



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Vegyésmérnöki kar, Fizikai kémia tanszék

Modellmembránok szerkezetvizsgálata kisszögű röntgenszórással

Doktori tézisek

Drucker Tamás
Témavezető: Bóta Attila

2004

Egyéb idegen nyelvű közlemények

- VIII. T. Drucker, A. Bóta: Description of the layer structure in centrosymmetric liposomes, Proceedings of the International School and Symposium on Small-Angle Scattering KFKI-1999-02/E (1999) 66.
- IX. Bóta, T. Drucker, G. Goerigk, H.-G. Haubold: Layer formations in the pretransition range of DPPC/H₂O and DPPC/D₂O liposomes, DESY/HASYLAB Annual Reports (2000) 685.
- X. T. Drucker, K. Szegedi, A. Bóta, G. Goerigk, S. Funari, Enhancing the diffraction data obtained with a 2D multiwire proportional counter DESY/HASYLAB Annual Reports (2003)
Előkészületben
- XI. T. Drucker, A. Bóta, Simulation of the small-angle X-ray scattering of liposomes, (2004)

A tézispontokhoz kapcsolódó publikációs tevékenység

Idegen nyelvű közlemények

- I. A. Bóta, T. Drucker, M. Kriechbaum; Zs. Pálfia; G. Réz: Layer formations of dipalmitoylphosphatidylcholine liposomes in the pretransition range, *Langmuir* 15 (1999) 3101.
- II. T. Drucker, A. Bóta, S. Borbély: Layer Formations of DPPC Liposomes, *Physica B* 276 (2000) 503.
- III. A. Bóta, G. Goerigk, T. Drucker, H-G. Haubold, J. Petró: Anomalous small angle X-ray scattering on a new, non pyrophoric Raney-type Ni-catalyst, *Journal of Catalysis* 205 (2002) 354.
- IV. A. Bóta, T. Drucker, K. Szegedi, G. Goerigk, Heinz-Günter Haubold, T. Vad, Distribution of copper ions in fully hydrated DPPC/water vesicles as studied by anomalous small angle X-ray scattering, *Biochim. Biophys. Acta* (2004 elküldve)

Magyar nyelvű közlemények

- V. A. Bóta, T. Drucker, M. Kriechbaum: Liposzómák, mint modellmembrán rendszerek, *Olaj, szappan, kozmetika* 5 (1998) 244.
- VI. A. Bóta, Á. Csiszár, T. Drucker, B. Horváth, S. Borbély, M. Kriechbaum, G. Réz, H.-G. Haubold, T. Vad: Dipalmitoil-lecitin/víz alapú liposzómák szerkezeti tulajdonságai, *Magyar kémiai folyóirat* 106/12 (2000) 488.
- VII. T. Drucker, A. Bóta: Liposzómák kisszögű röntgenszórásának szimulációja gömbszimmetrikus modellel, *Magyar kémiai folyóirat* 107/6 (2001) 234.

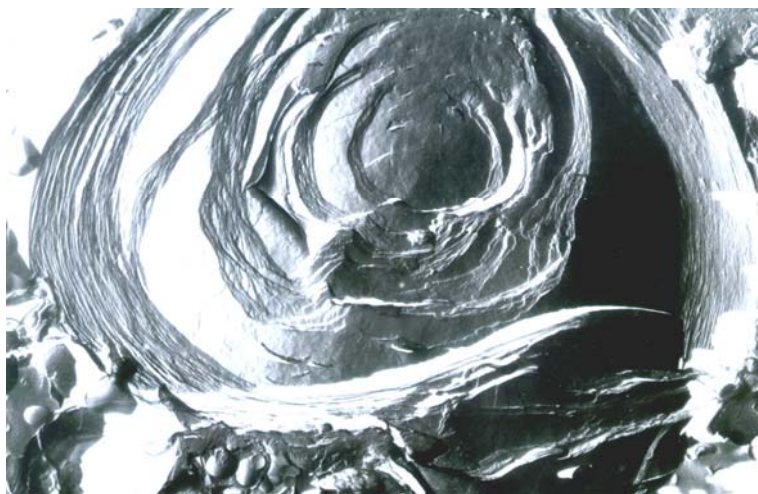
Bevezetés

A biológiában, a korábbi felfogásnak megfelelően a membránok működésmechanizmusában a kitüntetett szerepet a kettősrétegbe ágyazott fehérjéknek ill. a lipid-fehérje kölcsönhatásoknak, míg a lipid kettősrétegeknek “csak” hordozó, tartó funkciót tulajdonítottak. A legutóbbi két évtizedben kiderült, hogy a lipid kettősréteg, mint a liotróp folyadékkristályok egyik képviselője, olyan fázisátmeneti sajátságokkal rendelkezik, amelyek az egyes membránmechanizmusok magyarázatául szolgálhatnak. A méréstechnikai oldalt tekintve, a szinkrotron állomások üzembe helyezésével a diffrakciós felvételek felbontása javult, a mérési idő msec nagyságrendjébe csökkent, ezáltal a kettősrétegekben zajló fázisátmenetek sajátságainak, azok dinamikájának megfigyelése is lehetővé vált.

