

Fizikai Szemle

MAGYAR FIZIKAI FOLYÓIRAT

A Fizikai Szemle az Akadémia által 1862-ben elindított Matematikai és Természettudományi Értesítő és az 1891-ben Eötvös Loránd által alapított Matematikai és Physikai Lapok utóda és folytatása

LIV. évfolyam

10. szám

2004. október

NANOTECHNOLÓGIA A BIOFIZIKÁBAN

Bodnár Andrea, MTA–DE Sejtbiofizikai Kutatócsoport

Damjanovich Sándor, MTA–DE Sejtbiofizikai Kutatócsoport és DE Orvos- és
Egészségtudományi Centrum, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Vámosi György, MTA–DE Sejtbiofizikai Kutatócsoport

A nanotechnológiáról általában

A nanotechnológia manapság gyakran használt bővös szó, amelyet csodálattal hallgatnak azok, akik nem nagyon tudják megfejtetni a szó igazi jelentését. Pedig a dolog – mint az rendszerint lenni szokott – igen egyszerű, ugyanakkor nagyon hasznos fogalmak, módszerek és technikai eljárások gyűjtőnevét takarja, amelyek megértése érdekünkben áll, ha a természetet mélyebben meg akarjuk ismerni.

A legegyszerűbb és legérthetőbb meghatározás a szó jelentésére vonatkozik. A „nano” a nanométerre utal, tehát távolságot jelent: a méternek – amiről mindenkinek van fogalma – az egymilliárdod részét. Erről a hosszúságról ugyanakkor tapasztalati ismereteink természetesen nincsenek, így a valóságban elképzelni sem tudjuk, akkor sem, ha világosan értjük a szó jelentését. Azonban ha azt mondjuk, hogy az élővilág sejteinek alkatrészei ebbe a nagyságrendbe sorolhatóak, akkor valahogy közelebb érezzük magunkat ehhez a fogalomhoz. A csak mikroszkóppal látható baktériumok (pl. a bélcsatornáinkban állandóan jelenlévő, velünk együtt élő és csak mikroszkóppal látható *Escherichia coli* baktérium) hossza körülbelül 1 nanométer ezerszeresének felel meg. Már ebből is látható, hogy a nanométer valóban igen kis távolság. A jelenleg legmodernebb elektron- és más mikroszkópos eljárások képesek a nanométert is „láthatóvá” tenni [1]. *Gerd Binnig* és *Heinrich Rohrer* a 80-as évek elején közölt, később Nobel-díjjal elismert képe – melyet nagyon sokan megcsodálhattak – képes volt alagúteffektuson alapuló pásztázó elektronmikroszkóp segítségével az atomok – a konkrét esetben grafitkristály atomjainak – bemutatására is. Négy egymás mellé helyezett szénatom átmérője nagyjából egy nanométer távolságot jelent. Akkor miért foglalkozunk vele egyáltalán, ha

ezek a kis távolságok a mi fogalmi világunkban oly keveset jelentenek?

A modern technológiák arra törekednek, hogy minél több elektronikai elemet zsúfoljanak össze a lehető legkisebb helyen. Ennek az az oka, hogy az elektronoknak a fény sebességét közelítő mozgási sebessége ellenére a mikroelektronika, a számítástechnika világában elvégzendő műveletek száma csillagászati méreteket ölt, így a legkisebb út-idő nyereség is számít. Az elektronikai egységek alapterülete évente körülbelül 1,8-szer több elemet képes befogadni. Tehát valóban létezik a műszaki fizika oldaláról közelítve olyan nanotechnológia, amelynek a szinte minden határon túli miniatürizálás, illetve azon a skálán történő technikai manipulálás a célja.

