

Teilchen in Lösung

Wir betrachten eine Probe (Volumen V) aus N_T Teilchen in einer Lösung. Die Lösemittelmoleküle sollen klein gegenüber den gelösten Teilchen sein, so dass man bei SAS-Experimenten nur ihre mittlere Streulängendichte zu berücksichtigen braucht. Die Streuamplitude der Probe kann man dann folgenderweise berechnen:

$$F(\vec{q}) \equiv \int_V \tilde{\rho}(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV = \int_V (\tilde{\rho}(\vec{r}) - \bar{\rho}_s) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV + \int_V \bar{\rho}_s e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV$$

Der Integrand im ersten Term auf der rechten Seite verschwindet außerhalb der Teilchen, so dass sich eine Summe über die gelösten Teilchen ergibt:

$$\int_V (\tilde{\rho}(\vec{r}) - \bar{\rho}_s) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV = \sum_T e^{-i\vec{q}\vec{R}_T} f_T(\vec{q})$$

\vec{R}_T = Ort des Zentrums des Teilchens T , definiert durch

$$\int_{V_T} (\vec{r} - \vec{R}_T) dV = 0$$

$$f_T(\vec{q}) = \int_{V_T} \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV$$

Reduzierter Formfaktor des Teilchens T mit dem Volumen V_T

\vec{r} = Abstandsvektor vom Zentrum \vec{R}_T

$$\tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}) \equiv \tilde{\rho}_T(\vec{r}) - \bar{\rho}_s$$

Reduzierte Streulängendichte des Teilchens T

Die Fouriertransformierte der konstanten Lösemittelstreulängendichte über das Probenvolumen ergibt einen Streupeak bei $q = 0$ (Vorwärtsstreuung)

$$\int_V \bar{\rho}_s e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV \approx \bar{\rho}_s \cdot V \cdot \delta_{\vec{q}0}$$

und liefert für $V^{1/3} q \gg 1$ keinen Beitrag zur Streuamplitude der Probe.

Damit gilt für das Betragsquadrat der Streuamplitude der Probe

$$|F(\vec{q})|^2 = \sum_{T, T'} e^{-i\vec{q}(\vec{R}_T - \vec{R}_{T'})} f_T(\vec{q}) f_{T'}^*(\vec{q}) \quad (1)$$

Sind die gelösten Teilchen statistisch verteilt und stark verdünnt, so dass ihre gegenseitigen Abstände groß sind gegenüber den Abmessungen der Teilchenselbst,

$$|\vec{R}_T - \vec{R}_{T'}| \gg \sqrt[3]{V_T}$$

dann mitteln sich in Gl. (1) die Produktterme mit $T \neq T'$ aus und wir erhalten

$$|F(\vec{q})|^2 \approx N_T \langle |f_T(\vec{q})|^2 \rangle \quad \text{wenn alle Teilchen gleich („T“) sind}$$

$$\langle |f_T(\vec{q})|^2 \rangle = \text{das über alle Teilchenorientierungen gemittelte Betragsquadrat des reduzierten Teilchenformfaktors } f_T$$

Ohne Berücksichtigung von Polarisierungseffekten ergibt sich damit für die Streuintensität einer Probe von N_T in einem Lösemittel der homogenen Streulängendichte $\bar{\rho}_s$ gelösten gleichen Teilchen die Formel

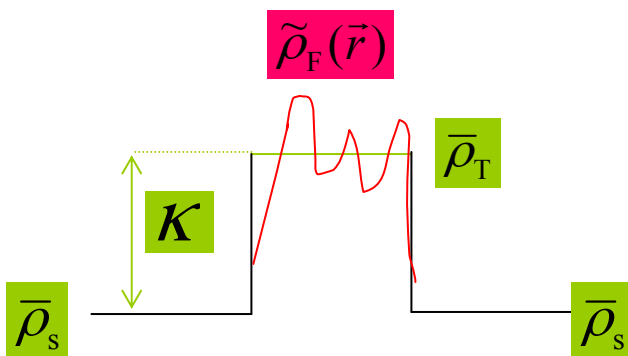
$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \equiv I(\vec{q}) \approx N_T \langle |f_T(\vec{q})|^2 \rangle$$

Streuintensität bei Kontrastvariation

Die relative Streulängendichte des Teilchens wird in Mittelwert und Abweichung vom Mittelwert („Fluktuation“) zerlegt:

$$\tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}) \equiv \tilde{\rho}_T(\vec{r}) - \bar{\rho}_s = \kappa + \tilde{\rho}_F(\vec{r})$$

$$\kappa \equiv \bar{\rho}_T - \bar{\rho}_s \quad \text{Kontrast}$$



$$\int_{V_M} \tilde{\rho}_F(\vec{r}) dV = 0$$

Die Streuintensität der Probe ergibt sich damit als quadratische Form des Kontrasts

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \equiv I(\vec{q}) \approx N_T \left\langle \left| \int_{V_T} (\kappa + \tilde{\rho}_F(\vec{r})) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV \right|^2 \right\rangle =$$

$$= N_T \left\{ \kappa^2 \cdot I_V(q) + \kappa \cdot I_{VF}(q) + I_F(q) \right\}$$

mit den drei Basis-Streukurven

$$I_V(q) \equiv \left\langle \left| \int_{V_T} e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV \right|^2 \right\rangle$$

$$I_{VF}(q) \equiv \left\langle \int_{V_T} e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV \cdot \int_{V_T} \tilde{\rho}_F(\vec{r}) e^{i\vec{q}\vec{r}} dV + c.c. \right\rangle$$

$$I_F(q) \equiv \left\langle \left| \int_{V_T} \tilde{\rho}_F(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV \right|^2 \right\rangle$$

Dabei wird über alle in der Lösung vorkommenden Teilchenorientierungen gemittelt.