A biológiai membránok fontos kémiai komponense az 1,2-dipalmitoil-foszfatidil-kolin (DPPC) ezért modellanyagként erre a lipidre esett a választásom. Ez az anyag vízben diszpergálva liotróp folyadékkristályos rendszert alkot, amelynek a hőmérséklettől függően többféle multilamelláris szerkezete van. A liposzómák olyan gömbszerű alakzatok, amelyekben a lipid kettősrétegek és a víz váltakozó héjrendszert építenek ki. Az 1,2-dipalmitoil-foszfatidil-kolin (DPPC) fölös mennyiségű vízben diszpergálva, olyan liotróp folyadékkristályos rendszert alkot, amelyben a hőmérséklettől függően négyféle multilamelláris rendszer fordul elő.

A liposzóma tipikusan 60-70 Å kiterjedésű periódusa, ami a lipid kettősréteg és a hozzá tartozó vízréteg együttes vastagsága, a kisszögű szórási technika alkalmazását igényli. A kisszögű szórási görbék birtokában, a periodikus szerkezetben bekövetkező változásokat kísérhetjük nyomon. A szórási görbék felvételéhez manapság többféle lehetőség kínálkozik: hagyományos laboratóriumi röntgenberendezéseken (ilyet

használnunk mi is a Fizikai Kémia Tanszék Anyagszerkezeti Laboratóriumában), valamint szinkrotron mérőállomásokon dolgozhatunk. Célom volt a számomra elérhető legjobb berendezéseken kapott szórési görbék vizsgálata olyan szempontból, hogy a mérésnél beállított készülék paraméterek milyen módon és mértékben torzítják az elméletileg kapható szórásgörbéket.



A DPPC/víz liposzóma fagyasztva törés után nyert elektronmikroszkópos képe.

rétegeinek vastagságát valószínűségi változóként kezeltem. [I, II, IV-IX, XI]

- 5) Megállapítottam, hogy a gömbszimmetrikus héjszerkezetek kisszögű diffrakciós csúcsainak maximumarányai a héjak vastagságának ingadozásától függenek. Az ingadozás mértékének növekedése a magasabb rendű csúcsok maximumarányát csökkenti. [VII, XI]
- 6) Összefüggést állapítottam meg a kisszögű diffrakciós csúcsok közötti minimumértékek nagyságrendje és a szóráshossz sűrűséget reprezentáló szomszédos Fourier tagok előjelviszonyai között. [XI]
- 7) Tapasztalati összefüggést állapítottam meg a kisszögű diffrakciós csúcsok félérték szélessége, a gömbszimmetrikus héjszerkezet rétegeinek száma valamint a rétegvastagságának ingadozása között. A tapasztalati összefüggés állandó rétegvastagság esetén a nagyszögű szórásnál jól ismert Scherrer egyenletet adja vissza. [VII, XI]
- 8) Rekonstrukciós eljárást dolgoztam ki gömbszimmetrikus héjszerkezetek átlagos rétegvastagságának, a rétegvastagság ingadozásának, a szóráshossz sűrűség eloszlásának valamint a rétegszám-térfogattört eloszlásának meghatározására. Szimulációs eredmények alapján értelmeztem a dipalmitoil-lecitin/víz multilamelláris liposzóma rendszer gél, hullámos és folyadékkristályos állapotainak eltérő sajátosságait. [XI]

Tézispontok

- 1) Centroszimmetrikus, kétdimenziós kisszögű szórás képek középpontjának meghatározására egy Descartes→polár koordinátatranszformáción alapuló módszert dolgoztam ki. A módszer segítségével meghatározott középpont pontossága többszöröse a hamburgi szinkrotron (Desy, Hasylab) Jusifa mérőállomásán telepített kiértékelő program által számított adatok pontosságának. [III, IV, X]
- 2) Pontos számítási módszert vezettem be a centroszimmetrikus szórás képek radiális átlagolására. A módszer alapján a kisszögű szórás görbék felbontását többszörösére javítottam, az eddig használatos számítási eljárás (Desy, Hasylab, Jusifa) felbontásához képest. [III, IV, X]
- 3) Módszert dolgoztam ki a kétdimenziós helyérzékeny detektorok torzítási függvényének meghatározására. A méréseknél használt detektor (Desy, Hasylab, Jusifa) feloldóképességét egy referencia minta (dipalmitoil-lecitin/víz liposzóma rendszer) kisszögű szórását alapul véve határoztam meg. [X]
- 4) A rendszer rétegződési hibáinak figyelembe vételével modelleztem a gömbszimmetrikus héjszerkezetek kisszögű röntgenszórását. A modellben a szórás hossz sűrűség radiális irányú eloszlását Fourier sor tagokként valamint lépcsőfüggvényekként reprezentáltam. A valódi rendszerek

rétegződési hibáinak figyelembe vétele céljából a radiális irányú eloszlás kezdő pontját valamint a héjszerkezetek

