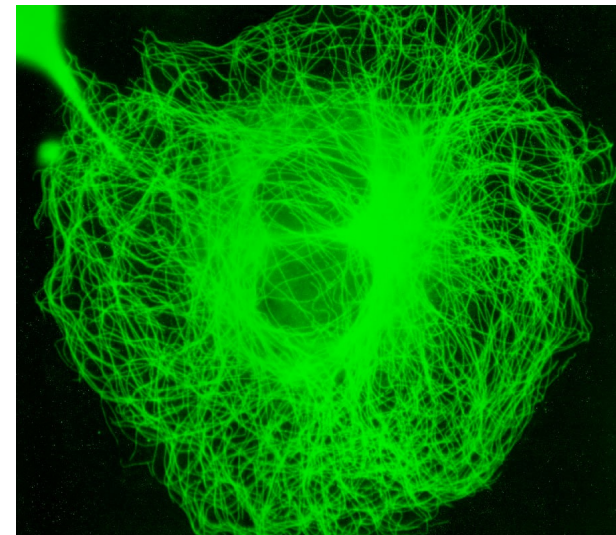


EGYMOLEKULA BIOFIZIKA RÁDIÓSPEKTROSKÓPIÁK (NMR, ESR, MRI)

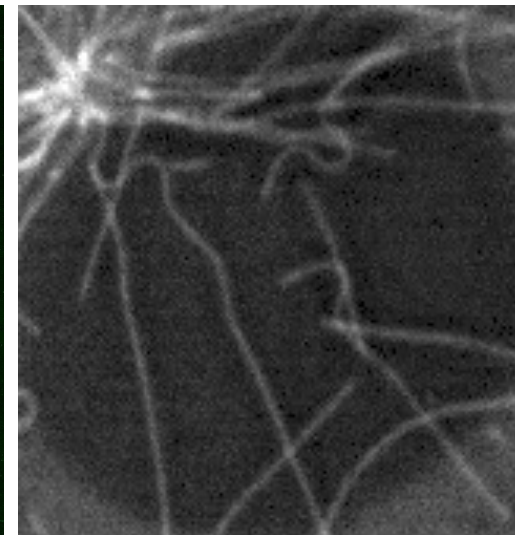
KELLMAYER MIKLÓS

Egymolekula biofizika

1. Egyének (tér- időbeli trajektóriák) azonosíthatók sokaságban



Sokaság - mikrotubuláris rendszer

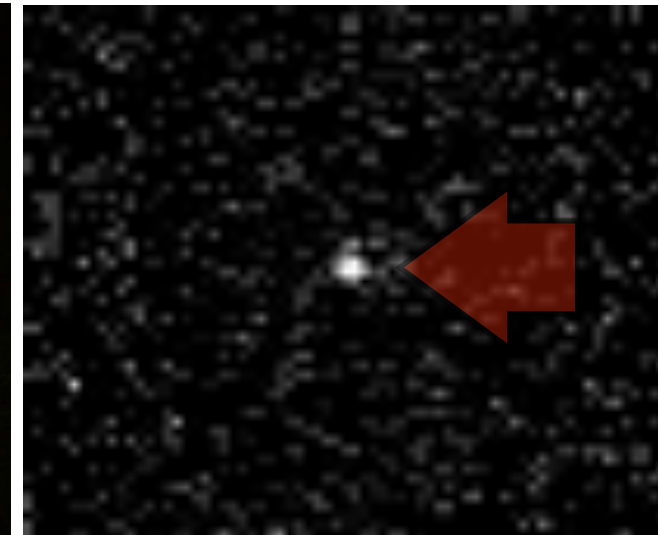


Egyedi mikrotubulusok - treadmilling

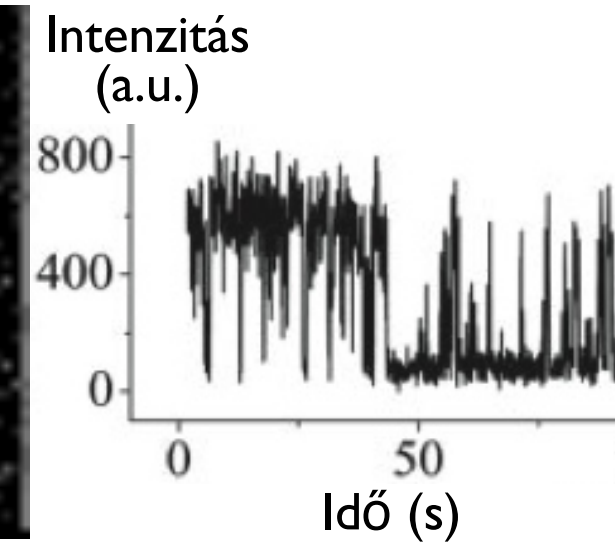
2. Sztochasztikus eseményeket fedeztünk fel



Sokaság - intenzitás

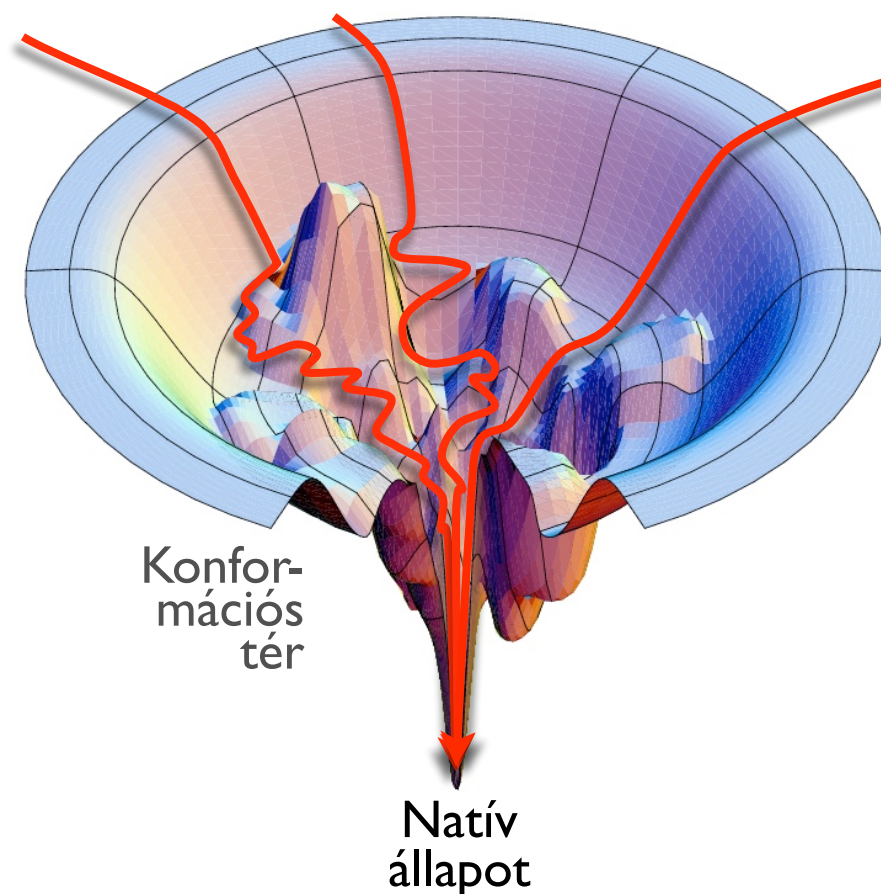


Egyedi kvantumpont - pislogás



3. Párhuzamos útvonalon haladó folyamatokat ismerhetünk meg

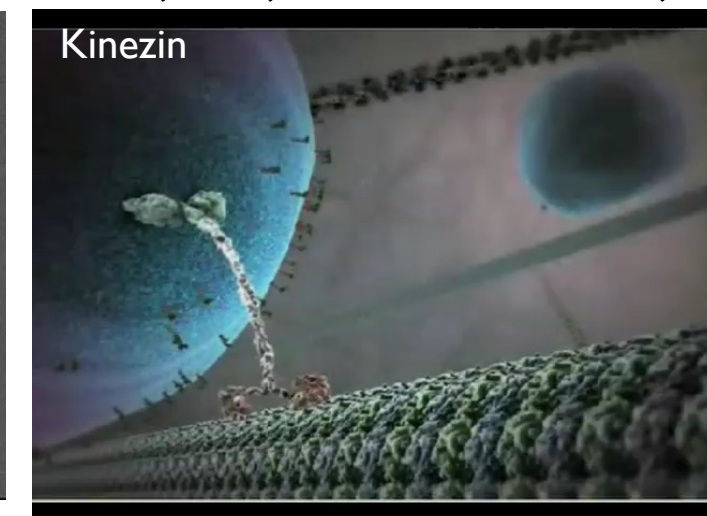
Kigombolyodott állapot



4. Biomolekulák mechanikáját jellemezhetjük



von Willebrand faktor



Kinezin



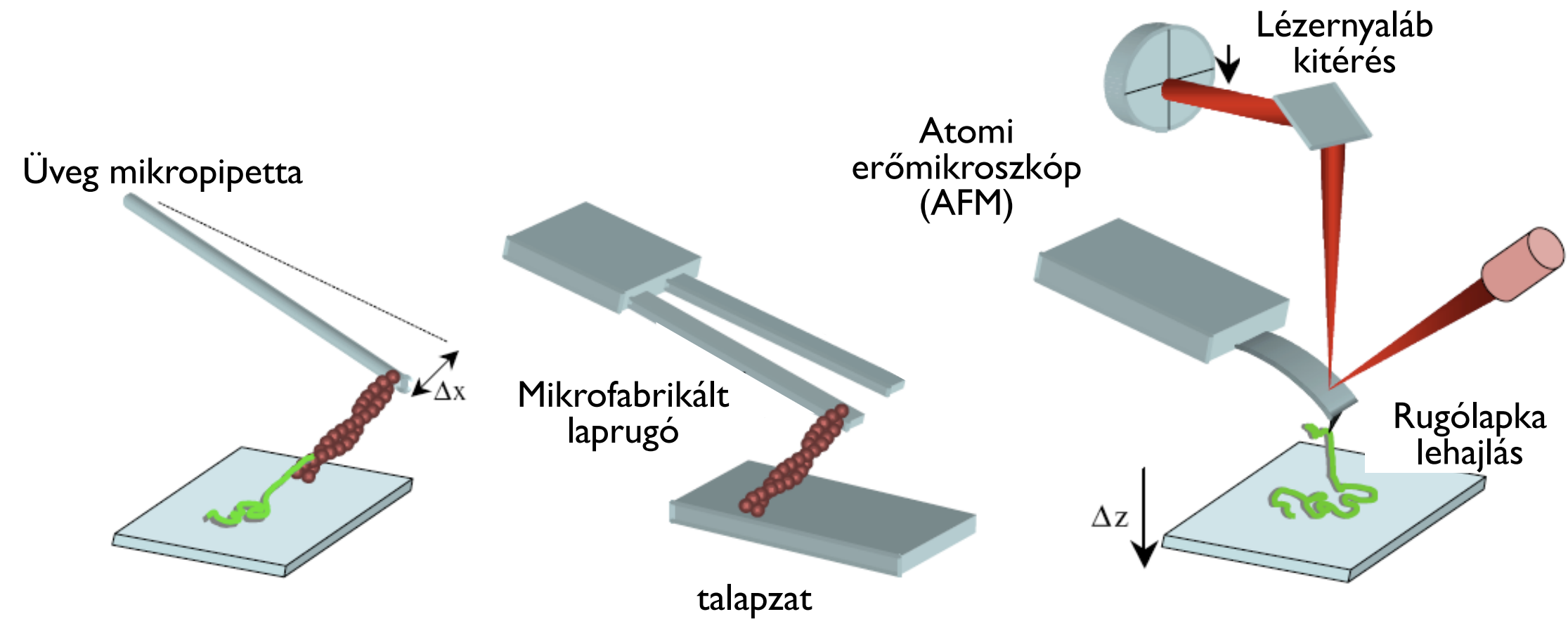
F1F0 ATPáz



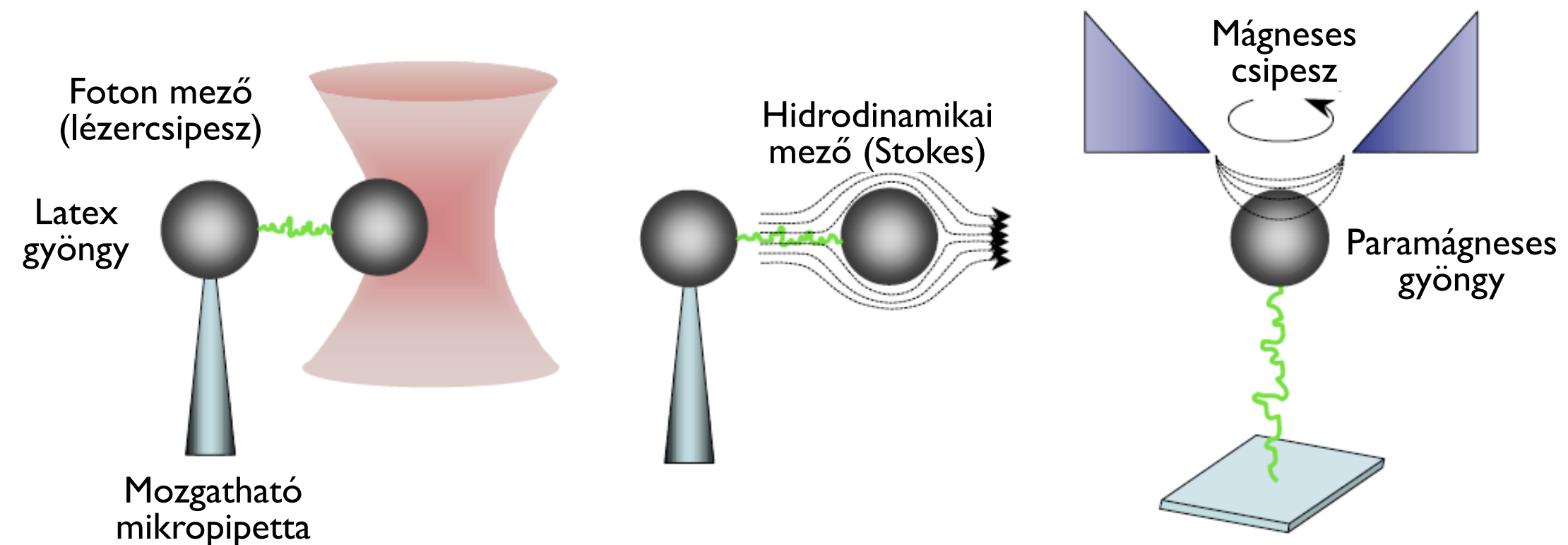
Riboszóma

Egyedi molekulák manipulálása

Rugólapka módszerek

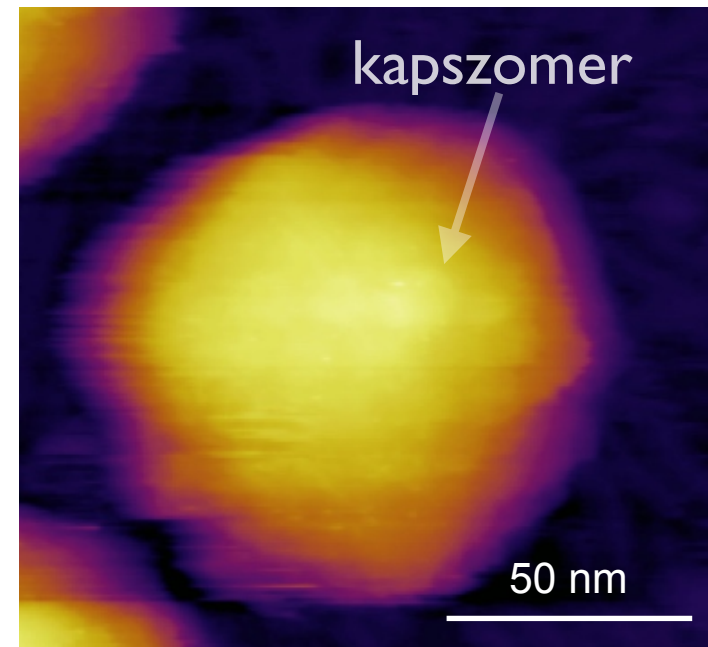
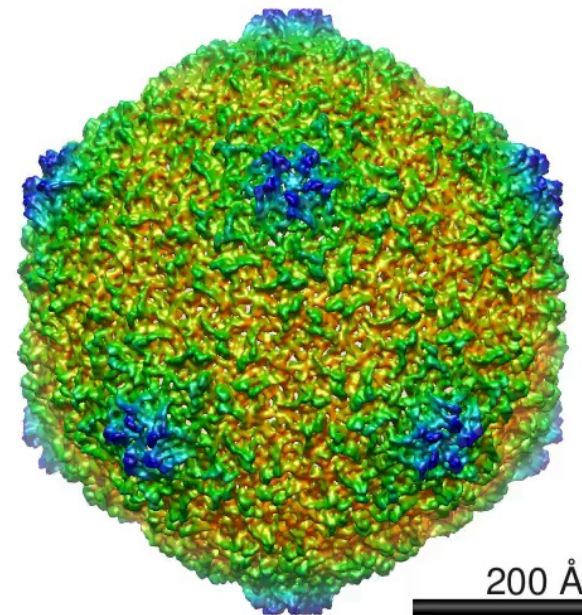


Mező alapú módszerek



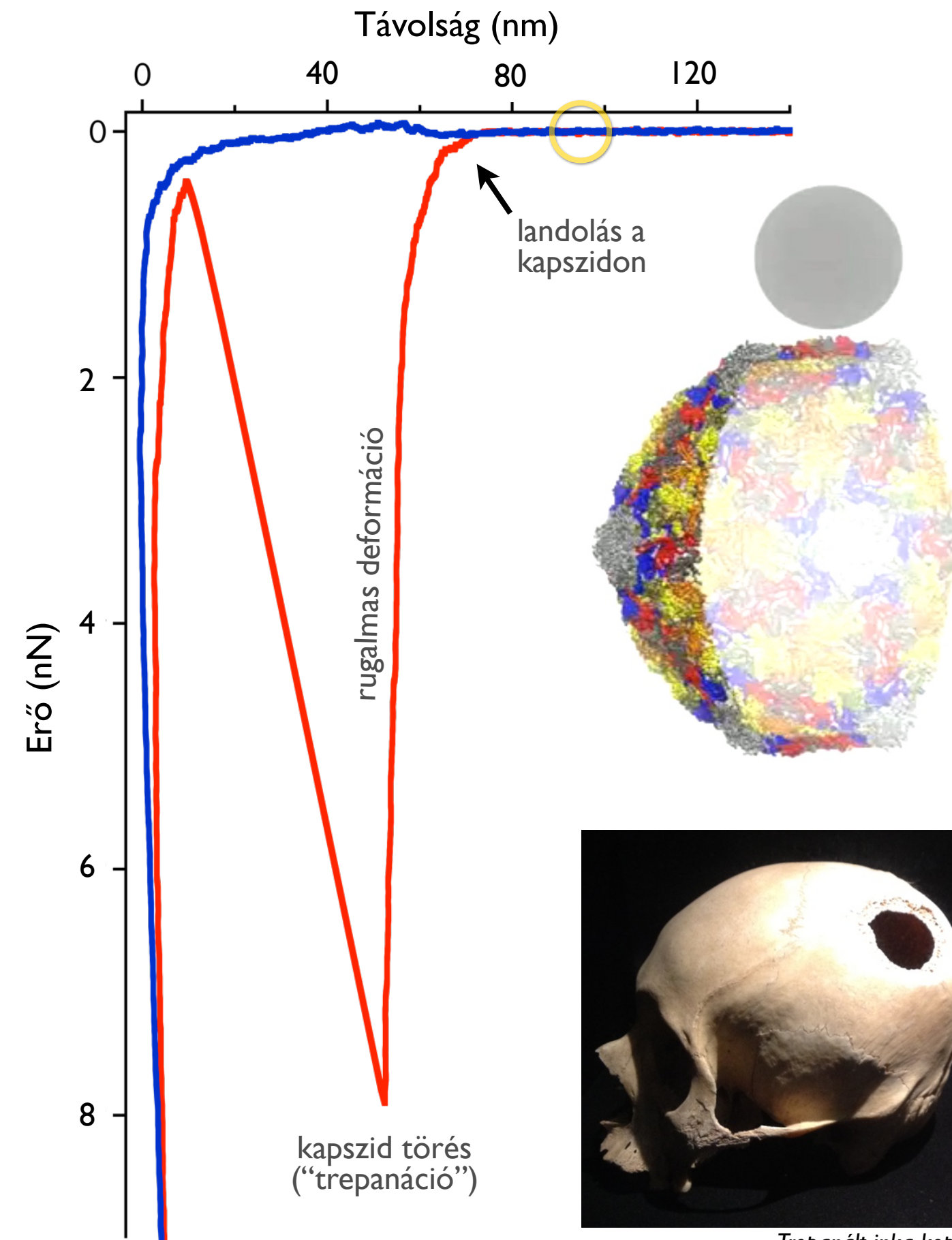
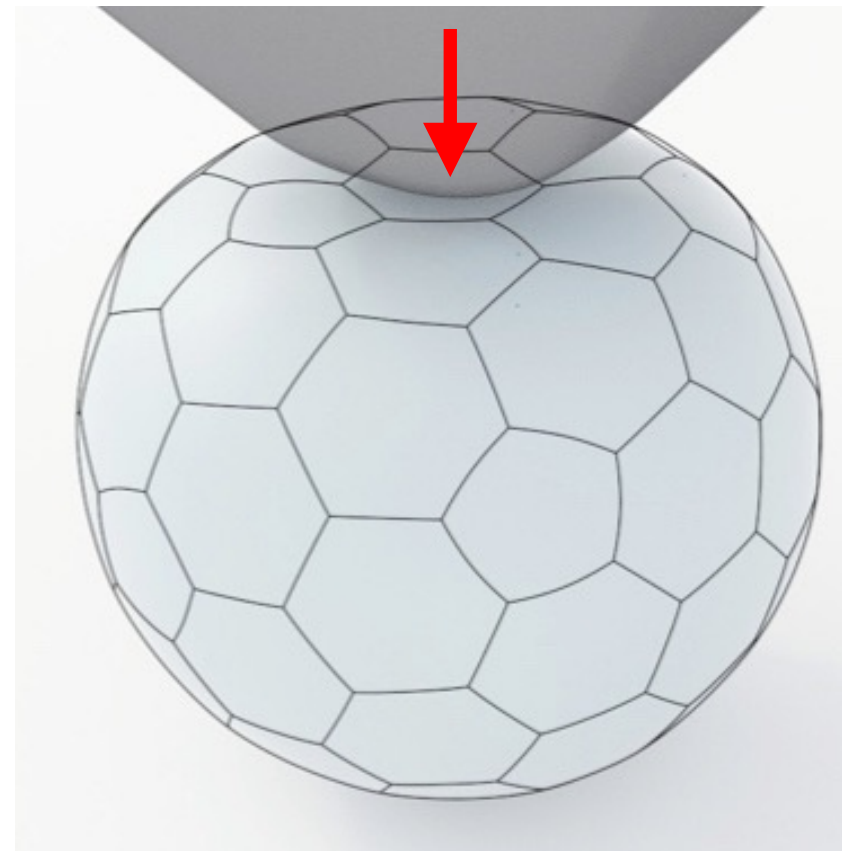
Mérhető paraméterek I. Erő

T7 bakteriofág



Csillám felületen glutáraldehiddel
immobilizált T7 fág partikulumok

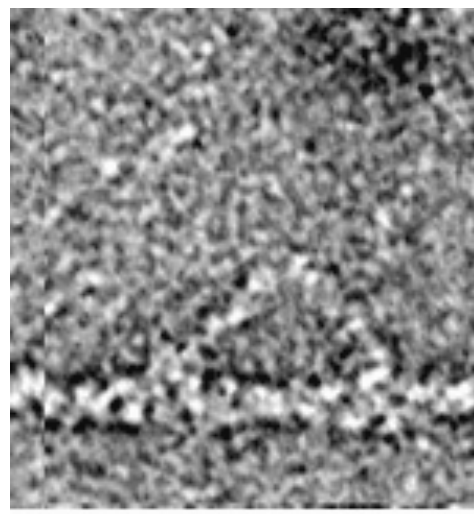
Vírus kapszid
nanoindentációja



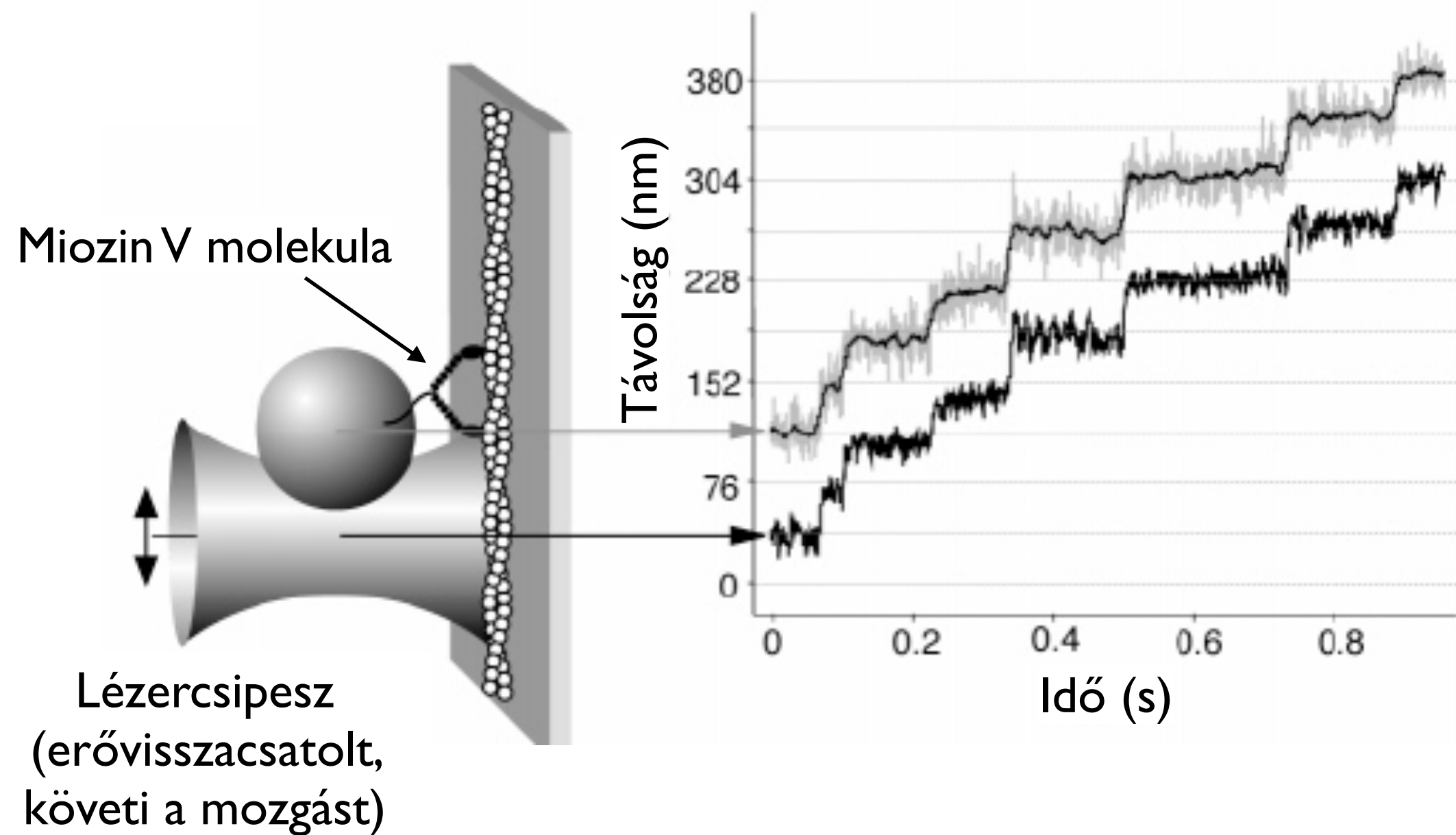
Trepanált inka koponya,
Museo Rafael Larco Herrera, Lima

Mérhető paraméterek II. Távolság

Mekkora lép egy motorfehérje?

