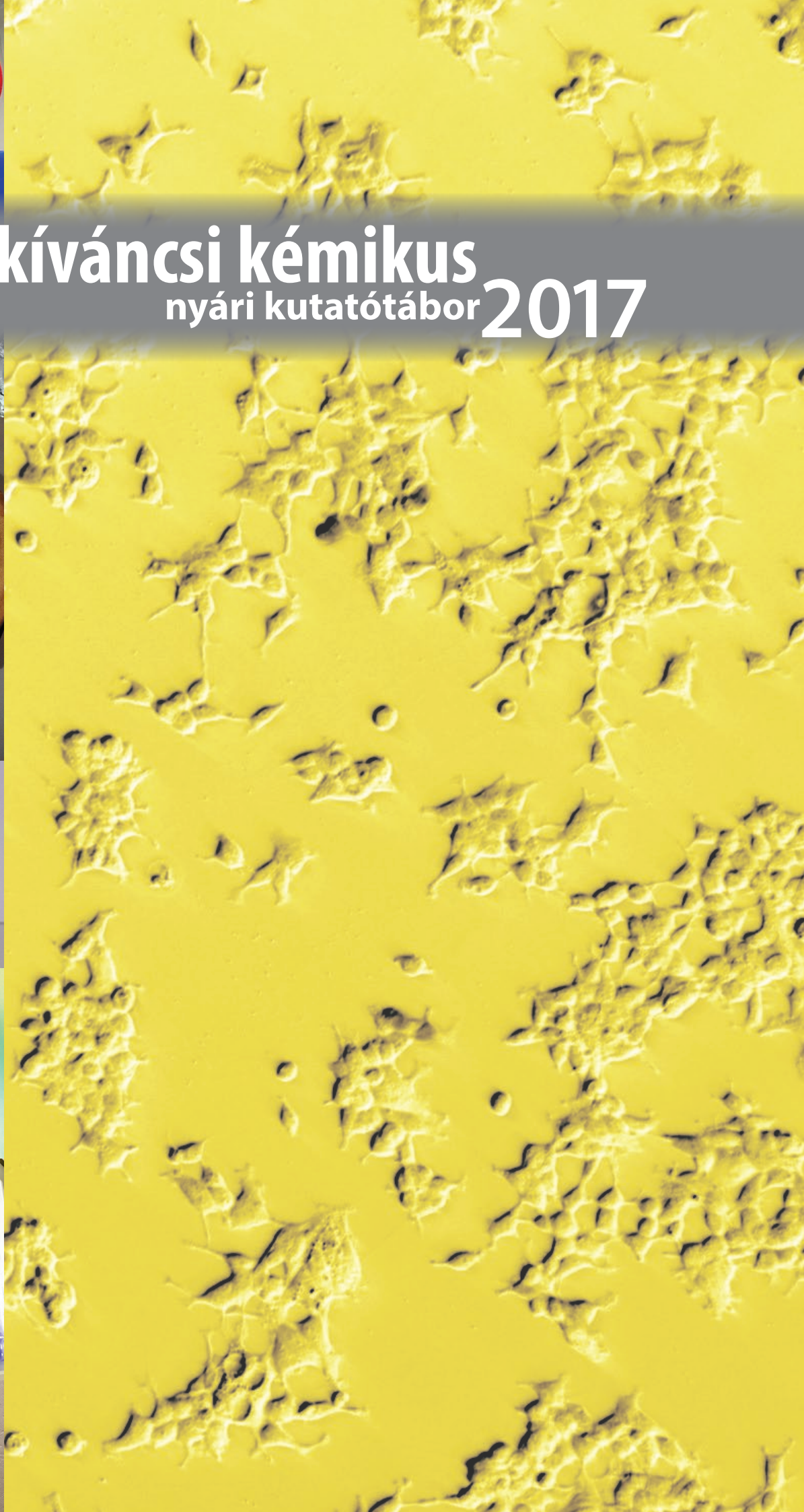




AKI kíváncsi kémikus nyári kutatótábor 2017





AKI kíváncsi kémikus
nyári kutatótábor **2017**

KRÓNIKA

MTA Természettudományi Kutatóközpont

Felelős kiadó: Dr. Tompos András
Kiadja. MTA Természettudományi Kutatóközpont
1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.
Honlap: www.ttk.mta.hu/kutatotabor

Szerkesztő: Lendvayné dr. Győrik Gabriella
Borítóterv és tördelés: Kovács János

Készült a Possum Kft gondozásában
Felelős vezető: Várnagy László
Tel.: + 36 209-345-318
e-mail: info@possumkft.hu
ISBN 978-963-7067-36-5

Az „AKI Kíváncsi Kémikus” kutatótábor az MTA Természettudományi Kutatóközpont Anyag- és Környezetkémiai Intézet, az „Anyagtudományi kiválósági műhely: környezetbarát eljárások fejlesztése megújuló energia- és nyersanyagforrások hatékony felhasználására és energiatartalmuk szabályozott felszabadítására” című VEKOP-2.3.2-16-2017-00013 pályázat és az „Innovatív fotooxidációs víztisztítási technológia kidolgozása szerves mikroszennyezők eltávolítására biológiai úton tisztított szennyvizekből” című NVKP-16-1-2016-0045 projekt pénzügyi támogatásával jött létre.



