

# *A kisszögű röntgenszórás módszere és lehetőségei*

Bóta Attila

MTA TTK AKI

Biológiai Nanokémia Kutatócsoport



# *A kisszögű röntgenszórás módszere és lehetőségei*

Bóta Attila, Varga Zoltán, Wacha András

MTA TTK AKI

Biológiai Nanokémia Kutatócsoport



Varga Zoltán



Wacha András



1912: W.H.Bragg, W.L. Bragg: Bragg összefüggés

1914: M. von Laue, P.P. Ewald: a gyémánt és a grafit megkülönböztetése

W.H.Bragg, W.L. Bragg: a grafit rétegtávolságának meghatározása

1917: P. Debye, P. Scherrer: amorf szén

1930: P. Krishnamurti: a kyszögű röntgenszórás első kísérleti megfigyelése

1930-as évek:

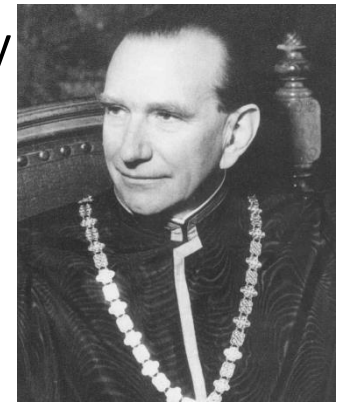
A. Guinier,

1940-es évek: G. Porod

1960-as évek: V. Luzatti

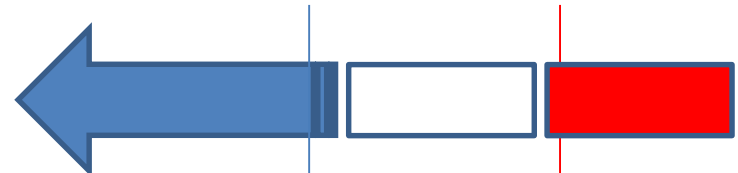


O. Kratky



*Die Welt der vernachlässigten Dimensionen und die Kleinwinkelstreuung der Röntgenstrahlen und Neutronen an biologischen Makromolekülen"*

*Vortrag in der öffentlichen Sitzung der Österreichischen Akademie am 16. Mai 1978, Otto Kratky, Graz*



## *Mi szóródik ? Röntgenfény*

nagy energiájú: 2 – (8) – 30 keV, átlagos: 8 keV, (0.15 nm hullámhossz)

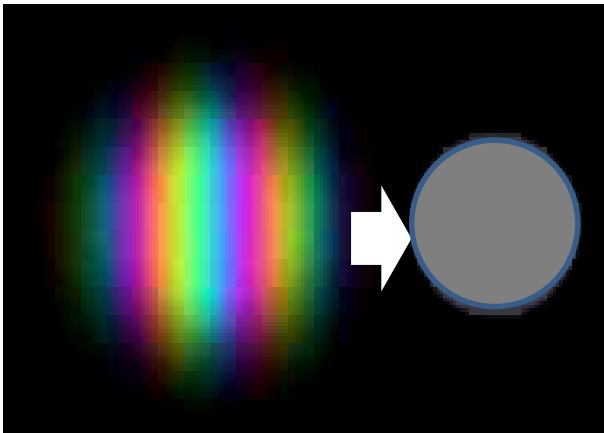
monokromatikus

nem koherens

nagy áthatoló képesség: ideális mintavastagság ( $d \sim 1/\mu$ )

eltérés a látható lézertől

## *Min szóródik ? Elektronon (protonon, elhanyagolható)*



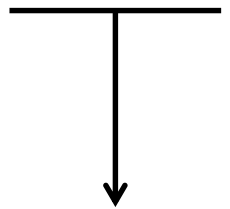
A klasszikus elektronsugár=  $2.82 \times 10^{-15}$  m  
( $e^2/r=mc^2$ )

elektron

atom

molekula

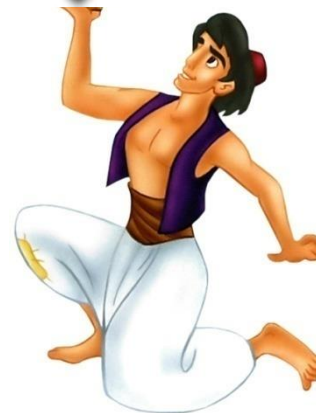
molekula (atom) - halmaz



1895: W. C. Röntgen: a röntgensugárzás  
felfedezése



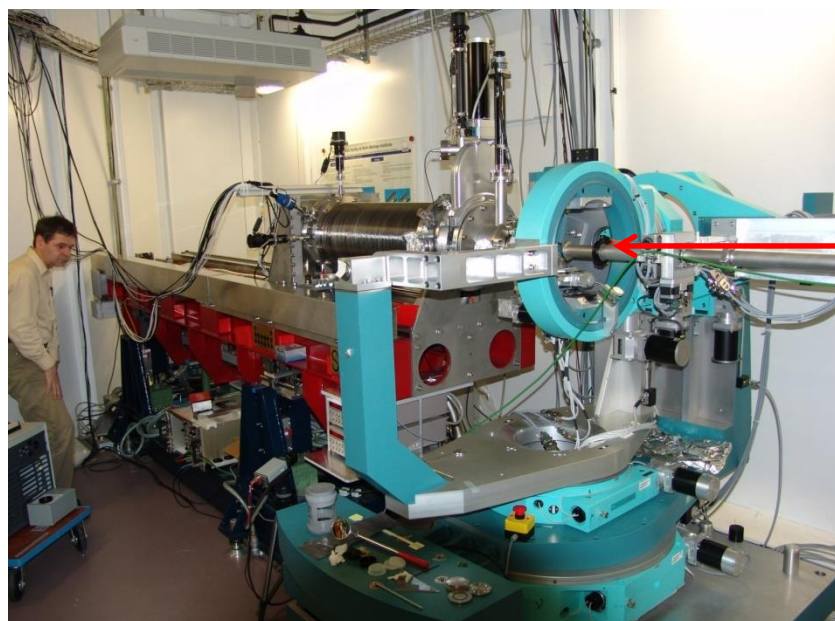
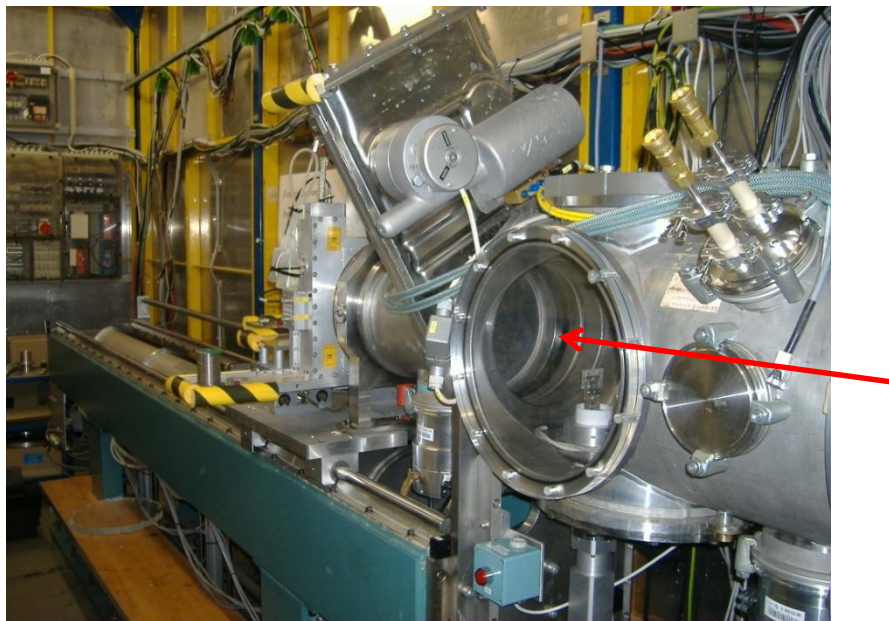
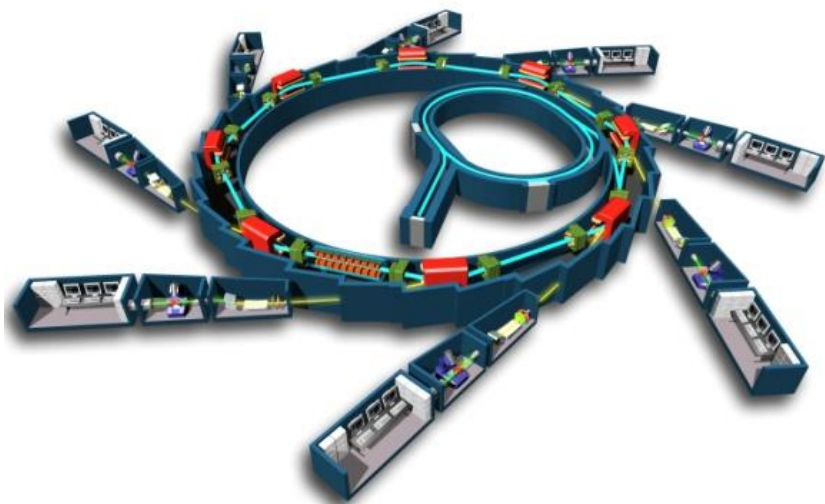
1990-től napjainkig: a szinkrotron  
sugárzás elterjedése

