

## РЕНТГЕНОГРАФИЯ, ОПТИКА И СПЕКТРОСКОПИЯ БИОПОЛИМЕРОВ

### § 5.1. РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ

Современное естествознание пользуется двумя главными методами для изучения строения вещества. Эти методы — химия и оптика в широком смысле слова, т. е. изучение взаимодействия вещества со светом во всем допустимом диапазоне длин электромагнитных волн — от рентгеновских до радиоволн. Химия расшифровывает первичную структуру белковых цепей, а также структуру функциональных центров белковых глобул, в частности активных центров ферментов (см. гл. 6). Однако химия (биохимия) как таковая не может установить пространственное строение молекулы белка или нуклеиновой кислоты.

Рентгенография дает прямую информацию о строении вещества, о расположении атомов в молекулах. Рентгеновские лучи, т. е. электромагнитные волны с длиной порядка  $1 \text{ \AA}$ , рассеиваются на электронных оболочках атомов. Интерференция волн, рассеянных веществом, приводит к возникновению дифракционной картины. При рассеянии на кристалле можно рассматривать дифракцию как «отражение» рентгеновских лучей плоскостями кристаллической решетки. Дифракция наблюдается, если рассеянные волны находятся в фазе, т. е. разность хода равна целому числу  $n$  волн. Если расстояние между плоскостями равно  $d$ , то условие дифракции (отражения) дается известной формулой Брэгга — Вульфа

$$n\lambda = 2d \sin \theta, \quad (5,1)$$

где  $\theta$  — угол между направлением падающего луча и кристаллической плоскостью.

Дифракция рентгеновских лучей на кристаллах происходит потому, что периоды решетки, межатомные расстояния  $d$  в решетке ( $1-4 \text{ \AA}$ ) имеют тот же порядок величины, что и длины волн  $\lambda$  (чаще всего пользуются  $K_{\alpha}$ -излучением Си с  $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ).

Допустим, что рассеивающая система состоит из двух центров (атомов), находящихся на расстоянии  $r$  друг от друга (рис. 5.1). Плоская волна, падающая на центры, возбуждает их электроны, и сами центры становятся источниками вторичных

сферических волн (ср. стр. 156). Электрическое поле падающей волны есть

$$E = A \exp[i(\mathbf{k}\mathbf{r} + \varphi)], \quad (5,2)$$

где  $A$  — амплитуда волны,  $\varphi$  — начальная фаза,  $\mathbf{k}$  — волновой вектор, имеющий направление распространения волны, направление луча, численно равный  $|\mathbf{k}| = 2\pi/\lambda$ . Найдем разность хода волн, рассеянных двумя центрами, показанными на рис. 5.1. Поместив начало координат в один из них, получаем

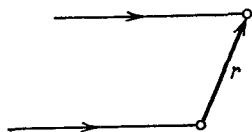


Рис. 5.1. Схема двух-центрковой рассеивающей системы.

$$\mathbf{k}\mathbf{r} - \mathbf{k}_0\mathbf{r} = \mathbf{s}\mathbf{r}. \quad (5,3)$$

Длина волны  $\lambda$  не меняется; вектор  $\mathbf{s} = \mathbf{k} - \mathbf{k}_0$  отличен от нуля, так как различны направления векторов  $\mathbf{k}$  и  $\mathbf{k}_0$ . Если  $A$  — амплитуда падающей волны, то рассеивающий центр в точке  $\mathbf{r}$  дает волну

$$E' = Af \exp[i(\mathbf{s}\mathbf{r})], \quad (5,4)$$

где  $f$  — рассеивающая сила центра, зависящая от его электронной плотности. Вектор  $\mathbf{s}$  перпендикулярен отражающей плоскости. Нетрудно показать, что

$$s = 4\pi \sin \theta/\lambda. \quad (5,5)$$

Дифракция на системе из  $N$  рассеивающих центров характеризуется суммой выражений (5,4). Величина

$$F(\mathbf{s}) = \sum_{j=1}^N f_j \exp[i(\mathbf{s}\mathbf{r}_j)] \quad (5,6)$$

называется *структурной амплитудой рассеяния*. Если рассеивающие центры распределены непрерывно, сумма (5,6) заменяется интегралом типа интеграла Фурье

$$F(\mathbf{s}) = \int \rho(\mathbf{r}) \exp[i(\mathbf{s}\mathbf{r})] d\tilde{V}_r, \quad (5,7)$$

где  $\rho(\mathbf{r})$  — средняя по времени электронная плотность системы,  $d\tilde{V}_r$  — элемент рассеивающего объема.