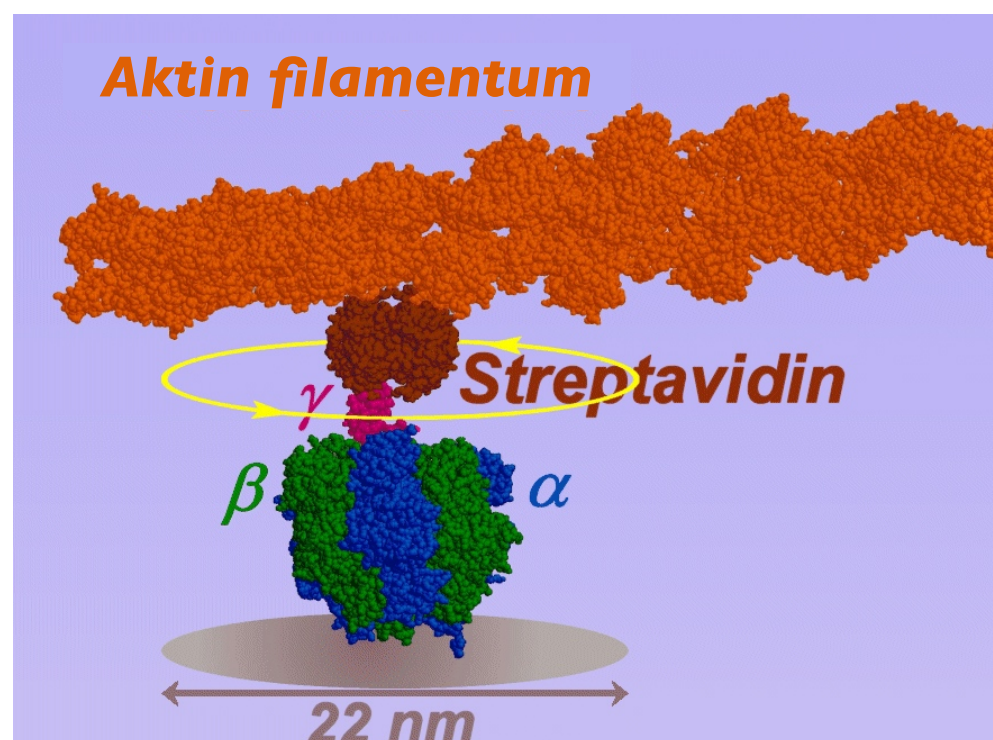
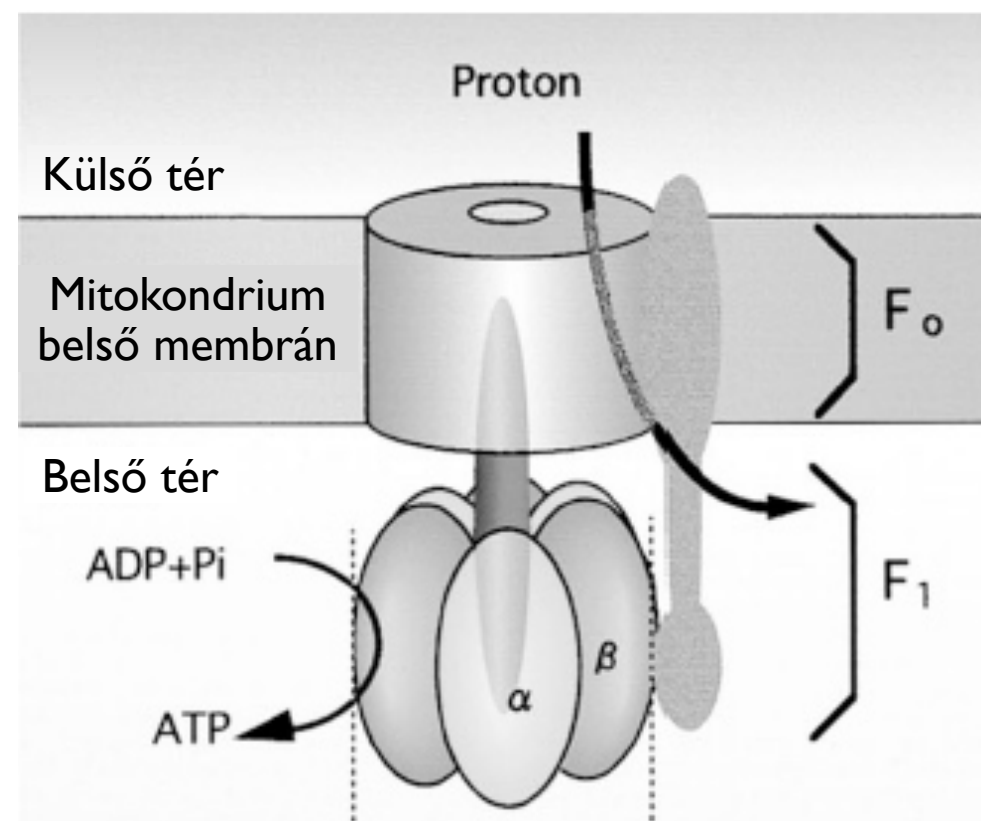


Miozin V
krio-elektron-
mikroszkópiás
felvételsorozat

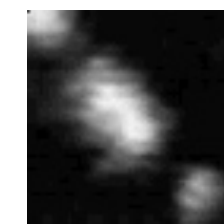


Mérhető paraméterek III. Elfordulási szög

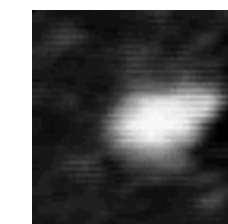
Hogyan működik az ATP szintáz?



1 mM ATP

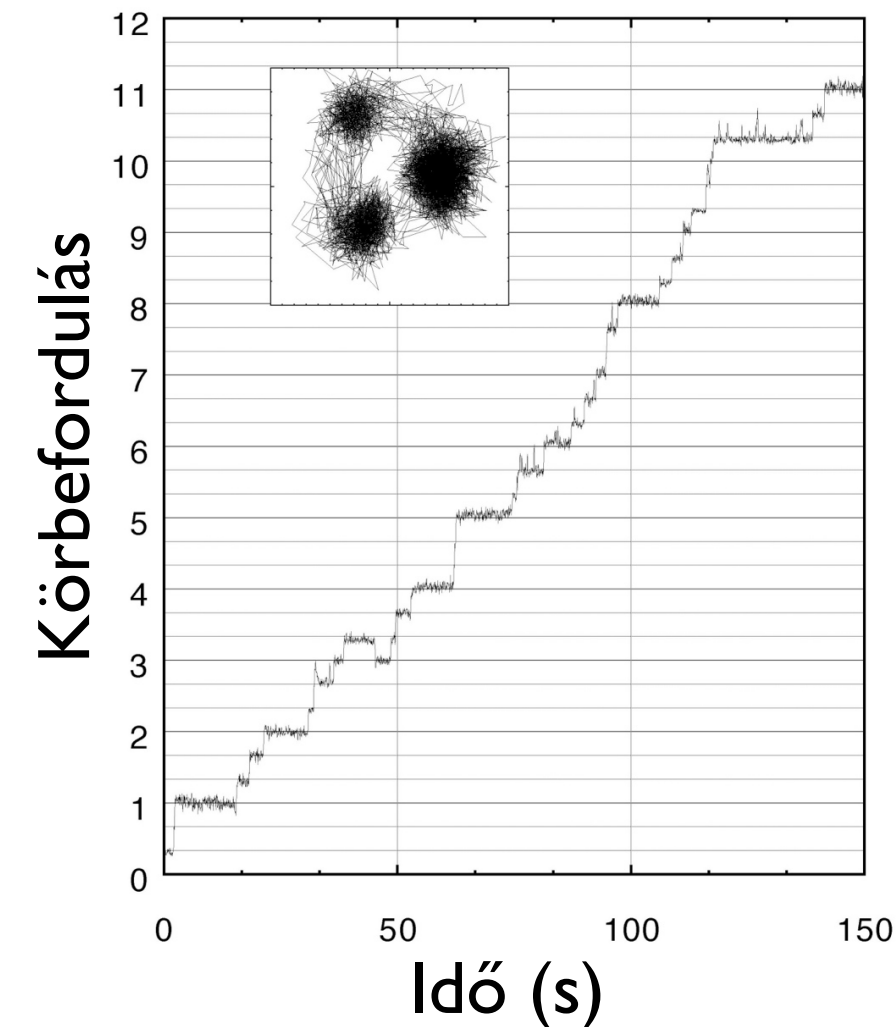


200 nM ATP



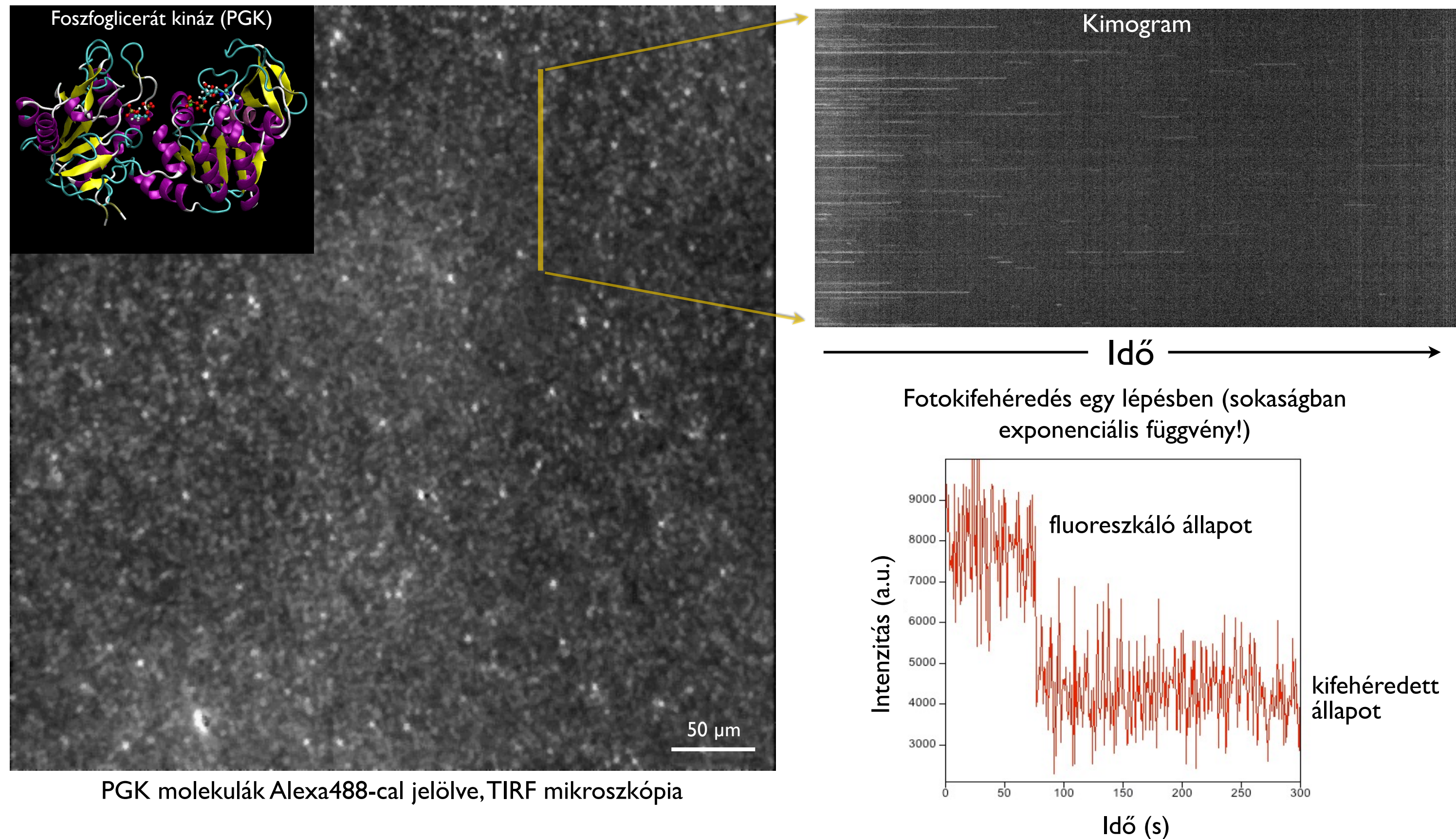
20 nM ATP

Diszkrét 120° rotációs lépések



Mérhető paraméterek IV. Fluoreszcencia

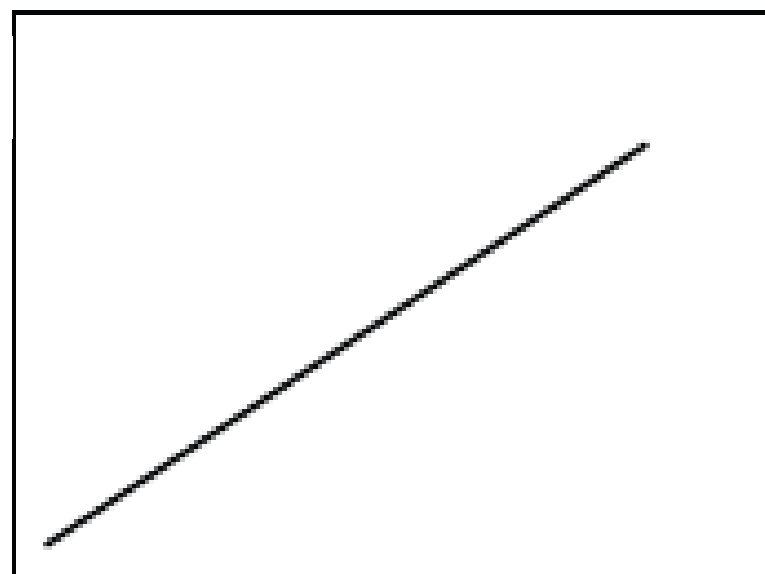
Milyen állapotok között fluktuál egy molekula?



Sokaság *versus* egymolekula viselkedés

Sokaság:

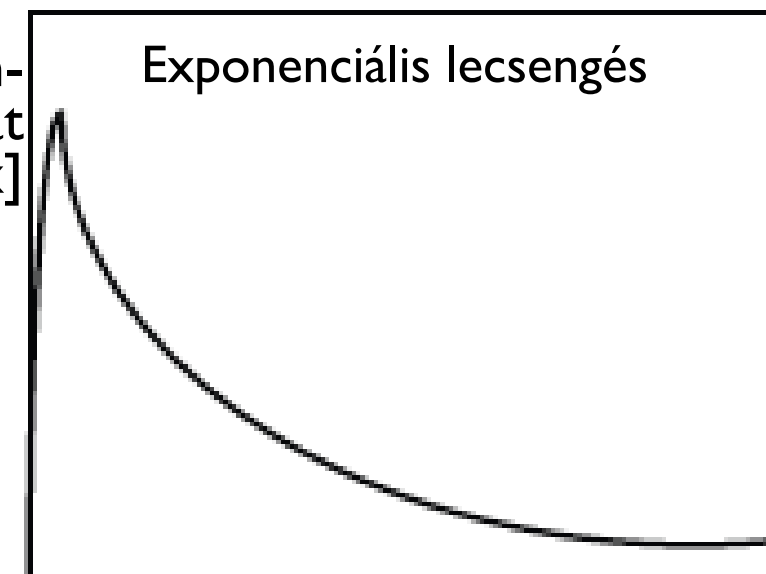
[Termék]



Idő (s)

[Enzim-
szubsztrát
komplex]

Exponenciális lecsengés



Idő (s)

Egyedi
molekula:

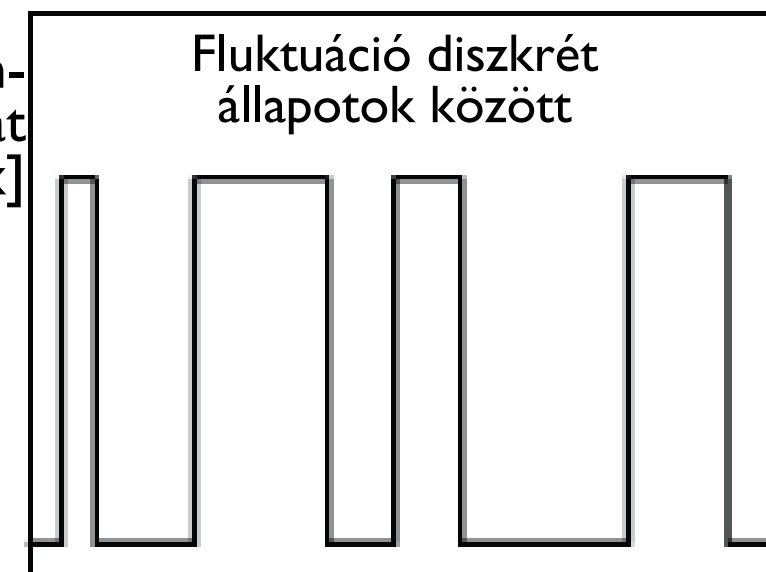
[Termék]



Idő (s)

[Enzim-
szubsztrát
komplex]

Fluktuáció diszkrét
állapotok között



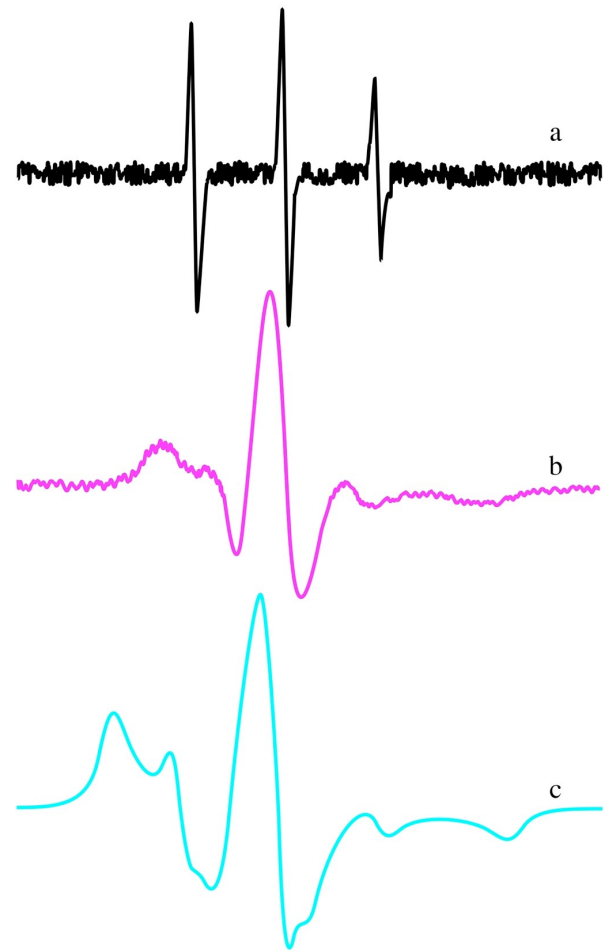
Idő (s)

“Rádióspektroszkópiák”:

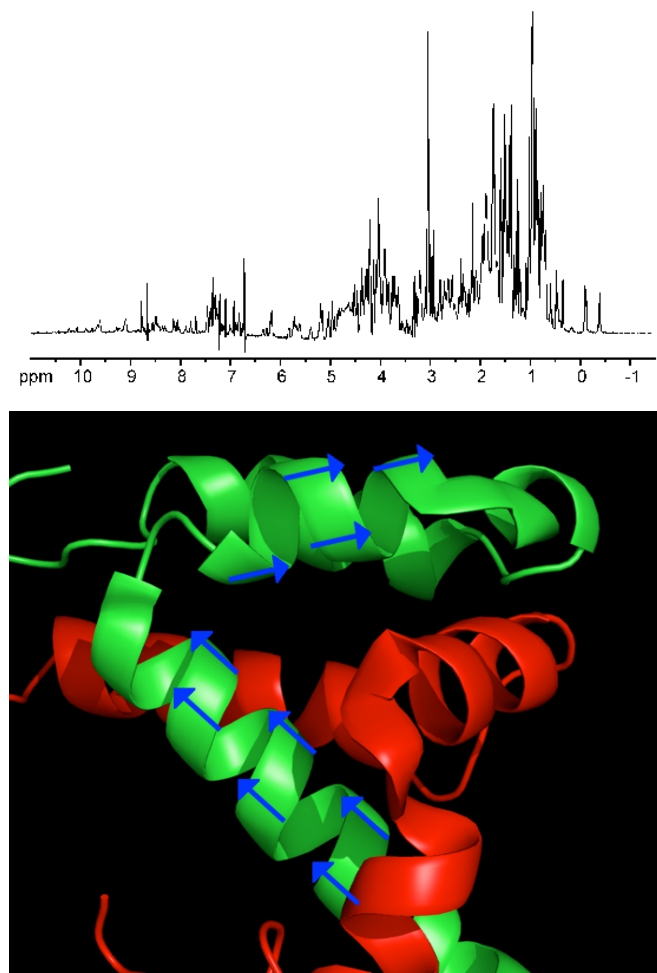
forradalmasították a fizikát, kémiát, biológiát és orvostudományt

- Elektronspin rezonancia (ESR, elektron paramágneses rezonancia - EPR)
- Mágneses magrezonancia (NMR, MRI)

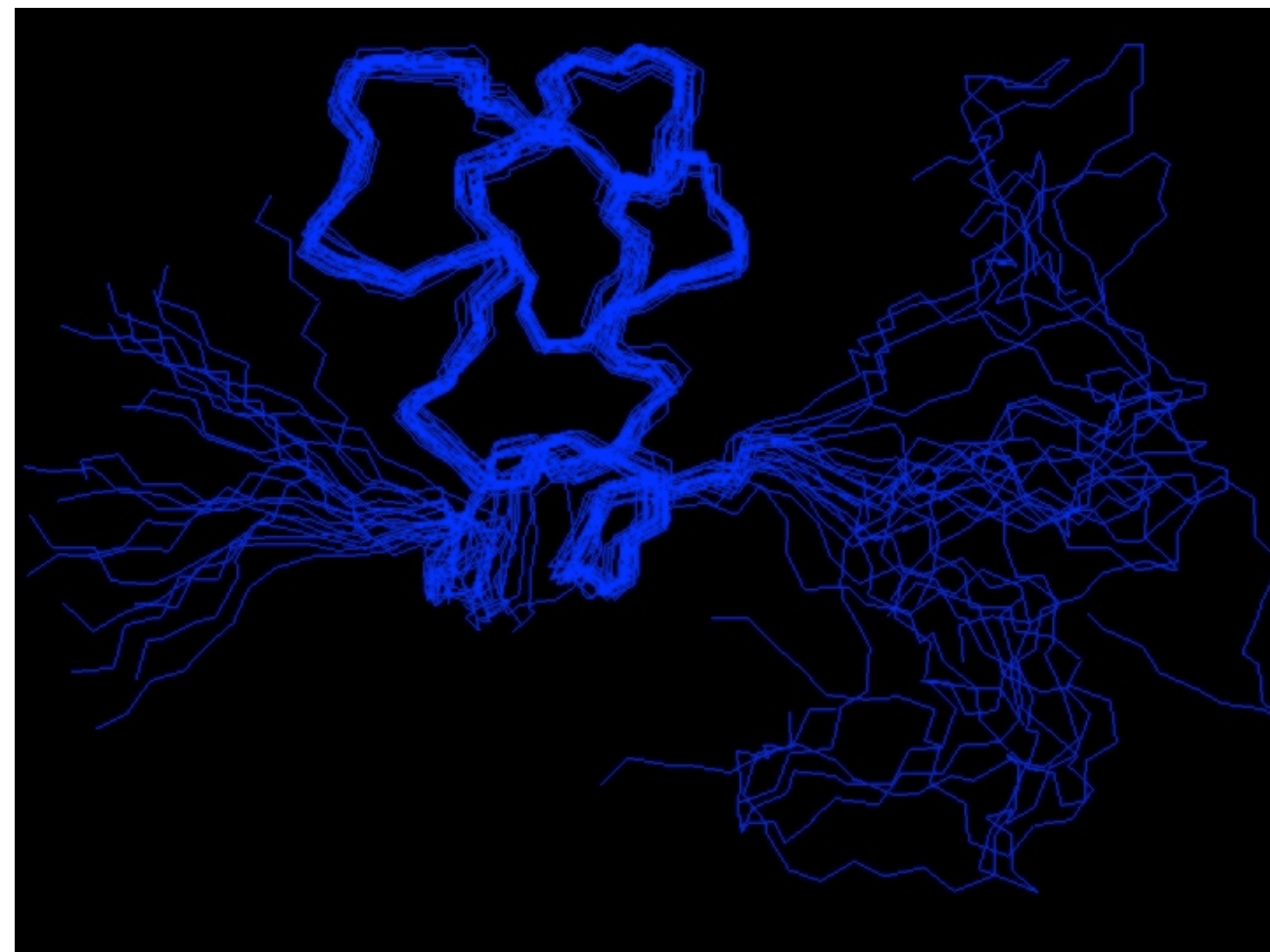
EPR spektroszkópia



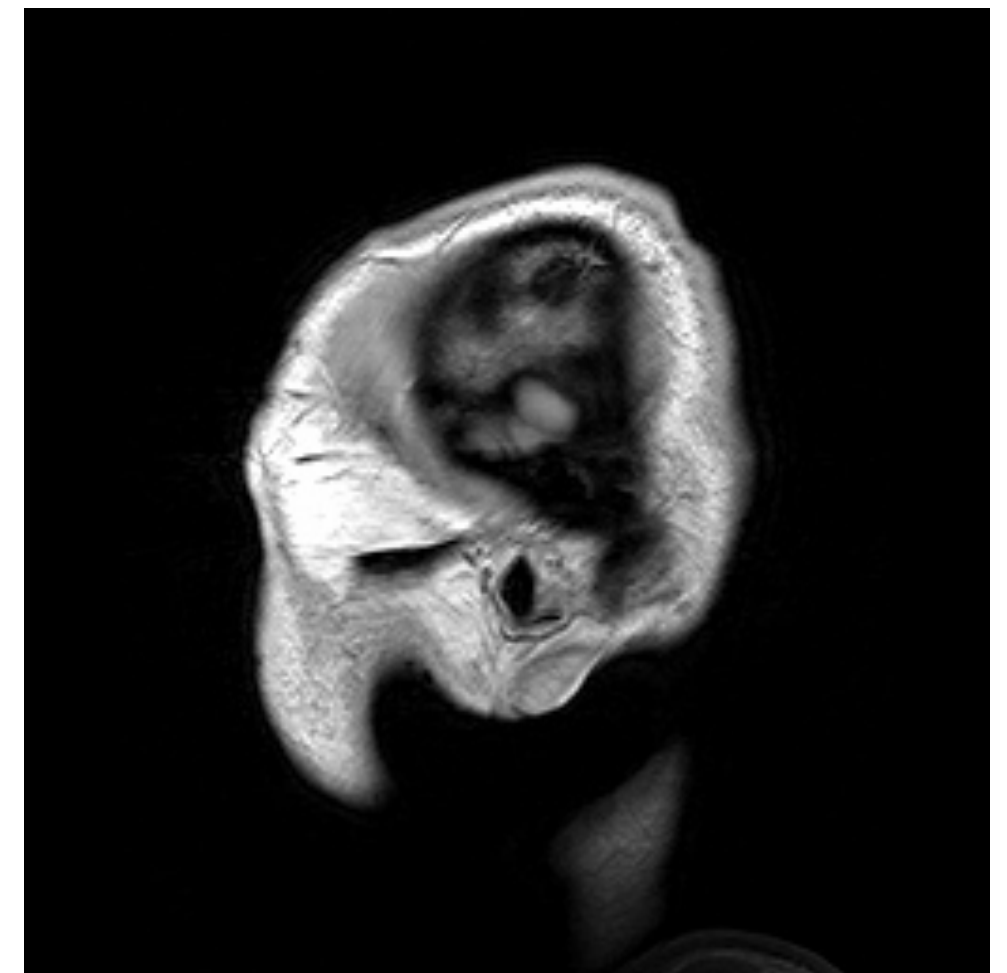
NMR spektroszkópia



Fehérje molekuláris dinamika NMR-rel



Nagyfelbontású, anatómiai MRI



Atomi, molekuláris rendszerek elemi mágnesként viselkedhetnek

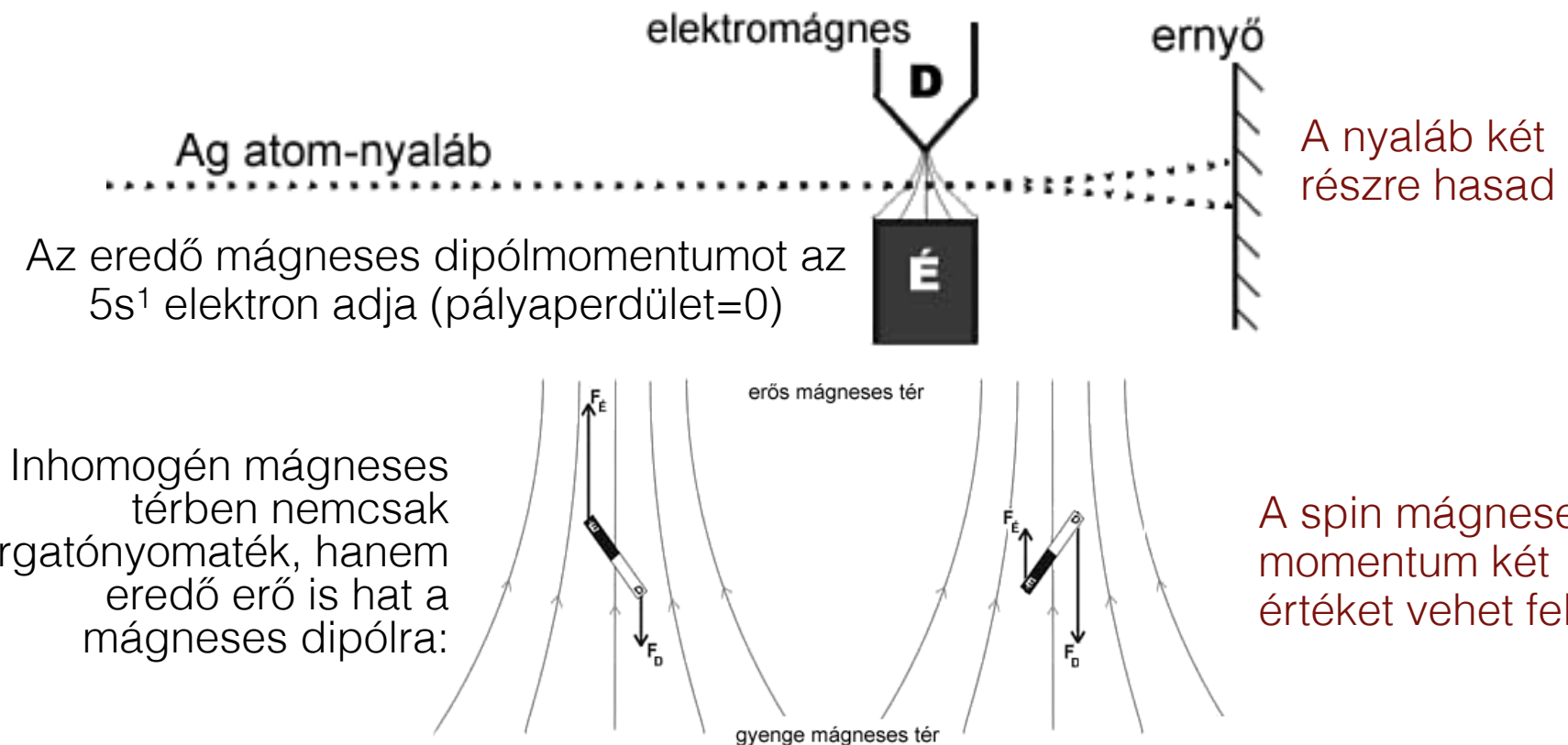
Stern-Gerlach kísérlet (1922)



Otto Stern
(1888-1969)



Walther Gerlach
(1889-1979)



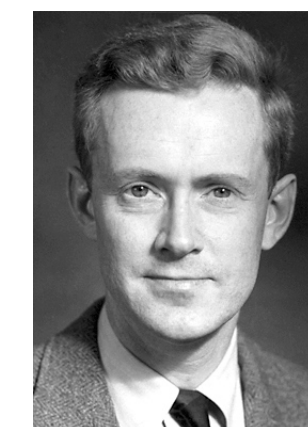
Mágneses magrezonancia (“nuclear
magnetic resonance”, NMR)
Nobel-díj, 1952



Isidor Rabi
(1898-1988)



Felix Bloch
(1905-1983)

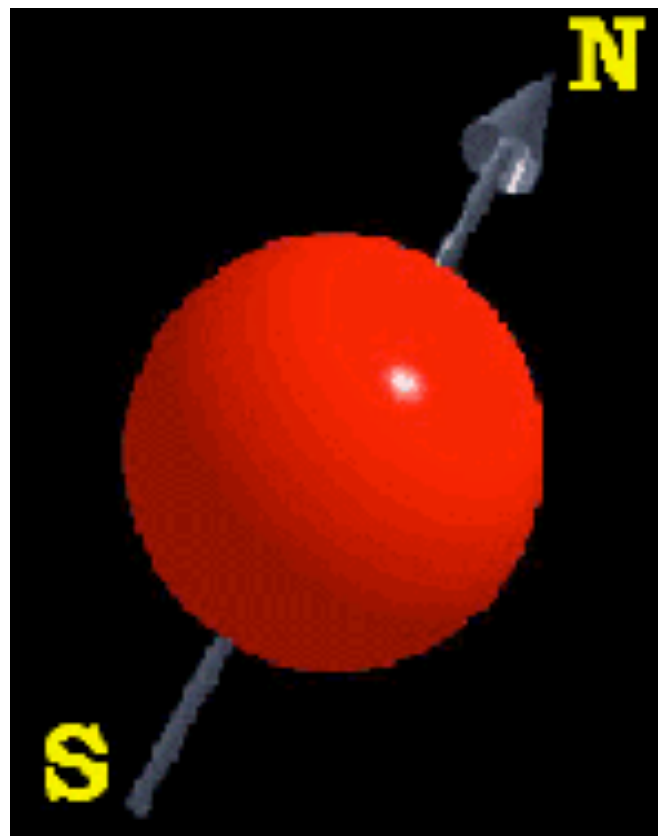


Edward Mills Purcell
(1912-1997)

Mágneses rezonancia: Mágneses térbe helyezett minta általi,
rezonancia-abszorpció jellegű elektromágneses energia elnyelés.