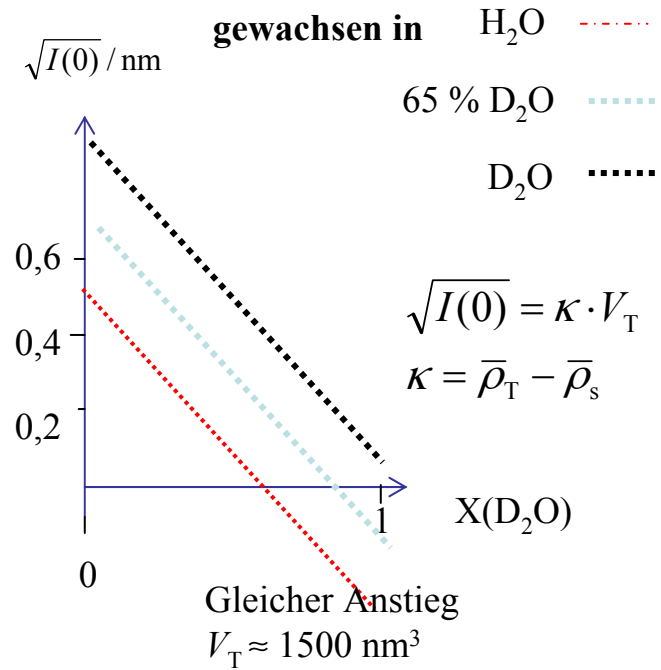
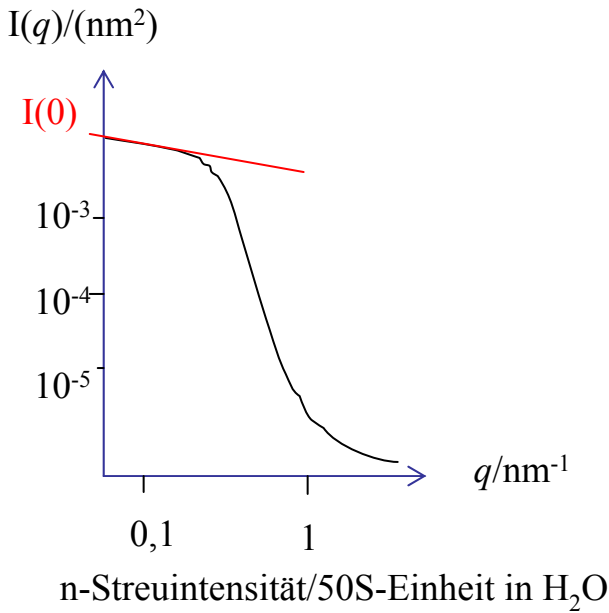
Es tritt dann nur noch der Betrag q des Streuvektors auf.

Für $q \rightarrow 0$ gilt

$$\sqrt{\frac{I(q)}{N_T}} \rightarrow \sqrt{\frac{I(0)}{N_T}} \approx \kappa \cdot V_T$$

Trägt man die auf $q = 0$ extrapolierte und auf die Teilchenzahl normierte Streuintensität über den Kontrast auf, dann erhält man aus dem Anstieg dieser Geraden das Volumen eines Streuteilchens.

Beispiel: SANS-Kurven der 50S-Untereinheit von **E. coli-Ribosomen**
(Stuhrmann 1979)



Guinier-Plot und Gyrationradius

Entwicklung der Streuintensität eines Teilchens für kleine q :

Streulängendichte des Teilchens $\tilde{\rho}(\vec{r}) = \kappa + \tilde{\rho}_F(\vec{r})$

$$I(\vec{q}) \approx \left\langle \left| \int_{V_T} \tilde{\rho}(\vec{r}) e^{i\vec{q}\vec{r}} dV \right|^2 \right\rangle = \int_{V_T} dV \int_{V_T} dV' \tilde{\rho}(\vec{r}) \tilde{\rho}(\vec{r}') \langle e^{-i\vec{q}(\vec{r}-\vec{r}')} \rangle$$

Die Winkelmittelung ergibt

$$\langle e^{-i\vec{q}(\vec{r}-\vec{r}')} \rangle \approx 1 - iq|\vec{r}-\vec{r}'| \langle \cos \theta \rangle - \frac{q^2(\vec{r}-\vec{r}')^2}{2} \langle \cos^2 \theta \rangle = 1 - \frac{q^2(\vec{r}-\vec{r}')^2}{6}$$

denn $\langle \cos \theta \rangle = 0$ und $\langle \cos^2 \theta \rangle = \frac{1}{3}$

Damit erhält man für die Streuintensität bei kleinen q -Werten $(q|\vec{r} - \vec{r}'| \ll 1)$

$$I(q) \approx \int_{V_T} dV \int_{V_T} dV' \tilde{\rho}(\vec{r}) \tilde{\rho}(\vec{r}') \left(1 - \frac{q^2 (\vec{r} - \vec{r}')^2}{6} \right) \equiv I(0) \left(1 - \frac{q^2 R_G^2}{3} \right)$$

$$\begin{aligned} \tilde{\rho}(\vec{r}) \cdot \tilde{\rho}(\vec{r}') &= \kappa^2 + \kappa [\tilde{\rho}_F(\vec{r}) + \tilde{\rho}_F(\vec{r}')] + \tilde{\rho}_F(\vec{r}) \cdot \tilde{\rho}_F(\vec{r}') \\ (\vec{r} - \vec{r}')^2 &= r^2 + r'^2 - 2\vec{r}\vec{r}' \end{aligned}$$

mit der auf $q = 0$ extrapolierten Streuintensität

$$I(0) \approx \int_{V_T} dV \int_{V_T} dV' \tilde{\rho}(\vec{r}) \tilde{\rho}(\vec{r}') = \kappa^2 V_T^2$$

und dem Quadrat des Gyrationradius

$$R_G^2 \equiv \frac{\int_{V_T} dV \int_{V_T} dV' \tilde{\rho}(\vec{r}) \tilde{\rho}(\vec{r}') (\vec{r} - \vec{r}')^2}{2 \cdot I(0)} = R_c^2 + \frac{\alpha}{\kappa} - \frac{\beta}{\kappa^2}$$

Bezeichnungen:

$$R_c^2 \equiv \frac{1}{V_T} \int_{V_T} r^2 dV$$

Abstandsquadrat gemittelt über das „leere“ Teilchen

$$\alpha \equiv \frac{1}{V_T} \int_{V_T} \tilde{\rho}_F(\vec{r}) r^2 dV$$

Abstandsquadrat gemittelt über die Abweichungen von der mittleren Streulängendichte im Teilchen