Если системой является изолированный сферически симметричный атом, то последний интеграл приобретает вид

$$f(\mathbf{s}) = \int_0^{\infty} 4\pi r^2 \rho(r) \frac{\sin(sr)}{sr} dr. \quad (5,8)$$

Это выражение для рассеивающей силы атома непосредственно зависит от распределения электронной плотности  $\rho(r)$ . Величина  $f(s)$  называется *атомным* или *структурным фактором*. Ее значения для любых атомов при различных  $s$  табулированы. При  $s \rightarrow 0$ , т. е. при нулевом угле рассеяния,

$$f(0) = \int_0^{\infty} 4\pi r^2 \rho(r) dr = N \quad (5,9)$$

( $N$  — число электронов в атоме). Рассеяние рентгеновских лучей тем сильнее, чем больше атомный номер, для водорода оно наименьшее.

Наиболее богатая дифракционная картина и соответственно наиболее детальная информация о межатомных расстояниях получается при исследовании кристаллов. В кристалле атомы расположены периодически; электронная плотность  $\rho(x, y, z)$  является периодической функцией координат  $x, y, z$ . Интеграл Фурье, аналогичный (5,7), имеет в этом случае вид

$$\begin{aligned} F_{hkl} &= \frac{1}{abc} \int_0^a \int_0^b \int_0^c \rho(x, y, z) \exp[2\pi i (hx/a + ky/b + lz/c)] dx dy dz = \\ &= \frac{1}{V_0} \int \rho(\mathbf{r}) \exp[2\pi i (\mathbf{H}\mathbf{r})] d\tilde{V}_r, \end{aligned} \quad (5,10)$$

где  $a, b, c$  — периоды кристаллической решетки, т.е. длины ребер элементарной ячейки,  $V_0$  — объем ячейки. Вектор  $\mathbf{H} = \mathbf{s}/2\pi$  имеет компоненты  $h/a, k/b, l/c$  ( $h, k, l$  — целые числа). При рассеянии периодической структурой амплитуда рассеяния отлична от нуля лишь при этих значениях компонент вектора  $\mathbf{H}$ . Для составляющей вектора разности хода  $\mathbf{s}$  в направлении  $x$  имеем, согласно (5,5),  $2\pi h/a = 4\pi \sin \theta/\lambda$ , т. е. мы вновь получаем условие (5,1) в форме

$$h\lambda = 2a \sin \theta.$$

В общем случае, если вектор  $\mathbf{r}$  равен одному из трех осевых векторов  $\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}$ , мы получим три условия Лауэ

$$\mathbf{H}_{hkl}\mathbf{a}/h = 1, \quad \mathbf{H}_{hkl}\mathbf{b}/k = 1, \quad \mathbf{H}_{hkl}\mathbf{c}/l = 1. \quad (5,11)$$

Векторы  $\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}$  характеризуют структуру кристаллической решетки. Целые числа  $h, k, l$  (*миллеровские индексы*) определяют все возможные кристаллические плоскости, от которых «отражаются» рентгеновские лучи. Соответствующие межплоскостные расстояния  $d_{hkl}$  различны для разных индексов. На рис. 5.2 показаны сечения различных систем отражающих плоскостей в ортогональной кристаллической решетке.

