



BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM
VEGYÉSZMÉRNÖKI ÉS BIOMÉRNÖKI KAR
OLÁH GYÖRGY DOKTORI ISKOLA

Szerkezetmódosító hatások foszfolipid modellmembrán
rendszerekben: halogénezett fenolok és fémionok
hatása

Tézisfüzet

SZERZŐ: VARGA ZOLTÁN
TÉMAVEZETŐ: DR. BÓTA ATTILA

FIZIKAI KÉMIA ÉS ANYAGTUDOMÁNYI TANSZÉK

2009

1. Bevezetés

A foszfolipid kettősrétegeknek, mint a biomembránok reprezentatív modelljeinek tanulmányozása az utóbbi időben a lágy kondenzált anyagtudományok aktuális területévé vált. Bár a kétkomponensű lipid/víz rendszer a biomembránokhoz képest jelentős egyszerűsítést jelent, mégis, az ezekben a liotrop folyadékkristályos rendszerekben megfigyelt effektusok értékelése a biológiai membránok jobb megértését szolgálja. A dolgozatban a 2,4-diklór(dibróm)fenol (DCP, DBP) és kétértékű fémionok (Cu^{2+} , Cd^{2+}) a dipalmitoil-foszfátidilkolin (1,2-dipalmitoil-sn-glicero-foszfátidilkolin, DPPC)-víz alapú vezikulák szerkezetére gyakorolt hatását tárgyalom.

A foszfolipid-víz modellmembrán rendszerben az alapvető kölcsönhatásokat két csoportba lehet osztani annak megfelelően, hogy a kölcsönhatások milyen helyen következnek be. A dihalogén-fenolok egy olyan esetre adnak példát, ahol a perturbáció a kettősrétegen belül következik be, míg a fémionok a kettősrétegek közötti kölcsönhatásokat módosítják. A dihalogénfenolok kis koncentrációban indukált toxikus, valamint speciális szerkezeti átmeneteket kiváltó hatásokról ismeretesek. A dolgozatban szereplő Cu^{2+} és Cd^{2+} ionok az élő szervezetek nyom- illetve toxikus elemeit képviselik.

Másik megközelítésben, a szerves molekulák által a lipid-kettősréteg szerkezetében indukált változások ismerete lehetővé teszi a vezikularendszerek alkalmazhatóságának tervezését, például a hatóanyag hordozó rendszereket. A sztérikusan stabilizált vezikulák vagy liposzómák („sterically stabilized vesicles, liposomes”, SSV, SSL) szerkezeti és dinamikai sajátosságainak biofizikai tanulmányozása alapvető fontosságú, mert a rendszer részleteinek ismerete nagymértékben hozzájárul a hatóanyag-hordozó sajátosságainak beállításában, ami az optimális hatékonyság elérését célozza meg.

A kétértékű fémionok foszfolipid vezikulákban történő lokalizációja szintén kapcsolódik a felhasználáshoz, mivel a membránokhoz hasonló rendszerek „nanoreaktorként” is felhasználhatók. Ezen alkalmazások alapja a multilamellás rendszerek nanométeres skálájú szerkezete.

A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk: Vesicles as reactors of nanoparticles, SAS2006 Kyoto, XII. International Conference on Small-angle Scattering, July 9-13, 2006. Kyoto, Japan
Z. Varga, G. Holló, Á. Orbán, L. Korecz, L. Naszályi Nagy, Gy. Kéri, L. Örf, Z. Greff, G. Németh, B. Szokol, A. Lőrincz, I. Peták, A. Bóta: Structure and dynamics of sterically stabilized vesicles, Joint Meeting on Medicinal Chemistry, June 24-27, 2009 Budapest, Hungary

Egyéb közlemények

A. Wacha, Z. Varga, L. Trif, G. Goerigk, A. Bóta, U. Vainio, ASAXS study of hexagonal W-type barium ferrite nanoparticles, *HASYLAB Annual Report*, 2007, pp. 477-478