TARTALOMJEGYZÉK

	ELŐSZÓ	4
1	A kilencedik kutatótábor után	5
2	RÉSZTVEVŐK	6
3	TÉMÁK / TÉMAVEZETŐK / DIÁKOK	8
4	PROGRAM	10
5	MINISZIMPÓZIUM	13
6	LABORMUNKÁBAN	14
7	DOLGOZATOK	
	Cseh Domonkos és Nagy Antónia: Tervezzünk és építsünk kristályokat!	16
	Horváth Réka, Kóczy Ferenc József és Timár Paula: Lumineszcens arany(I)-tartalmú óriásmolekulák	19
	Kis Dávid és Ürmös Miklós: Polimerek – Az óriásmolekulák csodálatos világa	23
	Al-Hag Johanna Iman és Kenyeres Éva: Füstgáz nitrogén-oxid tartalmának csökkentése zeolit katalizátoron	28
	Engel Botond és Veres Eszter Vivien: Az elektrokatalízis alapjai	33
	Somogyi Anett: Fotokatalízis	38
	Fraknói Ádám, Kegyes Dávid-Valentin és Ujvári Kamilla: Liposzómás gyógyszerhordozó rendszerek	43
	Bereczki Kristóf, Dobolyi Zsófia és Horváth Ákos: Gyógyszerrezisztenciát okozó fehérjék vizsgálata	48
	Harcza-Pintér Noémi, Márka Emese és Voloncs-Mindszenty Lili: Egy ritka genetikai betegség (PXE) egér modellje	53
	Kocsa János és Kozma Csaba: Ugráló gének	57
	Nyilas Tamás és Vizkeleti Péter: Az ERD14 rendezetlen fehérje RNS kötésének vizsgálata	61
8	HOZZÁJÁRULÁSOK	65
9	TÁBORI ÉLET KÉPEKBEN	66

ELŐSZÓ



A kutatótáborokkal az a célunk, hogy a résztvevő középiskolások egy-egy projekttel alaposabban foglalkozva bekapcsolódhassanak a kutatóközpontunkban folyó szakmai munkába. Az általunk felkínált kutatási témák közül kiválaszthatják a számukra legérdekesebbet, amin azután egy héten keresztül dolgozhatnak.

A programot úgy állítottuk össze, hogy a fenti elsődleges cél mellett a diákok megismerhessék, milyen más kutatások folynak még a kutatóközpontban. Első és második nap végigvezettük őket több laboratóriumon, ahol a témavezetők bemutatták a laboratóriumi berendezéseket és néhány érdekes kutatási projektet. Szerettünk volna képet nyújtani a fiataloknak arról is, hogy milyen a kutatók élete. Láthatták őket a laborban kísérletezni, eredményeket kiértékelni és értelmezni. A munkaidő utáni közös játék, focizás és kosarazás közben vagy kiránduláskor az is kiderült, hogy a laboron kívül a kutatók ugyanolyan emberek, mint bárki más. Lehetett velük beszélgetni, viccelődni, nevetgélni. A szabadidős programokon nagy számban vettek részt ma már egyetemista, régi kutatótáborozók is. Tőlük sok érdekességet meg lehetett tudni az egyetemekről, ami nagy segítség a pályaválasztás előtt álló középiskolásoknak.

A kutatótábor hetével nem zárult le a diákok munkája, hiszen otthoni munkában összegyűjtötték és lejegyezték a tapasztalataikat. A diákok dolgozatait a jelen krónikába szerkesztettük, amelynek olvasásához élvezetes időtöltést kívánok.

Dr. Tompos András
igazgató



1 A KILENCEDIK KUTATÓTÁBOR UTÁN



Kunfuciusz, ókori kínai filozófus bölcsességei közül az egyik így szól: “Hallom – elfelejtem. Látom – emlékszem. Csinálom – megértem.”

Kilenc évvel ezelőtt, amikor meghatároztuk a kutatótábor kereteit, megterveztük, hogy milyen módon történjen a tehetséggondozás, miképpen adjuk át ismereteinket, a fenti bölcsességből és korunk oktatási szakembereinek megállapításaiból indultunk ki. Ezekből tudjuk, hogy a tanulási folyamat akkor a leghatékonyabb, ha az információ átvétele nemcsak olvasás, hallás, látás útján történik, hanem gyakorlati tapasztalással is párosul. Tapasztalás útján könnyebb kémiát és biológiát tanulni, különösen, ha a kísérletezéshez vegyszerekkel, modern műszerekkel és berendezésekkel felszerelt laboratóriumok állnak rendelkezésre, és a szakma jó ismerője, kutatók segítik a tanulni vágyó ifjakat. Ismert, hogy a tanulás különösen hatékony, ha team-munkában, folyamatos interakcióban valósul meg, ezért a mi kutatási témáinkon két-három diákból és két-három témavezetőből álló kis csoportok dolgoztak. A kutatótábor témaspektruma az évek során fokozatosan bővült. Az első évben még csupán anyagkémiai és környezetkémiai témák közül választhattak a diákok, majd a kutatóközpont más intézeteinek csatlakozásával egyre több szerves kémiai majd biokémiai és biológiai téma került a palettára. Az évről-évre megújuló témaválaszték eredményeképpen az elmúlt kilenc évben összesen mintegy száz projekten dolgoztak a diákok. A témák, a témavezetőket és a résztvevő diákokat nagy száma lassan statisztikai kiértékeléseket tesz lehetővé, de ezzel megvárjuk a 2018. évi, tizedik kutatótábort.

A kilencedik táborban a kémia és a biológia nagyon különböző területeivel foglalkozhattak a diákok. A művelt témákról áttekintést a diákok zárónapi miniszimpóziumon tartott előadásai-ból kaphattunk. A miniszimpóziumon a diákok két szekcióban, anyagkémiai és biokémia szekcióban mutatták be a tanultakat. Az anyagkémiai szekcióban hat előadás hangzott el. A kutatóközpont Műszercentrumához tartozó csoportban egykristályokat állítottak elő, amelyeket azután szilárd fázisú atomi szerkezet meghatározással, egykristály röntgendiffrakció eljárással tanulmányoztak, a Szerves Kémiai Intézet Szupramolekuláris Laboratóriumában pedig UV fény hatására világító arany-tartalmú óriásmolekulákat állítottak elő. Az Anyag- és Környezetkémiai Intézet laboratóriumaiban szerzett tapasztalatokról négy előadásban számoltak be a diákok, az egyik az óriásmolekulák csodálatos világába kalauzolta el a hallgatókat, a továbbiak pedig a vegyész-mérnöki gyakorlatban fontos anyagokkal, katalizátorokkal, azoknak is három különböző fajtájával, elektrokatalizátorokkal, fotokatalizátorokkal és zeolit katalizátorokkal foglalkoztak. A biokémia szekció előadásai közül az elsőben még az anyagkémia területén maradtunk, liposzómás gyógyszerhordozó rendszerekről hallhattunk, majd az Enzimológiai Intézet négy projektjének eredményeit mutatták be a diákok, amelyek gyógyszerrezisztenciát okozó fehérjékről, fehérjék RNS kötésének vizsgálatáról, sejtbiológiai kutatásokról és egy genetikai betegség egér modelljéről szóltak.

