} \quad \therefore \boxed{XF = Dy / (-RF + x)}$$

$$\frac{D}{-RF - (-x)} = \frac{YF}{z} \quad \therefore \boxed{YF = Dz / (-RF + x)}$$

今、回折点などの逆格子点(図4'上)に対応しているかを明らかにしよう。実際の逆格子の a^*, b^*, c^* 軸は X, Y, Z に一致しているわけではないので回転の行列を使って回折点と逆格子点を関係付けることはできる。

例として行列 $[A] = \begin{pmatrix} a^* & 0 & c^* \cos \beta^* \\ 0 & b^* & 0 \\ 0 & 0 & c^* \sin \beta^* \end{pmatrix}$ は単斜晶系の結晶の逆格子軸と X, Y, Z 軸に対応している。

$$[C] = \begin{pmatrix} \cos \varphi_z & -\sin \varphi_z & 0 \\ \sin \varphi_z & \cos \varphi_z & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \cos \varphi_y & 0 & -\sin \varphi_y \\ 0 & 1 & 0 \\ \sin \varphi_y & 0 & \cos \varphi_y \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \varphi_x & -\sin \varphi_x \\ 0 & \sin \varphi_x & \cos \varphi_x \end{pmatrix} \quad \text{I}$$

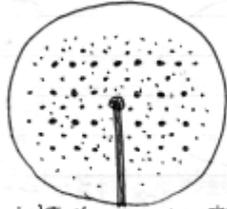
z軸まわりの回転 y軸まわりの回転 x軸まわりの回転

実際の結晶の配向を正しく X, Y, Z 軸(図4')に対応づける。

こうすると、 $\begin{pmatrix} x \\ y \\ z \end{pmatrix} = CA \begin{pmatrix} h \\ k \\ l \end{pmatrix}$ の式で (hkl) と (xyz) が対応がつかう。

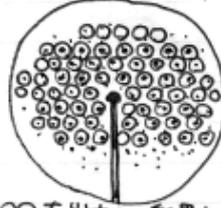
5.4 Pattern prediction

まず回折写真をとる。
その写真を



このようなものだったとすると、
消滅規則や対称性を見て、
X線の教科書巻末などにある
空間群決定対応表を参考に
空間群を予測できる。

コンピュータ画面上で
この結晶の空間群の予測に基づき、



0000 を出力し、結果と一致するかテストする。
一致すれば、その空間群であることが
確かからなくなる。

5.5 Parameter refinement

5.4ではラフな予測で空間群を決めるのが目的であったが、ここではより
精密に写真のコンピュータ解析を進める。5.3で示したパラメータ、

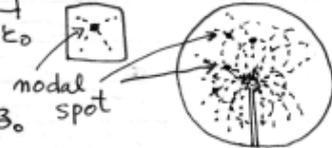
$\varphi_x, \varphi_y, \varphi_z, D, x_c, y_c$ (結晶と写面板距離), 回折点の原点, a^*, b^*, c^* 軸
のうちの2つ, $\alpha^*, \beta^*, \gamma^*$ 角度 α と β が等しいと決める。

その手順

(i) 全反射点が modal スポットだけを画面上に表示。modal スポットは

同じ指数を持つ回折点群 (OKL) と (OKL) と (OKL) の
回折点群 (OKL) が交わっている点のこと

全反射を表示させると混み合うので、
modal spot だけを refine を進める必要がある。



(ii) 画面上をカーソルでなぞり、座標データを作っていく。

$[XF, YF]_{obs}$ と $[XF, YF]_{calc}$ が得られる。

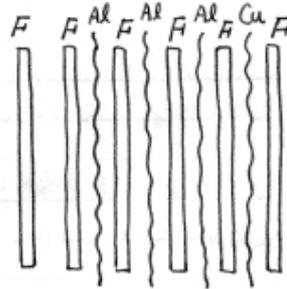
(iii) 画面上でピークの重心をきちんと見定める。

(iv) ピークが重なっている場合は使えないので消す。

(v) $1/\sigma^2$ を δ^2 が小さくなるように決めていく。

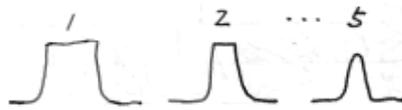
$$\delta = [(XF_{obs} - XF_{calc})^2 + (YF_{obs} - YF_{calc})^2]^{1/2}$$