A. Wacha, L. Trif, Z. Varga, G. Goerigk, A. Bóta, U. Vainio, SAXS study of hexagonal W-type barium ferrite nanoparticles, *HASYLAB Annual Report*, 2007, pp. 773-774

A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk, Biological systems as nanoreactors: anomalous small-angle scattering study of the CdS nanoparticle formation in multilamellar vesicles, *HASYLAB Annual Report*, 2007, pp. 37-40

Á. Oszlanczi, A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk, Effects of the sulfadiazine on the DPPE/DPPG/water vesicles, *HASYLAB Annual Report*, 2005, 841-842

A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk, Location of copper ions in the DPPC/water vesicles observed by using anomalous small angle X-ray scattering, *HASYLAB Annual Report*, 2005, pp. 909-910

A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk, E. Klumpp, ASAXS study of the localisation of the 2,4-dibromophenol in the DPPC/water multilamellar vesicles, *HASYLAB Annual Report*, 2004

A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk, V. Csokai, S. S. Funari, Effects of the copper ions on the DPPC/water multilamellar vesicles observed by ASAXS technique, *HASYLAB Annual Report*, 2004

[9] Z. Varga, A. Bóta, G. Goerigk, A. Hoell, Distribution of Copper(II) Ions in a Phospholipid Bilayer Studied by Anomalous Small Angle X-ray Scattering and Molecular Dynamics (előkészületben)

[10] Z. Varga, A. Bóta, Structure of the interdigitated phase of DPPC bilayers induced by dihalogenated phenols (előkészületben)

Szöbeli előadások

Z. Varga: Contrast variation X-ray scattering in studying lyotropic liquid crystals, workshop on "Ferroelectric phenomena in liquid crystals", Liquid Crystal Institute, Kent State University, June 19 - 28, 2007, Kent, U.S.A.

Z. Varga: A réz élettani szerepe a biomembránok tükrében. Oláh György Doktori Iskola Konferenciája, 2009, BME, Budapest

Z. Varga: The role of guest molecules in the induced interdigitation of phospholipid bilayers as revealed by anomalous scattering, 1st International ASAXS workshop, Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie, May 14-15, 2009, Berlin, Germany

Poszter előadások

A. Bóta, Z. Varga, and G. Goerigk: Effects of toxic molecules/ions on biological model membranes, 19th ECIS Conference, Sept. 18-23. 2005, Geilo, Norway

A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk: Displacement of metal ions in vesicles, Annual Users Meeting, DESY HASYLAB, Jan. 27. 2006. Hamburg, Germany

Z. Varga, A. Bóta, G. Goerigk: Location of dibromophenol in vesicle system, Annual Users Meeting, DESY HASYLAB, Jan. 27. 2006. Hamburg, Germany

Z. Varga, A. Bóta, G. Goerigk: Location of dihalogenated phenols in vesicle system as determined by anomalous small angle X-ray scattering, XII. International Conference on Small-angle Scattering, July 9-13, 2006. Kyoto, Japan

2 Irodalmi háttér

Foszfolipidek a biológiai membránok fő lipidkomponensei. Amfipatikus kémiai karakterük következtében ezek a molekulák spontán módon különböző szimmetriájú, köztes méretű (az atomi méreteknél nagyobb, nanométeres méterskálájú) molekula-aggregátumokat formálnak. Bár a foszfolipidek önrendeződése különböző struktúrákat eredményezhet, a biológiai szempontból legfontosabb szerkezet a réteges forma. A doktori dolgozat keretei között tanulmányozott modellmembrán rendszer az 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-foszfátidilkolin (DPPC) – víz rendszer (ami egy liotrop folyadék-kristály) négy különböző, hőmérséklettől függő, fázist formál¹.