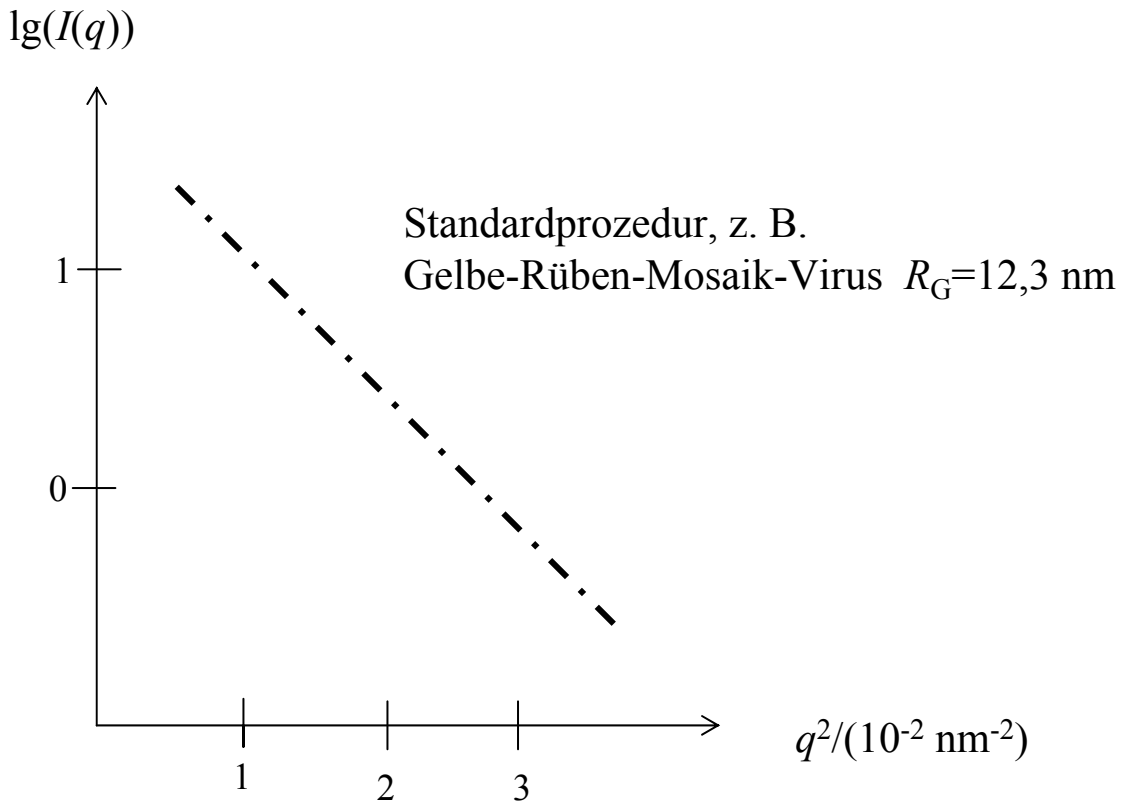
$$\beta \equiv \left(\frac{1}{V_T} \int_{V_T} \tilde{\rho}_F(\vec{r}) \vec{r} dV \right)^2$$

„Dipolterm“

Guinier-Plot

$$I(q) \approx I(0) \left(1 - \frac{q^2 R_G^2}{3} \right) \approx I(0) e^{-\frac{q^2 R_G^2}{3}}$$

$$\ln[I(q)] \approx \ln[I(0)] - \frac{R_G^2}{3} \cdot q^2$$



Interpretation der Werte des Gyrationradius:

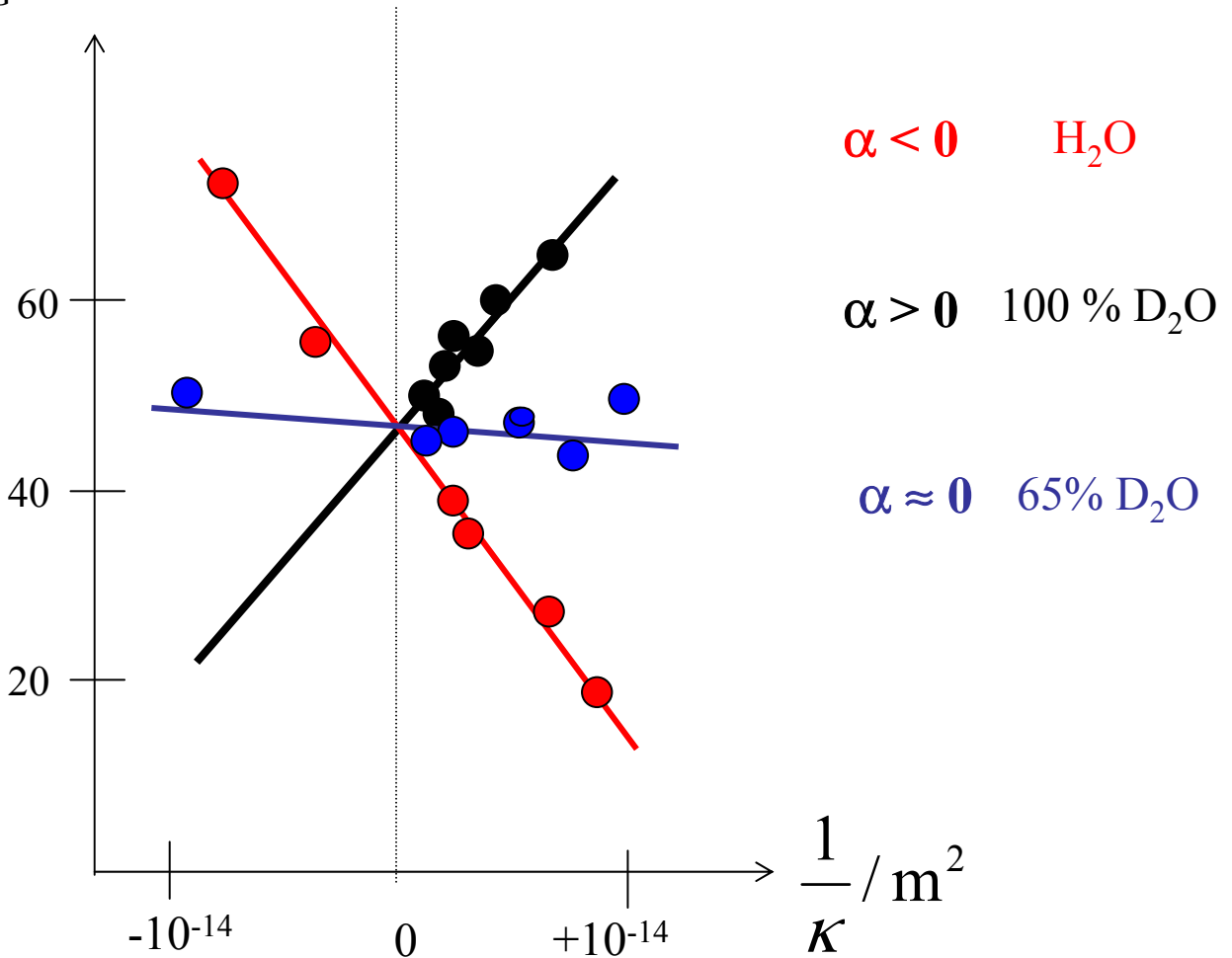
Für **homogene Kugel mit dem Radius R** ergibt sich ($\alpha = \beta = 0$)
 $R_G^2 = 3/5 R^2$ (nachrechnen!)