5.6 Integration



F: フィルムは6枚用い、
間にはAlとCuのオイルを
はさみている。(§31:記述)

結晶に近いフィルムほど
強く感光する。シンクドロン
から出る白色X線は強度が
強いのでこのおぼえり方が
必要になる。



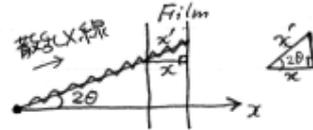
四角の箱に
区切った
スキャンしていく。

5.7 Scaling within the film packs

散乱X線の吸収係数がフィルム間で異なると、強度の読みが不正確になる。

∴ 補正が必要。

いま、散乱X線が角度 2θ でななめに
Filmに入射したとすると、Film内の散乱強
度 I は $-\frac{dI}{I} = \mu dx$ (μ はフィルムの定数) の



方程式を満足する。ゆえに $I = I_0 \exp(-\mu x)$ 。

x 方向の強度は λ^3 に比例している。∴ $x \propto \lambda^3 / \cos 2\theta$

$$\therefore I = I_0 \exp(-\mu \lambda^3 / \cos 2\theta)$$

$S_{j+1} = I_j / I_{j+1}$ と定義すると、

$$S_{j+1} = \frac{I_0 \exp(-\mu \lambda^3 / \cos 2\theta)}{I_0 \exp(-\mu' \lambda^3 / \cos 2\theta)}$$

$$\therefore S_{j+1} = \exp((\mu' - \mu) \lambda^3 / \cos 2\theta)$$

$$\therefore S_{j+1} = \exp(\alpha \lambda^3 / \cos 2\theta) \quad \text{: } \lambda^3 - 11 = 77779$$

◎ S_j が 50% も違うという結果が得られた場合、このデータは捨てる。



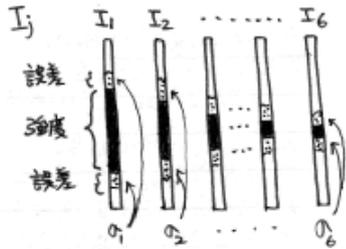
このようにおぼえるもの
はとせば

$S_{j+1} = I_j / I_{j+1} = 1.73$ と他のデータから求まっているのに、

($I_j = 1.73 \times I_{j+1}$) ところが 0.83 とか 2.23 とおぼえる

(±50%) 自身は明らかにおかしい。

∴ 強度データとして採用しない。



前パージのフィルム間スケールンクファクターが求まると、個々の反射強度に対し誤差が見積れる。
(分散, σ^2)

$\frac{1}{\sigma^2}$ は重みづけ係数と呼ばれる。

この誤差まで考慮したときの強度は

$$I = \left(\frac{1}{\sigma_1^2} I_1 + \frac{1}{\sigma_2^2} I_2 + \dots + \frac{1}{\sigma_6^2} I_6 \right) / \left(\frac{1}{\sigma_1^2} + \frac{1}{\sigma_2^2} + \dots + \frac{1}{\sigma_6^2} \right)$$

と表わされる。

一般に、ある点の強度は、
$$I_i = \frac{\sum_{j=1}^6 (1/\sigma_j^2) I_{ij}}{\sum_{j=1}^6 (1/\sigma_j^2)}$$