Компоненты векторов  $\mathbf{H}_{hkl}$  имеют размерность [длина]<sup>-1</sup>; эти векторы заданы в обратном пространстве. Распределение точек, в которых амплитуда рассеяния отлична от нуля и равна  $F_{hkl}$ , периодически в этом пространстве и образует в нем *обратную*

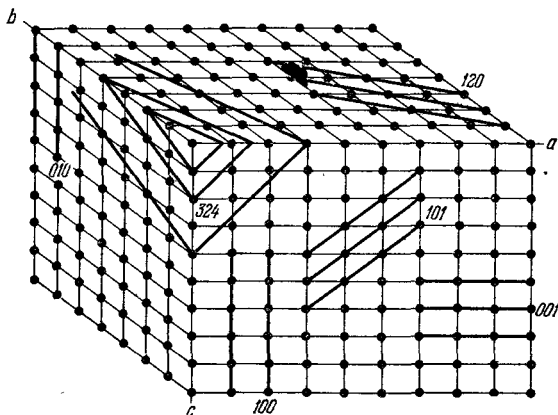


Рис. 5.2. Сечения отражающих плоскостей в ортогональной кристаллической решетке.

решетку, которой удобно пользоваться в расчетах. Каждый узел обратной решетки  $hkl$  характеризуется своим вектором

$$\mathbf{H}_{hkl} = h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^*. \quad (5,12)$$

Векторы  $\mathbf{a}^*$ ,  $\mathbf{b}^*$ ,  $\mathbf{c}^*$  удовлетворяют условиям

$$\mathbf{a}^*\mathbf{b} = \mathbf{a}^*\mathbf{c} = \mathbf{b}^*\mathbf{a} = \mathbf{b}^*\mathbf{c} = \mathbf{c}^*\mathbf{a} = \mathbf{c}^*\mathbf{b} = 0 \quad (5,13)$$

и

$$\mathbf{a}^*\mathbf{a} = \mathbf{b}^*\mathbf{b} = \mathbf{c}^*\mathbf{c} = 1. \quad (5,14)$$

Условия Лауэ (5,11) непосредственно следуют из (5,12) — (5,14). Если решетка ортогональна, то  $\mathbf{a}^* = 1/a$ ,  $\mathbf{b}^* = 1/b$ ,  $\mathbf{c}^* = 1/c$ . Из приведенных соотношений следует, что

$$|\mathbf{H}_{hkl}| = 1/d_{hkl},$$

а направление вектора  $\mathbf{H}_{hkl}$  перпендикулярно к плоскостям кристаллической решетки с миллеровскими индексами  $h$ ,  $k$ ,  $l$ . Для геометрической интерпретации условий отражения (5,11) нужно построить обратную решетку и описать в ней сферу радиуса  $1/\lambda$  так, чтобы эта сфера (называемая *сферой отражения* или *сферой Эвальда*) пересекла начало координат  $h$ ,  $k$ ,  $l = 0, 0, 0$ , а радиус, проведенный из центра сферы в начало координат, совпал с на-

правлением падающего луча  $k_0$  (рис. 5.3). Если на поверхности сферы окажется один из узлов обратной решетки  $h, k, l$ , то вектор, соединяющий этот узел с узлом  $0, 0, 0$ , и будет вектором  $H_{hkl}$ . В соответствии с (5.3) вектор, проведенный из центра сферы Эвальда в узел  $h, k, l$ , и окажется волновым вектором «отраженного» луча  $k$ . Координаты узла  $h, k, l$  указывают индексы отражающей плоскости. Следовательно, только узлы, находящиеся на поверхности сферы, отвечают условиям дифракции.

Узлы обратной решетки обычных низкомолекулярных кристаллов расположены редко, так как малы периоды решетки  $a, b, c$  и соответственно велики периоды  $a^*, b^*, c^*$ . Поэтому для увеличения числа пересечений сферы Эвальда с узлами приходится пользоваться различными длинами волн  $\lambda$ , вращать или колебать кристалл (метод вращающегося или колеблющегося кристалла). Напротив, периоды в монокристаллах белков велики, и поэтому вероятность пересечения сферы Эвальда и уз-

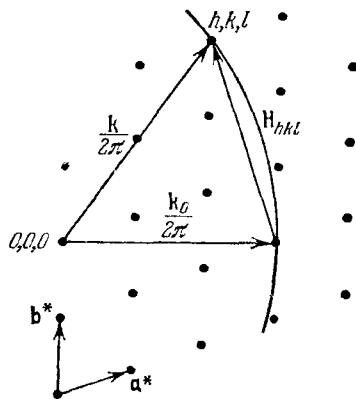


Рис. 5.3. Сфера Эвальда.