Einfluss des Kontrasts auf den Gyrationradius

Beispiel: (H. Stuhrmann 1987)

50S- Untereinheit der Ribosomen von E.coli-Bakterien, aufgewachsen in H_2O , 65% D_2O , 100 % D_2O

R_G^2/nm^2



$$R_G^2 = R_c^2 + \frac{\alpha}{K} - \frac{\beta}{K^2}$$

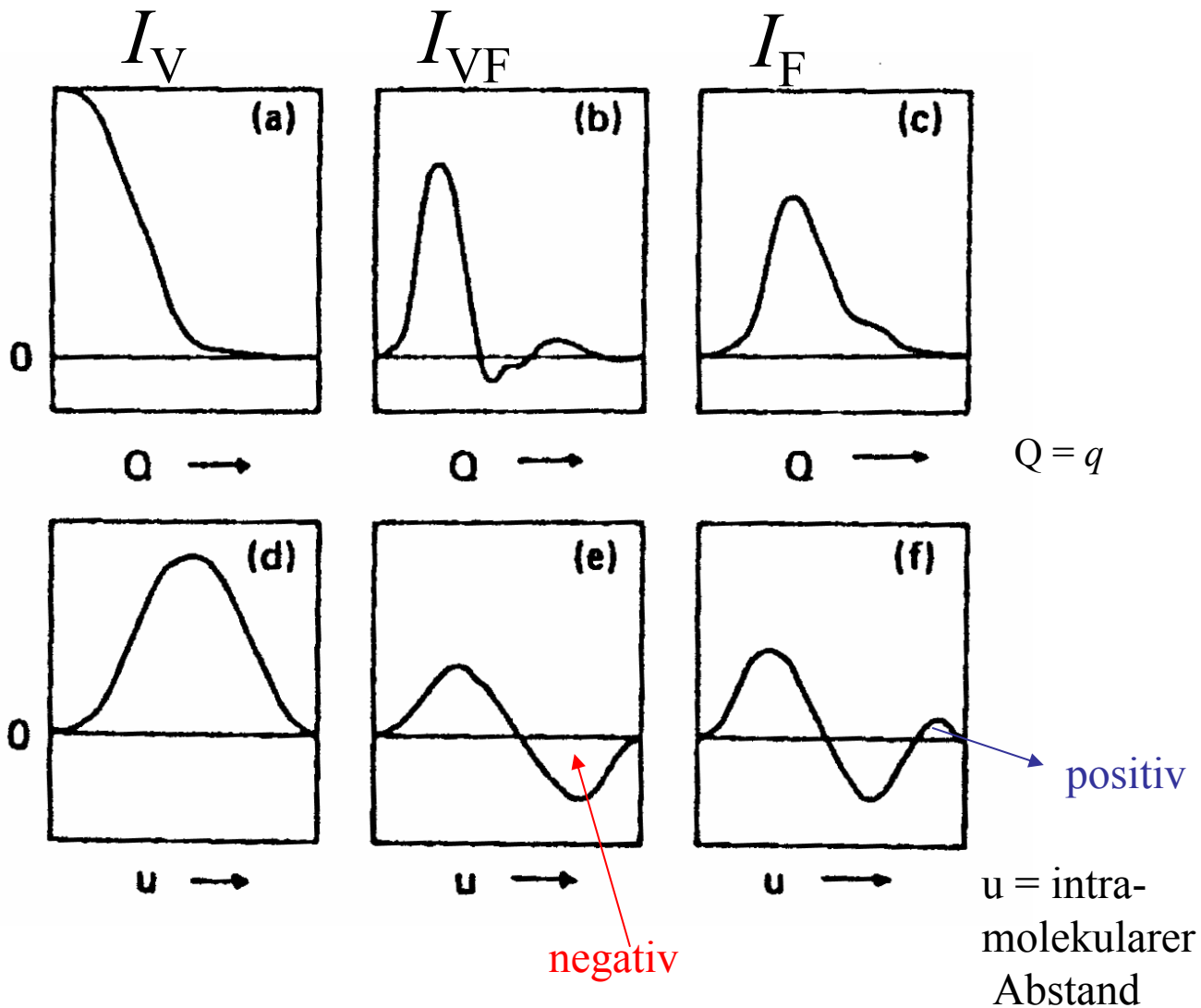
$$R_c^2 \equiv \frac{1}{V_T} \int_{V_T} r^2 dV$$

$$\alpha \equiv \frac{1}{V_T} \int_{V_T} \tilde{\rho}_F(\vec{r}) r^2 dV$$

Welche Schlussfolgerungen über den Aufbau der 50S-Untereinheit von E. coli ziehen Sie aus dem oben gezeigten experimentellen Befund, wenn Sie wissen, dass dieses Teilchen aus Proteinen und RNA besteht?

Hinweis: S. Folie 17 der Vorlesung SAS1

Basis-Streufunktionen der 50S-Untereinheit von E.coli-Ribosomen (*Stuhrmann 1987*)



I_V liefert Paar-Abstandsverteilungsdichte $p(r)$

I_{VF} ist Faltung des leeren Teilchens mit ρ_F
 Äußere Region hat negative Streudichte relativ zum Zentrum

I_F ist Autokorrelationsfunktion von ρ_F

Autokorrelationsfunktion der Streulängendichte

Die Streuintensität eines gelösten Teilchens mit der reduzierten Streulängendichte — ist gegeben durch

$$I(\vec{q}) \approx \left\langle \left| \int_{V_T} \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}) e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV \right|^2 \right\rangle = \left\langle \int_{V_T} \int_{V_T} \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}') \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}'') e^{-i\vec{q}(\vec{r}' - \vec{r}'')} dV' dV'' \right\rangle$$

Wechsel der Integrationsvariablen: $\vec{r}' - \vec{r}'' = \vec{r}$ $\vec{r}'' = \vec{r}' - \vec{r}$

$$I(\vec{q}) \approx \left\langle \int_{V_T} \int_{V_T} \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}') \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r} - \vec{r}') e^{-i\vec{q}\vec{r}} dV' dV \right\rangle = \left\langle \int_{V_T} dV e^{-i\vec{q}\vec{r}} \int_{V_T} dV' \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}') \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r} - \vec{r}') \right\rangle$$

Autokorrelationsfunktion der Streulängendichte (Pattersonfunktion)

$$\tilde{\rho}^2(\vec{r}) \equiv \int_{V_T} dV' \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r}') \tilde{\rho}_{Ts}(\vec{r} - \vec{r}')$$

„Faltung“ der Streulängendichte mit der um \vec{r} verschobenen invertierten Streulängendichte.