A lipid/víz rendszerhez adott harmadik komponens („vendégmolekula”) az első lépés a reális biológiai membránok irányába. Ezen felül számos molekula környezetvédelmi szempontból történő megítélése a foszfolipid modelmembránnal való kölcsönhatásának fiziko-kémiai leírásán alapul. A munkában szereplő halogénezett fenolok éppen a környezet nagyon eltérő területein vannak jelen. Például a brómfenolok a szivacsokban, algákban, ezen felül sok tengeri szervezetben, sőt a halak, az emlősök vérében is előfordulnak. A legutóbbi időben a brómfenolok hatásának vizsgálata azért is előtérbe került, mert ezen anyagok szervezeteken kívüli természetes előfordulásuk mellett ipari méretekben is felhasznált kemikáliák; gombaölő szerek, égésgátlók (például 2,4,6-tribrómfenol, tetrabrombisfenol-A). Klórfenolok szintén ipari mennyiségben előforduló anyagok, mivel antibakteriális hatással rendelkeznek. Másrészt, fotooxidációval a természetes vizekben is képződhetnek. Ezen anyagok környezetvédelmi szempontból történő megítélése még nem tisztázott, kimutatták, hogy hormonszerű hatásokat váltanak ki, zavarják a Ca²⁺ sejten belüli háztartását az endokrin sejtekben².

Csiszár és munkatársai³ leírták, hogy a lipid/víz rendszerben a 2,4-diklórfenol (DCP) 0,5-nél nagyobb DCP:lipid arány mellett összefűződött („interdigitated”) fázist indukál. Ezen, csökkent rétegvastagságú fázis szerkezete azért jellegzetes, mert a kettősréteg két lipid rétege egymásba csúszik. A lipidek alrácsa a rétegráccsal szimultán

¹ G. Cevc, Phospholipids handbook, CRC Press, 1993

² Olsen et al. Toxicology Letters, 129 (2002) 55, Hassenklöver et al. Aquatic Toxicology, 76 (2006) 37

³ Csiszár et al. Chem. Phys. Lipids, 126 (2003) 155

változik. Az összefüzdött fázist egyébként számos só, alkohol is képes indukálni, azonban a fázis részletes szerkezeti leírása illetve számos kísérleti eredmény még nem tisztázott.

A valós sejtmembránok fő komponensei mellett számos nélkülözhetetlen kémiai alkotónak kell jelen lennie millimólos koncentrációban, amelyek fontos fiziológiai funkciót látnak el. A kétértékű fémionok ebbe a csoportba tartoznak, azok hatása a biológiai membránokra - és így a modelmembránokra is - az utóbbi időkben került a tudományos érdeklődés középpontjába⁴. Ezen ionok drasztikus mértékben képesek mind a kettősréteg szerkezetét, mind pedig a membránfehérjék konformációját megváltoztatni. Például a vizsgált Cu^{2+} ion a szinapszisok jelátvitelében játszik szerepet, ami kapcsolatban áll az idegrendszeri elváltozásokban, mint például az Alzheimer-, a Parkinson- és a Creutzfeldt-Jakob-kór kialakulásában játszott szerepével⁵.

Mind a korábbi tapasztalatok, mind a jelen dolgozatom eredményei mutatják, hogy a kétértékű ionok erősen befolyásolják a lipid kettősrétegek mind lokális, mind globális sajátságait⁶. Az egy és kétértékű kationok különböző szerkezetmódosító hatást fejtenek ki, ami ezen ionoknak, a lipid molekulákhoz való kötődésének különböző mértékéből ered. Korábban beszámoltak az irodalomban arról, hogy a kétértékű kationok, mint például a Ca^{2+} a multilamellás vezikulák (MLV) kettősrétegeinek szétcsatolódását okozza. Más szóval az MLV szerkezete egy másodrendű fázisátmeneten keresztül unilamellás formává alakul. Ezt az átmenetet már évekkel ezelőtt leírták, de alig vannak kísérleti megfigyelések, annak ellenére, hogy a jelenségnek nagy biológiai jelentősége van, ha a sejtek lefűződésére vagy fúziójára gondolunk⁷.