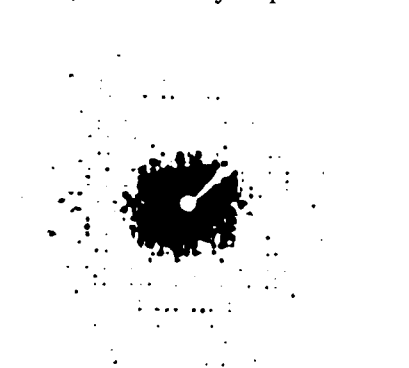


Рис. 5.4. Рентгенограмма миоглобина кашалота.

лов обратной решетки значительна. Неподвижный монокристалл белка в монохроматическом рентгеновском излучении дает множество дифракционных максимумов. На рис. 5.4 показана рентгенограмма кристаллического миоглобина кашалота. Рентгенограмма получается на фотопленке, но ионизационные методы регистрации обладают значительно большей точностью и чувствительностью.

По существу, рентгенограмма представляет собой изображение обратной решетки кристалла. Отраженные лучи направлены вдоль образующих конуса с вершиной в центре сферы Эвальда и пересекаются с фотопленкой по кривым второго порядка (рис. 5.5). Для получения неискаженных изображений развиты методы, в которых благодаря синхронному движению кристалла и пленки плоскость последней

остается все время параллельной соответствующей плоскости обратной решетки.

В результате анализа рентгенограммы устанавливается распределение электронной плотности в кристалле. Перепишем

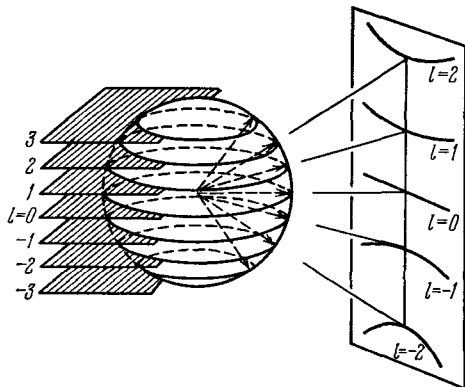


Рис. 5.5. Слоевые плоскости в обратном пространстве, сечение ими сферы Эвальда и слоевые линии на рентгенограмме.

интеграл (5,7), выражающий структурную амплитуду, в виде

$$F(s_x, s_y, s_z) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int \int \rho(x, y, z) \exp[i(s_x x + s_y y + s_z z)] dx dy dz. \quad (5,15)$$

Зная функцию  $F(s_x, s_y, s_z)$ , можно найти  $\rho(x, y, z)$  с помощью обратного преобразования Фурье

$$\rho(x, y, z) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int \int F(s_x, s_y, s_z) \exp[-i(s_x x + s_y y + s_z z)] ds_x ds_y ds_z, \quad (5,16)$$

или

$$\rho(\mathbf{r}) = \int F(\mathbf{s}) \exp[-i(\mathbf{sr})] d\tilde{V}_s. \quad (5,17)$$

Если  $\rho$  — периодическая функция, т. е. мы имеем дело с кристаллом, то аналогичным образом преобразуется интеграл (5,10) или соответствующая сумма

$$\rho(x, y, z) = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l F_{hkl} \exp[-2\pi i (hx/a + ky/b + lz/c)]. \quad (5,18)$$

Опыт дает значения модулей структурных амплитуд  $F$ , но не их фазы. В действительности  $F(\mathbf{s})$  — величина комплексная и

$$F = |F| \exp(i\varphi).$$

Не зная фаз, мы не можем установить структуру объекта. Как пишет Перутц [1], «рентгенограмма кристалла оказывается иероглифом без ключа для его расшифровки». Метод определения фаз, развитый Перутцом применительно к белкам, состоит в том, что к молекулам, образующим кристалл, присоединяют тяжелые атомы, например атомы ртути. Тяжелый атом, т. е. атом, имеющий большую силу рассеяния, вызывает заметные изменения интенсивности дифракционных пятен. По разности амплитуд в отсутствие и в присутствии тяжелого атома можно определить фазу — тяжелый атом берется за исходную точку. Применение производных белка, содержащих несколько тяжелых атомов, позволяет решить проблему фаз однозначно. Необходимым условием при этом является полное сохранение структуры белкового кристалла при введении тяжелых атомов. Иными словами, здесь мы имеем дело с методом изоморфного замещения — ртутные производные белка дают кристаллы, изоморфные кристаллу незамещенного белка (см. [2]).