Ausführung der Winkelmittelung liefert

$$I(q) = 4\pi \int_0^\infty dr p(r) \frac{\sin(qr)}{qr} \quad (1)$$

mit der Korrelationsfunktion

$$p(r) \equiv r^2 \langle \tilde{\rho}^2(\vec{r}) \rangle$$

die von der räumlichen Verteilung der Streulänge im Teilchen abhängt.

Die Gl. (1) kann nach $p(r)$ aufgelöst werden
„Umkehrtransformation“

$$p(r) = \frac{1}{2\pi^2} \int_0^\infty dq I(q) qr \sin(qr) \quad (2)$$

*Anwendung auf gelöste kugelförmige Teilchen
mit konstanter Streulängendichte beim Kontrast κ*

Kugelformfaktor

$$f_T(q) = 4\pi\kappa \int_0^R r^2 \frac{\sin(qr)}{qr} dr = 3 \cdot \left(\frac{4\pi}{3} R^3 \kappa \right) \cdot \left(\frac{\sin(qR) - qR \cos(qR)}{(qR)^3} \right)$$

Streuintensität

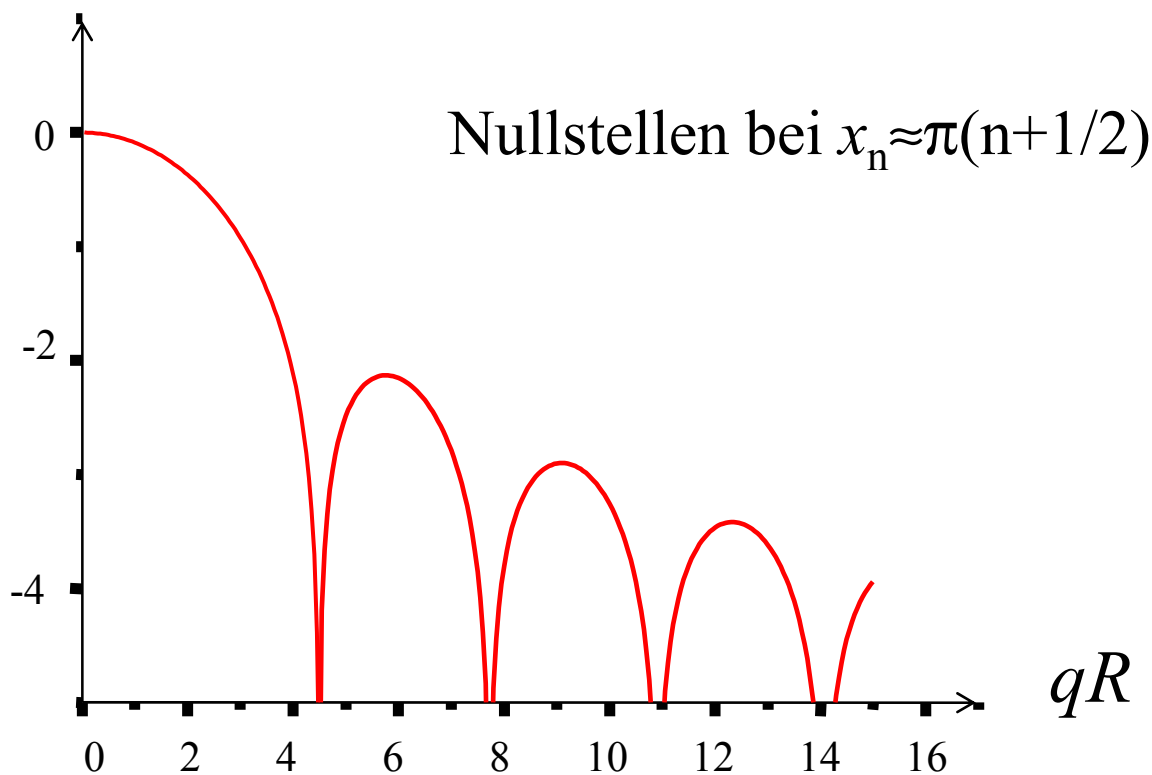
$$I(q) = |f_T(q)|^2$$

Paar-Abstands-Verteilungsdichtefunktion

$$p(r) = \left(\frac{4\pi}{3} R^3 \kappa \right)^2 \frac{3}{2\pi R} \left(\frac{r}{2R} \right)^2 \left\{ 2 - 3 \left(\frac{r}{2R} \right) + \left(\frac{r}{2R} \right)^3 \right\}$$

Für Teilchen mit konstanter Streulängendichte ist die Korrelationsfunktion $p(r)$ proportional zur Wahrscheinlichkeitsdichte, im Teilchen den „Paarabstand“ r anzutreffen. $p(r)$ verschwindet daher für $r > D$, wobei D der größte Durchmesser des Teilchens ist.