Ha szívesen elmélyedne a fenti témákban, kérem, olvassa el a diákok beszámolóit a krónika 7. fejezetében!

Lendvayné dr. Győri Gabriella
szervező

2 RÉSZTVEVŐK



Al-Hag Johanna Iman
Földes Ferenc Gimnázium,
Miskolc



Harcsa-Pintér Noémi
SZTE Gyakorló Gimnázium,
Szeged



Berezki Kristóf
SzTE Gyakorló Gimnázium,
Szeged



Horváth Ákos
Bonyhádi Petőfi Sándor
Evangélikus Gimnázium,
Bonyhád



Cseh Domonkos
Budapesti Piarista Gimnázium,
Budapest



Horváth Réka
ELTE Apáczai Csere János
Gyakorlógimnázium,
Budapest



Dobolyi Zsófia
ELTE Apáczai Csere János
Gyakorlógimnázium,
Budapest



Kegyes Dávid-Valentin
Kölcsey Ferenc Főgimnázium,
Szatmárnémeti, Románia



Engel Botond
Bolyai Farkas Elméleti Líceum,
Marosvásárhely, Románia



Kenyeres Éva
Kalocsai Szent István
Gimnázium,
Kalocsa



Fraknói Ádám
Jedlik Ányos Gimnázium,
Budapest



Kis Dávid
Ciszterci Rend Nagy Lajos
Gimnáziuma,
Pécs



Kóczi Ferenc József
Lehel Vezér Gimnázium,
Jászberény



Timár Paula
Szent István Gimnázium,
Budapest



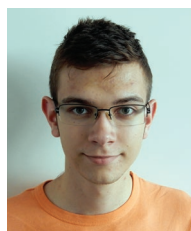
Kocsa János
Keszthelyi Vajda János
Gimnázium,
Keszthely



Ujvári Kamilla
József Attila Gimnázium,
Monor



Kozma Csaba
Bonyhádi Petőfi Sándor
Evangélikus Gimnázium,
Bonyhád



Ürmös Miklós
XVI. Kerületi Szerb Antal
Gimnázium,
Budapest



Márka Emese
Hunter College High School,
New York, NY, USA



Veres Eszter Vivien
Zrínyi Ilona Gimnázium és
Kollégium,
Nyíregyháza



Nagy Antónia
Nagydobronyi Középiskola,
Nagydobrony, Ukrajna



Vizkeleti Péter
ELTE Radnóti Miklós
Gyakorlóiskola,
Budapest



Nyilas Tamás
Egészségügyi Középiskola,
Zenta, Szerbia



Voloncs-Mindszenty Lili
International Christian School
of Budapest,
Diósd



Somogyi Anett
Svetozar Marković Gimnázium,
Szabadka, Szerbia

3 TÉMÁK / TÉMAVEZETŐK / DIÁKOK

A glicerín fotokatalitikus reformálása

Tálas Emília, *PhD, tudományos főmunkatárs*
Szijjártóné Majrik Katalin, *tudományos segédmunkatárs*
Szijjártó Gábor, *PhD, tudományos munkatárs*
Somogyi Anett

Az elektrokatalízis alapjai

Vass Ádám, *tudományos segédmunkatárs*
Bakos István, *PhD, tudományos főmunkatárs*
Engel Botond
Veres Eszter Vivien

Az ERD14 rendezetlen fehérje RNS kötésének vizsgálata

Tantos Ágnes, *PhD, tudományos főmunkatárs*
Murvai Nikoletta, *tudományos segédmunkatárs*
Nyilas Tamás
Vizkeleti Péter

Difenil-amin homo- és kopolimerizációja

Bencskó György, *tudományos segédmunkatárs*
Szabó Ákos, *PhD, tudományos munkatárs*
Kis Dávid
Ürmös Miklós

Egy ritka genetikai betegség (PXE) egér modellje

Dedinszki Dóra, *PhD, tudományos munkatárs*
Kozák Eszter, *PhD hallgató*
Tőkési Natália, *PhD, tudományos munkatárs*
Harcsa-Pintér Noémi
Márka Emese
Voloncs-Mindszenty Lili

Füstgáz nitrogén-oxid tartalmának csökkentése zeolit katalizátoron

Lónyi Ferenc, *PhD, DSc, tudományos tanácsadó*
Solt Hanna, *PhD, tudományos munkatárs*
Al-Hag Johanna Iman
Kenyeres Éva

Gyógyszerrezisztenciát okozó fehérjék vizsgálata

Telbisz Ágnes, *PhD, tudományos munkatárs*

Horváth Tamás, *tudományos segédmunkatárs*

Bereczki Kristóf

Dobolyi Zsófia

Horváth Ákos

Liposzómás gyógyszerhordozó rendszerek

Szigyártó Imola Csilla, *PhD, tudományos munkatárs*

Deák Róbert, *tudományos segédmunkatárs*

Mihály Judith, *PhD, tudományos főmunkatárs*

Fraknói Ádám

Kegyés Dávid-Valentin

Ujvári Kamilla

Lumineszcens arany(I)-tartalmú óriásmolekulák

Baranyai Péter, *PhD, tudományos munkatárs*

Jobbágy Csaba, *tudományos segédmunkatárs*

Horváth Réka

Kóczi Ferenc József

Timár Paula

Tervezzünk és építsünk kristályokat!