A liposzóma-rendszerekben bekövetkező perturbációk alkalmazási szempontból is lényegesek. Például a membrán-mimetikus rendszerek felhasználása a „nedveskémiai” nanorészecske preparálások jelentős területét adják, ahol a kiindulási rendszer a megfelelő fémion elektrolitját tartalmazza⁸.

⁴ Tatulian, Eur. J. Biochem. 170 (1987) 413, Binder and Zschörnig Chem. Phys. Lipids, 115 (2002) 39

⁵ Everse and Coates, Neurobiology of Aging, 30 (2009) 1011, Strausak et al. Brain Res. Bull. 55 (2001) 175

⁶ Pabst et al. Biophys. J. 93 (2007) 2688

⁷ Lipowsky and Leibler, Phys. Rev. Lett. 56 (1986) 2541, Mutz and Helfrich, Phys. Rev. Lett. 62 (1989) 2881, Vogel et al. Phys. Rev. Lett. 84 (2000) 390, Pozo-Navas et al. Phys. Rev. Lett. 91 (2003) 028101, Jamada et al. J. Phys. Soc. Jpn. 155 (2008) 80

⁸ Fendler, Membrane-mimetic approach to advanced materials, 1997

6 Közlemények

Cikkek

[1] Z. Varga, A. Bóta, G. Goerigk, Localization of Dibromophenol in DPPC/Water Liposomes Studied by Anomalous Small-Angle X-ray Scattering, *J. Phys. Chem. B.* (2006) **110(23)**, 11029-11032., IF: 4.115, C(IC): 3(1)

[2] A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk, Biological Systems as Nanoreactors: Anomalous Small-Angle Scattering Study of the CdS Nanoparticle Formation in Multilamellar Vesicles, *J. Phys. Chem. B.* (2007) **111(8)**, 1911-1915. IF: 4.086, C(IC): 3(2)

[3] Z. Varga, A. Bóta and G. Goerigk, Localization of dihalogenated phenols in vesicle systems determined by contrast variation X-ray scattering, *J. Appl. Cryst.* (2007). **40**, s205-s208, IF: 3.629, C(IC): 0(0)

[4] A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk, Vesicles as reactors of nanoparticles: An anomalous small-angle X-ray scattering study of the domains rich in copper ions, *J. Appl. Cryst.* (2007). **40**, s259-s263, IF: 3.629, C(IC): 0(0)

[5] A. Bóta, Z. Varga, G. Goerigk, Structural Description of the Nickel Part of a Raney-Type Catalyst by Using Anomalous Small-Angle X-ray Scattering, *J. Phys. Chem. C* (2008). **112(12)**; 4427-4429., IF: 3.396, C(IC): 2(0)

[6] Z. Varga, A. Bóta and G. Goerigk, Unbinding Transition in Lipid Multibilayers induced by Copper(II) Ions, *J. Phys. Chem. B* (2008) **112(29)**, 8430-8433., IF: 4.189, C(IC): 1(0)

[7] G. G. Nair, C. A. Bailey, S. Taushanoff, K. Fodor-Csorba, A. Vajda, Z. Varga, A. Bóta, A. Jákli, Electrically Tunable Color by Using Mixtures of Bent-Core and Rod-Shaped Molecules, *Advanced Materials* (2008), **20**, 3138-3142., IF: 8.191, C(IC): 2(1)

[8] Z. Varga, Sz. Berényi, B. Szokol, L. Örfi, Gy. Kéri, I. Peták, A. Hoell, A. Bóta, A Closer Look at the Structure of Sterically Stabilized Liposomes: A Small-Angle X-ray Scattering Study, *J. Phys. Chem. B* (elküldve)

6.) Programot fejlesztettem a laboratóriumi röntgenberendezésen mért kisszögű szórási görbék véges nyalábméretből következő elkenődésének korrekciójára. A program két, az irodalomban jól ismert eljárást szimultán használ, így azok összehasonlításával az adott szórásgörbe esetén az optimális módszer kiválasztható.