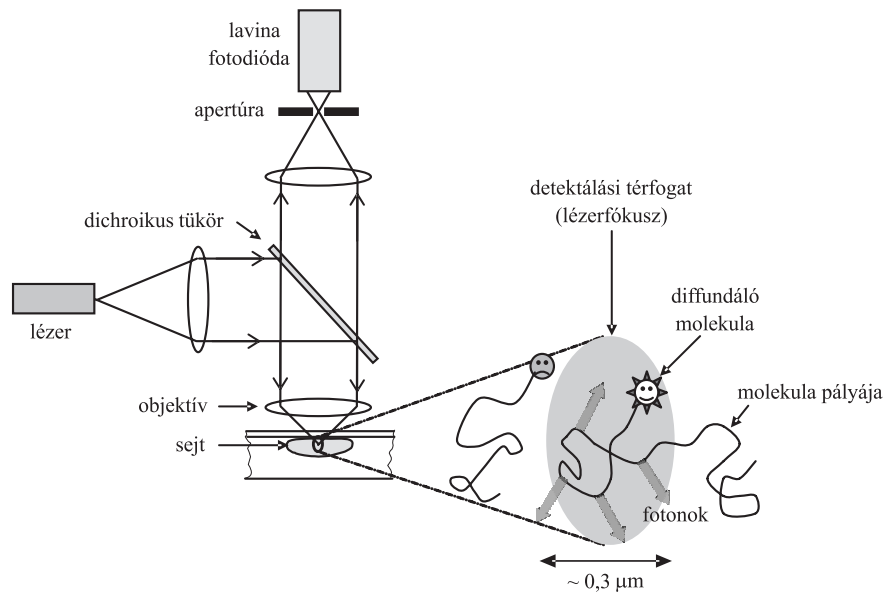
Nanotechnológia az életfolyamatok vizsgálatában

Ezek eléggé közismert tények, de mi köze van ennek a biofizikához? A nanotechnológiát a biológia „hasznosította” leghamarabb. A molekulák világában a nanométeres nagyságrend, a nanométeres világ az a természetes lépték, amelyben az életfolyamataink lejátszódnak. A molekuláris méretek biokémiai megközelítése és tanulmányozása viszonylag egyszerűnek tűnik, hiszen csak tisztán kell izolálni a biokémiailag azonosított anyagokat, és akkor a csillagászati számú, de nagyjából azonos tulajdonságú, homogén molekulapreparátum a kémia, fizika és biokémia módszereivel azonosítható és viszonylag könnyen vizsgálható. A nehézségek akkor kezdődnek, amikor a molekulák kölcsönhatásait élő sejtekben és nem összetört sejtekből kivont preparátumban kívánjuk megismerni. Az egyedi molekulák vizsgálata szinte semmi gondot nem jelent a pásztázó elektronmikroszkó-

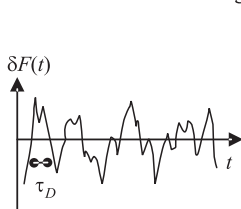
pia, az ugyancsak pásztázó atomerő-mikroszkópia (AFM, SFM [2]) vagy a fluoreszcenciát felhasználó pásztázó közelimező-optikai mikroszkópia (*Scanning Near-Field Optical Microscopy*, SNOM [3]) számára. Csomót lehet kötni a hosszú molekulákra, meg lehet próbálni eltörni a molekulát a csomók meghúzásával, és mindezt a képképző eljárások valamelyikével „látni” lehet. Azonban ha élő sejtek belsejében – vagy akár csak azok oly fontos külső felszínén – kívánunk a molekulák világával ismerkedni, akkor nehézségek sorával állunk szemben. A rendszert nemcsak szétszedni nem szabad, de a beavatkozás hatását is a lehető legkisebbre kell csökkenteni, ha a molekulák működését valóban háborítatlanul akarjuk megismerni. Ez az előfeltétele annak, hogy a sejtek működését a lehető legjobban megértsük és – amennyiben ennek szüksége felmerül (orvostudomány, agrártechnológiák stb.) – azt célzottan befolyásoljuk.

A nanométer nagyságrendjéhez képest a molekulák és a sejtek viszonylag nagyok. A sejtbiológiában meghatározó szerepet játszó fehérjék és nukleinsavak legtöbbször sok nm hosszúak, és természetes háromdimenziós állapotukban ugyancsak sok nm átmérőjűek. A sejtek – első közelítésben gömbök – nagyjából 5–70 mikrométer átmérője azonnal jelzi, hogy azokban nagyon sok és nagyon sokféle molekula fér el. A nanotechnológia megkísérli a fontosnak, érdekesnek ítélt molekulák egyedi tulajdonságainak, sejten belüli leőhelyeinek, mozgásának, környezetével való kölcsönhatásainak vizsgálatát. A nanovilág és az életfolyamatok vizsgálatának célszerű összekapcsolása – például vírusok áthaladási mechanizmusának vizsgálata a sejtek membránján keresztül – teljesen új irányt indított el nemcsak a virológiában, de magában a sejtbiológiában is. Lehetővé tette, hogy megismerjük, hogyan jutnak el a molekulák a sejtek belsejében szintézisük helyéről a végső rendeltetési helyükre.

