



УДК 547.962.02+548.73

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА АКТИНОКСАНТИНА

II. ЛОКАЛИЗАЦИЯ ТЯЖЕЛЫХ АТОМОВ В ИЗОМОРФНЫХ  
ПРОИЗВОДНЫХ ПРЯМЫМИ РЕНТГЕНОВСКИМИ МЕТОДАМИ\*

*Плетнев В. З., Кузин А. П., Траханов С. Д.,  
Попович В. А., Цыганник И. Н.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

Прямыми рентгеновскими методами определены основные и часть второстепенных мест посадки ионов, содержащих атомы тяжелых металлов, в четырех производных белка актиноксантина. Показано, что для локализации тяжелых атомов прямыми методами могут быть эффективно использованы вычисленные по трехмерному набору рефлексов изоморфные разности  $\Delta F_{iso}^{obs} = F_{ph} - F_p$ . На примере  $UO_2^{2+}$ -производных проведена оценка влияния эффекта аномального рассеяния на поиск оптимального фазового решения.

Актиноксантин ( $M$  10 300), выделенный из микроорганизмов *Actinomyces globisporus* и относящийся к классу белковых антибиотиков, привлекает внимание исследователей своими интересными свойствами, среди которых наиболее значительным является способность подавлять или замедлять развитие опухолевых тканей [2, 3]. В целях изучения структурно-функциональной зависимости нами предпринято рентгеновское исследование пространственной структуры этого белка. В предыдущем сообщении [1] описан метод получения качественных монокристаллов актиноксантина и представлены результаты определения их пространственной группы ( $P2_12_12_1$ ) и параметров ячейки ( $a$  30,9,  $b$  48,8,  $c$  64,1 Å).

Настоящее сообщение посвящено одному из ответственных этапов расшифровки пространственной структуры актиноксантина — определению координат ионов тяжелых металлов в четырех изоморфных производных, полученных на основе солей —  $UO_2(NO_3)_2$ ,  $KAuCl_4$ ,  $K_2Pt(NO_2Cl)_2$ ,  $Pb(CH_3COO)_2$ .

При локализации тяжелых атомов мы отказались от использования в качестве основного метода разностных паттерсоновских синтезов, интерпретация которых в случае большого числа мест посадок исключительно сложна и часто неоднозначна. Для этой цели были применены прямые методы, широко используемые при решении структурных задач для низкомолекулярных соединений. Несмотря на ограниченное использование этих методов в белковой кристаллографии, их перспективность для определения координат тяжелых атомов была продемонстрирована на ряде производных белков [5–9].

\* Сообщение I см. [1].

Условия поиска решений структур из тяжелых атомов в производных актиноксантина по программе «MULTAN»

Параметры	Производные актиноксантина			
	UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> Pt(NO <sub>2</sub> Cl) <sub>2</sub>	KAuCl <sub>4</sub>	Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>
Разрешение, Å	2,7	3,0	3,0	3,0
Число предполагаемых мест посадки	6	5	2	2
$\Delta E_{\text{мин}}$	1,6	1,6	1,6	1,6
Число пиковых $\Delta E$	274	248	203	203
Число $\Sigma_2$ -соотношений	2561	2472	1566	1666
Пороговая вероятность $\Sigma_1$ -соотношений	0,99	0,97	0,97	0,97
Число фазовых решений	64	64	16	64

Таблица 2

Оценки фазовых наборов, полученных по программе «MULTAN» для производных актиноксантина

Производные актиноксантина	Фазовые наборы	Оценки *			
		ABSFOM	PSIZERO	RESID	COMBFOM
UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1	0,9556	485,0	33,24	2,8571
	2	0,9556	485,3	33,27	2,8521
	3	0,9556	485,7	33,27	2,8497
	4	0,9554	497,8	33,22	2,7847
	5	0,9569	550,8	32,78	2,5254
K <sub>2</sub> Pt(NO <sub>2</sub> Cl) <sub>2</sub>	1	0,9252	496,3	23,59	2,7383
	2	0,9251	496,5	23,60	2,7365
	3	0,9251	496,7	23,60	2,7349
	4	0,9250	497,1	23,61	2,7318
	5	0,9246	497,1	23,65	2,7284
KAuCl <sub>4</sub>	1	0,7864	562,8	28,48	2,7941
	2	0,7864	573,0	28,48	2,7257
	3	0,7866	668,1	28,50	2,0816
	4	0,7861	668,2	28,57	2,0718
	5	0,7864	669,2	25,52	2,0710
Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	1	0,5937	1125,0	28,86	2,7528
	2	0,5925	1126,0	28,81	2,7525
	3	0,5923	1126,0	28,88	2,7446
	4	0,5923	1117,0	29,38	2,7019
	5	0,5938	1220,0	28,72	2,6033