Különböző hatóanyagok szállítására alkalmas unilamellás vezikulák alkalmazásának ötlete már a liposzómák első megfigyelését követő években felmerült. Egészen az 1990-es évekig, gyógyászati céleszközként (gyógyszerhordozóként) a vezikulák, tekintettel vitatott hatásukra, tévútnak bizonyultak (hiányos ismeretek biokémiai sajátosságairól és annak a ténynek a birtokában, hogy a tiszta foszfolipid/víz vezikula rendszerek gyorsan kiürülnek a vérkeringésből). Papahadjopoulos és munkatársainak⁹ úttörő munkássága után a sztérikusan stabilizált (polietilén-glikol-, PEG-lipideket) tartalmazó foszfolipid vezikulák (liposzómák), mint hatóanyag-hordozó rendszerek széleskörűen elterjedtek¹⁰. Ennek oka, hogy a PEG-lánccal kapcsolt lipidek a foszfolipid vezikuláknak jelentékeny stabilitás növekedést kölcsönöznek, valamint hosszabb tartózkodási időt eredményeznek a vérkeringésben.

Mivel a liposzómák sajátossága erősen függ a lipid-összetételtől, a mérettől, a felületi töltéstől valamint a preparálás módjától, a különböző hatóanyagok eltérő kémiai karakterrel különböző formulázásokat követelnek meg, amik részletes ismereteket igényelnek minden komponens szerkezeti és dinamikai perturbációs hatásairól.

A rendszerek biofizikai jellemzése egyidős e rendszerek felfedezésével¹¹. A széleskörűen alkalmazott módszerek, technikák (szórási módszerek, optikai spektroszkópiák, elektron spin és mag rezonancia módszerek, különböző kalorimetrikus és mikroszkópos technikák) ellenére mindmáig vannak megoldandó kérdések ezen a területen.

⁹ Papahadjopoulos et al. PNAS 88 (1991) 11460

¹⁰ Gregordias, Liposome Technology, Vol. 2, 2006

¹¹ Bouwstra et al. Chem. Phys. Lipids, 64 (1993) 83, Belsito et al. Biophys. Chem. 75 (1998) 33, Liu et al. Coll. Surf. A, 212 (2003) 227

3. Kísérleti és szimulációs módszerek

A DPPC/víz rendszer rétegszerkezetében fellépő változások jellemzésére **kisszögű és anomális kisszögű röntgenszórást (SAXS, ASAXS)** használtam. A vezikulás rendszerek esetében a periodikusan pakolódott foszfolipid kettősrétegek Bragg reflexiókat okoznak a $q_n=2\pi n/d^{12}$ pozícióknál. A szórási görbék alakja információt szolgáltat az egyes rétegek fluktuációjáról, amiből a rendszer egészének multilamellás szerkezetére lehet következtetni. A szórási görbéből modellillesztéssel mind a kettősréteg elektronsűrűség-profilja, mind a réteg-elrendeződés szerkezeti tényezője is meghatározható.

Anomális szórásból eredő kontrasztvariációt használtam a brómfenol és a kétértékű fémionok rétegnormális menti eloszlásának meghatározásához. A módszer alapja az atomok szórási faktorának energiafüggése, ami komplex mennyiség és szignifikáns változást mutat a röntgen-energia függvényében a tekintetbe vett atom (a mi esetünkben a bróm és a réz) abszorpciós élehez közeli tartományban.

A rendszerek fázisátmeneti sajátságainak termikus jellemzésére **differenciális pásztázó kalorimetriát (DSC)** használtam. Mivel mindkét fázisátmenet (az elő- és a főátmenetek) elsőrendű fázisátmeneti karaktert mutatnak, azok endoterm csúcsok formájában jelennek meg a DSC görbéken. A rendszerek morfológiájának képszerű megjelenítésére fagyaszttva töréssel kombinált elektronmikroszkópiát alkalmaztam.