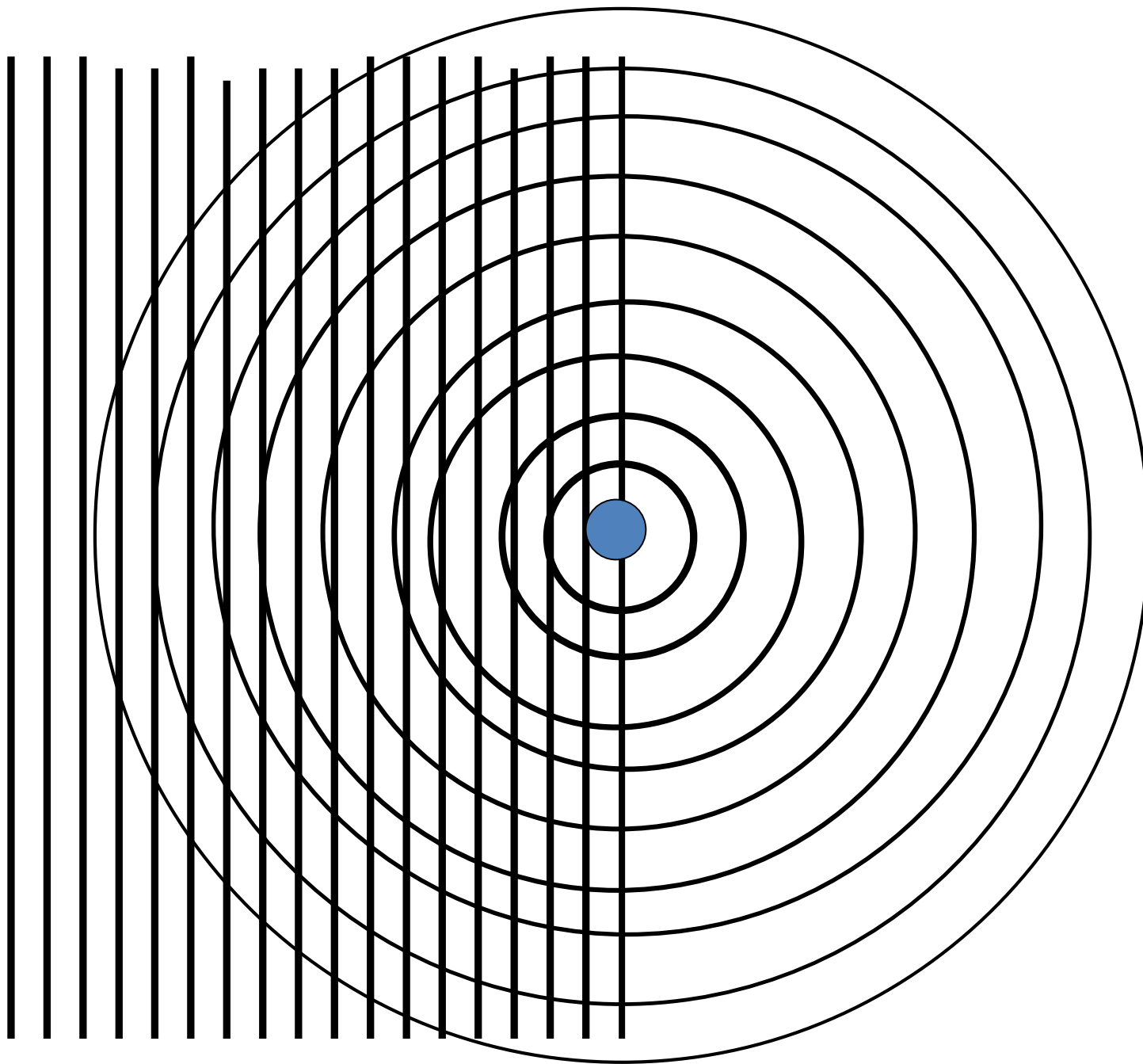


A XXI.sz.  
lámpása,

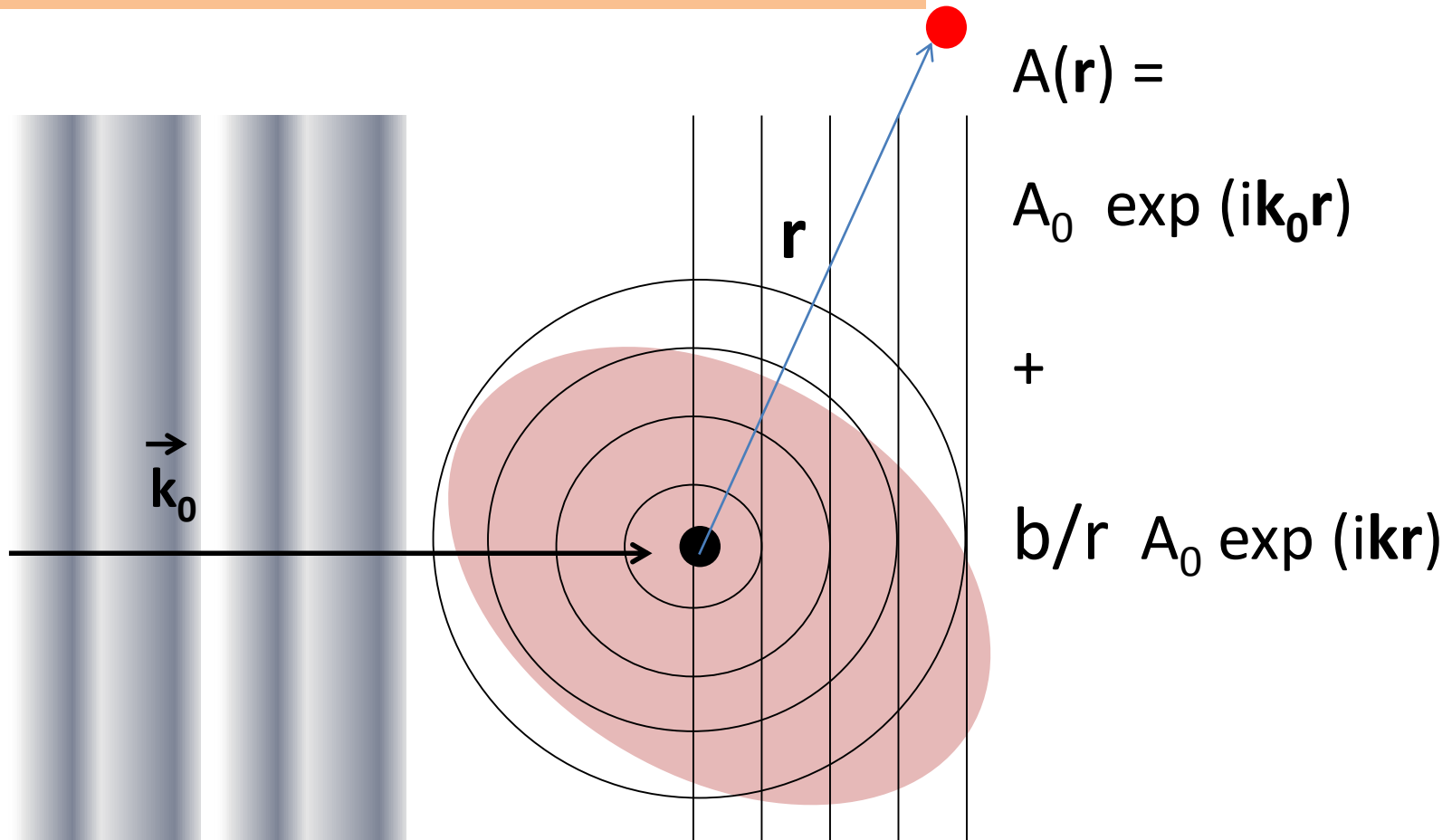
*P. Laggner  
Graz*







# A síkhullám szóródása



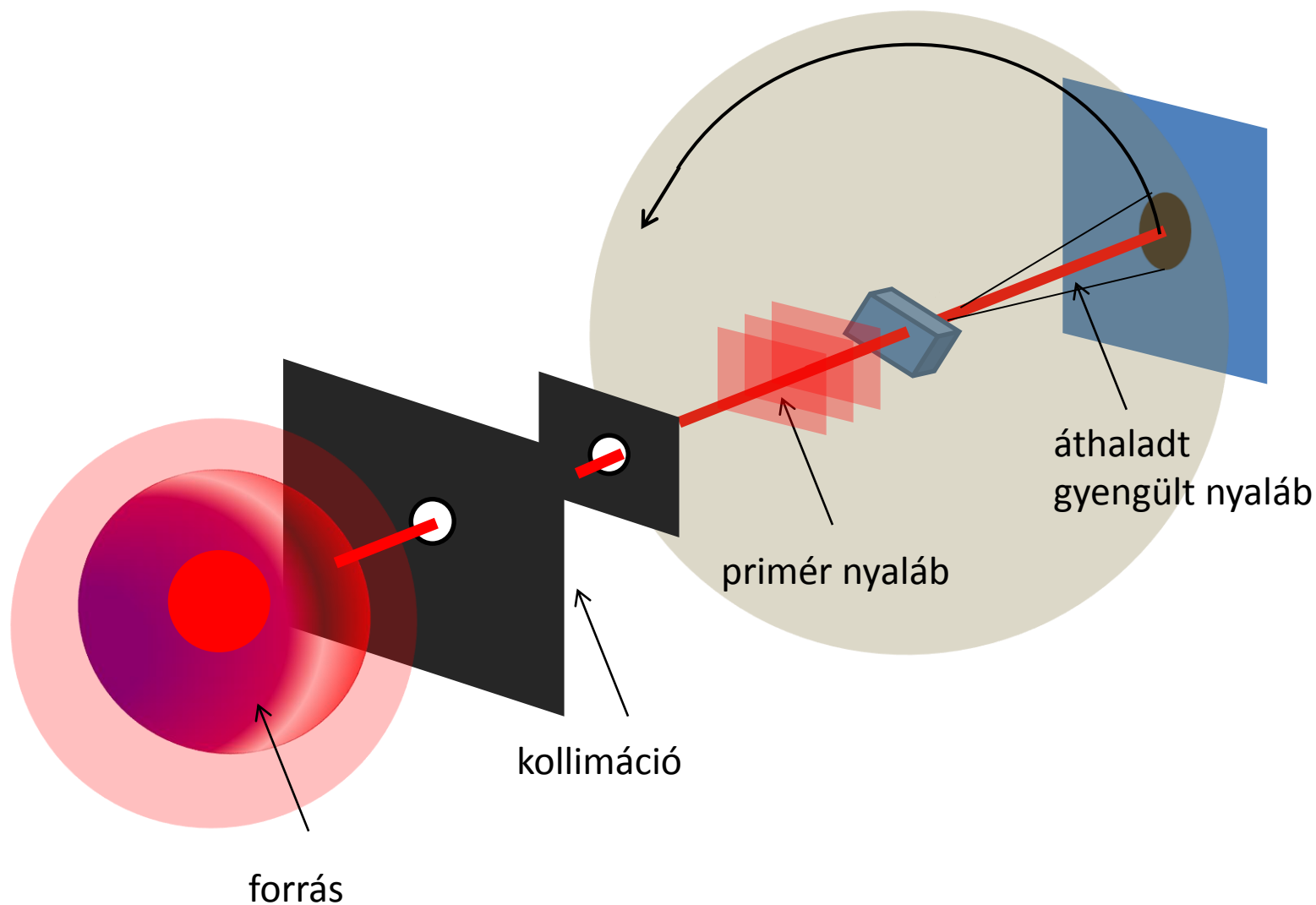
$\mathbf{k}$  , a hullámszám vektor ( $|\mathbf{k}| = 2\pi/\lambda$ )

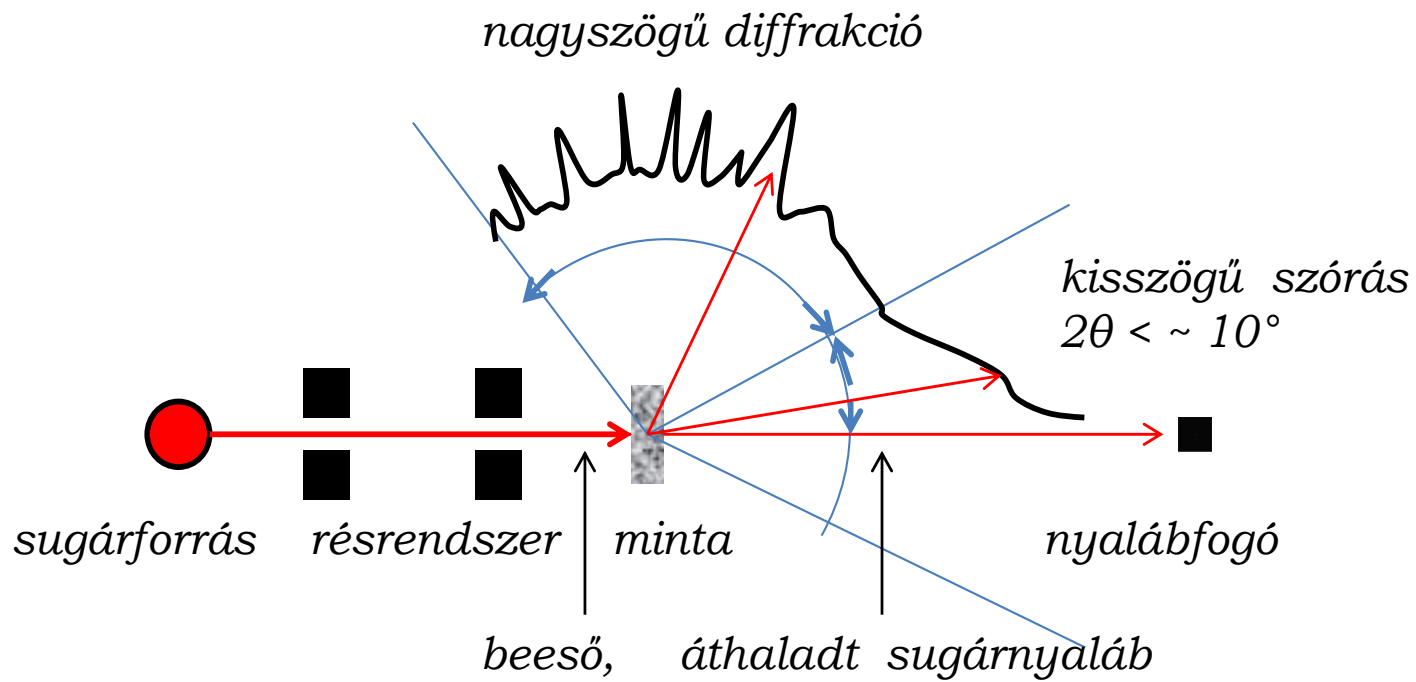
$b$  , a „szórási képesség” , szórási hossz

$>$  szórási sűrűség függvény , potenciál tér  $\varphi(\mathbf{r})$

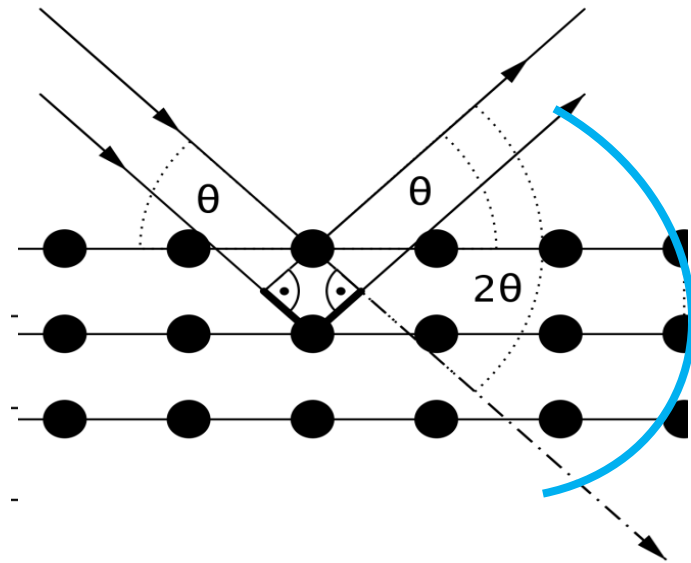


# Kisszögű szórás





## A szórási szög és a távolság közötti összefüggés: Bragg egyenlet



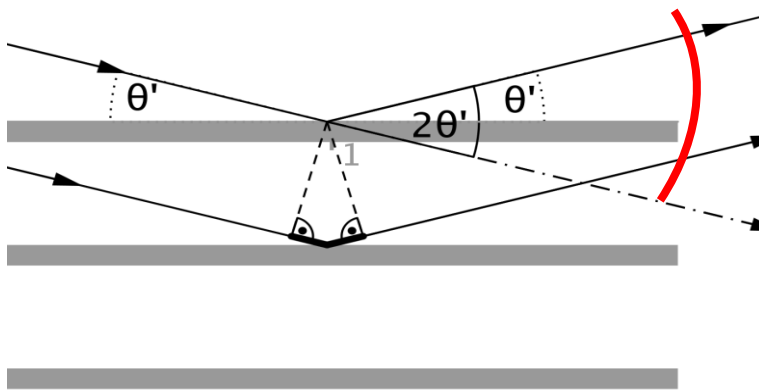
$$n\lambda = 2d \sin(\Theta)$$

$n$ , pozitív egész szám

$D$ , a rácssík távolság, periódus

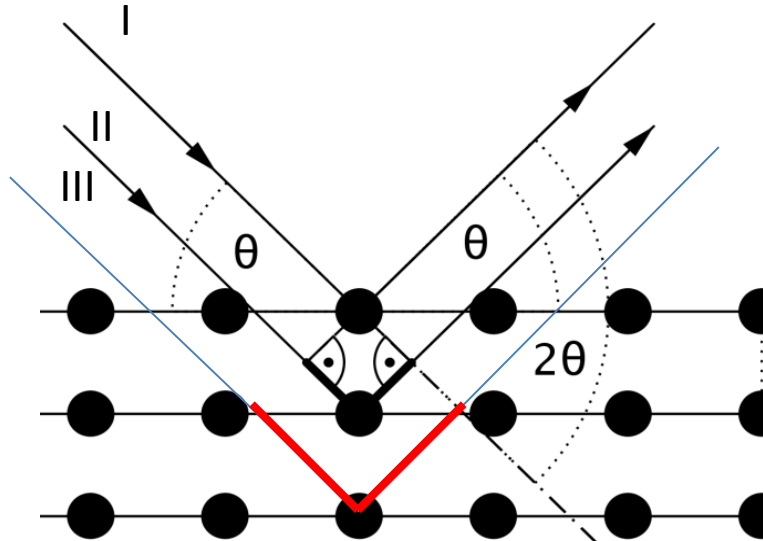
$\Theta$ , a beesési szög

(a beérkező sugár iránya és az adott sík által bezárt szög)



$d(\text{nm})$	$2\Theta (^\circ)$
0,1	100,4
1,0	8,8
10,0	0,88
100,0	0,088
(1000,0	0,0088
10000,0	0,0008)

## A szórási szög és a távolság közötti összefüggés: Bragg egyenlet



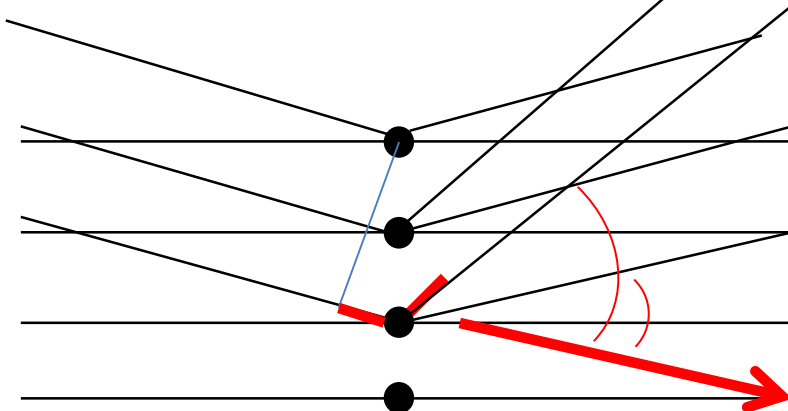
$$n\lambda = 2d \sin(\Theta)$$

$n$ , pozitív egész szám

$D$ , a rácssík távolság, periódus

$\Theta$ , a beesési szög

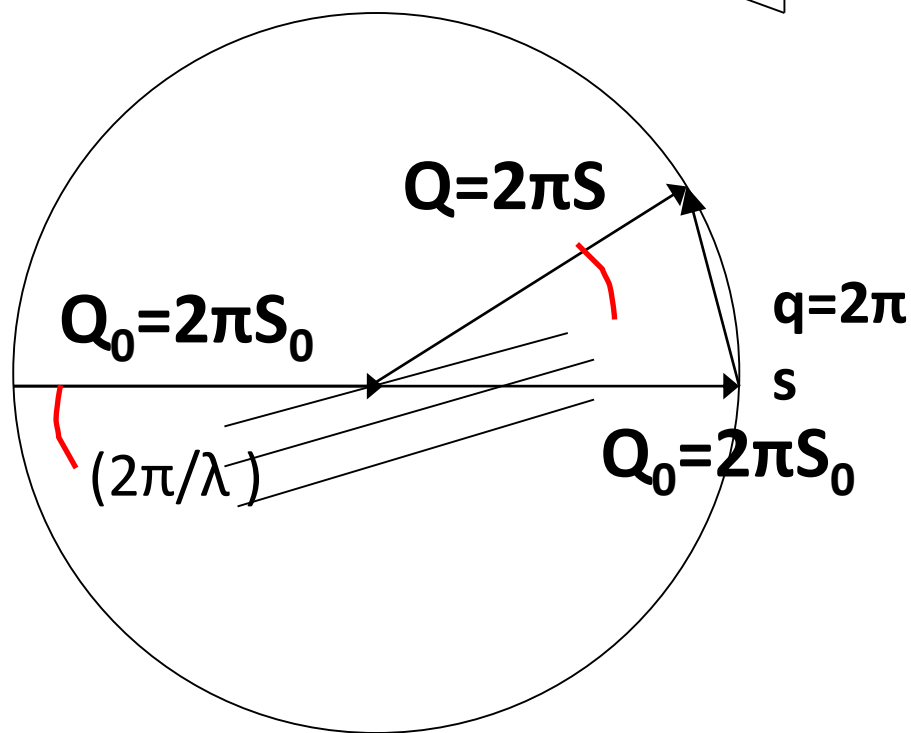
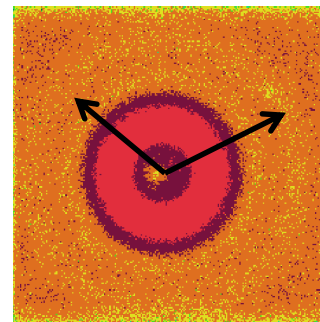
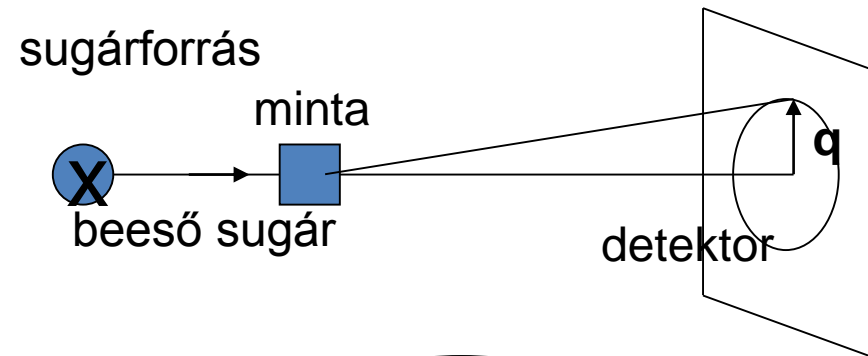
(a beérkező sugár iránya és az adott sík által bezárt szög)



$$n\lambda = d \sin(\Theta_{\text{be}}) + d \sin(\Theta_{\text{szort}})$$

# A kisszögű röntgenszórás leírása

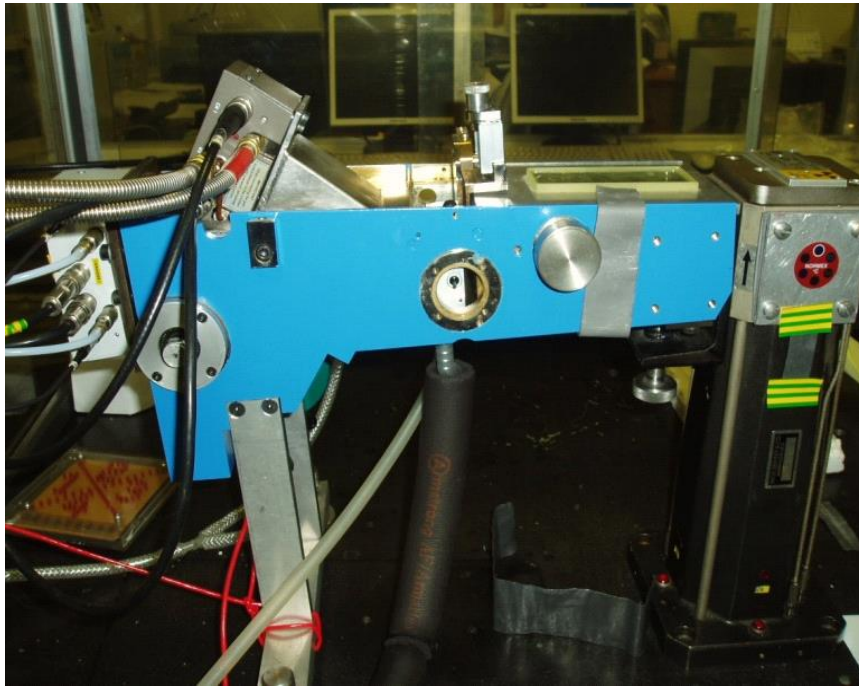
$$n\lambda = 2d \sin(\Theta) \quad \text{Bragg egyenlet}$$