A dolgozat célkitűzése

A liposzóma rendszerek, mint modellmembránok szerkezeti sajátosságainak megismerése a membránok biofizikája, a folyadékkristályok fizikai kémiája, és az önszervező rendszerek fizikai kémiája által támasztott alapvető igény.

A jelenleg alkalmazott módszerek, melyek a jelenségek kvalitatív értelmezésére alkalmasak, visszaigazolták az alapfeltevéseket. A hangsúly éppen ezért a szerkezeti sajátosságok kvalitatív értelmezéstől az összetett kvantitatív értelmezés felé tolódott el.

Doktori értekezésem fő célja egy modern igényeket kielégítő módszer kidolgozása a liposzóma rendszerek kisszögű szórásának értelmezésére, mely az eddigieknél nagyobb mértékben teszi lehetővé a szerkezeti sajátosságok kvantitatív vizsgálatát.

Eredmények összefoglalása

Ph.D. tevékenységem alatt a DPPC/víz rendszeren, a Hamburgi Szinkrotronnál felvett kisszögű szórás görbék feldolgozásával, a szórás eredmények interpretálásához szükséges modellszámítások elvégzésével valamint a mérési és modellszámítási eredmények összehasonlításával kapcsolatos eredményeket értem el.

A célkitűzésnek megfelelően munkámat három fő fejezetre tagoltam: az elsőben a Hamburgi Szinkrotron állomás kisszögű berendezésén nyert adatok feldolgozásával és értelmezésével, a másodikban a gömbszimmetrikus modell továbbfejlesztésével, a harmadikban pedig a reális rendszerek

mérési adatainak konkrét kiszámításával és a modellszámítások eredményeinek összevetésével foglalkozom

A munka első fázisában szembesültem avval a ténnyel, hogy a Hamburgi Szinkrotron, a pályázatot elnyert felhasználók számára fenntartott laboratóriumában felállított, Jusifa elnevezésű kisszögű szórások mérésére alkalmas berendezésének eredményei eredeti formájukban nem voltak megfelelőek. Ez alatt azt értem, hogy a kétdimenziós detektoron megjelenő szórási képek "életlenek" voltak. A vizsgált rendszer periodikus és makroszkopikusan nem orientált szerkezetének megfelelő szórási képek diffrakciós gyűrűi, a minta-detektor távolságának függvényében különböző mértékben voltak elmosódottak. E megfigyelés volt az alapja annak a munkafázisnak, amelynek során a Jusifa berendezés paramétereinek hatását vizsgáltam, ami végső soron a detektor torzítási függvényének azonosításához vezetett. Az evvel kapcsolatos eredmények teszik lehetővé a nyomnyi mennyiségben jelenlévő szennyeződések szerkezetre gyakorolt hatásának, anomális kisszögű szórással történő tanulmányozását. Az elért eredmények általános érvényűek, így másfajta, makroszkopikusan nem orientált rétegszerkezet kisszögű szórási képének feldolgozásánál is felhasználhatóak.

Munkám második részében, a mérési adatoktól függetlenül gömbszimmetrikus rendszerek (mint amilyenek a liposzómák is) kisszögű szórásának modellezését végeztem el. Összefüggéseket találtam a szórási képek jellemző paraméterei (a csúcsok intenzitásarányai, a csúcsok félérték szélessége) és a modellezett szerkezeti paraméterek (a szerkezet belső sugara, a rétegek száma, a rétegek vastagságának ingadozása, az elektronsűrűség profil) között, majd módszert dolgoztam ki a szerkezeti paraméterek meghatározására.

A munka harmadik részében a DPPC/víz rendszer Jusifa berendezésén mért kisszögű szórási képének feldolgozását az

első részben kapott eredmények alkalmazásával tudtam elvégezni, majd a valódi rendszer szerkezeti paramétereit a második részben kidolgozott modell segítségével szimulálni, a

rendszer kétféle gél, és a folyadékkristályos állapotaira vonatkozóan. A három állapothoz tartozó elektronsűrűség eloszlások karakterei és azok különbségei a rétegszerkezet szempontjából alátámasztják ezen állapotok, valamint ezen állapotok közötti fázisátmenetek főbb jellemzőit, és megerősítik a modell helyességét.