Из опыта мы получаем интенсивность рассеянного излучения

$$J(\mathbf{s}) = F(\mathbf{s}) F^*(\mathbf{s}),$$

и потому функцией, непосредственно связывающей дифракционную картину со структурой кристалла, является не (5,18), а

$$Q(\mathbf{r}) = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l |F_{hkl}|^2 \cos 2\pi(hx/a + ky/b + lz/c). \quad (5,19)$$

Эта функция, называемая *функцией Паттерсона*, является фурье-образом интенсивности рассеяния. Вектор, соединяющий два любых атома в выражении для  $\rho(\mathbf{r})$  (5,18), изображается в функции  $Q(\mathbf{r})$  вектором той же ориентации, отложенным из начала координат. Функция Паттерсона центросимметрична, т. е. каждому вектору  $\mathbf{r}_{ij}$  в ней соответствует еще один вектор  $\mathbf{r}_{ji}$  равной величины, но противоположного направления. Функция Паттерсона имеет максимумы при условиях  $x = x_i - x_j$ ,  $y = y_i - y_j$ ,  $z = z_i - z_j$ , где  $x_i, y_i, z_i$  и  $x_j, y_j, z_j$  — координаты каких-либо двух атомов в элементарной ячейке. Величины максимумов пропорциональны произведению атомных номеров  $N_i N_j$  и, если расстояния  $r_{ij}$  повторяются в структуре, — числу этих повторений. Если атом  $i$  — тяжелый, то для него  $N_i$  велико и велики соответствующие максимумы. Поэтому функция Паттерсона особенно удобна для установления координат тяжелых атомов в кристалле.

Рентгеноструктурный анализ сводится к нахождению распределения электронной плотности  $\rho$  по измеренным интенсивностям дифракционных максимумов с помощью рядов Фурье. Функция плотности  $\rho(x, y, z)$  изображается в виде «геодезических» карт,

на которых линии соединяют точки с одинаковыми значениями  $\rho$ . Карты являются проекциями трехмерного распределения плотности на плоскость. Максимумы плотности отвечают положениям атомов. Карты — это своего рода «срезы» молекулы. Ввиду малости структурного фактора атомы водорода непосредственно «не видны» на карте электронной плотности. Их положение можно установить по искривлениям изолиний или с помощью специального разностного фурье-синтеза.

До сороковых годов рентгенография сравнительно простых соединений подтверждала их структуру, установленную химическими методами, и давала количественные сведения о межатомных расстояниях. В 1944 г. Ходжкин впервые расшифровала структуру пенициллина, которую химикам не удавалось определить. Молекула пенициллина содержит 23 атома кроме атомов водорода. Далее Ходжкин установила структуру витамина  $B_{12}$ . Здесь были определены координаты уже 93 атомов. В дальнейшем рентгенографию начали применять в исследованиях наиболее сложных молекул — молекул белков. Основоположителем этого важнейшего направления молекулярной биофизики был Бернал, и крупнейшие достижения в изучении белков принадлежат кембриджской научной школе. Они связаны с именами Брэгга, Кендрью и Перутца. В 1957 г. Кендрью установил пространственное строение первого белка — миоглобина (см. стр. 231). В молекуле миоглобина более 2500 атомов.

Кристаллы белка содержат большое количество воды, и их исследуют в маточном растворе. Бернал и Ходжкин впервые воспользовались этим методом и получили десятки тысяч четких рефлексов на рентгенограммах. Число рефлексов может достигать до сотен тысяч. Расшифровка столь сложных рентгенограмм — очень трудная и длительная работа, которую можно провести, лишь пользуясь ЭВМ. Для точного определения фазы, соответствующей каждому рефлексу, необходимо измерить несколько раз его интенсивность при дифракции как от чистого белка, так и от его производных, содержащих тяжелые атомы. В расчетах фигурируют десятки миллионов чисел.