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

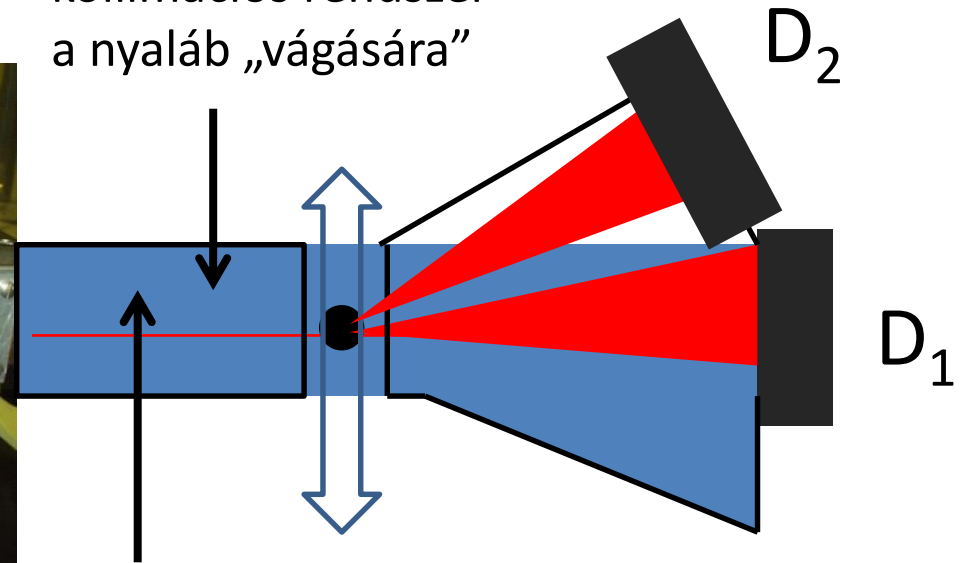
szórási változó

# A kisszögű szórás mérésének technikája elterjedt laboratóriumi berendezés



kollimációs rendszer  
a nyáláb „vágására”

kamera

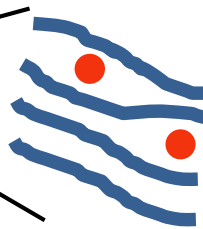
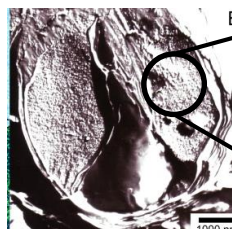
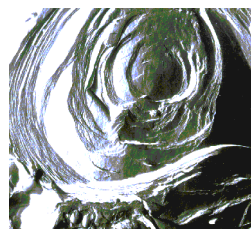
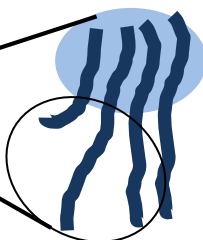
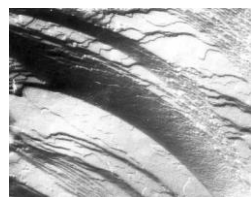
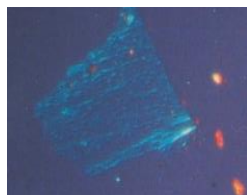
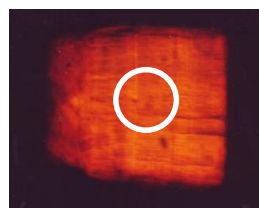
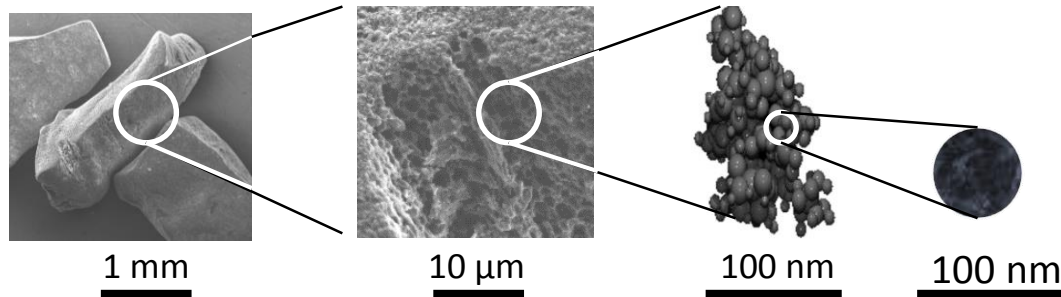


$D_1$ : kisszögű szórás/diffrakció 1 – 100 nm

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



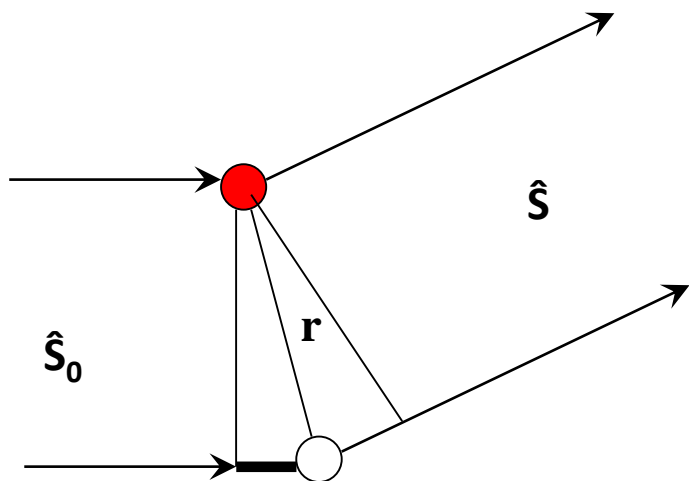
# Nanoszerkezetek



*szerkezeti és  
morfológiai  
információk:*

- **alak**
- **méret**
- **aggregáció**
- **tömör – laza**  
**térkitöltés**
- **szabályos – amorf**  
**nanoszerkezet**
- **nanorácsok**  
**azonosítása**
- **nanoszerkezetek és**  
**nanorészecskék**  
**szelektív vizsgálata**

**kisszögű  
röntgenszórás**



A szórócentrumon (elektronon) szórt hullám intenzitása a detektor felületén

$$A = A_{be} \cdot \sin(\omega t - 2\pi x / \lambda)$$

$$A = A_1 \sin(\omega t - 2\pi (\mathbf{r} \cdot (\hat{\mathbf{S}} - \hat{\mathbf{S}}_0) + L) / \lambda)$$

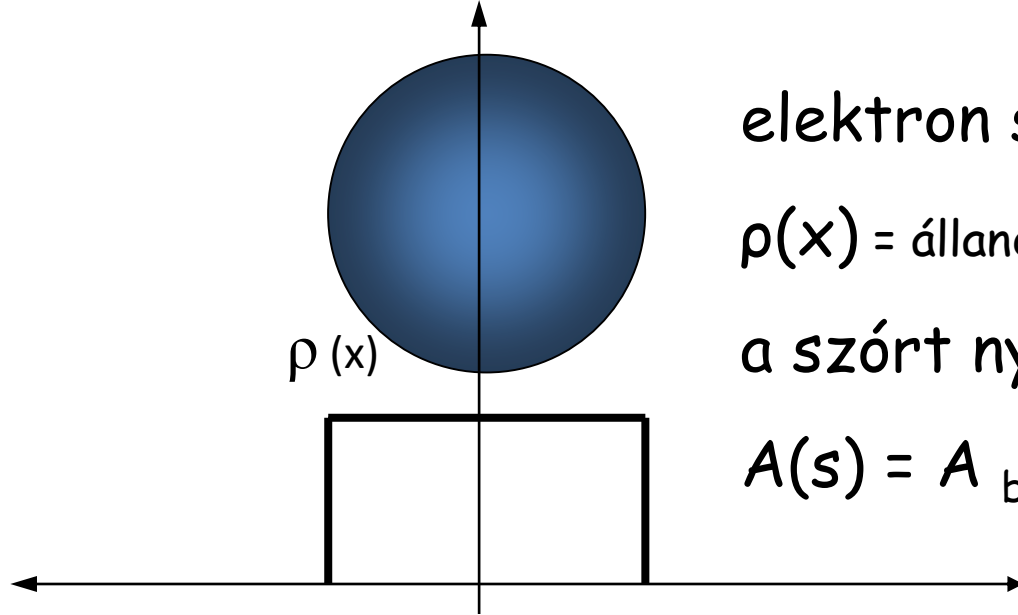
• trigonometrikus felírás:  $A_{eredő} = \sum A_i$ ;

$$I = A \cdot A$$

• komplex alakban:

$$A'_{eredő} = A'_{be} \sum e^{-2\pi i \mathbf{r} \cdot \mathbf{s}}$$

$$A'_{eredő} = A'_{be} \int \rho(\mathbf{r}) e^{i2\pi \mathbf{r} \cdot \mathbf{s}} dV_{\mathbf{r}}; \quad I = A' \cdot A'^*$$



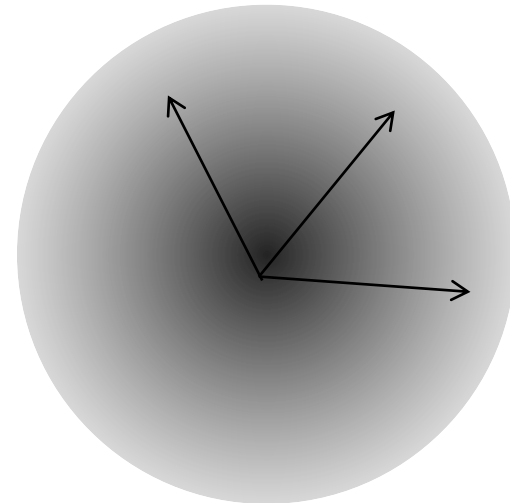
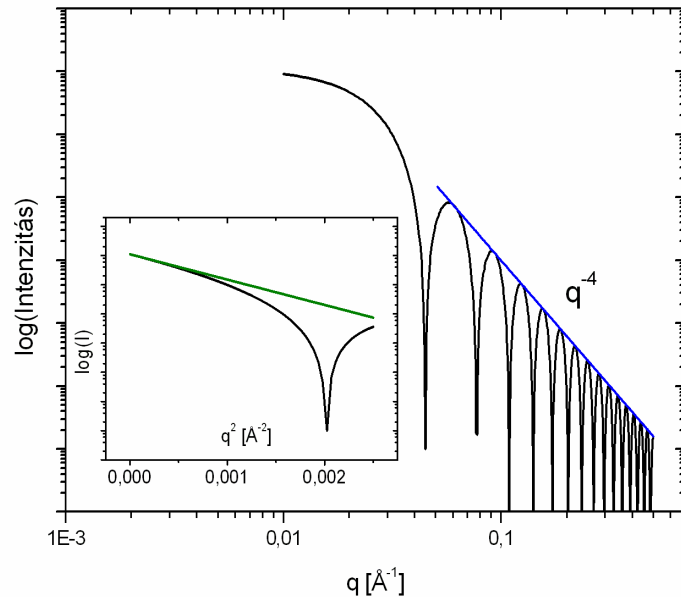
elektron sűrűség:

$\rho(x)$  = állandó, a gömbön kívül zérus

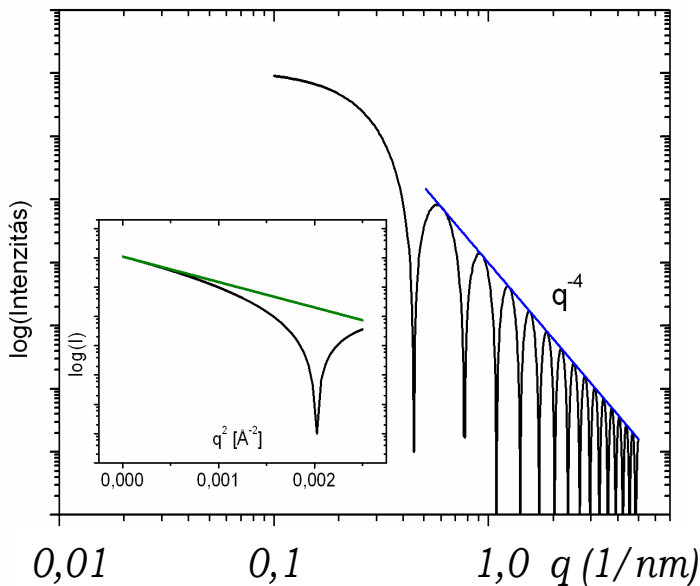
a szórt nyaláb amplitúdója:

$$A(s) = A_{be} \int \rho(r) e^{-2\pi i r s} dv_r$$

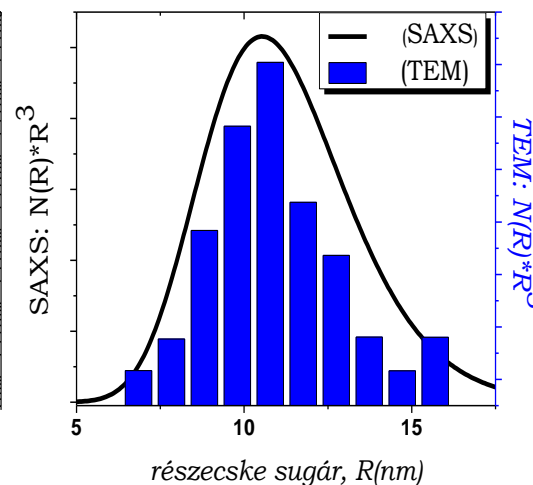
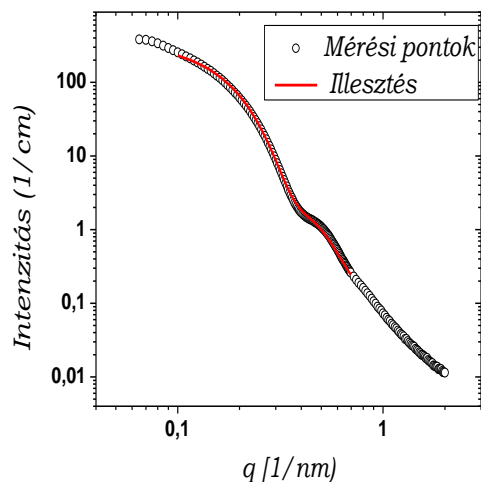
$$I = A' \cdot A'^*$$