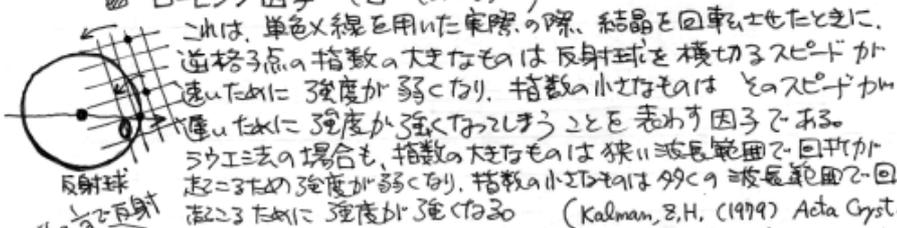
Table 2. Film-pack scaling and merging for pea lectin, film pack 10

Film no. in pack	1	2	3	4	5	6
Number of reflections merged	6734	4542	3352	1589	957	577*
Reflections common to adjacent films		2149	997	646	399	113
Coefficient α for $\lambda = 0.45-0.49 \text{ \AA}$	1.63	2.06	2.30	2.45	2.45	7.11
Coefficient α for $\lambda = 0.49-0.92 \text{ \AA}$	0.663	1.29	1.27	1.27	1.27	5.33
Coefficient α for $\lambda = 0.92-2.6 \text{ \AA}$	0.266	0.817	0.860	0.845	—	—
These represent absorption by	F	F, Al	F, Al	F, Al	F, Cu	F, Cu
Scaling R factors†	0.11	0.11	0.10	0.09	0.09	0.17
Total number of reflections after merging = 5870						
Wavelength of measurement (Å)	0.45-0.85	0.85-1.3	1.3-1.65	1.65-2.05	2.05-2.6	2.6-3.5
Number of reflections	1574	1666	1736	894	894	894
Mean $\sigma(I)/I$	0.0870	0.080	0.069	0.087	0.087	0.087

* Only one of these reflections was too strong to measure on this sixth film in the pack.
† $R_{\text{scale}} = [\sum (I_{i+1} - I_i)] / \sum I_i$ for all pairs of reflections on films i and $i+1$ used to determine the coefficient α .

回折強度は上述のフィルム間の特性の違いにより変化他に、ローレンツ因子、極化因子によっても変化がある。このステップではこれらの補正も行う。

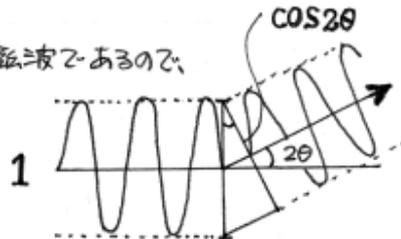
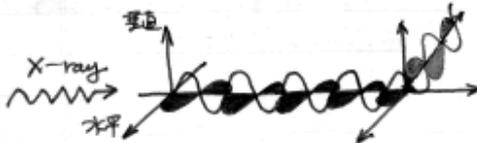
ローレンツ因子 ($L = (\sin^2 \theta)^{-1}$)



(Kalman, Z.H. (1979) Acta Cryst. A35, 634, Buras, B. & Gemward, L (1975) Acta Cryst. A31, 392)

④ 極化因子: P

X線は垂直, 水平方向の成分をもった電磁波であるので,



反射角に依りて 反射方向への強度が変化する。

$$E_{\parallel} = E_0 \left(\frac{e^2}{mc^2} \right) (\cos 2\theta) \exp \{ i(2\pi \nu t - \pi) \}$$

$$E_{\perp} = E_0 \left(\frac{e^2}{mc^2} \right) \exp \{ i(2\pi \nu t - \pi) \}$$

$$I = (E_{\parallel}^2 + E_{\perp}^2) / 2 = E_0^2 \left(\frac{e^2}{mc^2} \right) \left(\frac{1 + \cos^2 2\theta}{2} \right)$$