Eredő spinnel rendelkező rendszerek: elemi mágnesek

- Elemi részecskék (p, n, e) saját *spin*nel rendelkeznek.
- Elemi részecskék száma és bizonyos rendező elvek (pl. Pauli-elv) miatt *eredő spin* léphet fel.
- Atommag: páratlan tömegszám - feles magspin (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P); páros tömegszám, páratlan rendszám - magspin egész; páros tömegszám és rendszám - magspin zérus.
- Elektron: eredő elektronspin stabil párosítatlan elektront tartalmazó rendszerekben (pl. szabad gyökök).
- *Töltés* és *eredő spin* miatt *mágneses momentum* lép fel.



Pörgettyűmodell

Magmágneses momentum:

$$M_N = \gamma_N L$$

γ_N = atommag giromágneses hányadosa (mágneses momentum és perdület aránya)

L = magspin ($L = \sqrt{l(l+1)}\hbar$), ahol l =eredő spinkvantumszám.

Elektronspin mágneses momentuma:

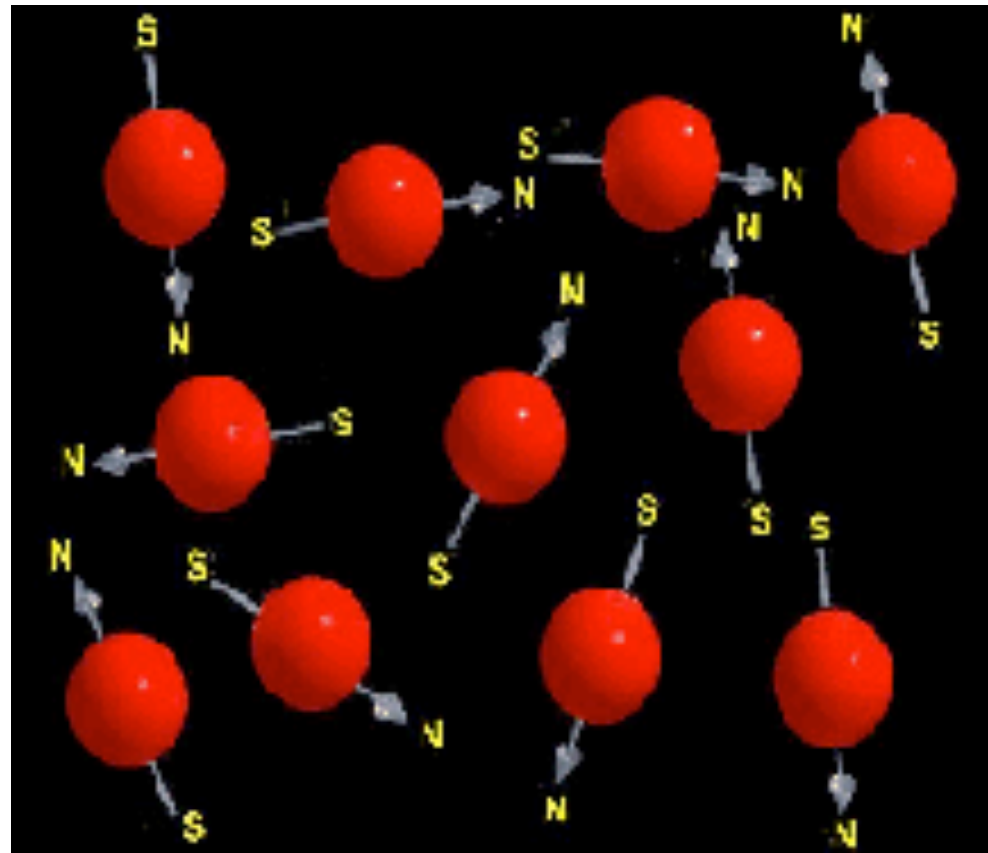
$$M_e = -g\mu_\beta \sqrt{S(S+1)}$$

g = elektron g-faktora (a mágneses momentum és giromágneses hányados kapcsolatát leíró dimenzió nélküli arányszám)

μ_β = Bohr magneton (az elektron mágneses dipólmomentum egysége)

S = spinkvantumszám

Mágneses térben a spinek orientálódnak

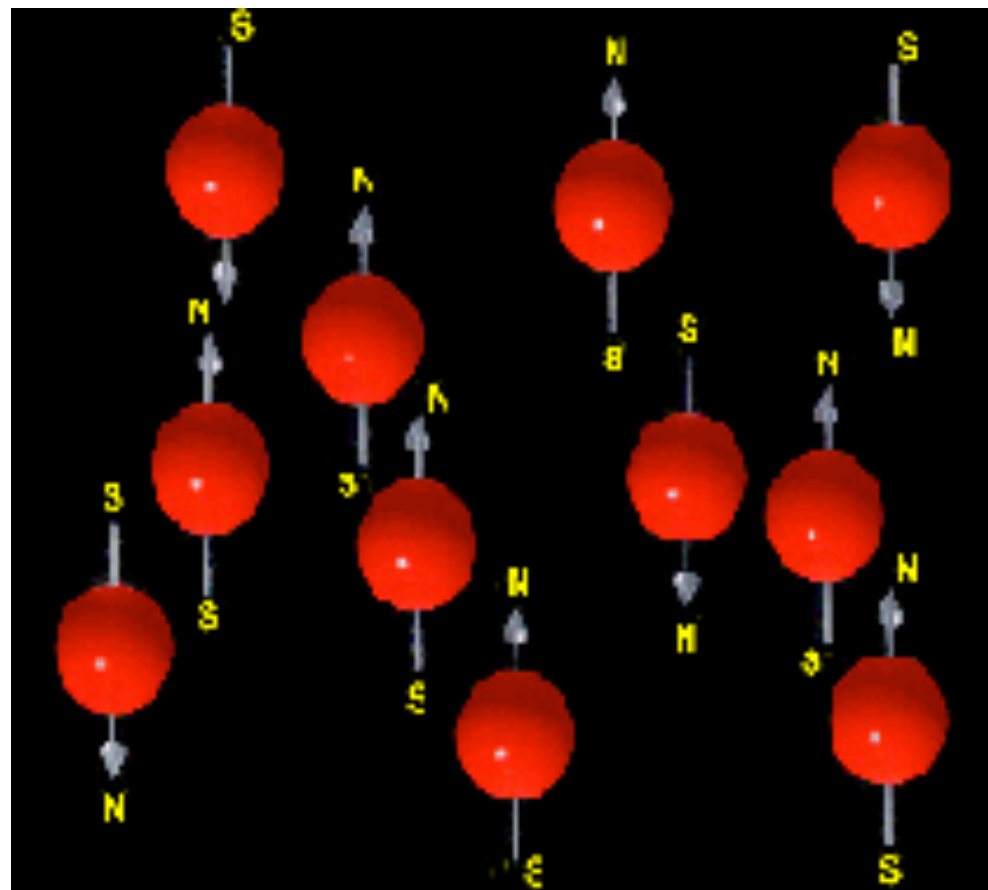


Mágneses tér hiányában:

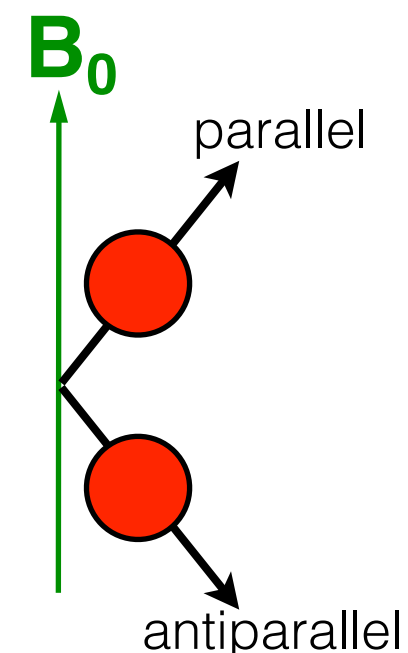
elemi mágnesek orientációja random

Paramágnesség: külső mágneses tér hatására fellépő mágnesezettség (mágneses dipólok orientációja).

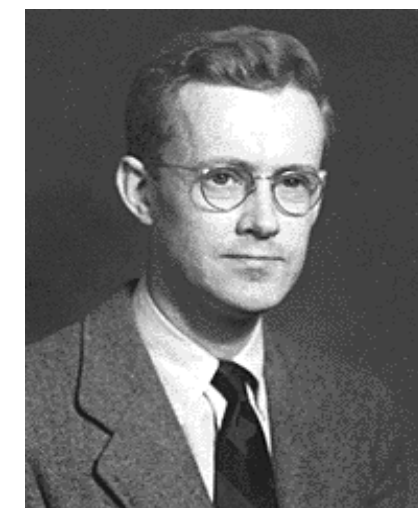
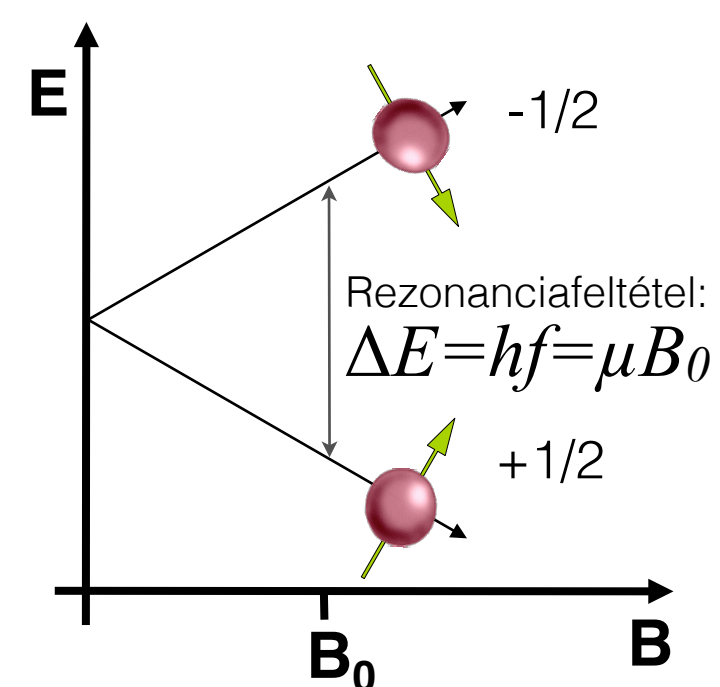
Mágneses térben:



elemi mágnesek orientálódnak



energiaszintek felhasadnak

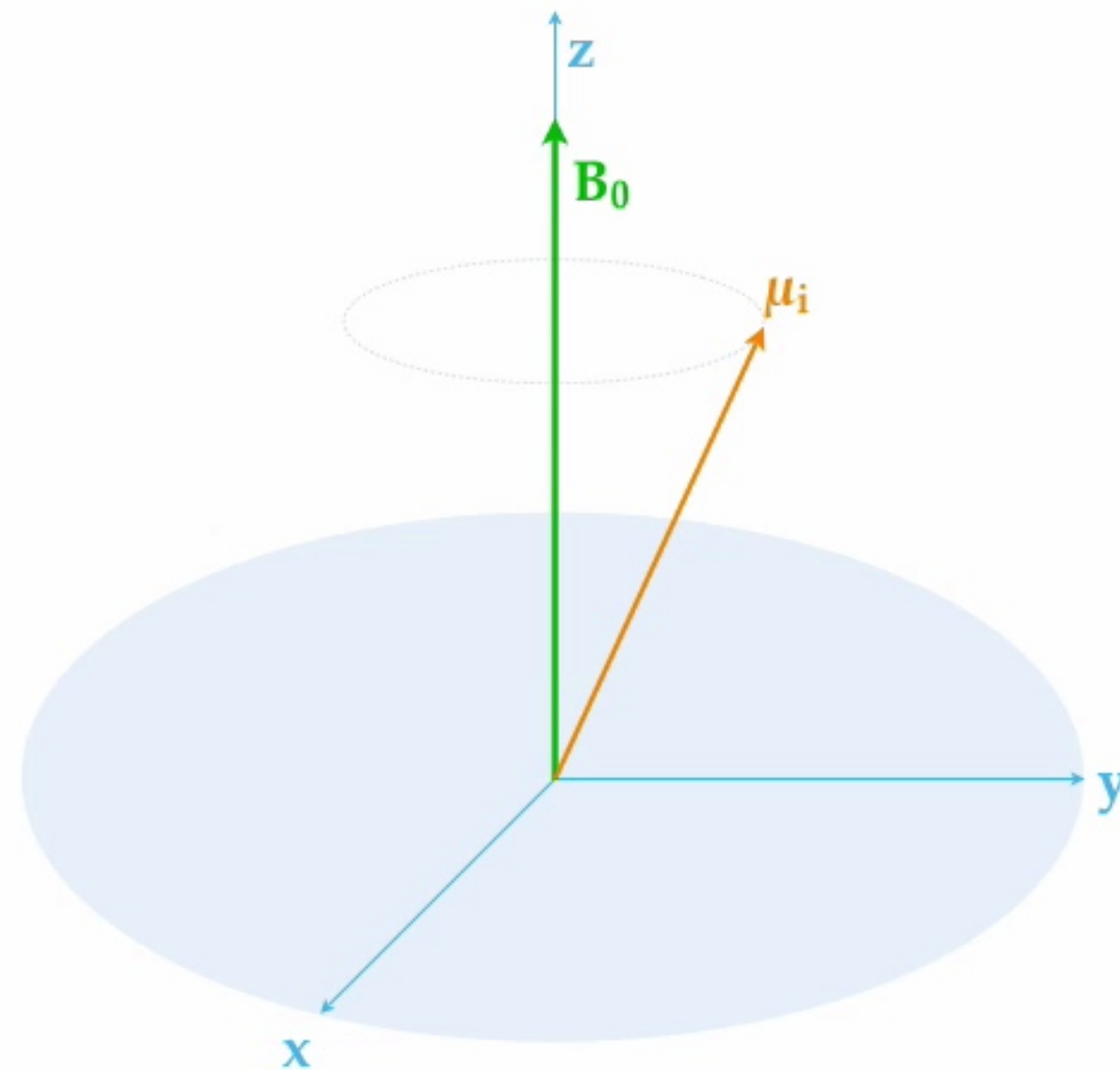


Edward Purcell, 1946

Az orientált spinek precessziós mozgást végeznek



Pörgettyű precessziós mozgása



Elemi mágneses momentum (μ_i) precessziós mozgása mágneses tér iránya körül (mágneses indukció: B_0) az xyz vonatkoztatási térben

Precessziós vagy Larmor frekvencia:

$$\omega_0 = \gamma B_0$$

$$f_{Larmor} = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$$

Rezonanciafeltétel:

$$\Delta E = \frac{h\omega_0}{2\pi}$$

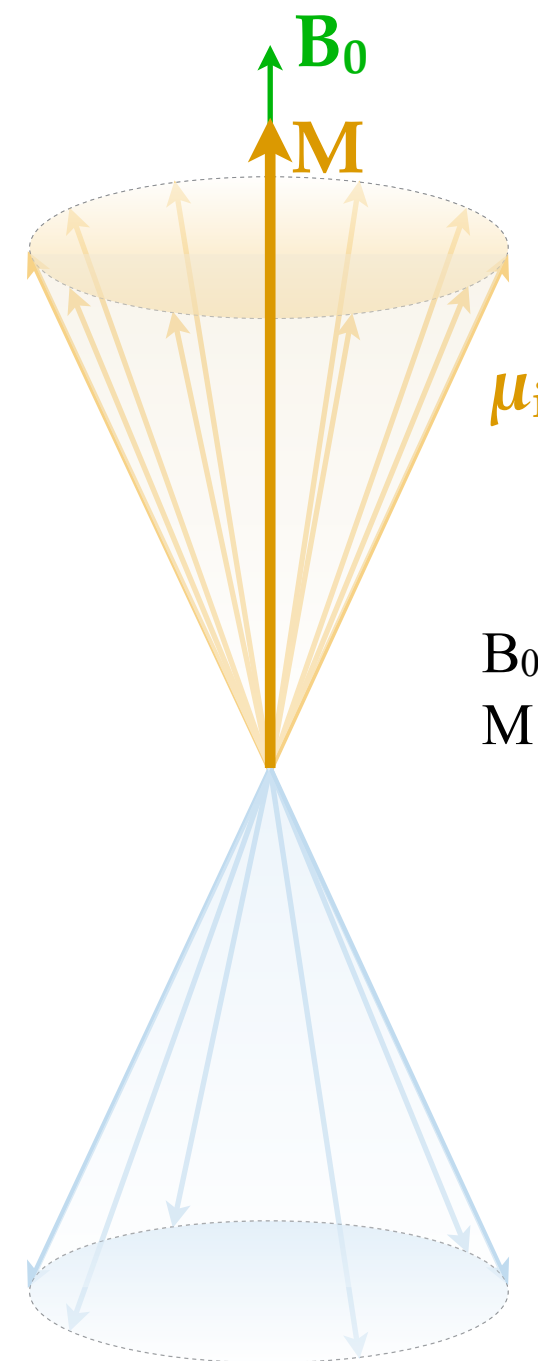
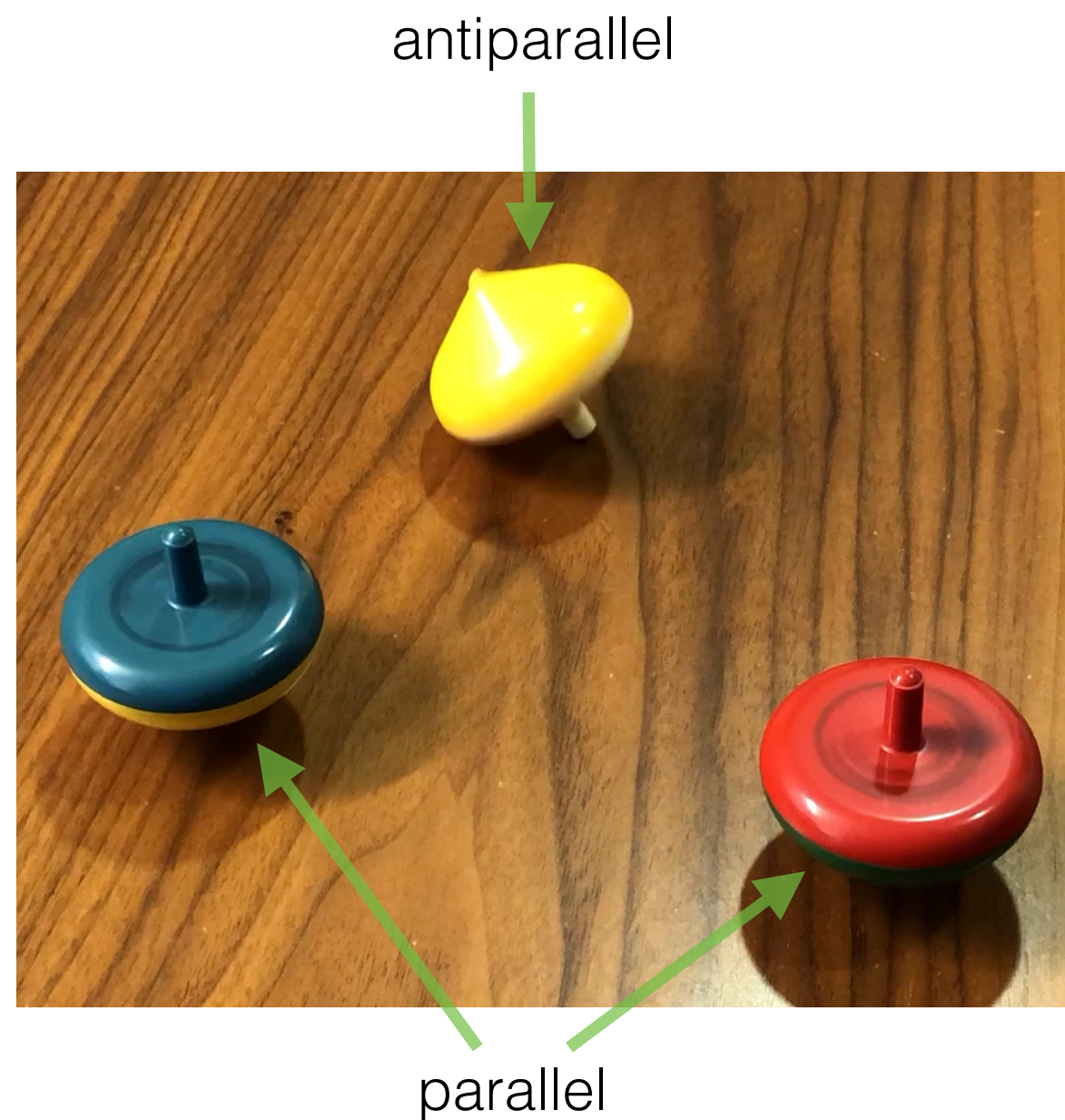


Felix Bloch, 1946

Makroszkópos mágnesezettség

Különböző energiaszinteken spintöbbslet miatt

Alacsony energiájú állapot
parallel a proton esetében



B_0 = mágneses tér
 M = makroszkópikus
mágnesezettség

Nagy energiájú állapot
antiparallel a proton esetében

A nagy (parallel) ill.
alacsony (antiparallel)
energiájú spinállapotok
aránya:

$$\frac{N_{antiparallel}}{N_{parallel}} = e^{-\frac{\Delta E}{k_B T}}$$

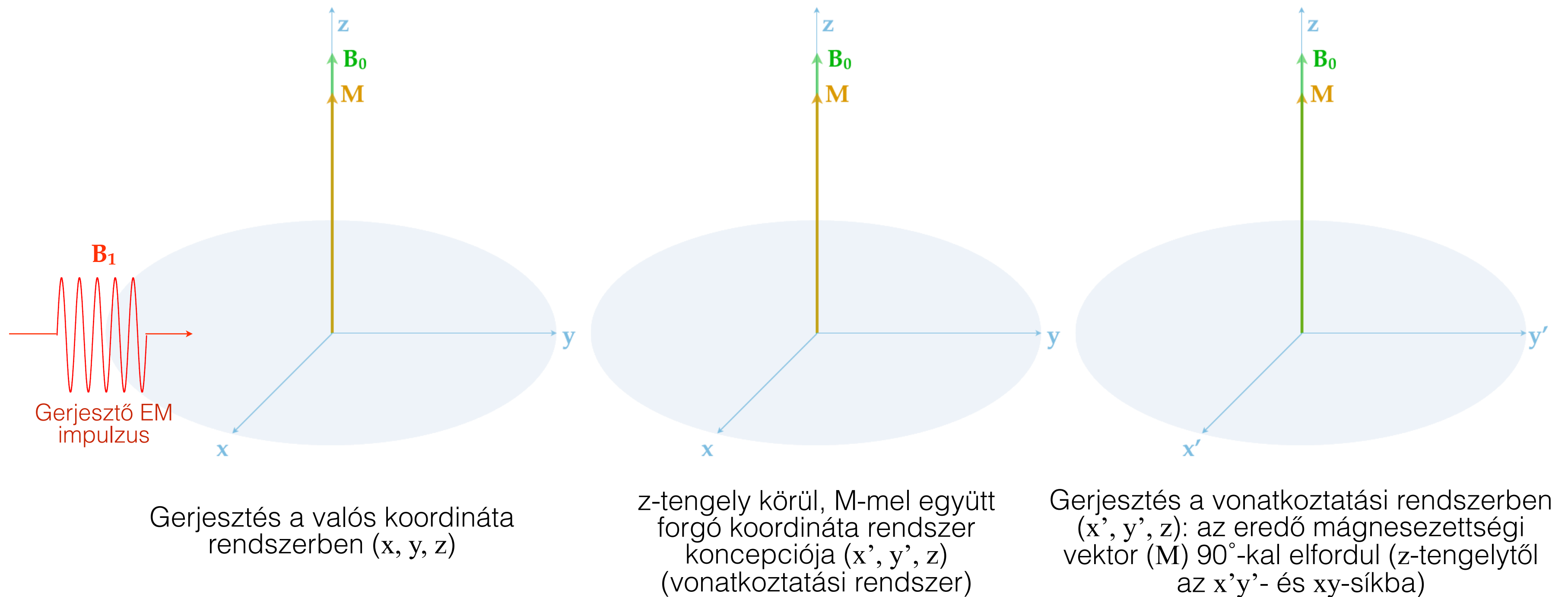
(Boltzmann-eloszlás)

MRI-ben alkalmazott
mágneses térerő:
Föld mágneses térerejének
20-50 ezerszerese

Gerjesztés

Rezonancia feltétel: Larmor frekvencia

Alkalmazott elektromágneses sugárzás: rádióhullám (NMR, MRI), mikrohullám (ESR)