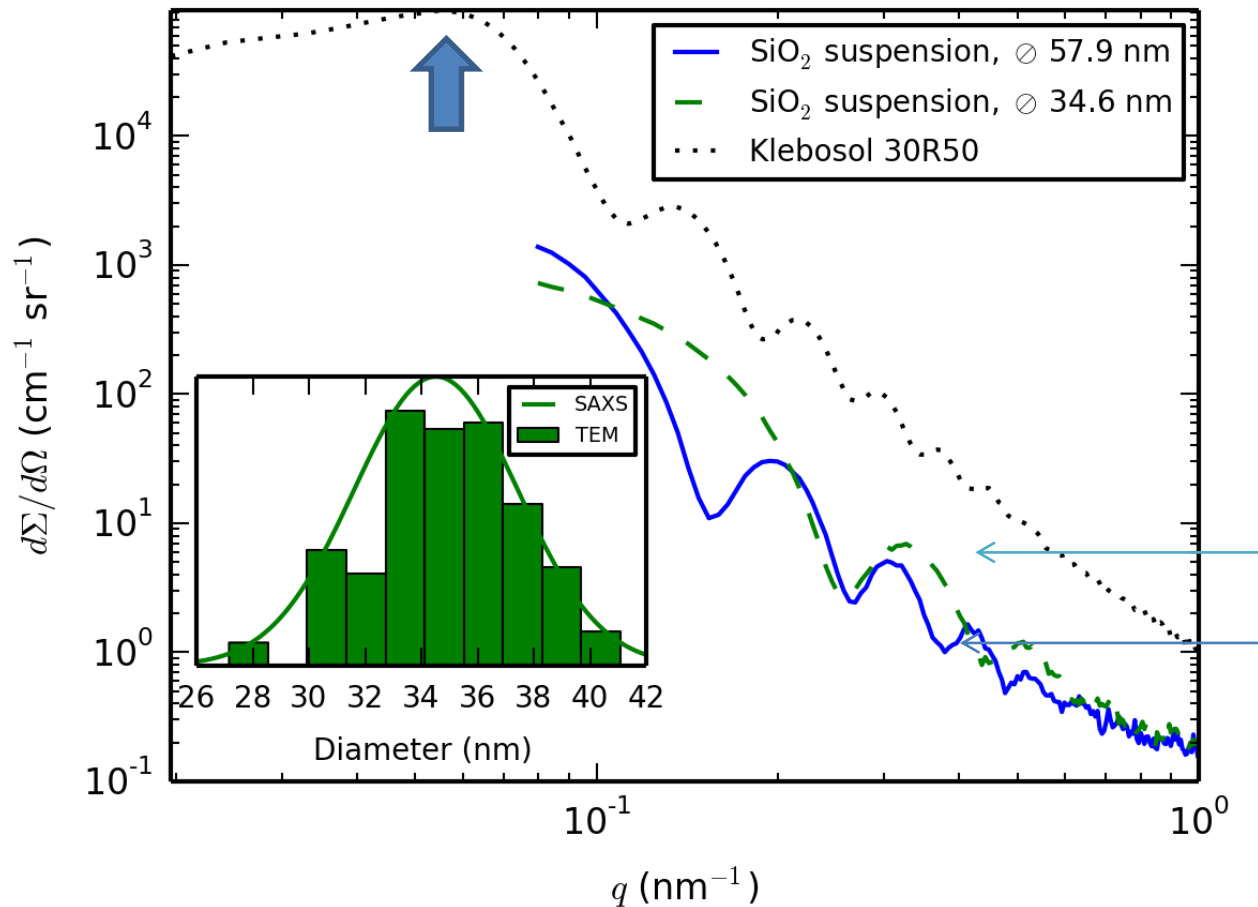
elmélet:  
számolt  
görbe



gyakorlat:  
szilika  
részecskék



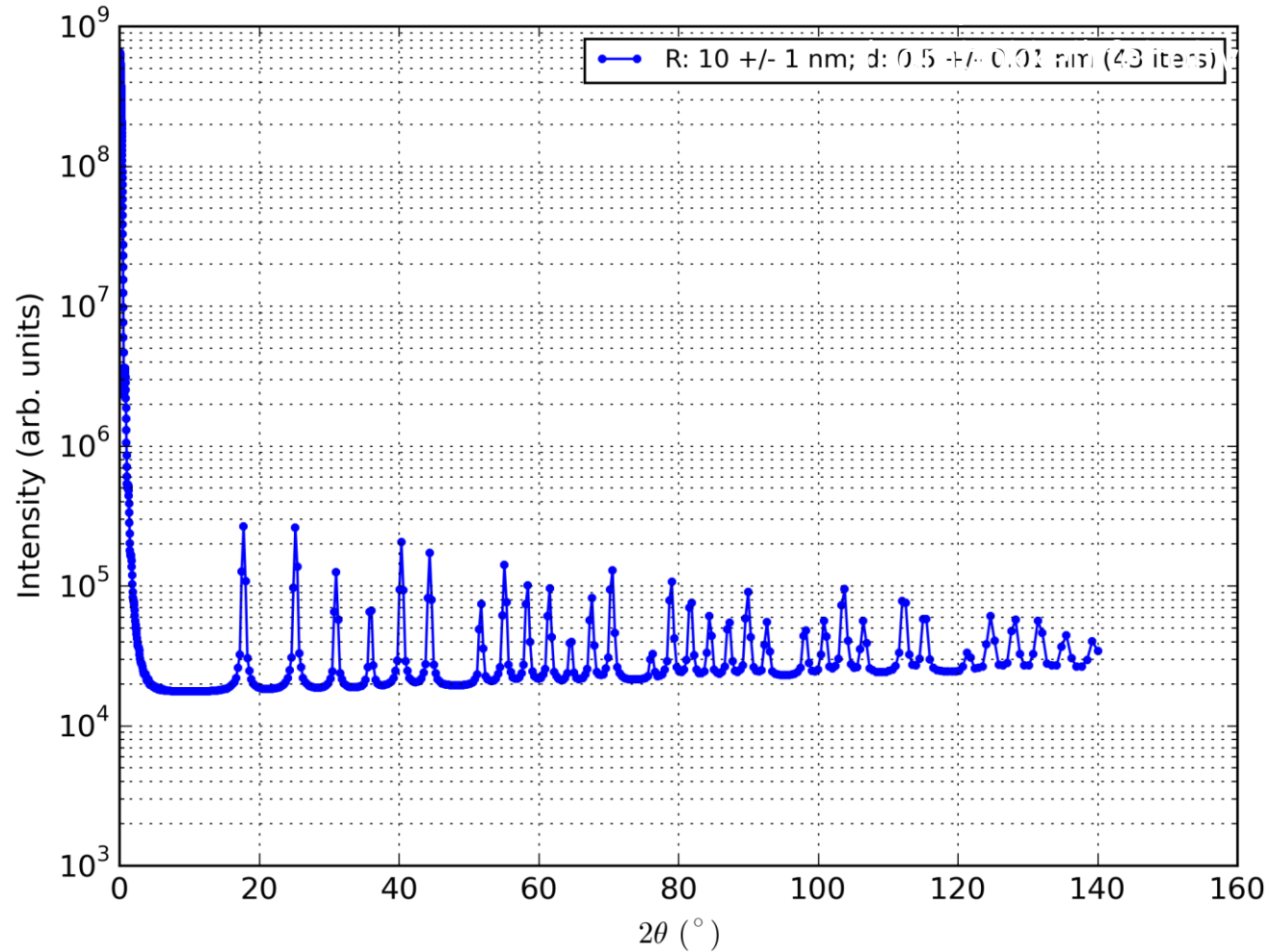
A  $R_0 = 10 \text{ nm}$  sugarú gömb számított kisszögű szórásgörbéje. A betétábra a Guinier-féle közelítést, az ábrán az illesztett egyenes a Porod-féle „törvényt” illusztrálja. Laboratóriumunkban előállított szilika nanorészecske SAXS göbéjén csak az első lokális maximum figyelhető meg (alsó, baloldali kép), amelynek oka a részecskék heterodiszperz méreteloszlása, amelyet magának a görbének az illesztése alapján ill. transzmissziós elektronmikroszkópban, mint független technikával határoztunk meg (alsó, jobboldali kép)



A nanorészecskék méreteloszlása nagy pontossággal és statisztikai szignifikanciával határozható meg.

A módszer visszavezethető az SI egységek definícióira: metrológiai alkalmazási lehetőség.

# Nagyszögű, kisszögű > *MIÉRT* ?

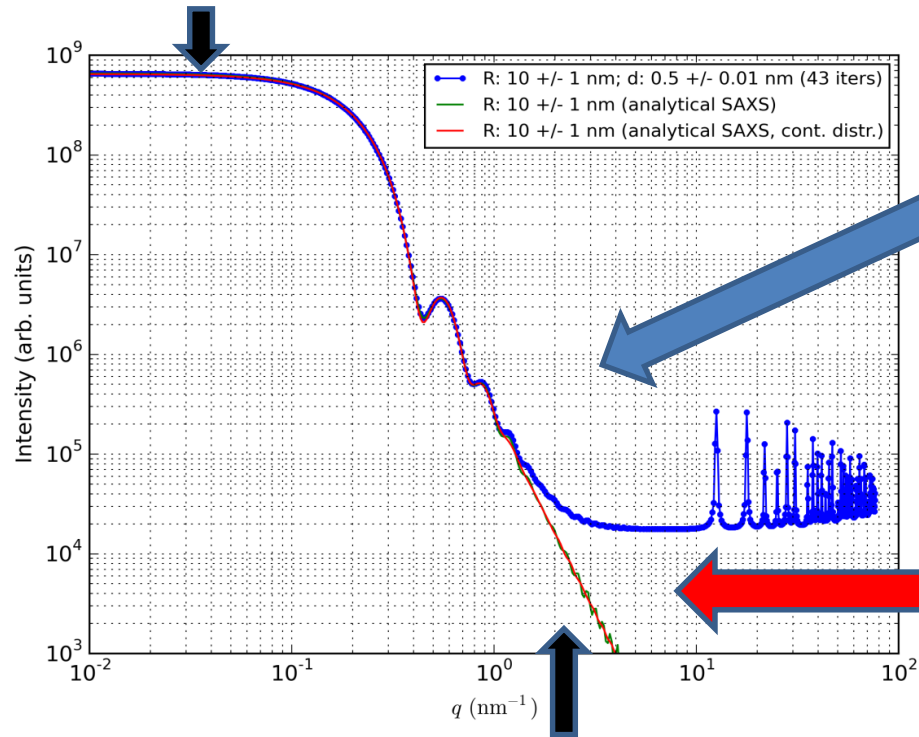


$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \Theta$$



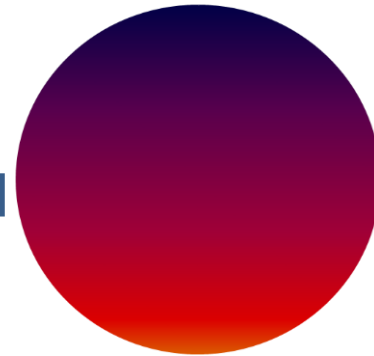
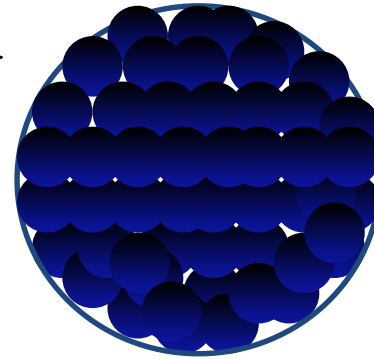
A kisszögű röntgenszórás ábrája:

$$I(q) = V_{\text{gömb}}^2 (\rho_1 - \rho_2)^2 \exp\{(-R_G^2 / 3)q^2\}$$

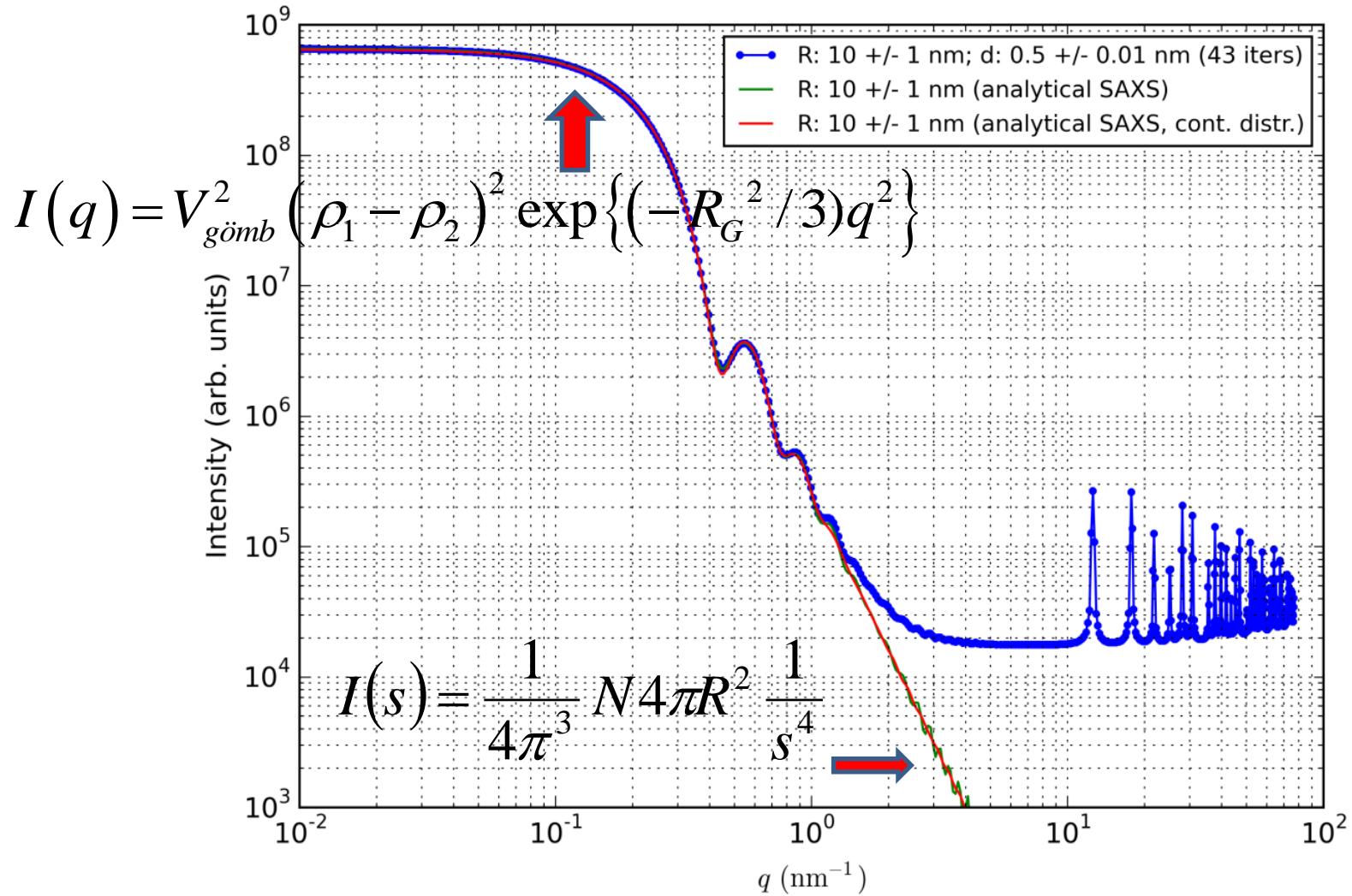


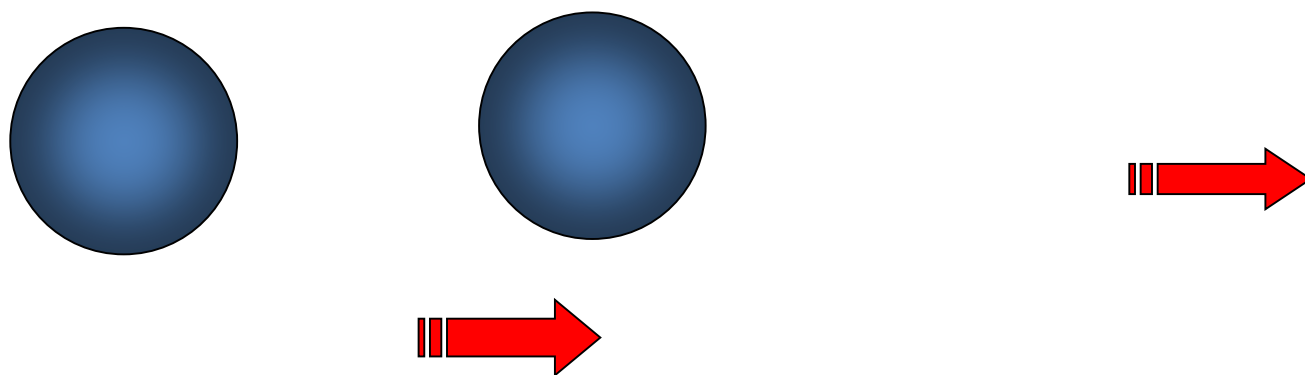
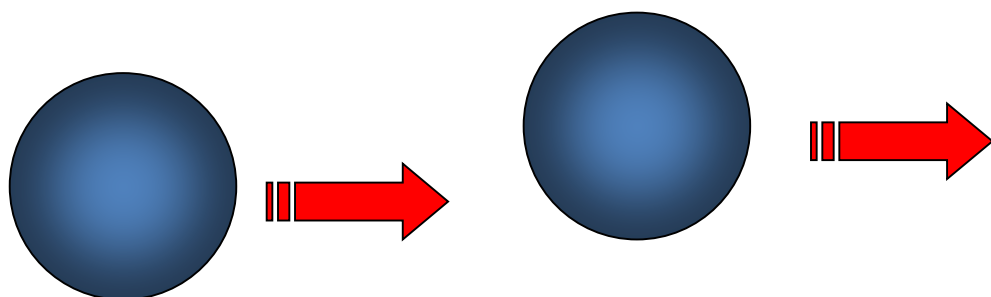
$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \Theta$$

$$I(s) = \frac{1}{4\pi^3} N 4\pi R^2 \frac{1}{s^4}$$



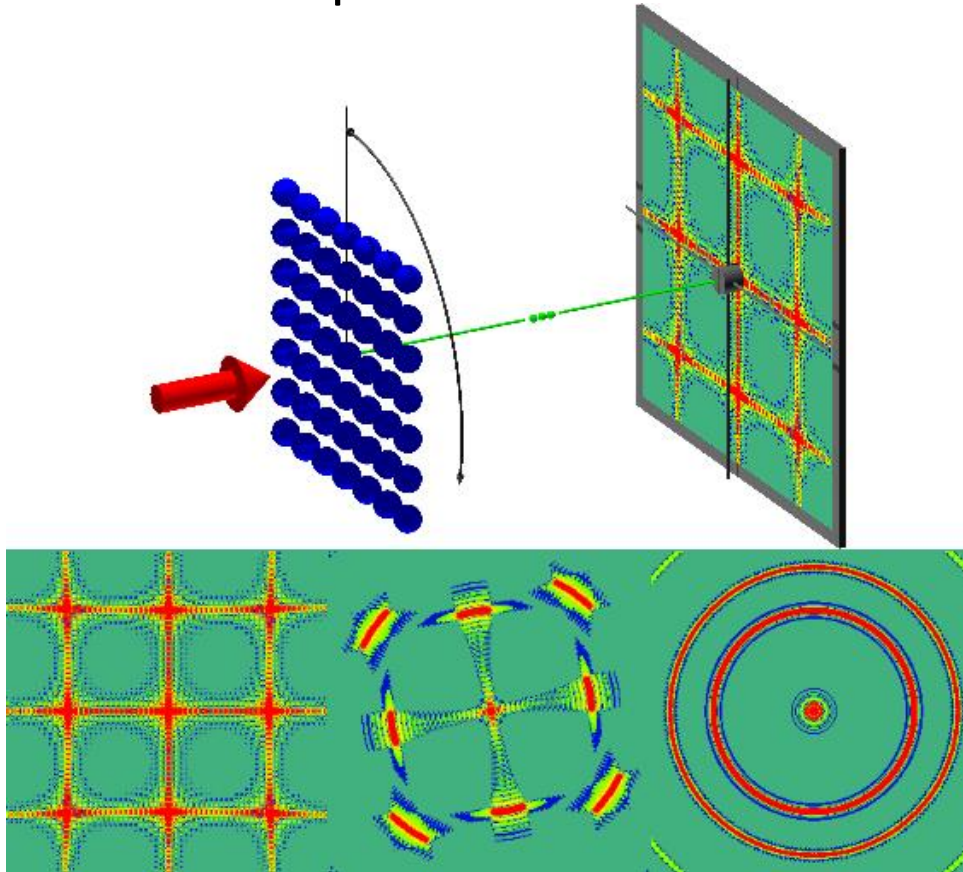
A kisszögű röntgenszórás ábrája:



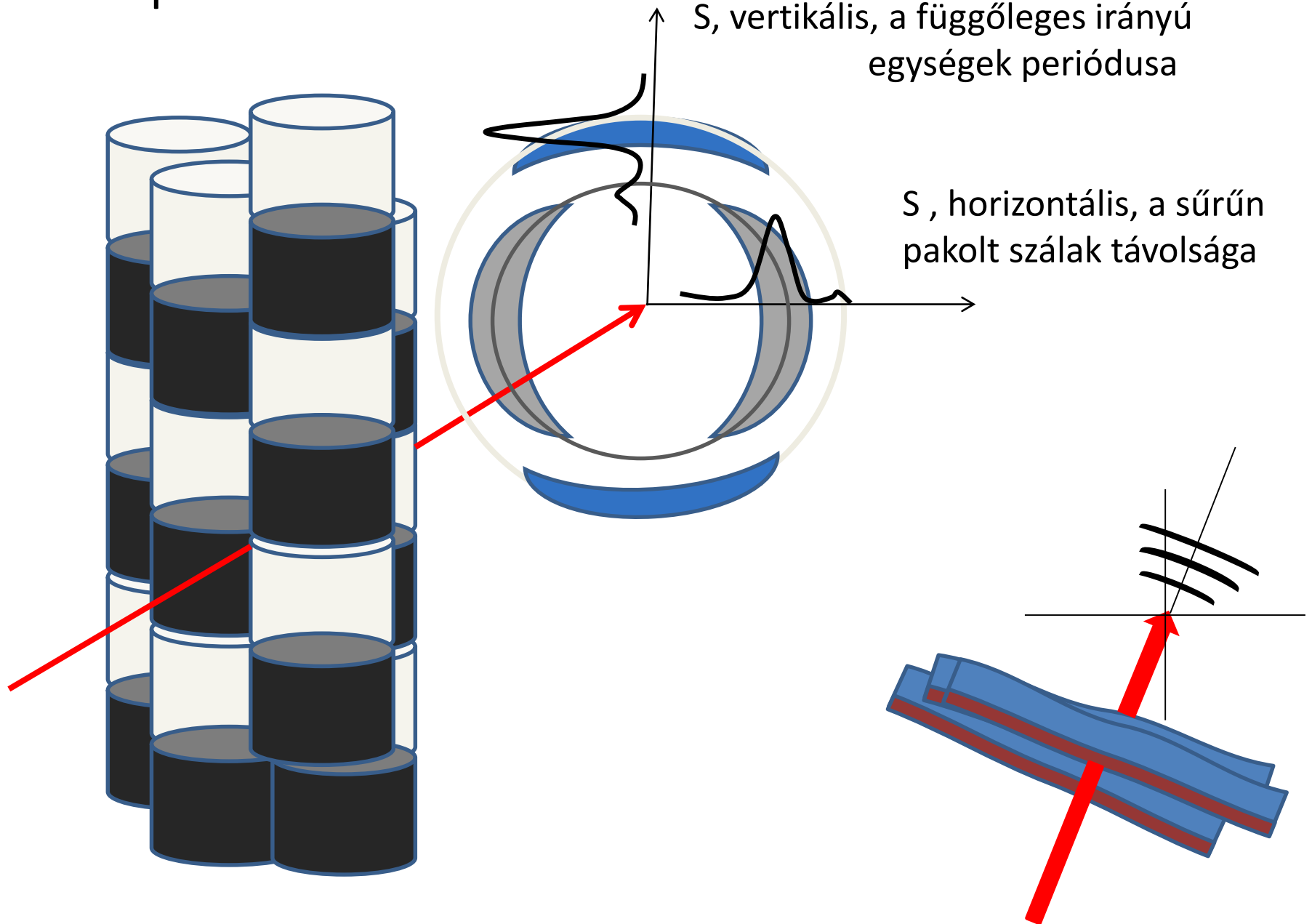


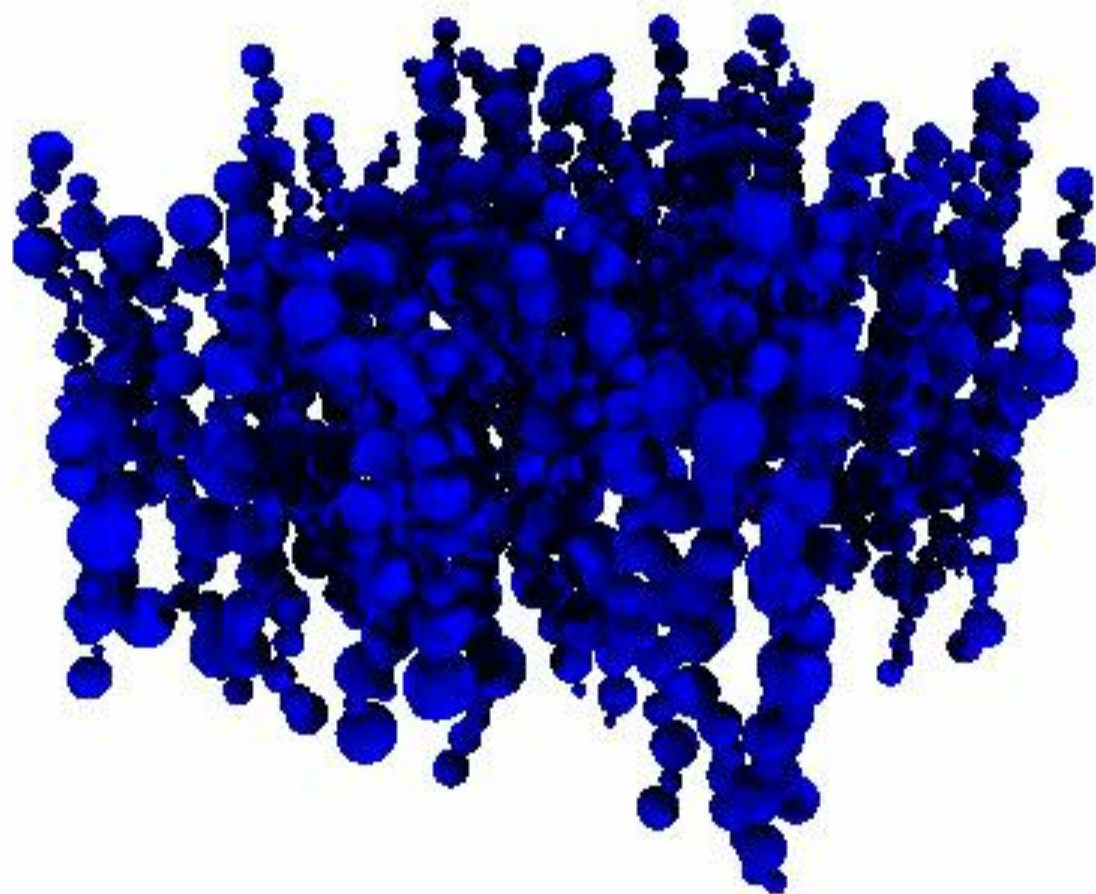
## Számítógépes szimuláció:

A makroszkópicusan rendezett minta elfordulásának és teljes körbefordulásának következménye: minden beállítás diffrakcióját összegezve > a szórási kép centroszimmetrikus lesz

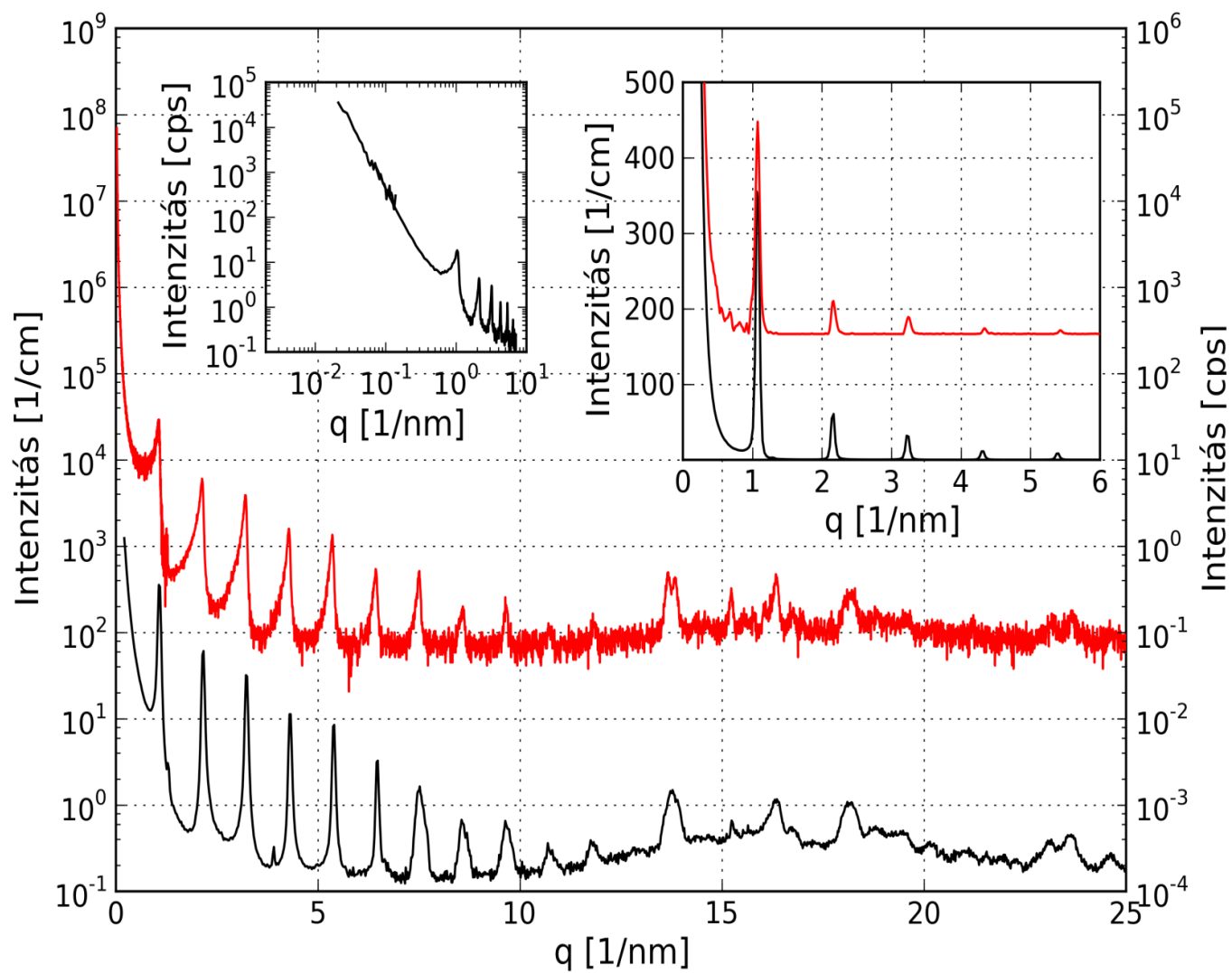
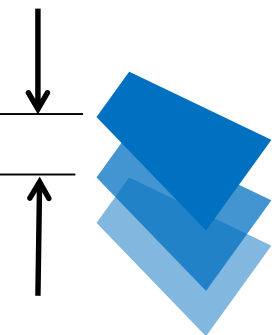


# Izotróp minta: fibrin szál

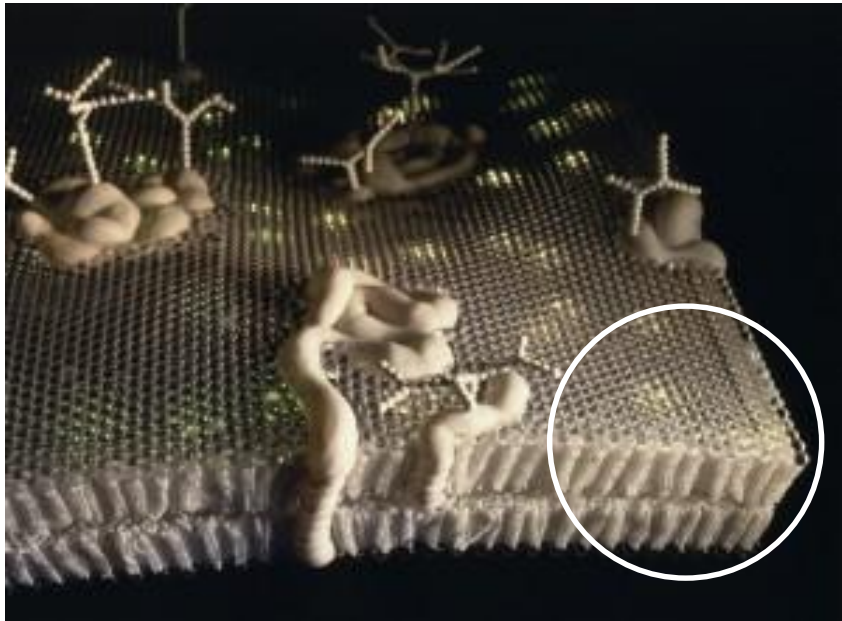






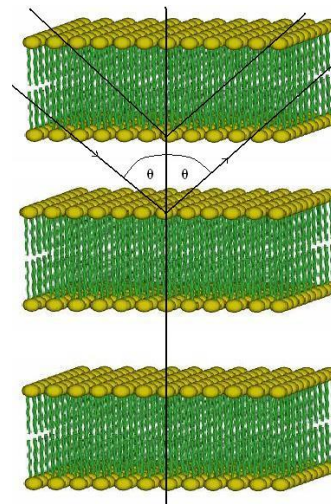
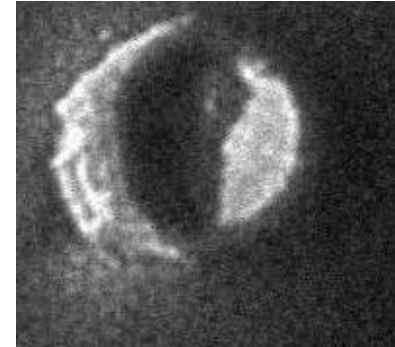