反射X線のPは,

$$P = \frac{I_{\parallel} \cos^2 2\theta}{I}$$

$$\text{本式 } P = \left(\frac{1 + \cos^2 2\theta}{2} \right) \left(1 - \tau \left(\frac{\cos 2\theta \sin^2 2\theta}{1 + \cos^2 2\theta} \right) \right)$$

の2項は入射X線にミラーなどで偏光を加えた項を表わす。

$$O_b = \exp(-0.105 / \cos 2\theta) \text{ は 5.7の定義に於ける。}$$

$$|F(hkl)|^2 = I(hkl) \times L \times P \times O_b$$

5.8 Treatment of multiple reflections

波長 λ_1 と λ_2 の2つを反射した点から τ ずつ重なり合うときとは強度を2424の成分に分ける必要がある。

$$I_{j=1} = I_{\lambda_1} + I_{\lambda_2}$$

先に述べた S_j の規格化すると, I_{j+2} は

$$I_{j=2} = \frac{I_{\lambda_1}}{S_2(\lambda_1)} + \frac{I_{\lambda_2}}{S_2(\lambda_2)} \text{ と } \tau^2 \text{ である。}$$

同様にして $I_{j=3}$ は,

$$I_{j=3} = \left(\frac{I_{\lambda_1}}{S_2(\lambda_1)} \right) / S_3(\lambda_1) + \left(\frac{I_{\lambda_2}}{S_2(\lambda_2)} \right) / S_3(\lambda_2)$$

$$\therefore I_{j=3} = I_{\lambda_1} / [S_2(\lambda_1) S_3(\lambda_1)] + I_{\lambda_2} / [S_2(\lambda_2) S_3(\lambda_2)]$$

Table 3. Treatment of a multiple reflection

One example double spot results from the superposition of $I(834)$ at $\lambda = 1.995 \text{ \AA}$, and $I(1668)$ at $\lambda = 0.997 \text{ \AA}$. The intensities of these reflections were derived by the least-squares procedure of the program UNSCRAM as 356 and 219 respectively, and the table shows how these account for the observed intensities.

Film no. in pack	1	2	3
Attenuation factor, $\exp(-\alpha\lambda^3)$, at $\lambda = 1.995 \text{ \AA}$		0.121	0.0015
Attenuation factor $\exp(-\alpha\lambda^3)$, at $\lambda = 0.997 \text{ \AA}$		0.768	0.448
$I(834)$ intensity	356	43	0
$I(1668)$ intensity	219	168	75
Calculated intensity of double spot	575	211	75
Observed intensity of double spot	579	185	100

11

$\lambda = 0.997 \text{ \AA}$ と 232
 $I(834)$ と $I(1668)$ が重なる
 異なる強度に分けた結果を
 示している。

356	43	0
+ 219	+ 168	+ 75
575	211	75

5.9 Wavelength normalization

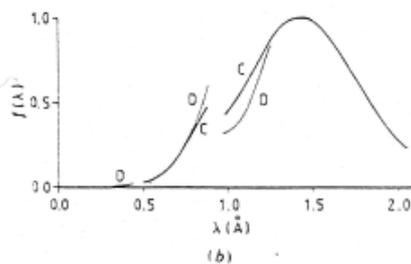
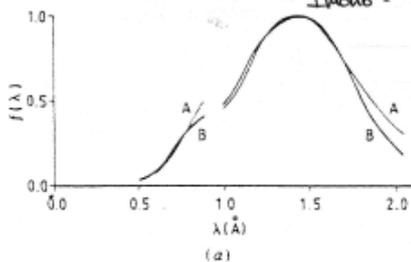
§4で述べたように、ラウエ法では、回折点の強度が波長 λ に依存して変化する。たとえば、本来同じ強度を持つべき等価点 (hkl , $h\bar{k}l$, ...) の反射も、ちがう λ とすると(強度は λ^4 に比例するから)強度が違ってくる。