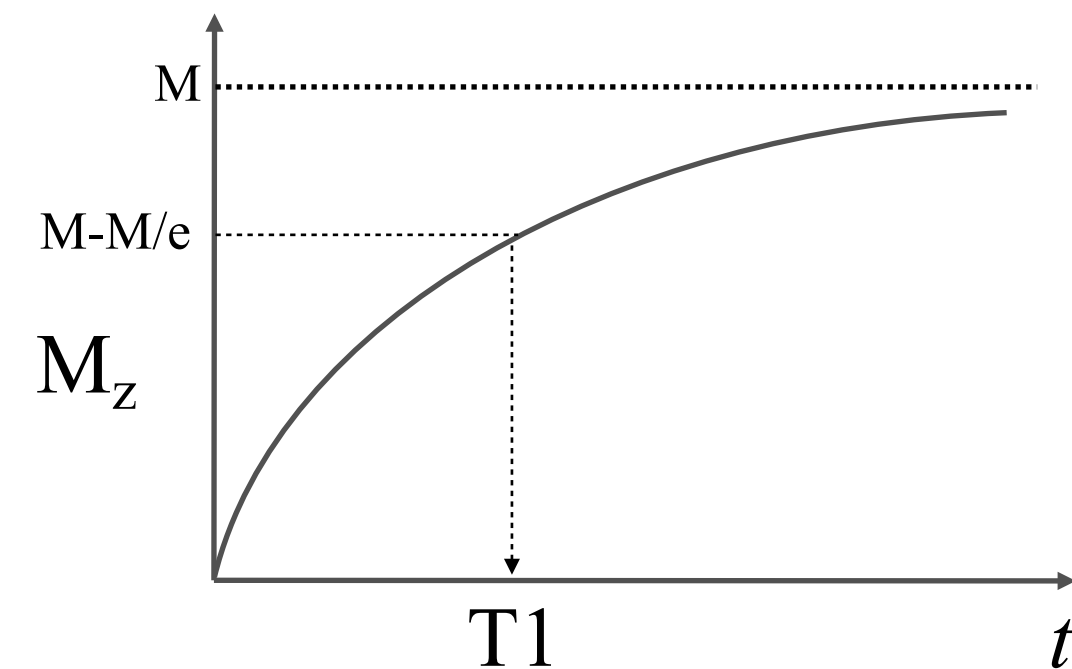
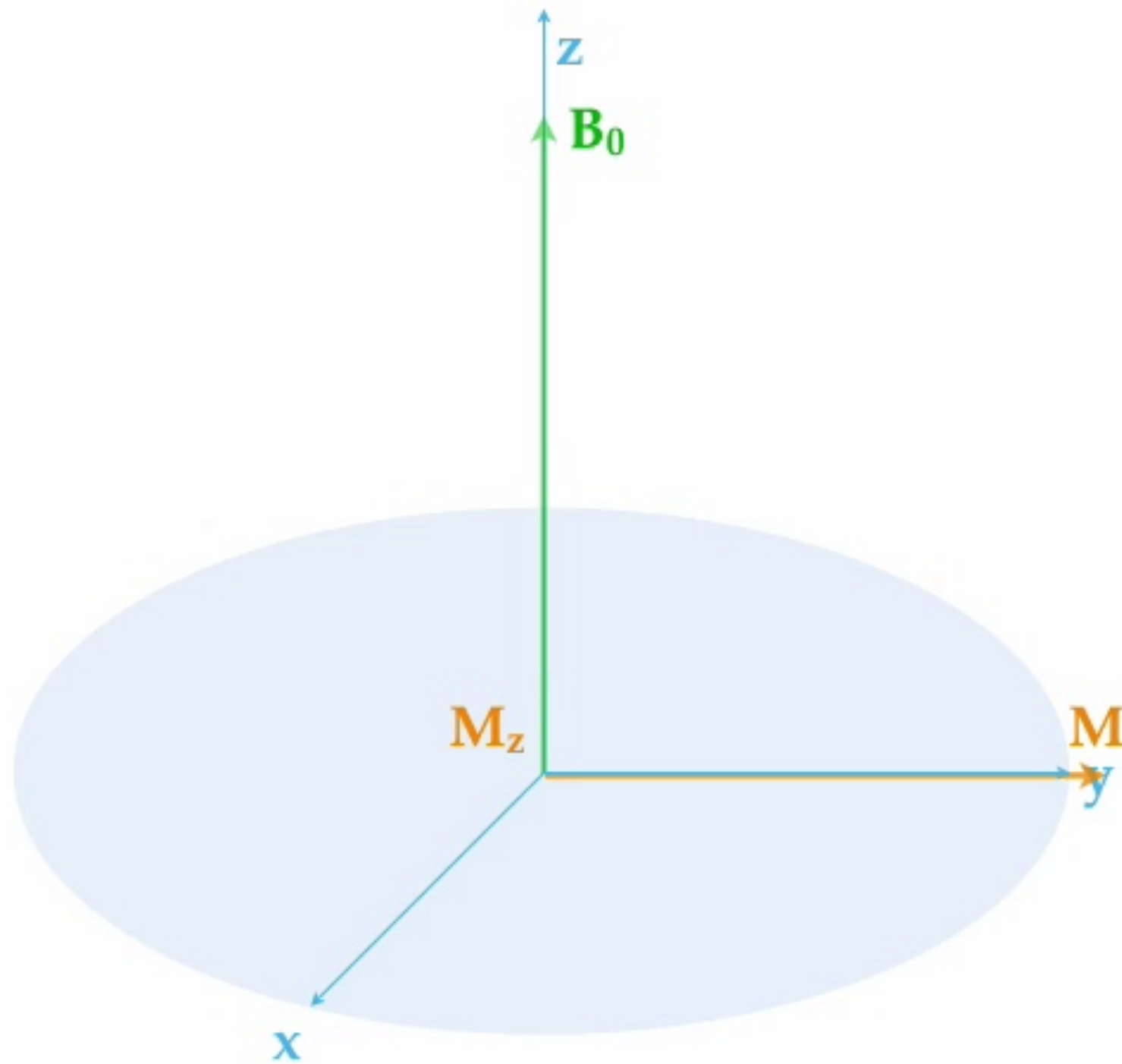


B_0 = mágneses tér
 M = makroszkópos mágnesezettség
 B_1 = besugárzott elektromágneses tér

Spin-rács relaxáció

T1 vagy longitudinális relaxáció

Az eredő mágneszettségi vektor (M) relaxation) of the z -tengelymenti vektoriális komponensének (M_z) visszatérése (relaxációja) a külső mágneses tér irányába



T1 relaxációs idő:
elemi mágnes (proton) és
környezete közötti kölcsönhatásra utal

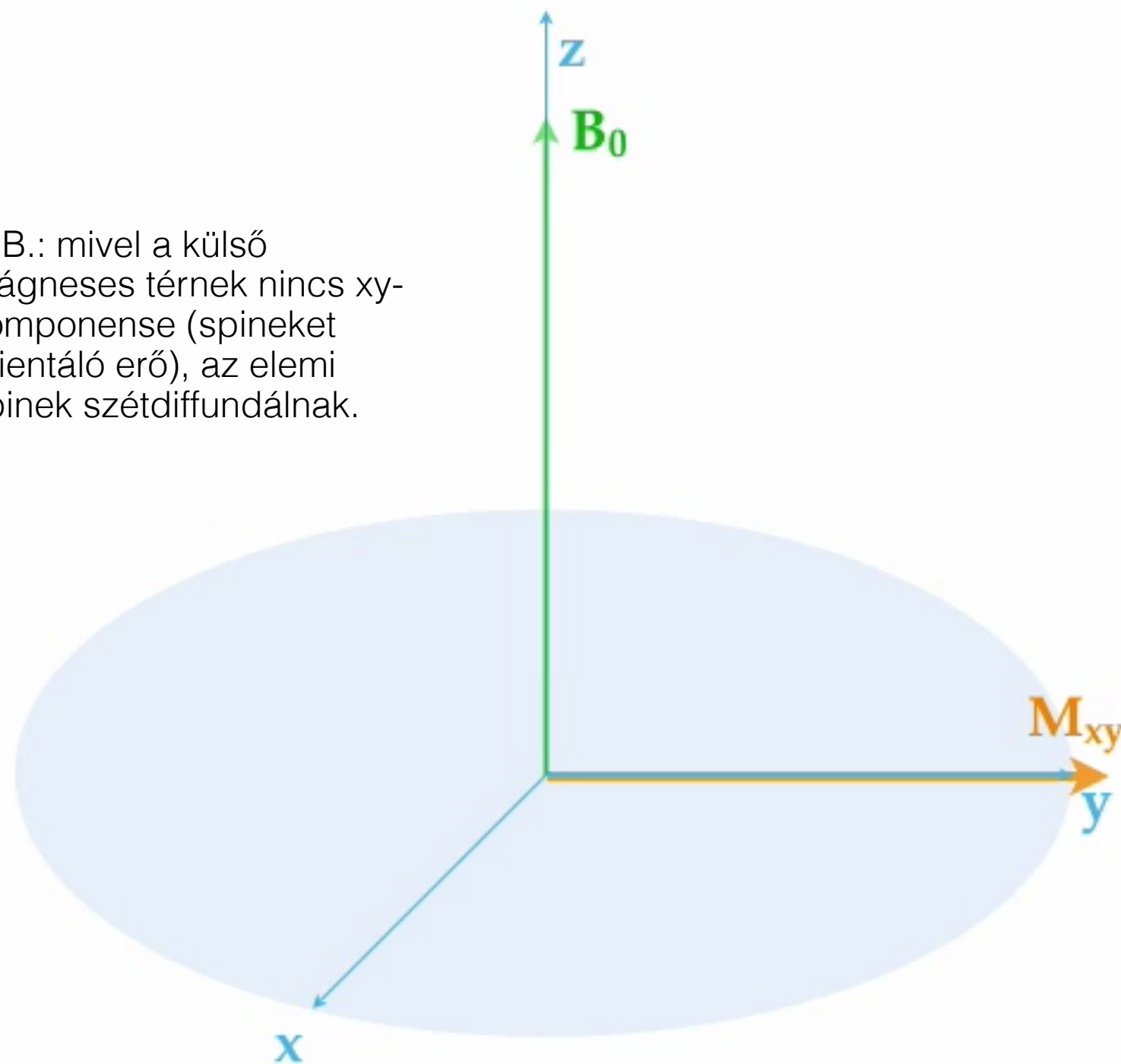
M_z : M z -tengelymenti vektoriális komponense

Spin-spin relaxáció

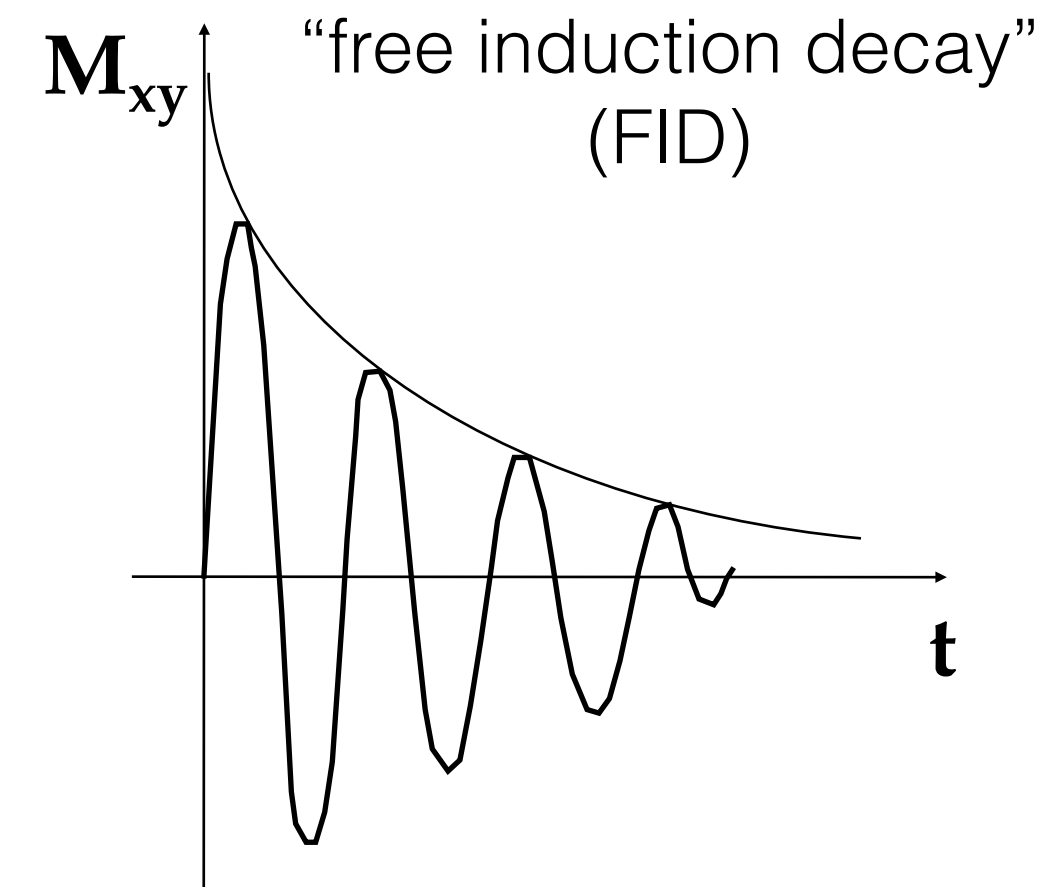
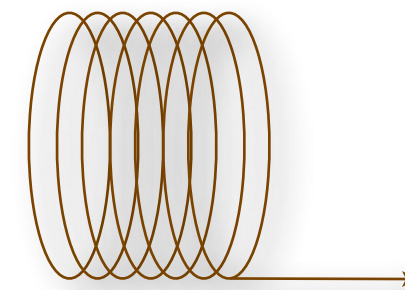
T2 vagy tranzverzális relaxáció

Az elemi mágneses momentumok (μ_i) szétterülése (diffúziója) a tranzverzális (xy) síkban, amely az eredő mágnesezettség (M) xy -síkbeli vektoriális komponensének (M_{xy}) lecsengéséhez (relaxációjához) vezet

N.B.: mivel a külső mágneses térnek nincs xy -komponense (spineket orientáló erő), az elemi spinek szétdiffundálnak.



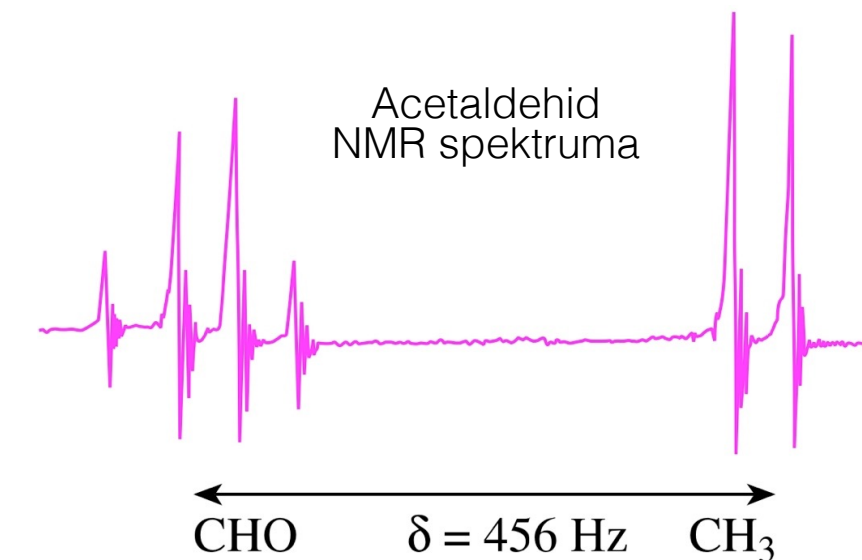
M_{xy} : M xy -síkbeli vektoriális komponense



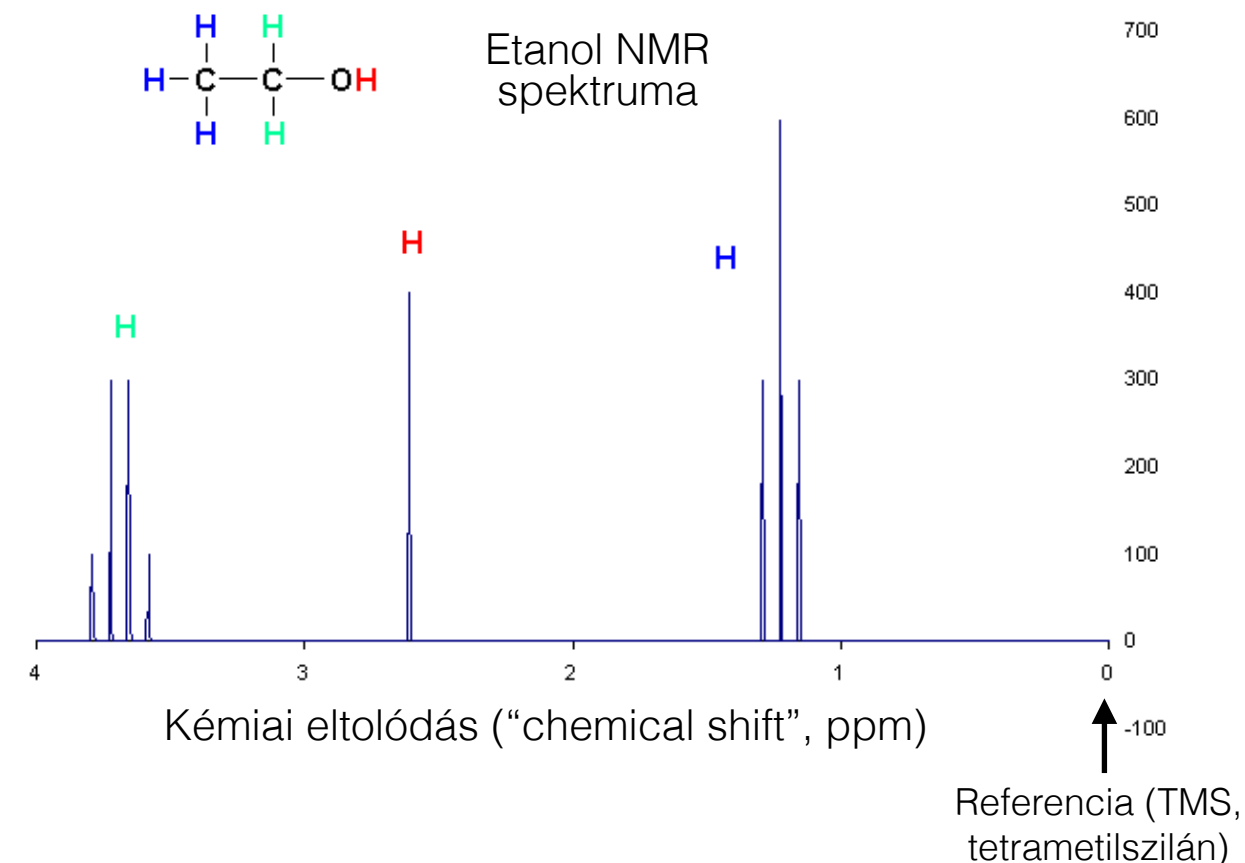
T2 relaxációs idő:
elemi mágnesek (protonok)
közötti kölcsönhatásra utal

NMR spektroszkópia

- NMR spektroszkópia vagy Mágneses Rezonancia Spektroszkópia (MRS)
- Spektroszkópai módszer az atommagok körüli lokális mágneses tér mérésére. A mágneses térbe helyezett atommagok rezonanciafrekvenciáit mérjük meg.
- NMR spektrométer: Folyékony He által hűtött mágnes, nagy mágneses térerő (spektrális felbontás a térerővel egyenesen arányos)
- NMR spektrum: elnyelt elektromágneses sugárzás intenzitása frekvencia függvényében.
- “NMR-vonal” görbe alatti területe az abszorbeáló atommagok számával arányos.
- Elektronfelhő (i.e., annak szerkezete) befolyásolja a lokális mágneses teret: frekvenciafeltétel elhangolódik (“kémiai eltolódás”). Kémiai szerkezetmeghatározás lehetősége.
- Fehérje NMR: dinamika mérésének lehetősége, rendezetlen fehérje elemek detektálása



900 MHz NMR, 21.1 T mágnes



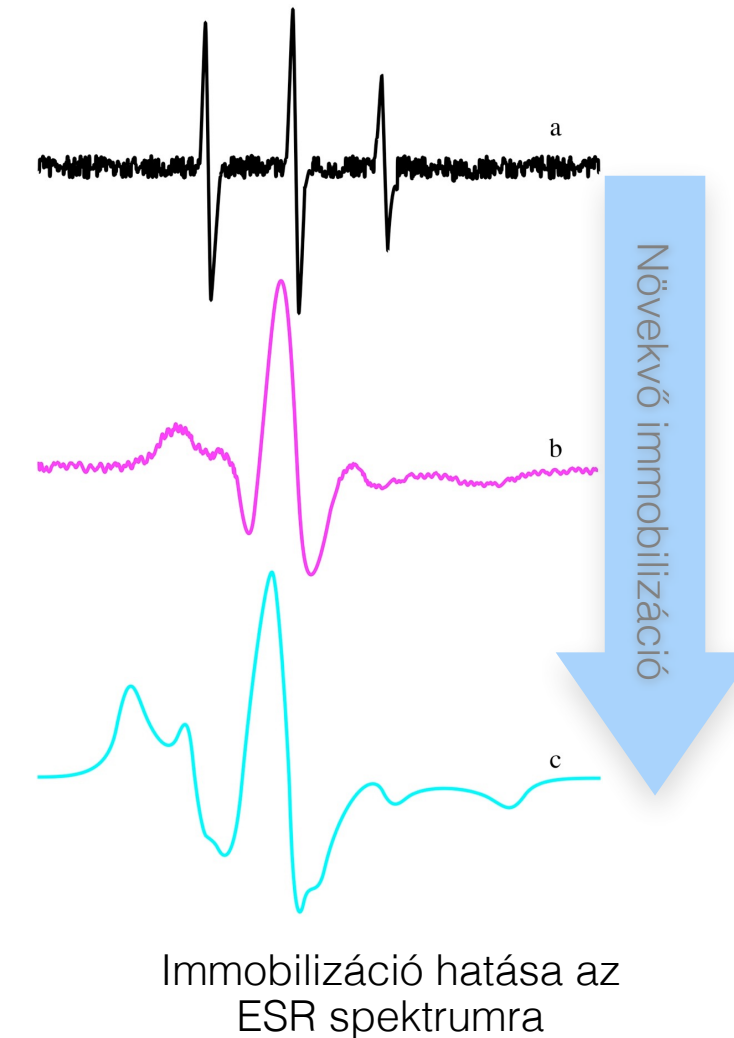
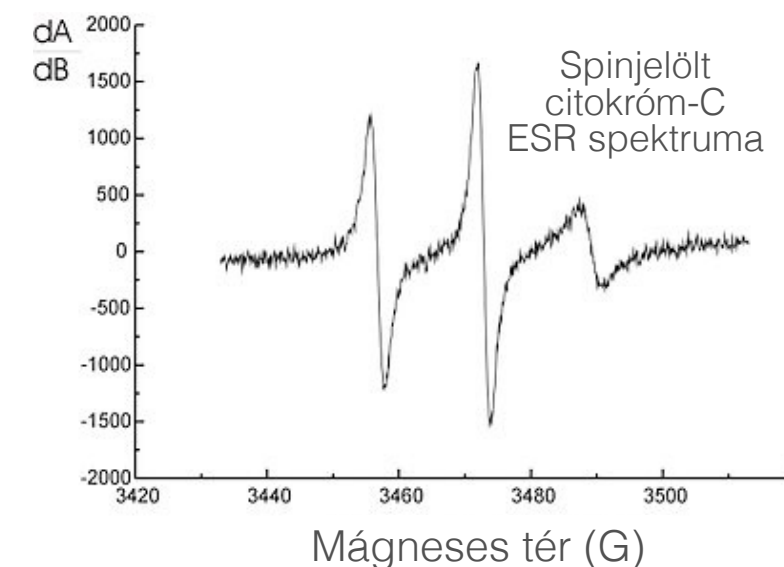
Somatomedin B domén
(szuperponált szerkezetek)

ESR spektroszkópia

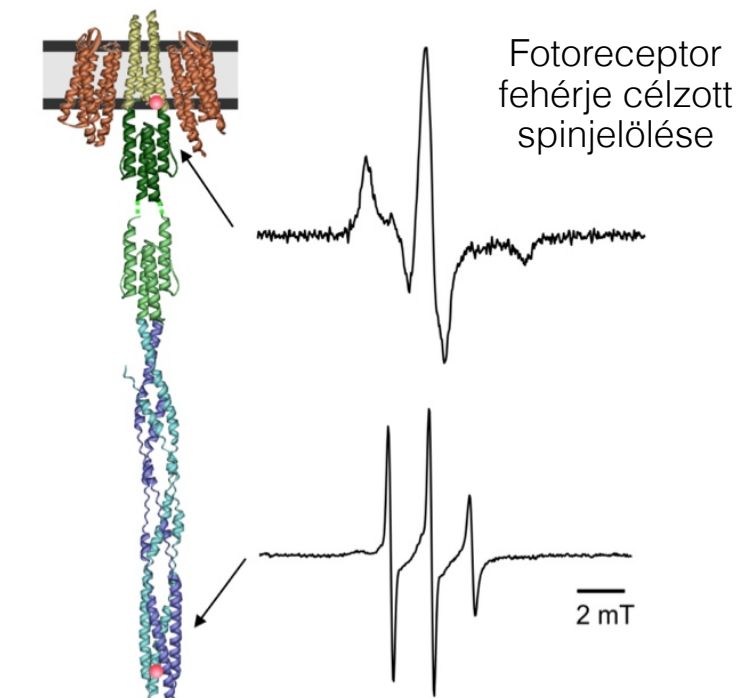
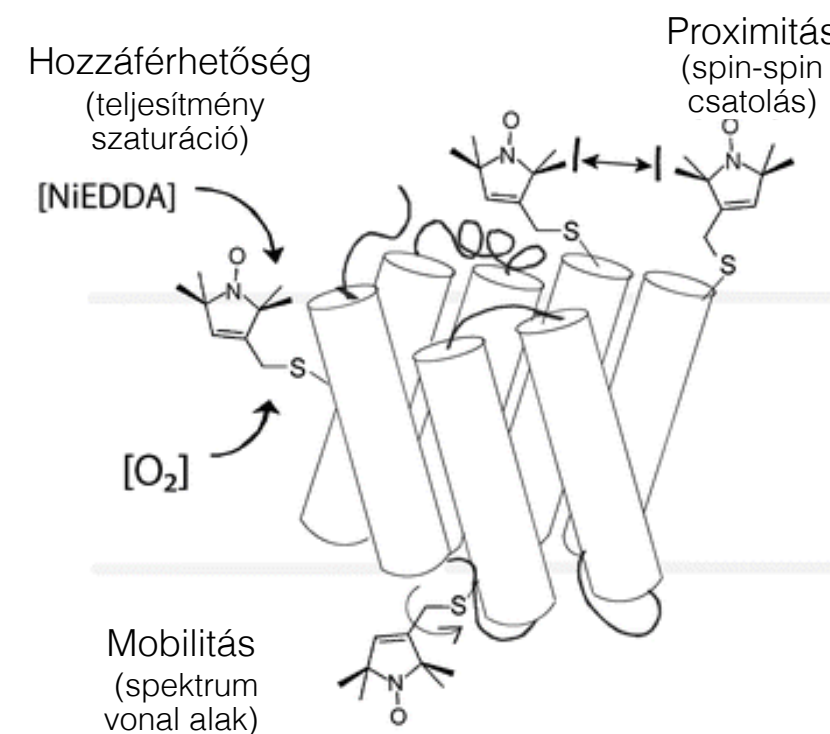
- Elektronspin rezonancia (ESR) vagy elektron paramágenses rezonancia (EPR) spektroszkópia
- Spektroszkópai módszer a páratlan elektront tartalmazó anyagok vizsgálatára.
- ESR spektrum: elnyelt elektromágneses sugárzás intenzitása a mágneses tér függvényében.
- NMR-énél alacsonyabb mágneses tér, de nagyobb elektromágneses sugárzási frekvenciák (mikrohullám).
- Spin-jelölés: stabil párosítatlan elektront tartalmazó vegyülettel való jelölés. "Site-directed" (célzott) spinjelölés: pontmutációval tervezetten bevitt reaktív aminosav oldalláncok (-SH) spinjelölése.
- Mozgási (rotációs) sebességek mérési lehetősége a 10^{-4} - 10^{-2} s időtartományban.