Ezekhez a vizsgálatokhoz jelentős fizikai műszerezettségre és felkészültségre van szükség. A rendelkezésre álló fizikai módszerek hatékonysága lenyűgöző. Optikai csipesszel [4, 5] – ami egy kellően fókuszált, rendszerint infravörös lézernyáláb – nemcsak egyes sejteket tudunk megragadni, felemelni és például áthelyezni vizsgálat vagy kísérlet céljából valamilyen más sejt mellé, de műanyag gömböcskék segítségével például a sejtek felszínén gyakorlatilag egyenként lehet megadott molekulafajtákat „megránigálni”, és ezzel a sejtet valamilyen működésre, válaszra készíteni, vagy éppen a molekulák közötti erőhatások nagyságát megmérni.



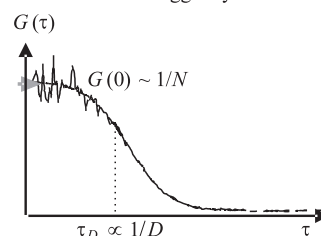
a fluoreszcencia időbeli ingadozása



$$G(\tau) = \frac{\frac{1}{T} \int_0^T \delta F(t) \delta F(t+\tau) dt}{\langle F \rangle^2}$$



autokorrelációs függvény



Ábra. Fluoreszcencia-korrelációs spektroszkópia (FCS); $F(t)$, $\langle F \rangle$: pillanatnyi, illetve átlagos fluoreszcenciaintenzitás, $\delta F(t) = F(t) - \langle F \rangle$; τ_D : diffúziós idő (egy részecske által átlagosan a detektálási térfogatban eltöltött idő); D : diffúziós állandó; $G(0)$: amplitúdó; N : átlagos molekulaszám a detektálási térfogatban

Az optikai spektroszkópiák a sejtek integritásának megbontása nélkül is lehetővé teszik egyedi vagy legalábbis igen kis darabszámú molekula vizsgálatát. A fluoreszcencia-korrelációs spektroszkópiában egy fókuszált lézernyáláb a sejt valamely alkotórészének 0,1 köbmikrométernél is kisebb térfogatelemét világítja meg. Az ott gerjesztett fluoreszcencia időbeli ingadozásának sebessége az egyedi molekuláknak a megvilágított térfogatba történő be- és kidiffundálásától függ, így az intenzitásgörbe időfüggésének –, illetve célszerűbben az abból képzett autokorrelációs függvénynek – a kiértékelése a fluoreszkáló molekula mozgékonyágáról, lokális diffúziós állandójáról ad információt (ábra). A mozgékonyágából pedig a környező molekulákkal, sejtalkotókkal – például a sejt vázát alkotó citoskelettonnal – kialakított kölcsönhatásokra vagy a több makromolekulából kialakult együtt mozgó molekulakomplex méretére következtethetünk. A keresztkorrelációs függvény alkalmazásával és különböző színűre jelölt molekulákkal pedig nem csupán azt lehet megmondani, hogy melyik molekula mellett milyen más molekulafajta található nanométeres távolságon belül, de azt is, hogy „ki kivel”, melyik molekula melyik más molekulával mozog együtt [6]. Ezt a módszert még a hetvenes évek elején fejlesztették ki kémiai reakciók vizsgálatára, és folyadék közegben vizsgálták különböző molekulák koncentrációját és diffúziós mozgását [7, 8]. A mai értelemben vett nano-

technológiai módszerré a biofizika alakította azáltal, hogy a konfokális mikroszkópiával párosítva septszintű vizsgálatokra is alkalmassá tette, nagy szolgálatot téve ezzel a sejtbiológiának [9, 10].

A megfelelően megválasztott, különböző színű fluoreszkáló molekulák a rezonancia-energiatranszfer [11] segítségével molekulapárok közötti távolságmérésre alkalmazhatók nanométeres pontossággal. Ezt az teszi lehetővé, hogy a fluoreszkáló festékmolekulák között fellépő, dipól–dipól kölcsönhatáson alapuló sugárzásmentes energiaátadás – rezonancia-energiatranszfer – hatásfoka távolságfüggő. Ha ezt a mérő módszert a jobb statisztika kedvéért azonos típusú sejtek nagy sokaságán akarjuk kiválasztott molekulapárok között elvégezni, akkor az áramlási citometriával kombinálva másodpercenként akár több száz sejtről gyűjthetünk pontos adatokat a bennük található molekulák fajtáiról, távolsági paramétereiről [12–15], vagy – kihasználva az optikai anizotrópia lehetőségeit – azok mozgékonyaságáról is [16]. Ezek a módszerek ma már alkalmazhatók a klinikai laboratóriumi diagnosztikában is, bár az érdeklődés az ilyen irányú vizsgálatok iránt még sajnálatosan kicsi.