# Sejtmembrán modell: vezikula (liposzóma)



Kettétört egyrétegű vezikula

$D = 80 \text{ nm}$



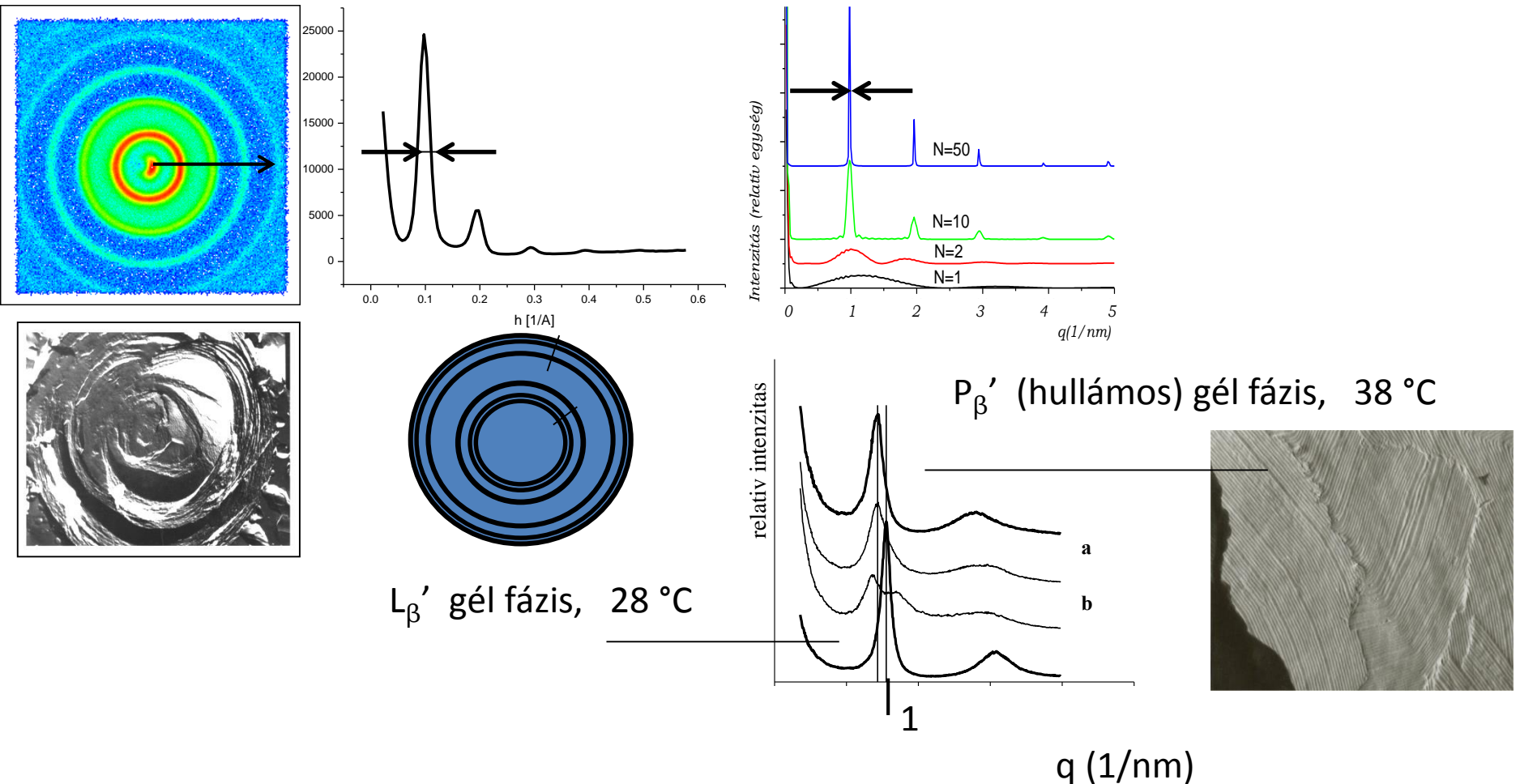
$D = 12 \mu\text{m}$



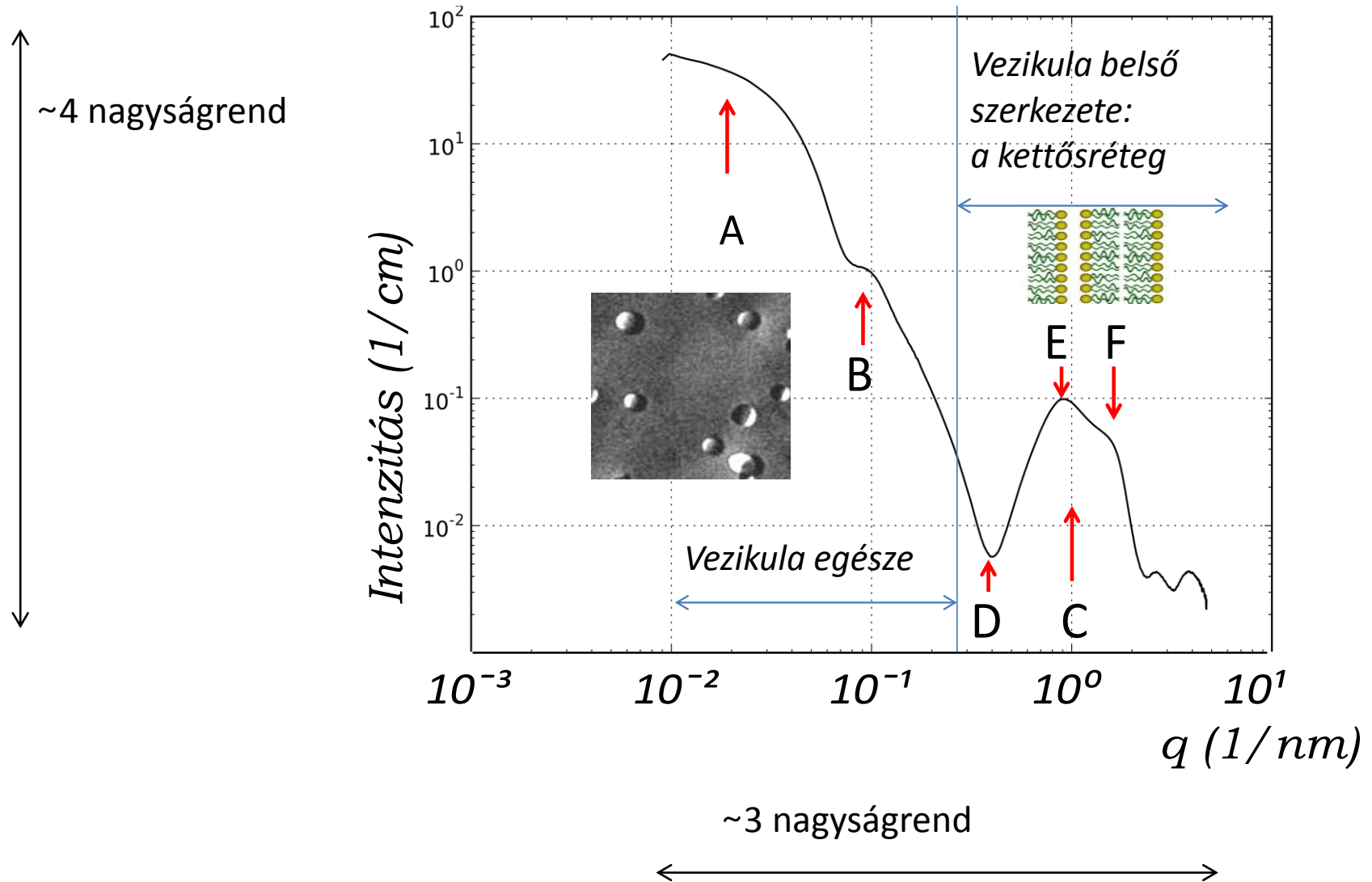
Sokrétegű vezikula/liposzóma

# Egyrétegű és sokrétegű (multilamellás) vezikulák tanulmányozása

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



# Szinkrotronos mérés



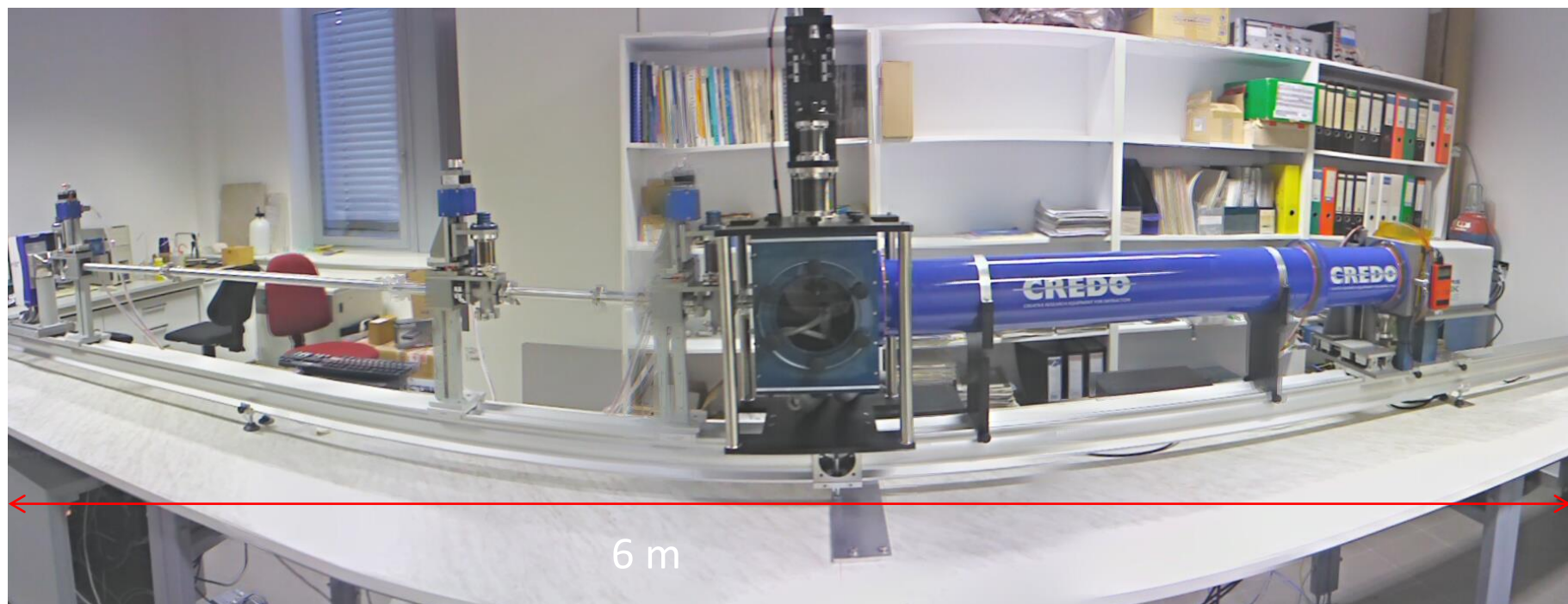
## *A berendezés paramétere*

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

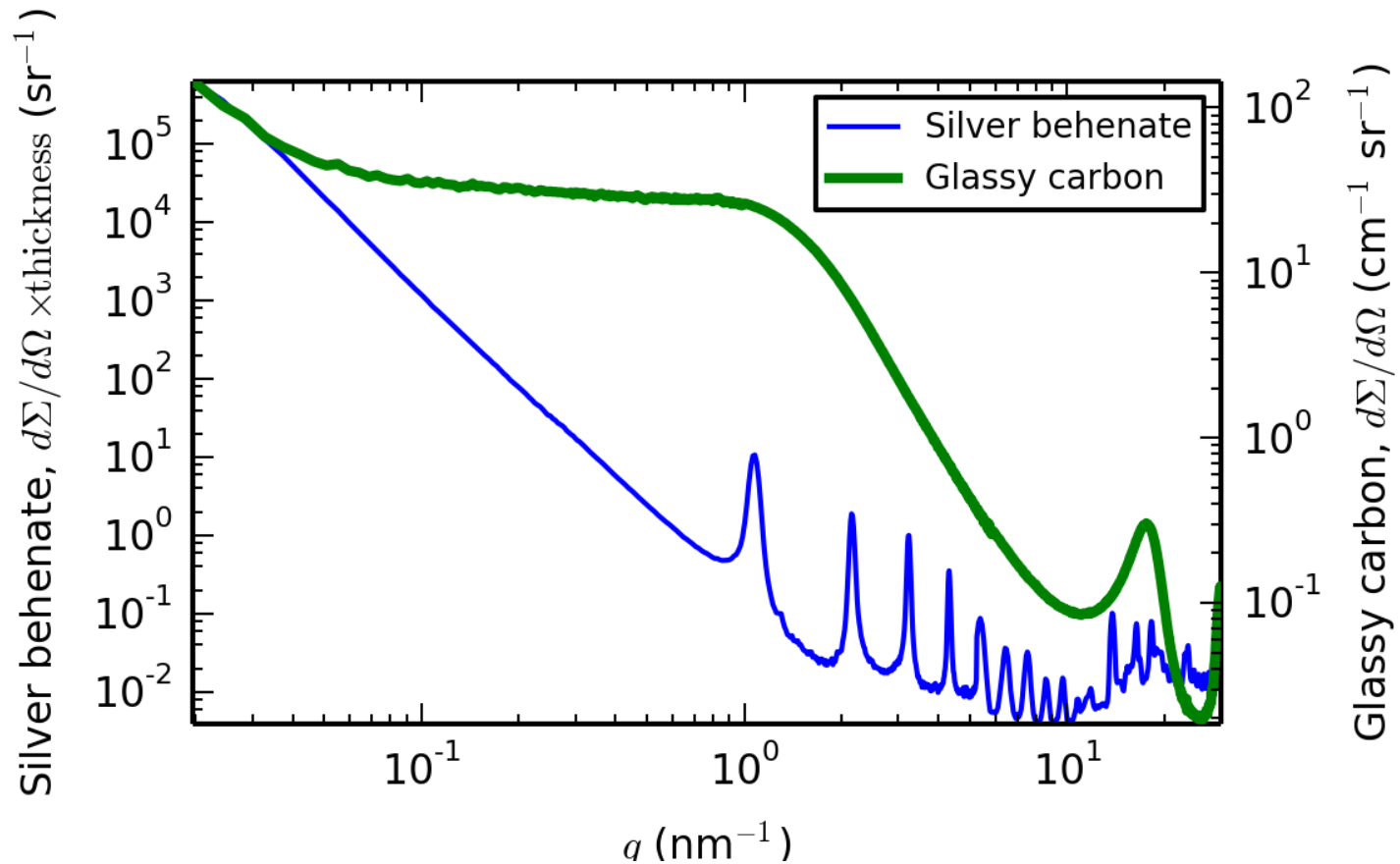
Változtatható minta-detektor távolság: széles szögtartomány lefedhető  
( $q = (4\pi/\lambda)\sin \Theta$ :  $[0.019; 30] \text{ nm}^{-1}$  ami a 0.2-320 nm-es mérettartománynak felel meg)

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







réteges szerkezetű Ag-behenát só kisszögű  
és nagyszögű diffrakciója

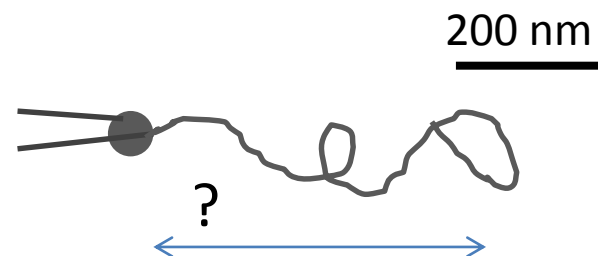
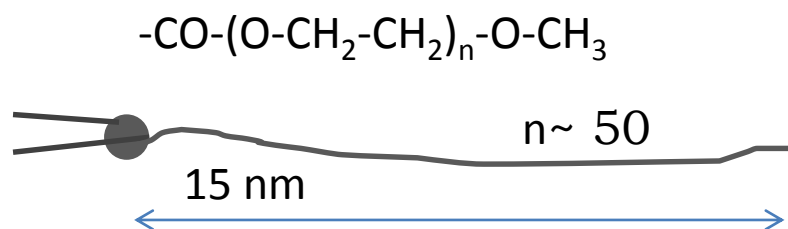
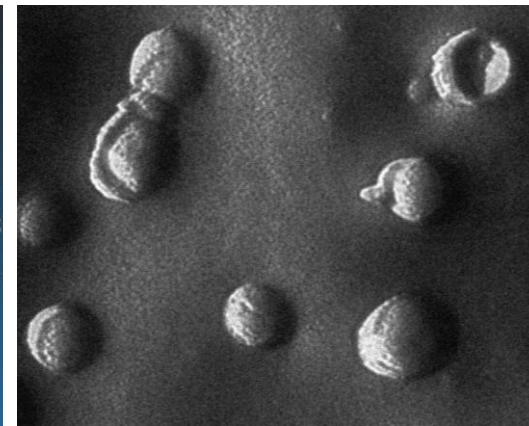
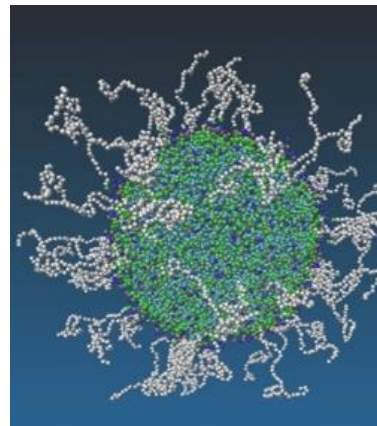
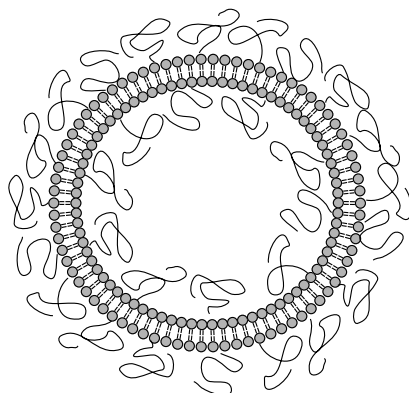
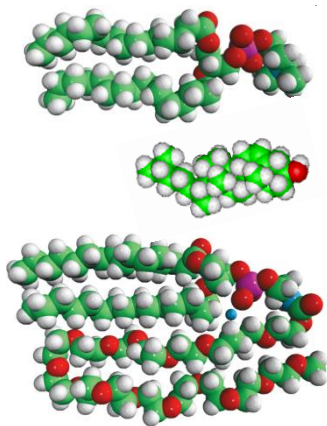


# SZTÉRIKUSAN STABILIZÁLT VEZIKULÁK

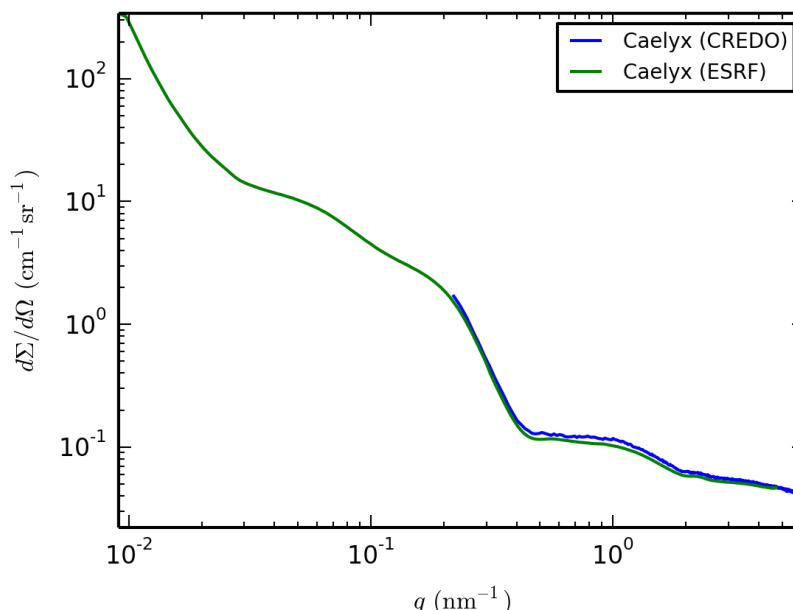
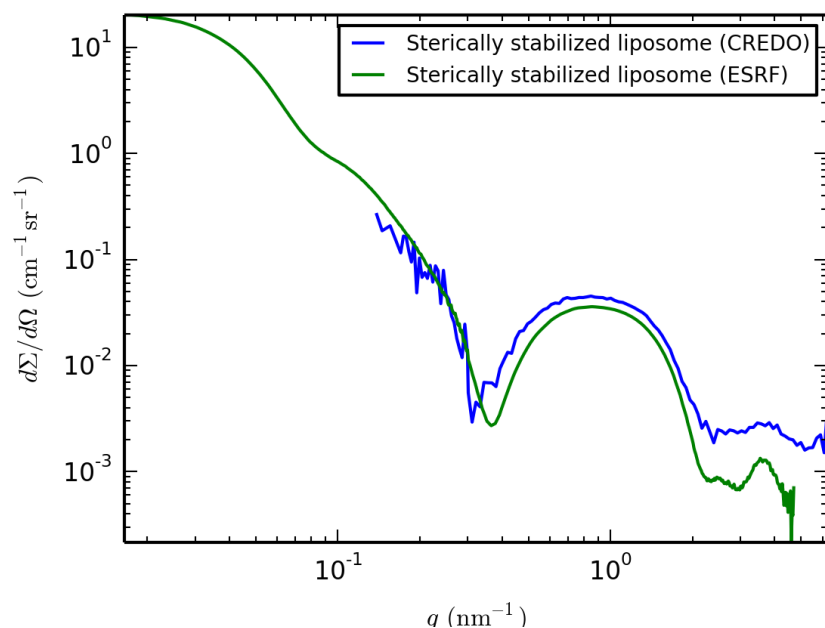
DPPE-PEG (2000) POLIMER LÁNCÁNAK JELLEMZÉSE

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

Extrudálás után (a polikarbonát szűrű pórusátmérője 80 nm)



# *SZTÉRIKUSAN STABILIZÁLT UNILAMELLÁRIS VEZIKULÁK, MINT GYÓGYSZERHORDOZÓK*



Biomembránok, vezikulák rétegnormális-menti elektronsűrűség-profiljának leírása.  
Gyógyszerhordozók, bezárt hatóanyagok jellemzése.

Z. Varga, A. Wacha, U. Vainio, J. Gummel, A. Bóta.

Chemistry and Physics of Lipids (2012), 165(4) pp. 387-392.