\* ABSFOM, PSIZERO, RESID — статистические, COMBFOM — комбинированная оценки [12, 13] наборов фаз, сгенерированных программой «MULTAN».

Вычисленные из экспериментальных дифрактометрических данных модули структурных факторов производных  $F_{ph}$  в области до разрешения 3–2,7 Å (2100–2800 рефлексов для каждой производной) были шкалированы по методу Вильсона к соответствующим модулям нативного белка. В качестве экспериментальной оценки модулей структурных факторов тяжелых атомов  $F_h$  были вычислены изоморфные разности  $\Delta F_{iso}^{obs} = |F_{ph} - F_p|$ . После перевода полученных коэффициентов в абсолютную шкалу по методу Вильсона [10] в соответствии с процедурой Карла и Хауптмана [11] были рассчитаны нормализованные структурные факторы  $\Delta E$ . Рефлексы, располагающиеся в области 15 Å и испытывающие особенно сильное влияние растворителя, были исключены из дальнейших расче-

тов. Определение фаз структурных факторов  $\Delta E$  осуществлялось прямыми методами по программе «MULTAN» [12]. Подбор условий при расшифровке структур из тяжелых атомов в выбранных производных актиноксантина проводился в основном по тем же правилам, что и в случае низкомолекулярных соединений [13]; основные исходные параметры, использованные в программе, представлены в табл. 1.

В табл. 2 для каждого производного приведены статистические оценки пяти лучших решений. Оптимальные значения оценок ABSFOM и RESID, характерные для правильно решенной структуры, в случае низкомолекулярных соединений обычно составляют 1–1,2 и 20–25% соответственно. Как видно из табл. 2, в целом величины соответствующих оценок хуже. Тем не менее  $\Delta E$ -синтезы, построенные по фазам с лучшими оценками COMBFOM, содержали пики, относящиеся ко всем основным местам посадки тяжелых атомов (соответствующая проверка осуществлялась на последующем этапе расчета фаз белка и уточнения параметров тяжелых атомов). Интересно отметить, что  $\Delta E$ -синтезы, построенные по фазам, у которых оценки близки к лучшим оценкам, также давали правильные координаты основных мест присоединения ионов.

Выявление на  $\Delta E$ -карте пиков, относящихся к истинным местам посадки, проводилось с помощью трехмерных разностных синтезов Паттерсона, построенных по коэффициентам  $(\Delta E_{iso}^{obs})^2$ . В каждом случае для 15 наивысших пиков с  $\Delta E$ -синтеза были рассчитаны теоретические координаты всех возможных независимых максимумов первого и второго рода на разностном паттерсоновском синтезе. Далее для каждого предполагаемого места посадки по высотам независимых собственных, а также перекрестных векторов с учетом 18 ближайших точек (для увеличения чувствительности) были вычислены интегральные оценки:

$$P_j^{int} = \sum_1^m \sum_{i-1}^{19} P_i,$$

где  $P_i$  — значения межатомной функции разностного синтеза Паттерсона в точке  $i$ ;  $m$  — количество независимых максимумов, для пространственной группы  $P2_12_12_1 m3$  для максимумов первого рода и  $m4$  для максимумов второго рода;  $j$  — порядковый номер пика с  $\Delta E$ -синтеза. Таким образом, каждому из 15 пиков с  $\Delta E$ -синтеза соответствовало 15 интегральных оценок: одна, рассчитанная по максимумам первого рода, и четырнадцать, рассчитанных по максимумам второго рода. Анализ оценок  $P_j^{int}$  позволил в случае каждого производного выявить пики, соответствующие предполагаемым местам посадки тяжелых ионов; при этом группа выбранных наиболее вероятных пиков характеризовалась совокупностью максимальных по величине взаимокоррелирующих оценок.