Az atomerő-mikroszkópiát már említettük mint olyan módszert, amely a molekulák méreteire, eloszlására szolgálhat adatokat az élettanihoz közeli, „nedves” állapotban, az életfolyamatokhoz szükséges vizes pufferoldatban is (tehát nem az elektronmikroszkópia által megkövetelt nagyvákuumban!) [17, 18]. Ha a nanoméretű tú mechanikai letapogatása nem biztosít elégséges felbontást a molekulafajta felismeréséhez, a fluoreszcencia is segítségül hívható a közelmező-optikai mikroszkópiában (SNOM). Ennek a felbontása nem olyan jó, mint az előbb említett atomerő-mikroszkópiáé, de a vizsgált anyagok azonosítását a fluoreszkáló jelzőanyagok (pl. az immunológiából ismert specifikusan kötődő ellenanyagok) lehetővé teszik. A SNOM – amelyet több helyen szinte egyszerre vezettek be 1987 körül – azon az elven alapszik, hogy ha a hullámhossznál kisebb átmérőjű, hegyes optikai szálon lép ki például látható fény, akkor a tőtől néhány nanométerre lévő mintából a hullámhossznál kisebb felületet világít csak meg. A megvilágított felületen elhelyezkedő, fluoreszkáló jelzőanyagokkal ellátott molekulák eloszlásáról, topográfiájáról az Abbe-elvből következő „hagyományos” optikai felbontóképeségnél sokkal jobb felbontással kapunk információt [19, 20]. Két- vagy többfotonos gerjesztéssel – megfelelő impulzuslézerek alkalmazásával – még tovább javítható a feloldás.

Új utak – új lehetőségek

Új fejezet nyílik napjainkban a nanotechnológiában a kvantum- vagy mikropontok bevezetésével. A fizikai nanotechnológia ma már minden nehézség nélkül elő tud állítani adott, néhány (5–10–20) nm átmérőjű felvezető elemeket. Ezek a például CdSe és ZnS alapanyagból készült chippek megvilágítás hatására fényt bocsátanak ki. Ez eddig nem sok újat mond, mivel a fluoreszcencia segítségével ezt már régen meg tudjuk tenni. A mikropontok óriási előnye a festékekkel vagy akár a

természetes fluoreszkáló anyagokkal szemben az, hogy igen széles abszorpciós spektrummal, ugyanakkor a mikropont méretétől függő hullámhossz maximumú, igen keskeny sávú emissziós spektrummal rendelkeznek. Ez lehetővé teszi olyan megoldások alkalmazását a gyakorlatban, hogy különböző átmérőjű mikropontokkal specifikusan jelzett molekulafajták egyetlen gerjesztő fénysugár hatására az emissziós hullámok különböző színével jelzik a különböző molekulák együttes jelenlétét [21]. További előnye még ennek az optikai rendszernek, hogy a többszöri gerjesztés nem teszi tönkre, nem „égeti ki” az emittáló egységeket, így a megfigyelés időtartamának, illetve a gerjesztő fény intenzitásának nincs olyan szigorú korlátja, mint a hagyományos festékmolekulák alkalmazásakor. Ez olyan korábban kivitelezhetetlennek tűnő vizsgálatok elvégzését is lehetővé teszi, mint például egyetlen „hírvivő” (pl. hormon) molekula útjának nyomon követését a sejtbe történő belépéstől kezdve a felhasználás helyéig [22]. Természetesen ennek a már minden szempontból nanotechnológiai rendszernek is vannak hátrányai és alkalmazási problémái. A különböző átmérőjű mikropontokat el kell juttatni a megfelelő célmolekulákhoz és oda kell erősíteni azokhoz (és csak azokhoz). Ez nem mindig egyszerű folyamat, de végső fokon ez a nehézség a sokkal előnytelebbséggel rendelkező egyéb fluoreszcenciás rendszerek esetében is jelentkezik.