May Nóra, *PhD, tudományos főmunkatárs*

Nagyné Bereczki Laura, *PhD, tudományos munkatárs*

Gál Gyula Tamás, *tudományos segédmunkatárs*

Holczbauer Tamás, *PhD, tudományos munkatárs*

Cseh Domonkos

Nagy Antónia

Ugráló gének

Orbán Tamás, *PhD, tudományos főmunkatárs*

Némethy Kornélia, *technikus*

Kocsa János

Kozma Csaba

4 PROGRAM



Június 25., vasárnap

- 15:00 – 17:00 Diákok érkezése a kollégiumba
- 17:00 – 19:00 A táborral kapcsolatos megbeszélés, vacsora
- 19:00 – 21:00 Játékos ismerkedés



Június 26., hétfő

- 8:45 Gyülekező az MTA TTK portájánál
- 9:00 Kutatótábor megnyitó
Köszöntő: Dr. Pokol György professzor, főigazgató
Ismeretterjesztő előadás: Dr. Deák Andrea:
„Itt minden arany, ami fénylik!”
- 9:45 Csoportkép
- 10:00 Balesetvédelmi oktatás
- 10:45 Laborlátogatások
- 12:15 Ebéd
- 13:10 Munka a laborokban
- 16:50 Gyülekező a portán, séta az ELTE és a BME kampuszán, hajókirándulás
- 19:00 Érkezés a kollégiumhoz, vacsora
- 20:00 Volt kutatótáborozók látogatása: Janzó Péter beszámolója a BME VBK képzési rendszeréről és a Szent-Györgyi Szakkollégiumról



Június 27., kedd

- 9:00 Gyülekező a TTK portájánál
- 9:10 Laborlátogatások
- 10:30 Munka a laborokban (közben ebéd)
- 15:50 Gyülekező a portánál, kirándulás a János-hegyre
- 20:00 Érkezés a kollégiumhoz, vacsora
- 21:00 Volt kutatótáborozók látogatása: Pusztai Árpád mesél az ELTE Eötvös Collegiumról





Június 28., szerda

- 9:00 Munka a laborokban (közben ebéd)
- 16:50 Gyülekező a portánál, utazás a kollégiumhoz
- 18:00 – 20:00 Diákok-Témavezetők foci- és kosármecss a kollégium sportpályáján
- 20:30 Vacsora
- 21:30 Volt kutatótáborozók látogatása: Sütő Péter élménybeszámolója a Kémia Olimpiáról

Július 29., csütörtök

- 9:00 Munka a laborokban (közben ebéd)
- 16:50 Gyülekező a portánál, utazás a kollégiumhoz
- 18:45 – 20:00 Társasjáték: „Kémikusok más szerepben”.
Játékvezető: Dr. Paszternák András
- 20:30 Vacsora
- 21:00 Volt kutatótáborozók látogatása: Csorba Benjámint mesél az ELTE TTK kémia képzésről és az ELTE Bolyai szakkollégiumról.

Június 30., péntek

- 9:00 Munka a laborokban (közben ebéd)
- 13:00 „AKI kíváncsi kémikus” Miniszimpóziúm a Diákok előadásaival
- 16:00 A kutatótábort Dr. Pokol György főigazgató zárja
- 16:30 Fogadás a jelenlegi és volt kutatótáborozók, témavezetőik és vendégeink részére
- 17:30 Távozás a kutatóközpontból a kollégiumba
- 20:00 – 22:00 Esti séta a Várban

Július 1., szombat

- 11:00-ig Diákok távozás a kollégiumból





NITROGÉN-OXID EMISSZÓ ÉS KÁROS HATÁSAI

Tulajdonképpen az egyik legfontosabb szennyezőanyag a levegőben.

Források:

- Szerves anyagok
- Sztratoszférában az ózon bomlásából a troposzférában az ózon képződésével segítik elő
- Fűtési melléktermék
- Építkezési károsok
- Hozzájárulnak a globális felmelegedéshez

Előfordulás:

- Szerves anyagok: 10%
- Sztratoszféra: 27%
- Fűtés: 4%
- Közlekedés: 4%
- Összesen: 45%

A kurkuminos liposzóma előállítás

• PBS-pufferrel való feloldás

• Fenyvesolajjal megemulgezés és szűrés

• Vízforrási pufferbe

• Zavaros emulzió

mta ttk

Az elektro-kémia alapfogalmai

Az elektro-kémia a fizikai kémia egyik ága, az elektromos áram hatására bekövetkező kémiai változásokkal foglalkozik illetve a kémiai reakciókat kísérő elektromos jelenségekkel.

Gyógyszerrezisztencia

• A szervezetben nagyon sokféle kórokozó (patogén) juthat be a vírusok, a baktériumok és az eukarióták. A szervezetbe jutva ezeknek a kórokozóknak a túlélés érdekében a legfontosabb célja az, hogy elkerüljék a szervezet immunrendszerét, vagy megakadályozzák az immunrendszer működését. Ha a kórokozó a kezelési ideig tartóan képesek, akkor általában úgy változtatnak saját szerkezetüket (mutációkat alakítanak ki), hogy ne hasson rájuk a gyógyszer. A rezisztencia kialakulásakor az adott gyógyszer (vagy gyógyszer-csoport) elveszti azt a képességét, hogy megakadályozza a kórokozó szaporodását. Ennek eredményeként idővel a teljes hatástalansá válik.



Eszközök

Figyelem! Biztonság! Egyértelműen jelölés nélküli az ábrák.

A fotokatalitikus reakciók kivételése

• A fotokatalitikus reakciók során a fény hatására a katalizátor elektronjai gerjesztődnek, és a gerjesztett állapotban képesek a szennyezőanyagok oxidálására.

• A fotokatalitikus reakciók során a fény hatására a katalizátor elektronjai gerjesztődnek, és a gerjesztett állapotban képesek a szennyezőanyagok oxidálására.

ABC66 fejeje

• ATP-binding cassette (ABC) transzporterek felépítése

• ABC66 tartozik az ABC transzporterek családjához, amely a transzmembrán glikoprotein rendszert alkotja. A ABC66 a membránban helyezkedik el, és a membránban található transzporterek egyike.

Aranyvegyületek

• Aurofil kölcsönhatás

[Au+]



Transzpozonok= „Ugráló gének”

• Mobilis genetikai elemek

• Tipusok: DNS transzpozonok, retrotranszpozonok

• Működésük: A DNS transzpozonok a DNS kópiát készítenek, majd ezt a kópiát a célhelyre szállítják. A retrotranszpozonok a kópiát az RNA útján szállítják a célhelyre.

Mik azok a polimerek?

A polimerek hosszú, monomerekből (egyszerű molekulákból) álló szerves óriásmolekulák. A polimerizáció az a folyamat, melynek következtében a monomerek polimerekké kapcsolódnak össze. Ez a folyamat iniciátor hatására indul be, majd láncreakcióként folytatódik.

