

Liposzómák vizsgálatának egyes fizikai módszerei:

Röntgenszórás

ea: Bóta Attila,
Természettudományi Kutatóközpont
Eötvös Loránd Kutatási Hálózat (ELKH-TTK)
Biológiai Nanokémia Kutatócsoport



SE, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, előadás

Budapest, 2026. 03. 19.

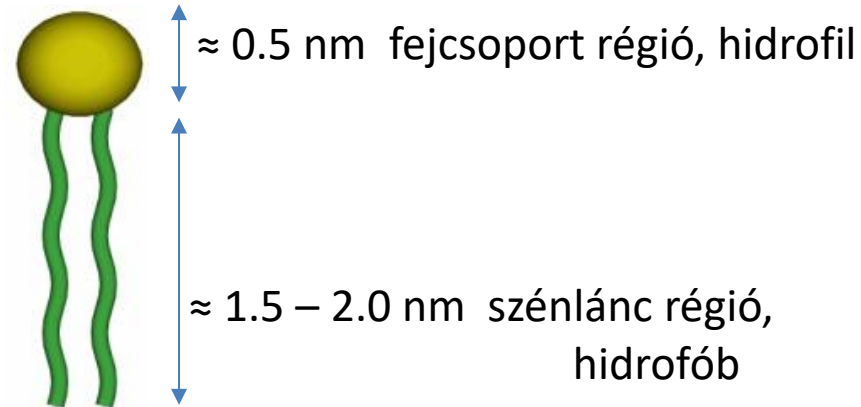
MODELLMEMBRÁNOK (LIPOSZÓMÁK) ORVOSI, GYÓGYSZERÉSZI ALKALMAZÁSA

Liposzómák (vezikulák) szerkezete

A következőkben a liposzómák (vezikulák) szerkezetvizsgálatáról lesz szó. Ehhez számba kell vennünk e rendszerek szerkezeti tulajdonságait. Elsősorban az alkotó szerkezeti elemeket, azok kiterjedését kell figyelembe vennünk. A karakterisztikus értékek megszabják, hogy a hierarchikus módon felépülő végső formáknak milyen további távolság jellegű karakterisztikus paraméterei (pl. ismétlődési távolság) vannak.

Az előző előadásokban elhangzott, hogy a vezikulák építőelemei az amfipatikus kémiai tulajdonságú lipidek. Liposzómákat a sejtmembránokhoz való hasonlatosság (**biokompatibilitás**) elérése céljából olyan lipidekből készítene, amelyek a sejtmembránokban tipikusak. Ezek alapján a liposzómák leggyakoribb lipidjei a foszfolipidek.

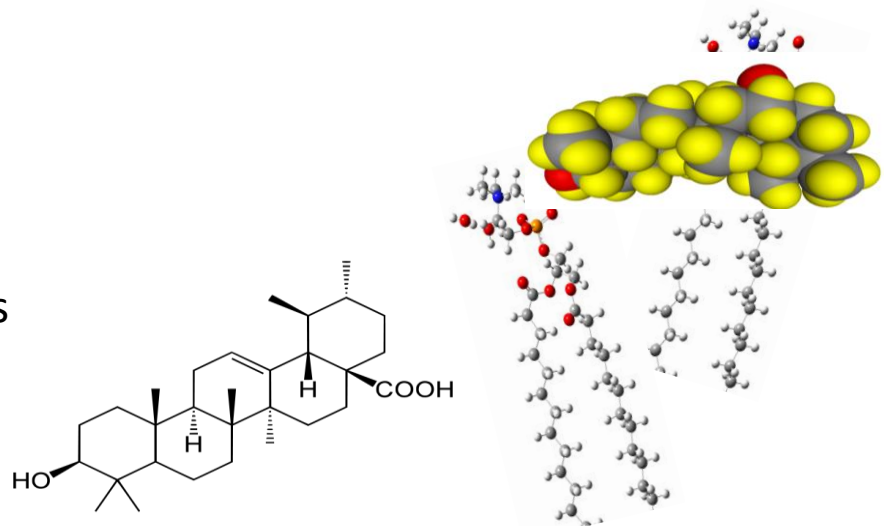
Pl. egy tipikus foszfolipid közelítőleg rúd alakú. Ennek következménye, hogy az amfipatikus molekulák sokasága kettős-rétegű legyen. Kifelé mutató hidofil fej, a vizes közeggel érintkezik. A kettős lipidréteg önmagával záródik és egy többékevésbé gömbhéjszerű réteget (ami egy, angol rövidítéssel, ULV vagy ULL= unilamellar vesicle/liposome = egyrétegű vezikula/liposzóma) hoz létre, ezáltal a szénlánc régió nem érintkezik vízzel. A kettősréteg elasztikussága szabja meg, hogy mekkora lesz a gömhéj sugara. A liposzóma átmérője sokszorosa a kettősréteg vastagságának.



A liposzómák lipidjei nem merevek, azok atomjai hőmozgást végeznek. Tehát az atomi távolság-skálán nem beszélhetünk szigorú rendről. Ebben a méretdimenzióban információhoz leginkább az infravörös (IR) spektroszkópia módszerével nyerünk információt. Pl. a különböző funkciós csoportok állapotában bekövetkező változásokról.

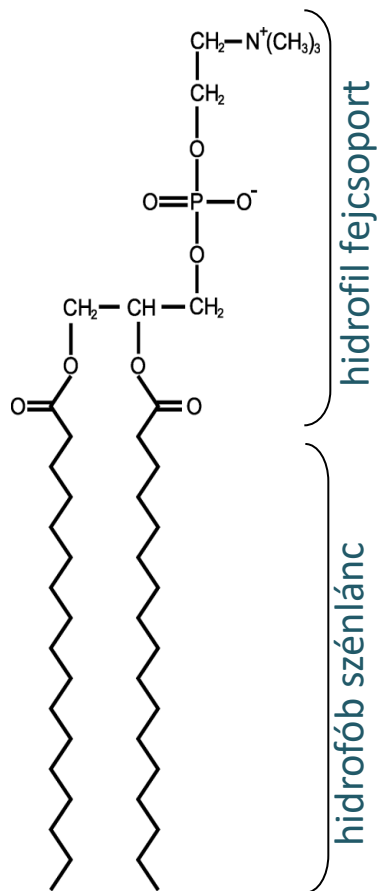
A liposzómák készítésénél további „adalékokat” kell felhasználni. A fő lipid komponens („gazda” = „host” lipid) mellé kevert koleszterinnel a liposzóma hőmérsékletfüggő sajátságait lehet előnyösen befolyásolni, míg a további lipidet tartalmazó nagymolekulák (a lipidhez kovalensen kapcsolt 500 – 5000 Da moltömegű PEG lánc) a liposzóma stabilitását és a véráramban való hosszabb idejű keringését, az immunrendszerrel szembeni „álcázását” biztosítják. Az adalékokat „vendég” („guest”) molekuláknak hívju. A „vendég” molekulák liposzómán belüli elhelyezkedését az IR spektroszkópiával hatékonyan tudjuk vizsgálni, mert a „vendég” molekulák lokalizációjánál, a „gazda” lipid adott funkciós csoportjánál találunk kölcsönhatást > eltolódást az IR rezgési sávban.

Az ábrán egy gyógyhatású molekula (urzolsav= egy triterpén származék), amely vízben nem oldódik, a dipalmitoil-foszfatidil-kolin (DPPC) lipidhez való kötődését láthatjuk. A kötődés „pontjait” az IR módszerrel azonosított funkciós csoportok rezgési sávjaiban történő eltolódás alapján tudjuk azonosítani.

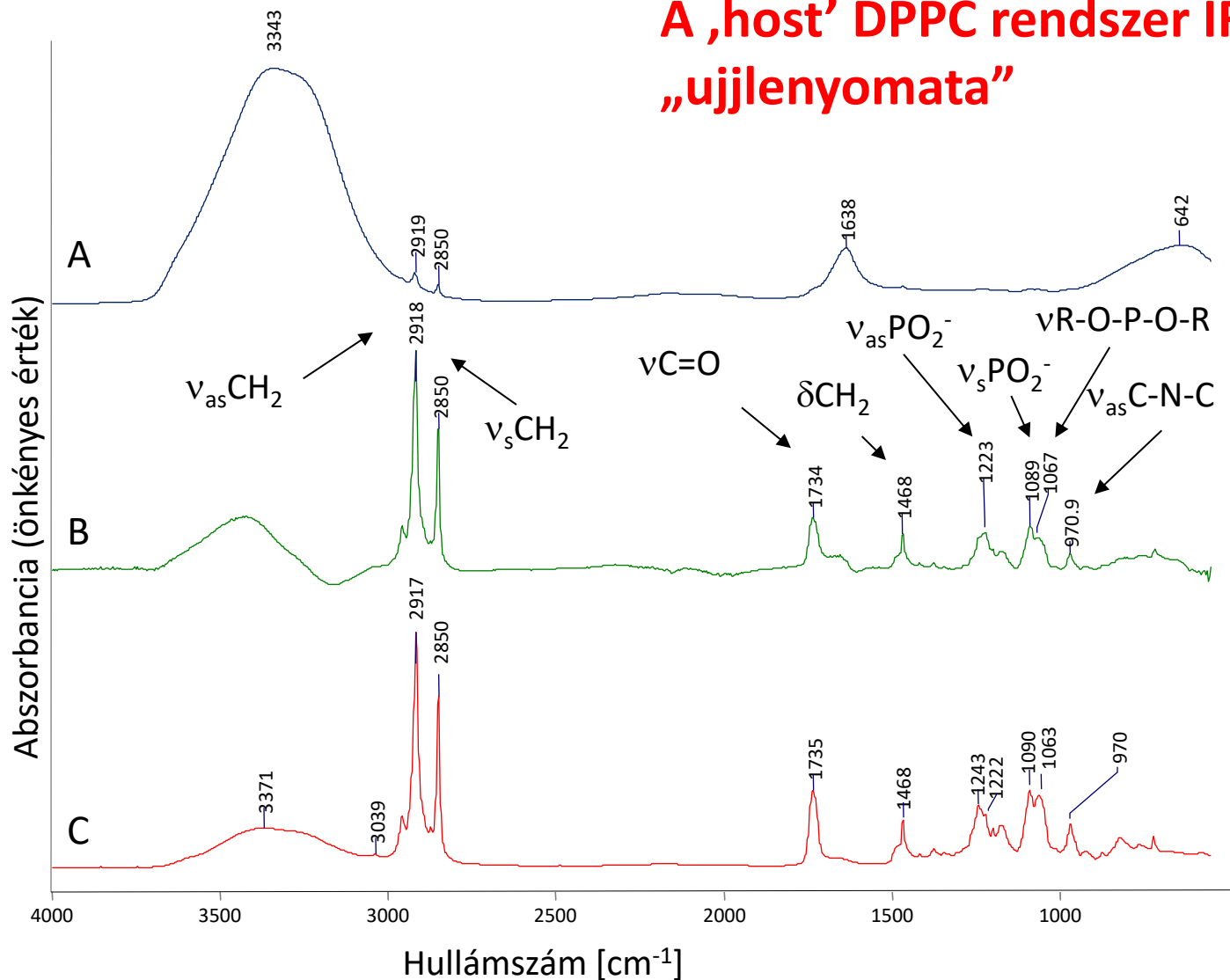


DPPC (1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine)/víz rendszer

IR rezgési sávjai

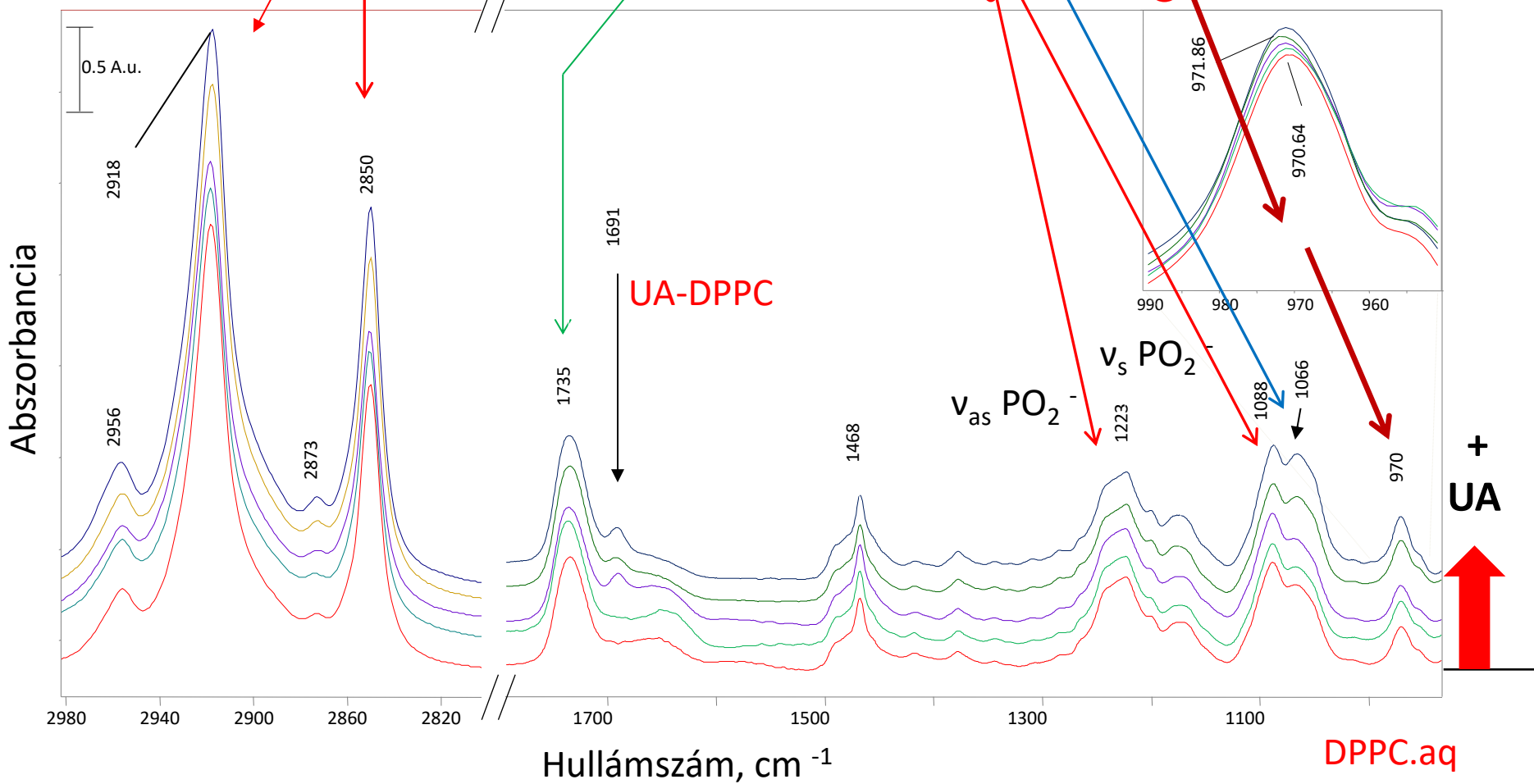
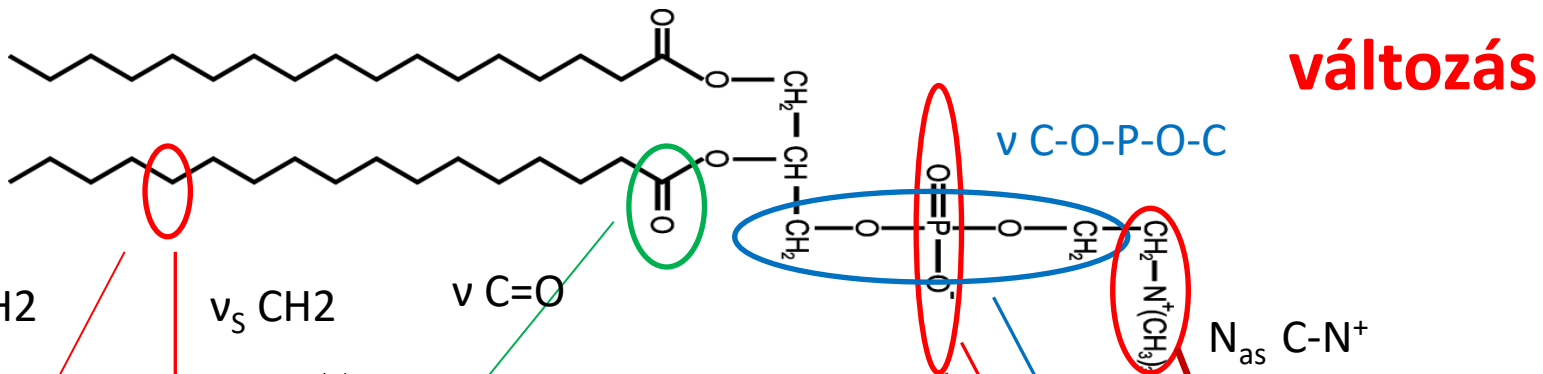


A „host” DPPC rendszer IR „ujjlenyomata”



A: DPPC/víz szuszpenzió (20m/m%); B: vízháttér levonása után; C: szárazfilm-spektrum

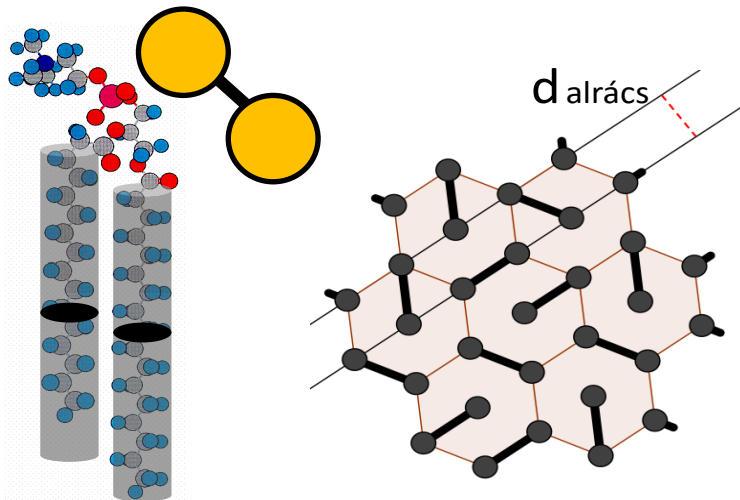
IR eredmények, (*hidratált DPPC-Urzsav rendszer, 20 m%, $n_{UA}/n_{DPPC}=0; 0,01; 0,1; 0,2; 0,3$*)



Az IR kitérő után térjünk vissza a liposzómák szerkezeti jellemzőinek tárgyalására!

A lipid molekulák, mint rudacskák egymás mellett állva (a kémiai karakterben hasonló részek egymás mellett) létrehozzák a rétegszerkezetet (gondoljunk a gyufaszálakra, amelyeket összefogva az asztal lapjára állítottunk fel! Avval a trükkkel megtoldva, hogy egy-egy drótcskával a gyufaszálakat párosítjuk, hiszen a lipidben is két szénlánc van.) A következő ábrán ezt az elrendezést láthatjuk:

Felülről a lipidek síkjára nézve, a két sárga pötty szimbolizál két szénláncot, az összekötő drótcska a glicerin vázat (a glicerin harmadik szénatomjának „OH”-járól kiindulva hajlik el a poláros fejcsoport)

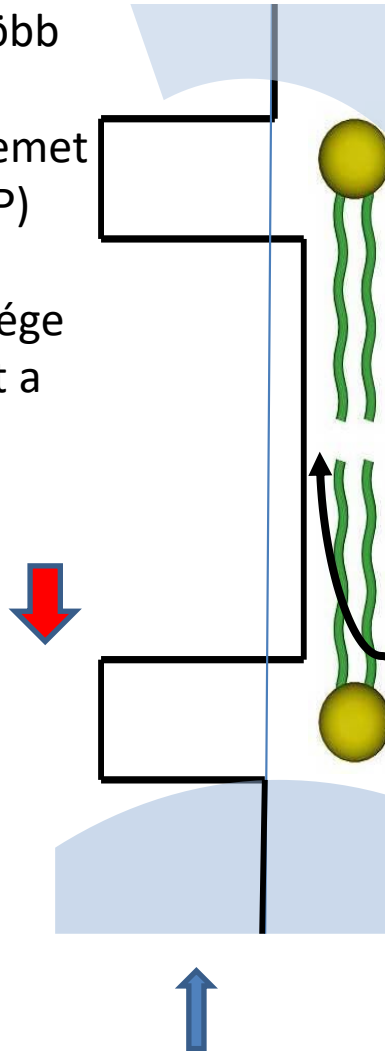


egy lipid,
amelynek
két
szénlánc
van

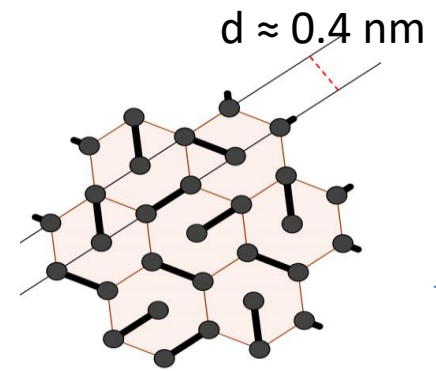
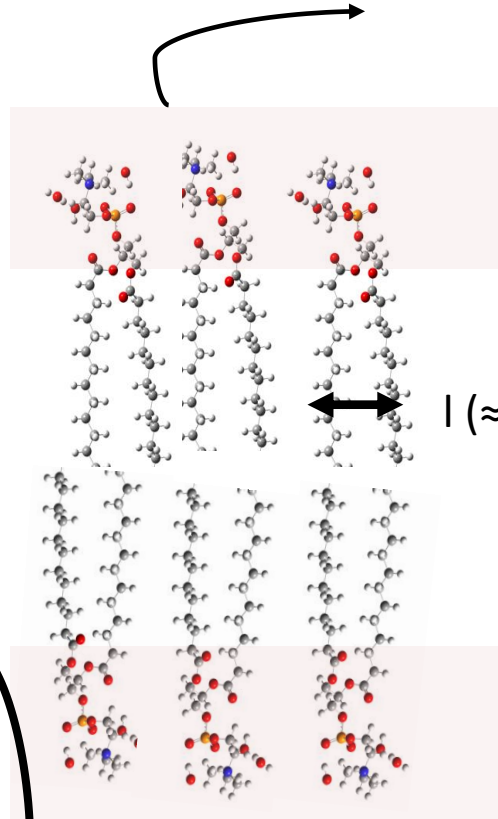
4 – 5 Å távolságban láthatjuk a szénláncok „pakolódásának” szabályos hexagonális rácsát. Az összefogott gyufaszálak kötege is hexagonális formában rendeződik. Egy-egy lipidet a drótcskával összefogott két-két szénlánc szimbolizálja.

A kettősréteg belső szerkezete

a fejcsoport több nagyobb rendszámú elemet tartalmaz (N, P) ezért elektronsűrűsége nagyobb, mint a vízé



felülnézet:



0.5 nm

3-4 nm

0.5 nm

a szénlánc régiójában c, H atomok vannak, következésképpen a régió elektronsűrűsége kisebb, mint a vízé.

a közeg (víz) átlagos elektronsűrűsége:

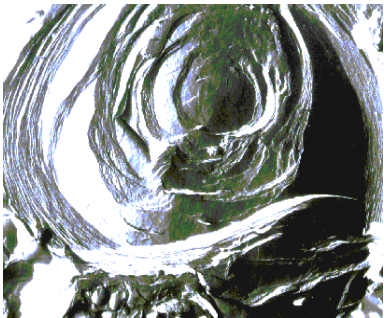
$$\begin{aligned} \text{sűrűség} &= 1 \text{ g/cm}^3 > 1/18 \text{ mol/cm}^3 > (1/18) 6 \cdot 10^{23} (8+2) \text{ elektron/cm}^3 = \\ &= (6/18) \cdot 10^{24} \text{ elektron}/(10^{21}) \text{ nm}^3 = 333 \text{ elektron}/\text{nm}^3 \end{aligned}$$

A liposzóma egésze

Fosfolipidet vízzel elegyítve spontán módon multilamellás, többé-kevésbé gömbalakú formák alakulnak ki. Ha megfelelő adalékkal, megfelelő preparálási technika alkalmazásával (ultrahang, extruder) szintén gömbalakú, unilamellás (egyrétegű, ami egyszeres kettősréteget jelent) forma képződik. A liposzómák mérete (függetlenül attól, hogy uni- vagy multilamellárisak) polidiszperz jellegű és a méret a 100 nm-es értéktől a néhány mikrométeres értékig terjed.

Az unilamellás formának van kiemelten nagy jelentősége (biológiai és orvosi felhasználás).

A multilamellás forma a **kettősréteg lipid** és a **vízréteg (vastagsága 1-2 nm)** szabályos ismétlődésével alakul ki, amelyet közvetlen módon a fagyasztatással előkészített elektronmikroszkópos felvételek bizonyítanak

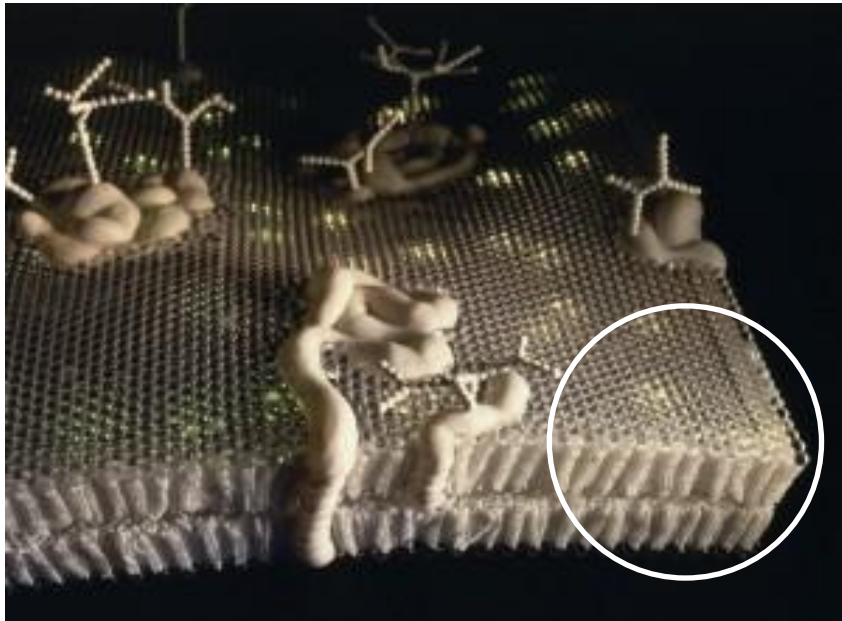


A fényképen megfigyelhető a „hagymahéj-szerű” rétegszerkezet. A multilamellás nagyméretű ($\sim 5 \mu\text{m}$ átmérőjű) vezikula sok száz kettősrétegből áll.)



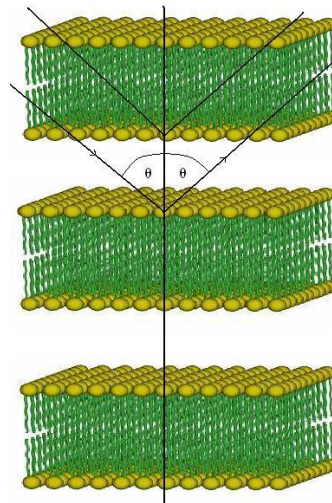
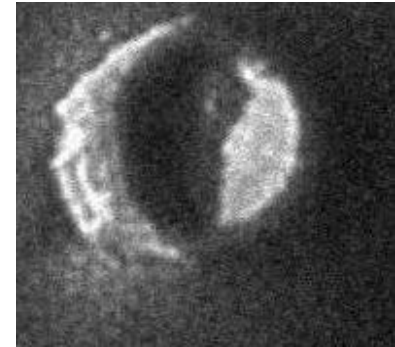
A fénykép egy $\sim 100 \text{ nm}$ átmérőjű áttört egyrétegű vezikulát mutat. (A kép szemcsés jellege a módszer jellegéből adódik és nem a minta sajátja.)