A halogénezett fenolok által indukált összefűződött fázist atomi szintű **molekuladinamikai (MD)** számításokkal is tanulmányoztam. Szintén MD számításokat alkalmaztam az ASAXS görbéken megfigyelhető változások magyarázatára, a fémionok lokalizációjának leírására a DPPC/CuCl₂/víz rendszerben.

¹² A szórási változót (q) az alábbi összefüggés definiálja: $q=(4\pi/\lambda)\sin(\theta)$, ahol λ a röntgensugárzás hullámhossza, míg 2θ a szórási szög.

5 Tézisek

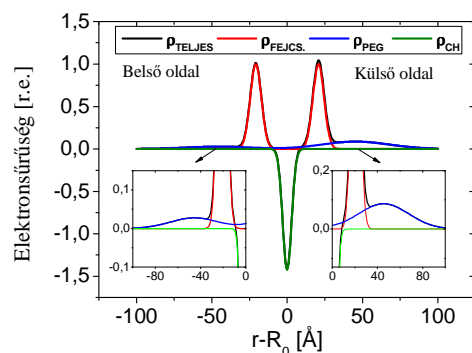
1.) Megadtam az anomális röntgenszórás formalizmusát lamellás, térben izotróp rendszerekben periodikusan elhelyezkedő vendégmolekulák és ionok lokalizációjának meghatározására [1]. 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-foszfokolin(DPPC)/víz rendszerben a Cu²⁺ ionok illetve 2,4-dibrómfenol (DBP) kettősrétegen belüli lokalizációjának meghatározásához, az ún. Stuhmann egyenletek, az említett rendszerekre érvényes alakjainak felhasználásával kifejeztem a rezonáns atomok (Br ill. Cu²⁺) szórási járulékát. A anomális szórás analízisével becslést adtam a dibrómfenol és Cu²⁺ ionok a vezikula rendszeren belüli megoszlási hányadára ([5]-ben leírt eljárás alapján).

2.) A kis- és nagyszögű röntgenszórásos, illetve szimulációs eredmények alapján megadtam a DBP ill. az azzal rokon 2,4-diklórfenol (DCP) molekulák által a DPPC/víz rendszerben, a vendégmolekulák magas koncentrációja esetén indukált ún. összefűződött („interdigitated”) gél fázis atomi szintű szerkezeti leírását. Elvégeztem ezen fázis atomi szintű molekuladinamikai szimulációját [3, 9].

3.) Kimutattam, hogy kritikus szétcsatolódás következik be a DPPC/CuCl₂ rendszerben, a fémion mM-os koncentráció-tartományában [6]. Megállapítottam, hogy a szétcsatolódás a hullámos gél fázisban kialakuló modulált felületek hatására az elektrosztatikus kölcsönhatásokban bekövetkező változásokra vezethető vissza.

4.) A lipid/fémion rendszerekben az ionok rétegnormális irányú eloszlásának ASAXS mérésekre alapozott megadásával kiindulópontot adtam arra, hogy ezen rendszerek miként alkalmazhatók nanorészecskék előállítására [2, 4]. A Cu(II) ionok példáján keresztül megmutattam, hogy ezen ionok a lipidek fejcsoport-régiójában lokalizálódnak, azok eloszlása egy ~5 Å szórású Gauss-függvénnyel jellemezhető.

5.) A sztérikusan stabilizált vezikulák kisszögű szórásgörbéjének modellillesztésével kísérletileg kimutattam a polietilén-glikol (PEG) láncok aszimmetrikus elhelyezkedését a kettősréteg két oldalán. Modellillesztésre alapozva a PEG láncok megoszlási hányadára a belső illetve külső monorétegek között 0,24:0,76 értéket kaptam.