# SZÉLES KARAKTERISZTIKUS MÉRETTARTOMÁNY

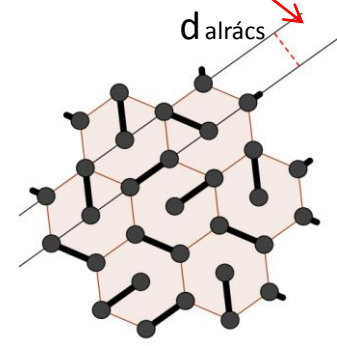
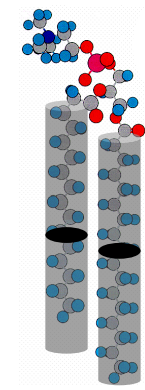
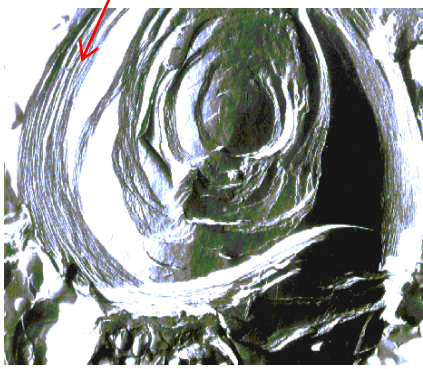
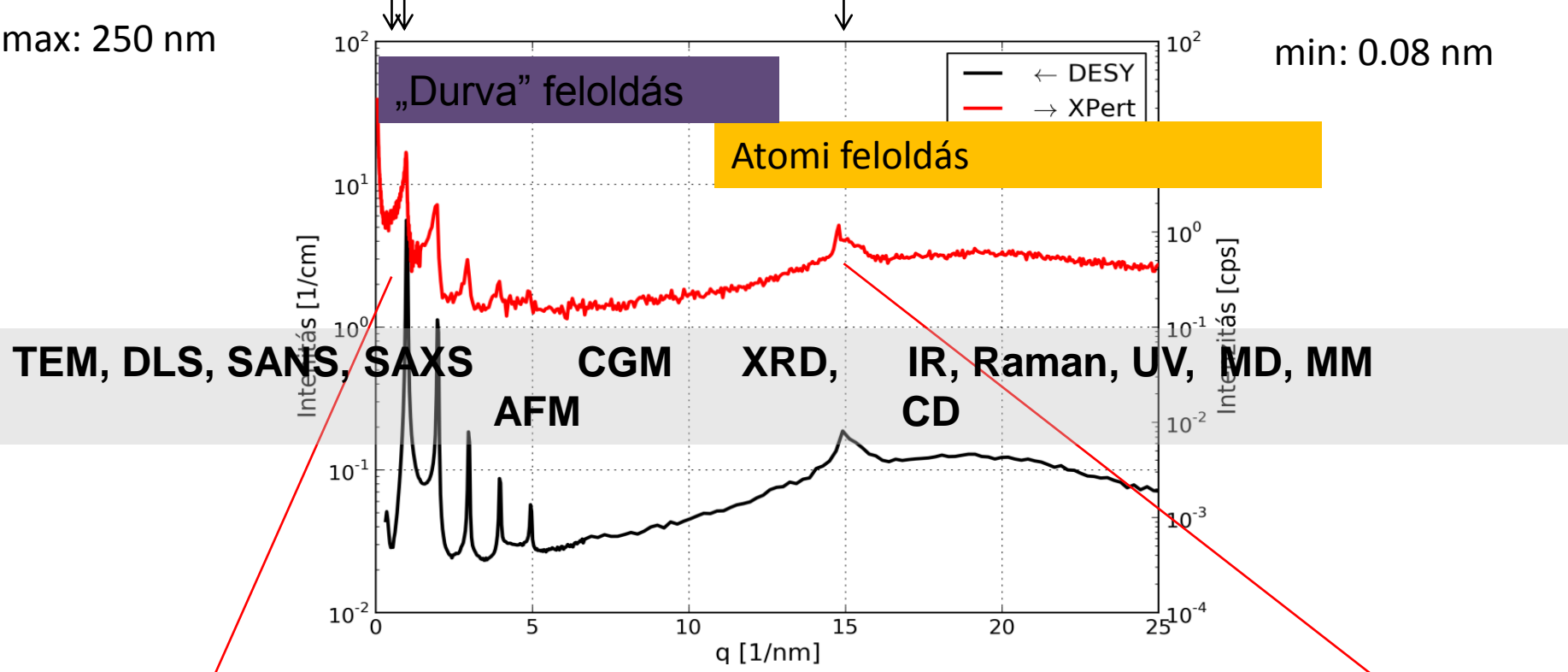
100 nm

10 nm

0.4 nm

max: 250 nm

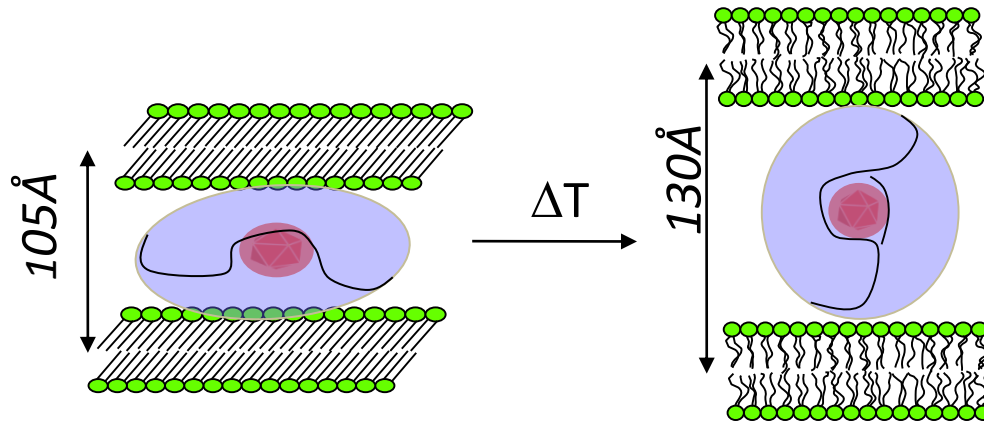
min: 0.08 nm



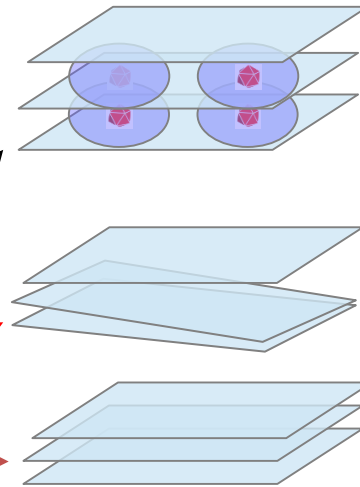
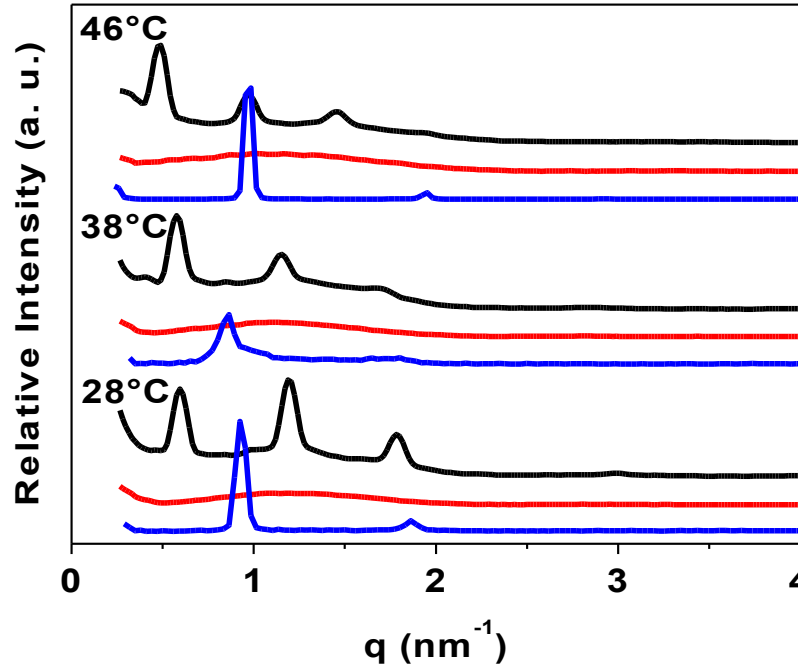
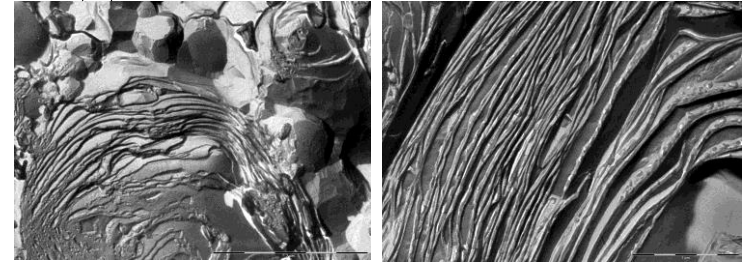
$d$  alrács

# **AU@BSA NANOKLASZTEREK KÜLÖNLEGES VISELKEDÉSE:**

## **VÖRÖS FÉNYT KIBOCSÁTÓ AU-NANOKLASZTEREK HIDRATÁLT**



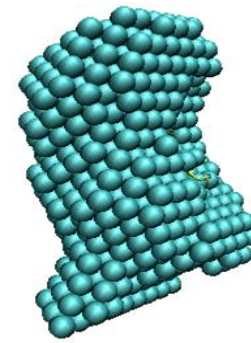
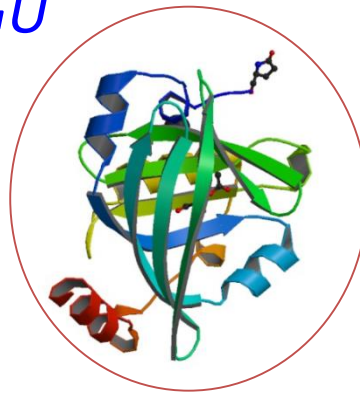
prekurzorok



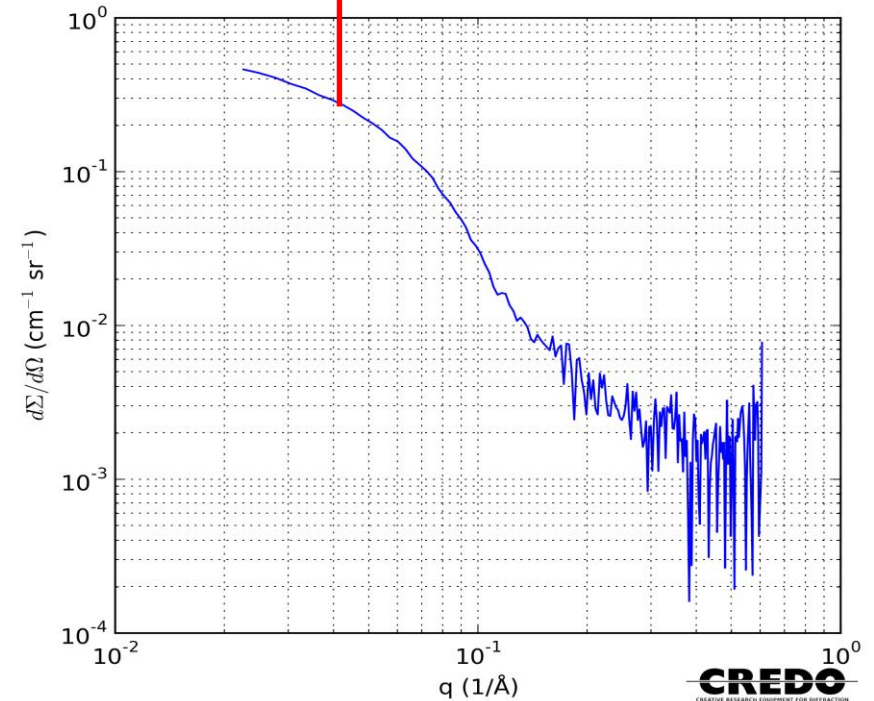
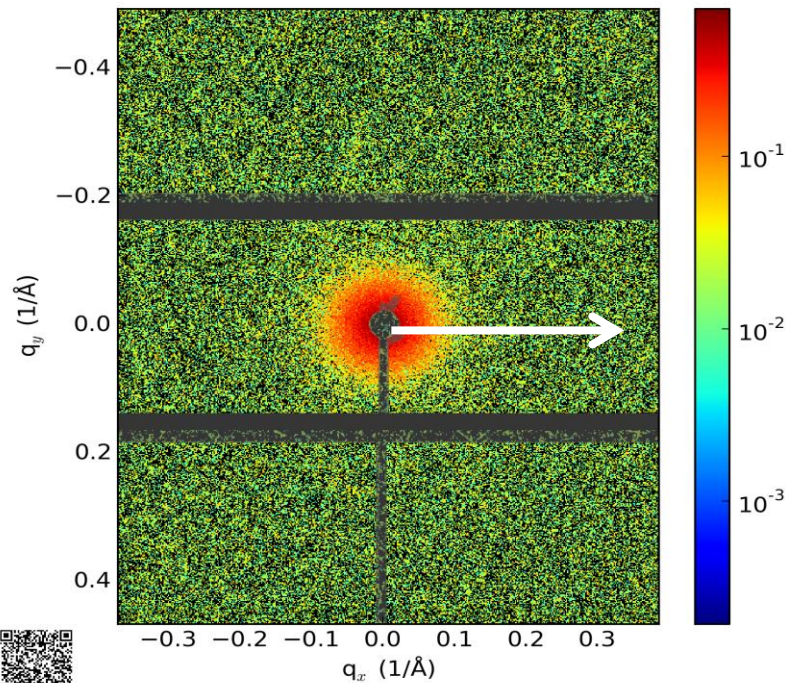


# EGY FEHÉRJE (BSA) KISSZÖGŰ RÖNTGENSZÓRÁSA

irányrendezetlen molekulák  
sokasága  
centroszimmetrikus  
szórási mintázatot ad.



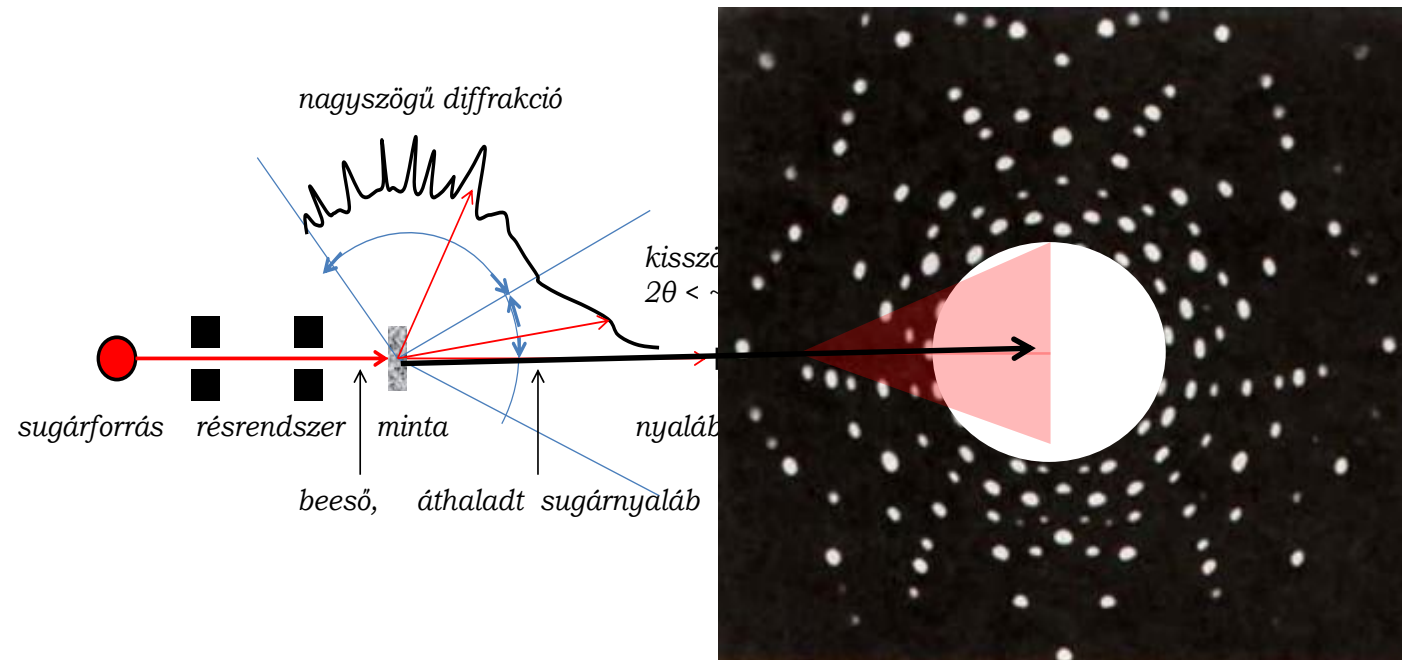
BSA\_10mg\_ml (total exposure time: 3000 sec.)