そこで、反射強度の波長依存性をきちんと調べ、その曲線を用いて測定結果を波長依存性のないものに規格化することがある。

その曲線 $f(\lambda) = \langle I_{\text{meas}} / I_{\text{mono}} \rangle$

I_{meas} : ラウエ法により実際に測定した反射強度。

I_{mono} : λ による強度変化のない反射強度。これは単色X線法による λ 範囲の極く狭いラウエ法により求められる。



違う λ で反射する等価点の強度は同じに
 なる等価点: その等価点について $f(\lambda)$ を
 求めることができる。

その結果求めた(λ に依存しない等)強度を
 I_1, I_2, I_3, \dots とする

$$R_{\text{meas}} = \sum (I_i - I_m) / \sum I_m \quad I_m: \text{対称な点の平均}$$

で定義した R_{meas} はその規格化がいかによろしく
 行われたかを示す可関数。

R_1 は 8個の等価点について計算した R_{meas}

R_2 は Friedel oppositesを除いた4個の等価点
 について計算した R_{meas}

R_3 は Friedel oppositesを除き、更に回折を
 起こす波長の差が 0.1 \AA 以内の等価点
 だけを用いて計算した R_{meas}
 (実験17-による R_{meas})

Fig. 5. Various wavelength normalization curves. (a) Curves are marked (A) pea lectin, pack 8 (as an example of using LAUE SCALE); (B) pea lectin, pack 8 (as an example of using LAUENORM); (b) curves are marked (C) pea lectin all 5 packs together, LAUENORM; (D) RHCOP, LAUENORM. The pea lectin and RHCOP curves are on different scales.

Table 4. Reflection overlap analyses in LAUENORM

Analysis by wavelength bins:

Bin	Bin 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	377														
2	189	471													
3	114	241	592												
4	84	139	289	653											
5	88	98	137	315	661										
6	87	78	87	119	255	784									
7	99	95	98	100	111	301	872								
8	95	111	113	114	104	134	387	882							
9	87	110	114	118	129	142	175	387	1034						
10	81	101	110	115	107	119	138	202	429	948					
11	61	66	84	72	90	90	81	108	137	309	677				
12	71	56	62	52	54	65	60	71	83	121	235	501			
13	42	51	38	53	44	43	52	54	54	67	81	179	356		
14	38	36	29	33	32	27	35	32	34	40	41	75	122	241	
15	22	23	21	17	16	22	29	24	18	23	31	35	41	82	177

Analysis by film packs:

Pack	Pack 7	8	9	10	11
7	1388				
8	672	2298			
9	290	728	2171		
10	140	285	686	1360	
11	215	457	821	718	1900

When two measurements of a reflection or its symmetry equivalent are available they can contribute to the determination of the relative scales of the wavelength 'bins' and of the film packs in which they occur. The tables of 'overlaps' show the numbers of these contribution in the pea lectin data. The wavelength 'bins' are approximately 0.11 Å wide commencing at a λ_{min} of 0.45 Å. The film-pack number are defined in the text.

↑ 波長の範囲を15ヶに区切り、ある範囲と別の範囲の間に共通して存在する等価点の数。

例

Bin	Bin 1
1	377

というのは、1の波長範囲に存在する反射の数が377個あるという意味。

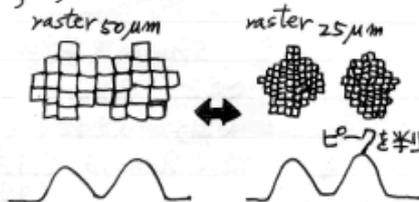
Bin	Bin 1
10	81

というのは、10の波長範囲にある反射のうち、81個の反射が1の波長範囲にあるものと等価であるという意味。

- 1 (341), (730), (546) ...
- 10 (341), (730), (221) ... → 2個と数える。

§6 Evaluation of experimental and processing protocols

6.1 Use of fine raster



raster: 四角い区切りが赤田か白とピークが判別できる。ピークの下まはもう少し下ま(ノイズ)を減らす。

ピークを判別できる。
 2枚か Rmerge に効く。
 20.1% → 17.4 Å (50µm) (25µm)