$\lg(I(q))$

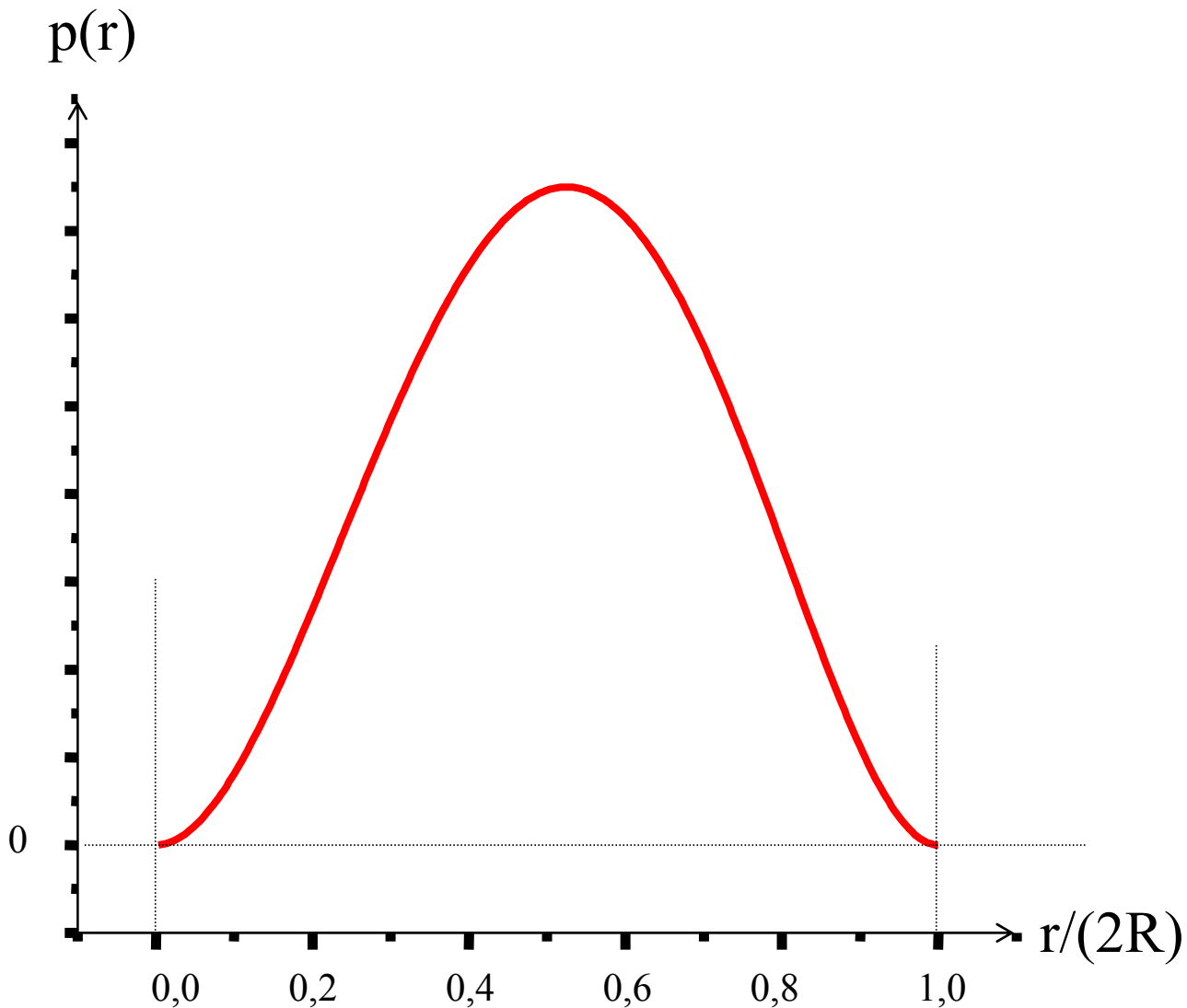


Normierte Streuintensität einer homogenen Kugel vom Radius R

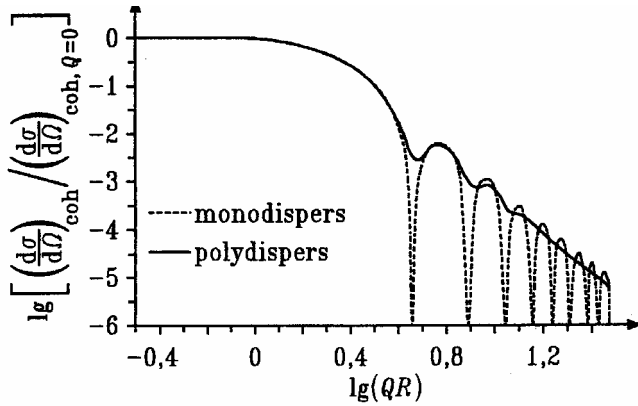
$$I(x) = \left(\frac{4\pi R^3}{3} \kappa \right)^2 9 \left(\frac{\sin x - x \cos x}{x^3} \right)^2$$

$$x = qR$$

Normierte Paar-Abstandsverteilungsfunktion homogene Kugel mit Radius R

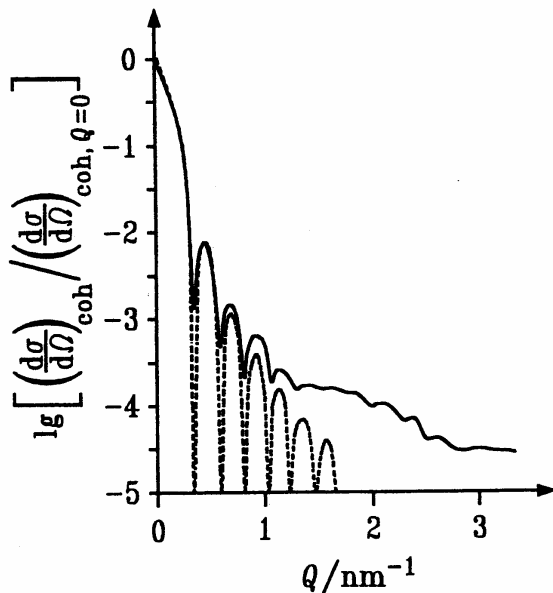


$$p(r) = \left(\frac{4\pi}{3} R^3 \kappa \right)^2 \frac{3}{2\pi R} \left(\frac{r}{2R} \right)^2 \left\{ 2 - 3 \left(\frac{r}{2R} \right) + \left(\frac{r}{2R} \right)^3 \right\}$$



Normierte SAS-Intensität einer verdünnten Lösung von homogenen Kugeln mit dem einheitlichen Radius R (gestrichelte Linie, „monodispers“) und mit einer Gauss-Radienverteilung mit $\sigma = 0,2R$ („polydispers“) (*Winter/Knoll*)