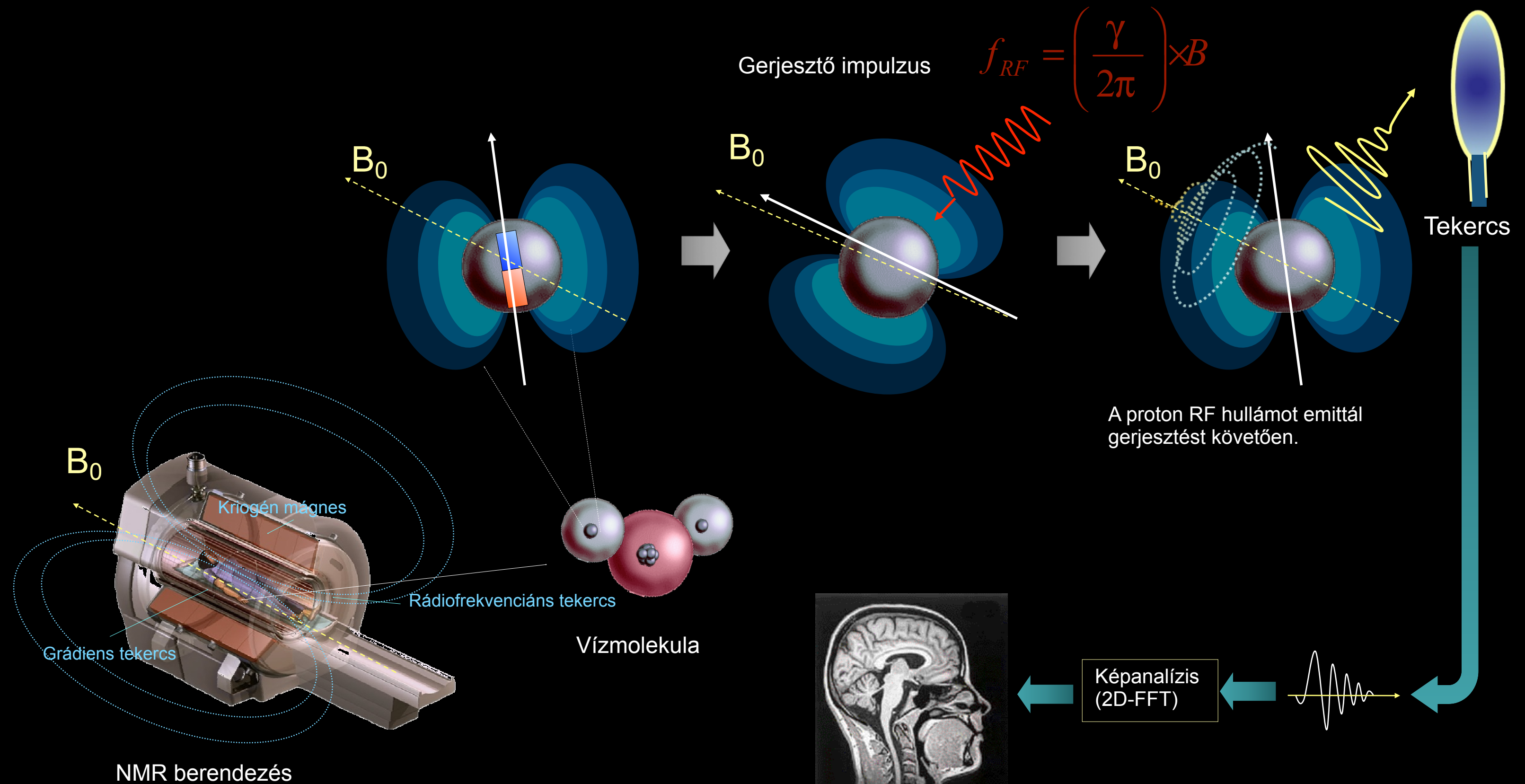
Jevgenyij Zavoisky, 1944



"Site-directed" (célzott) spinjelölés

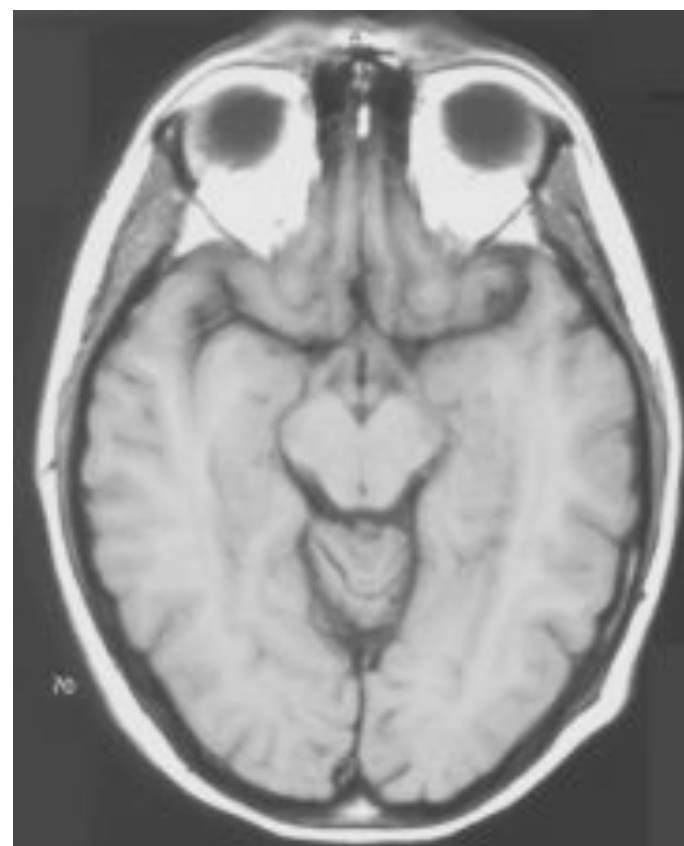
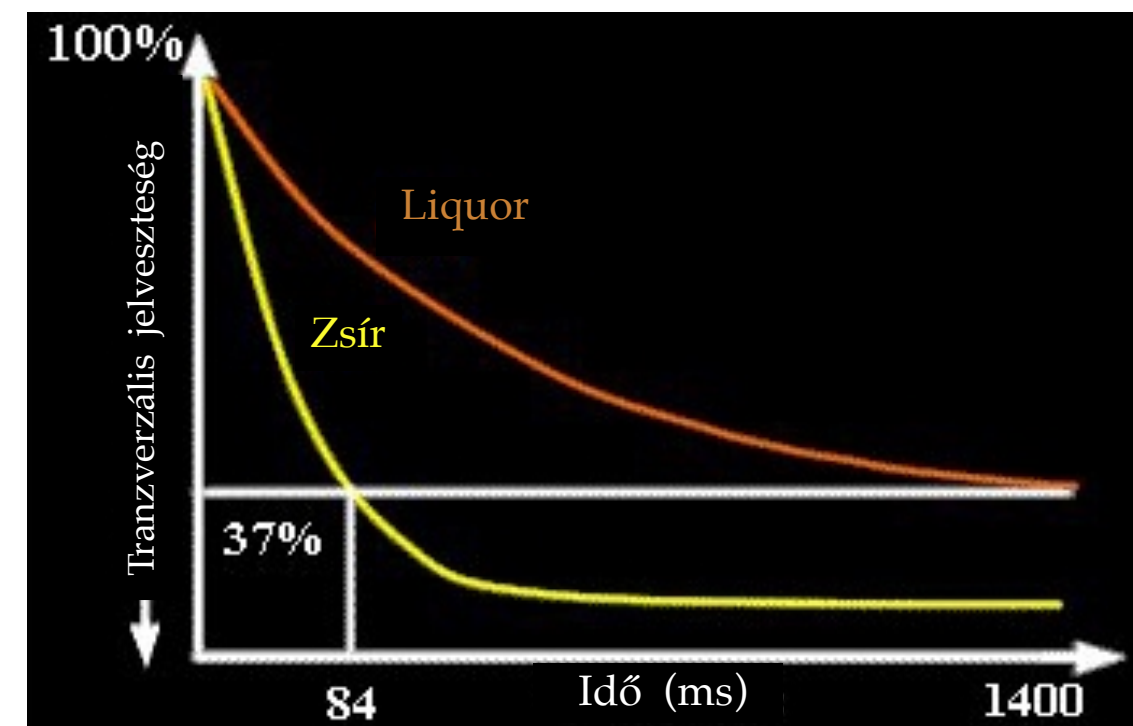
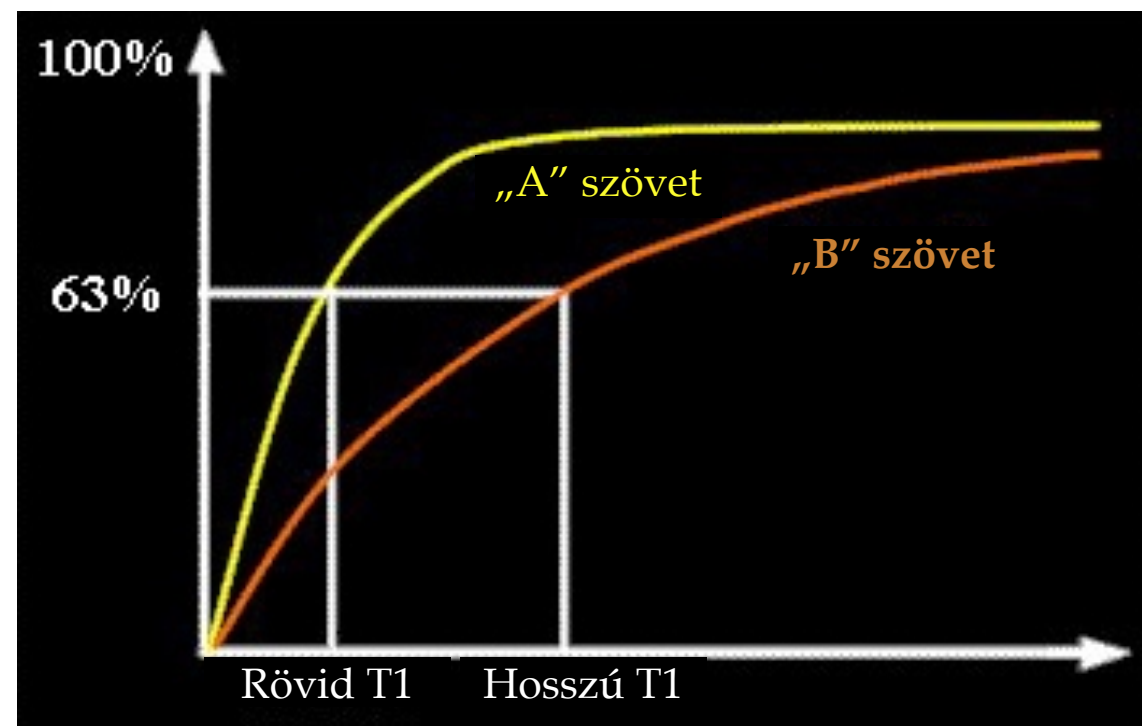


MRI: az emberi test makroszkópikus mágnesezettségét hozza létre

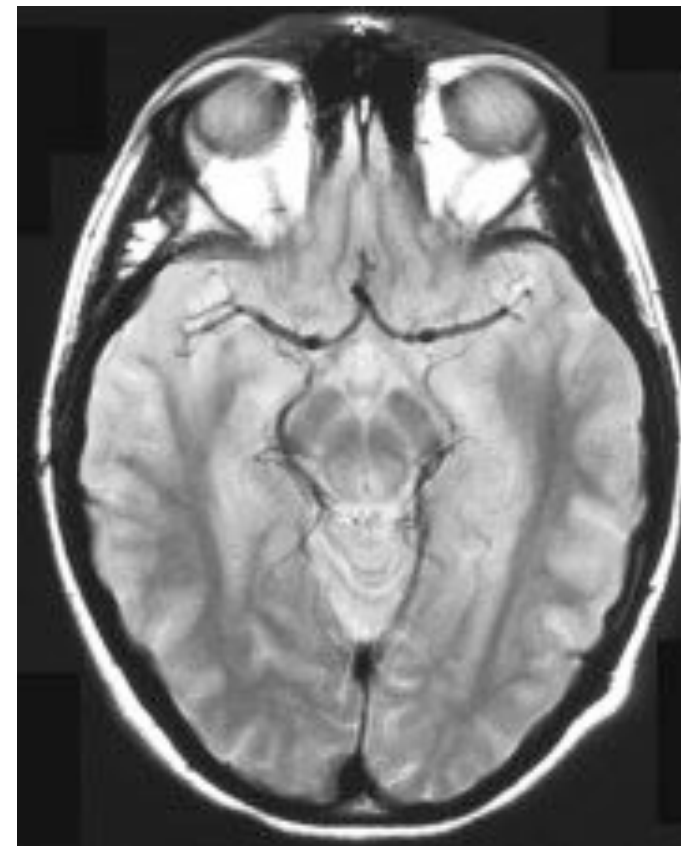


MRI 1: kontraszt

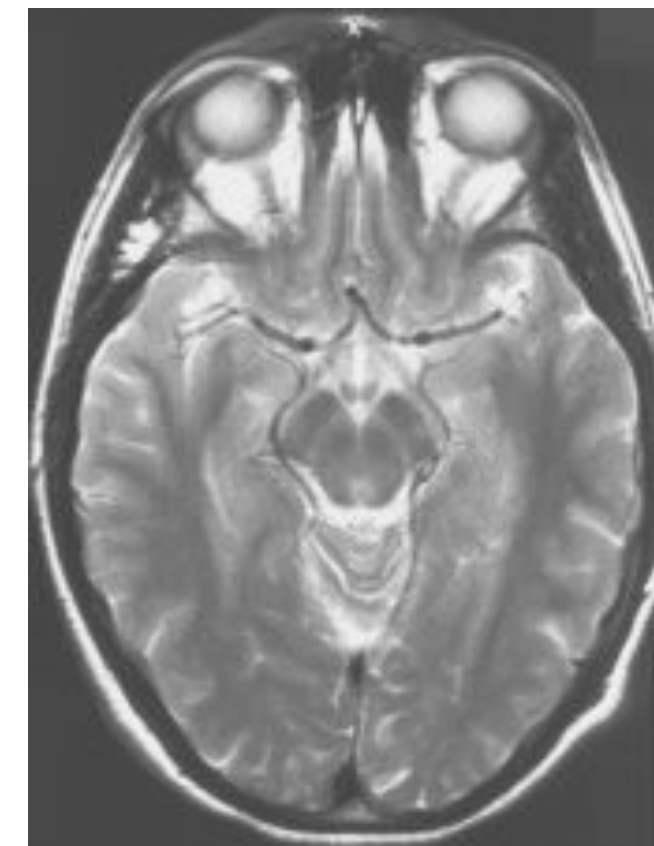
Színkontraszt a spinsűrűség (proton denzitás, PD) és relaxációs idők (T1, T2) alapján



T1-súlyozás



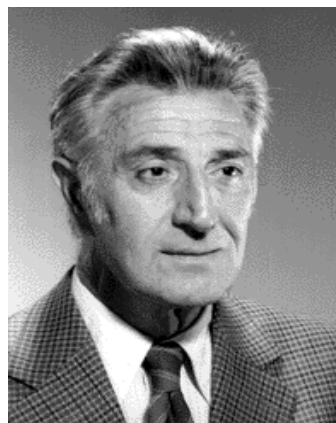
protonsűrűség-súlyozás



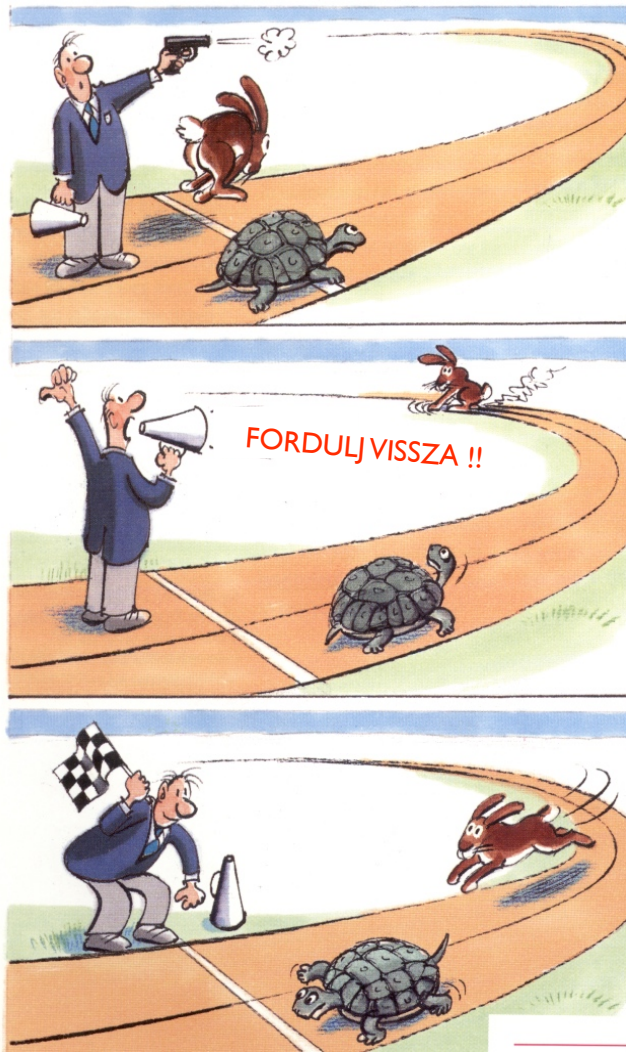
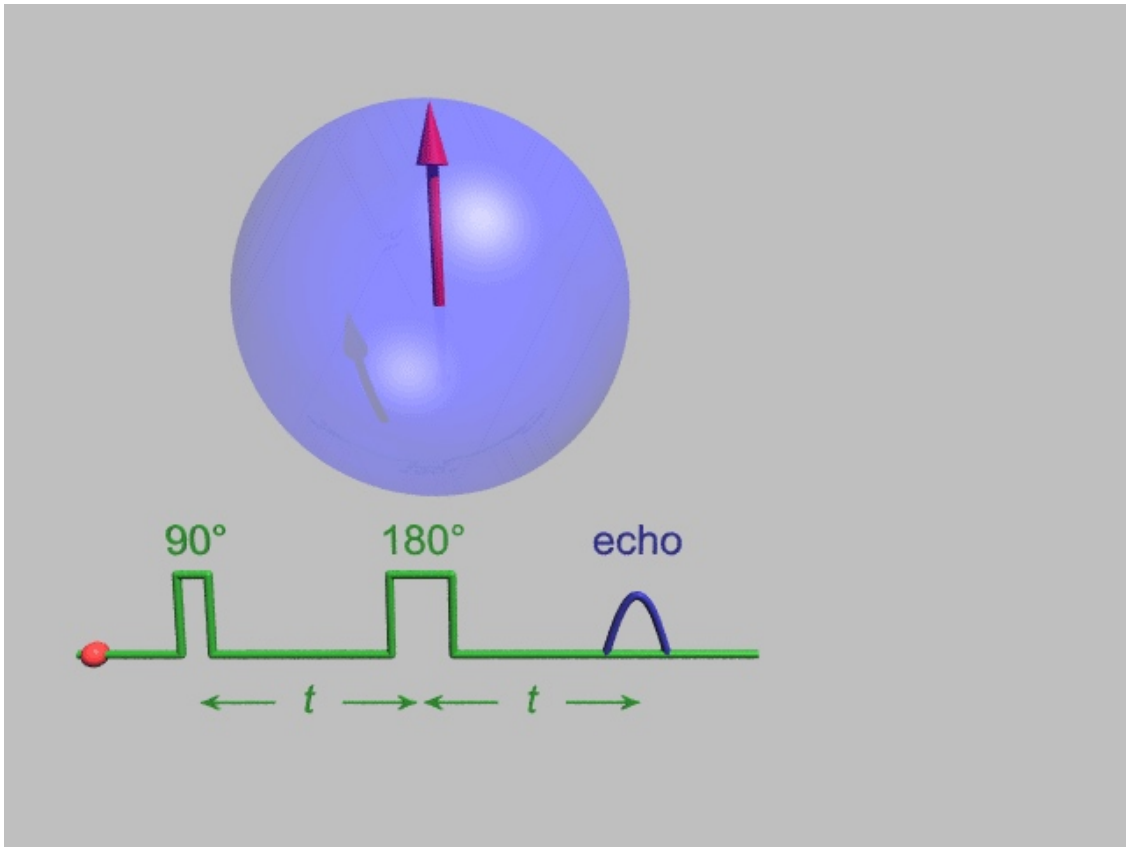
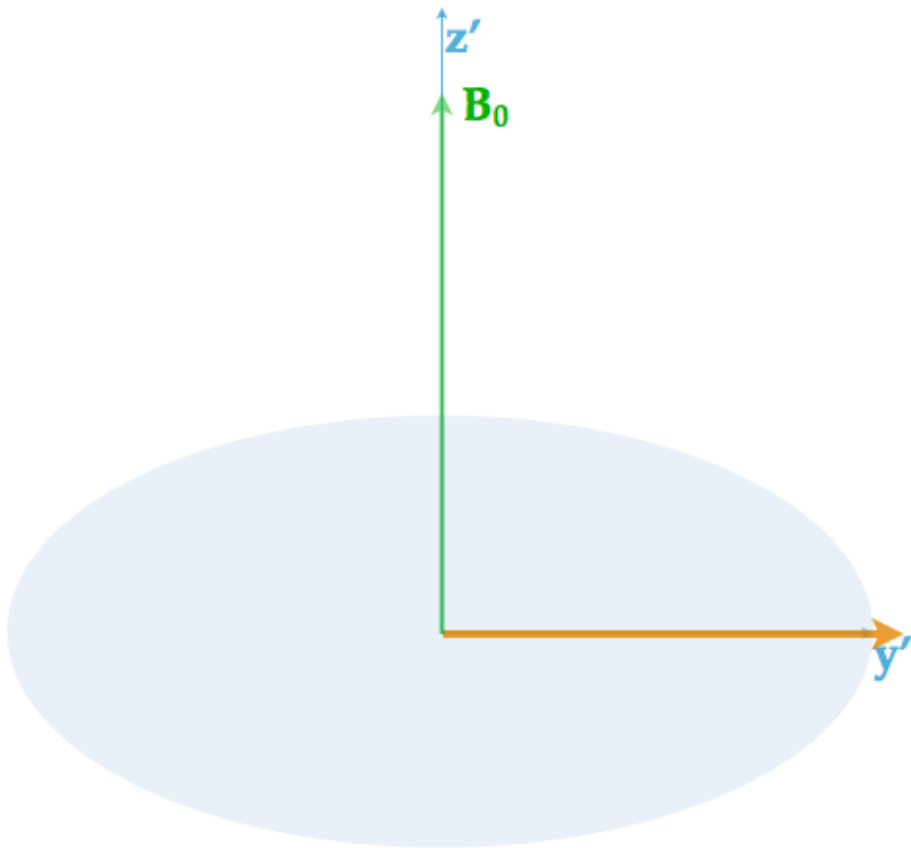
T2-súlyozás

Relaxációs idő mérése: spin-echo kísérlet

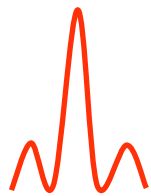
Ismétlődő gerjesztő, refókuszáló és “visszhang” impulzusok: spin-echo szekvencia



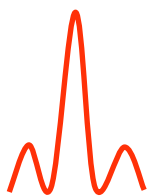
Erwin Hahn, 1949



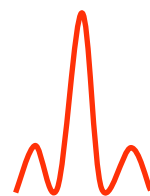
Gerjesztő
impulzus (90°)



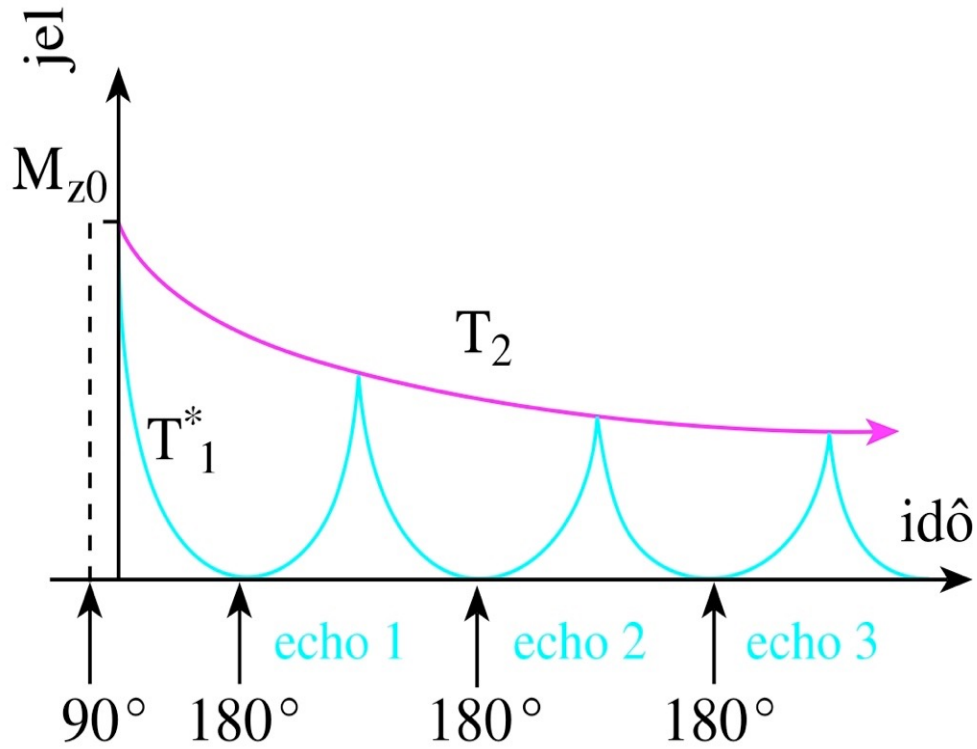
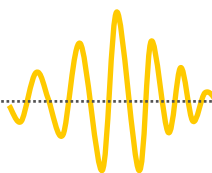
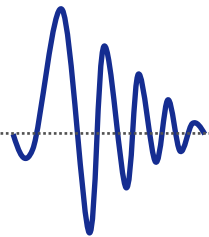
Refókuszáló
impulzus (180°)



Refókuszáló
impulzus (180°)



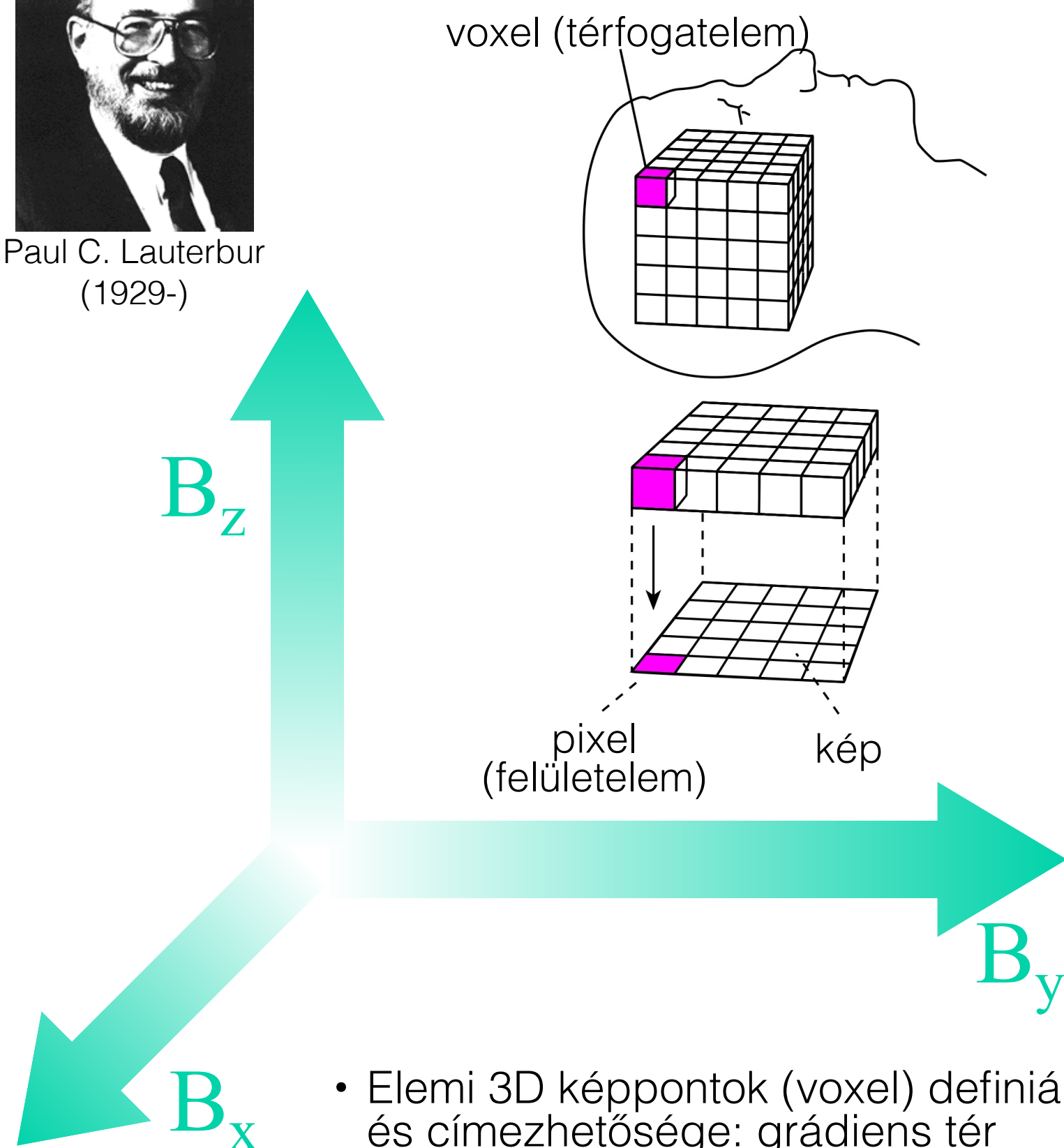
Kattogó hang az MRI-ben:
impulzusok generálása