6.2 Effect of an incorrectly estimated resolution limit (d_{min})

d は § 3.3 で述べた分解能のこと

$d = \frac{\lambda}{2 \sin \theta}$ であり、エドワードの写真に於いては

$d_{min} = 2.6 \text{ \AA}$, $\lambda_{min} = 0.45 \text{ \AA}$, $\lambda_{max} = 2.6 \text{ \AA}$ という範囲の d が使える条件 T_0 と見做された。

もし $d_{min} = 2.6 \text{ \AA}$ を 2.0 \AA まで下げると $d^* = \frac{2 \sin \theta}{\lambda}$



$d_{min} = 2.6 \text{ \AA} \rightarrow R_{merge} = 13\%$

$d_{min} = 2.0 \text{ \AA} \rightarrow R_{merge} = 15\%$

結論 $d_{min} = 2.6 \text{ \AA}$ とする方が T_0 で解析を進めた。

6.3 Profile fitting

強度を適切に最小二乗法を使ったという話。

7. The final data set for pea lectin

実験は6枚のフィルムから得たデータを1パックとし、5パックに分けて T_0 を 24×24 の角度 ϕ を $90^\circ, 60^\circ, 30^\circ, 0^\circ, 15^\circ$ かにする。

ここにはそれぞれの実験で測れた強度を、例の波長規格化関数 $f(\lambda)$ で直し、その結果を示している。

Table 5. The number of spots in the categories of single reflections, multiple reflections (harmonics) and spatial overlaps for the five pea lectin packs

Pack	The latter two populations are almost entirely independent.				
	$\phi = 90^\circ$	60°	30°	0°	15°
Singles	5810	5800	5859	5893	5686
Doubles	593	603	580	659	568
Multiples (triplet and higher)	185	164	166	182	177
Spatial overlaps (0.4 mm centre-to-centre minimum allowed)	1837	1778	1726	1489	1888

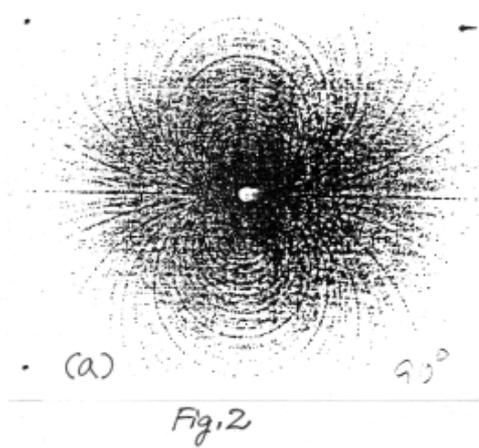
7, 8, 9, 10, 11 は 5回の実験につけた番号。

6枚のフィルムを逐次得た反射数を示している。

Singles の和 = 29048.

ここは、 λ bins が $2.1 \sim 2.6 \text{ \AA}$ とする R_{1-3} が大きくなることを判明。従って λ_{max} は 2.1 \AA まで下げることにした。(本文 P.492 右下)

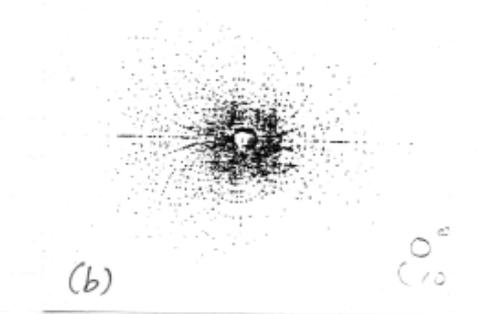
和 = 6734 (Table 2)