A polimerizációnak különböző fajtái vannak pl.: gyökös, kationos, anionos, koordinációs, stb... Ezek azt határozzák meg, hogy milyen mechanizmussal kötődnek össze a monomerek.

mta ttk

BAKTÉRIUMSEJT TRANSZFORMÁLÁSA

• Plazmid bevezetés

• A baktériumsejtbe a plazmid bevezetését követően a baktérium képes lesz a plazmid kódolt fehérjéit előállítani.

5 MINISZIMPÓZIUM

Helyszín: MTA TTK Kutatóház földszinti előadóterem,
Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

Időpont: 2017. június 30. 13:00 – 16:20

13:00 – 13:05

A miniszimpóziумot megnyitja:
Pokol György, professzor, főigazgató,
MTA Természettudományi Kutatóközpont

13:05 – 14:25

Anyagkémia szekció
vezeti: **Demeter Attila** tudományos tanácsadó

13:05 – 13:15

Cseh Domonkos és Nagy Antónia:
Tervezzünk és építsünk kristályokat!

13:18 – 13:33

Horváth Réka, Kóczy Ferenc József és Timár Paula:
Lumineszcens arany(I)-tartalmú óriásmolekulák

13:36 – 13:46

Kis Dávid és Ürmös Miklós:
Polimerek – Az óriásmolekulák csodálatos világa

13:49 – 13:59

Al-Hag Johanna Iman és Kenyeres Éva:
Füstgáz nitrogén-oxid tartalmának csökkentése zeolit katalizátoron

14:02 – 14:12

Engel Botond és Veres Eszter Vivien:
Az elektrokatalízis alapjai

14:15 – 14:22

Somogyi Anett:
Fotokatalízis

14:25 – 14:35

Frissítő szünet

14:35 – 15:55

Biokémia szekció
vezeti: **Orbán Tamás** tudományos főmunkatárs

14:35 – 14:50

Fraknoi Ádám, Kegyes Dávid-Valentin és Ujvári Kamilla:
Liposzómás gyógyszerhordozó rendszerek

14:53 – 15:08

Bereczki Kristóf, Dobolyi Zsófia és Horváth Ákos:
Gyógyszerrezisztenciát okozó fehérjék vizsgálata

15:11 – 15:26

Harcza-Pintér Noémi, Márka Emese és Voloncs-Mindszenty Lili:
Egy ritka genetikai betegség (PXE) egér modellje

15:29 – 15:39

Kocsa János és Kozma Csaba:
„Ugráló gének” használata a sejtbiológiai kutatásokban

15:42 – 15:52

Nyilas Tamás és Vizkeleti Péter:
Fehérjék RNS kötésének vizsgálata

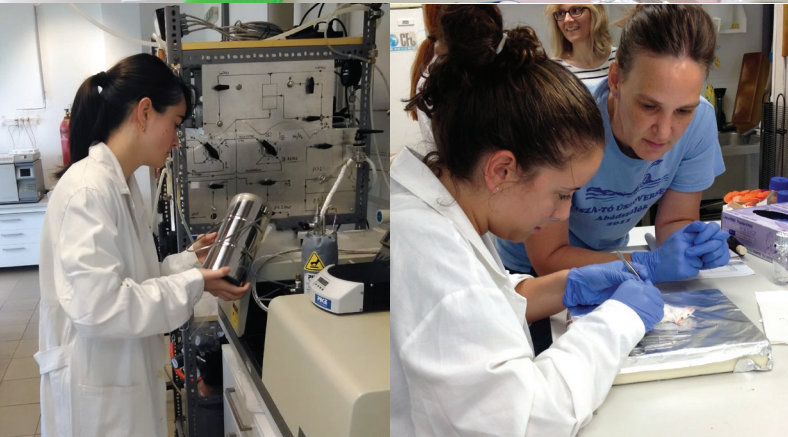
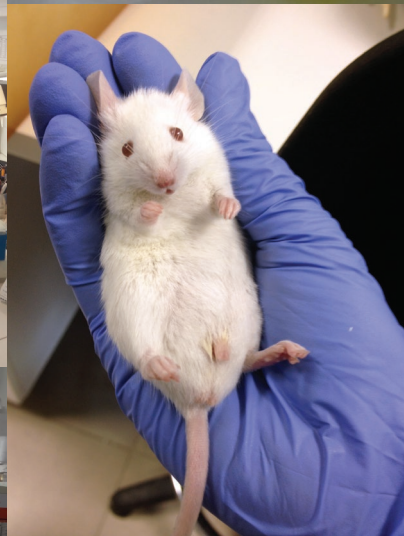
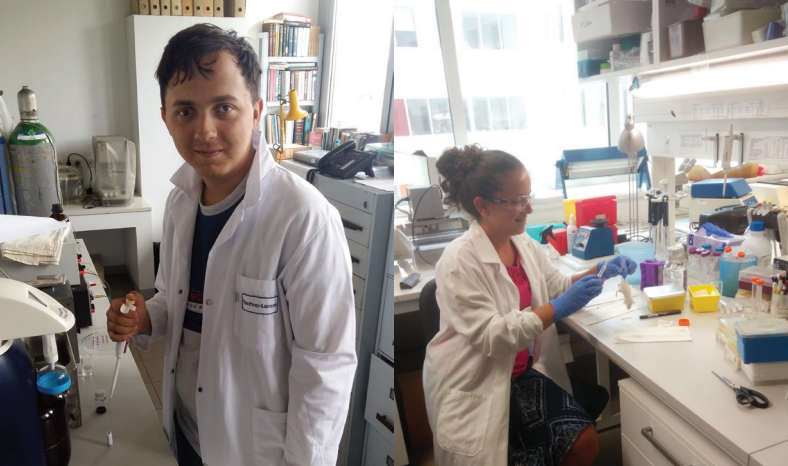
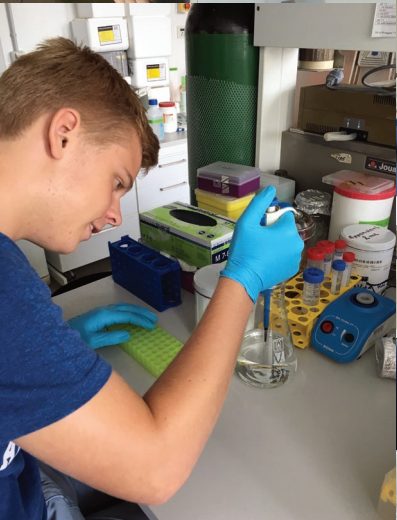
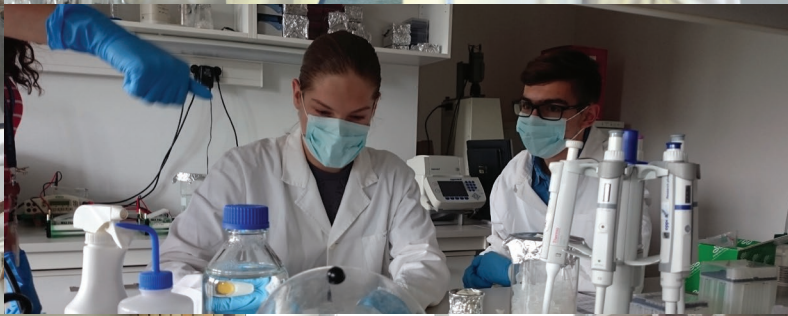
15:55 – 16:20