4. ábra: Sztérikusan stabilizált vezikula rendszer radiális elektronsűrűség profilja a SAXS görbére illesztett modell alapján

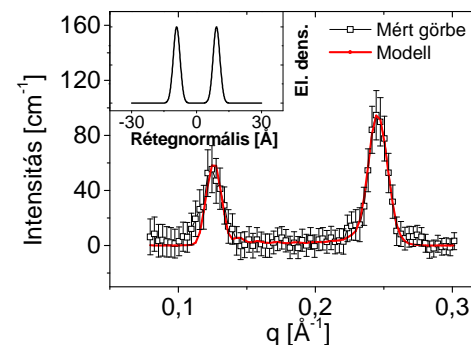
4.5 SAXS mérésiadat-feldolgozás

Mivel a szórás technikák (SAXS, ASAXS) kiemelkedő szerepet játszanak munkámban, a szórás elméletek részleteinek megismerése mellett a szórási adatok kezelésére a mérési eredmények kiértékelésére is hangsúlyt fektettem. A laboratóriumi berendezéssel nyerhető kisszögű szórás görbék réskorrekciójának elvégzésére számítógépes programot fejlesztettem ki. Az újdonság a programban, hogy az irodalomból ismert direkt és indirekt módszerek párhuzamosan használhatók, lehetőséget adva az optimális eljárás kiválasztására. Ennek azért van jelentősége, mert az optimális módszer a szórás görbe alakjától függ. (A saját programomat használtam a dolgozatomban, ill. [7]-ben bemutatott laboratóriumi SAXS görbék korrekciójára)

4 Eredmények

4.1 Multilamellás vezikulák anomális szórás formalizmusa

A makroszkopikusan nem-orientált lamellás rendszerek esetére bevezettem az anomális kisszögű szórás formalizmusát a vendégmolekulák (a rendszerhez relatíve kis mennyiségben adott molekulák) szerkezeti jellemzésére [1]. Általános esetben a tekintetbe vett rendszer szórás amplitúdóját két tagra lehet bontani: $A(q)=U(q)+[f'(E)+if''(E)]V(q)^{13}$, ahol $V(q)$ az ún. tiszta rezonáns tag, a rezonáns atom vagy ion parciális (individuális) elektronsűrűségének Fourier transzformáltja. Ez utóbbi a brómra vonatkozik a DPPC/DBP/víz rendszer esetében, illetve a Cu^{2+} ionra a DPPC/ CuCl_2 /víz rendszer esetében. A tekintetbe vett elem röntgen-abszorpciós élének közelében lévő három energián mérve a szórás görbék $V(q)$ meghatározható. A rezonáns atom elektronsűrűségét Gauss-függvények szuperpozíciójával írtam le. Ilyen módon a rendszer teljes szórásától elkülönítve tudtam analizálni a bróm atomok szórás járulékát a DPPC/DBP/víz rendszerben, amit az 1. ábrán mutatok be. A DPPC/ CuCl_2 /víz rendszer esetén az ASAXS görbék szimultán illesztését végeztem el, mert a Cu^{2+} ionok kis mennyisége nem tette lehetővé a $V(q)$ tag meghatározását.

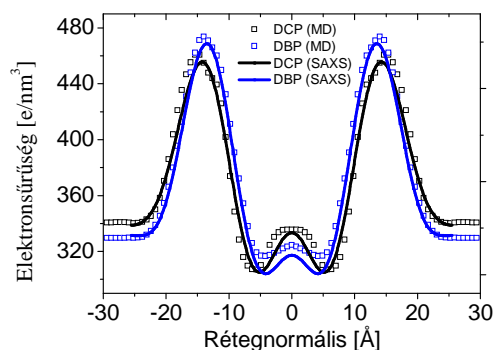


1. ábra: A DPPC/DBP/víz rendszer tiszta rezonáns görbéje. A betétábra a bróm atomok, a modellillesztés után nyert, rétegnormális menti eloszlását mutatja.

¹³ Itt a rezonáns elem atomi szórás faktora, $f = f_0 + f'(E) + if''(E)$, ahol f_0 az elem rendszáma, f' és f'' az elem energiafüggő anomális szórás faktora.