(a) Fig. 2 90°

5回の実験をやることで 非常=非等方的な
指数の反射が得られた場合 どうなるか
を知ることかできる。

(a) 写真中央から出ている円の模様上に
交点が見られないという 異常なウエ
写真。この円はたとえば (123),
(223), (323), (423), (523), ...
という指数の関係にある。



(b) 0°

(b) 等方的な反射が起こっている
ウエ写真。交点がある。

Pack NO. 7~11の 4枚について
全パッケの強度を $f(\lambda)$ で規格化した後の
 $R_1 \sim R_3$ 。

Table 6. Comparison of R factors (defined in § 5.9) and associated numbers of reflections for individual packs processed through LAUENORM (singles only)

Pack	7	8	9	10	11
φ (°)	90	60	30	0	15
$R_1(N)$	8.7 (4971)	6.1 (4787)	6.7 (4585)	8.1 (4638)	6.2 (4315)
$R_2(N)$	8.4 (4426)	10.2 (394)	10.6 (518)	7.1 (3944)	8.2 (1074)
$R_3(N)$	7.6 (2364)	9.0 (10)	8.8 (28)	7.7 (1996)	4.6 (32)

The number of terms contributing to R_2 and R_3 , which exclude Friedel opposites, is explained by the fact that packs 7 and 10 exhibit higher symmetry. For R_3 , in addition, equivalent measurements contributing to the summation must be within 0.1 Å of each other. See § 5.9.

Table 7. Comparison of R factors for singles and doubles after combination of all packs

	Singles	Doubles
$R_1(N)$	9.0 (24080)	14.3 (2410)
$R_2(N)$	9.5 (18535)	15.7 (1487)
$R_3(N)$	7.9 (7563)	12.8 (598)

A total of 24675 measurements for the singles and 2724 for the unscrambled doubles were written to the respective output intensity files for the AGROVATA analyses given in Table 8. These numbers include some measurements whereby reflections were measured only once and hence the numbers of reflections contributing to R_1 are slightly less.

全パッケのデータを合わせて
 $R_1 \sim R_3$ を見積った。
 $\lambda_{max} \in 2.6 \rightarrow 2.1 \text{ \AA} = \text{FIFT}$ ので
(Table 5 の singles の和 \neq)
使った反射点の数が減っている。
(24080)
重なる点 (Doubles) の R は Singles
の方が R は勿論良い。

Table 3. Comparison of merging statistics and numbers of reflections as a function of resolution, d , for (a) Laue singles, (b) Laue unscrambled doubles and (c) monochromatic oscillation data

d (Å)	(a)			(b)			(c)		
	R (%)	N_{meas}	N_{indep}	R (%)	N_{meas}	N_{indep}	R (%)	N_{meas}	N_{indep}
8-22	8.5	13	6	8.1	24	9	5.8	843	296
5-81	7.6	114	31	13.1	310	92	5.5	2326	742
4-75	8.2	850	193	10.0	200	56	5.9	2715	871
3-11	7.5	1952	387	16.9	68	23	5.9	3165	1014
2-68	7.4	2358	477	14.3	82	25	5.4	3617	1162
1-36	7.2	2683	540	9.1	165	39	5.8	4140	1288
1-11	8.1	3069	606	10.1	182	46	6.4	4383	1384
2-91	9.2	2801	566	13.6	167	45	7.0	5003	1534
2-74	10.9	2268	486	13.5	109	32	8.2	5302	1586
2-60	12.6	1536	344	18.6	57	18	9.4	5697	1707
Totals*	8.2	17644	3636	12.2	1364	385	6.3	37191	11584
(I)		1116			3913			1629	
(σ(I))		159			1120			231	
All†	8.1	23278	6197	11.7	2278	785	7.7	41813	12389
(σ(I)に70%)			(6792)			(1099)			(12906)