Sejtmembrán modell: vezikula (liposzóma)



Kettétört egyrétegű vezikula

D= 80 nm



D= 12 μ m



Sokrétegű vezikula/liposzóma

Összefoglalva az eddigieket, a liposzómák gömbszimmetrikus, réteges felépítésű alakzatok. A lipid kettősréteg vastagsága 4 – 5 nm. A kettősréteg lipid héjak és vízrétegek váltakozásával 5 – 7 nm vastagságú hidratált réteg szabályos gömbszimmetrikus rétegrácsa alakul ki. A liposzómák egészének kiterjedése hozzávetőlegesen a 100 nm és a 5 μm tartományba esik.

A lipidek rétegében horizontális (helyesebben mondva a görbült rétegsíokban haladva) a lipidek szénláncainak hexagonális pakolódását figyelhetjük meg. (a szomszédos szénláncok távolsága közelítőleg 0.5 nm).

Következésképpen a liposzómák szerkezeti sajátosságai nagyon széles méretskálán jelentkeznek. **A röntgenszórás/röntgendiffrakció módszere képes ezt a 4 – 5 nagyságrendet átfogni.**

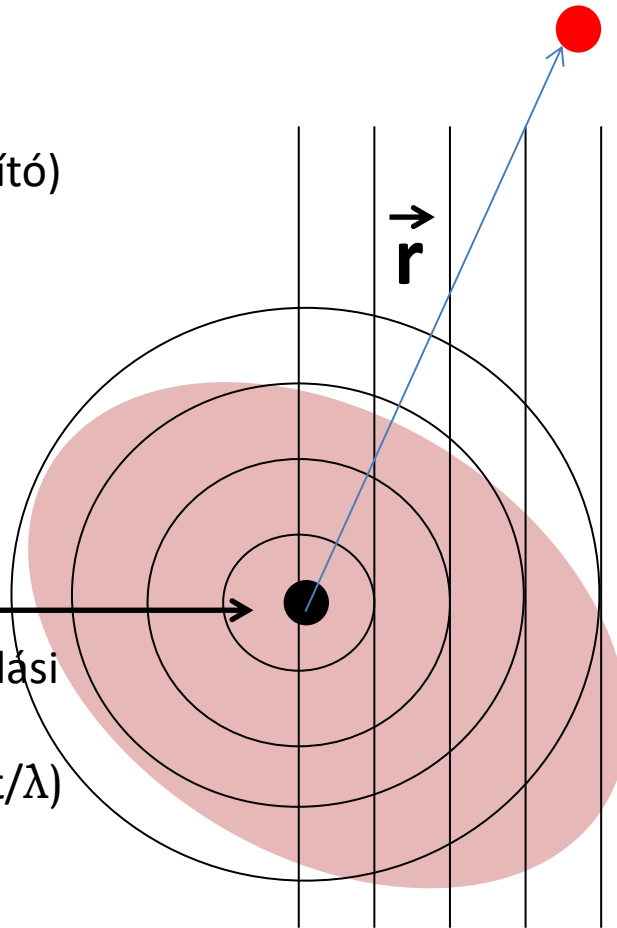
Ez nem két technikát(módszert) takar, hanem a szórás általános (gondoljunk a fényszórásra) , míg a diffrakció speciális (periodikusan rendezett objektumon fellépő szórásra) utal.

a röntgensugárzás(=elektromágneses fény) szórása

érkező (megvilágító) síkhullám

\vec{k}_0

\vec{k}_0 (más jelöléssel \vec{Q}_0): a haladási irányba mutató hullámvektor (amelynek abszolút értéke $2\pi/\lambda$)



a minta egy pontjától r (távolságba és irányba eső) pontján a megfigyelt szórás amplitúdó (két részből áll): az áthaladt (kölsönhatásmentes) síkhullám és a szóródott gömbhullám amplitúdójának összege (a megfigyelési pont a detektor egy eleme)

$$A(r) =$$

$$A_0 \exp(ikr)$$

+

$$b/r A_0 \exp(ikr)$$

„b” egy általános faktor, ami a szórásnál fellépő kölcsönhatást jellemzi

\vec{k}, \vec{k}_0 hullámszámvektor ($|k|=2\pi/\lambda$), iránya azonos a hullám terjedési irányával
 b , „szórási képesség”, = szórási hossz,
> szórási sűrűség fg.

Általános tudnivalók: az elektromágneses fény töltött részecskéken szóródik (van kölcsönhatás). Anyagaink esetében proton és elektron. A proton ca. 2000-szeres tömege folytán, a protonon fellépő szórás amplitudója $1/2000$, tehát az elektronhoz képest elhanyagolható.

A röntgenfény az atomok elektronjain szóródik. Az atomok szórási amplitúdójának nagysága az elektronszámmal, a rendszámmal arányos.

A szórási intenzitás (energia) a szórási amplitúdó négyzetével egyenlő.

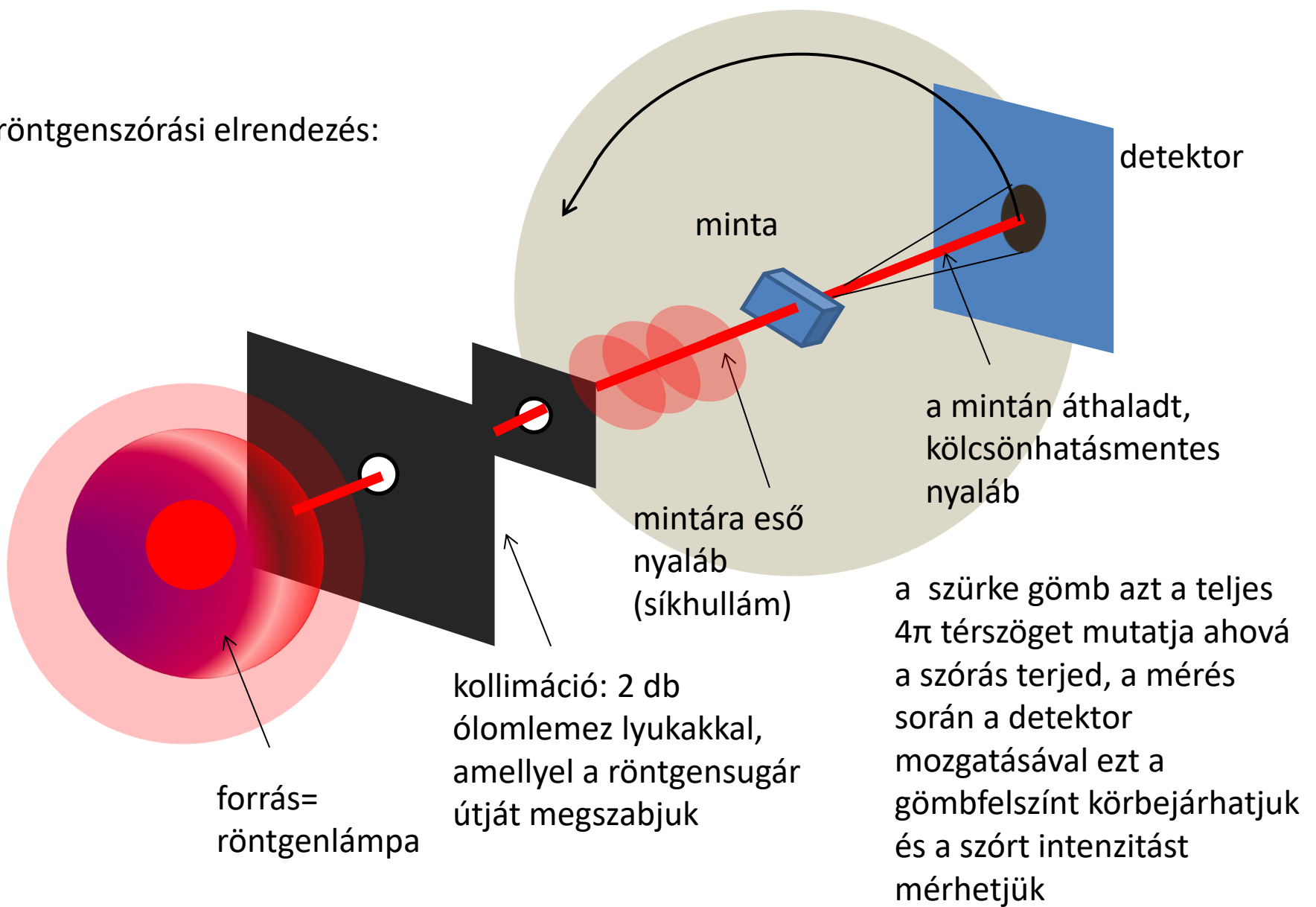
A minta különböző pontjairól szórt sugárzások (gömbhullámok, ezeket egyenként minden szórási pontra értelmezve) különböző amplitúdóval érkeznek a detektor egy elemébe, ott összeadódnak (nincs energiavesztés, következésképpen a szóródott nyaláb hullámhossza ugyanannyi, mint a beérkezőé). Az eredő amplitúdó (=az amplitúdók összegének értéke) négyzete a detektor adott elemébe érkező szórási intenzitás.

A detektor elemeinek összeségébe érkezett intenzitást eloszlás szórási mintázatnak (x-ray scattering pattern) nevezzük. A szórási intenzitás eloszlás (mintázata) és a minta szerkezete között szoros (de nem egyértelmű) összefüggés van.

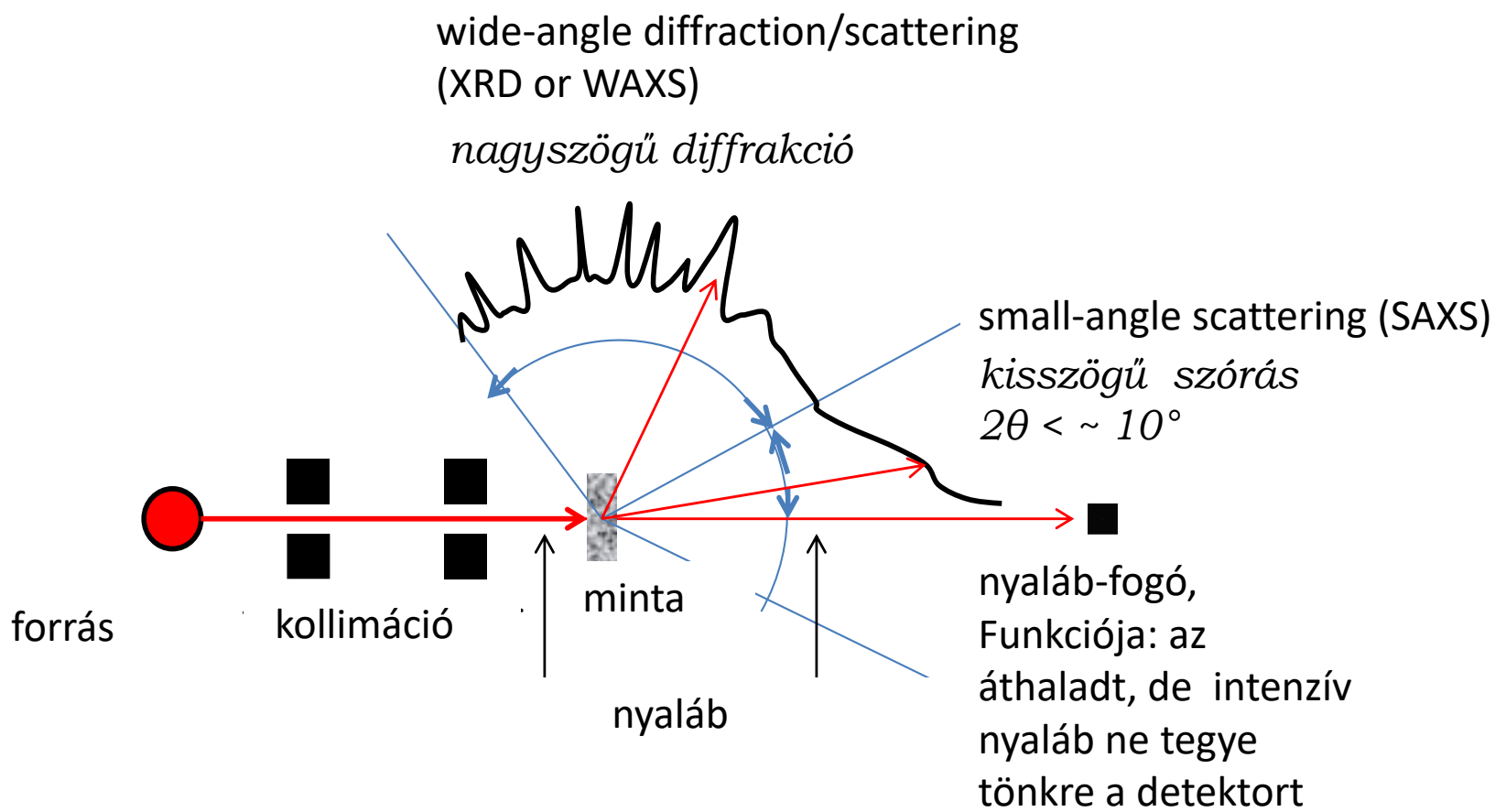
A minta és a közeg elektronsűrűségeinek különböznie kell lenni ahhoz, hogy a szórási kép (szórási, vagy diffrakciós mintázat) megjelenjen. (megj.:A mintában mindig van elektronsűrűség különbség (=kontraszt), mert az elektronok az atomok gömbalakú elektronhéjában helyezkednek el és az atomok között „üres” tér van.)

A bevezető után nézzük meg, hogy hogyan is néz ki egy röntgen apparátus?

A röntgenszórási elrendezés:



Az előbbi elrendezés síkban ábrázolva



Praktikus (készüléképítési) okok miatt az áthaladt primér nyaláb közelében, a kis szórási szögek tartományában mért szórást (diffrakciót) külön megnevezéssel (=kisszögű szórás/diffrakció) illetik

A detektor mozgásával tapasztaljuk, hogy a szürke gömbfelület egy – egy elemébe eső szórt sugárzás változik. A mintázat változik, ha a mintát cseréljük.

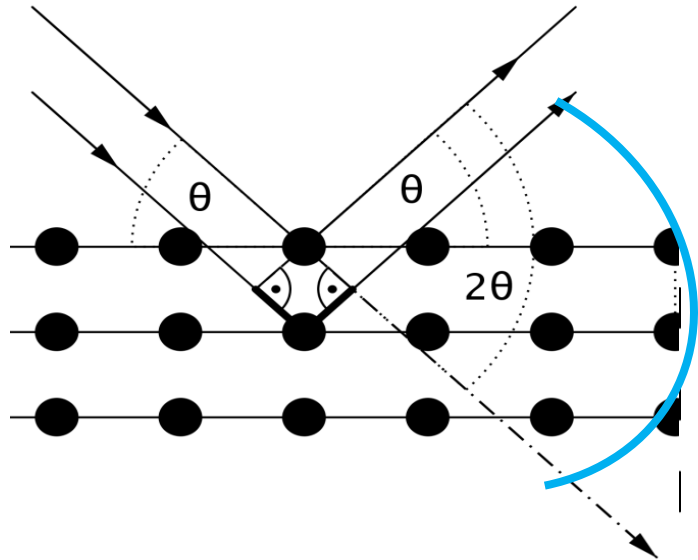
Hogyan lehet az intenzitás eloszlásából (szórési mintázatából) a minta szerkezetére következtetni?

Mindenek előtt idézzük a jól ismert Bragg egyenletet, amely a kristályos anyagoknál mérhető, a diffrakciós csúcsok szórési szög alapján mért pozíciója és a kristálysíkok értéke közötti összefüggésen alapul.

A szerkezet és szórás közötti összefüggés alapja a hullámok konstruktív interferenciája, mely szerint azok a hullámok, amelyek között a fáziskülönbség hullámhossznyi (vagy annak egészszám sokszorososa), azok erősítik egymást (=összeadódnak).

Összefüggés a szórási szög és a periódicitás között: Bragg törvény

kristály atomi ráccsal, ahol a periódus tipikusan 0.1 – 0.3 nm (1 – 3 Å).

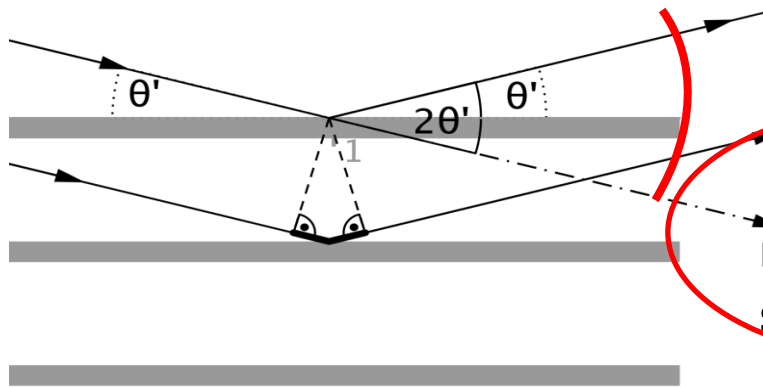


$$n\lambda = 2d \sin(\Theta)$$

n, pozitív egész szám

d, periódus hossz, rácssík távolság

Θ , a szórási szög fele, az ún. Bragg szög



Nézzük meg ennek megfelelőjét, nanorétegek esetében **(multilamellás liposzóma , MLV !!!), ahol a periódicitás 1 – 10 (> 20) nm**

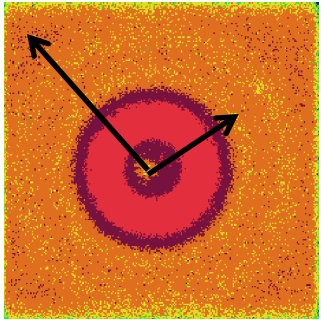
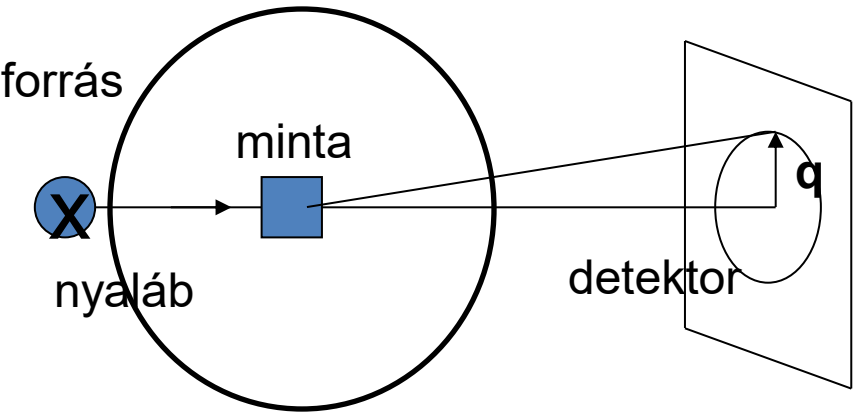
Látható, hogy mi a kisszögű szórás!

d(nm)	2 Θ (°)
0,1	100,4
1,0	8,8
10,0	0,88
100,0	0,088
(1000,0	0,0088
10000,0	0,0008)

Ultra, „nagyon kisszögű” szórás

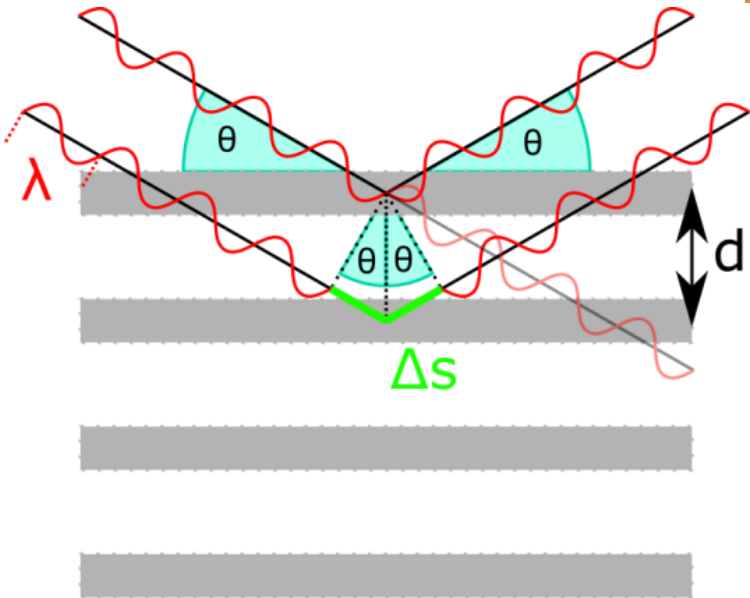


Kisszögű röntgenszórás/diffrakció (SAXS/SAXD)



2D szórási mintázat= Detektorkép

A röntgenszórás geometriája , elrendezés



$$\Delta s = n\lambda$$

feltétel : az úthossz különbség = hullámhossz egészszámú többszöröse

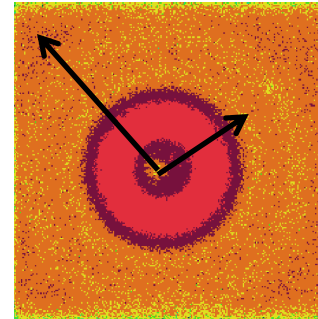
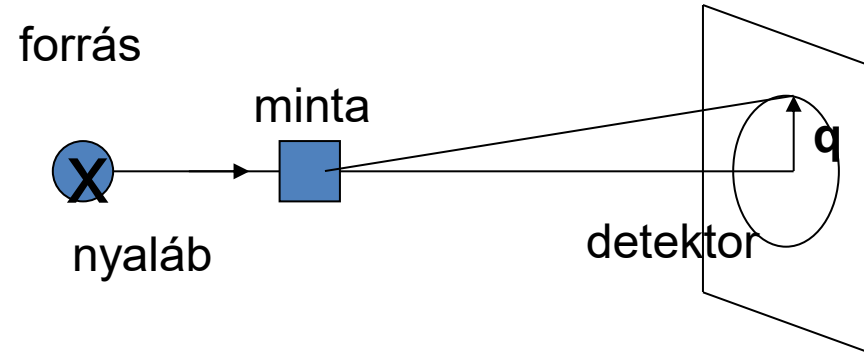
$$2 \cdot d \cdot \sin \theta = n\lambda$$

$$\frac{2}{\lambda} \cdot \sin \theta = \frac{1}{d} n = s$$

$$\frac{2 \cdot 2\pi}{\lambda} \cdot \sin \theta = \frac{2\pi}{d} n = q$$

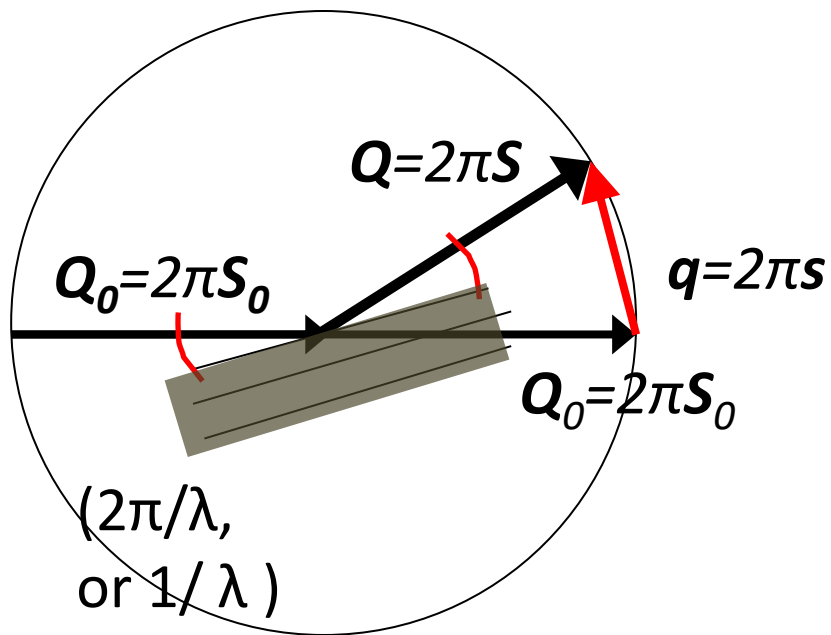
szórási változó

Kisszögű röntgenszórás (SAXS)



2D szórás mintázat=
Detektorkép
Itt láthatjuk, hogy a detektor középpontjától (0-ból) a q vektor különböző távolságokba és irányokba mutathat.

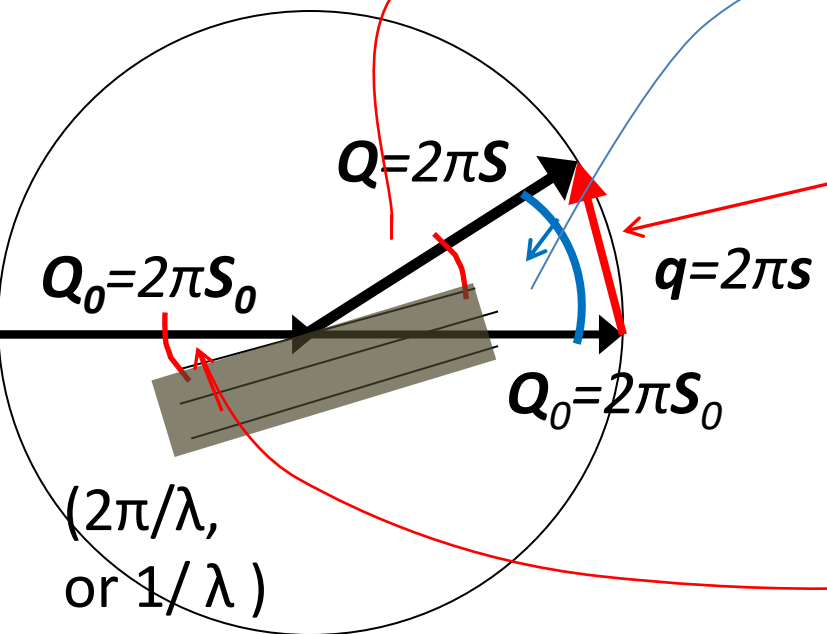
a „ $\Delta s/\lambda$ ” hányados jelentése > **fázis** !



A szórás geometria leírása körrel (gömbbel) (Ewald gömb): A kísérletek a különböző hullámhosszakra normáltak.

Az ábra alapján könnyen megérthetjük a szórás amplitúdó jelentését. A szórás amplitúdó abszolút értéke használatos a szórás problémák tárgyalásánál. (A szórás szöget és a hullámhosszat tartalmazza.)

Kisszögű röntgenszórás (SAXS)

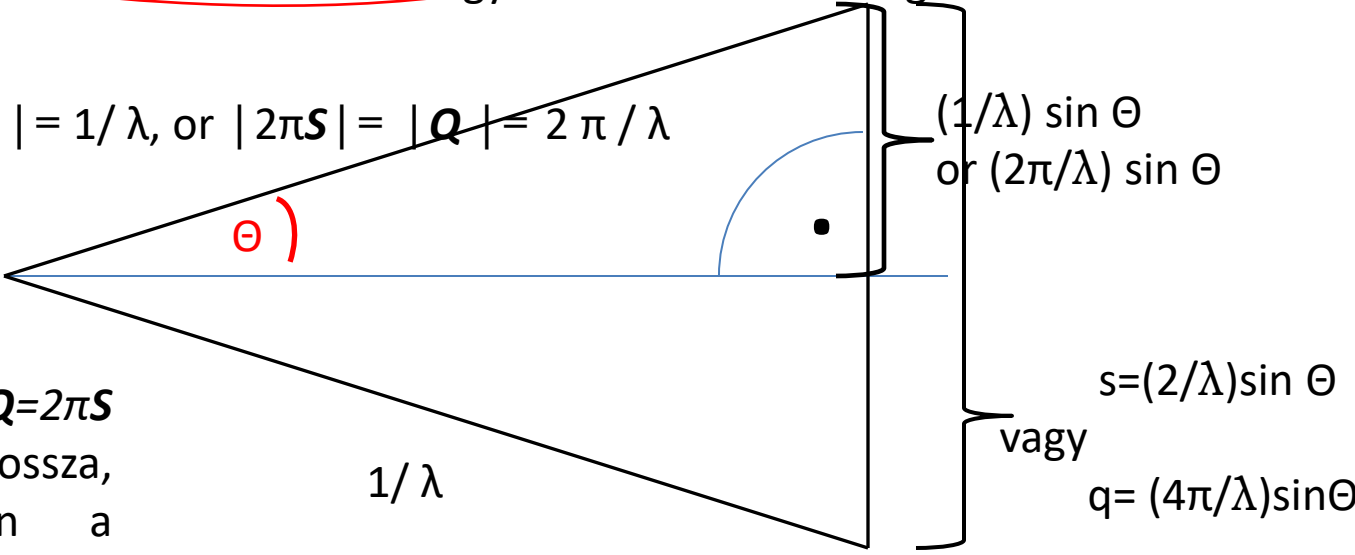


Mennyi a szórási változó abszolút értéke?