4.2 Szerkezetmódosító hatások a kettősrétegben: a halogénezett fenolszármazékok által kiváltott összefüzdött fázis szerkezete

Kis- és nagyszögű röntgenszórás, valamint molekuladinamikai számítások alapján megadtam a DCP és a DBP molekulák által a DPPC kettősrétegekben indukált „összefüzdött” („interdigitated”) fázis atomi szintű leírását [3,9]. A SAXS mérésekkel, valamint a szimulációval nyert, a kettősrétegek réteg-normálisának irányába eső elektronsűrűségeket összehasonlítva jó egyezést találunk, amit a 2. ábrán vehetünk szemügyre.

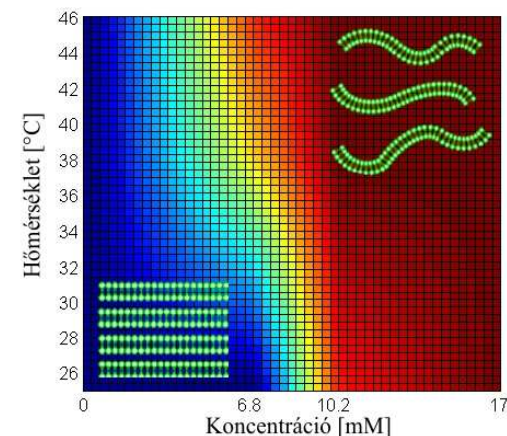


2. ábra: A DPPC/halogénezett fenol/víz rendszerek elektronsűrűség profiljai (MD: szimbólumok), SAXS mérések: folytonos vonalak)

4.3 Szerkezetmódosító hatások a kettősrétegek közti kölcsönhatásokban: a kétértékű fémionok hatása

Felismertem, hogy szétcsatolódás lép fel a DPPC/víz rendszer MLV rétegei között az elő-átmenet hőmérsékleti tartományában a rendszerhez mM koncentrációban adagolt CuCl_2 hatására [6]. A SAXS mérések mutatták meg, hogy az MLV rétegei közötti korreláció-csökkenéshez vezet a CuCl_2 növekvő mennyiségű hozzáadása. A szétcsatolódás alacsonyabb koncentrációnál lép fel a rétegek között, ha a mintát az elő-átmenet hőmérséklete fölé melegítjük. A rendszer SAXS mérések alapján készített fázisdiagramját a 3. ábrán mutatom be. A szétcsatolódást a hullámos gél fázis felületi modulációjából származó elektrosztatikus taszítással magyaráztam. A leírt effektus és annak

magyarázata új megközelítést jelent a szétcsatolódási jelenségek körében, hiszen eddig csak a termikus fluktuációkból származó sztérikus taszítás került tárgyalásra a jelenségek magyarázata során. A dolgozatomban bemutatom, hogy a szétcsatolódás az elektrosztatikus kölcsönhatások változtatásával szintén előidézhető.



3. ábra: A DPPC/ CuCl_2 rendszer fázisdiagramja a SAXS mérések alapján. A színskála a szétcsatolódás mértékét jelöli.

SAXS és ASAXS módszerek segítségével meghatároztam a fémionok lokalizációját. Megállapítottam, hogy a Cu^{2+} ionok a foszfolipid kettősrétegek fejcsoport-régiójában helyezkednek el. A fémionok ezen, térben heterogén eloszlásán alapul a MLV rendszerekben történő nanorészecske-előállítás.

4.4 Sztérikus stabilizált liposzómák szerkezetének jellemzése

A sztérikus stabilizált vezikulák kisszögű szórásgörbéjének modellillesztésével kísérletileg kimutattam a polietilén-glikol (PEG) láncok aszimmetrikus elhelyezkedését a kettősréteg két oldalán (4. ábra). A kapott eredmények alapján ez az aszimmetria nagyobb, mint amit elméleti munkák jósolnak, melynek oka, hogy azok nem veszik figyelembe az egyes lipidek különböző kémiai sajátosságait. Modellillesztésre alapozva a PEG láncok megoszlási hányadára a belső illetve külső monorétegek között 0.24:0.76 értéket kaptam.