A biofizikai–biológiai nanotechnológia ismer olyan megoldást is, amely kiválasztott fehérjék génjeinek manipulálása révén egy, a tengeri élővilágban felfedezett, úgynevezett zöld fluoreszkáló fehérjét köt az adott fehérjéhez, és azok anyagcsereútjait a sejtekben láthatóvá teszi a fluoreszkáló zöld szín. Mivel ennek a zölden fluoreszkáló proteinnek (*Green Fluorescent Protein*, GFP) a színe a benne előforduló aminosavak kicsiny hányadának a kölcsönhatásától függ, ugyancsak genetikai manipuláció segítségével az eredetileg zöld színt szinte tetszőlegesen lehet más színre változtatni. Ezeknek a jelöléseknek az a hátránya, hogy a genetikai manipuláció önmagában is okozhat olyan változásokat, amelyek a megfigyelendő folyamatokat torzítják.

Széles körben ismert, hogy úgynevezett DNS-chipek segítségével nukleinsavakat, vagy hasonló elven más molekulákat, például fehérjéket lehet specifikusan azonosítani. Ennek alapja a makromolekulák komplementer felszínei közötti nagy specifitású felismerési folyamat. Egy néhány milliméter átmérőjű lapkára több tízezer különféle molekula templátja vihető fel, lehetővé téve ennyiféle molekula egyidejű kimutatását és mennyiségi analizisét. Ezeknek a módszereknek a humán genom (az emberi génállomány) analizisében, betegségek genetikai hátterének feltárásában [23], a gyógyszerhatóanyagok kifejlesztésében és kipróbálásában [24] stb. igen nagy szerepe volt és van.

A biológia és társtudományainak vizsgálómódszerei a mikroszkóp feltalálásától kezdve sokat profitáltak a fizika és a technika fejlődéséből. A fenti példák azt szemléltetik, hogy a nanotechnológiai módszerek bevezetése már most új fejezeteket nyitott az élettudományok fejlődésében.

Irodalom

1. G. BINNIG, H. ROHRER – *Helv. Phys. Acta* 55(1982) 726
2. A. ASHKIN – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94(1997) 4853
3. P. GALAJDA, P. ORMOS – *Appl. Phys. Lett.* 80(2002) 4653
4. P. SCHWILLE, F.J. MEYER-ALMES, R. RIGLER – *Biophys. J.* 72(1997) 1878
5. E.L. ELSON, D. MAGDE – *Biopolymers* 13(1974) 1
6. D. MAGDE, E.L. ELSON, W.W. WEBB – *Biopolymers* 13(1974) 29
7. M. EIGEN, R. RIGLER – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91(1994) 5740
8. R. BROCK, G. VAMOSI, G. VEREB et al. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96(1999) 10123
9. T. FÖRSTER – *Ann. Phys.* 2(1948) 55
10. L. TRÓN, J. SZÖLLÖSI, S. DAMJANOVICH et al. – *Biophys. J.* 45(1984) 939
11. S. DAMJANOVICH, R. GÁSPÁR JR., C. PIERI – *Q. Rev. Biophys.* 30(1997) 67
12. S. DAMJANOVICH, L. BENE, J. MATKÓ et al. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94(1997) 13134
13. Z. SEBESTYEN, P. NAGY, G. HORVATH et al. – *Cytometry* 48(2002) 124
14. L. BENE, M.J. FULWYLER, S. DAMJANOVICH – *Cytometry* 40(2000) 292
15. G. BINNIG, C.F. QUATE, C. GERBER – *Phys. Rev. Lett.* 56(1986) 930
16. S. DAMJANOVICH, G. VEREB, A. SCHAPER et al. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92(1995) 1122
17. A. JENEI, S. VARGA, L. BENE et al. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94(1997) 7269
18. E. BETZIG, J.K. TRAUTMAN – *Science* 257(1992) 189
19. P. NAGY, A. JENEI, A.K. KIRSCH et al. – *J. Cell. Sci.* 112(Pt 11)(1999) 1733
20. P. NAGY, L. MATYUS, A. JENEI et al. – *J. Cell. Sci.* 114(2001) 4063
21. T.D. LACOSTE, X. MICHALET, F. PINAUD et al. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(2000) 9461
22. D.S. LIDKE, P. NAGY, R. HEINTZMANN et al. – *Nat. Biotechnol.* 2004.
23. P. LIANG, A.B. PARDEE – *Nat. Rev. Cancer* 3(2003) 869
24. G. SAUTER, R. SIMON, K. HILLAN – *Nat. Rev. Drug Discov.* 2(2003) 962