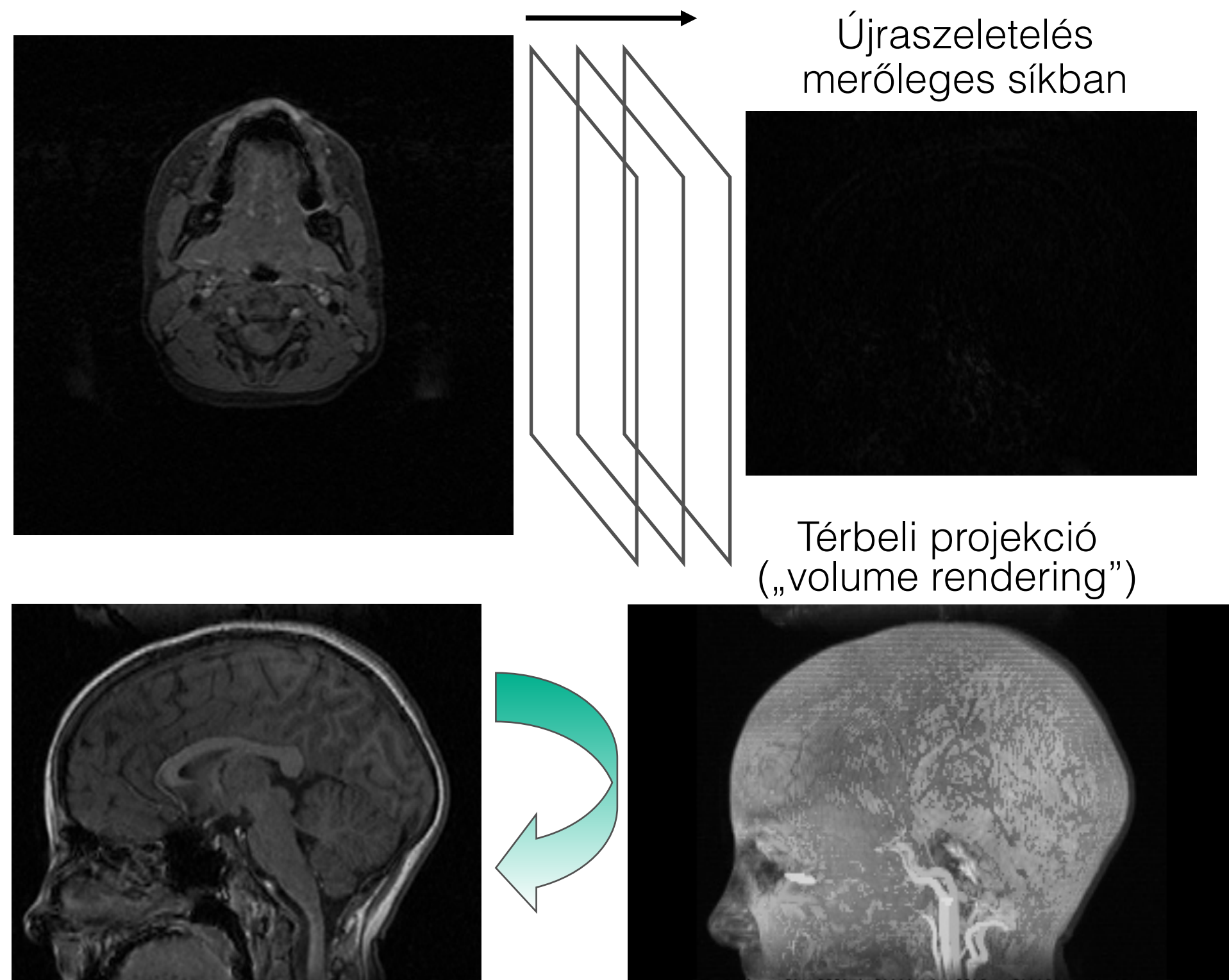
MRI 2: Térbeli kódolás



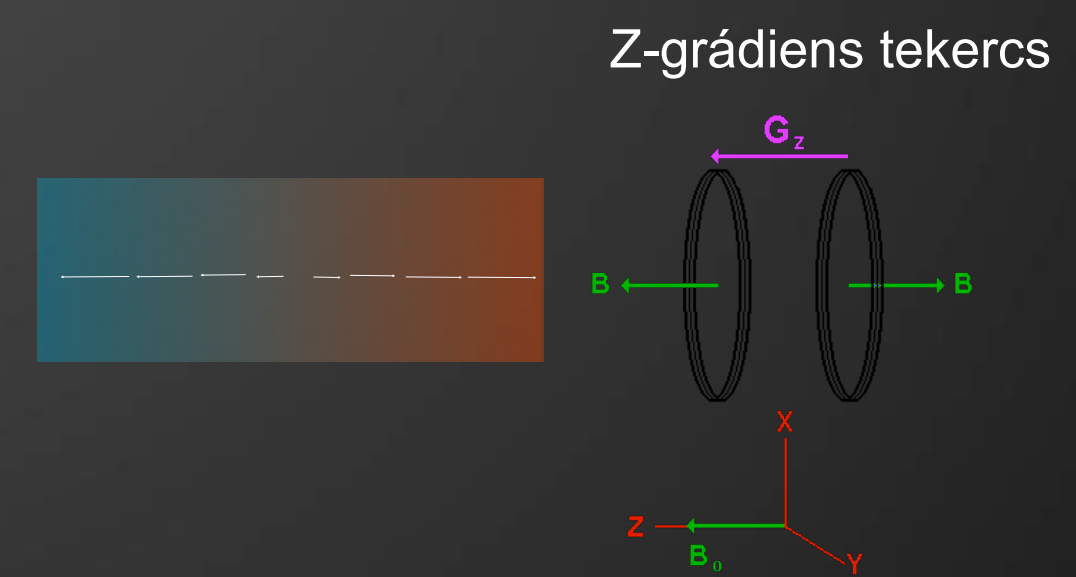
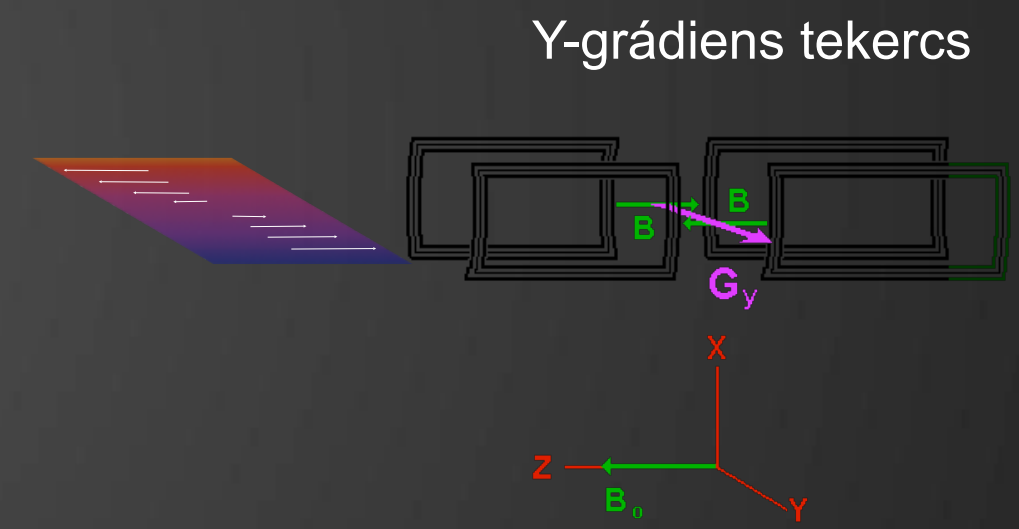
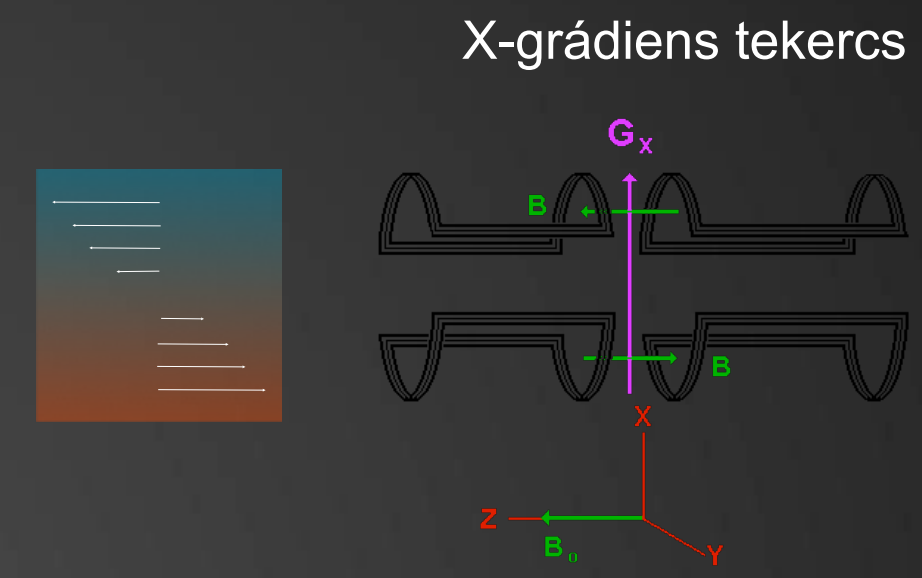
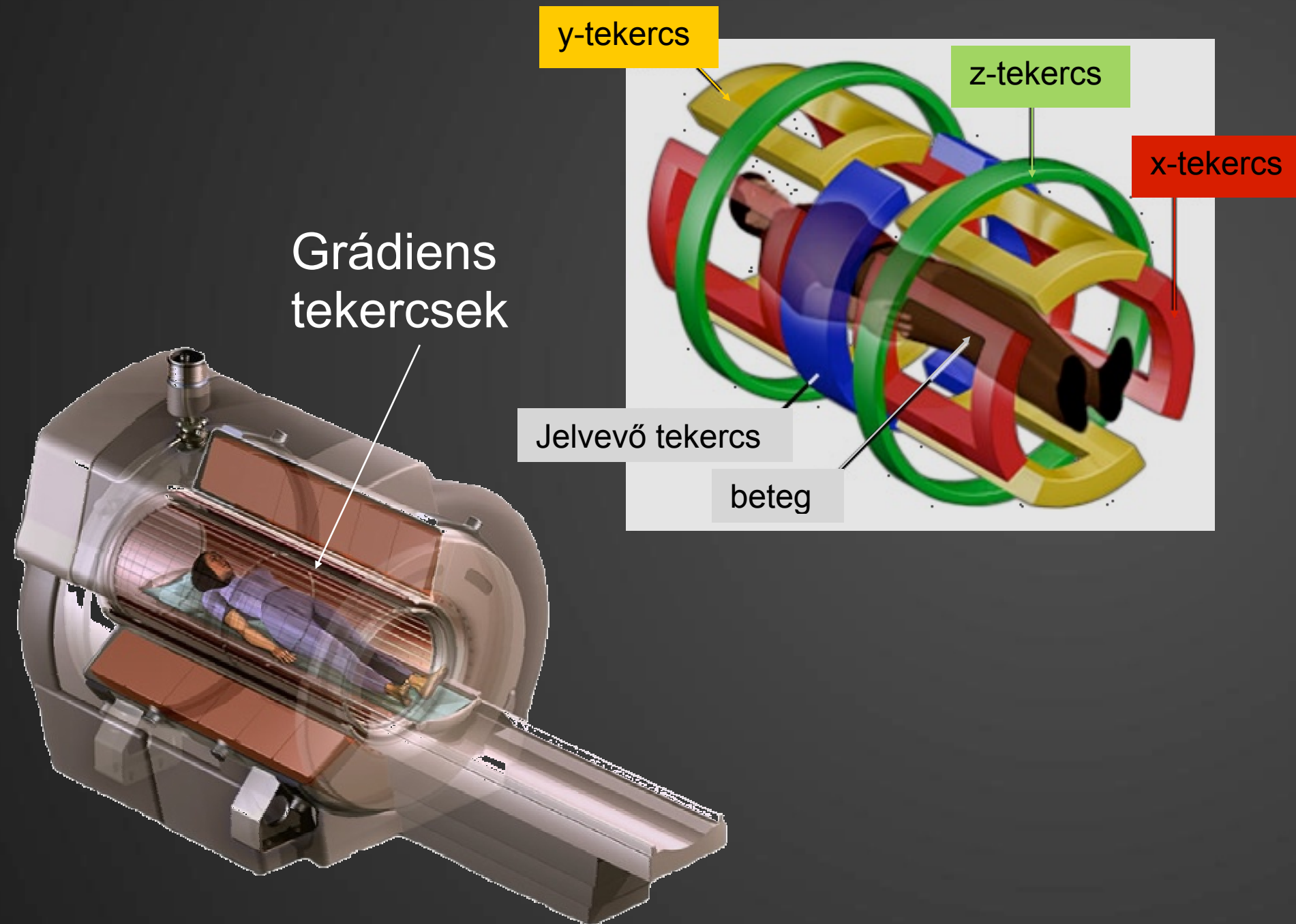
Paul C. Lauterbur
(1929-)



- Elemi 3D képpontok (voxel) definiálása és címezhetősége: grádiens tér segítségével
- Alapja: rezonanciafeltétel



Térben változó mágneses tér létrehozása: “grádiens” tekercsekkel



MRI 3: képrekonstrukció

1. "Backprojection"

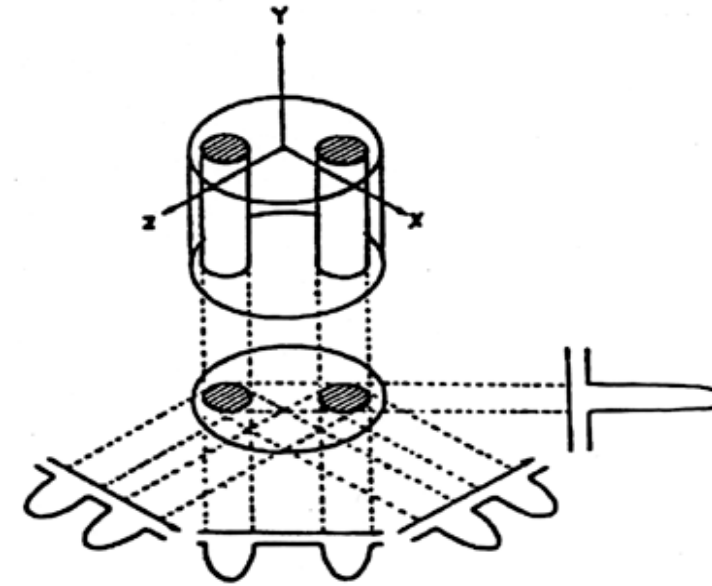
- „visszavetítés”
- mint a CT esetében



Paul Lauterbur,
1973, Illinois



Peter Mansfield,
1973, Nottingham



Visszavetítés elve



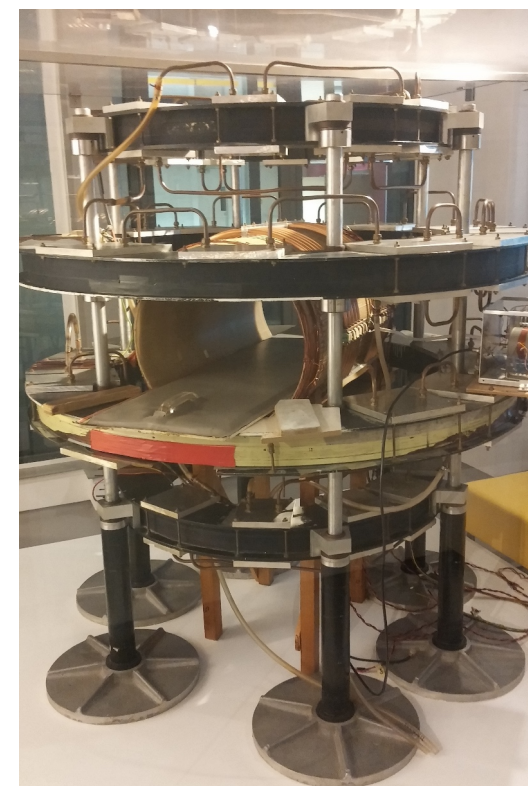
Rekonstruált kép (két
kémcső keresztmetszete)

2. 2D Fourier transzformáció

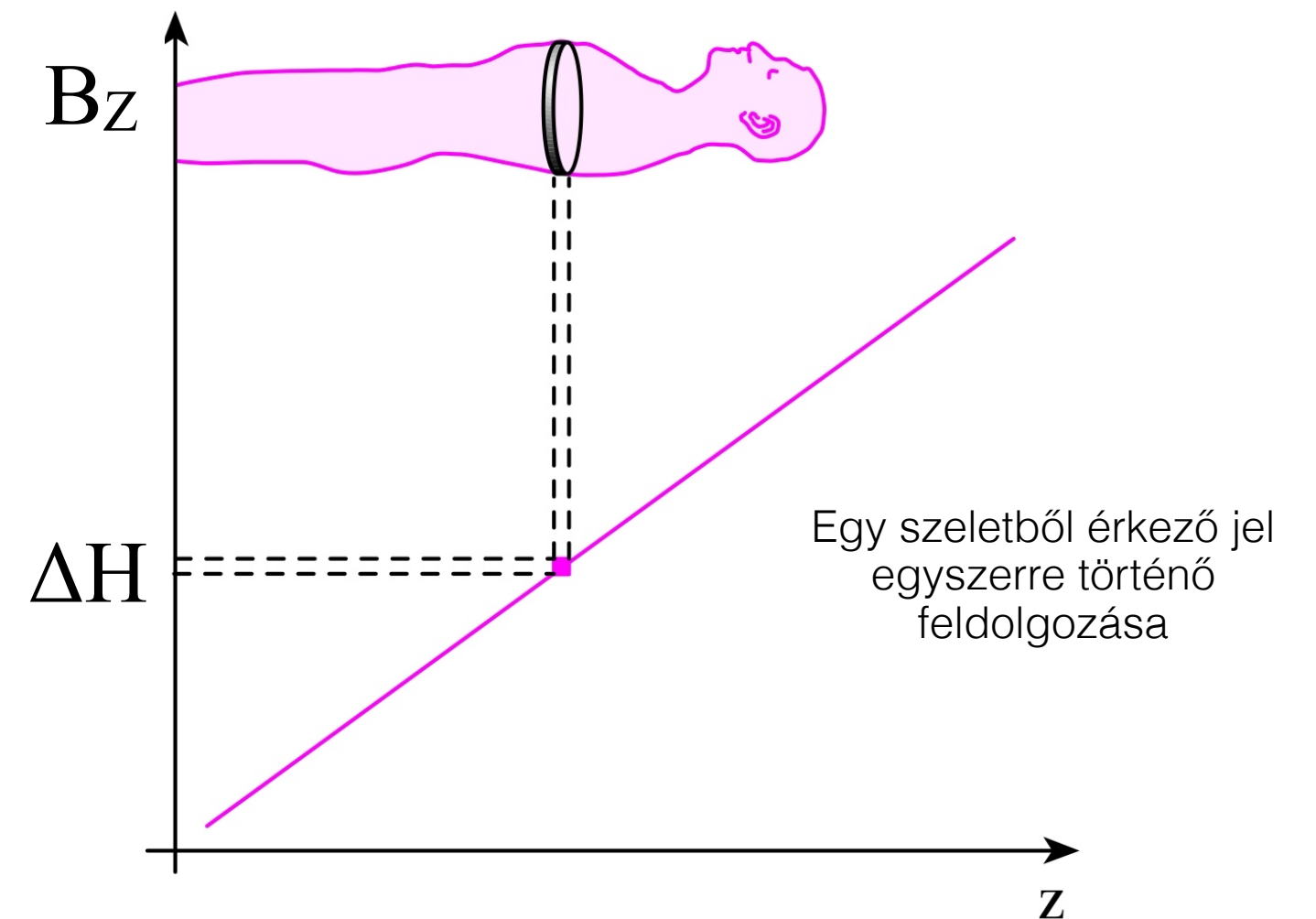
- jelenleg alkalmazott
módszer
- „NMR Fourier
Zeugmatography”



Richard Ernst,
1974, Zürich

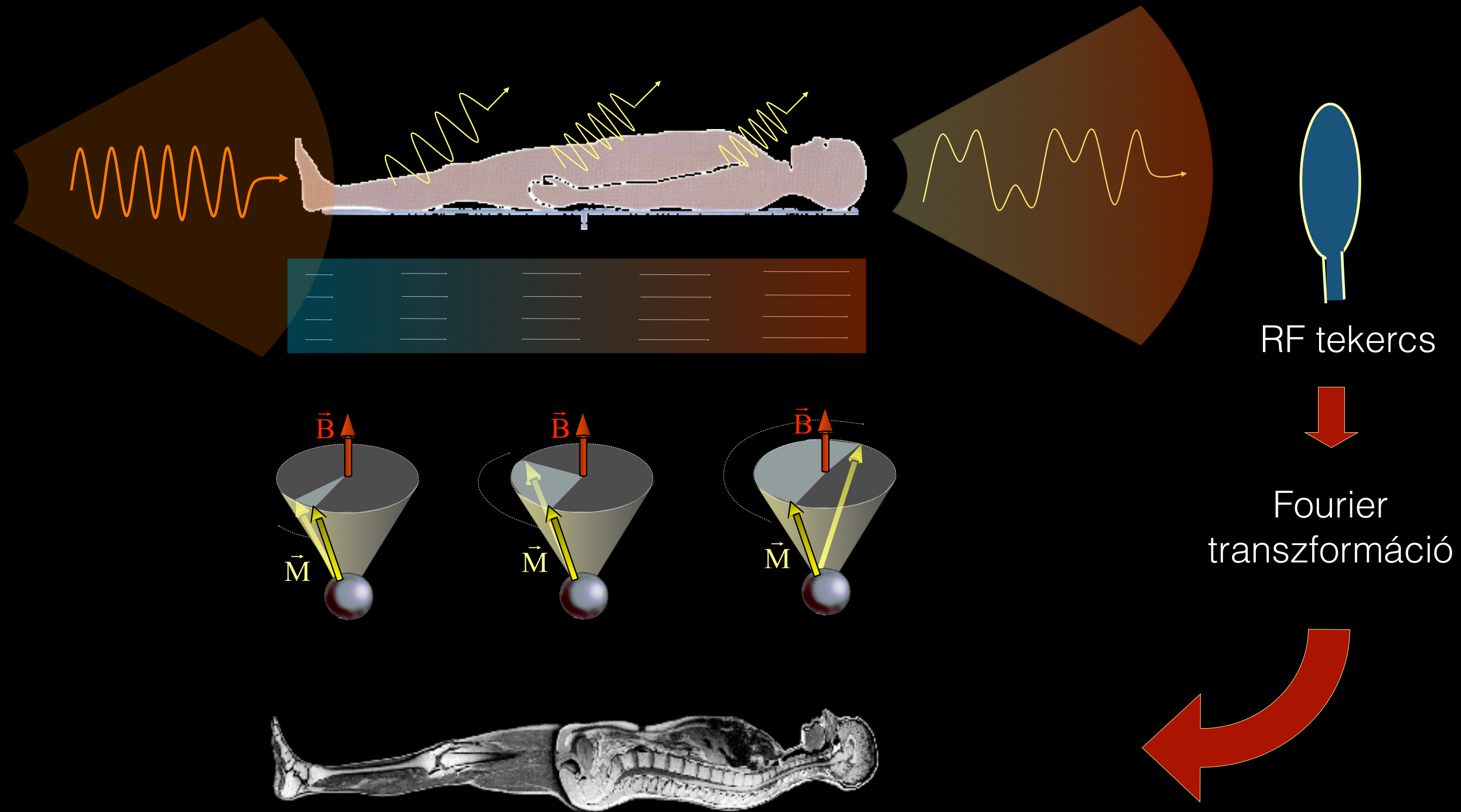


“MRI Scanner Mark One”,
Aberdeen, Skócia



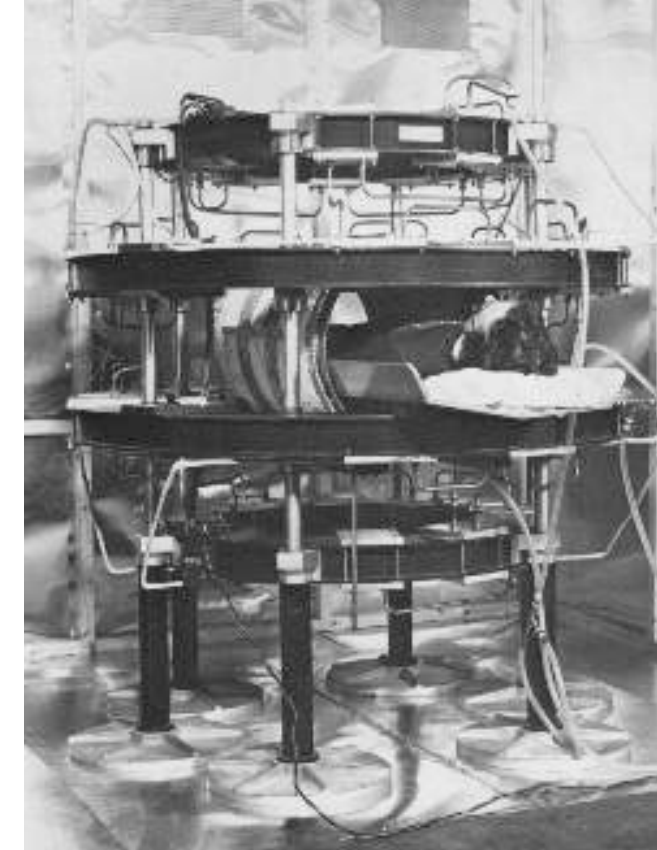
MRI: térbeli kódolás és képrekonstrukció

a precesszió térfüggő frekvenciaváltozásán alapul



MRI 4: szkennerek

Hőskor



Indomitable (rettenthetetlen, Damadian)

MRI Scanner Mark One (Ernst)