Дальнейшая проверка правильности отбора осуществлялась уточнением координат атомов, общего теплового фактора  $B_{tot}$ , коэффициента шкалирования  $K$  и коэффициентов заполнения  $g$  путем минимизации методом наименьших квадратов (по полноматричной схеме) функции

$$F = \left\{ \sum [\omega_{\Delta F} (\Delta F_{iso}^{obs} - F_h^{calc})^2] / (N_0 - N_v) \right\}^{1/2},$$

где  $N_0$  — число рефлексов,  $N_v$  — число переменных,  $\omega_{\Delta F}$  — весовая функция, вычисляемая по формуле

$$\omega_{\Delta F} = 1 / [\sigma_{\Delta F}^2 + (0,01 \cdot \Delta F_{iso}^{obs})^2]$$

с оценкой фактора расходимости  $R$  по формуле

$$R = \sum |\Delta F_{iso}^{obs} - F_h^{calc}| / \sum \Delta F_{iso}^{obs}.$$

Уточнение коэффициентов  $g$  и  $K$  проводилось попеременно. При этом для расчета  $F_h^{calc}$  в случае  $UO_2^{2+}$ ,  $AuCl_4^-$ ,  $Pt(NO_2Cl)_2^{2-}$  производных в каче-

Основные характеристики уточнения методом наименьших квадратов тяжелых атомов в производных актиноксантина \*

Параметры	Производные			
	UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> Pt(NO <sub>2</sub> Cl) <sub>2</sub>	KAuCl <sub>4</sub>	Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>
Разрешение, Å	2,7	3	3	3
Общее число рефлексов	2738	2154	2161	2151
Трехмерный набор рефлексов				
Ограничение по <i>n</i>	4	2	2	2
Пороговый критерий <i>T</i>	8	4	4	4
Число рефлексов, исключенных по <i>T</i>	44	51	82	41
Число рефлексов в уточнении	943	726	773	669
<i>R</i> , %	33,5	31,8	32,3	33,8
Набор центросимметричных рефлексов				
Общее число рефлексов	634	536	530	540
Ограничение по <i>n</i>	4	2	2	2
Пороговый критерий по <i>T</i>	7	7	7	7
Число рефлексов, исключенных по <i>T</i>	16	1	6	0
Число рефлексов в уточнении	173	229	244	242
<i>R</i> , %	36,2	30,1	36,5	39,2

\* Рефлексы, используемые в уточнении, ограничены по величине  $\Delta F_{iso}^{obs} \geq n\sigma_{\Delta F}$  и  $T \leq (\Delta F_{iso}^{obs} - F_h^{calc})/\sigma_{\Delta F}$ .

Таблица 4

Уточненные методом наименьших квадратов параметры ионов тяжелых металлов в производных актиноксантина

Ион, содержащий тяжелый атом	№	Параметры					Высота пика в $\Delta E$ -сигнале, отн. ед.
		<i>x/a</i>	<i>y/b</i>	<i>z/c</i>	<i>g</i>	<i>B</i> <sub>tot</sub>	
UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	1	0,839	0,666	0,559	1,21	15,2	211
	2	0,726	0,013	0,544	0,98		80
Pt(NO <sub>2</sub> Cl) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	1	0,640	0,351	0,826	1,89	5,5	196
	2	0,526	0,361	0,863	0,34		52
	3	0,659	0,709	0,620	0,51		44
	4	0,522	0,834	0,737	0,46		44
	5	0,546	0,852	0,693	0,42		43
AuCl <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1	0,957	0,664	0,337	2,82	26,7	140
	2	0,996	0,676	0,265	1,47		66
	3	0,123	0,718	0,229	1,26		68
	4	0,786	0,964	0,577	0,73		33
Pb <sup>2+</sup>	1	0,814	0,663	0,547	1,67	21,0	120
	2	0,823	0,009	0,595	1,15		76
	3	0,507	0,306	0,758	1,33		73
	4	0,593	0,348	0,821	1,07		63
	5	0,695	0,366	0,517	0,60		57
	6	0,509	0,411	0,844	0,74		44

стве основного приближения использовались комбинированные функции рассеяния, полученные суммированием индивидуальных вкладов от отдельных атомов. Уточнение параметров тяжелых ионов в производных проводилось как по трехмерному набору рефлексов, так и с использованием только центросимметричных рефлексов. Первый вариант представлялся особенно привлекательным в плане возможности использования метода для наиболее общего случая — группы *P1*, а также для групп с малым числом элементов симметрии.