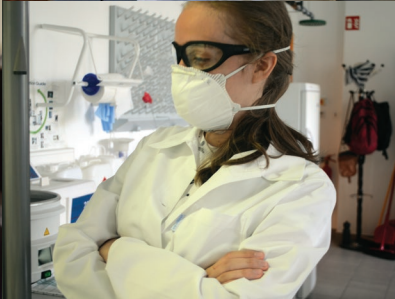
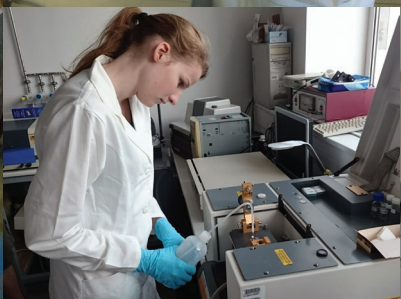
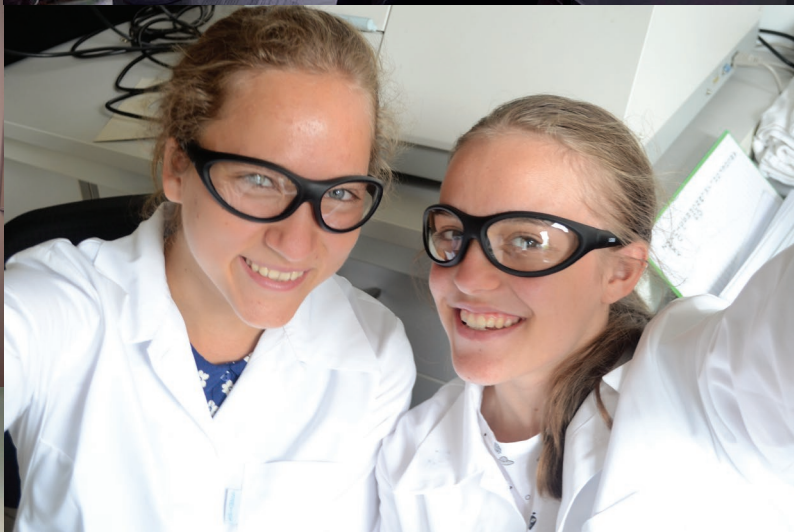
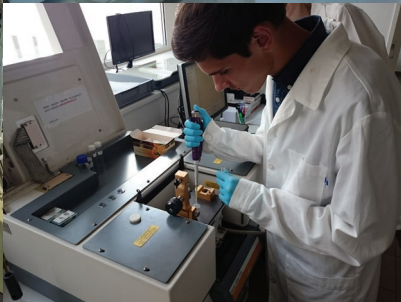
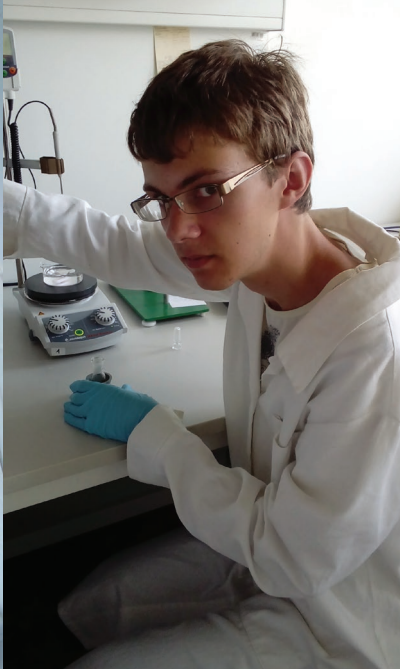
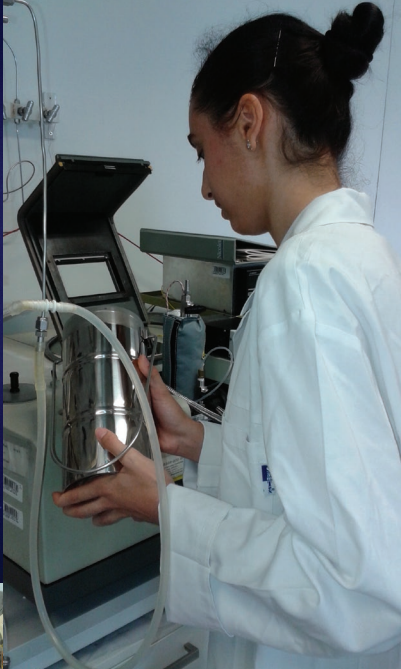
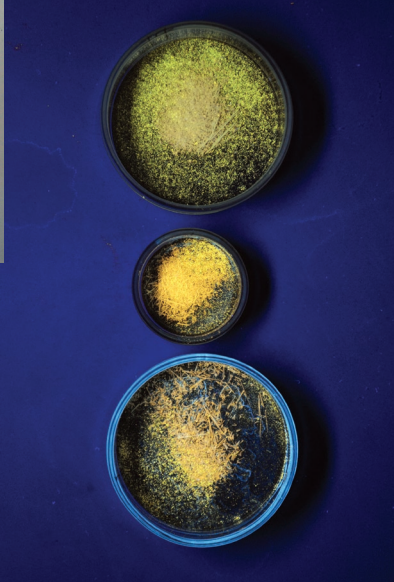
Zárás és értékelés: **Pokol György** főigazgató,
MTA Természettudományi Kutatóközpont

16:20 – 17:00

*Büfé a volt és jelenlegi kutatótáborozó Diákok, Témavezetők és
Vendégeink részére*

6 LABORMUNKÁBAN





7 DOLGOZATOK

Tervezzünk és építsünk kristályokat!