These statistics are derived from the program AGROVATA. The monochromatic oscillation film data are described in Einspahr *et al.* (1985). N_{meas} is the number of measurements contributing to the R factor quoted, which excludes Friedel opposites (as R_2 and R_1 in Table 1). N_{indep} is the number of independent reflections resulting from the N_{meas} measurements. *The averaging of I^+ and I^- yields more independent reflections and should show a slight increase in R factor (i.e. the anomalous signal due to the Mn and Ca in pea lectin). This R factor is akin to R_1 in Table 7. The figure in brackets is the number of independent reflections including those only measured once. †For the Laue singles 24 675 measurements were read in from the LAUENORM stage of processing, there were 802 bad agreements leaving 23 873 measurements of which 595 were independents measured only once, and so the 8.1% R factor was calculated on 23 873-595 = 23 278 measurements as given in the table. For the Laue doubles there were 2724 measurements, 132 bad agreements, 314 measured once leaving 2278 for the R -factor calculation. For the monochromatic data there were the additional rejections due to a resolution cut-off truncation from 1.84 to 2.6 Å and unmatched partials; the number of bad agreements was 2225. There were 517 data, out of 4730, measured once.

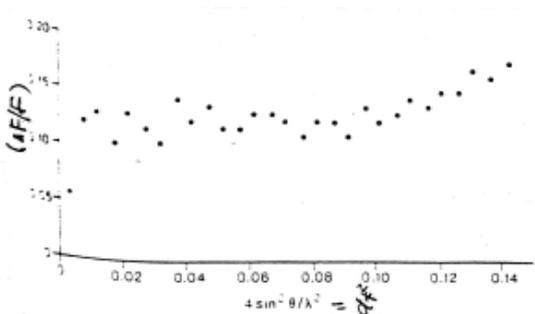


Fig. 4. Plot of the mean fractional difference ($\Delta F/F$) between Laue singles data (after wavelength normalization using LAUENORM) and monochromatic pea lectin data as a function of $4 \sin^2 \theta / \lambda^2$.

(a) ラウエ写真の Singles,
 (b) ラウエ写真の doubles,
 (c) 単色線写真
 の各データについての R and d はほぼ
 依存性。
 (a) と (c) を比較して, R_{merge} は
 単色の 6.3 に比べて 8.2 と悪く
 いるものの, $\langle I \rangle / \langle \sigma(I) \rangle$ は共に
 2.0 近く, 強データの質はラウエ法と
 単色線法で同じであることを示す。

$\Delta F = F_{Laue} - F_{mono}$ のこと。
 横軸は逆格子空間の中心から外側に向って面積を表わす。

$$\Delta F/F = \left(\frac{I_{Laue} - I_{mono}}{I_{mono}} \right)^{1/2}$$
 このから ΔF が λ におとると F は変わらないことがわかる。このことは, ΔF の補正に
 よりラウエのデータが (単色のものに比べて)
 きちんと直っていることを示す。

8. Evaluation and use of the software package with crystals of simpler compounds

BPD 結晶に於いて $f(\alpha)$ の規格化曲線は L74 のものと似ている。従って $f(\alpha)$ は 試料によらず正しいとみなす。
BPD は 白色 X 線により その結晶が壊れることが判った。

RHCOP 結晶に於いても $f(\alpha)$ 曲線は L74 のものと良い一致を示した。
その他細かいパラメータも記述されている。

9. Summary and Concluding remarks

- ◎ ラウエ法と単色 X 線法で R_{merge} は 2.2% と 6.3% であった。
このことは テータの幅が 両者とも同じであることを示す。
- ラウエ法では 6792 点の反射が 5 パック × 45 秒の露光時間で撮れた。
一方単色 X 線法では 12906 点の反射が 45 パック × 45 秒の露光時間で撮れた。
(前者は 15mA の SR, 後者は 150mA の SRE 用) このことは前者は後者に対して 約 50 倍早くデータを取得することができるといえることを示している。

$$\frac{45}{5} \times \frac{150}{15} \times \frac{6792}{12906} = 50$$