Основные характеристики процедуры уточнения параметров, а также окончательные стандартные  $R$ -факторы суммированы в табл. 3. Уточнение проводилось по рефлексам с ограничением (по аналогии с низкомолекулярными соединениями) по величине  $\Delta F_{iso}^{obs} \geq n\sigma_{\Delta F}$ . Значительная доля рефлексов, для которых выполняется соотношение  $\Delta F_{iso}^{obs} \approx F_{ph} + F_p$ , а также рефлекссы, несущие большие экспериментальные и другие ошибки, были определены с помощью критерия  $T \leq |\Delta F_{iso}^{obs} - F_h^{calc}| / \sigma_{\Delta F}$  и исключены из уточнения. На первых этапах уточнения не учитывались рефлекссы с  $T > 10$ ; на последующих этапах, по мере фиксирования истинных мест посадки тяжелых ионов, величина порогового значения  $T$  понижалась. В данной процедуре ложные центры, как правило, выявлялись своими исключительно низкими значениями коэффициентов  $g$  или (в случае другой альтернативной схемы) высокими индивидуальными тепловыми факторами  $B$ . Оценка вклада каждого локализованного тяжелого иона в понижение соответствующего  $R$ -фактора осуществлялась путем постепенного добавления (в различной последовательности) к главному центру остальных менее заполненных центров посадки с последующим уточнением. Было установлено, что используемый в уточнении набор центросимметричных рефлекссов по сравнению с трехмерным набором менее чувствителен в детектировании ложных центров, что, по-видимому, связано с существенно меньшим числом достоверно измеренных рефлекссов, приходящихся на один уточняемый параметр. При этом координаты центров, уточненные по обеим группам рефлекссов, были практически одинаковы (среднее расхождение соответствовало 0,006 Å). Параметры тяжелых ионов (включая координаты, приведенные к одной системе), найденные прямыми методами и уточненные методом наименьших квадратов по трехмерному набору рефлекссов, даны в табл. 4.

Приведение координат к одной системе осуществлялось следующим образом. Путем вымачивания кристаллов актиноксантина в растворе солей  $\text{KAuCl}_4$  и  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  было получено комбинированное производное. Найденные прямыми методами координаты тяжелых ионов этого производного позволили установить трансляционный сдвиг, связывающий начала двух разных координатных систем. Соответствующие трансляционные компоненты для локализованных тяжелых атомов в остальных двух производных (на основе солей  $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$  и  $\text{K}_2\text{Pt}(\text{NO}_2\text{Cl})_2$  были найдены с помощью разностных синтезов Фурье, вычисленных по коэффициентам  $\Delta F_{iso}^{obs} \cdot \exp(i\varphi_p)$ . Здесь приближенные фазы структурных факторов нативного белка ( $\varphi_p$ ) были найдены обычным методом полиизомерного замещения с помощью программы [14] по известным координатам тяжелых ионов  $\text{Pb}^{2+}$ - и  $\text{AuCl}_4^-$ -производных актиноксантина. Фазовое уточнение по четырем производным актиноксантина с последующим расчетом разностных и двойных разностных синтезов Фурье позволили выявить для данных производных ряд дополнительных второстепенных центров связывания тяжелых атомов (в табл. 4 не отражены; результаты этого и последующих этапов рентгеноструктурного исследования актиноксантина будут представлены в следующем сообщении).

Анализ представленных в табл. 4 результатов показал, что главный центр посадки в каждом производном соответствует наивысшему пику в  $\Delta E$ -синтезе, остальные локализованные места также располагаются в основном в районе наиболее высоких пиков.