Cseh Domonkos

Budapesti Piarista Gimnázium

Nagy Antónia

Nagydobronyi Középiskola, Ukrajna



Témavezetők:

**Dr. May Nóra, Nagyné Dr. Bereczki Laura,
Gál Gyula Tamás, Dr. Holczbauer Tamás**

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Műszercentrum

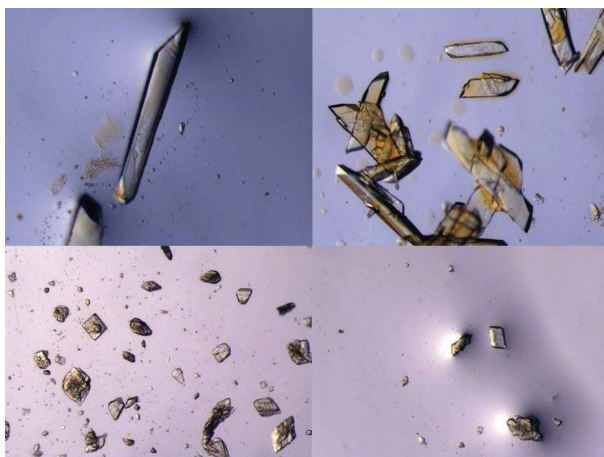
Az „AKI Kíváncsi Kémikus” kutatótáborban, amelyet az MTA Természettudományi Kutatóközpont rendezett meg 2017. júniusában, a „Tervezzünk és építsünk kristályokat” témában dolgozhattunk témavezetőink, May Nóra, Nagyné Bereczki Laura, Gál Gyula Tamás, Holczbauer Tamás segítségével. Ezúton is köszönjük nekik a tanítást és munkánk irányítását. A kristályok növesztése és röntgendiffrakciós vizsgálata mindkettőnknek új téma volt a kémia világában.

A kémiai anyagok egyik szerkezet meghatározási módszere, amivel mi is foglalkoztunk, a röntgendiffrakciós analízis. A mérés az elektromágneses hullámnak a kristályrács atomjain történő szóródásán alapszik. A röntgensugarakat egy úgynevezett kollimátoron átvezetve fókuszálják. A fókuszált sugarak a kristályon szóródva pár perc alatt szórási képet hoznak létre. Az anyagok törésmutatója röntgensugárzás esetén egyhez közele. A röntgensugarak közel 97-98%-a a kristályon áthalad, a maradék pár százaléknyi sugárzás kellő mennyiségű adatot biztosít a kristályszerkezet elemzéséhez. A szórt sugarak által létrehozott reflexiós képből egy matematikai módszerrel következtetéseket lehet levonni a kristályt felépítő atomok minőségére és

az atomok elhelyezkedésére. A kristály háromdimenziós feltérképezéséhez több irányból is le kell fényképeznünk” azt, így egy teljes mérés sok-sok órát vesz igénybe.

Az eredményes méréshez jó minőségű egykristályra van szükség. Egy egykristály növesztése sokszor a munkafolyamat legkritikusabb része. A vizsgálatra kiválasztott porszerű anyagot oldószerben feloldva, majd az oldószert lassan elpárologtatva kaphatunk a mérésre is alkalmas egykristályokat. A méréshez szükséges egykristálynak a lehető legkevesebb rácshibával kell rendelkeznie, és a méretének is megfelelően nagynek kell lennie. Az egykristályra jellemző nagyfokú rendezettség elengedhetetlen a megfelelő szórási kép kialakulásához.

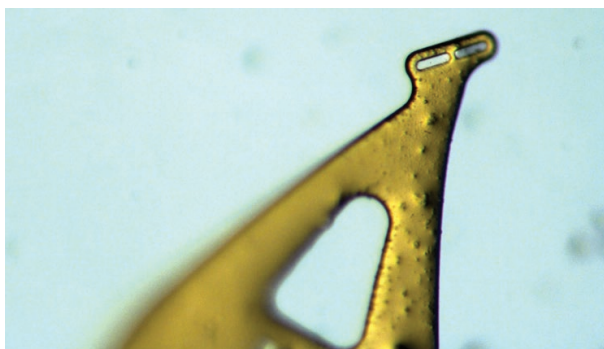
A munkánk azzal kezdődött, hogy drotaverin-hidroklorid só, vagyis No-Spát különböző oldószerekből kristályosítottunk ki. Összesen 11 oldószert próbáltunk ki különböző technikákkal, például az oldat melegítése/hűtése, oldószert elpárolgatása, oldószergőz diffúzió, hőmérséklet gradiens módszerével, hogy minél szebb egykristályokat kapjunk. Két esetben kaptunk szép kristályokat, amikor is a THF (tetrahidrofurán) és a *terc*-butanol oldószereket használtuk.