Jelen



3T MRI



Nytott MRI egység



Intervenció MRI egység

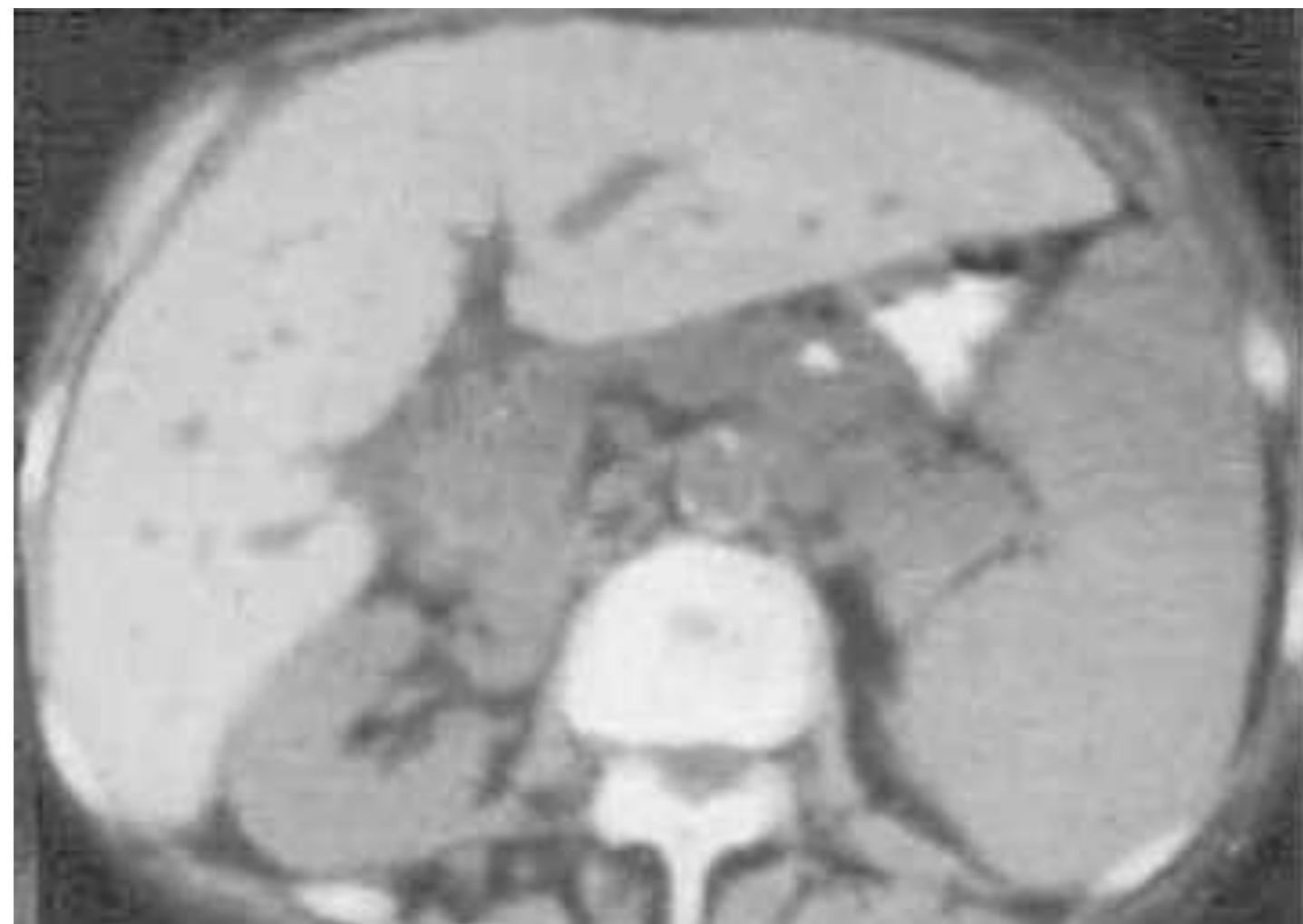


Mobil MRI

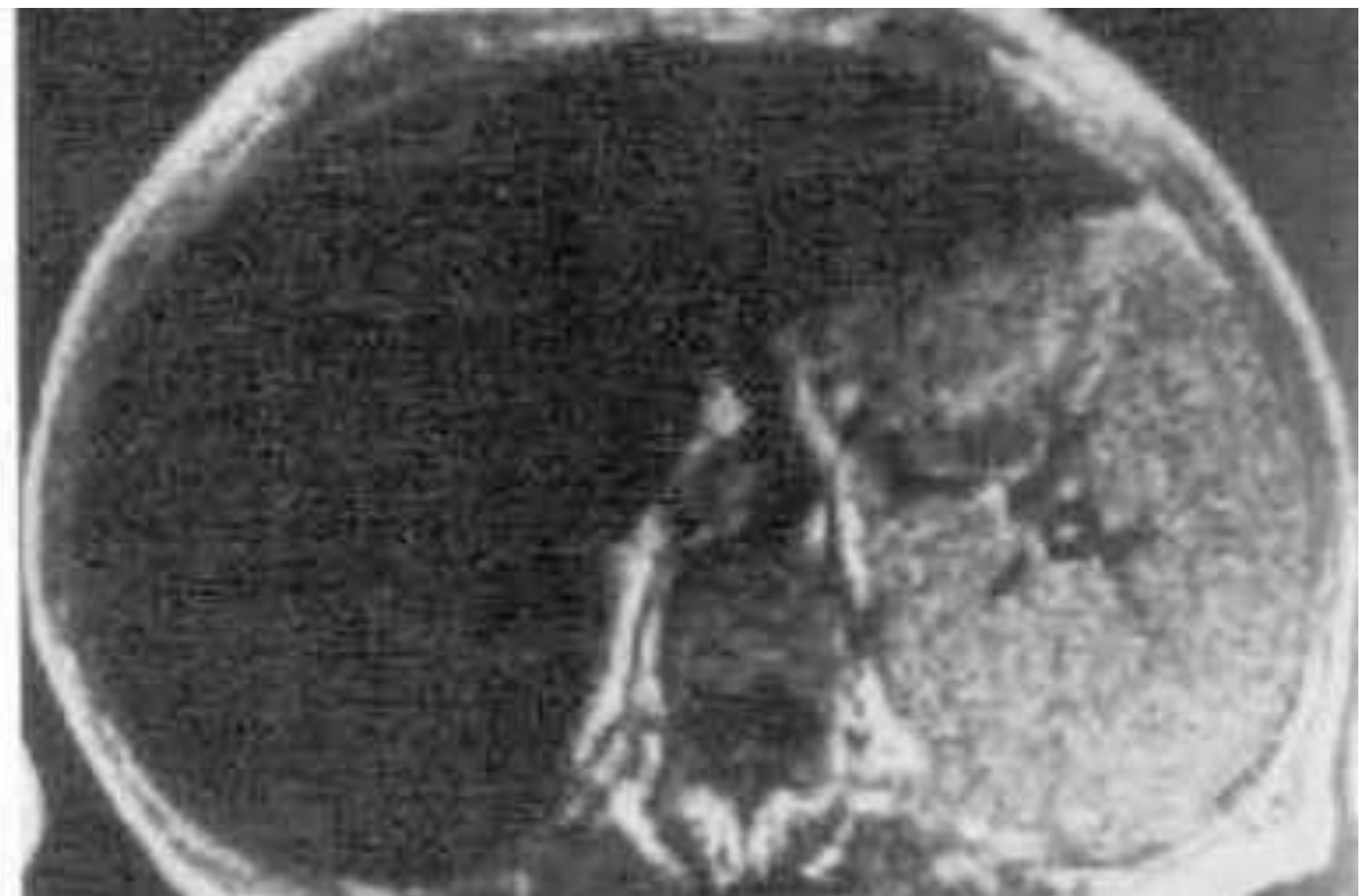
MRI 5: kontrasztanyagok

Pozitív: paramágneses elemek (T1 kontraszt): Gd, Mn

Negatív: szuperparamágneses, ferromágneses (T2 kontraszt): FeIII, MnII



CT

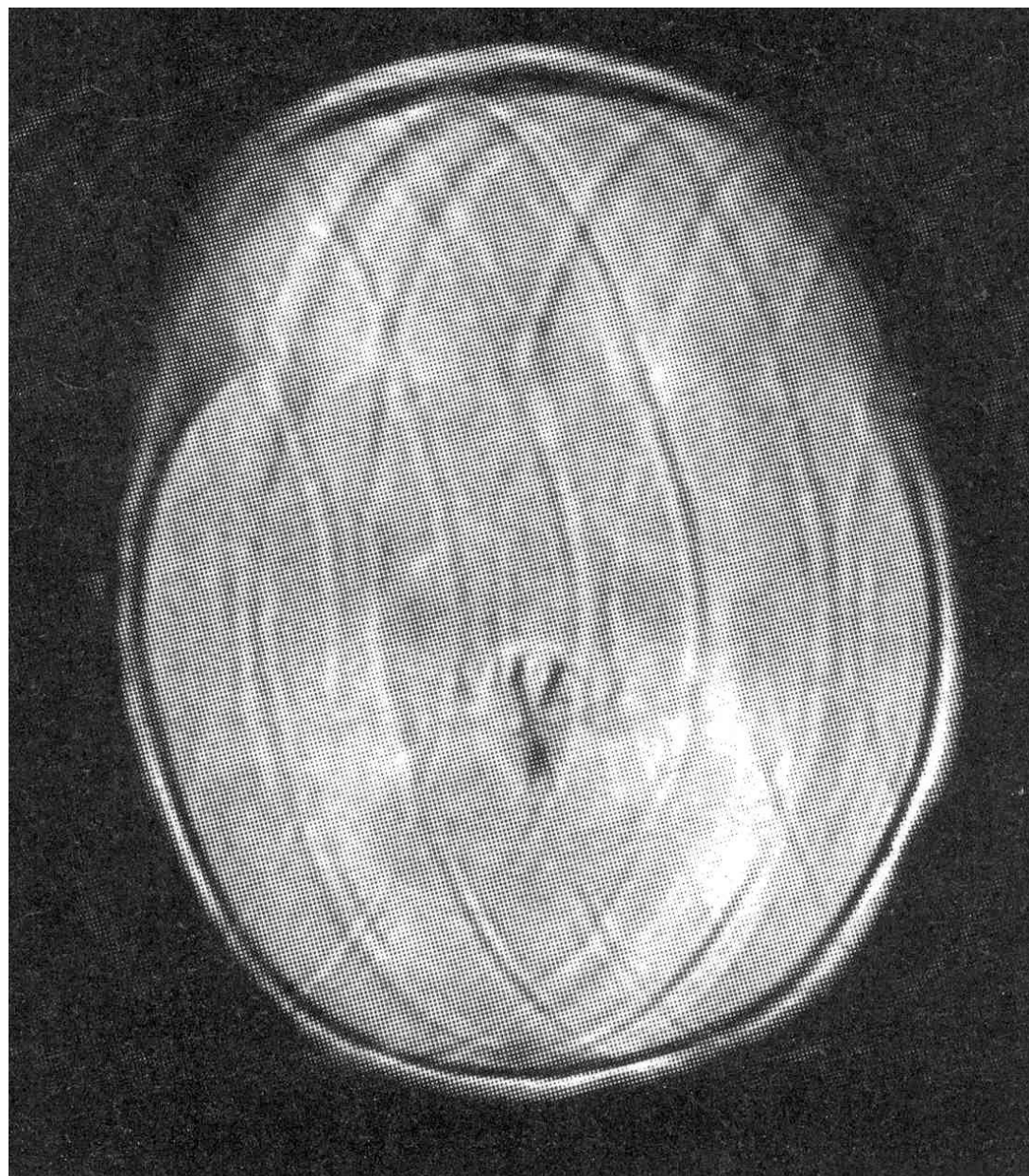


MR T2

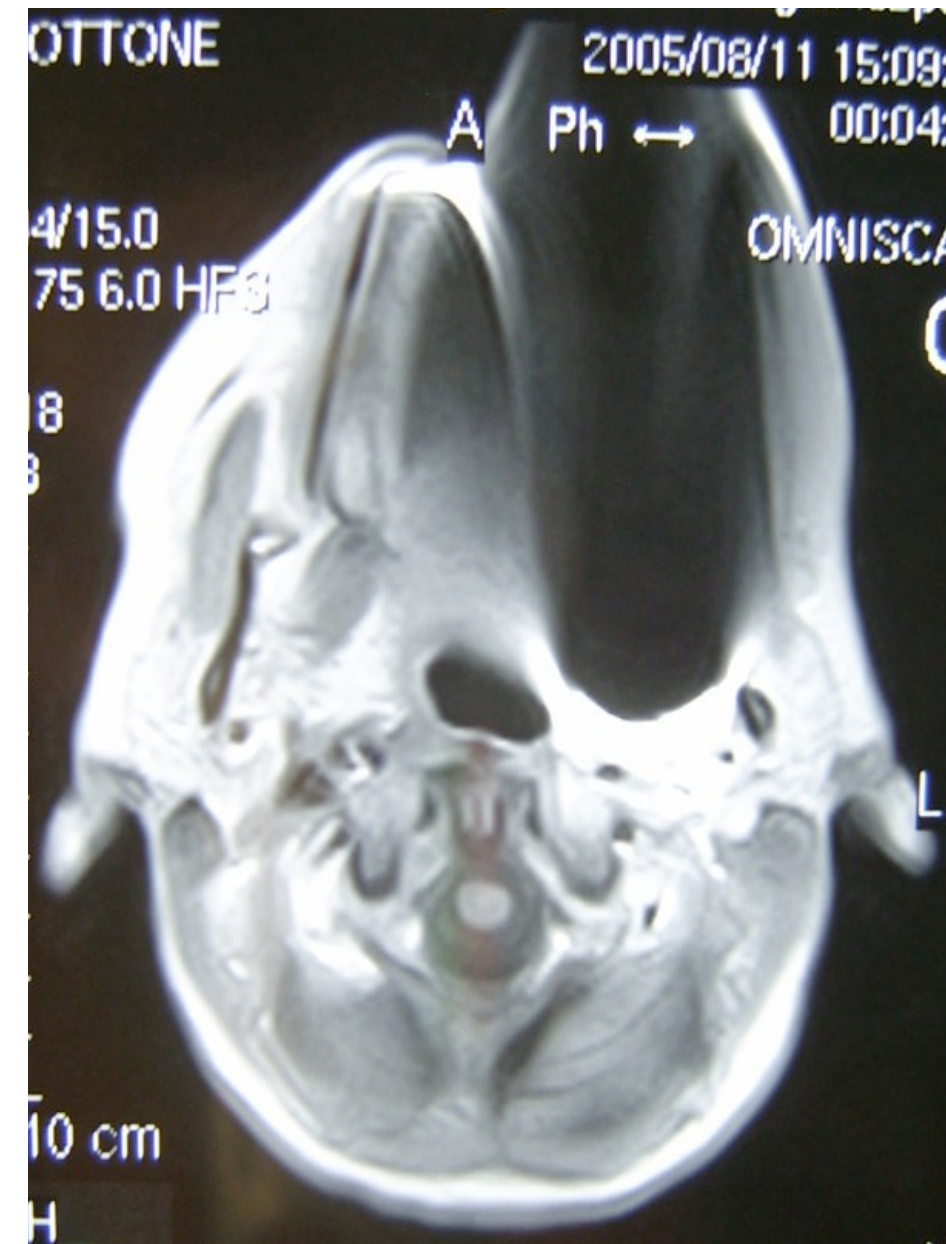
Haemochromatosis hepatis (vasfelhalmozódás a májszövetben)

MRI 6: műtermékek

- Mozgás
- Fémek (implantátum, sérülés)



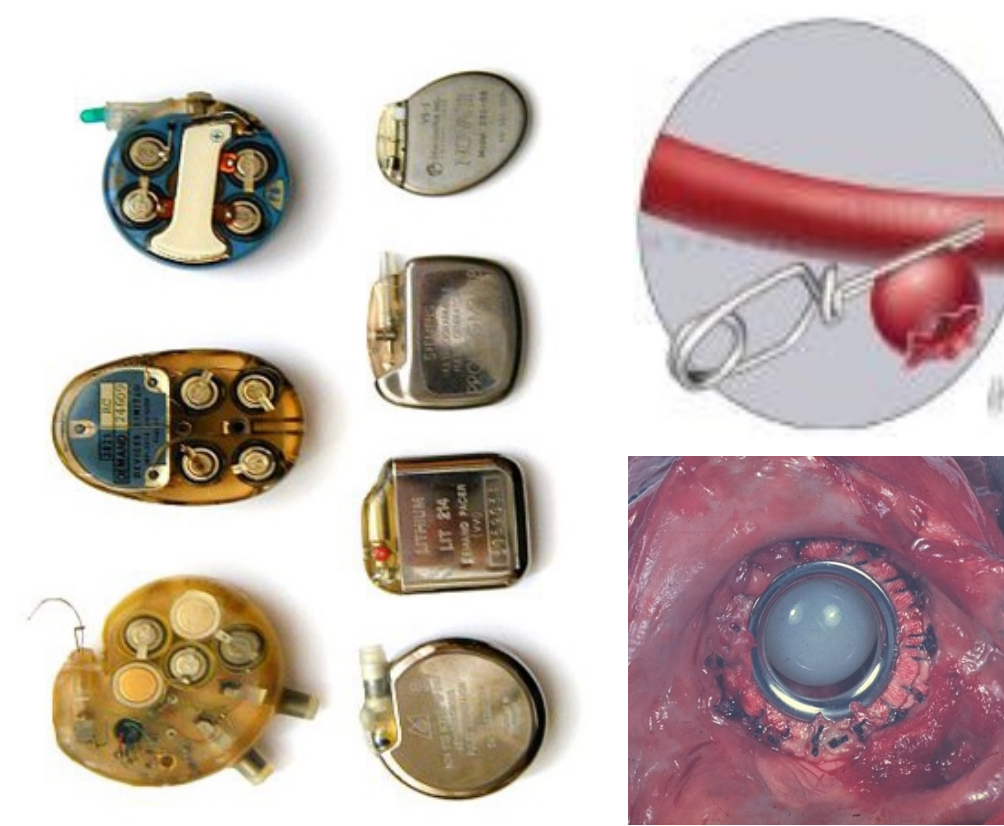
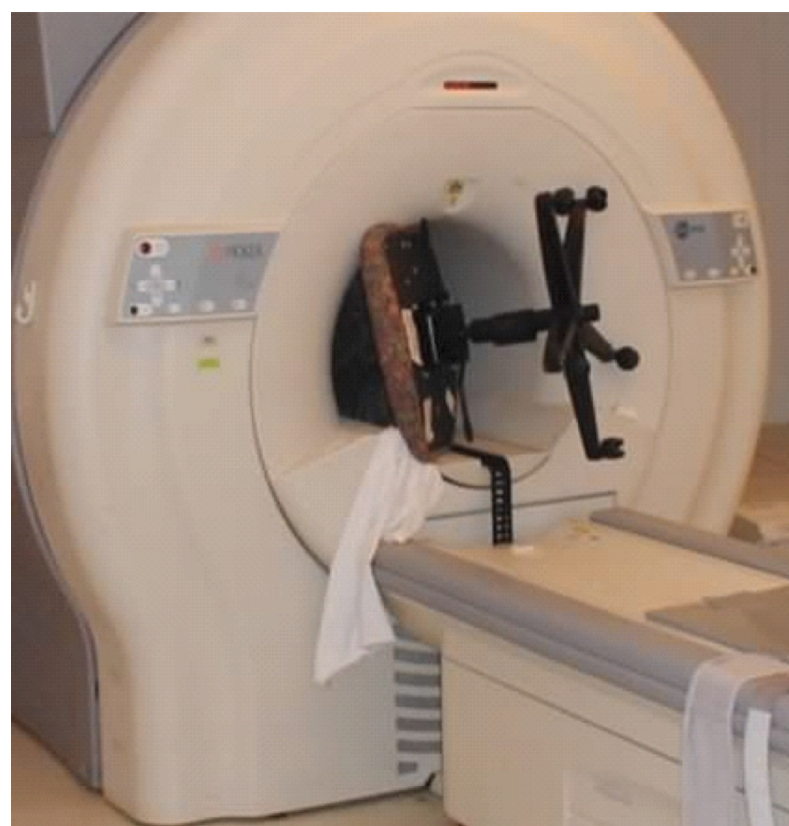
Mozgási műtermék



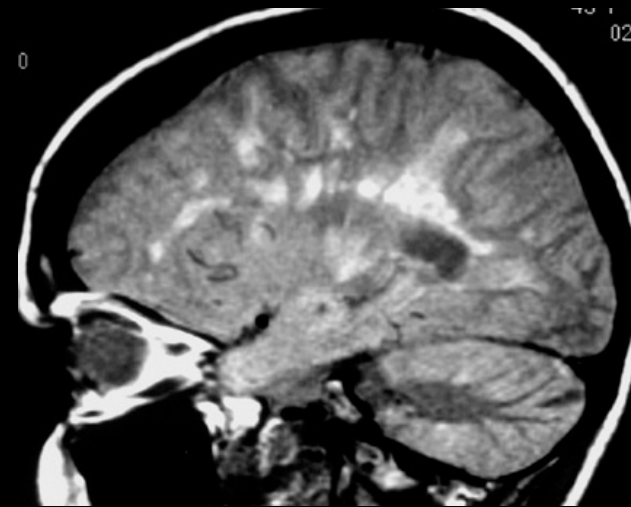
Fém az orbitában

MRI 7: veszélyek, kontraindikációk

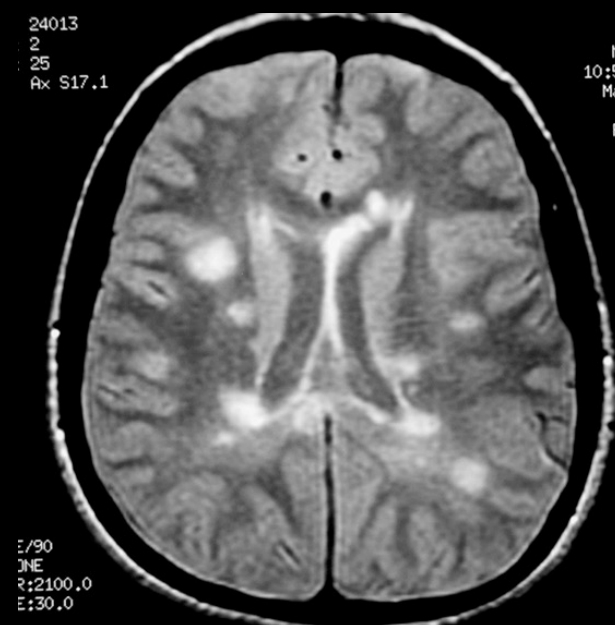
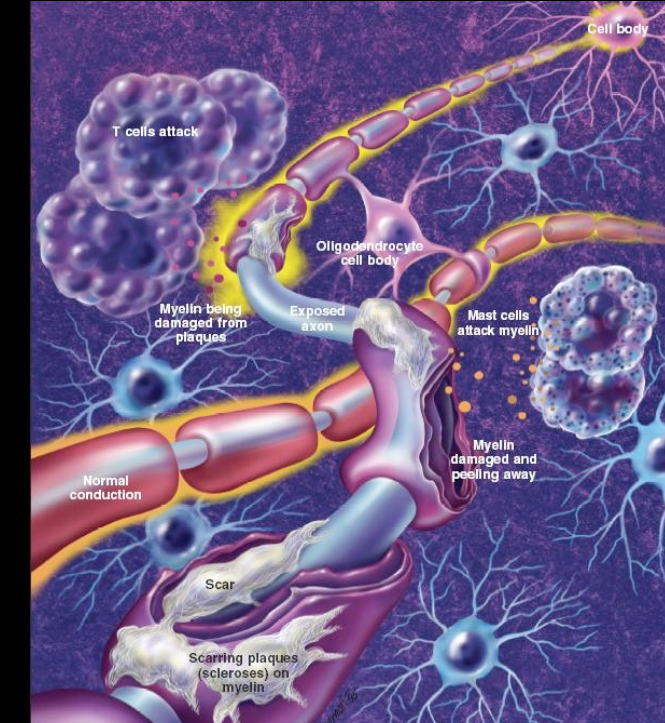
- Sztatikus mágneses tér - fémtárgyak
Kontraindikációk: beépített eszközök (pacemaker, defibrillátor, hallókészülék, csontnövekedést serkentő készülék, gyógyszeradagoló), neurostimulátorok, agyi aneurysma csatok, régi típusú szívbillentyűk
- Grádiens tér - áramindukció
- Rádiófrekvenciás tér - hőhatás (szemlencse, here)



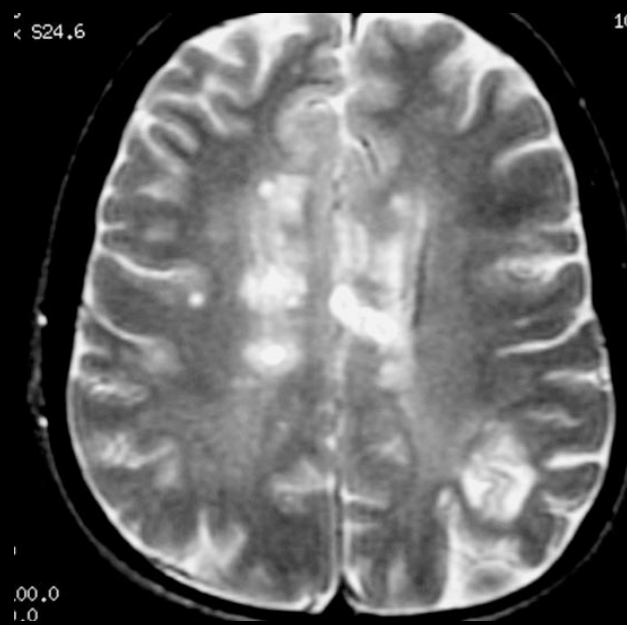
MRI alkalmazások: anatómiai képalkotás - sclerosis multiplex



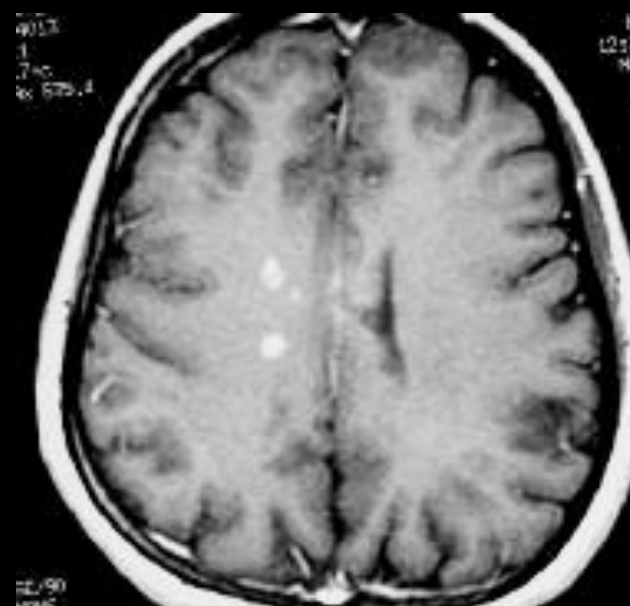
Proton súlyozás
(sagittalis)



Proton súlyozás
(transversalis)



T2 súlyozás
(transversalis)

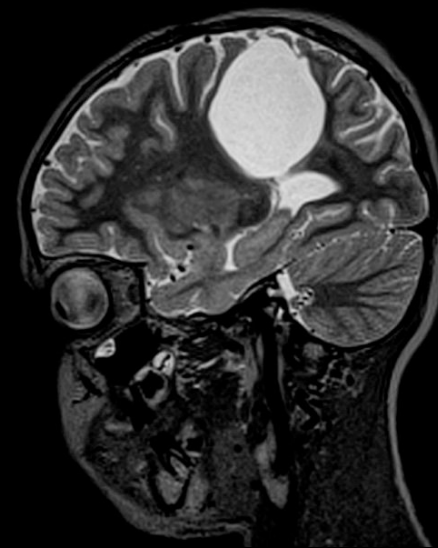


T1 súlyozás
(kontrasztanyaggal)

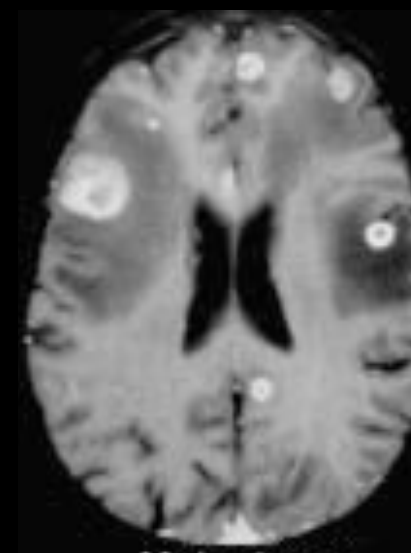
Anatomiai képalkotás: Onkológia



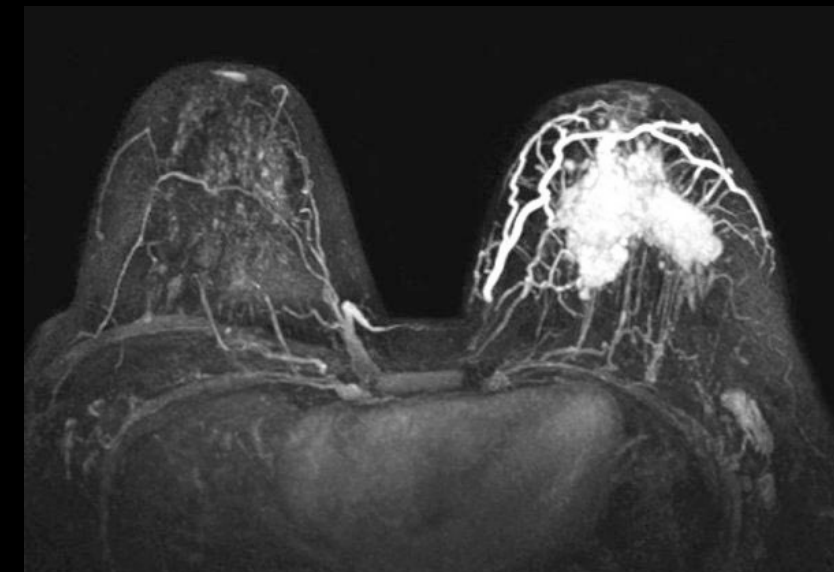
T2 súlyozás
(chondrosarcoma)



T2 súlyozás
(cysta)



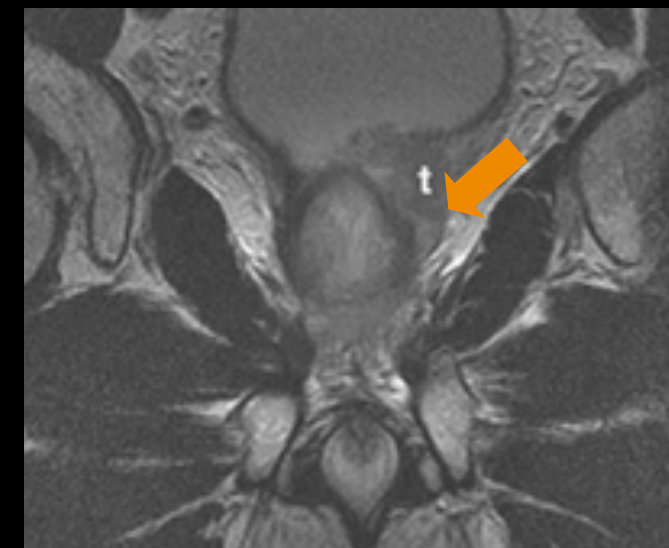
Proton sűrűség
(Agyi metastasis)



T1 súlyozás kontrasztanyaggal
(Emlő carcinoma)

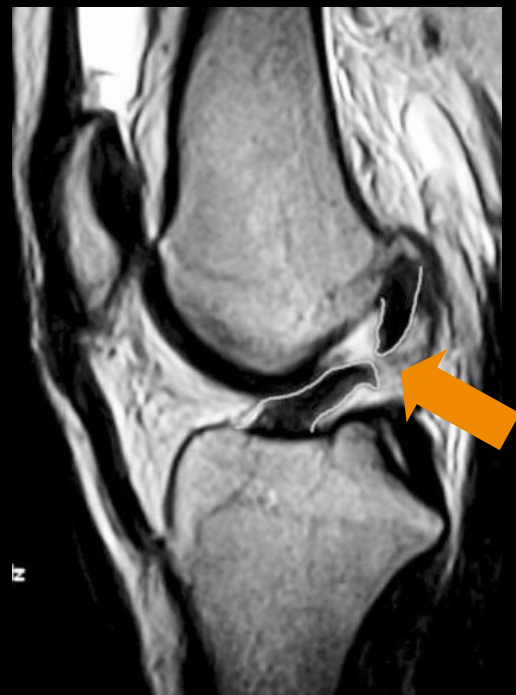


T2 súlyozás
(cervix carcinoma)

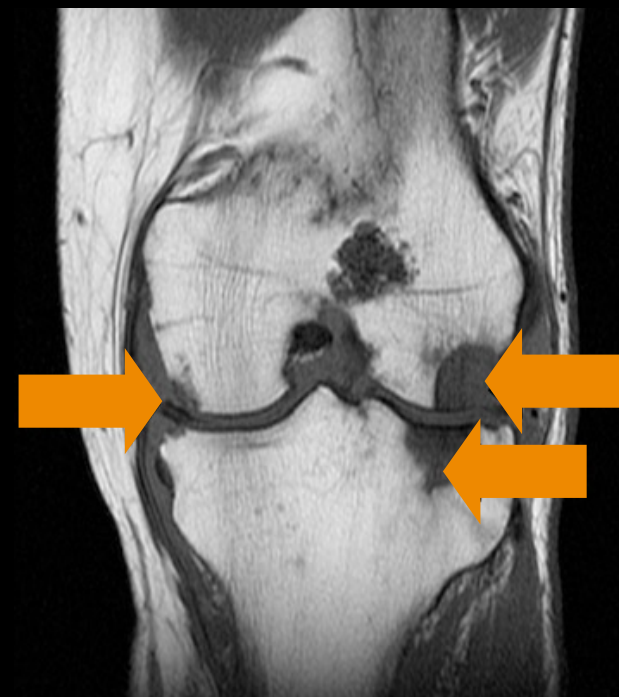


T2 súlyozás
(prostata carcinoma)