A szórt nyaláb iránya a beérkező nyaláb irányára vonatkoztatva 2Θ (kék) = 2Θ

Egyenlő szárú háromszög

$$|\mathbf{S}| = 1/\lambda, \text{ or } |2\pi\mathbf{S}| = |\mathbf{Q}| = 2\pi/\lambda$$



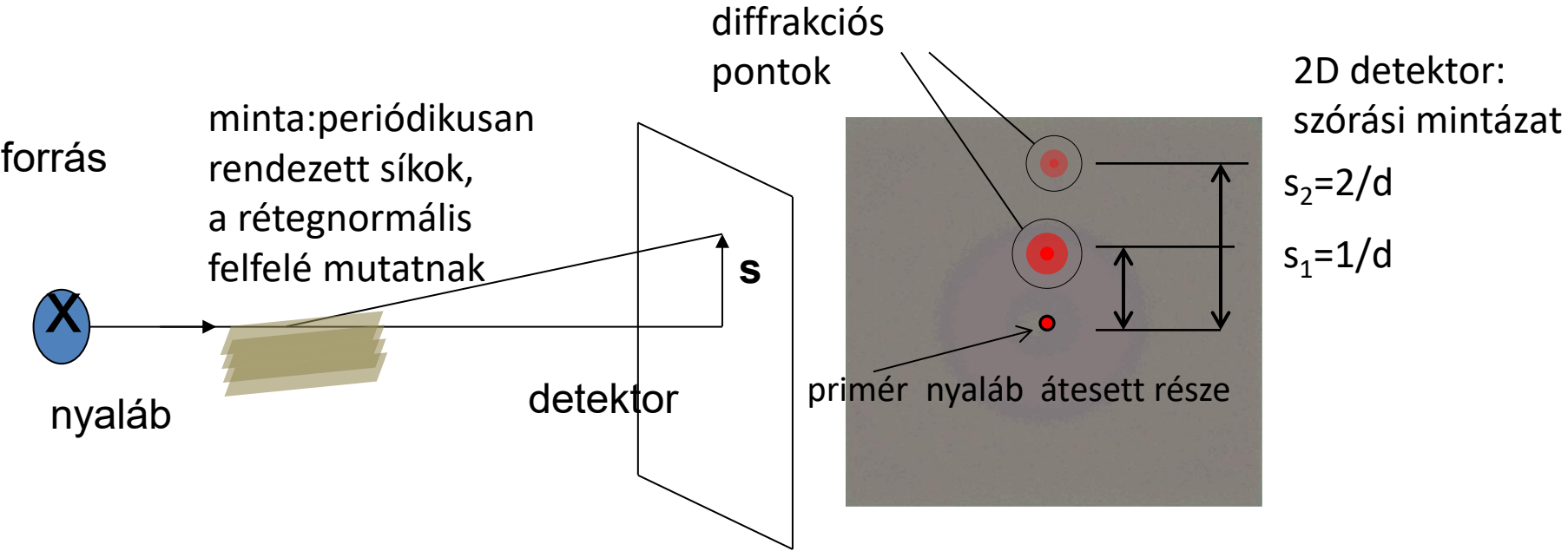
A $\mathbf{Q}_0 = 2\pi\mathbf{S}_0$ és a $\mathbf{Q} = 2\pi\mathbf{S}$ vektoroknak egyenlő a hossza, mert a szórás során a hullámhossz nem változik. A \mathbf{Q}_0 és \mathbf{Q} -k hossza rögzítve van: $1/\lambda$.

Kisszögű röntgendiffrakció (SAXS)

$$n\lambda = 2d \sin(\Theta) \text{ Bragg egyenlet}$$

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \Theta$$

$$q = \frac{2\pi}{d}$$



Az egykristály-diffrakció legegyszerűbb esete: nano-rétegrács

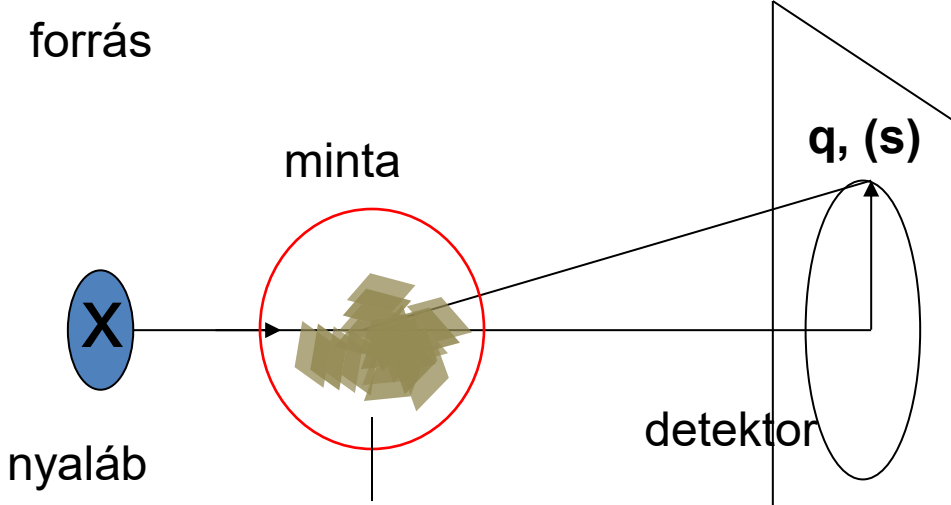
lamelláris szerkezet esetében a szórási mintázat egymástó egyenlő távolságban lévő pontokból áll

Kisszögű röntgendiffrakció

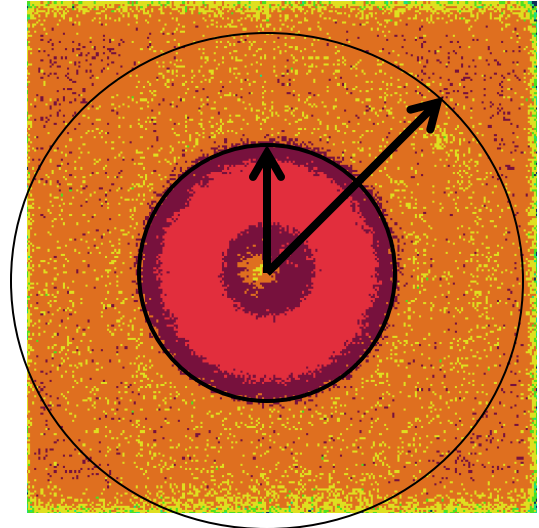
$n\lambda = 2d \sin(\Theta)$ Bragg egyenlet

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \Theta$$

$$q = \frac{2\pi}{d}$$



periódikusan rendezett síkok halmazának sokasága, az egyes kötegek rétegnormálisa a térben minden irányba mutat



Ez a pordiffrakció megfelelője a nanorendszerek kisszögű diffrakciója esetében. A diffrakciós gyűrűk Debye-Scherrer gyűrűkként ismereteseek.

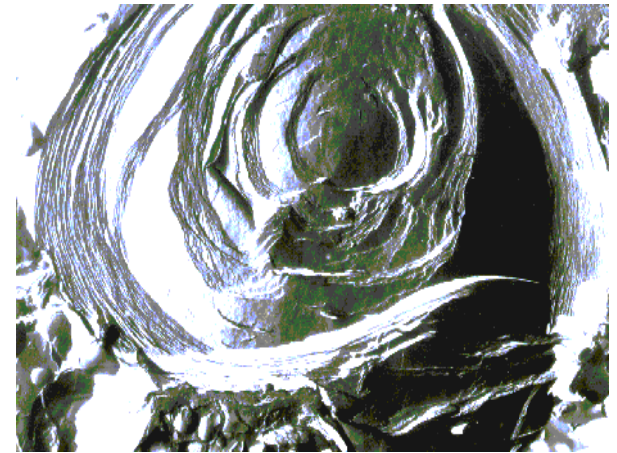
- A rétegnormális beállításnak két esete:
1. A rétegnormális forog körbe a 0°-tól 360°-ig, következésképpen, **q** szintén körbeforog > a pontok helyett a Bragg gyűrű alakul ki.
 2. A rétegnormális a Bragg szöghöz képest kisebb, vagy nagyobb, a diffrakciós feltétel megszűnik > nincs jel (A nyaláb a síkot a Bragg szögtől eltérő szögben éri.)

MLL liposzómák kisszögű röntgenszórása



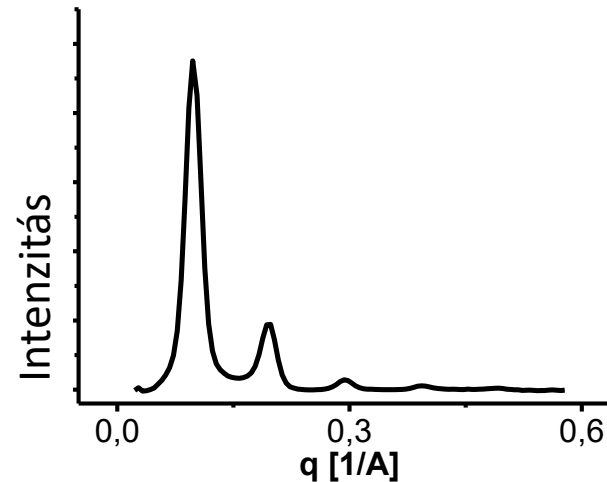
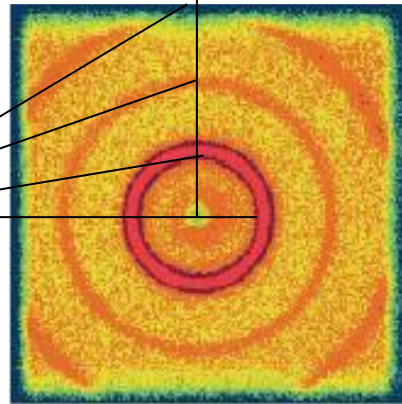
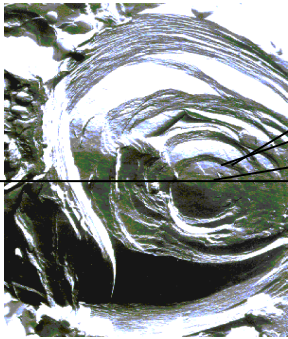
MLL/multilamellás liposzóma

N-szer
Ha kettősréteg vastagsága lényegesen kisebb, mint a liposzóma átmérője, a réteg síknak tekinthető.

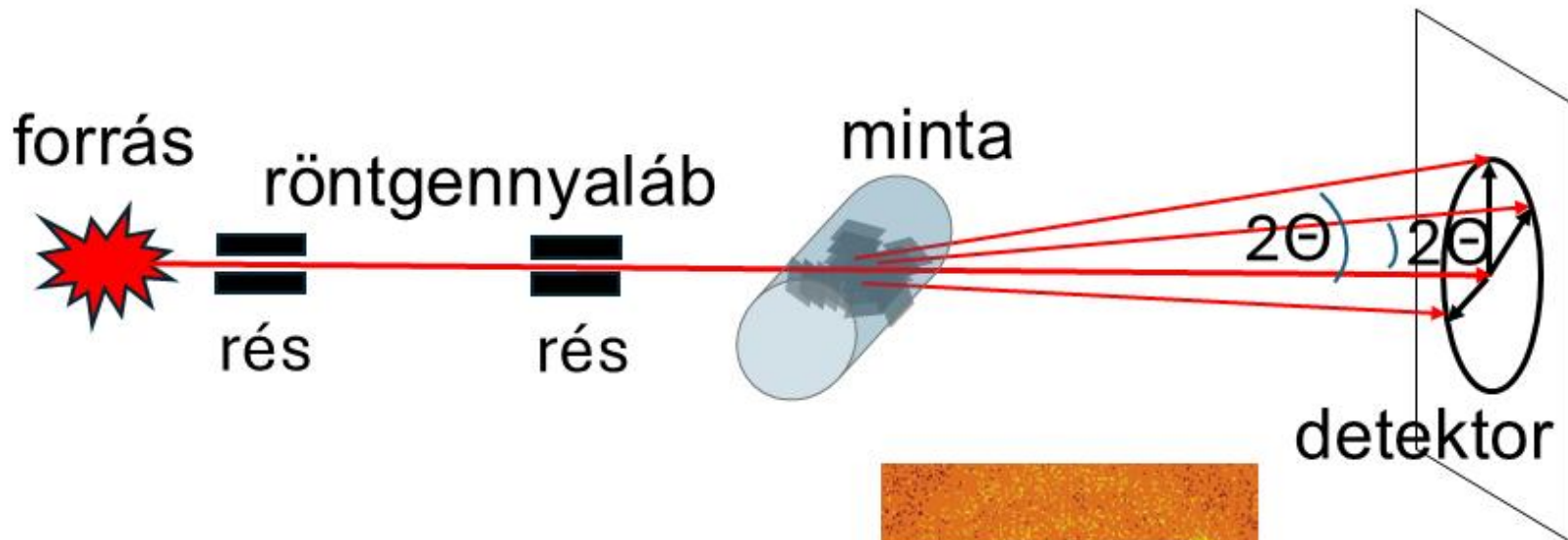


szórási változó nagysága, $q = (4\pi/\lambda) \sin \Theta$

MLL



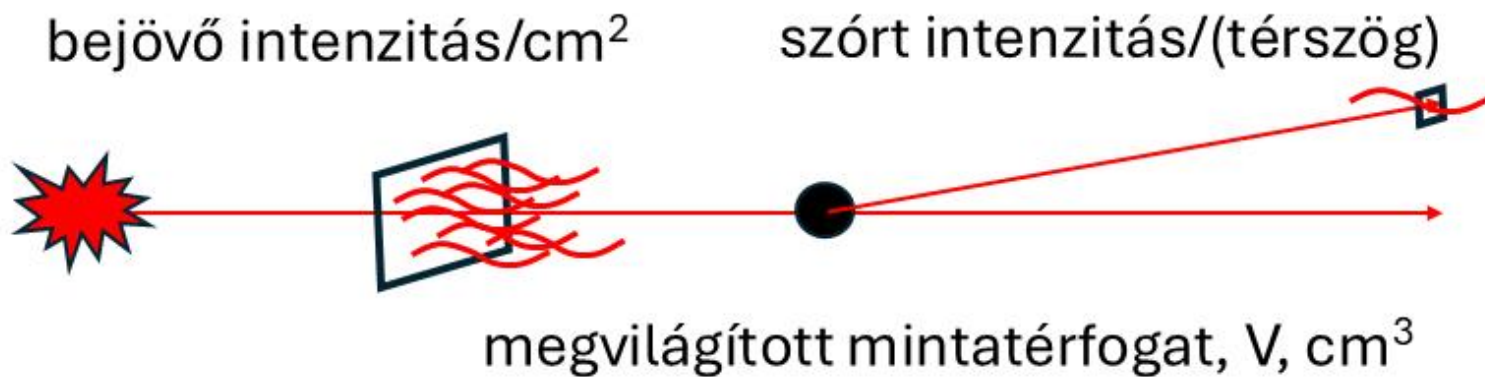
Ha a detektor „0” –pontjától a növekvő szórési szög (=a szórési változó abszolút értéke) mentén haladva, annak minden pontjaiban ábrázoljuk az intenzitást, akkor a szórési görbét nyerjük. Ha Bragg csúcsok is jelentkeznek, akkor a szórési görbét diffrakációs görbének nevezzük.



ezért a

$$\frac{4\pi}{\lambda} \sin \theta = q$$

$$d_{\text{periódus}} = \frac{2\pi}{q}$$



Számos esetben a multilamellás vezikulák helyett más, nanoszerkezeti formák keletkeznek

Ezeknek jelentősége abban áll, hogy valamilyen formulázási okból kívánunk nem lamelláris formákat preparálni, vagy kísérleti célból kívánjuk megvizsgálni, hogy az adott keverékben a lamellás szerkezet helyett tud-e más szerkezeti forma létrejönni. Sejtbiológiai oldalról, az aktív membránműködést jelentősen befolyásolják az ún. „nem kettősrétegű lipidek” amelyeknek lokális koncentrációja esetén nem a szabályos kettősrétegű lipidréteg, hanem valamilyen köbös, vagy hexagonális struktúra kezdeménye alakul ki. Ezeknek megjelenése és megszűnése dinamikus folyamat és számos membránhoz kötött komplex jelenség magyarázatául szolgálhat. Megfigyelésük nagy kihívást jelent a gyakorlatban. Az előzőekben említett röntgenszórási technikával csak akkor figyelhető meg, ha jelenlétük a minta egészére nézve legalább néhány %-ot elér.

A nem kettősréteg szerkezetek kialakulása olyan („nem kettősrétegű”) lipidekhez kötött, amelyek alakja eltér a hengeresétől, és inkább kúp, vagy csonkakúp alakúak.

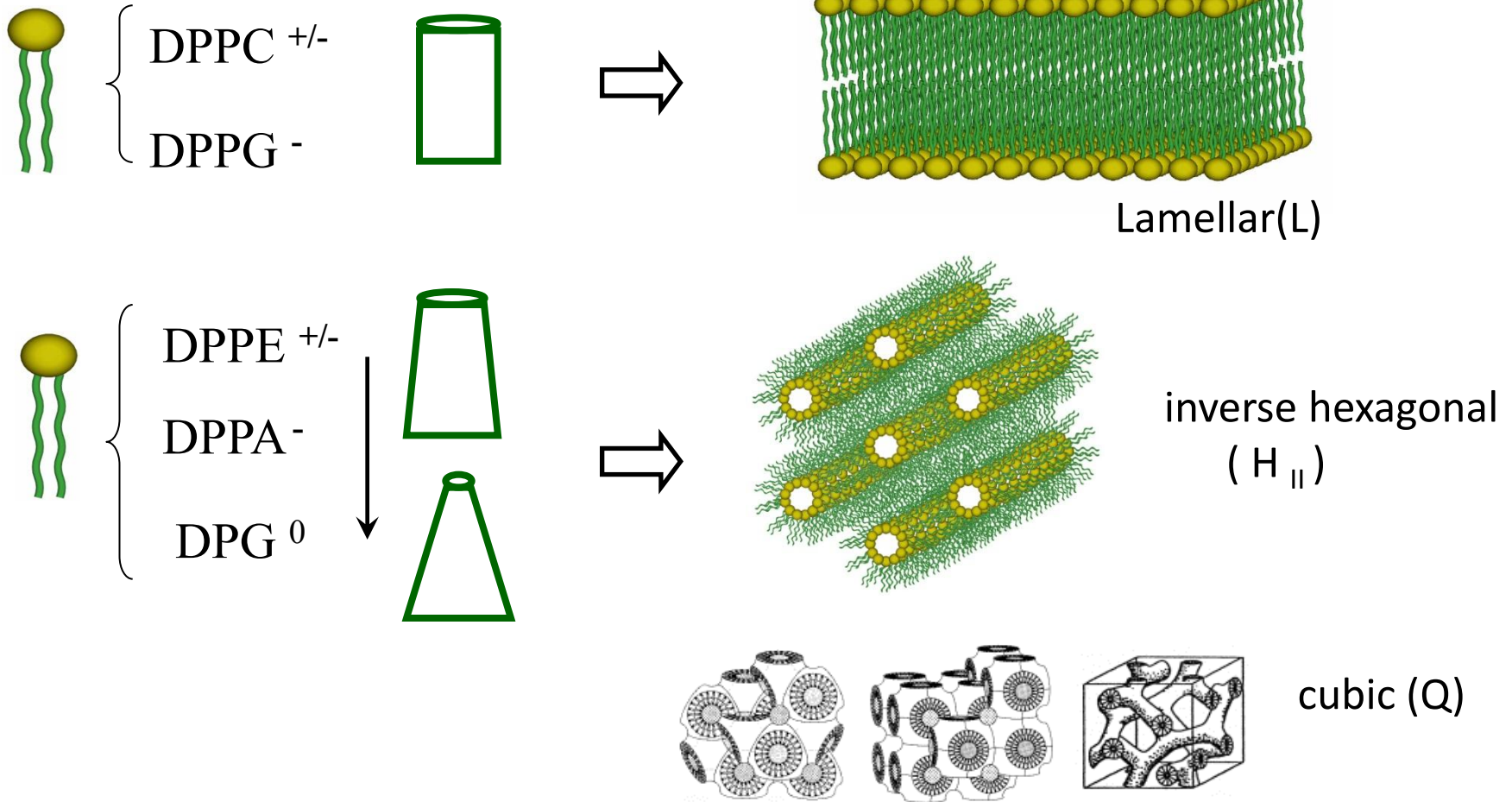
Továbbá bizonyos vendégmolekulák jelenlétében olyan vendégmolekula-lipid gazdamolekula asszociátumok alakulhatnak ki, amelyek szintén a hengertől eltérő alakhoz, és így nem kettősréteg struktúrák kialakulásához vezetnek.

Ennek bemutatására szolgál a következő ábra, a lipidek töltésének feltüntetésével.

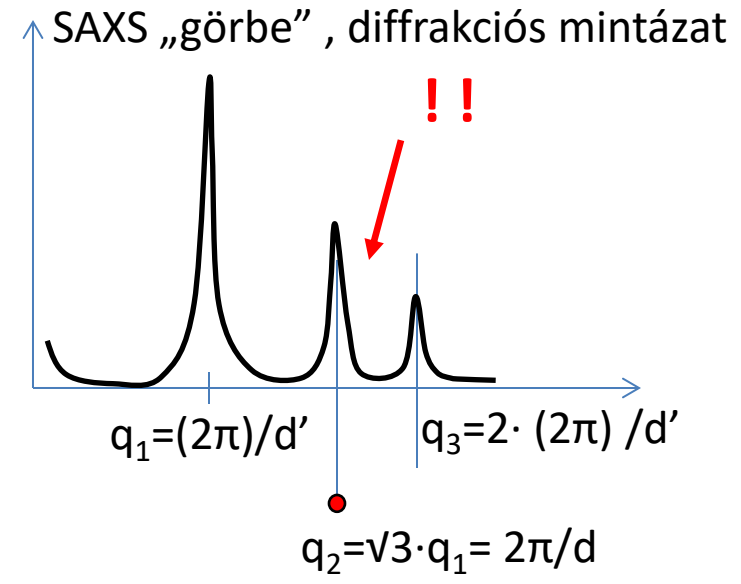
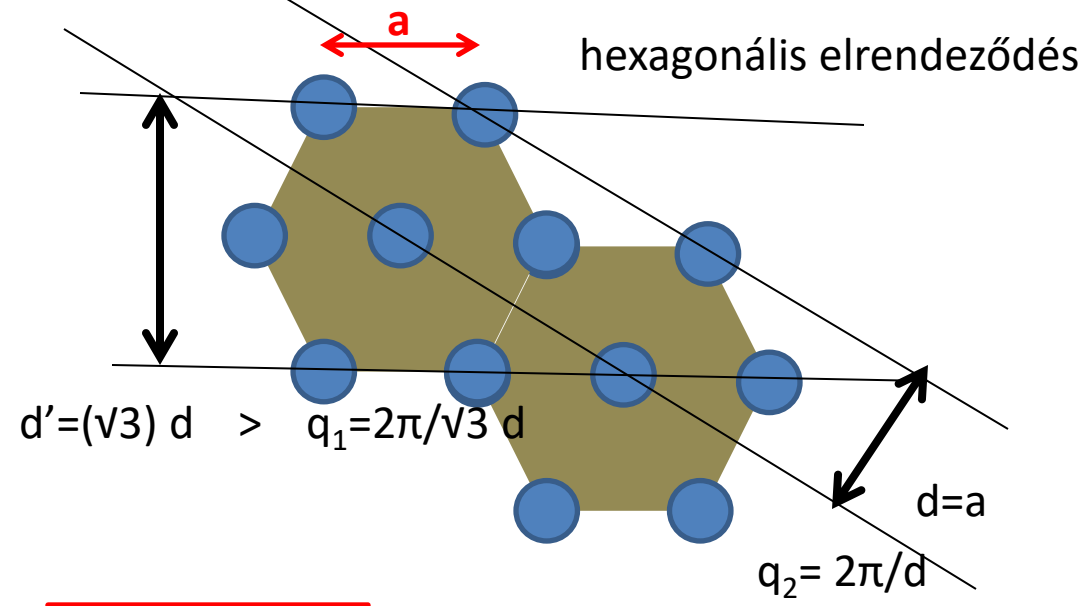
Ezt követően, egyszerű trigonometria felhasználásával, a jellemző rács-periódus ismeretében a várható kisszögű diffrakciós görbét is láthatjuk.

Néhány lipid felsorolása, amelyek a lamelláris szerkezet mellett hexagonális vagy köbös szerkezetet formálnak.

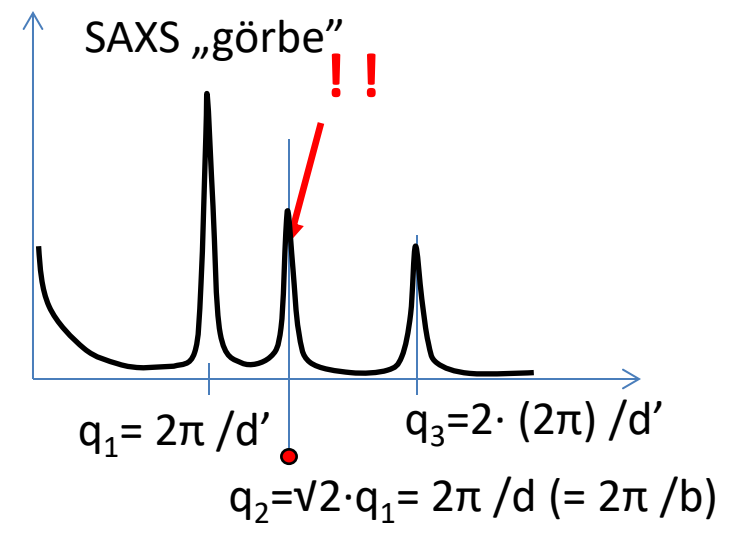
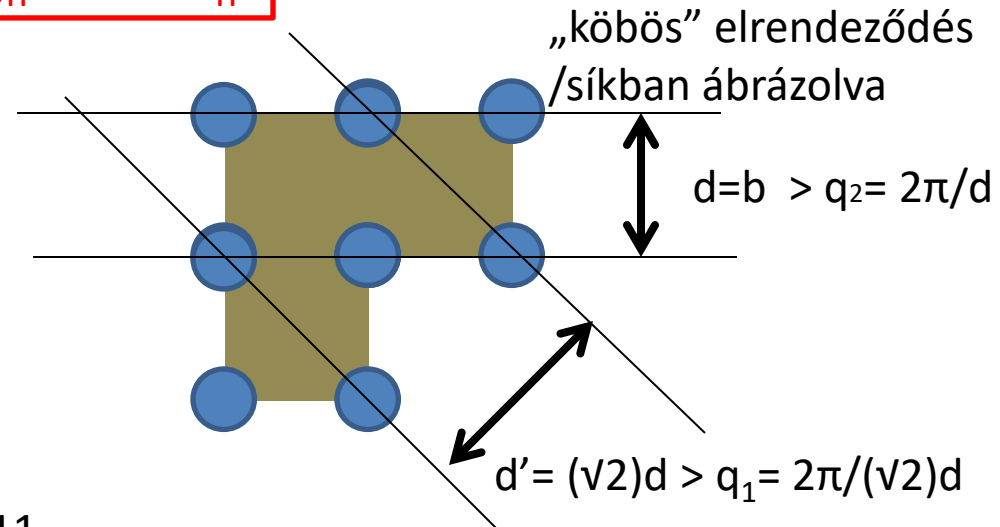
Különböző lipidmolekulák, eltérő töltés-sajátságokkal > különböző nanoszerkezeteket formálnak vizes fázisban (a lipid mérete folytán a nanoszerkezet szórása/diffrakciója továbbra is a kisszögű tartományba esik).