На окончательном этапе нами была сделана попытка повысить надежность локализации тяжелых атомов путем использования данных по аномальному рассеянию. В качестве контрольного было выбрано  $\text{UO}_2^{2+}$ -производное, для которого прямыми методами на основе изоморфных разностей  $\Delta F_{iso}^{obs}$  не удалось определить второстепенные места связывания

Условия получения изоморфных производных  
актиноксантина

Соль тяжелого металла	Концентрация соли	Время получения производных, сут	
		Вымачивание	Диализ
UO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5 мМ	5	30
	10 мМ	—	15
KAuCl <sub>4</sub>	50 мМ	20	30
K <sub>2</sub> Pt(NO <sub>2</sub> Cl) <sub>2</sub>	1/2 нас.	4	—
Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	1/2 нас.	5	20

тяжелых ионов. Для выбранного производного были вычислены так называемые коэффициенты Мэтьюза [15]:

$$F_{ano}^{obs} = \{F_p^2 + F_{ph}^{\prime 2} - 2F_p \cdot F_{ph}' [1 - (\omega k \cdot (F_{ph}^+ - F_{ph}^-) / 2F_p)^2]^{1/2}\}^{1/2},$$

где  $F_{ph}' = (F_{ph}^+ + F_{ph}^-) / 2$ ,  $\omega$  — весовой фактор, равный 0,75,  $k$  — коэффициент, определяемый экспериментально. Как было показано в работах [15—18],  $F_{ano}^{obs}$  является существенно лучшим приближением к реальным модулям  $F_h$ , чем  $\Delta F_{iso}^{obs}$ . Все последующие этапы проводились так же, как было описано выше.

Полученные результаты показали, что лучший набор фаз, найденный с использованием данных по аномальному рассеянию ( $F_{ano}^{obs}$ ), характеризовался более оптимальными оценками, чем в случае использования коэффициентов  $\Delta F_{iso}^{obs}$ : ABSFOM 1,4010, RESID 20,96%, PSIZERO 466,1 (ср. с табл. 2).

Однако в  $\Delta E$ -синтезе данного решения были определены только два основных центра. Второстепенные центры отсутствовали, не были они найдены и в синтезах трех ближайших по оценкам решений. Причина этого факта не совсем ясна, хотя хорошо известно, что прямые методы, имеющие вероятностно-статистический смысл, как правило, не дают полного решения исследуемой структуры по наилучшему  $E$ -синтезу.

Найденные координаты тяжелых атомов уточнялись методом наименьших квадратов по коэффициентам  $F_{ano}^{obs}$  (см., например, работы [17, 19, 20]) со следующими параметрами:  $F_{ano}^{obs} \geq 4\sigma_F$ ,  $T 8$ ,  $N_0 1113$ , что дало более низкий  $R$ -фактор, равный 31,3%. Полученные координаты оказались близкими к координатам, найденным при использовании  $\Delta F_{iso}^{obs}$ .

В целом из результатов данной работы следует, что полученные по трехмерному набору рефлексов изоморфные разности  $\Delta F_{iso}^{obs}$  (несмотря на довольно грубое приближение к вкладам от структуры из тяжелых атомов) могут быть успешно использованы для локализации прямыми методами основных центров посадки тяжелых атомов в изоморфных производных белков с последующим уточнением их параметров методом наименьших квадратов. Применение для этой цели коэффициентов  $F_{ano}^{obs}$ , вычисленных по данным аномального рассеяния, по-видимому, имеет определенное преимущество в плане увеличения надежности локализации мест посадки тяжелых атомов. Следует, однако, отметить, что при экспериментальном получении необходимого набора значений  $\Delta F_{iso}^{obs}$  время воздействия рентгеновского излучения на кристалл производного белка вдвое меньше, чем в случае измерения  $F_{ano}^{obs}$ . Это обстоятельство может оказаться очень существенным при выборе метода решения в случае нестабильных кристал-

лов, характеризующихся высокой чувствительностью к рентгеновским квантам.

В процессе исследования было также установлено, что совместный анализ результатов прямых методов и данных трехмерного разностного синтеза Паттерсона (который может быть легко автоматизирован) заметно повышает эффективность описанного подхода в кристаллографии белков.