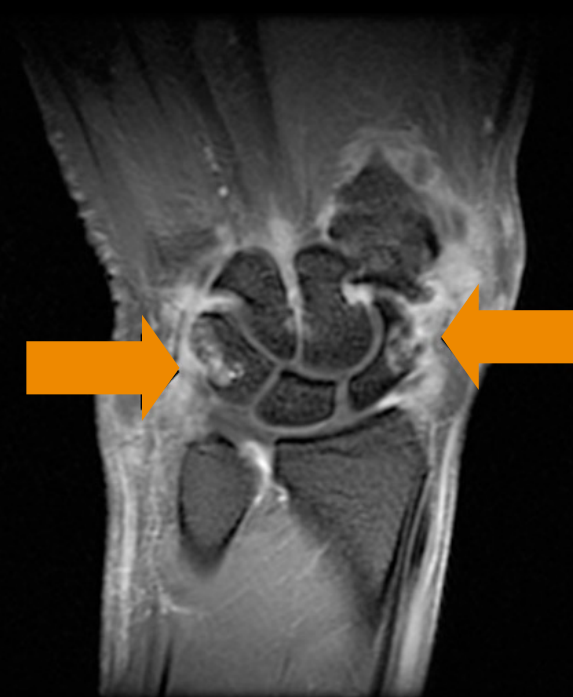
Anatomiai képalkotás csont és lágyrészec



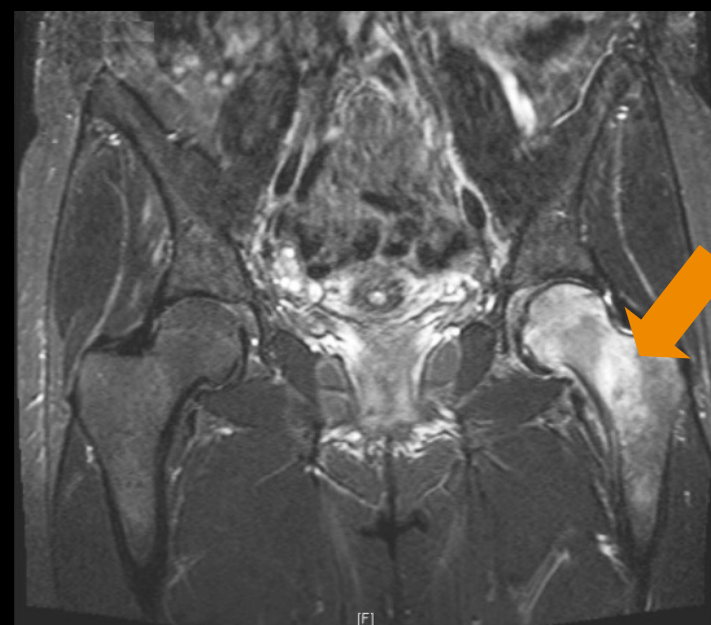
T2 súlyozás
(szalag szakadás)



Rheumatoid arthritis
térd



Rheumatoid arthritis
csukló

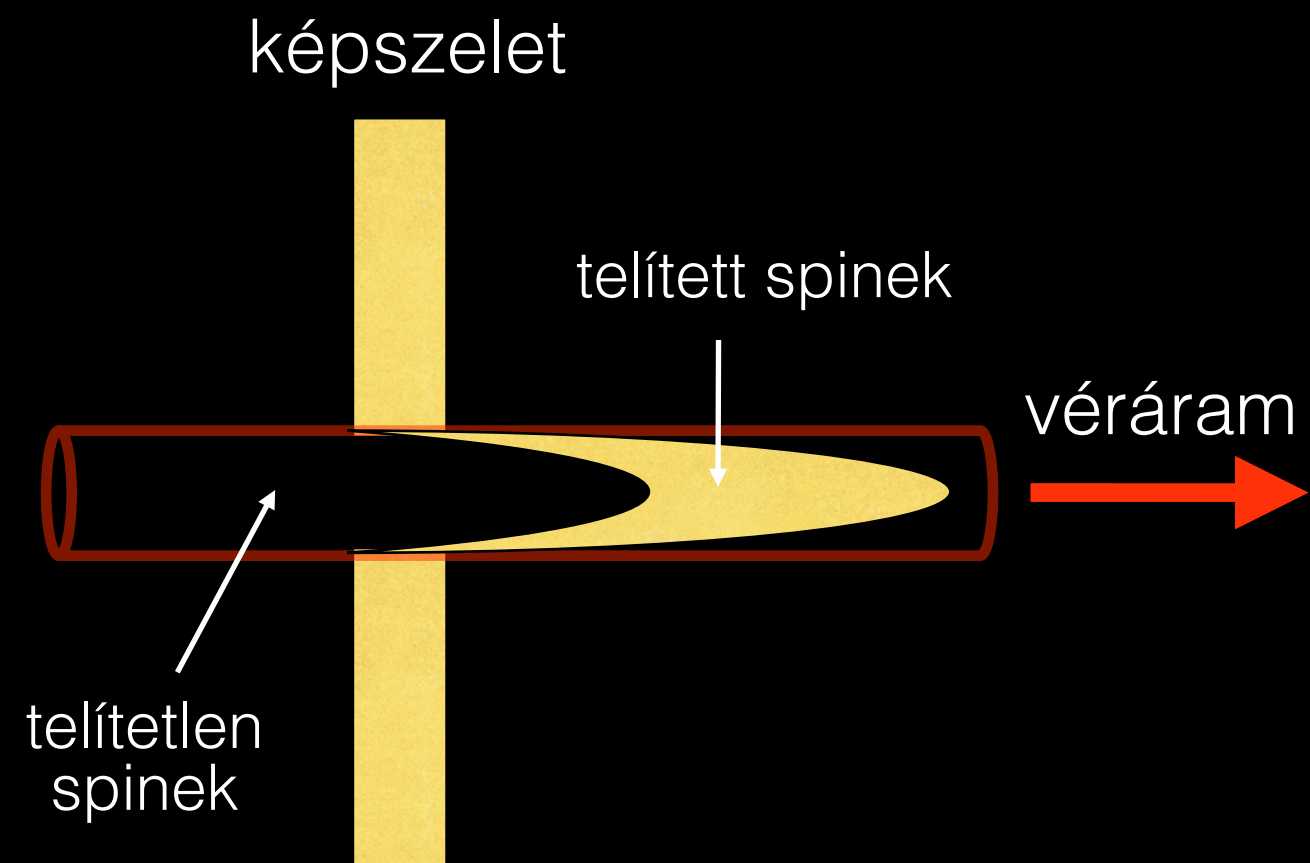


Osteoporosis (femur)

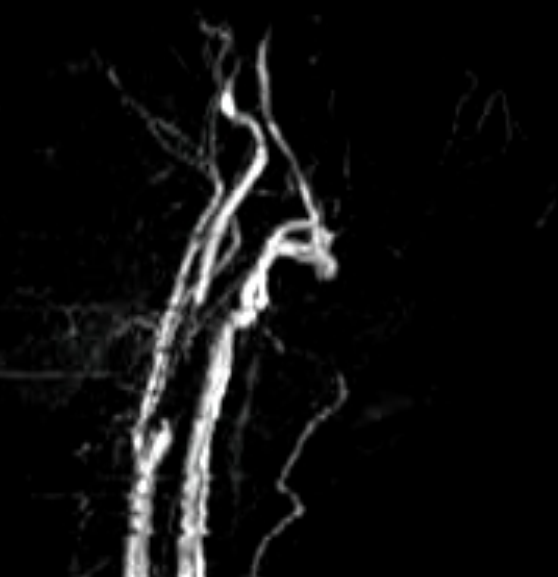


T2 súlyozás
(hernia)

MRI: Non-invazív angiográfia



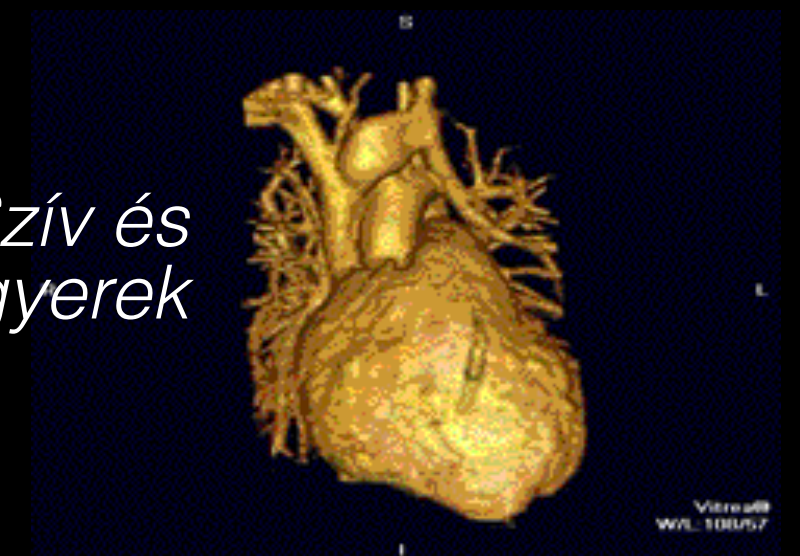
*Arteria
carotis*



*Circulus
arteriosus
Willisii*

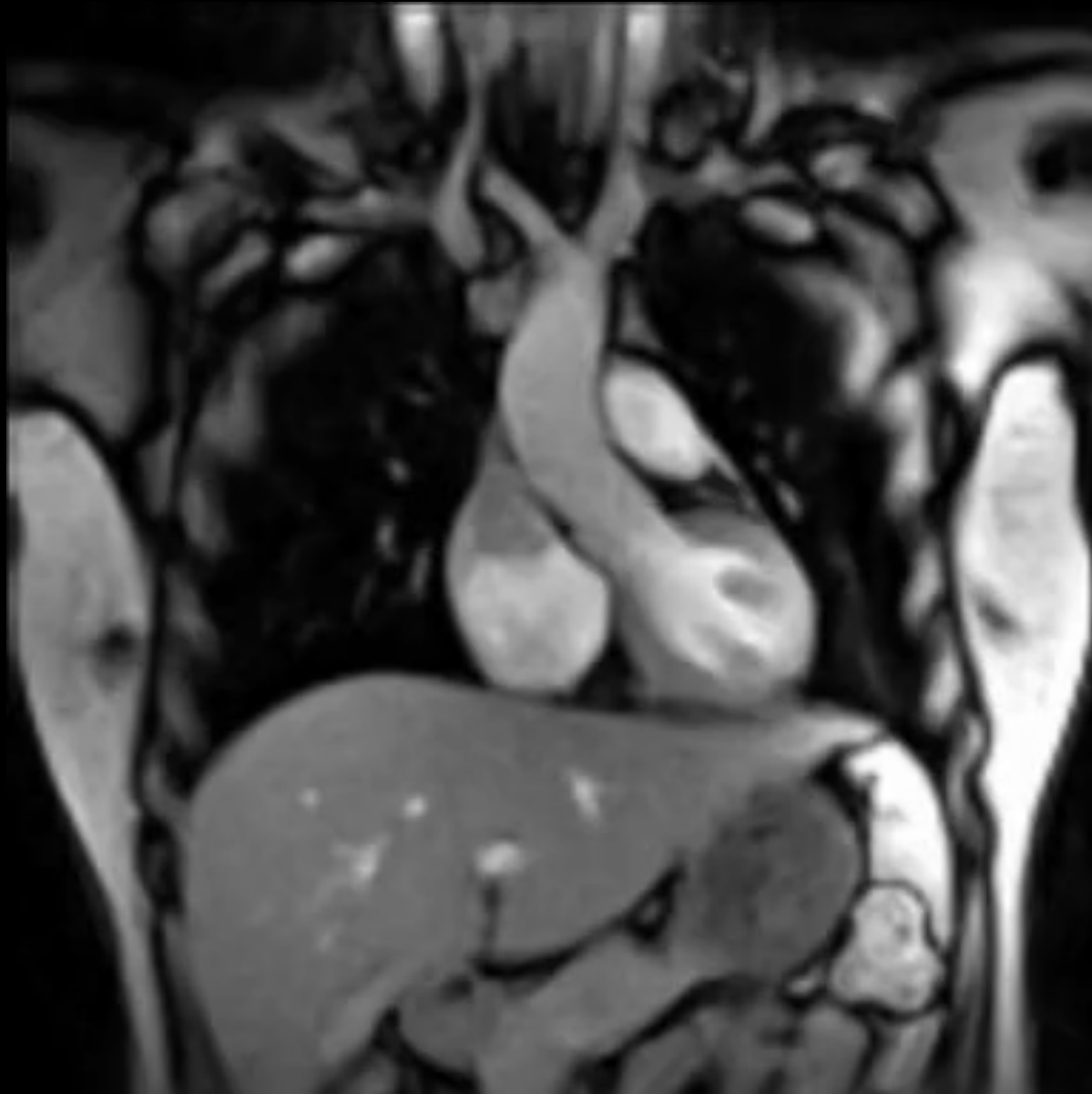


*Szív és
nagyerek*



MRI mozgókép (valós idő)

Nagy időfelbontású felvételek alapján - EKG szinkronizáció



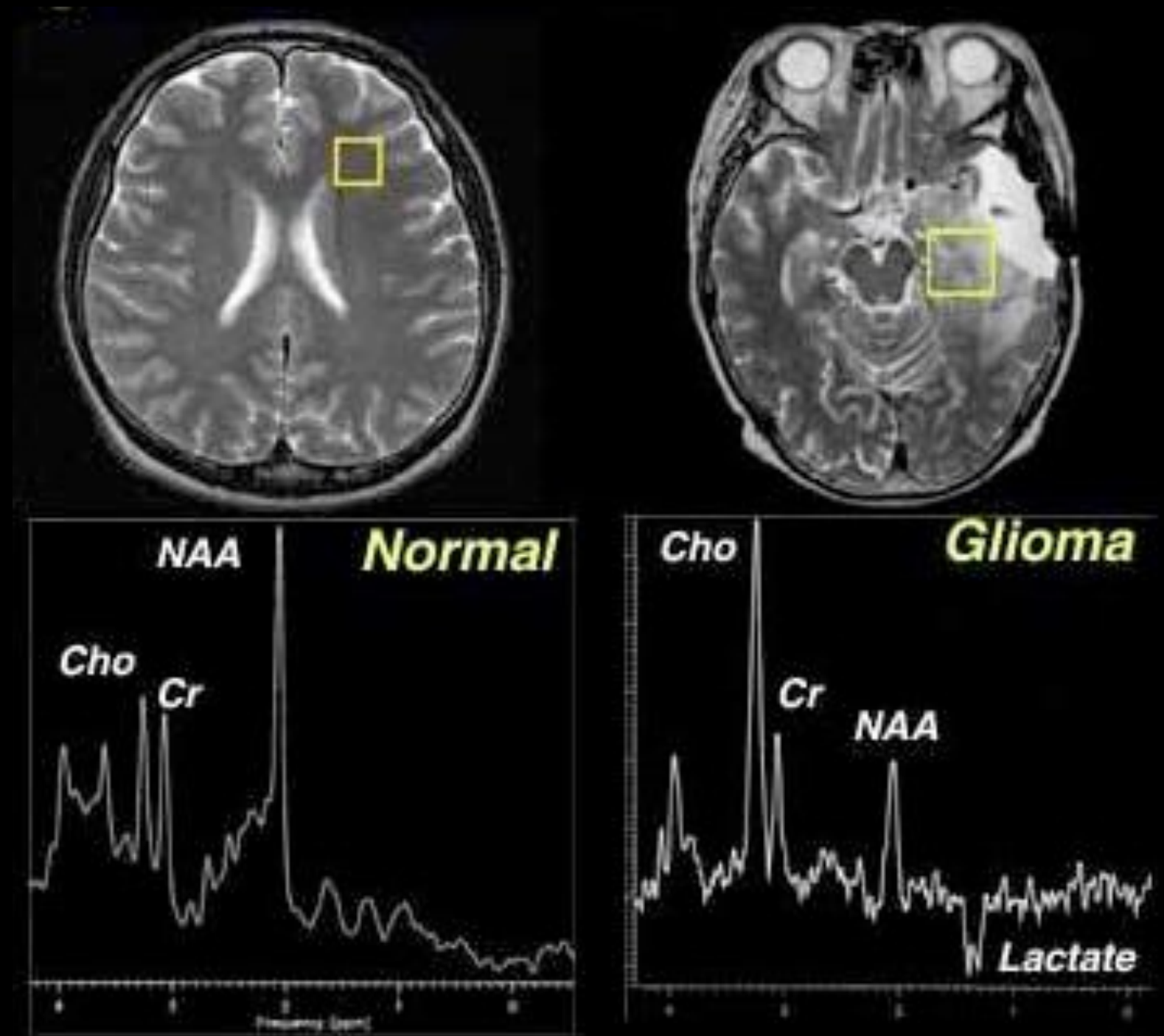
Mellkas - frontális képsorozat



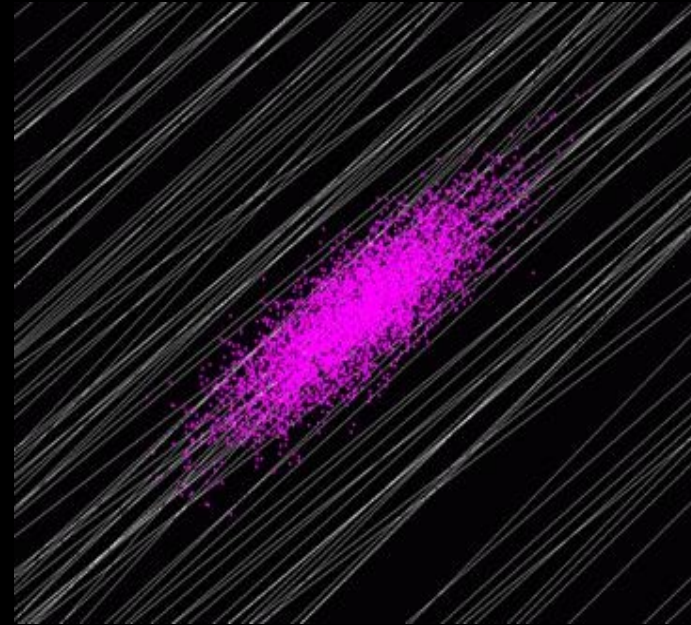
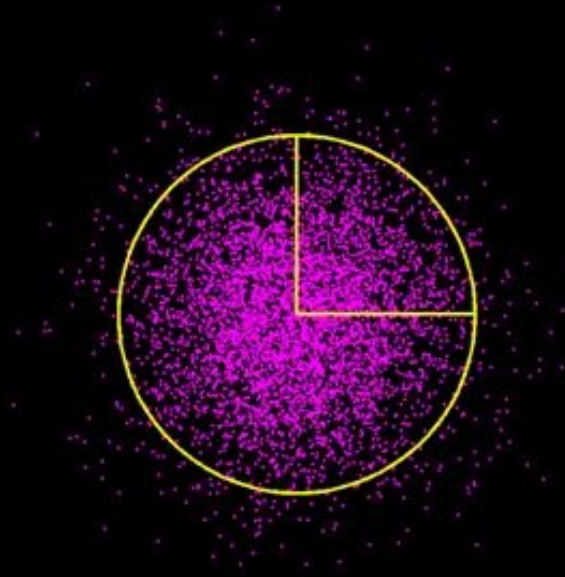
Aortabillentyű nyitódása - záródása

MR Spektroszkópia

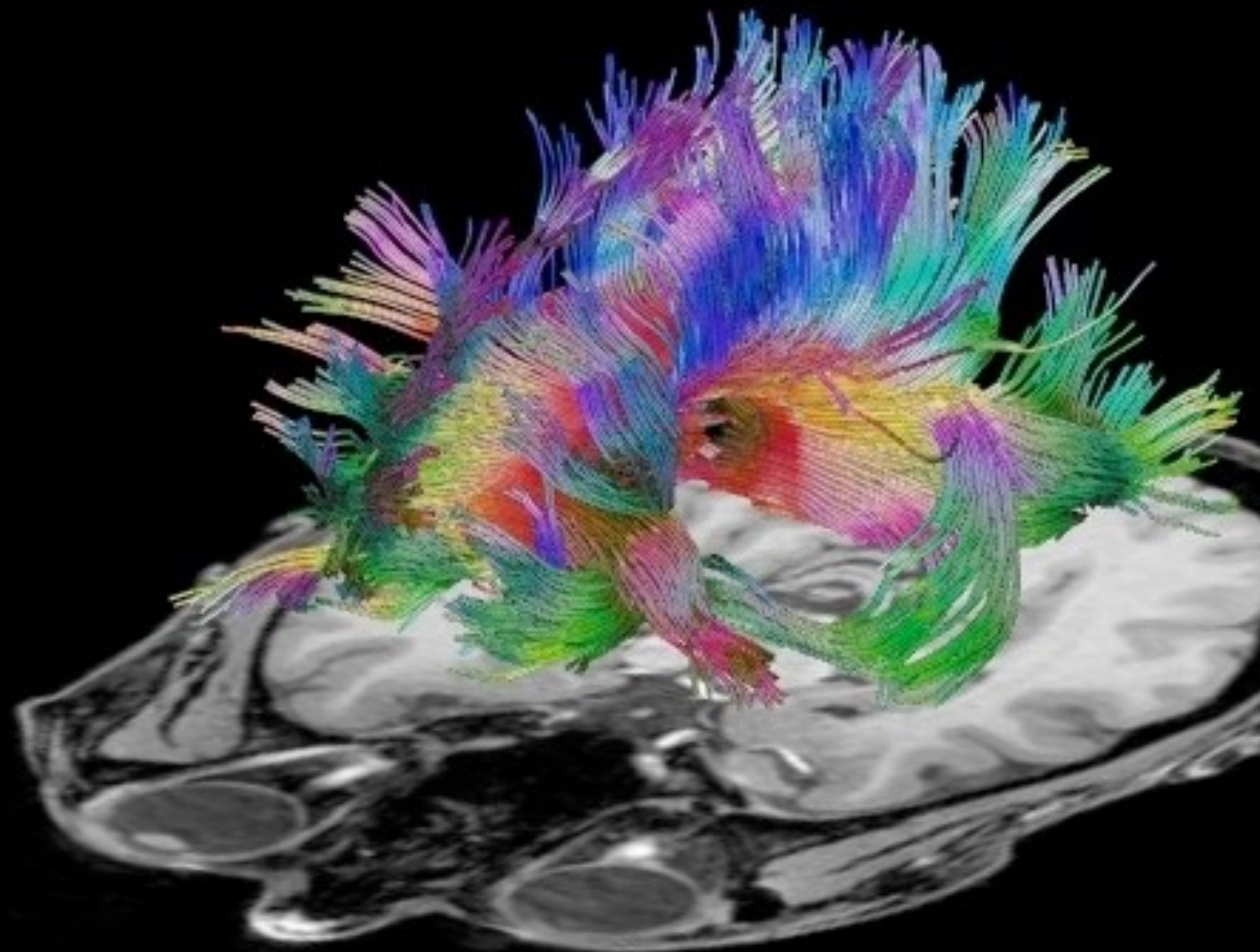
- Kémiai eltolódás (chemical shift)
- Metabolitok azonosítása
- Tumordiagnosztika



Diffúziós képalkotás



Anizotróp vízdiffúzió:
kontrasztkpződés

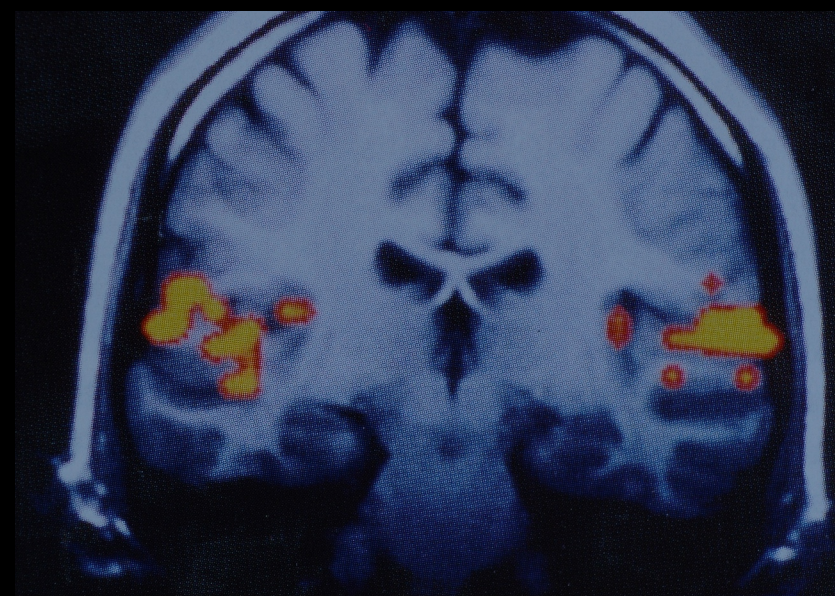
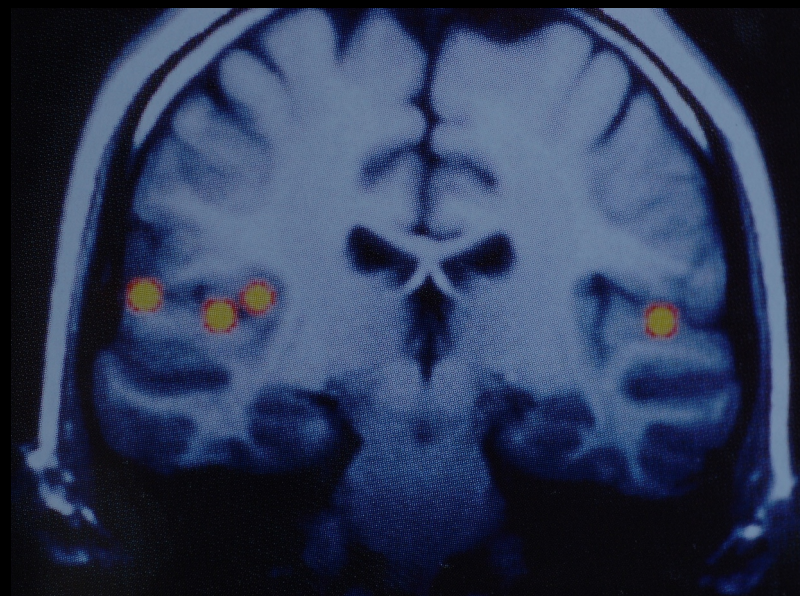


Idegpályák vizsgálata:
traktográfia

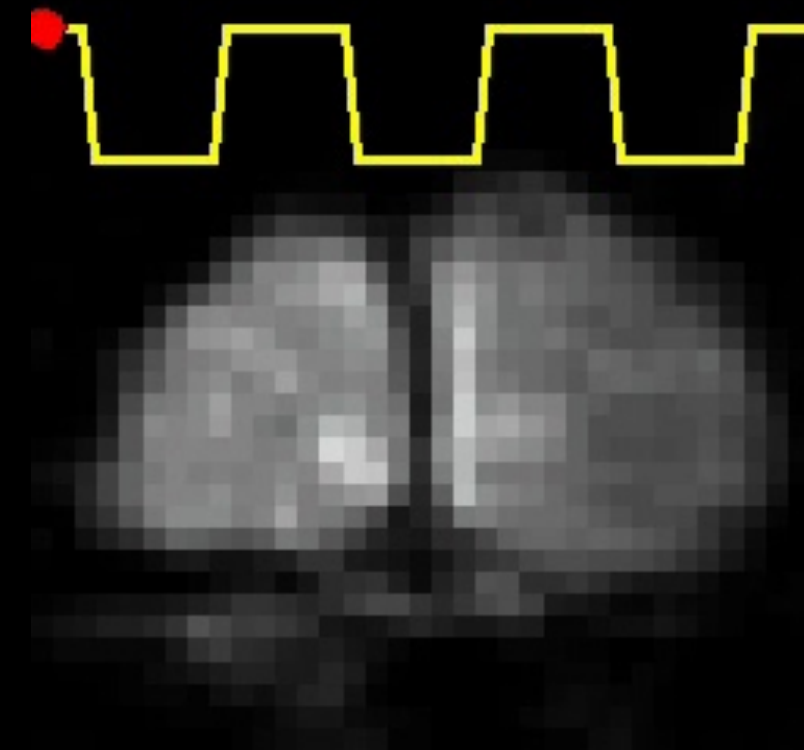
Corpus callosum

Funkcionális MRI (fMRI)

Élettani folyamattal szinkron felvett
Nagy időfelbontású képsorozat



Aktiváció az acusticus
cortexben



Villogó fény hatása a
látókéregre

MRI információ szuperponálása egyéb információval (PET)



Intracranialis tumor



PET jel: szemmozgítás során aktivált
kortikális részek
Térbeli rekonstrukció

OMHV



<http://report.semmelweis.hu/linkreport.php?qr=J6XCRWMCMR5DF9FR>