Hexagonális és köbös szerkezetek kisszögű diffrakciója, jellemzők



$q_n = 2\pi / d_n$

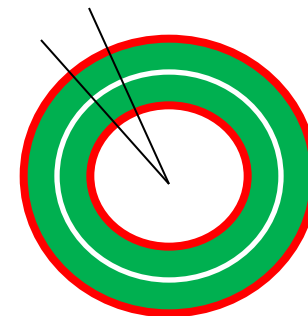


Konkrét esetek, amelyek a SAXS módszer jelentőségét mutatják

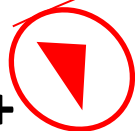
A valós membránok eltérő alakú, különböző lipideket tartalmaznak.

Modellmembránokban (liposzómákban) az eltérő alakú lipidek aránya meghatározza a formálódó nanoszerkezet fajtáját.

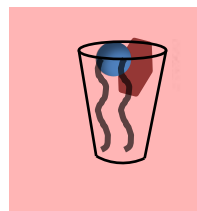
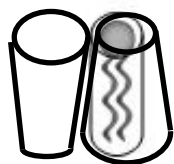
Jelen esetben vendégmolekulákként az antibiotikumokhoz tartozó aminoglikozidok (AGs) szerepelnek.



+ +



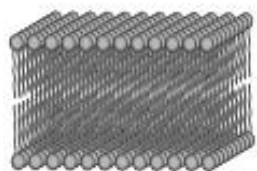
Az aminoglikozidok (AGs) a lipidnél kisebb, kationos komponensek



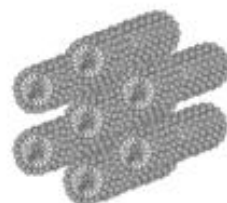
DPPG
+ AGs
(„guest”)



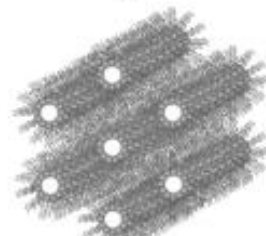
DPPE



Lamellar (L)
Lamelláris (L)



Hexagonal (H_I)
Hexagonális (H_I)



Inverse hexagonal (H_{II})
Inverz hexagonális (H_{II})



Ezek a karakterisztikus nanoszerkezetek a jellemző, a korábban bemutatott szórési (diffrakciós) görbéket fogják mutatni.

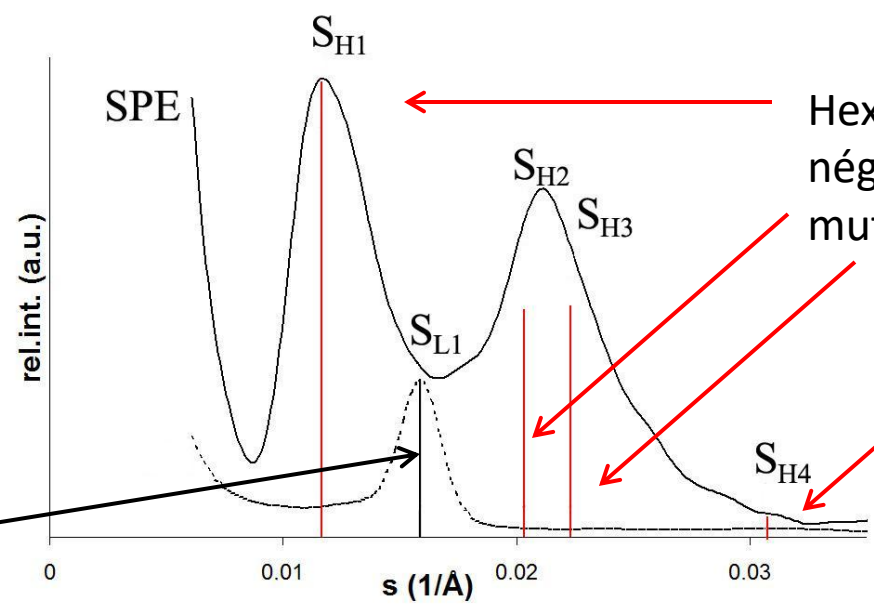
Konkrét esetek, amelyek a SAXS módszer jelentőségét mutatják

Spectinomycin (egy AG)/DPPG-DPPE rendszer: AG/lipid = 0.1-0.3, DPPE/DPPG=8/2

Hexagonális fázis (H_1) a domináns Spectinomycin jelenlétében

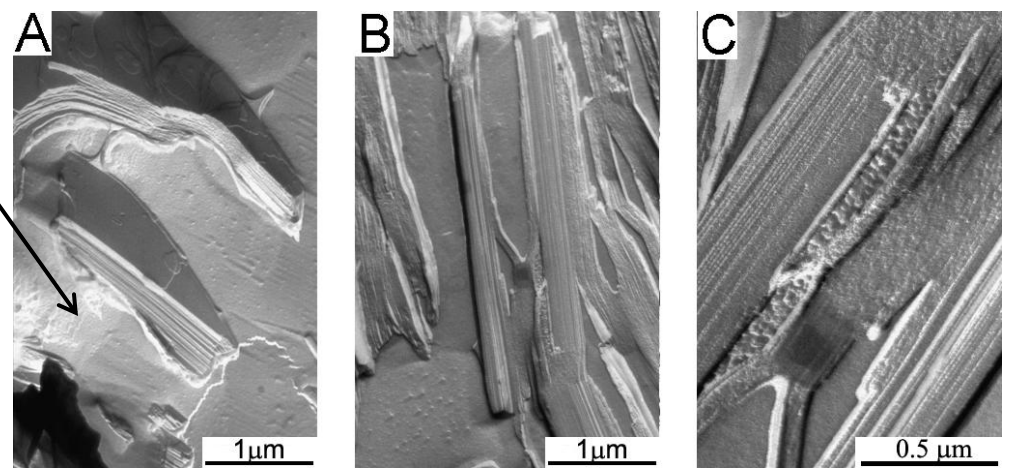
Két fázis van egyszerre jelen:

Lamelleráris és hexagonális



Hexagonális fázis (jelenlétét négy Bragg reflexió (csúcs) mutatja)

SAXS (SAXD)



Fagyasztatöréssel kombinált elektronmikroszkópos felvételek
A: lamelláris formák
B,C: csöves formák: hexagonális

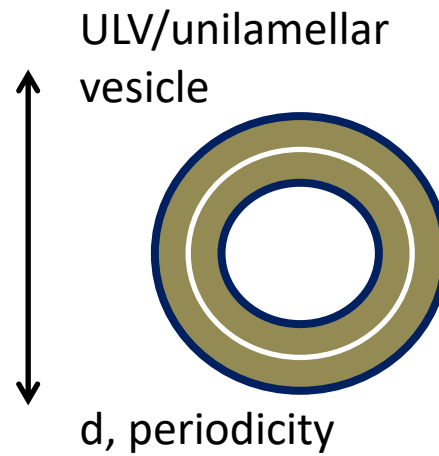
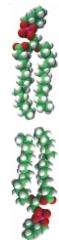
Az előző esetekben láthattuk, hogy a „szabályos” nanorendszer egységei a lemezek (pontosabban gömbhéjak liposzómák esetében), nanoméretű rúdak, vagy gömböcskék periódikusan ismétlődve rácsot alkotnak, amelynek az lesz a következménye, hogy diffrakciós görbét kapunk. Az éles csúcsok, a Bragg csúcsok, vagy más szóval reflexiók q -ban, vagy s -ben mért skálán (az x -tengelyen) jellemző pozíciókban lesznek. Tehát a diffrakciós görbe a szerkezeti elemek által felépített rácsot jellemzi.

Mit tapasztalunk abban az esetben, ha ugyanilyen egységek fordulnak elő, de a sokaság nem alkot szabályos rácsot?

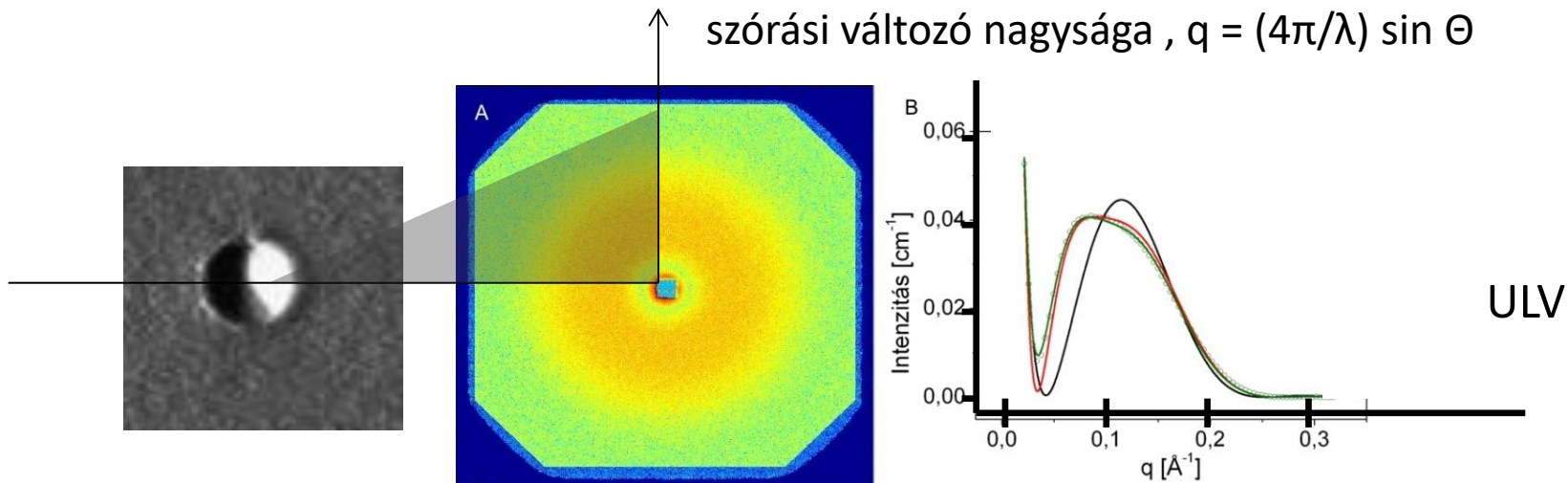
Ebben az esetben nem tapasztalunk diffrakciót, hanem az egyedi objektumok (lap, rúd, gömb) formájának megfelelően diffúz szórást kapunk. Ezt tapasztalhatjuk az egyszeres kettősrétegből álló unilamellás liposzóma esetében, amelynek esetét a következő ábrán láthatjuk. A szórás az objektum formájából adódó kiszélesedett, a diffrakciós csúcstól lényegesen eltérő alakú lesz.

Mi történik ha csak kevés számú réteg helyezkedik el periódikusan? Ebben az esetben a szerkezetre utaló Bragg csúcsok kiszélesednek. Kiszélesedett csúcsok detektálása esetén lehetőség van a kiszélesedés mértékéből a „rács”-ba rendeződött egységek számának a kiszámítására.

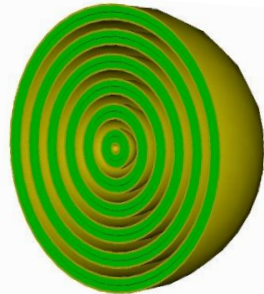
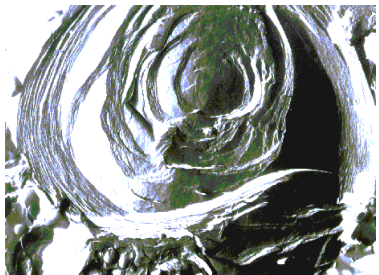
ULV kisszögű röntgenszórása



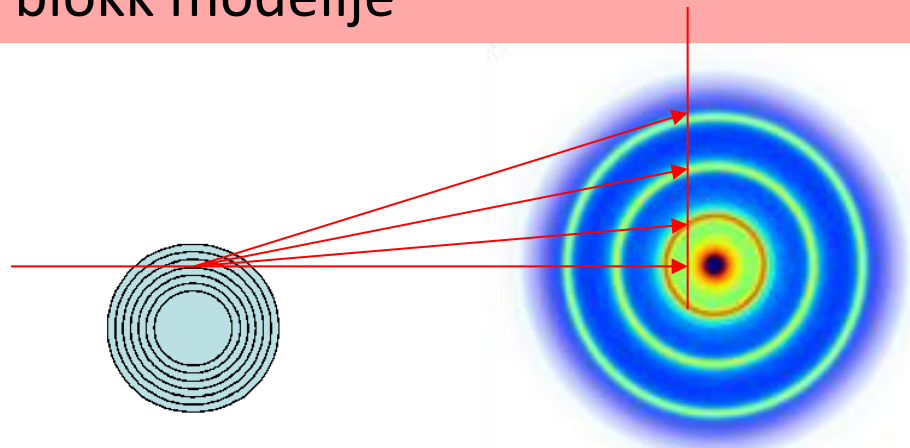
A multilamellás elrendeződés hiányában nincs rétegrács, azaz periódus sem, és a Bragg egyenlet analógiája alapján nincs Bragg reflexió. Az unilamellás réteg szórást (és **nem** Bragg reflexiókkal járó diffrakciót) mutat.



Liposzómák centroszimetrikus blokk modellje

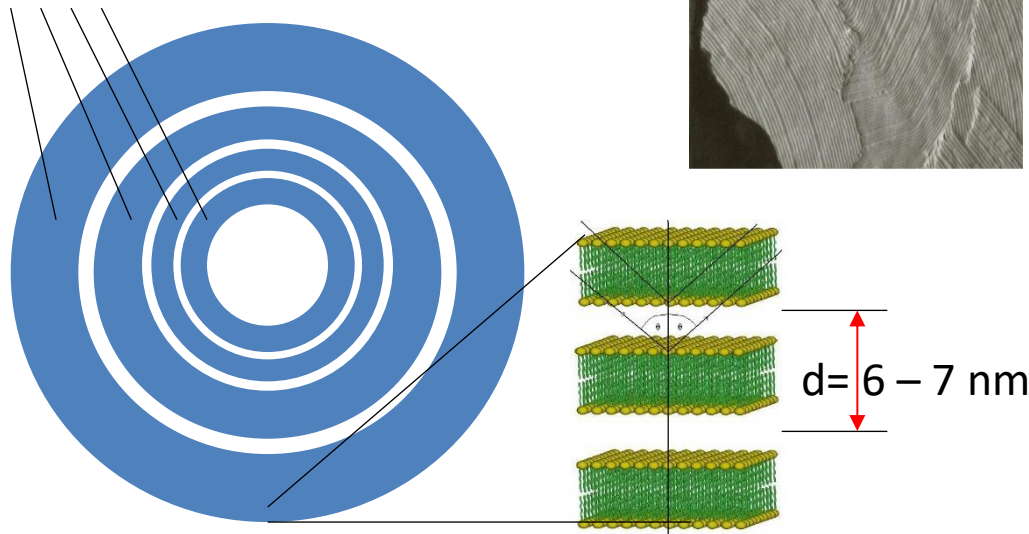


2 - 10 μm

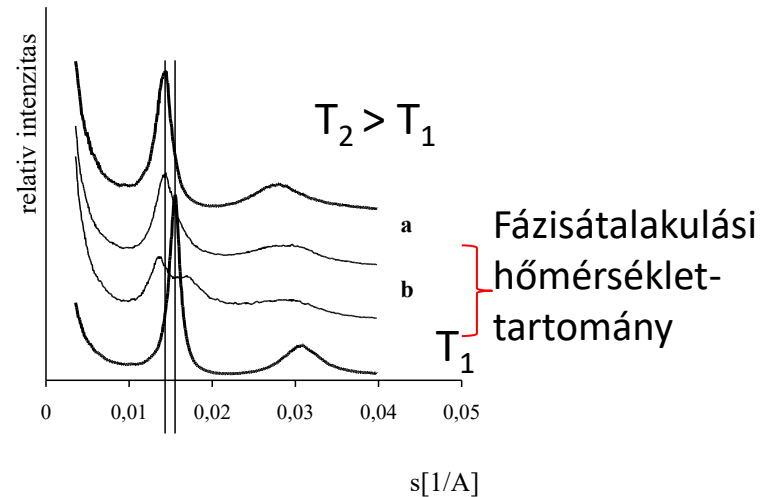


A multilamellás liposzóma egészének és az ismétlődő egységei (kettősréteg lipid + víz-héj) méretét figyelembe véve, a rétegek száma több száz. Ennek ellenére a Bragg csúcsok nem élesek. Lehetséges magyarázat: rétegződési hibák vannak jelen.

Blokkok, N: 1 – 10 db kettősréteg

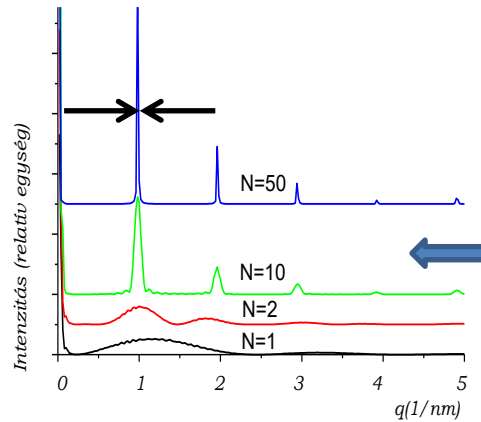
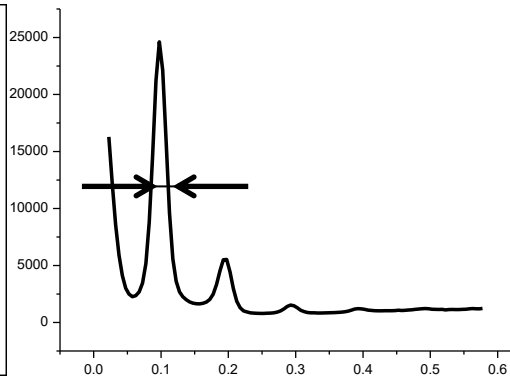
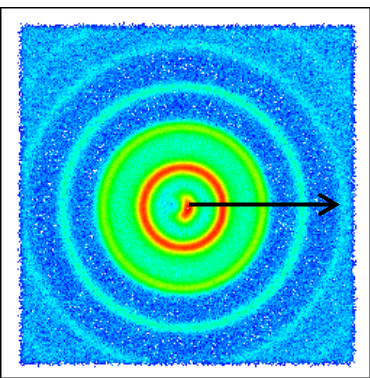


Hullámos gél fázis esetén az elkülönült blokkok kísérletileg is megfigyelhetők (fagyasztvatöréssel kombinált TEM)

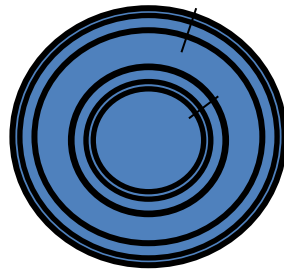


Egyrétegű és sokrétegű (multilamellás) vezikulák tanulmányozása

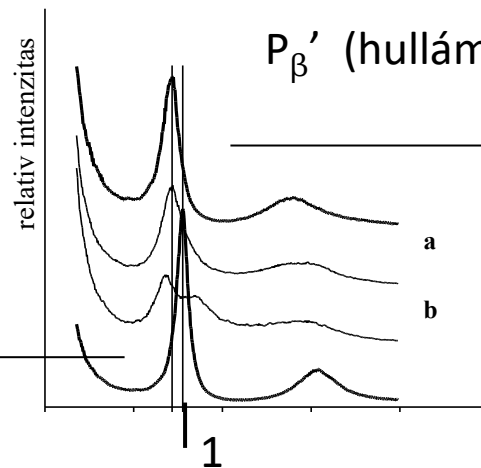
Tiszta lipid (dipalmitoilfoszfátidil-kolin, DPPC) – víz, mint alarendszer tanulmányozása



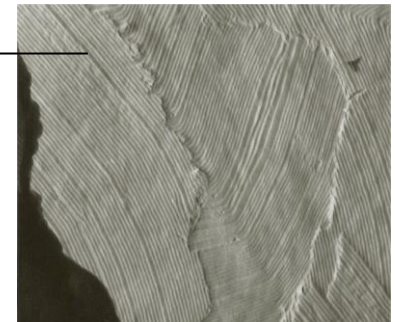
A rétegszám következménye egy szabályos multilamellás liposzómában.



L_{β}' gél fázis, 28 °C



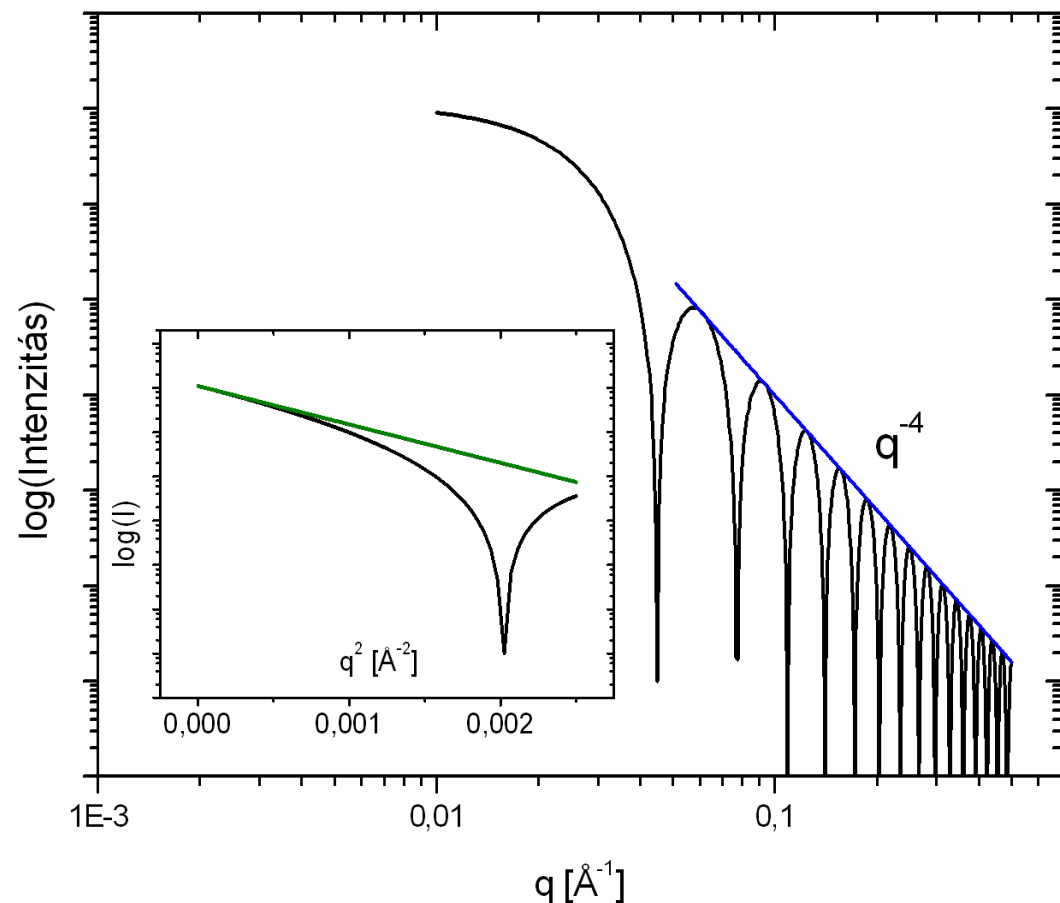
P_{β}' (hullámos) gél fázis, 38 °C



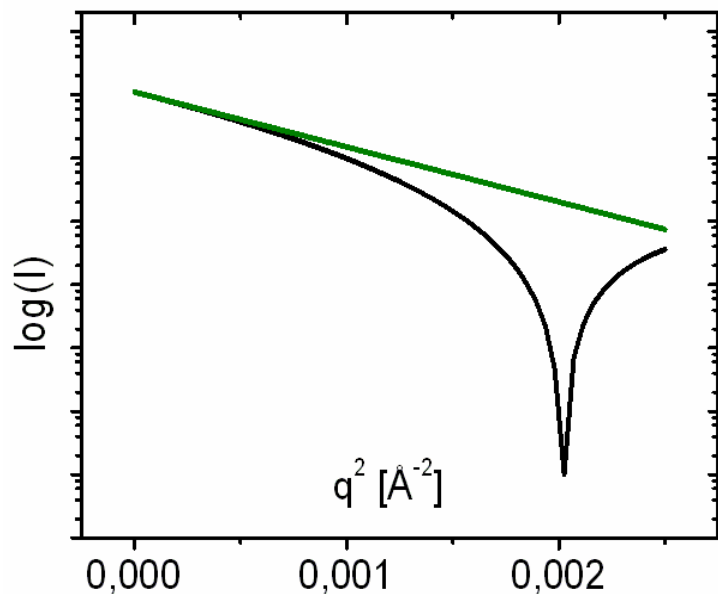
q (1/nm)

Liposzómák, mint gömbszerű alakzatok méretének meghatározása: a „Guinier” sugár

A Guinier sugár a kisszögű röntgenszórással leggyakrabban meghatározott paraméter (érdeemes összevetni, más technikákkal, pl. fényszórással vagy TEM-el meghatározott értékekkel) Kiindulásképpen vizsgáljuk a homogén gömb méretét! A homogén gömb (melynek elektronsűrűsége eltér a közegétől, praktikusán nagyobb, mint a vízé) szórása kiszámolható. A gömbök sokasága diszpergált, azaz rendezetlen állapotban van a folyadékban. Nincs rács, az egyedi gömböcskék szórnak, és azok szórásának intenzitása egyenlő egyetlen gömböcske szórásának és a gömböcskék darabszámának szorzatával. A szórás szög szerinti, azaz a szórási változó, q -szerinti alakja szolgáltatja a gömb forma faktorát.



Vegyük észre, hogy a szórási görbe eleje egy „fordított” parabolára hasonlít. Valóban, ha a görbe elején lévő intenzitásértékeket a q^2 függvényében ábrázoljuk, akkor egy egyenest nyerünk. (a betétábra legeleje, zöld színnel kiemelve). A görbe alakja minden gömb esetén hasonló lesz, csak a q skálán tolódik el, attól függően, hogy kisebb vagy nagyobb gömbről van-e szó. A szórási intenzitás drasztikus mértékben csökken, q^{-4} -el, a szórási változó fg-ében. A sűrűsödő és le – fel változó jelleg csak szigorúan monodiszperz méretű objektumoknál figyelhető meg!



Az elhajlás a görbe elején (a logaritmikus skálát figyelembe véve) az alábbi összefüggést (**André Guinier**) :

$$I(q \approx 0) = I_0 e^{-\frac{q^2 R_G^2}{3}}$$

R_G , Girációs sugár (Radius of gyration), vagy elterjedt megnevezéssel Guinier sugár, egy lineáris méretet ad meg a szórási objektumról.

Az inercia (tehetetlenségi) sugár definíciója:

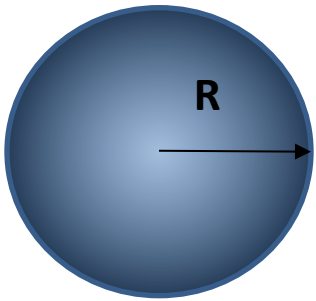
$$R_G = \sqrt{\frac{\iiint_0^V r^2 \rho(r) dV}{\iiint_0^V \rho(r) dV}}$$

Inercia sugara minden szabálytalan testnek van. A diszpergált részecske (gömb, vagy más forma) forog, pörög az oldatban, miközben a röntgenfényt szórja. A szabálytalan részecske tehetetlenségét (számláló a gyökjel alatt) egy olyan tömegpont (nevező a gyökjel alatt) tehetetlenségével azonosítjuk, ami a forgási középponttól R_G távolságra van.