### Экспериментальная часть

Кристаллы актиноксантина были получены как описано ранее в работе [1]. Производные актиноксантина с солями  $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{KAuCl}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Pt}(\text{NO}_2\text{Cl})_2$  и  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  были получены либо выдерживанием кристаллов в растворах солей тяжелых металлов в 20 мМ натрий-ацетатном буфере, pH 4,4, содержащем 75 объемных процентов 2-метил-2,4-пентадиола, при 5° С в течение нескольких суток (табл. 5), либо диализным методом, как описано в работе [4].

### ЛИТЕРАТУРА

1. Плетнев В. З., Траханов С. Д., Цыганник И. Н. (1979) Биоорганич. химия, **5**, 1605–1608.
2. Khokhlov A. S., Cherches B. Z., Reshetov P. D., Smirnova G. M., Sorokina I. B., Koloditskaya T. A., Smirnov V. V., Navashin S. M., Fomina I. P. (1969) *J. Antibiotics*, **22**, 541–544.
3. Хохлов А. С., Черчес Б. З., Решетов П. Д., Смирнова Г. М., Колодидкая Т. А., Сорокина И. Б., Прокопцева Т. А., Рябова И. Д., Смирнов В. В., Навашин С. М., Фомина И. П. (1970) Изв. АН СССР. Сер. биол., 755–763.
4. Lipscomb W. N., Coppola J. C., Hartsuck J. A., Ludwig M. L., Muirhead H., Searl J., Steits T. A. (1966) *J. Mol. Biol.*, **19**, 423–441.
5. Steits T. A. (1968) *Acta cryst.*, **B24**, 504–507.
6. Schevitz R. W., Navia M. A., Bantz D. A., Cormick G., Rosa J. J., Rosa M. D. H., Sigler P. B. (1972) *Science*, **177**, 429–431.
7. Neidle S. (1973) *Acta cryst.*, **B29**, 2645–2647.
8. Navia M. A., Sigler P. B. (1974) *Acta cryst.*, **A30**, 706–712.
9. Wilson K. S. (1978) *Acta cryst.*, **B34**, 1599–1608.
10. Wilson A. G. C. (1942) *Nature*, **150**, 151–152.
11. Hauptman H., Karle J. (1953) Solution of the Phase Problem. I. The Centrosymmetric Crystal, A. C. A. Monograph No 3, Polycrystal Book Service, Pittsburgh.
12. Germain G., Main P., Woolfson M. M. (1971) *Acta cryst.*, **A27**, 368–376.
13. Crystallographic Computing Techniques (F. R. Ahmed, ed.) Munksgaard, Copenhagen, 1976.
14. Muirhead H., Cox J. M., Mazzarella L., Perutz M. F. (1967) *J. Mol. Biol.*, **28**, 117–156.
15. Matthews B. W. (1966) *Acta cryst.*, **20**, 230–239.
16. Kartha G., Parthasarathy R. (1965) *Acta cryst.*, **18**, 745–749.
17. Kartha G. (1965) *Acta cryst.*, **19**, 883–885.
18. North A. C. T. (1965) *Acta cryst.*, **18**, 212–216.
19. Herriott J. R., Sicker L. C., Jensen L. H., Lovenberg W. (1970) *J. Mol. Biol.*, **50**, 391–406.
20. Arnone A., Bier C. J., Colton F. A., Day V. W., Hazen E. E., Richardson D. C., Richardson J. S., Yonath A. (1970) *J. Biol. Chem.*, **246**, 2302–2316.

Поступила в редакцию  
24.X.1979

## THREE DIMENSIONAL STRUCTURE OF ACTINOXANTHIN. II. THE LOCATION OF HEAVY ATOM SITES IN ISOMORPHOUS DERIVATIVES BY X-RAY DIRECT METHODS

PLETNEV V. Z., KUZIN A. P., TRAKHANOV S. D.,  
POPOVICH V. A., TSIGANNIK I. N.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow*

The location of the major and some minor heavy atom sites in four isomorphous derivatives has been done by X-ray direct methods. It has been shown that three dimensional isomorphous differences  $\Delta F_{iso}^{obs} = F_{ph} - F_p$  can be successfully used for location of the heavy atoms by direct methods. For the  $\text{UO}_2^{2+}$  derivative it has been made the estimation of the use of anomalous scattering effect in the search of the optimal phase set.