Пространственное распределение плотности можно сделать видимым, например, наложением друг на друга контурных карт, начерченных на стопке листов прозрачного пластика. Соответствующая картина для миоглобина показана на рис. 5.6. Окончательным результатом исследования является пространственная модель молекулы белка, в которой определены положения всех его атомов. Такие модели приведены на стр. 231.

Принципиальный вопрос рентгенографии белков состоит в следующем: в какой мере структура белковой молекулы в кристалле совпадает с ее структурой в водном растворе, в котором белок функционален? Очевидно, что отрицательный ответ на



этот вопрос обесценил бы результаты рентгеноструктурного анализа и лишил бы их биологического значения.

Если бы белковая глобула представляла собой не аperiодический кристалл, а сильно флуктуирующее образование, то можно было бы думать, что кристаллизация означает отбор одной или нескольких конформаций из большого их числа в растворе. Но глобула имеет фиксированное строение. Кристаллические белки, как уже сказано, содержат большое количество воды, и их изучают в маточном растворе. Результаты рентгенографического исследования кристалла белка и данные оптических измерений того же белка в растворе согласуются друг

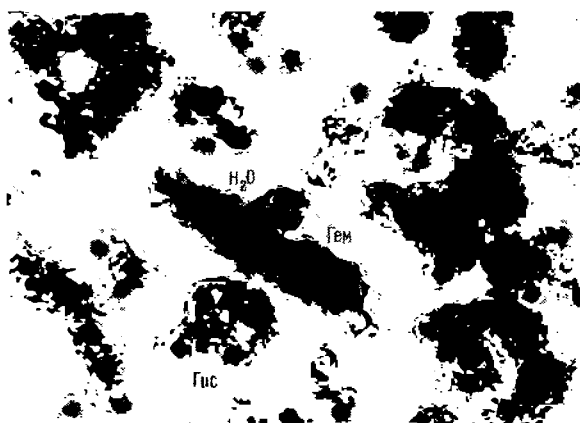


Рис. 5.6. Пространственное распределение электронной плотности в миоглобине.

с другом. В частности, совпадают степени спиральности, определенные обоими методами (см. далее стр. 319). Более того, установлено, что биологическая функциональность (ферментативная активность) белка сохраняется в кристалле, так как он сильно гидратирован. Пока что нет оснований сомневаться в положительном ответе на поставленный вопрос. Напротив, белки, подвергнутые лиофильной сушке, по-видимому, изменяют структуру — рентгенограммы высушенных кристаллов белка очень бедны рефлексами.

Здесь кратко изложены лишь физические принципы рентгенографии глобулярных белков — подробное изложение теории и методов приводится в ряде монографий и статей [3, 12, 270].

В настоящее время методом рентгеноструктурного анализа изучено несколько десятков глобулярных белков. Исследован

ряд ферментов, в частности определено строение комплексов, образуемых ферментами с ингибиторами и аналогами субстратов (см. гл. 6).

Рентгеноструктурный анализ, будучи прямым методом исследования, дает особенно обширную и ценную информацию о строении белков, позволяющую прийти к выводам, имеющим общее значение для биофизики (см. гл. 6 и [12]).

В табл. 5.1 приведен список белков, исследованных рентгеноструктурными методами. Он составлен в начале 1971 г. и, конечно, неполон (см. [270]). Ряд других белков и полипептидов был исследован пока с меньшим разрешением ( $\gamma$ - и  $\delta$ -химотрипсин, карбоангидраза С, эластаза, конканавалин, пепсин, трипсин, глюкагон, окситоцин и т. д.). Изучались также красивые и сложные надмолекулярные структуры, образуемые каталазой [30].