MEZONOK ÉS BARIONOK A MAGANYAGBAN

Korpa Csaba

Pécsi Tudományegyetem, Elméleti Fizika Tanszék

Az erősen kölcsönható szubnukleáris részecskék (hadronok) tulajdonságainak vizsgálata leginkább hadron-hadron ütközések megfigyelésével történik. A feles spinű hadronok (barionok) közül a legfontosabbak az atommag alkotóelemei, a proton és a neutron (nukleonok). Ezek szórásáról nagy pontosságú adatok állnak rendelkezésre, hiszen a proton elektromágneses mezőben jól gyorsítható és protonokkal, illetve könnyű magokban (pl. nehézhidrogén) kötött neutronokkal ütköztethető. Az egész spinű hadronok (mezonok) instabilak, és ez nehezíti kölcsönhatásuk vizsgálatát, de a könnyű mezonok (pionok, kaonok) nukleonokon történő szórásáról is nagy mennyiségű adat gyűlt össze.

A hadronok kölcsönhatását hadronok cseréjével lehet leírni, hasonlóan, mint ahogyan az elektromágneses kölcsönhatást fotonok cseréje jellemzi. A hadronok kölcsönhatása azonban mintegy két nagyságrenddel erősebb, mint az elektromágneses. Ezért általában nem alkalmazható a Born-közelítés, amely egyszéri kölcsönhatást, azaz egy hadron cseréjét feltételezi. Az egy hadron közvetítésével létrejövő *potenciált* kell a Schrödinger-egyenletben felhasználni a szórt hullám kiszámítására. Ilyen módon csak nemrelativisztikus részecskék szórása számítható, ami a könnyű mezonok esetében az impulzust legfeljebb pár száz MeV/c-re (c a fény sebessége vákuumban) korlátozza, a nukleonokra pedig mintegy 300 MeV/c határt ró.

Relativisztikus tárgyalást a kvantumtérelmélet tesz lehetővé, de ennek megoldási módszerei korlátozottan alkalmazhatók. A leginkább kifejlesztett eljárás a perturbációszámítás, amely a kölcsönhatás erősségét jellemző csatolási állandó hatványai szerinti kifejtést jelent. A hadronok esetében ez az eljárás nem célravezető, mert a csatolási állandók nagy értéke miatt a sor nem konvergál. Egy lehetséges nemperturbatív eljárás a téridő diszkretizálását és numerikus számolást használó *kvantumtérelmélet rácson*. Ez a módszer szórás tárgyalását egyelőre nem teszi lehetővé.

Egy nemperturbatív, mind szélesebb körben alkalmazott módszer az önkonzisztens Green-függvényeken alapuló számolás. A Green-függvények írják le a részecskék terjedését és szórását is. Egy részecske terjedését a kétpontos Green-függvénye jellemzi, ahol az egyik pont a részecske kezdeti térbeli és időbeli koordinátáját adja meg, a másik pont pedig a végállapot koordinátáit. A kétrészecskés rendszer evolúcióját, azaz a kétrészecskés szórását, a négyponos Green-függvény írja le az előbbihez hasonlóan. A részecskék tér- és időbeli koordinátái helyett a szórásnál célszerű az impulzust és az energiát használni a kezdeti és a végső állapotban jelen levő szabad részecskék jellemzésére. Ezt a négyponos Green-függvényt még T -mátrix és szórásamplitúdó néven is használják. Az önkonzisztens jelző arra utal, hogy a kiszámolandó (ismeretlen) Green-függvény nemcsak az egyenlet bal oldalán, hanem annak a jobb oldalán lévő összefüggésekben is megjelenik. Egy példa erre a kétrészecskés szórását leíró T -mátrix kiszámítása a Bethe-Salpeter (BS) egyenlet alapján (1. ábra).

A BS-egyenlet kompakt jelölésben:

$$T = K + K G T, \quad (1)$$

ahol K a kölcsönhatási potenciál (a rendszernek megfelelő Lagrange-sűrűségből ismert), G pedig a két részecske szórás nélküli, azaz egymástól független terjedését jellemző Green-függvény. A K és T négy „lába” a két (különböző vonalakkal jelölt) részecske kezdeti és végső 4-impulzusát (energiáját és impulzusát) jelzi. Az egyenlet az ismétlődő kölcsönhatások gráfjait összegzi, és az önkonzisztens megoldásig iterációkkal (pl. T -re a K -ból kiindulva) lehet eljutni.

1. ábra. A Bethe-Salpeter-egyenlet szemléltetése gráfokkal.