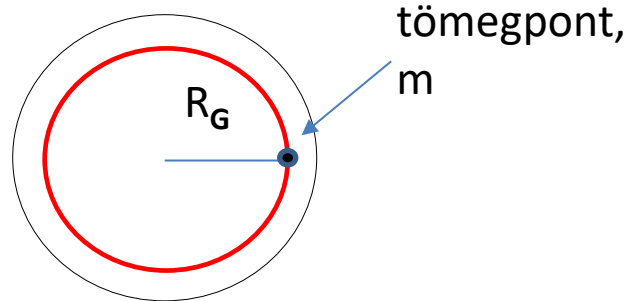
Egyszerű számolás, amellyel megmutatjuk, hogy a gömb Guinier sugara kisebb, mint a gömb sugara:

$$R_G = \sqrt{\frac{\iiint_0^V r^2 \rho(r) dV}{\iiint_0^V \rho(r) dV}}$$

A gömb minden elemi tömegpontjának tehetetlensége : $m_i l^2$ a fenti képletben: $r^2 \rho(r)$



m tömegű homogén gömb R sugárral



az m tömeget pontba sűrítve, R_G hosszúságú szálon pörgetjük

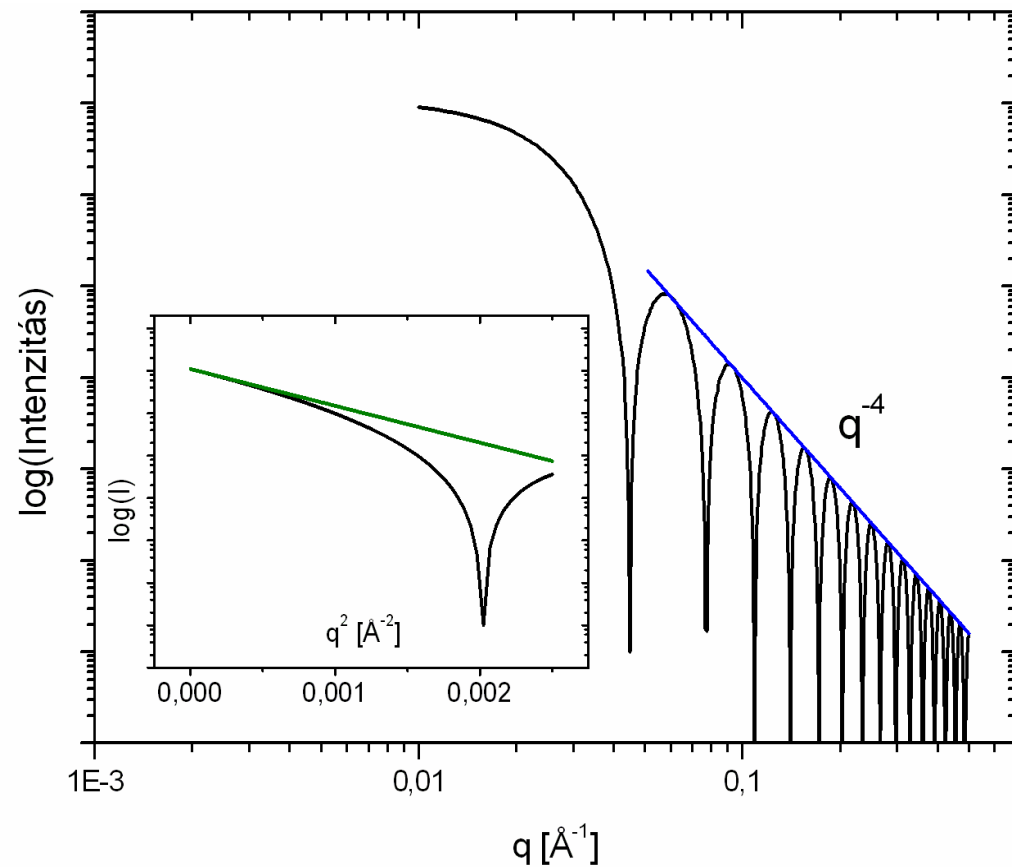
$R_G < R$, miért?

$$R_G = \sqrt{\frac{\iiint_0^V r^2 \rho(r) dV}{\iiint_0^V \rho(r) dV}} \text{-nek megfelelően:}$$

$$R_G^2 = \frac{\int_0^V \rho(r) r^2 dv}{\int_0^V \rho(r) dv} = \frac{\int_0^V \rho(r) r^2 d(4\pi r^3/3)}{\int_0^V \rho(r) dv} = \frac{\int_0^V r^2 d(4\pi r^3/3)}{\int_0^V dv} =$$

$$\frac{\int_0^R r^2 (12\pi r^2/3) dr}{\int_0^V dv} = \frac{4\pi \left[\frac{r^5}{5} \right]_0^R}{\frac{4\pi r^3}{3}} = \frac{3}{5} R^2$$

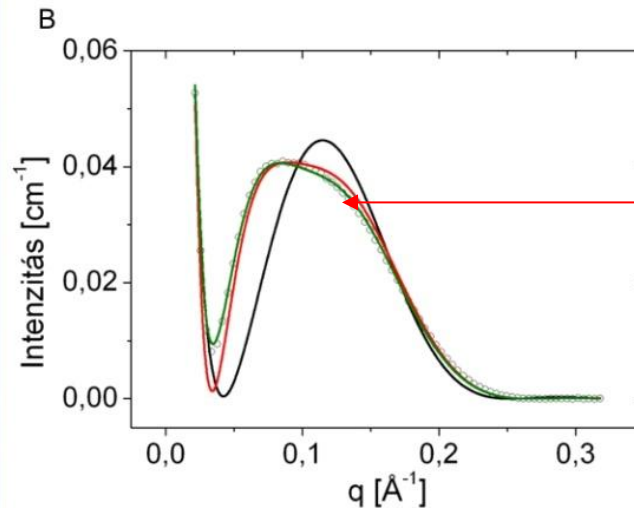
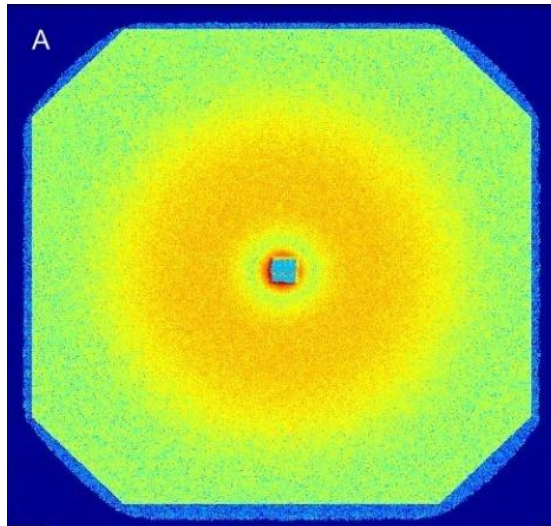
A levezetés alapján beláthatjuk, hogy az unilamellás vezikulák (=vékony gömbhéjak) Guinier sugara közel esik a gömbháj értékéhez, a szórásgörbe kezdeti szakaszából számolt sugár közvetlenül az ULL sugarát adja.



Említésre került, hogy a kisebb és nagyobb objektumok szórása hasonló alakot mutat. ULL esetében, ha a rendszer heterodiszperz, akkor az eltérő méretű frakciók szórásánál a minimum és maximum helyek összeesnek és az eredő szórás egy „simán” lefutó görbealakot eredményez. Általában az ábrán megfigyelhető első, nagyobb intenzitású lokálmáximum marad meg „váll” formájában.

Ha a Guinier ábrázolás nem ad egyenest, akkor reálisnak tűnő eloszlás-típus (normál, log-normál) feltételezésével a minta méreteloszlása kiszámolható. (A SAXS módszer általában reálisabb eredményt szolgáltat, mint a DLS.)

Talán sikerült felkelteni az érdeklődést a röntgenszórással kapcsolatban! Ha igen tegyünk egy kis kitérőt, amelyben bemutatásra kerül, hogy diffrakció híján, a szórásgörbe alakjának figyelembevételével, pl. az unilamellás liposzómák belső, kettősrétegen belüli szerkezete is feltárható. Ennek jelentősége a több kémiai komponensből álló készítményeknél van. Lehetőség van a komponensek (vendégmolekulák, hatóanyagok) rétegen belüli elhelyezkedésének megállapítására.



A formafaktor lefutása eltérhet.
Milyen információt hordoz az eltérés?

$$I(q) = \left\{ \rho \left(\frac{4\pi R^3}{3} \frac{3}{q^3 R^3} (\sin(qR) - qR \cos(qR)) \right) \right\}^2$$

Elektronsűrűség kontraszt
Térfogat
Formafaktor

A szórás elméleti leírása röviden (1)

A röntgen fény = elektronmágneses síkhullám formájában terjed.

Kémiai rendszerben a szóró pont (akadály) az elektron (a proton nagy tömege miatt elhanyagolható)

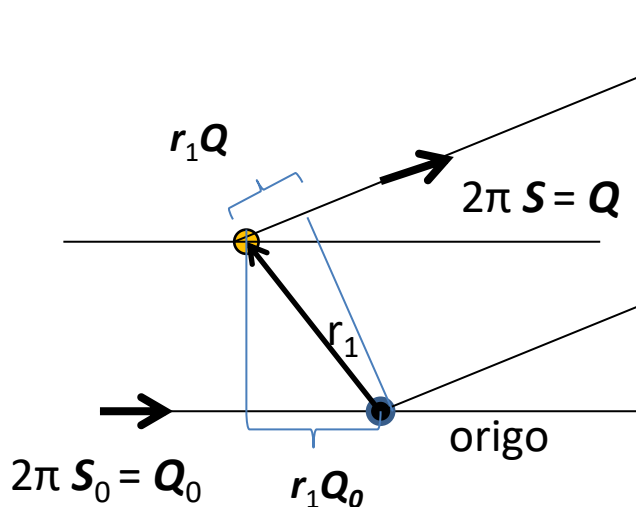
Az elektron szórását a Thomson egyenlet írja le.

$$I(2\theta) = r_0^2 \left(\frac{1 + \cos^2(2\theta)}{2} \right) \frac{1}{r^2} I_0$$

(A beérkező fény intenzitása, a kölcsönhatás után, a az elektrontól mért távolság (r) négyzetének reciprokával arányos. A zárójeles kifejezés kis szögek esetében közel 1. Az arányossági tényező (r_0^2) az elektron szórása (az elektron klasszikus sugarának négyzete).

A síkhullámot az idő és távolságfüggő amplitúdó kifejezéssel írjuk le: (a mérés hosszú ideig tart, számunkra a távolság a lényeges, hiszen ez van kapcsolatban a szerkezettel)

$$A = A_0 \sin \left(\omega t - 2\pi \frac{x}{\lambda} \right)$$

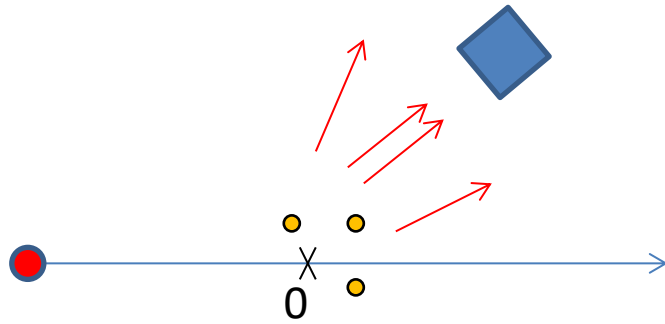


Úthossz különbség / távolság egységben:
 $(\lambda/2\pi) r_1(Q-Q_0) = (\lambda/2\pi) r_1 q$

Úthossz különbség / fázis egységben:
 $r_1(Q-Q_0) = r_1 q$

Két ponton szórt síkhullám esetének bemutatása

A szórás elméleti leírása röviden (2)



A mérési elrendezés sematikusán, a forrás, a minta néhány pontja „O” körül, a detektor

Az „út” tagot egy, a forrás – detektor („O”-n keresztül haladó) L távolsággal is figyelembe vesszük:

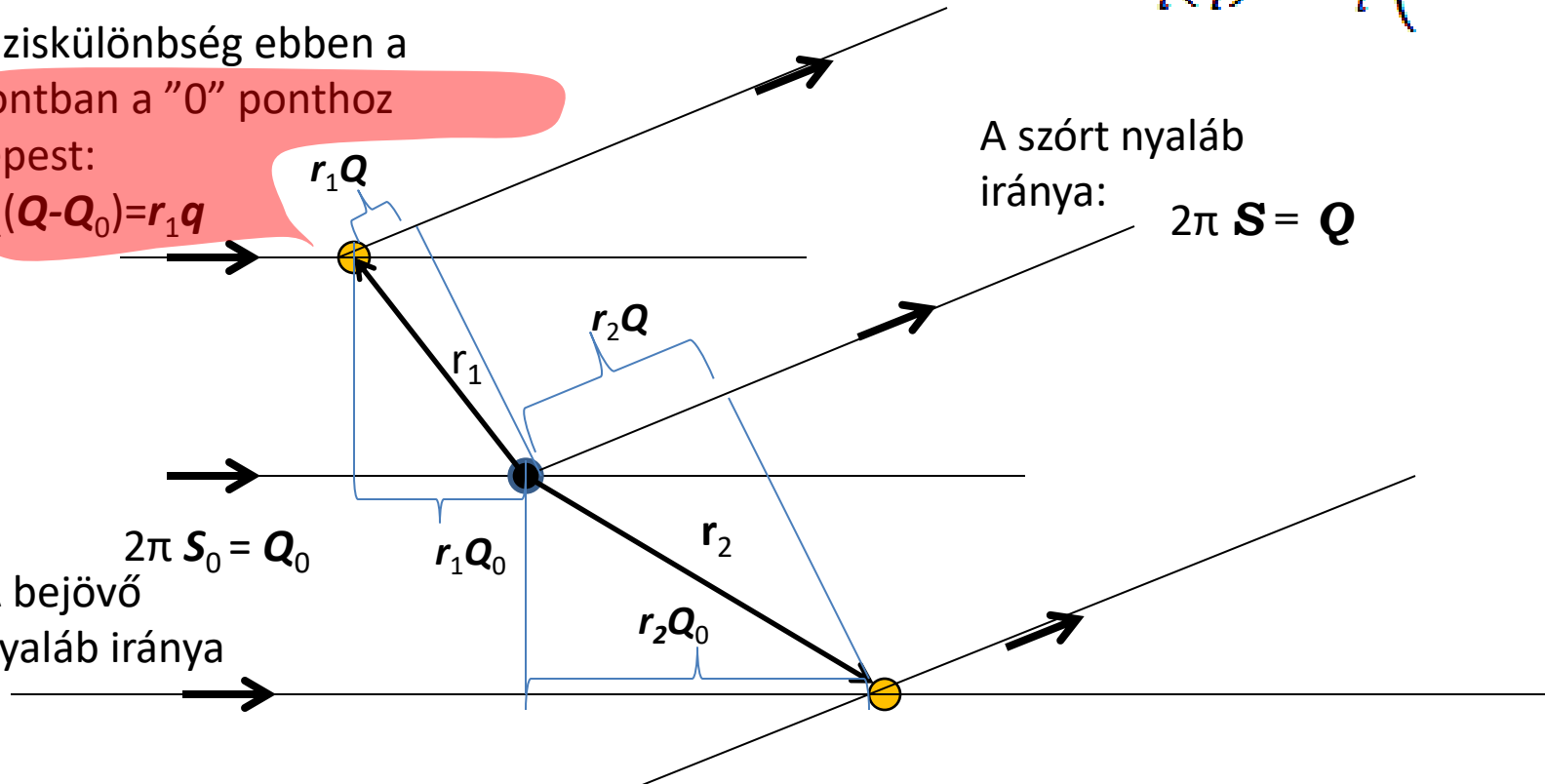
$$A_i(q) = A'_i \left(\omega t - \frac{2\pi L}{\lambda} - \mathbf{r}_i \mathbf{q} \right)$$

Fáziskülönbség ebben a pontban a „0” ponthoz képest:

$$r_1(Q - Q_0) = r_1 q$$

A szórt nyaláb iránya: $2\pi \mathbf{S} = \mathbf{Q}$

A bejövő nyaláb iránya $2\pi \mathbf{S}_0 = \mathbf{Q}_0$



A szórás elméleti leírása röviden (3)

$$A_1(q) = A'_I \left(\omega t - \frac{2\pi L}{\lambda} - r_1 q \right) \quad A_2(q) = A'_{II} \left(\omega t - \frac{2\pi L}{\lambda} - r_2 q \right)$$

Minden ponton szórt nyaláb amplitúdóját figyelembe kell venni a detektor felszínén, és össze kell adni, így nyerjük az eredő amplitúdót:

$$A(q) = A' \sum_i \underbrace{\sin \left[\left(\omega t - \frac{2\pi L}{\lambda} \right) - r_i q \right]}_{\sin(a + b_i)}$$

Azonosság: $\sin(a+b_i) = \cos(a) \cdot \sin(b_i) + \sin(a) \cdot \cos(b_i)$

szögátlagok: $\overline{\sin^2(a)}=1/2$, $\overline{\cos^2(a)}=1/2$, $\overline{\sin(a) \cdot \cos(b)}=0$

Az amplitúdó négyzete az intenzitás !

Trigonometrikus formában ilyen alakú:

$$I(q) = A(q)^2$$

Ennek megfelelően:

$$I(q) = \frac{A'^2}{2} \left(\sum_i \sum_j \cos b_i \cos b_j + \sum_i \sum_j \sin b_i \sin b_j \right) = \frac{A'^2}{2} \left(\sum_i e^{-r_i q} \right) \left(\sum_i e^{-r_i q} \right)^*$$

Egy nehezen kezelhető kifejezést nyerünk! Praktikusan a kifejezést komplex formába írjuk! Ennek következménye, hogy a négyzetre emelés helyett a függvény komplex konjugáltjával történő szorzása:

$$I(q) = A(q) \cdot A^*(q)$$

Az amplitúdó kifejezését átalakítjuk: összegzésről áttérünk az integrálásra:

$$A(q) = \frac{A'}{\sqrt{2}} \left(\sum_i e^{-r_i q} \right) = \frac{A'}{\sqrt{2}} \int_0^V \rho(r) e^{-r q} dv_r = \frac{A'}{\sqrt{2}} \mathbf{F}[\rho(r)]$$

hiszen az elektronok pozíciója nem adható meg, azok „elkenve” vannak a térben. Az elektronsűrűség pontosan ezt fejezi ki.

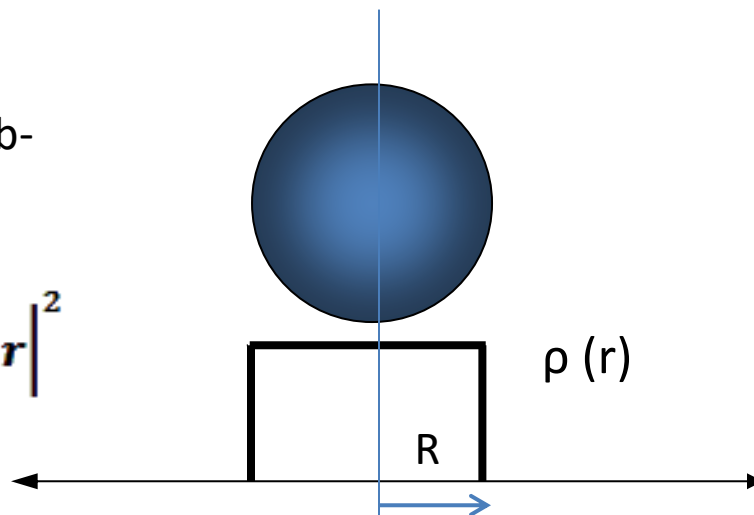
A szórás elméleti leírása röviden (4)

$$A(\mathbf{q}) = \frac{A'}{\sqrt{2}} \left(\sum_i e^{-\mathbf{r}_i \cdot \mathbf{q}} \right) = \frac{A'}{\sqrt{2}} \int_0^V \rho(\mathbf{r}) e^{-\mathbf{r} \cdot \mathbf{q}} d\mathbf{v}_r = \frac{A'}{\sqrt{2}} F[\rho(\mathbf{r})]$$

Érdemes az utóbbi összefüggésnél elidőzni! Az összeadás a minta minden egyes elektronjáról szóródott gömbhullám amplitudójára vonatkozik. A második alak, a térfogat szerinti integrálás a mintára vonatkozik, az exponenciális t, minden egyes , a mintán belüli r távolságra lévő pár fázisa. Más oldalról, **matematikailag a $\rho(\mathbf{r})$ elektronsűrűség Fourier transzformáltjához jutottunk (harmadik tag). Ez egy nagyon szép és fontos eredmény!** A minta elektronsűrűségének Fourier transzformáltja a szórási amplitúdó. Ezek után ezt komplex konjugáltjával szorozva, a minta röntgenszórásának intenzitása számolható! Tehát modell-elképzeléseink alapján az intenzitás számolható és a kísérletileg meghatározott intenzitás görbével összehasonlítható. Ha az egyezés a számolt és mért görbék között megfelelő, akkor lehet elképzelésünk a minta elektron sűrűségének térbeli eloszlásáról, azaz a szerkezetéről.

Ezek után foglalkozunk a korábban bemutatott gömb-szórással!

$$I(\mathbf{q}) = \left| \iiint \rho(\mathbf{r}) e^{-i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}} d^3\mathbf{r} \right|^2$$



Ez egy „nano” gömb, homogén elektron sűrűséggel. Mérete akkora, mint egy liposzómáé.

A szórás elméleti leírása röviden (5)

A konkrét megoldásnál érdemes egy hasznos „trükkhöz” folyamodni: a gömböt a Descartes féle koordináták helyett, polárkoordinátákkal kell dolgozni.

Ugyanis a Fourier transzformáció kiszámítását polárkoordinátákkal sokkal egyszerűbb elvégezni, mert egy gömbszimmetrikus alakzatról van szó.

$$A(\mathbf{q}) = \iiint \rho(\mathbf{r}) e^{-i\mathbf{q}\mathbf{r}} d^3\mathbf{r}$$

Az azimut szög „z” tengelyét a \mathbf{q} -val párhuzamosra állítható, mert irányfüggetlen objektumról van szó.

$$A(\mathbf{q}) = \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^R r^2 \rho(r) \int_0^\pi \sin\theta e^{-iqr\cos\theta} d\theta$$

Végezzük el az $u = \cos\theta$ helyettesítést!

$$A(\mathbf{q}) = \underbrace{\int_0^{2\pi} d\varphi}_{2\pi} \int_0^R r^2 \rho(r) \left(\int_{-1}^1 e^{-iqr u} du \right) dr$$

A belső integrál számolható

$$\int_{-1}^1 e^{-iqr u} du = \left[\frac{1}{-iqr} e^{-iqr} \right]_{-1}^1$$

A belső integrál az Euler formula alapján átírható (a komplex számtól megmenekülünk) ($e^{i\alpha} = \cos\alpha + i\sin\alpha$):

$$\frac{1}{-iqr} [e^{-iqr} - e^{iqr}] = \frac{1}{iqr} [2i \sin(qr)] = \frac{2 \sin(qr)}{qr}$$

A szórás elméleti leírása röviden (6)

Az utóbbi részeredményt visszaírva az $A(q)$ kifejezésébe:

$$A(\mathbf{q}) = A(q) = (4\pi) \int_0^R \rho(r) r^2 \frac{\sin(qr)}{qr} dr$$

q már nem vektor,
skalár változó!

$$I_{\text{sphere}}(q) = \left\{ \frac{4\pi\rho}{q^3} (\sin(qR) - qR\cos(qR)) \right\}^2$$

R-szerint integrálva (figyelembe véve az objektum méretét!)

Végezetül egy bővítés, hogy a gömb térfogatát felismerjük!

$$I(q) = \left\{ \rho \left(\underbrace{\frac{4\pi R^3}{3}}_{V \text{ (volume)}} \underbrace{\frac{3}{q^3 R^3} (\sin(qR) - qR\cos(qR))}_{P(qR)} \right) \right\}^2$$

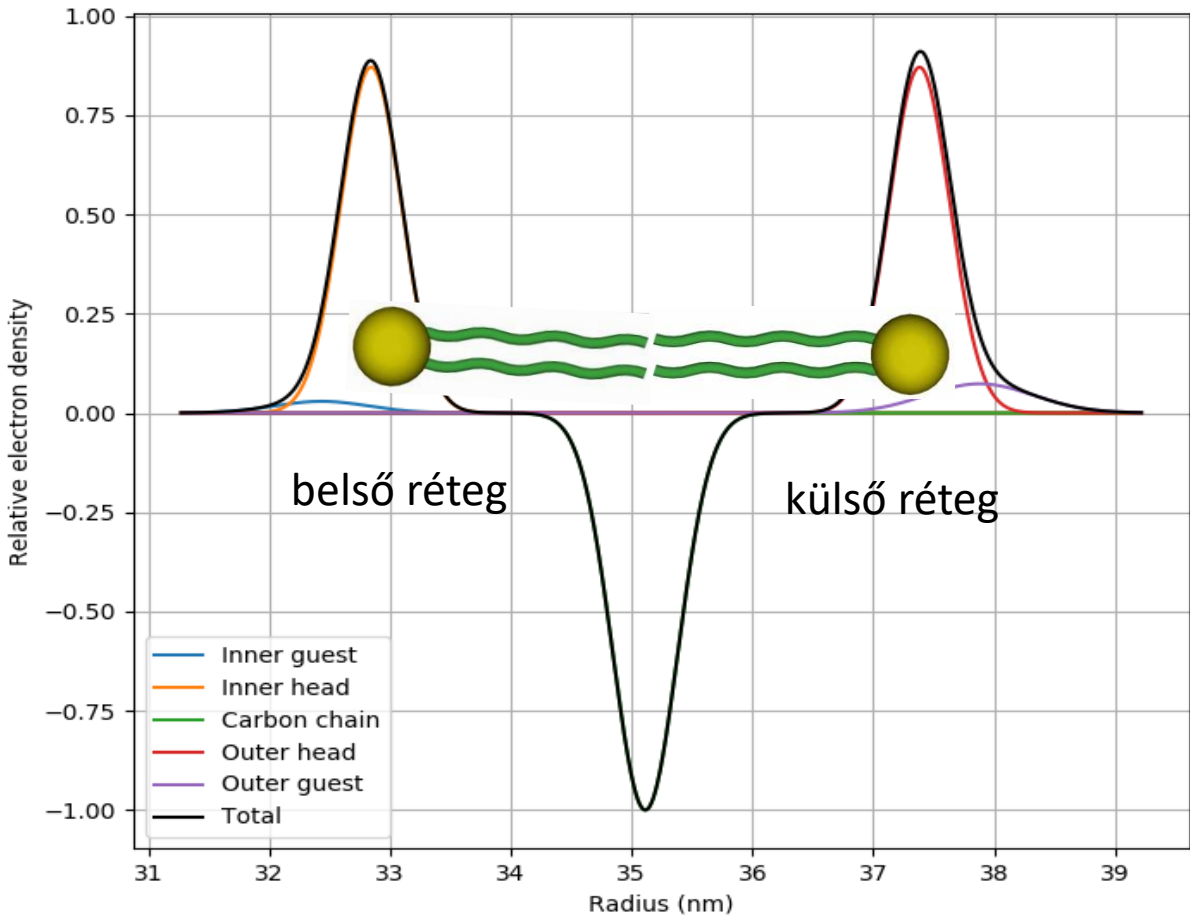
Ez utóbbi kifejezés alapján került kiszámításra a korábbi ábrákon bemutatott gömb intenzitás görbéje. Ezek után **egy liposzóma szórásgörbéjének számítása** könnyen megoldható. Az **egyes régiók (=gömbhéjak) határait**, és a régión belül aktuális $\rho(r)$ értékeket vesszük figyelembe. **Multilamellás esetben**, az „unilamellás „ réteget pakoljuk egymás fölé, reális vastagságú vízréteggel elválasztva. (a számolásban megfelelő R értékeket és elektronsűrűség értékeket helyettesítünk)

Unilamellás liposzóma szerkezetvizsgálata (0)

Az unilamellás liposzóma radiális irányú elektronsűrűség profilja. A komponensek elhelyezkedését nem lépcső-profillal, hanem a valós helyzetnek jobban megfelelő Gauss-függvényekkel írtuk le.