Таблица 5.1

## Белки, изученные методом рентгеноструктурного анализа

Белок	Происхождение	М. в.	Максимальное разрешение, Å	Источник данных
Миоглобин	Кашалот	17 800	1,4	[13]
Оксигемоглобин	Лошадь	67 000	2,8	[14]
Дезоксигемоглобин	Лошадь	67 000	2,8	[15]
Эритрокруорин			2,8	[16]
Цитохром с	Лошадь	12 400	2,7	[17]
Лизоцим	Куриное яйцо	14 400	2,0	[18]
Рибонуклеаза А			2,0	[19]
Рибонуклеаза		14 000	2,0	[20]
Карбоксипептидаза А	Бык	34 300	2,0	[21]
Химотрипсиноген		25 000	2,5	[22]
$\alpha$ -химотрипсин		23 000	2,0	[23]
Папаин		22 000	2,8	[24]
Нуклеаза	Золотистый стафилококк	16 000	2,0	[25]
Рубредоксин		6 000	2,5	[26]
Лактатдегидрогеназа		140 000	2,8	[27]
Инсулин	Свинья	5 733	2,9	[28]
Субтилизин			2,5	[29]

Несомненно, в ближайшее время число детально изученных белковых молекул возрастет.

Прежде чем перейти к рентгенографии фибриллярных биополимерных структур, остановимся на двух других родственных рентгенографии методах. Это — электронография и нейтронография. Согласно соотношению Де-Бройля  $\lambda = h/mv$  ( $\lambda$  — длина

волны,  $h$  — постоянная Планка,  $m$  — масса частицы,  $v$  — ее скорость) рассеяние любых частиц на атомах может приводить к дифракционным явлениям, если частицы движутся с соответствующей скоростью. Применяются электроны с  $\lambda \approx 0,05 \text{ \AA}$  и нейтроны с  $\lambda \approx 1 - 1,5 \text{ \AA}$  (т. е. с такими же длинами волн, как и у рентгеновских лучей). Теория дифракции на кристаллах в этих случаях не отличается от изложенной, но имеются существенные методические отличия.

Малость длины дебройлевской волны для электрона означает большой радиус сферы Эвальда (см. стр. 268), ее вырождение в плоскость. Это сильно упрощает истолкование электронограмм, так как они оказываются прямыми изображениями плоского сечения обратной решетки кристалла. Атомные факторы для рассеяния электронов также пропорциональны атомному номеру, но по своей абсолютной величине они во много раз больше, чем для рентгеновских лучей. Иными словами, электроны взаимодействуют с веществом значительно сильнее, чем рентгеновские кванты. Поэтому они сильно поглощаются веществом, и для исследования его структуры необходимо пользоваться очень тонкими пленками толщиной порядка  $10^{-5} - 10^{-6} \text{ см}$ , тогда как размеры кристаллов, изучаемых в рентгенографии, порядка  $10^{-1} \text{ см}$ . Исследование необходимо проводить в высоком вакууме. Это делает невозможным применение электронографии для изучения глобулярных белков в их нативном состоянии — вакуум высушит белок. Тем не менее электронография позволяет получить ценные результаты при исследовании фибриллярных белковых структур, синтетических полимеров и других аморфных тел. Существенное преимущество электронографии состоит в том, что она позволяет локализовать атомы водорода (подробное изложение см. в монографиях [31, 32]).

Для нейтронографических исследований необходимы атомные реакторы, дающие мощные пучки нейтронов, которые подвергаются монохроматизации отражением от кристаллической пластинки (например,  $\text{CaF}_2$ ). Дифрагирующие нейтроны регистрируются счетчиками. Нейтроны рассеиваются не электронной оболочкой атома, но его ядром, и атомный фактор определяется конкретной протонно-нейтронной структурой ядра, а не атомным номером. Поэтому атомные факторы изотопов существенно различаются. Атомный фактор для водорода (протона) далеко не минимален, для ряда тяжелых элементов он меньше. Поэтому нейтронография позволяет надежно локализовать атомы водорода; с ее помощью была установлена структура льда (см. стр. 203). Можно высказать уверенность в том, что нейтронография в будущем сыграет важную роль в изучении биополимеров, где она до сих пор почти не применялась (дальнейшие подробности см. в [33]).