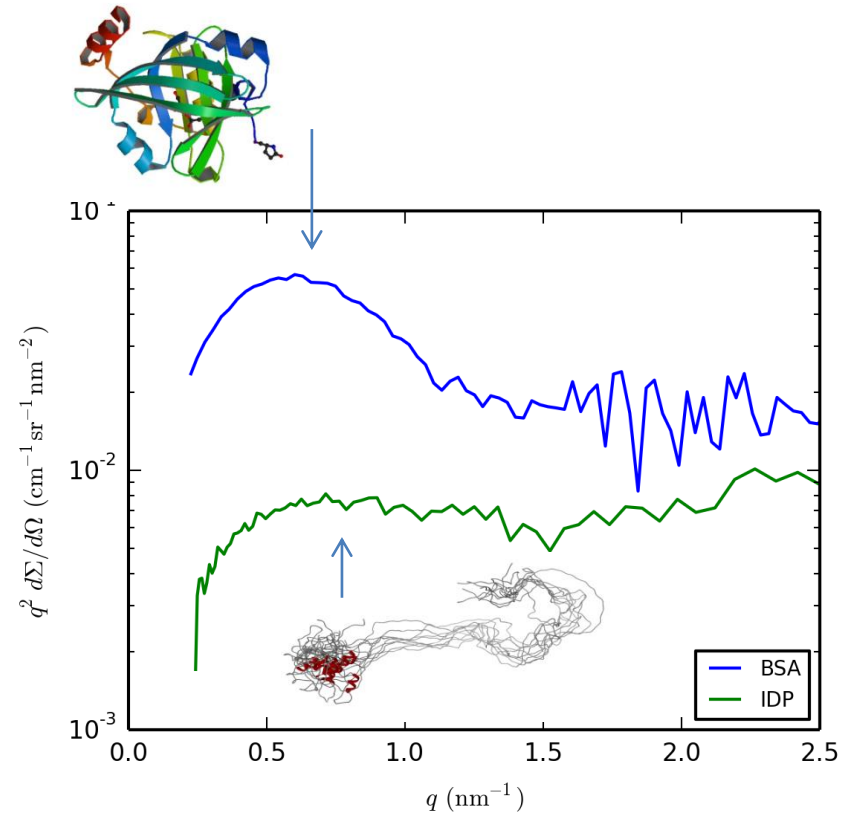
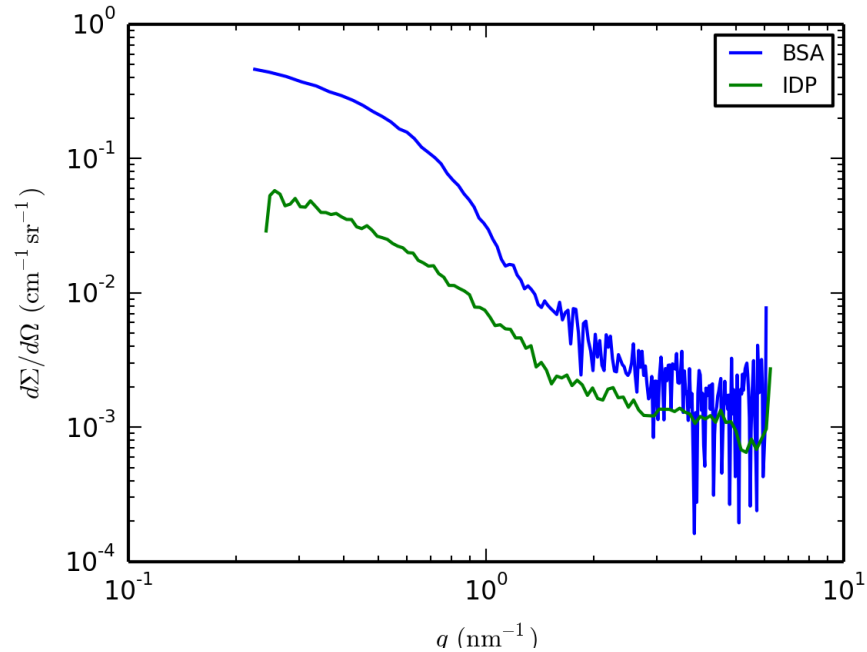
$$q = (4\pi/\lambda) \sin \Theta$$

A jellemzésben kitüntetett szerep jut a morfológiai és szerkezeti vizsgálatoknak.

A röntgennyaláb ún. kisszögű röntgenszórására koncentrálnak.



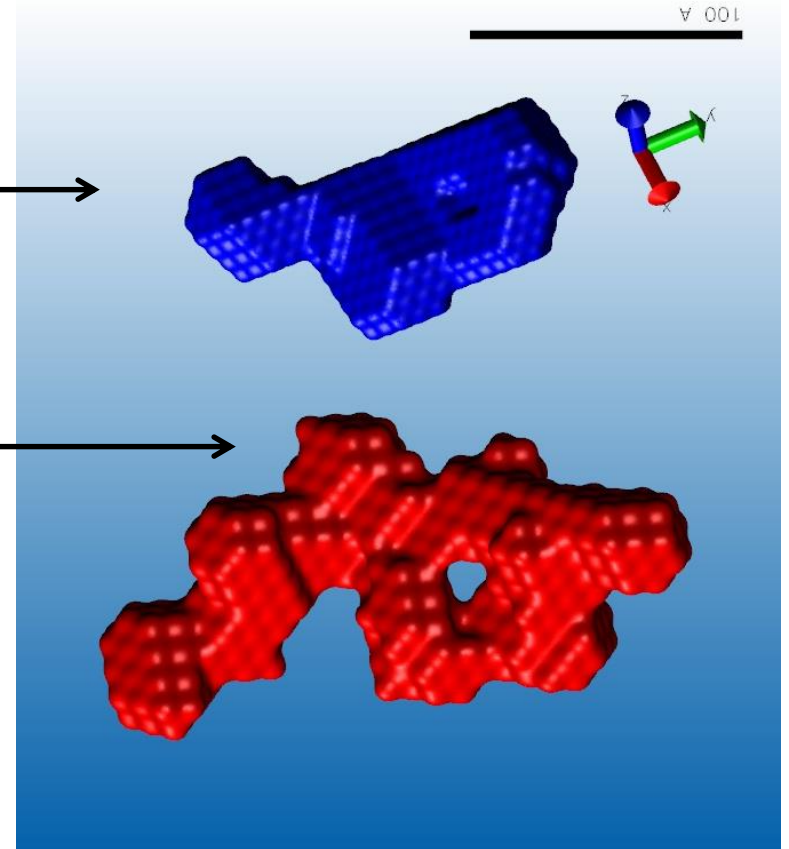
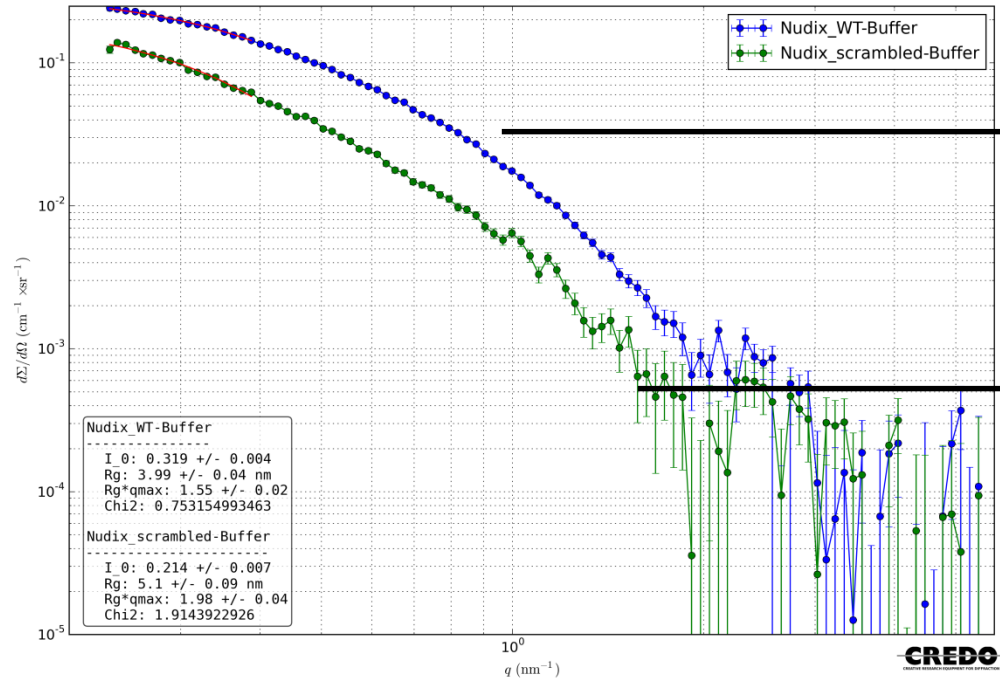
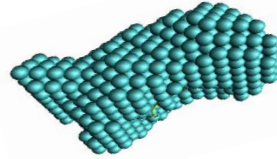
# RENDEZETT, NEM RENDEZETT FEHÉRJÉK



Tantos Á., Tompa P. MTA TTK, Enzimológia I.

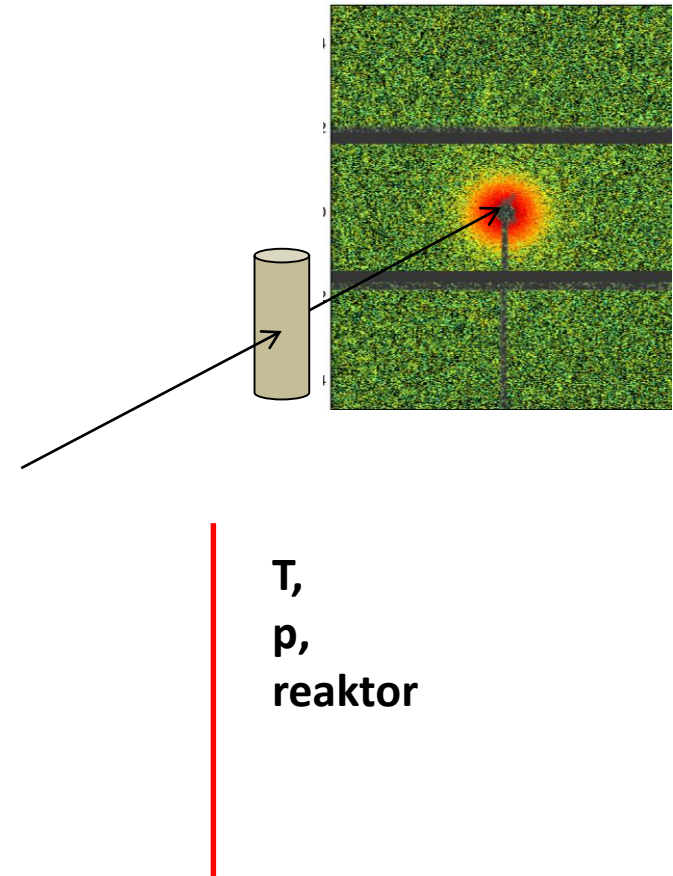
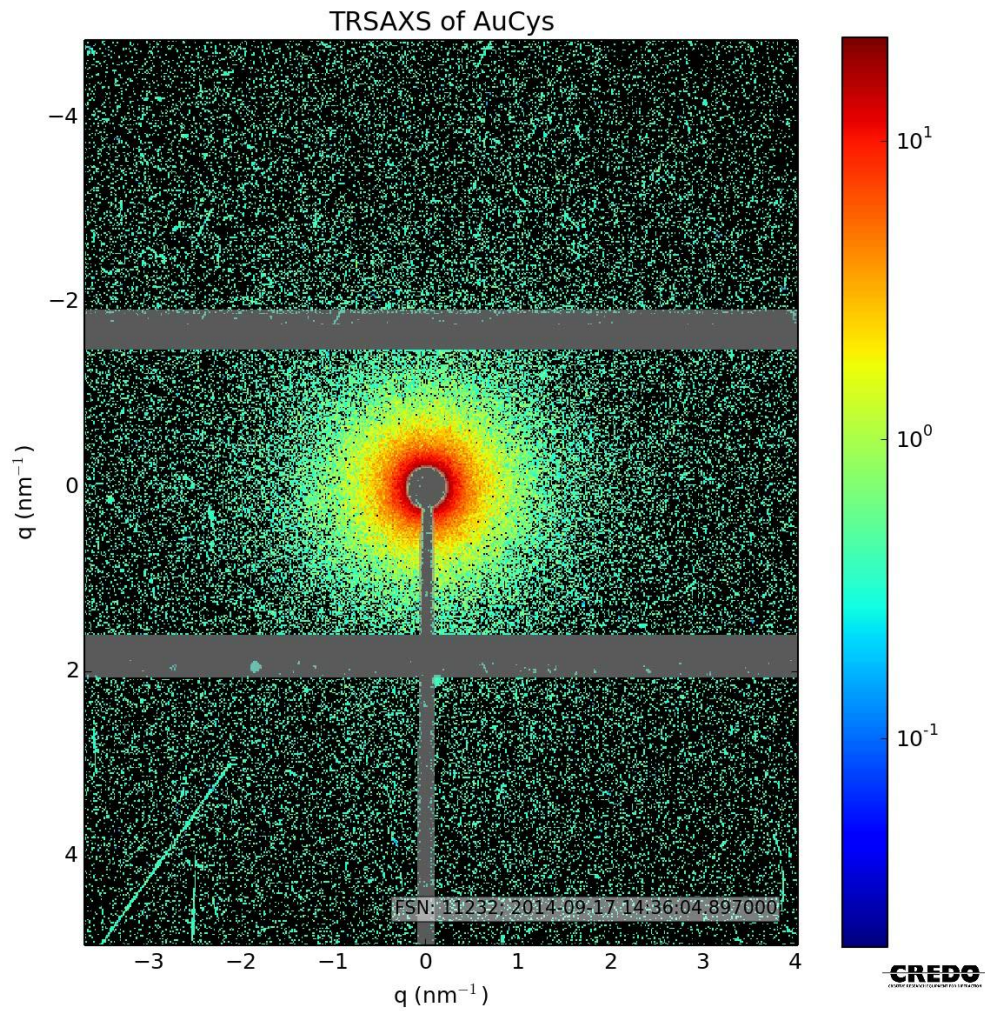
Molekulatömeg ill. lineáris méret („girációs sugár”) mérhető  
Fehérjék negyedleges szerkezetének (burkoló alakjának)  
meghatározása  
Konformáció („rendezettség”) jellemzése.

# Kisszögű szórás, példa

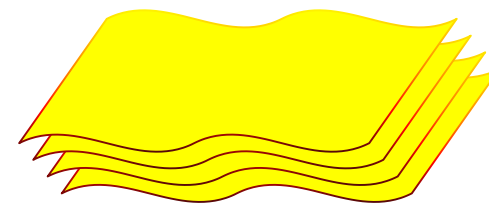
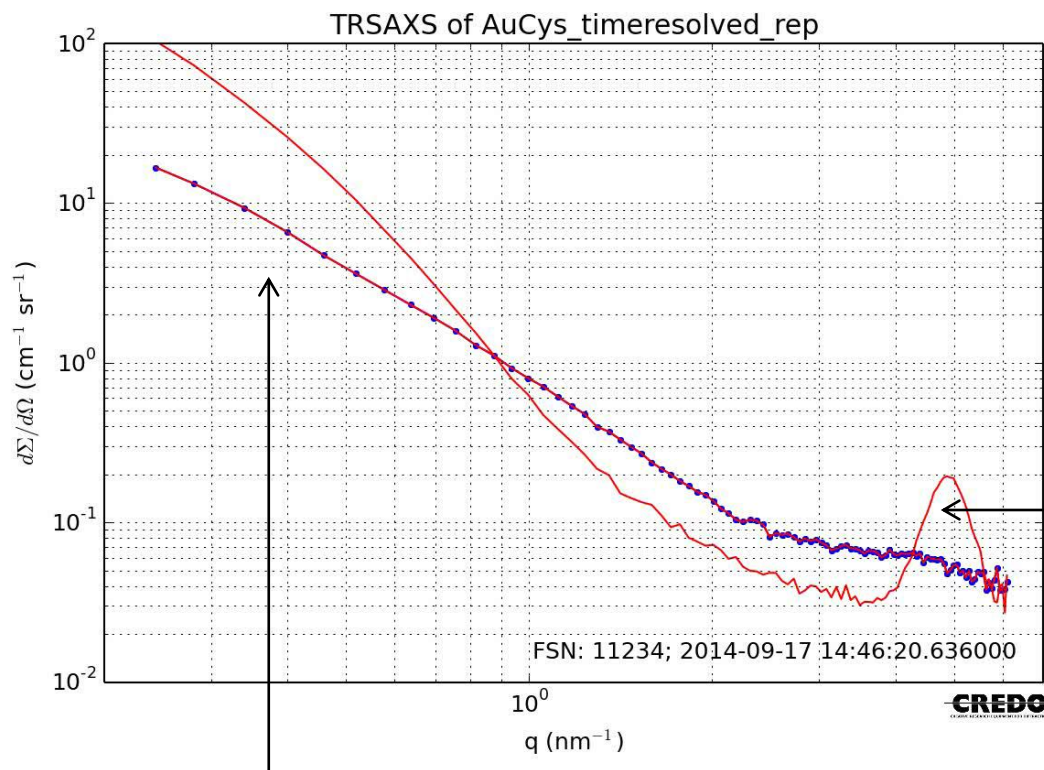




# *In situ méréés*



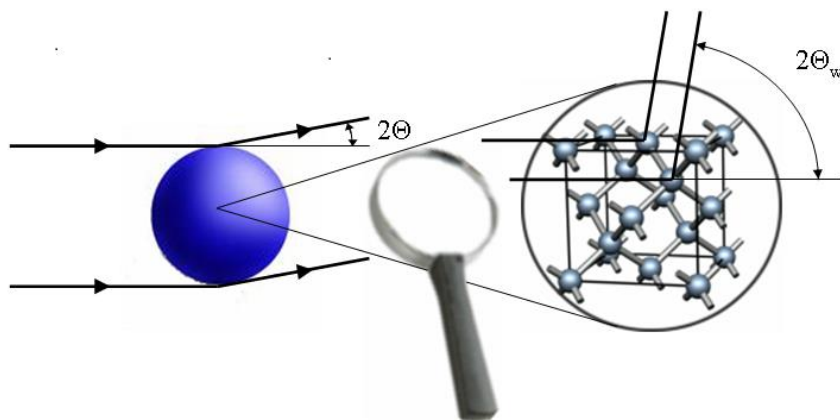
# *In situ mérés*



***rétegszerkezet***



***amorfszerkezet***



**CREDO**  
CREATIVE RESEARCH EQUIPMENT FOR DIFFRACTION

[credo.ttk.mta.hu](http://credo.ttk.mta.hu)