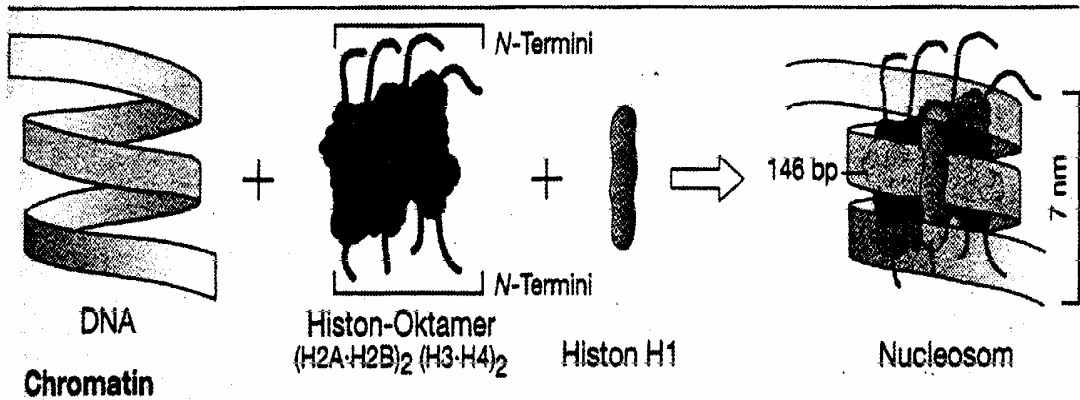
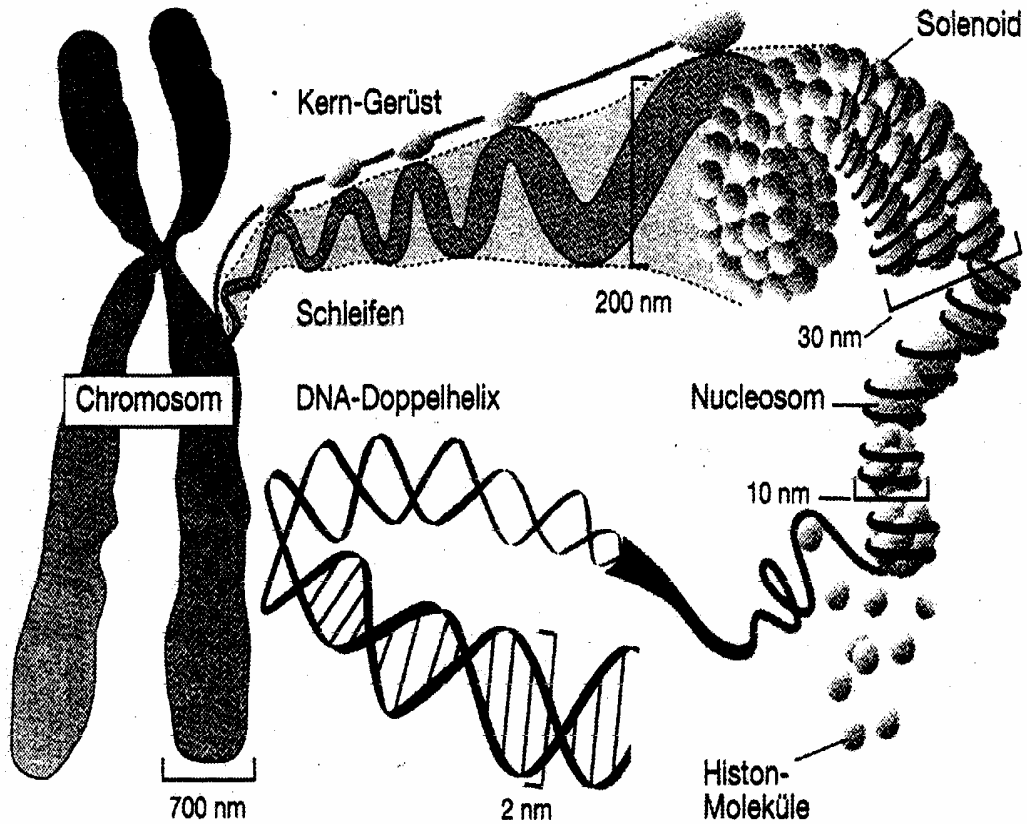
$$w(r) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(r-R)^2}{2\sigma^2}}$$



Normierte SAXS-Intensität von Bakteriophagen R17 in Lösung (durchgezogene Linie) im Vergleich zu der berechneten Streuintensität für eine homogene Kugel mit dem Radius $R = 13,3 \text{ nm}$ (gestrichelte Linie). (*Pilz 1973*)

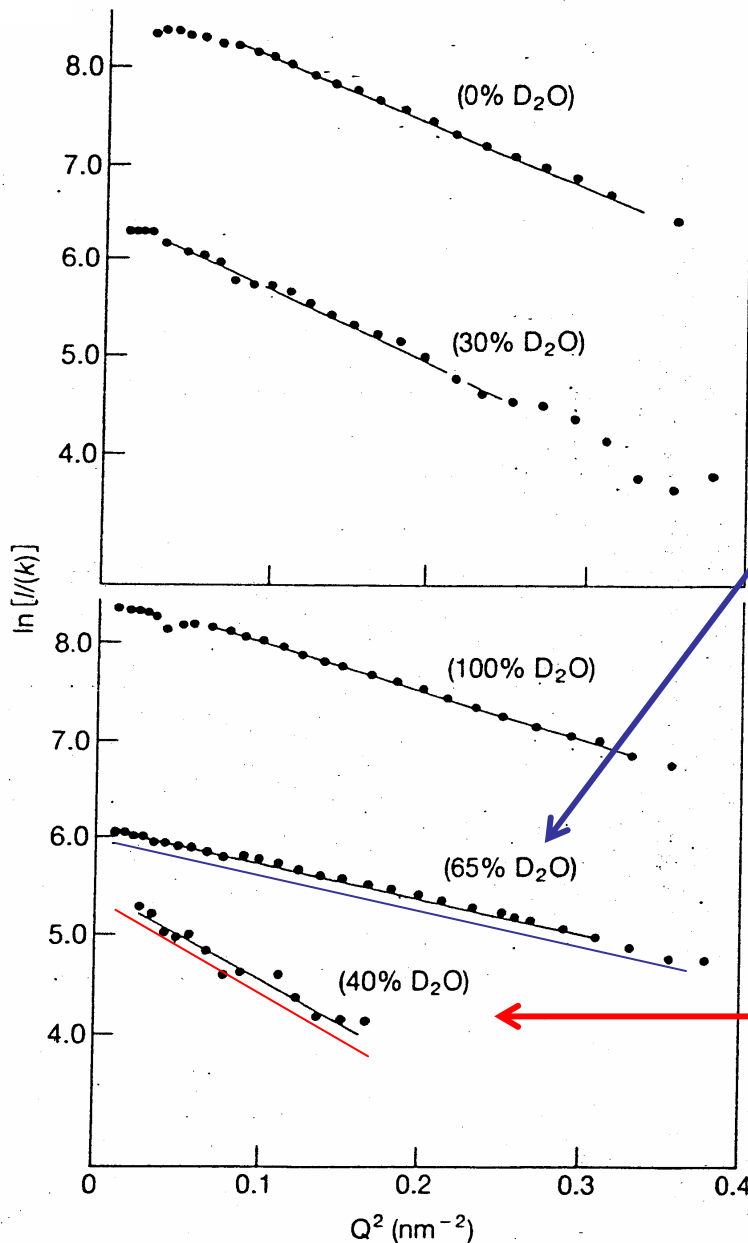
Mittels Kontrastvariation kann das Modell des Bakteriophagen präzisiert werden.