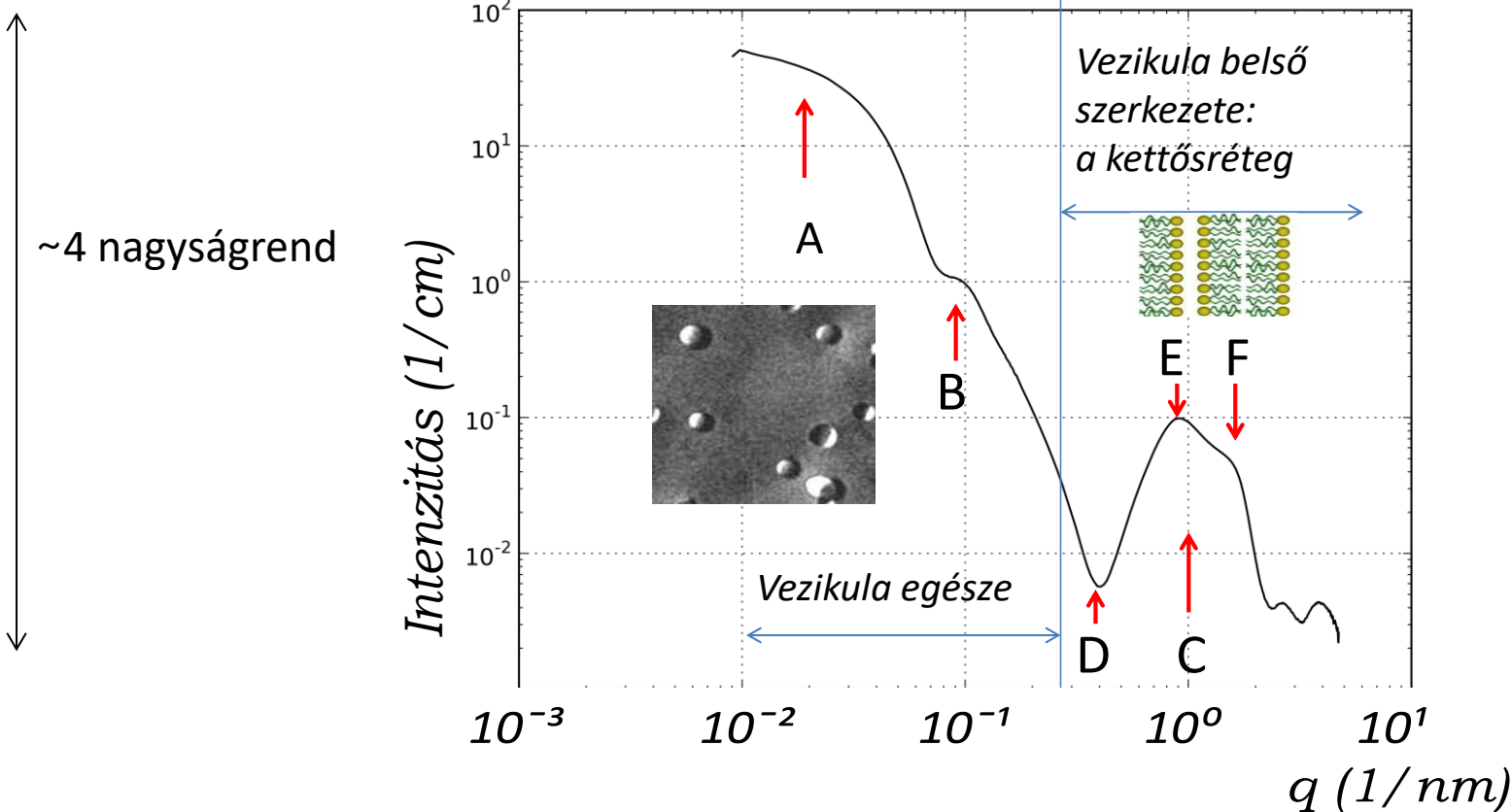
Fejcsoportban nagy (víznél nagyobb) elektron sűrűség

Szénláncban kis (víznél kisebb) elektron sűrűség



Az elmélet alapján az unilamellás, egyszeres kettősrétegű vezikula szórási görbe a kettősréteg elektronsűrűség profiljából kiszámítható. A számítás eredménye megmutatja, hogy egy kettősréteg víz, fej, szénlánc, szénlánc, fej, víz, elektronsűrűséget követ.

Szinkrotronos mérés, ESRF, Grenoble



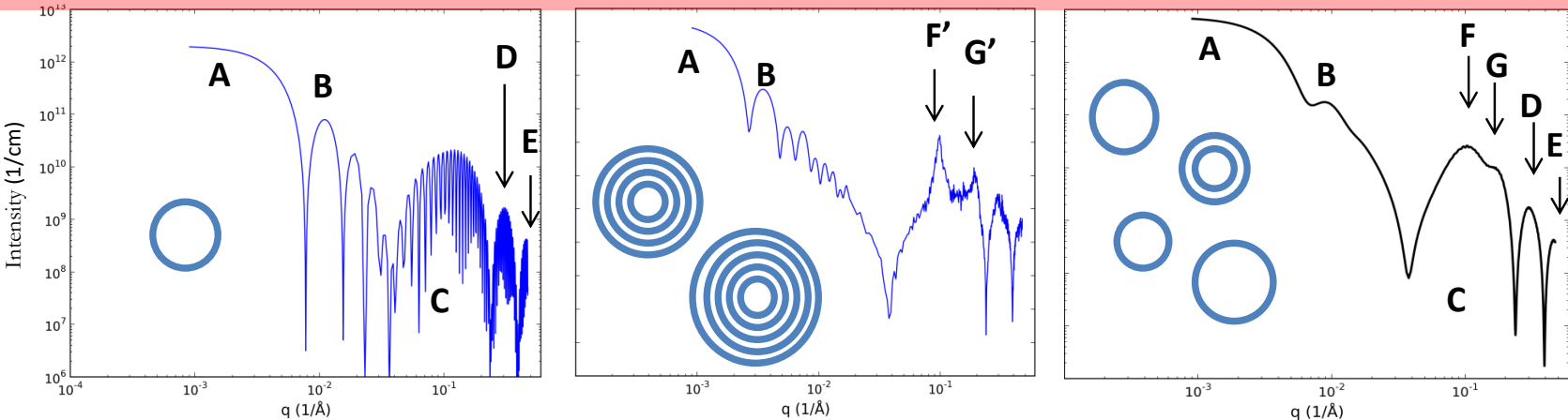
A szórásgörbén megfigyelt Jellegetességek:

- A, B** a liposzóma egésze
- C, D, E, F** a liposzóma belső rétegszerkezete

~3 nagyságrend

Ezeknek a jellegetességeknek a magyarázatára a modell segítségével adunk választ.

Unilamellás liposzóma szerkezetvizsgálata (2)



Baloldali ábra

Egy adott külső méretű liposzóma (adott vastagságú ca. 4nm kettősréteggel). A konstans R következménye, hogy a „fluktuál” a szórásgörbe. Az „A” a kezdeti Guinier szakaszból adódik, „B” az első maximum, „C” (sőt a további két kicsiny maximum, D és E-vel jelölve) mint a kettősréteg formafaktora azonosítható.

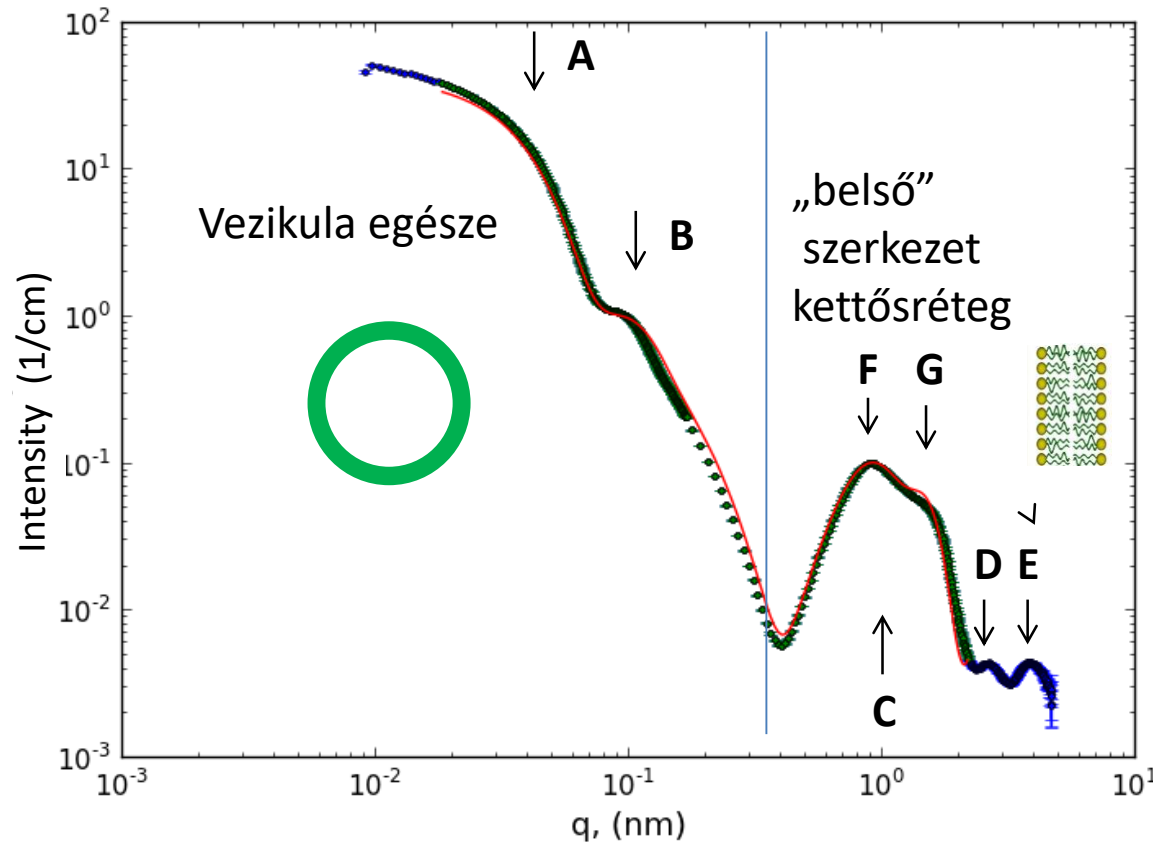
Középső ábra

A liposzóma méretét kismértékben változtatva (heterodiszperz jelleg figyelembevétel). A liposzómák néhány 3 – 4 réteget tartalmaznak, az F és G jellegzetességek, a rétegekből származó Bragg csúcsok megjelenése.

Jobboldali ábra

A polidiszperz jelleg növelése, maximum 2 kettősréteg 5%-os jelenléte a mért görbe kvalitatív leírását adja és minden, az eredeti kísérleti görbén látható jellegzetesség megjelenik.

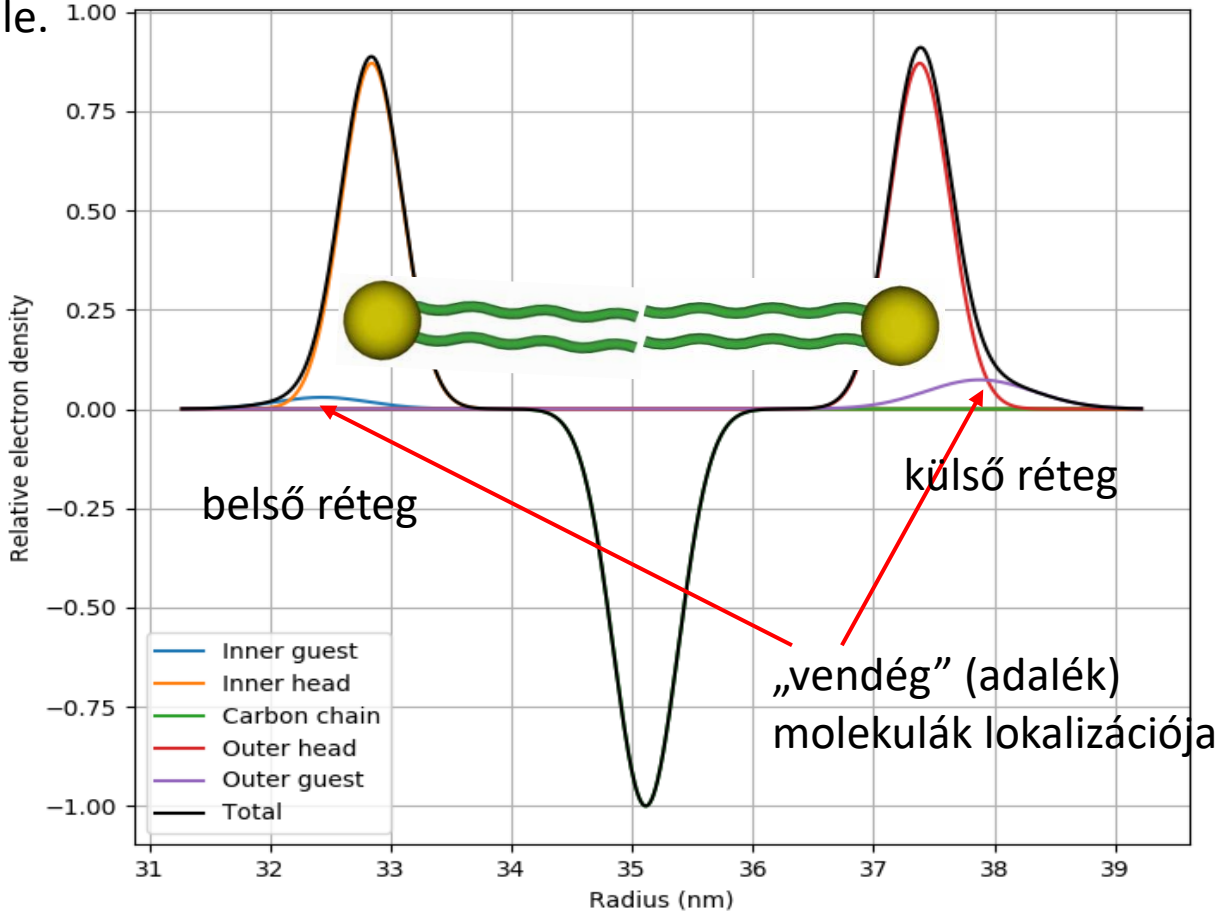
Unilamellás liposzóma szerkezetvizsgálata (3)



A kísérleti szórásgörbe (kék) és az illesztett modellgörbe (piros) a liposzómás rendszer jellemzését adja. A C formafaktoron belül (itt nem közölt részletekkel) a kettősrétegen belüli szénlánc, fejcsoport vastagság és azok lokális elektronsűrűsége került kiszámításra. Ezen felül lognormális eloszlás feltételezésével a liposzóma minta méreteloszlását is meghatároztuk. Ez az unilamellás liposzóma polialmasav adalékkal készült, ami a rendszer sztérikus stabilizását biztosította. A felsorolt jellemzők mellett a polialmasav (pontosabban oligo-almasav, mert a tagszám 5-7 közötti érték volt).

Unilamellás liposzóma szerkezetvizsgálata (4)

Az unilamellás liposzóma radiális irányú elektronsűrűség profilja. A komponensek elhelyezkedését nem lépcső-profillal, hanem a valós helyzetnek jobban megfelelő Gauss-függvényekkel írtuk le.

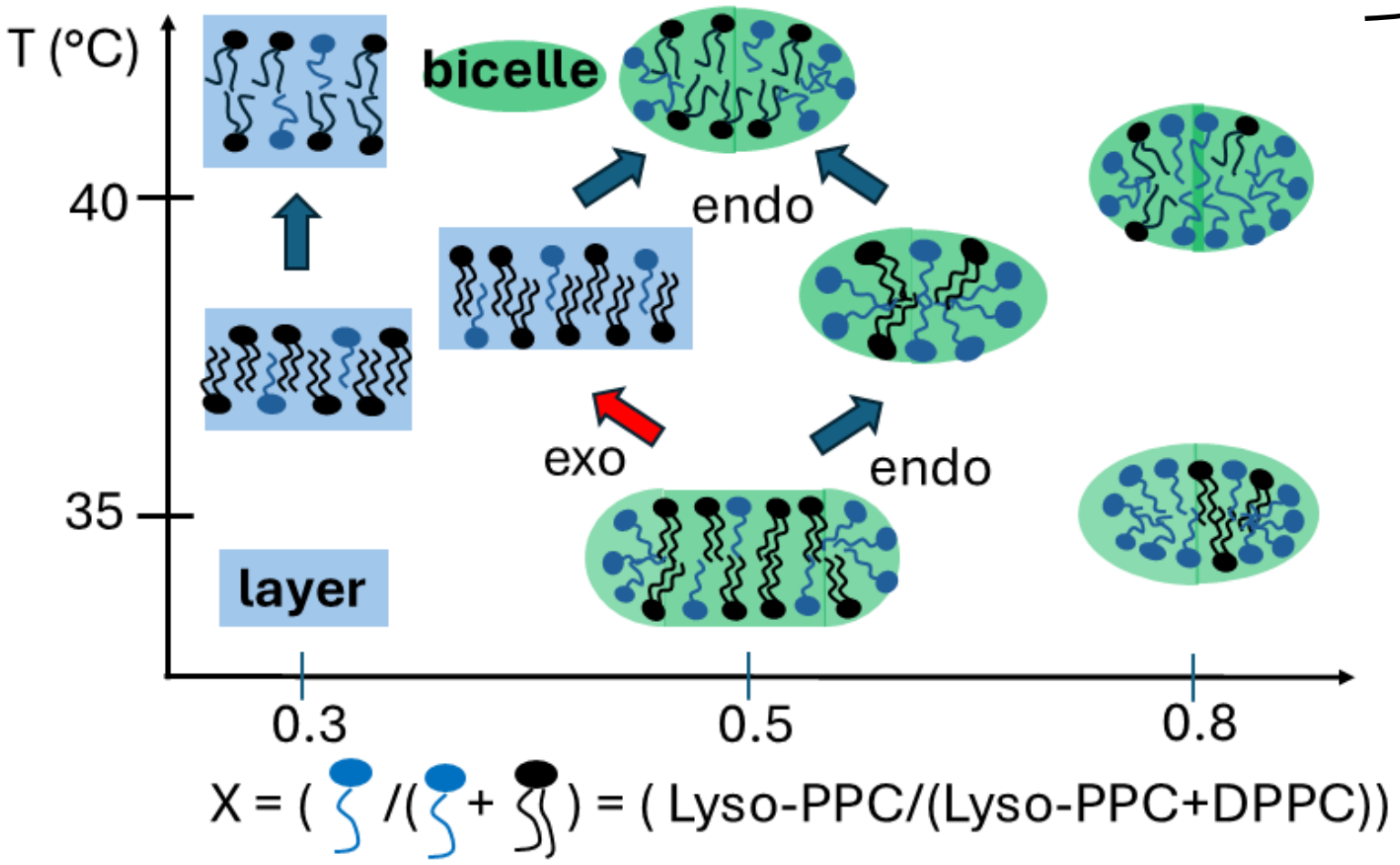
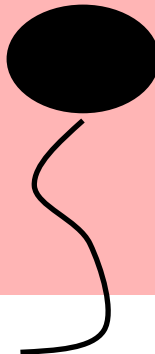


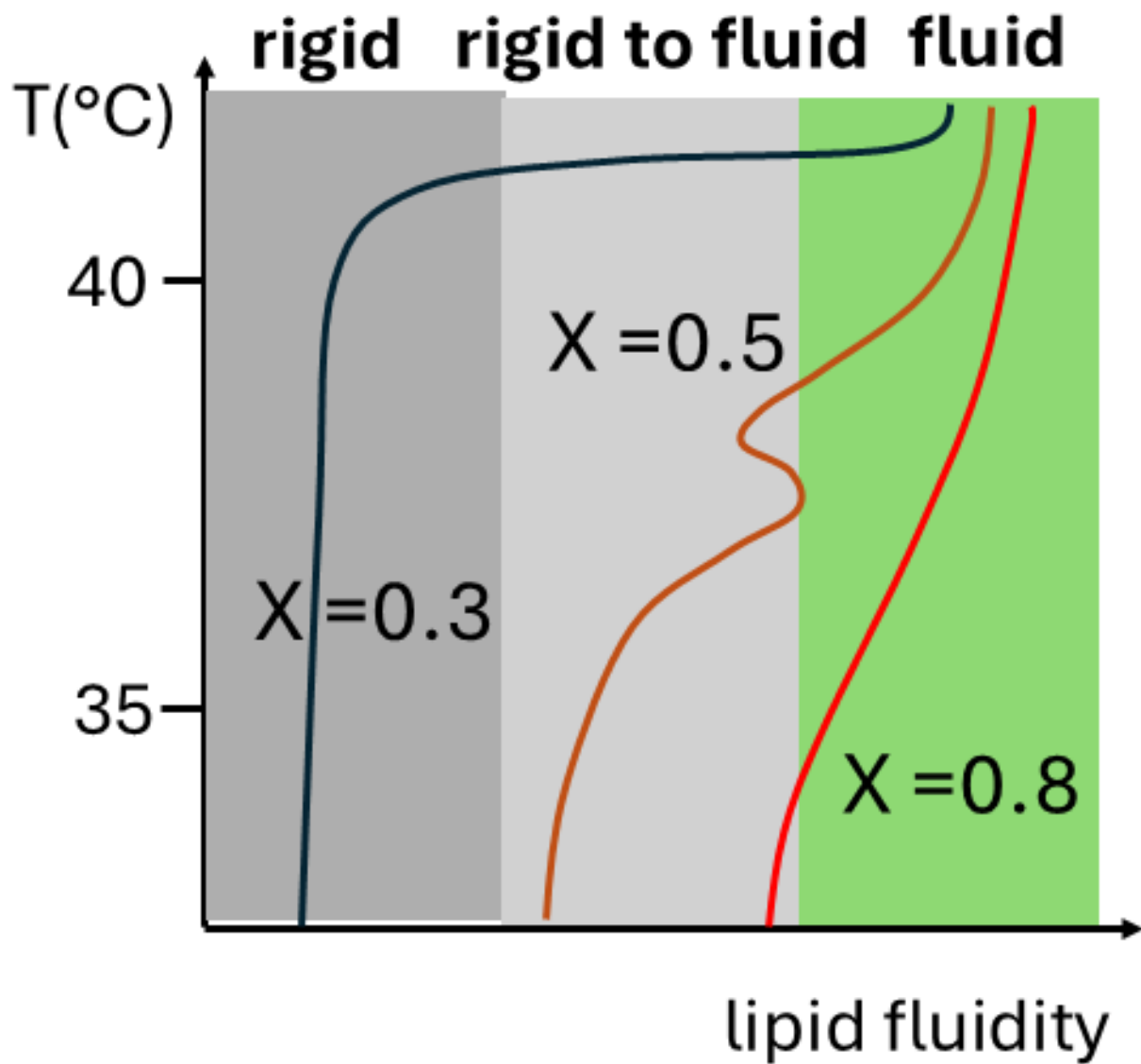
A vendégmolekulák jelenléte miatt, az általuk okozott elektronsűrűség „többlet” további Gauss görbék hozzáadását indokolja.

További Gauss görbék > „vendégmolekulák” kettősrétegen belüli elhelyezkedését írja le.

Lizo-foszfolipidek szerepe a szerkezetformálásban:

„Become markers in connection with several diseases”



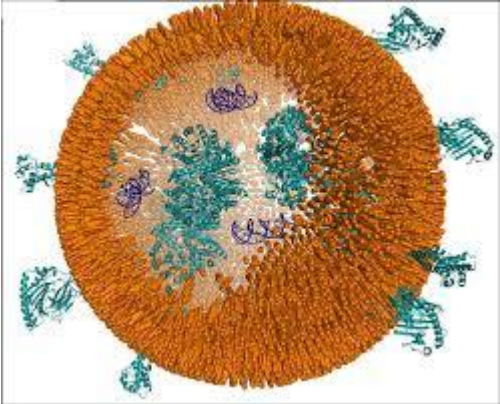
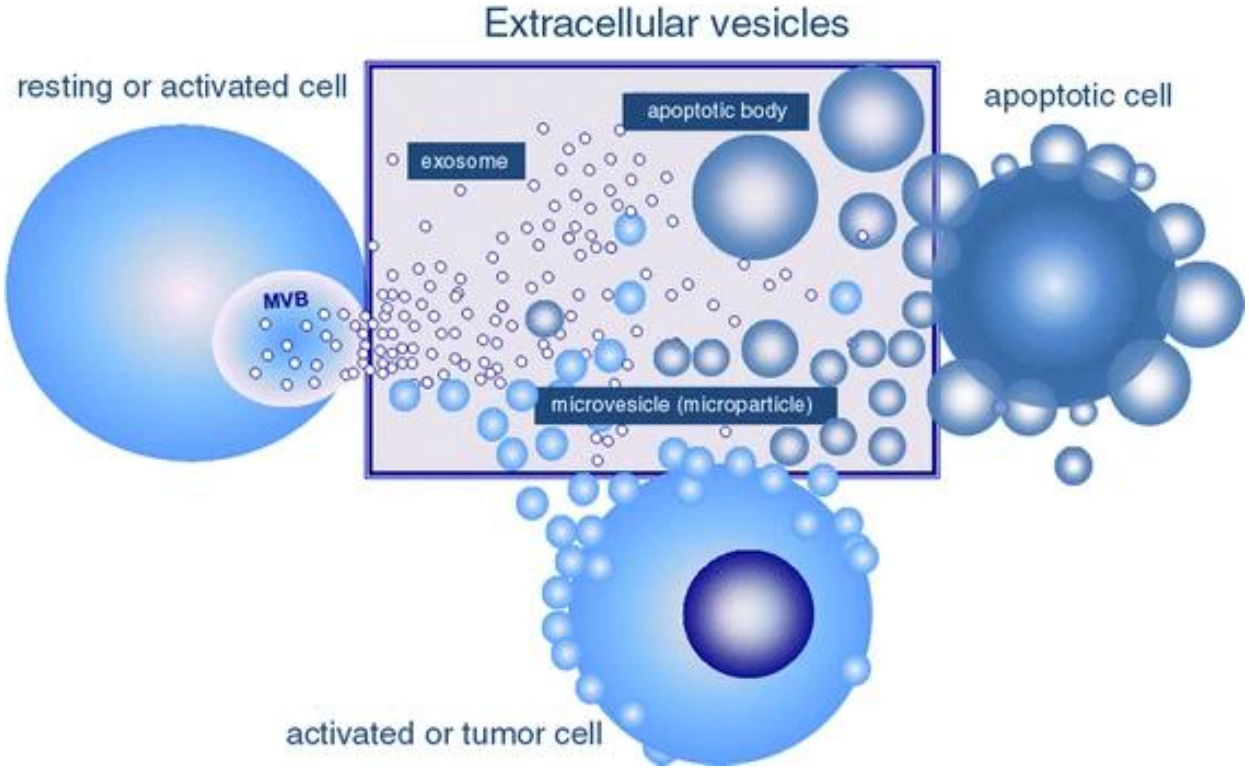