SANS-Anwendung zur Strukturaufklärung von Nucleosomen



Guinier-Plots für Nucleosom-Partikel in H₂O/D₂O-Mischungen

Sibbet et al. 1983



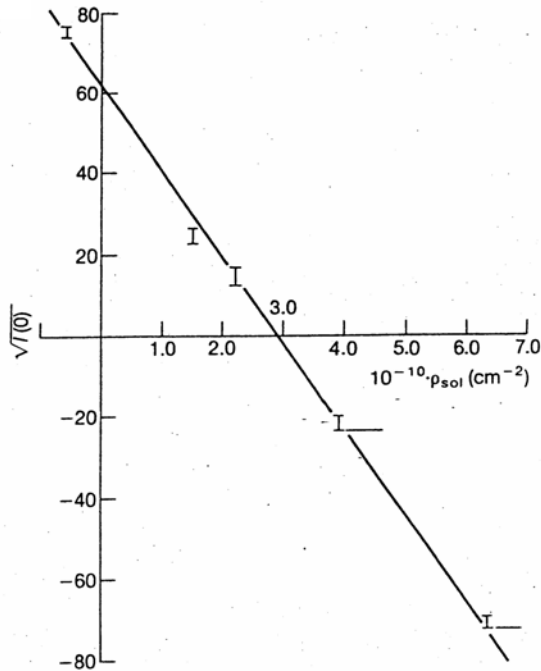
Anstieg der
Kurven
ist $R_G^2/3$

Gyrationsradius am
kleinsten, wenn
Nukleinsäurebestandteile
der Nucleosomen
durch Matching
„unsichtbar“ geworden
sind.

Gyrationsradius am
größten, wenn
Proteinbestandteile
der Nucleosomen
durch Matching
„unsichtbar“ geworden
sind.

Argument dafür, dass Nukleinsäure um Proteinkern gewickelt ist

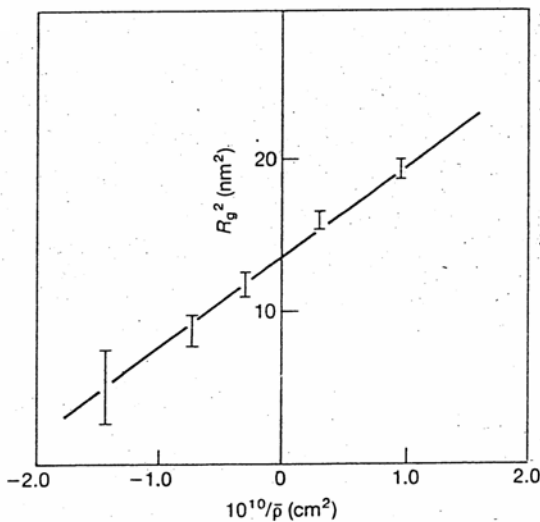
Stuhrmann-Plots für Nukleosom-Partikel in H₂O/D₂O-Mischungen *Sibbet et. al. 1983*



$$\sqrt{I(0)} = \kappa \cdot V_T$$

$$\kappa = \bar{\rho}_T - \bar{\rho}_S$$

Stuhrmann-Plot



$$R_G^2 = R_c^2 + \frac{\alpha}{\kappa} - \frac{\beta}{\kappa^2}$$

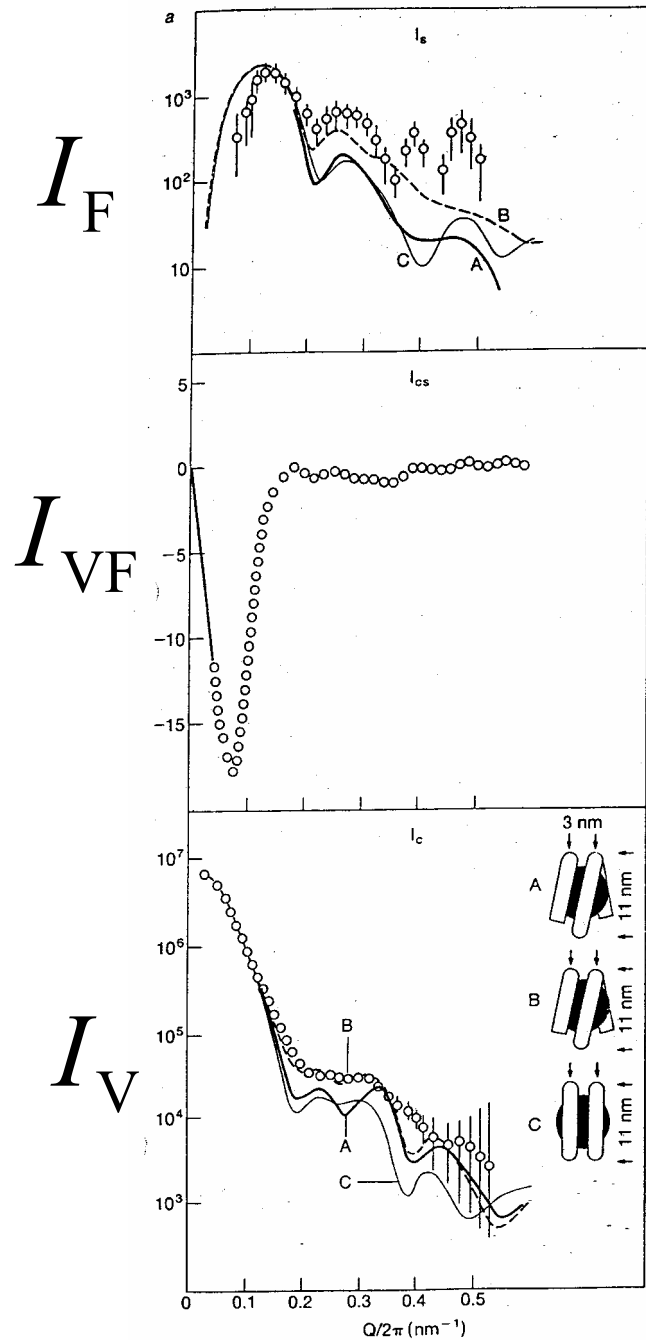
$$R_c^2 \equiv \frac{1}{V_T} \int_{V_T} r^2 dV$$

$$\alpha \equiv \frac{1}{V_T} \int_{V_T} \tilde{\rho}_F(\vec{r}) r^2 dV$$

$\alpha > 0$

Nukleinsäure außen

Basis-Streukurven für Nucleosom-Partikel



Drei Modelle
mit verschiedenen
Knäuelungen
wurden benutzt,
um die experimentell
ermittelten
Basis-Streufunktionen
anzufitten
Braddock et al. 1981