Unilamellás liposzóma-szerű alakzatok természetes előfordulása

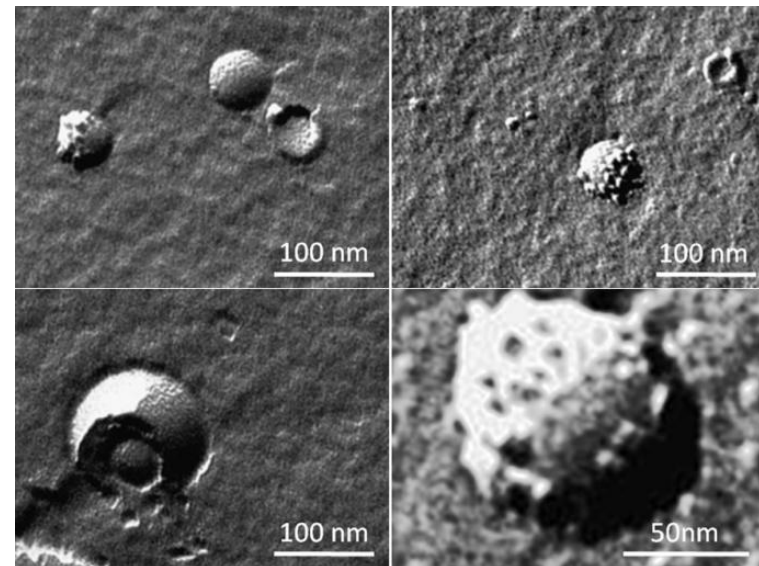
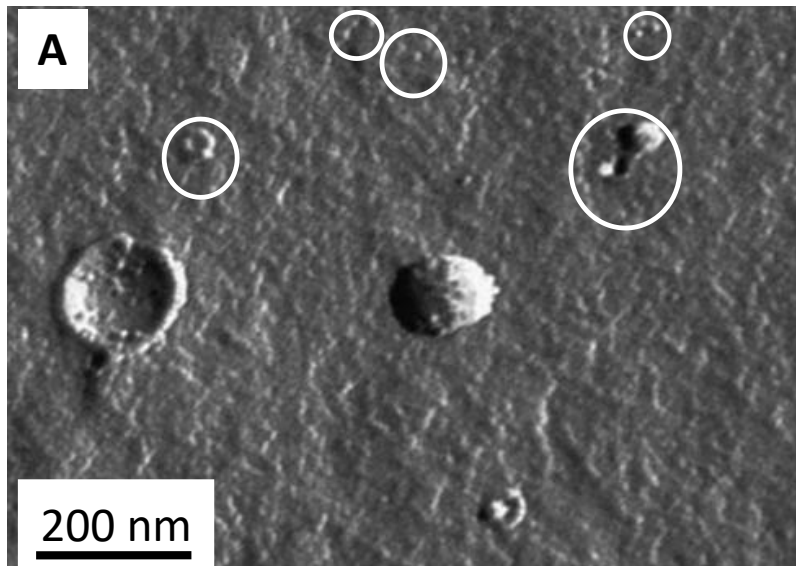
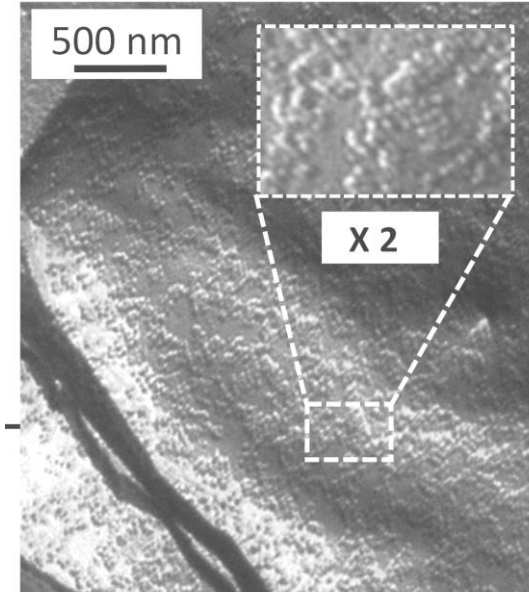
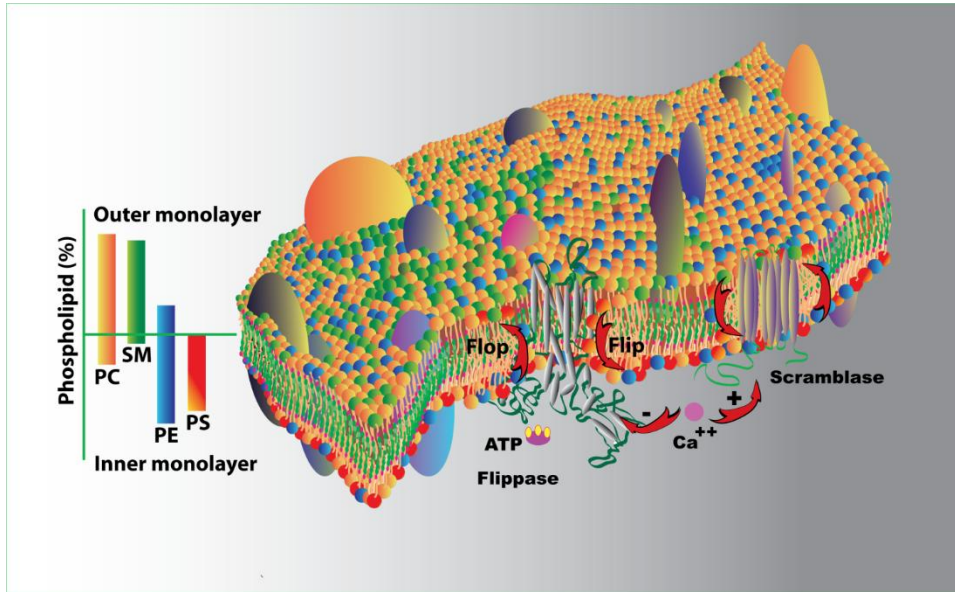
Lizoszómák

Extracelluláris vezikulák, exoszómák

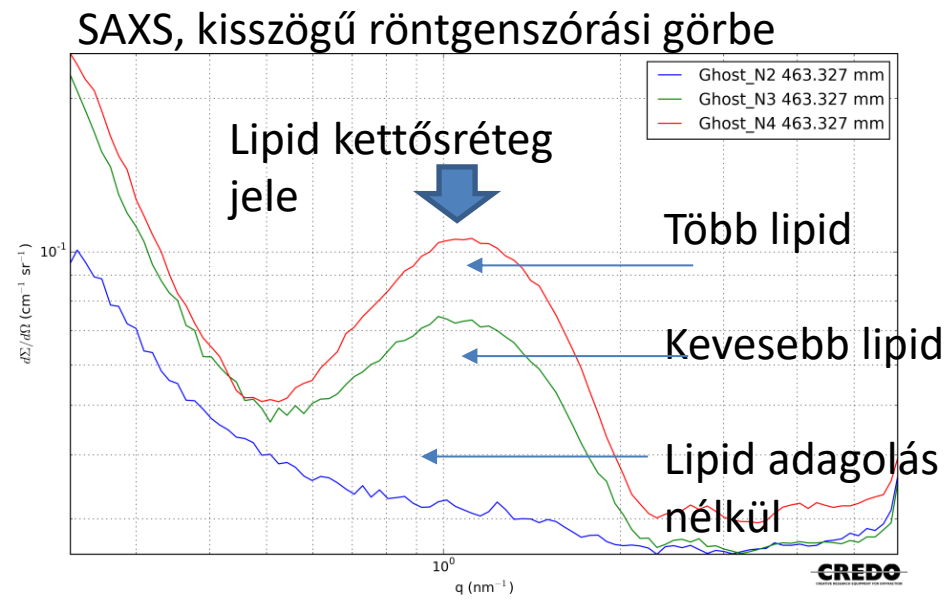
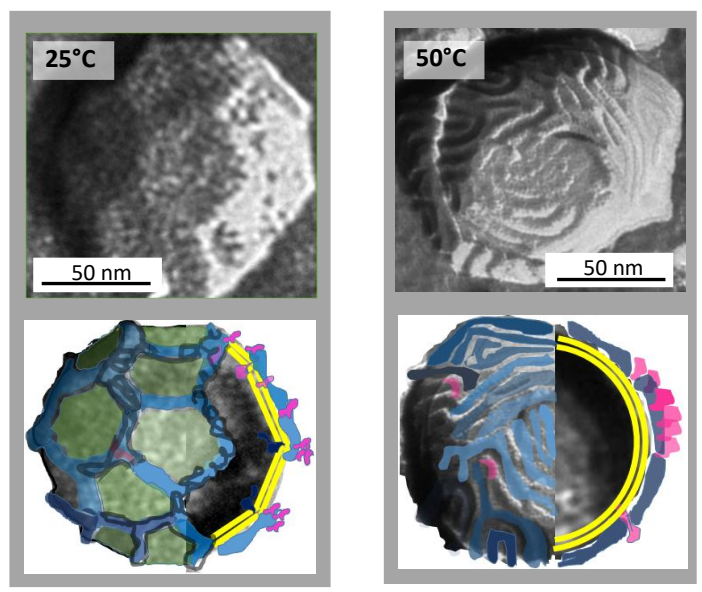
Hibrid vezikuláris rendszerek: természetes és mesterséges komponensek együttese:
Nanoerythrozmák



Nanoeritroszómák, a vörösvértest membránjából, az ún. ghosztból

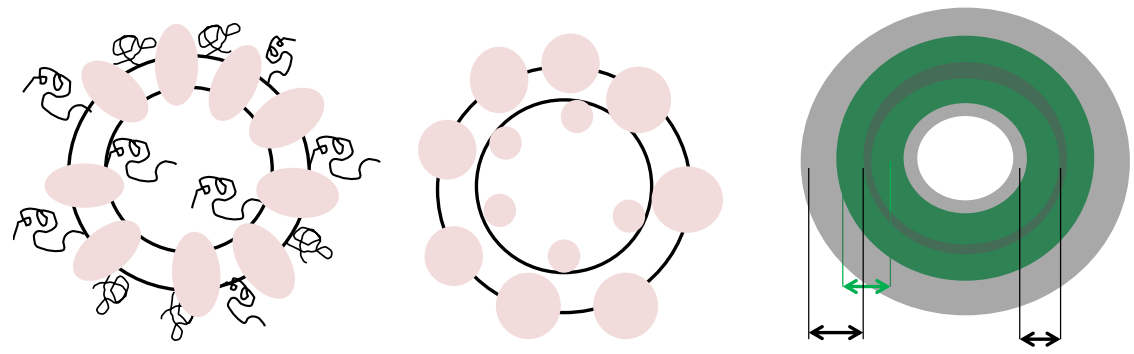


Nanoeritroszómák, a vörösvértest membránjából, az ún. ghosztból



Membránmimetikus, szintetikus lipidek adagolásával szabályozott méretű nanohordozók preparálhatók

Kisszögű röntgenszórási (SAXS) görbe alapján szerkezeti modell leírás



Unilamellás liposzómák készítése

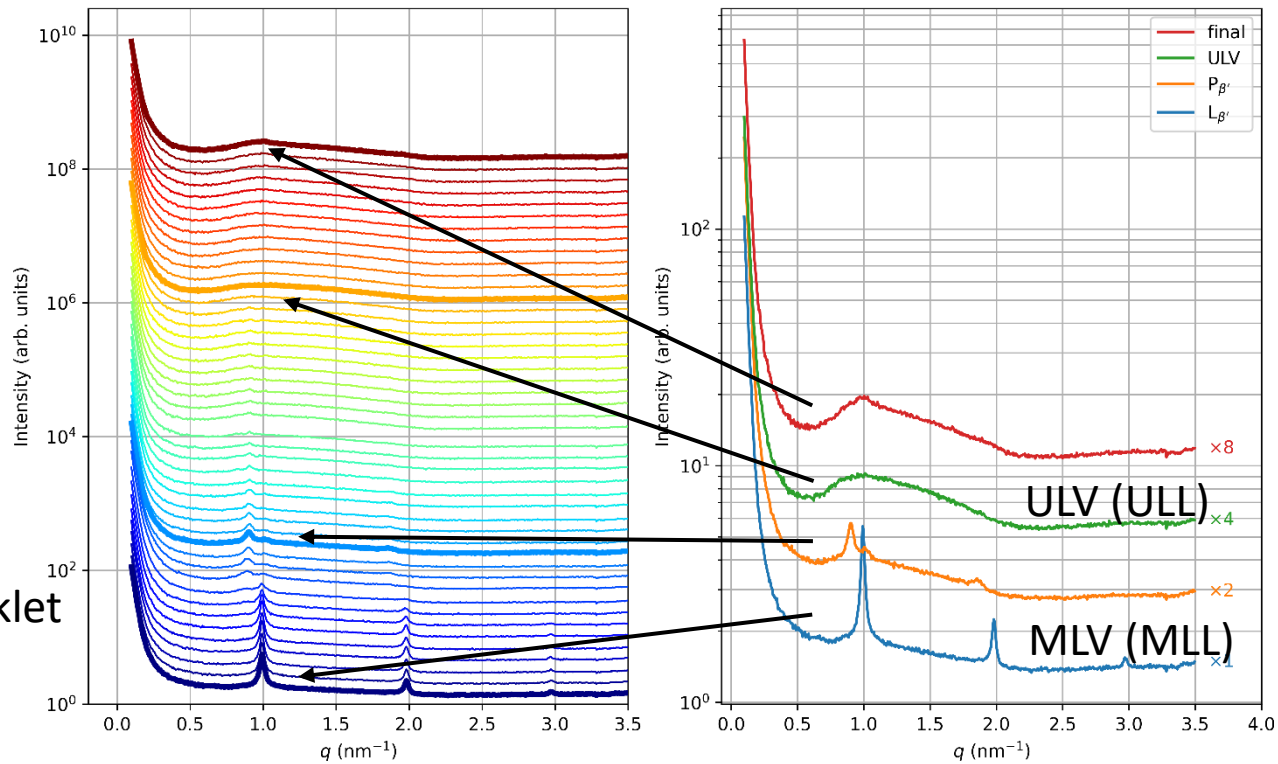
Kiindulás multilamellás formákból MLL (MLV)

Adalék nélkül; extrudálás, ultrahangozás (detergens dialízis, alkohol injektálás)

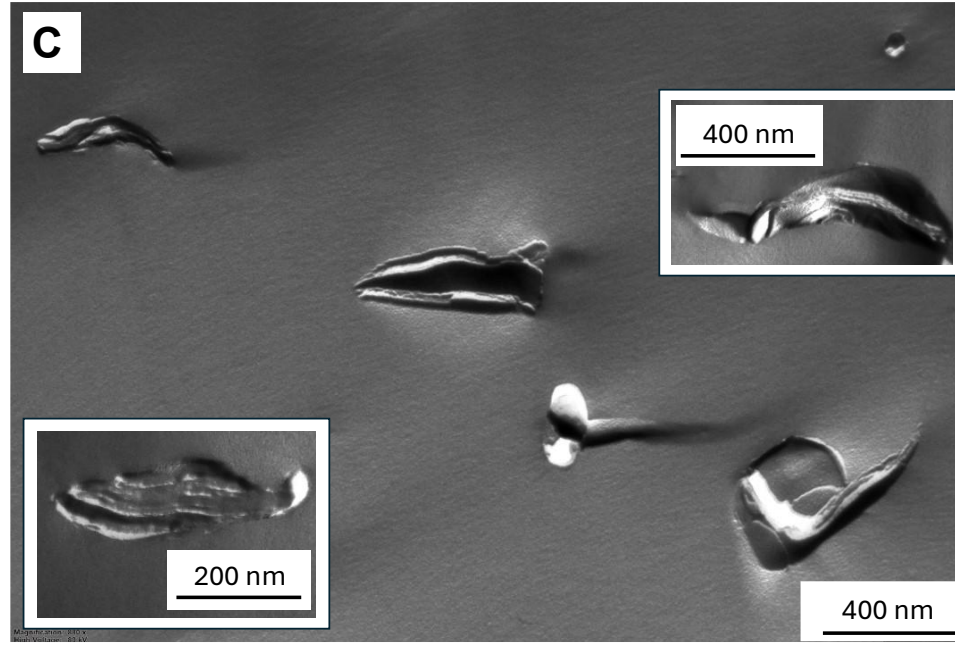
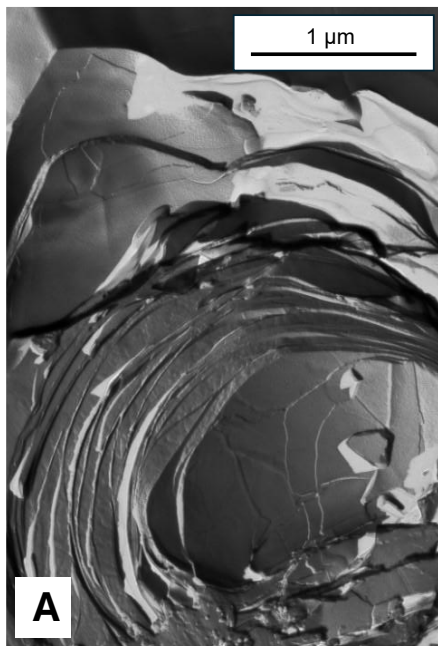


Idő,
hőmérséklet

Az ultrahang ULL –re kifejtett hatásának vizsgálata kisszögű röntgenszórással (SAXS)



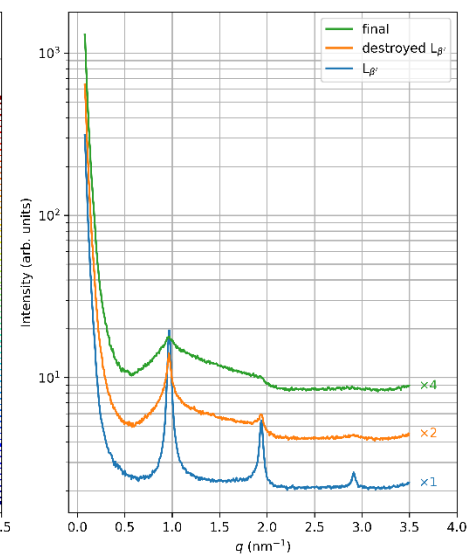
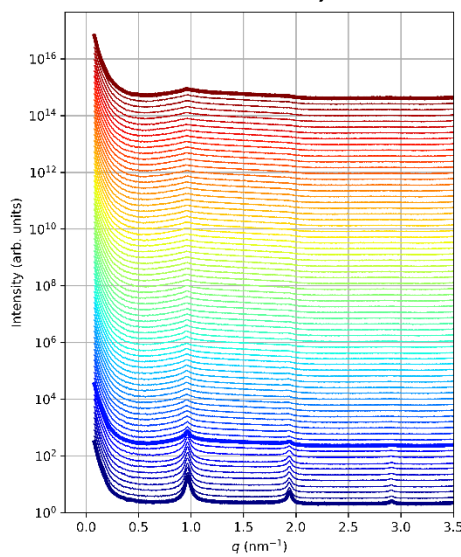
Unilamellás liposzómák készítése és lamellaritásának (=réteges szerkezetének) kontrolja



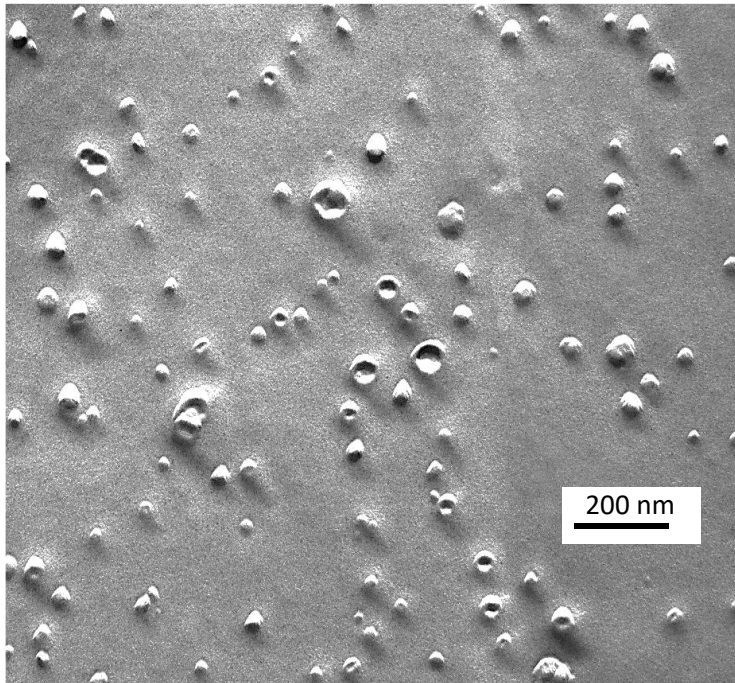
MLL (DPPC/víz), 1.5 w/w%, 28°C

MLL (DPPC/víz), 1.5 w/w%, 28°C,
Ultrasonication, 3 óra

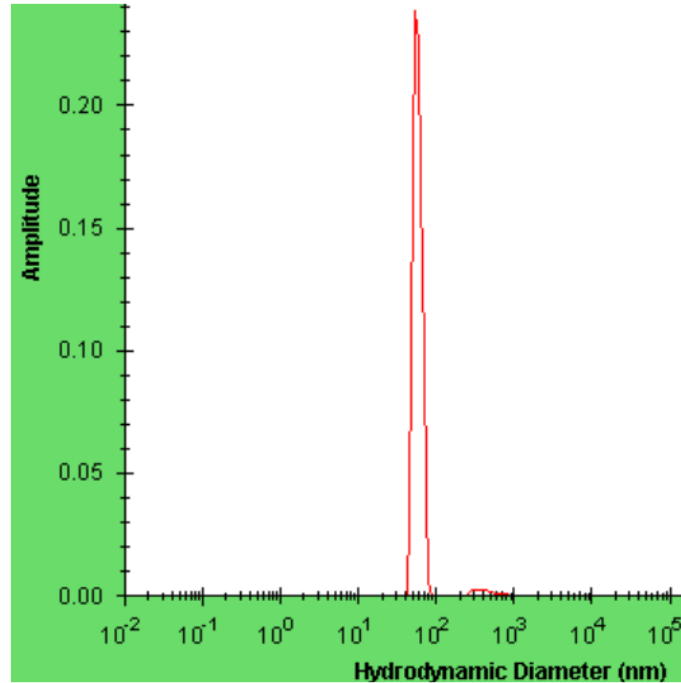
Gél állapotban (DPPC esetében 28°C)
nincs unilamellás forma!!



Unilamellás liposzómák készítése és lamellaritásának (=réteges szerkezetésenk) kontrolja

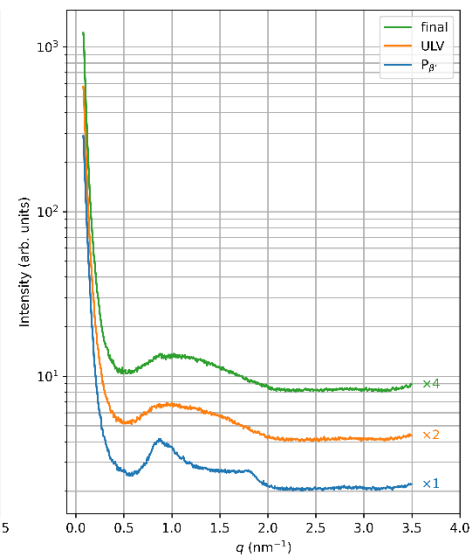
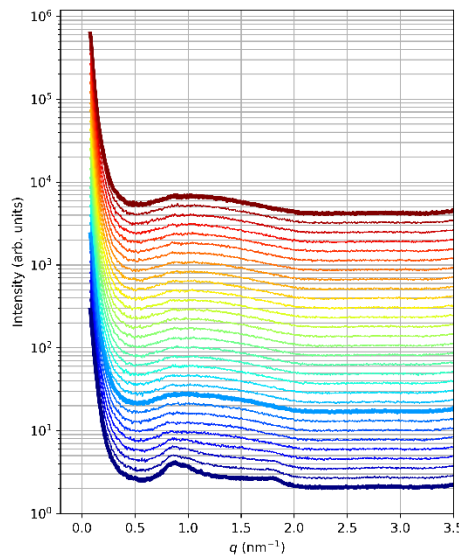


MLL (DPPC/víz), 1.5 w/w%, 38°C



Méreteloszlás: DLS

SAXS kontrol:
5' után ULL

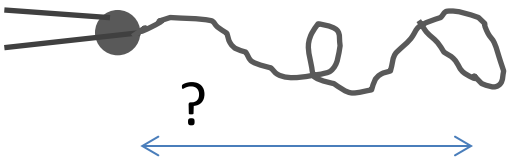
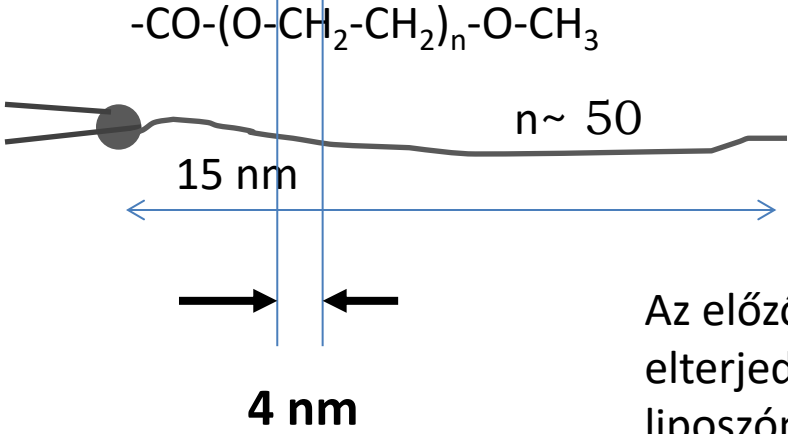
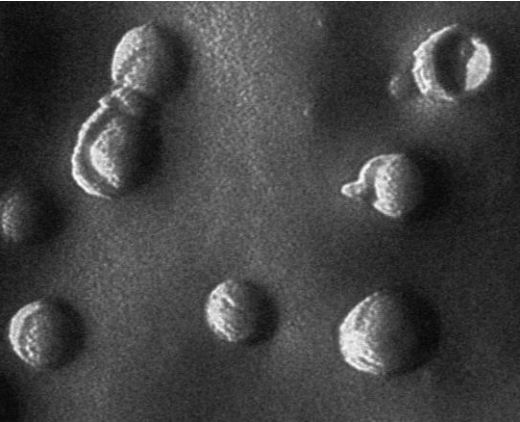
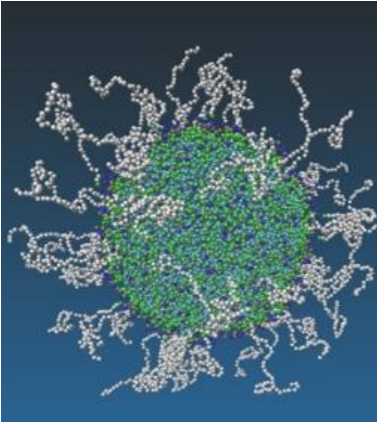
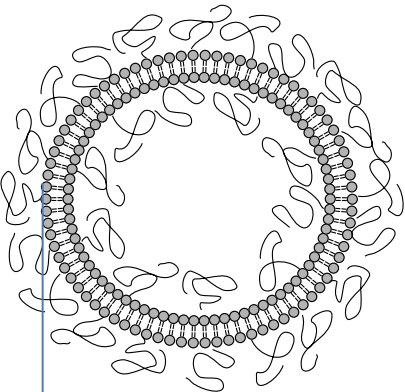
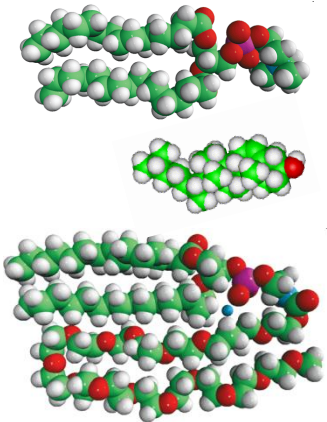


SZTÉRIKUSAN STABILIZÁLT VEZIKULÁK

DPPE-PEG (2000) POLIMER LÁNCÁNAK JELLEMZÉSE

a DPPC (HSPC) – KOLESZTERIN – DPPE-PEG (2000) –ből álló rendszerben

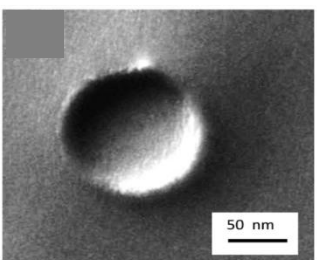
Extrudálás után (a polikarbonát szűrű pórusátmérője 80 nm)



Az előzőekben tárgyalt módon az orvosi célra elterjedt, sztérikusan stabilizált „PEGylált” liposzómák külső oldalán elhelyezkedő PEG láncok által formált héjréteg vastagságát határoztuk meg.

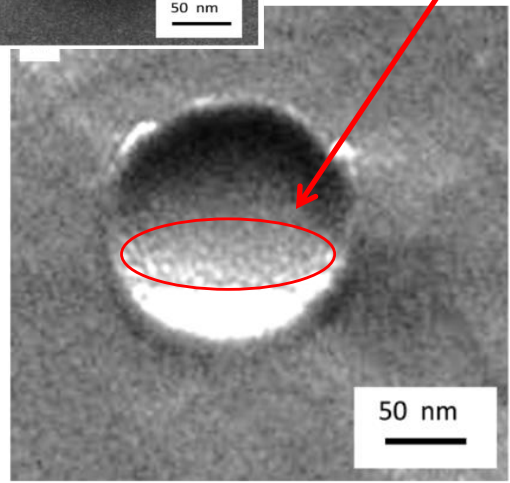
Unilamellás liposzóma szerkezetvizsgálata : *Tripszinnel* töltött vezikulák (5)

A tripszin az érfalon lerakódott plakkok elemésztésére szolgál

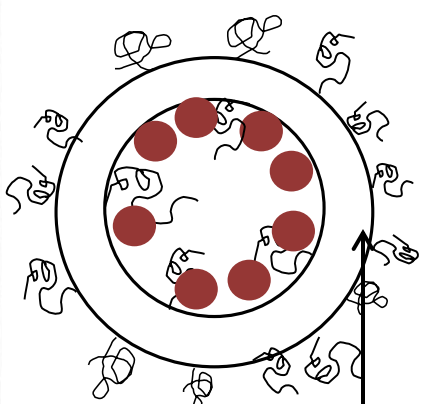


referencia: töltetlen vezikula

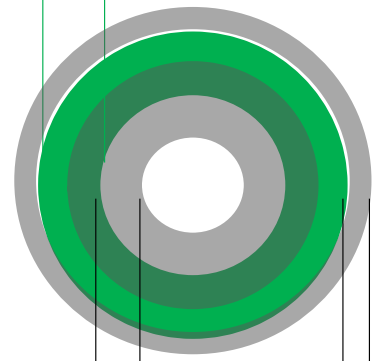
Szemcsés belső felszín



Héj-modell a röntgenszórás alapján



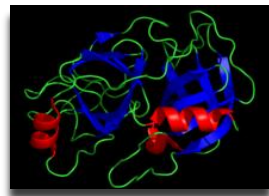
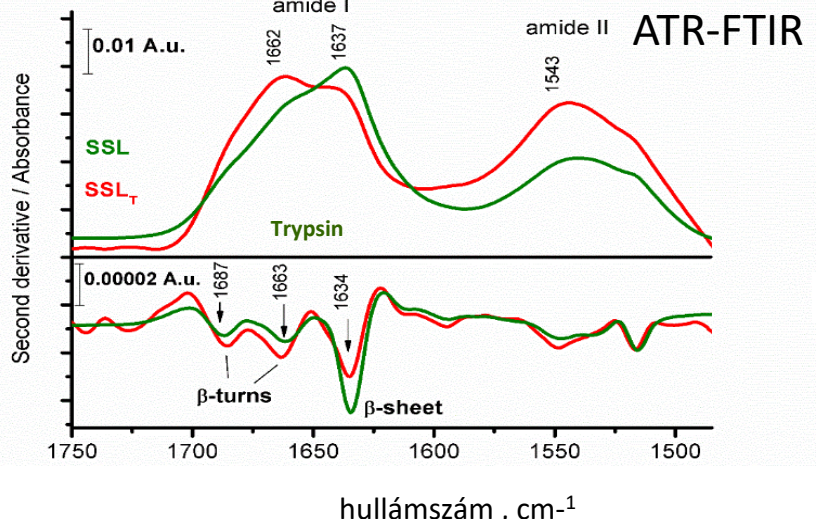
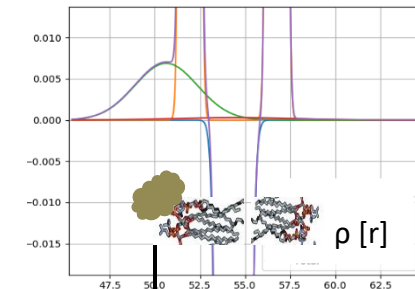
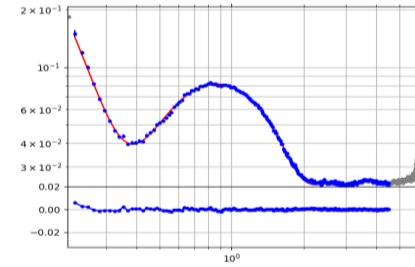
bilayer, 4 nm



inner layer with trypsin, 5.7 nm

Outer Layer, 4.4 nm

1D szórásgörbe



α -hélix	9%
β -redő	44%
β -kanyar	38%
random	9%

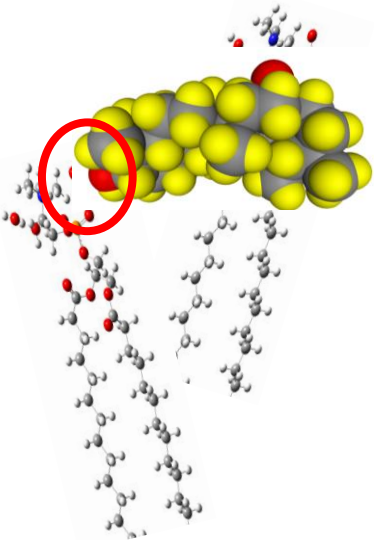
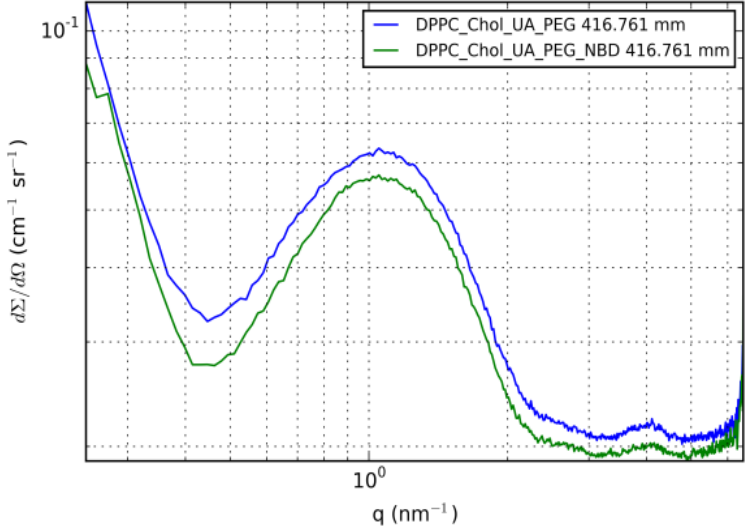
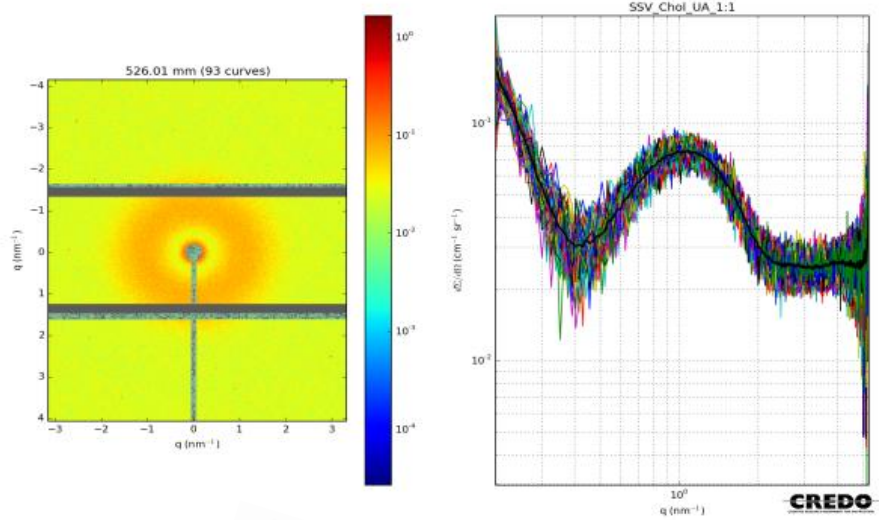
<http://en.wikipedia.org/wiki/Trypsin>

A tripszin a hidofil/hidrofób határfelületi tartományában helyezkedik el – lokalizált

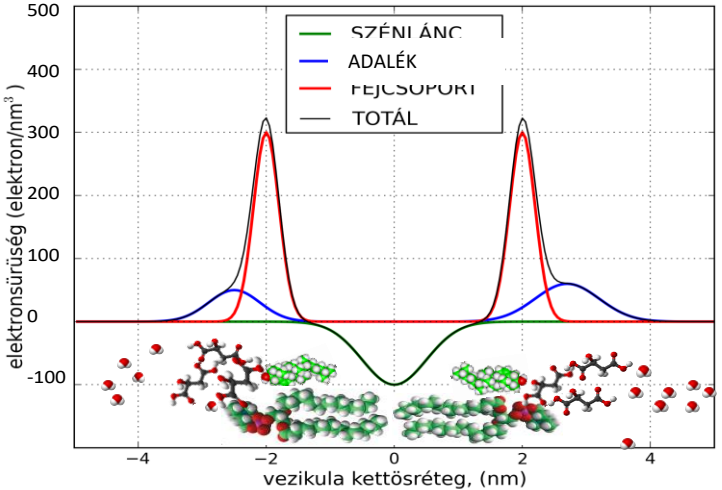
A kettősréteg elektronsűrűség profilja

Unilamellás liposzóma szerkezetvizsgálata: urzolsav lokalizációja (5)

DPPC-Koleszterin-Urzolsav-PEG (3-1-1-0,06) PBS-ben (10mM)
DPPC-Koleszterin-Urzolsav-PEG-NBD (3-1-1-0,06-0,03) PBS-ben (10mM)
ULV Kiszögű röntgenszórása



a kettősréteg vastagsága
a kettősréteg részletei



SZÉLES KARAKTERISZTIKUS MÉRETTARTOMÁNY

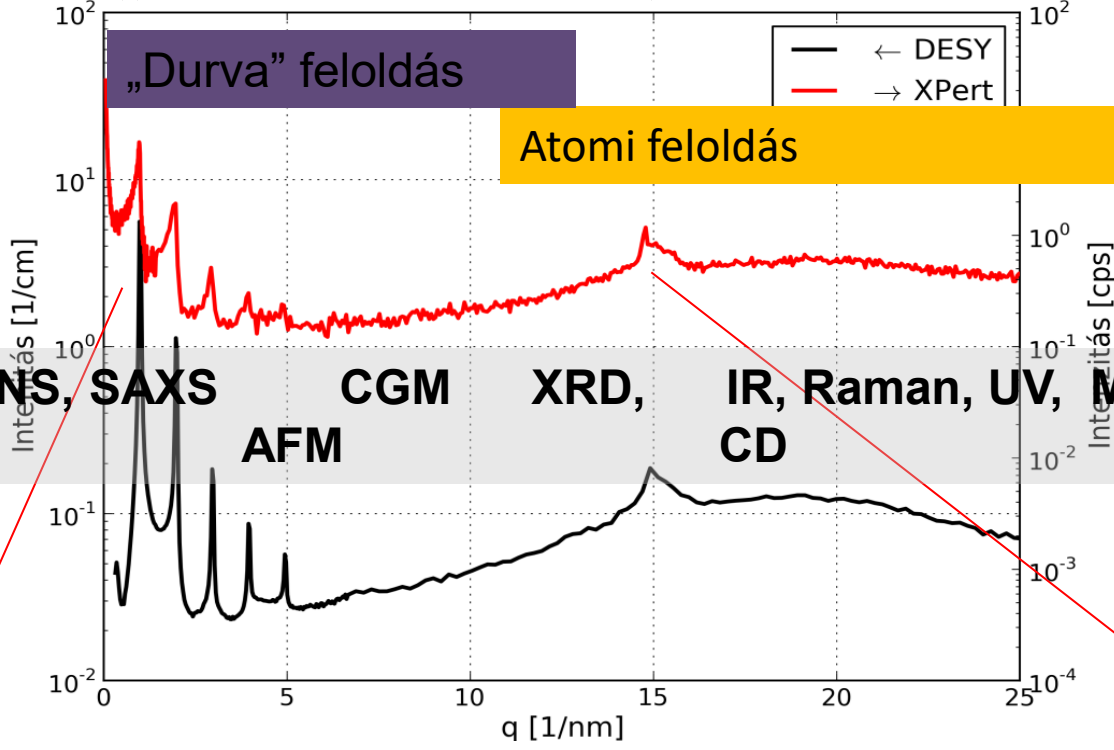
100 nm

10 nm

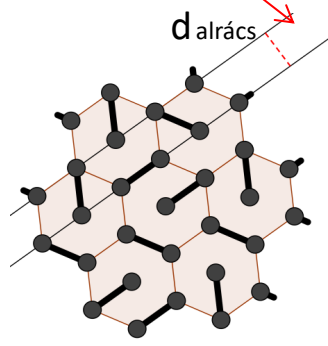
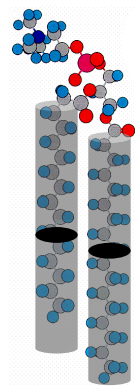
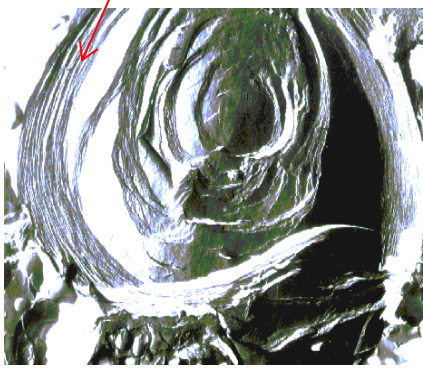
0.4 nm

max: 250 nm

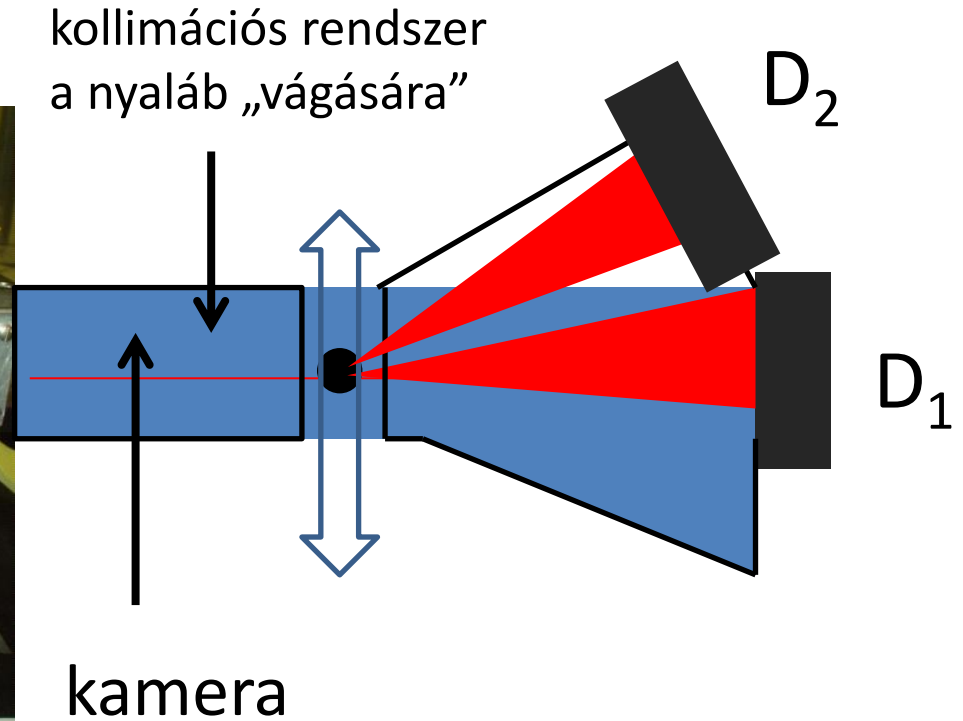
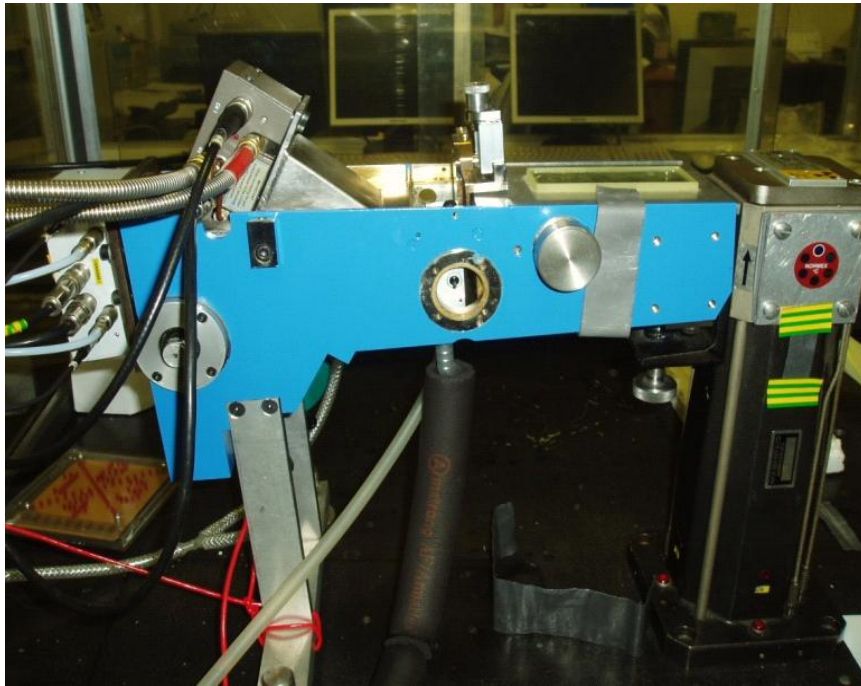
min: 0.08 nm



TEM, DLS, SANS, SAXS, AFM, CGM, XRD, IR, Raman, UV, MD, MM, CD



A kisszögű szórás mérésének technikája elterjedt laboratóriumi berendezés



D_1 : kisszögű szórás/diffrakció 1 – 100 nm

D_2 : nagyszögű diffrakció 0,3 – 0,5 nm
párhuzamosan álló lipidek tipikus távolsága

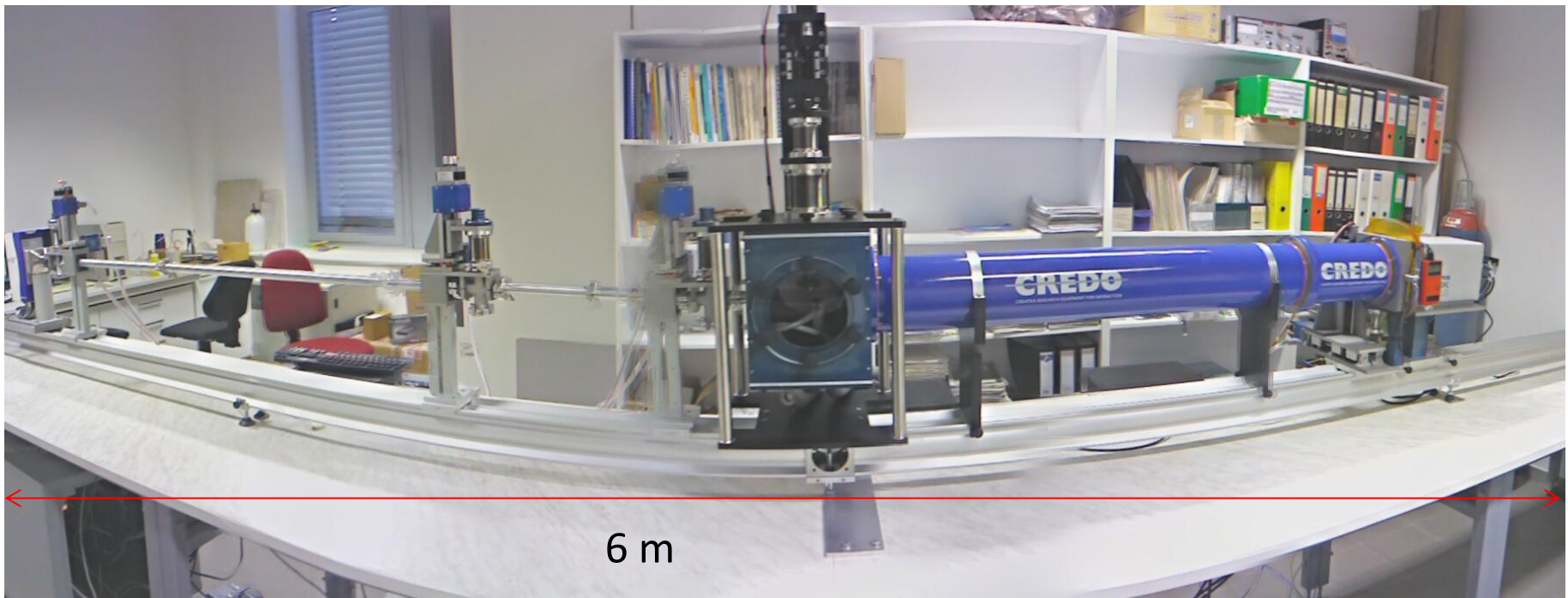
Laboratóriumi nagyberendezések

GeniX3D Cu ULD röntgenforrás (30 W) Pilatus-300k kétdimenziós, helyérzékeny detektor 3575 mm motorizált mintamozgatás, hőmérséklet, mágneses tér, nyírás. . .

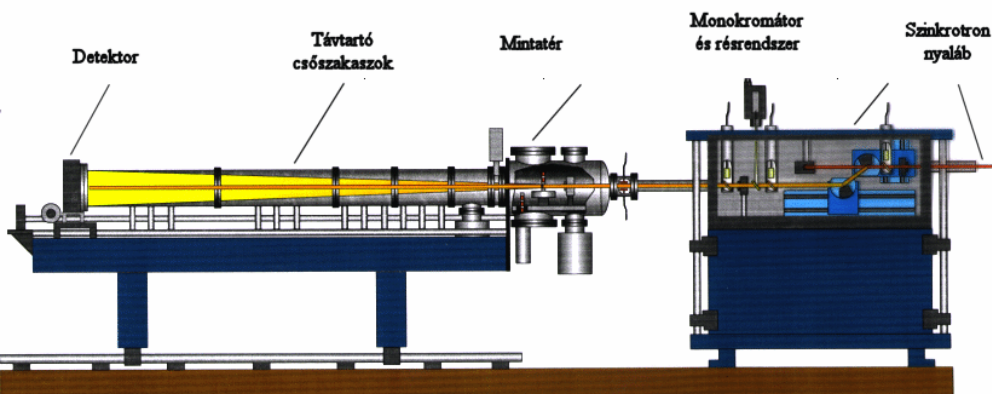
Változtatható minta-detektor távolság: széles szögteromány lefedhető
($q = (4\pi/\lambda)\sin \Theta$: [0.019; 30] nm⁻¹ ami a 0.2-320 nm-es mérettartománynak felel meg)

Teljesen automatizált működés (10 db. léptetőmotor). Felhasználóbarát adatgyűjtő, -tároló és -kiértékelő szoftverrendszer, automatikus mérési programok.

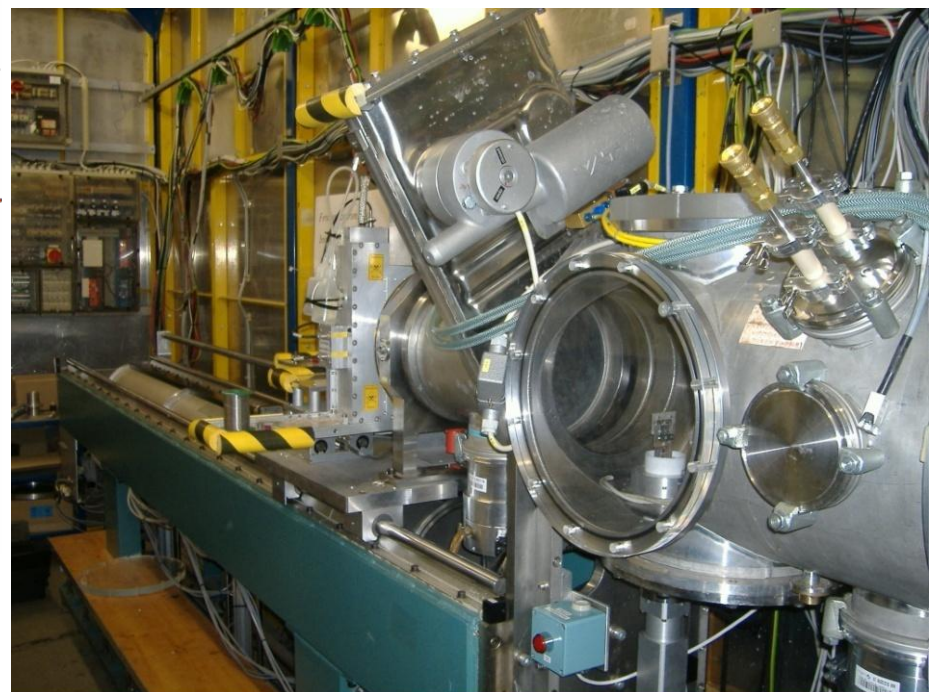
Az Európai Bizottság Közös Kutatóközpontja (Institute for Reference Materials and Measurements, Joint Research Centre of the European Commission, Geel, Belgium) által tanúsított SAXS laboratórium



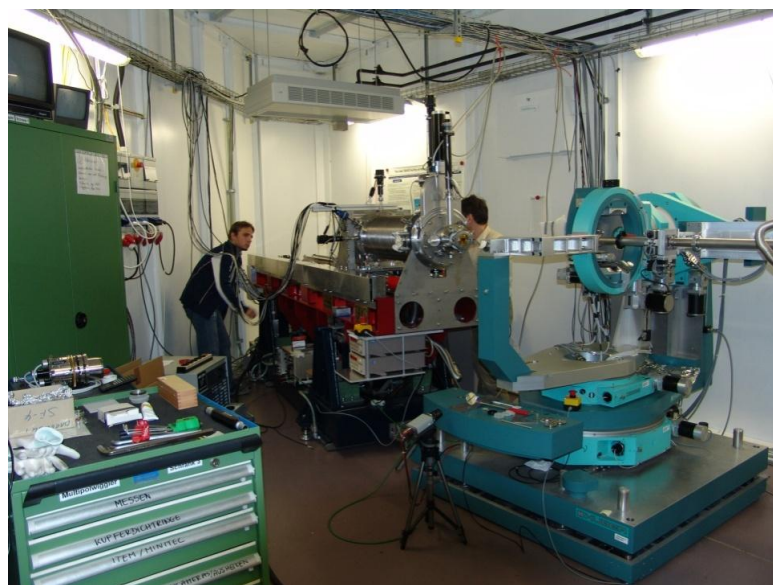
JUSIFA SAXS (ASAXS) beamline, it was a unique good machine, prototype for other apparatus



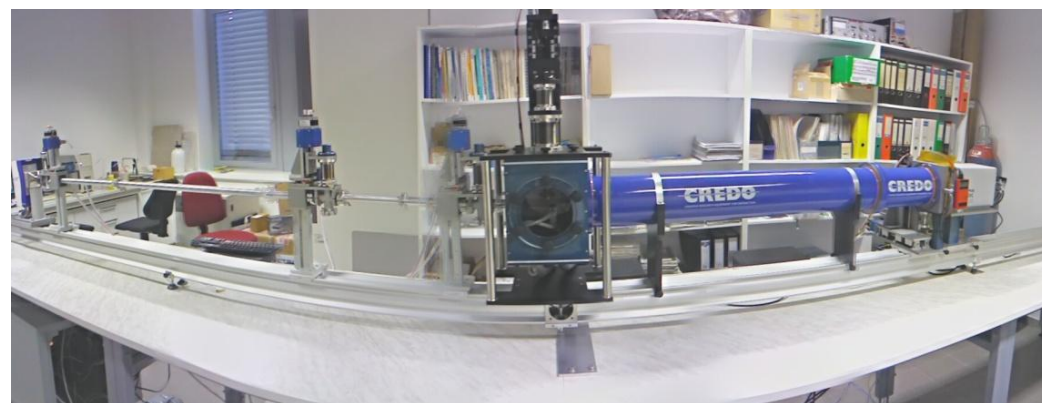
SAXS apparatus/DESY, Hamburg



SAXS at BESSY, Berlin



and a state of arts apparatus: „Credo” (MTA-TTK)



Fotonok mellett NEUTRONOK! (Grenoble, France)

ESRF

European Synchrotron Radiation Facility

ILL

Institut Laue-Langevin