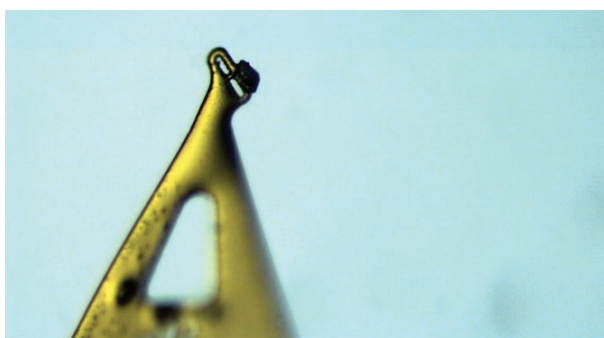
1. ábra Az előállított kristályok mikroszkópos felvételei

A kapott kristályokból mikroszkóp alatt (1. ábra) megpróbáltuk kiválasztani a ránézésre legalkalmasabb kristályokat, amelyekről úgy gondoltuk, megfelelőek az egykristály röntgen diffrakciós vizsgálatához. Ez azért volt nehéz, mert szemmel nem tudjuk pontosan kiválasztani, melyek az egykristályok, ezért többet is leteszteltünk, hogy megtaláljuk azt, amelyet végül is meg tudtunk vizsgálni. Mérésre egy *terc*-butanolból előállított kristályt választottunk ki.

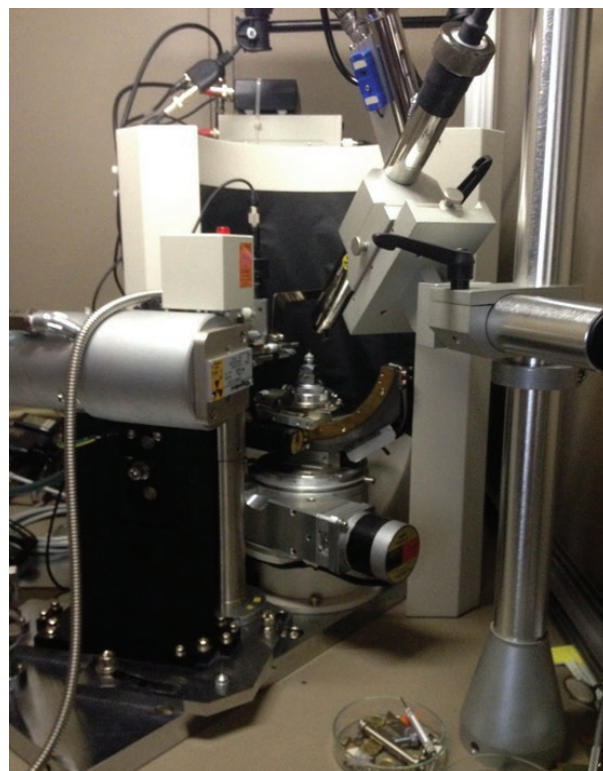
A fénymikroszkóp alatt polárszűrő használatával választottuk ki a kristályt, majd helyeztük a loopra (2. és 3. ábra), és a looppal együtt tettük



2. ábra Loop, amelyre a kristályt helyezük

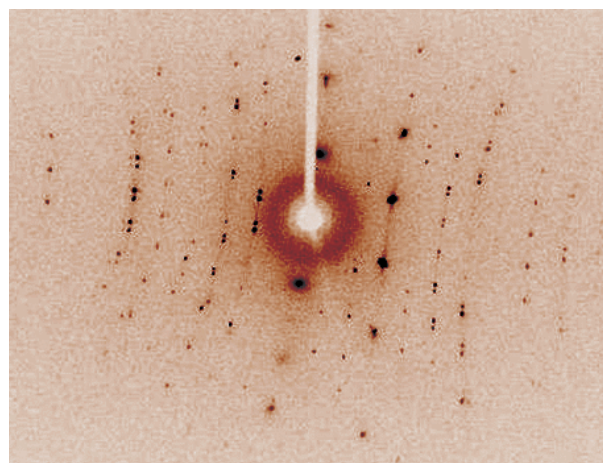


3. ábra Loop, rajta a kristállyal

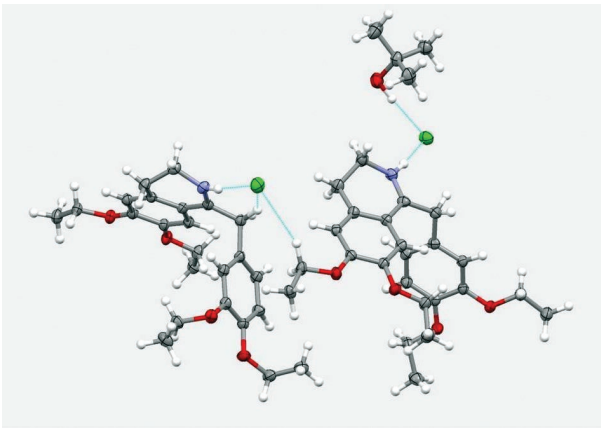


4. ábra Rigaku RAxis RapidII-diffraktométer

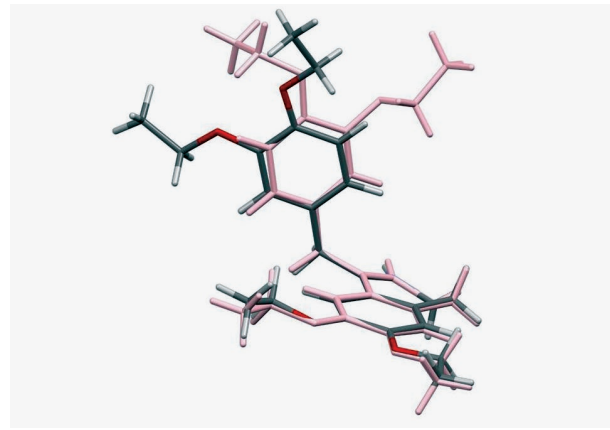
a diffraktométerbe (4. ábra). A mérés rendkívül jól sikerült, és a kapott szórási kép is elfogadható minőségű volt (5. ábra). Szerencsére az így kapott nagy mennyiségű adatot nem nekünk kellett elemezni, hanem ezt egy számítógépes program segítségével végeztük el. A gyűjtött információkból (a reflexiók helye és erőssége) már egyértelműen meg lehetett állapítani a vizsgált anyag térszerkezetét. A röntgendiffrakciós mérés eredményeképp meghatároztuk az anyag összetételén, az atomok kapcsolódási sorrendjén és térbeli elhelyezkedésén kívül a kötések minőségét, valamint hosszát is. Az elemi cella a kristály azon legkisebb egysége,



5. ábra Jó minőségű szórási kép



6. ábra A kristály aszimmetrikus egysége az atomok elmozdulását jellemző ellipszisek ábrázolásával

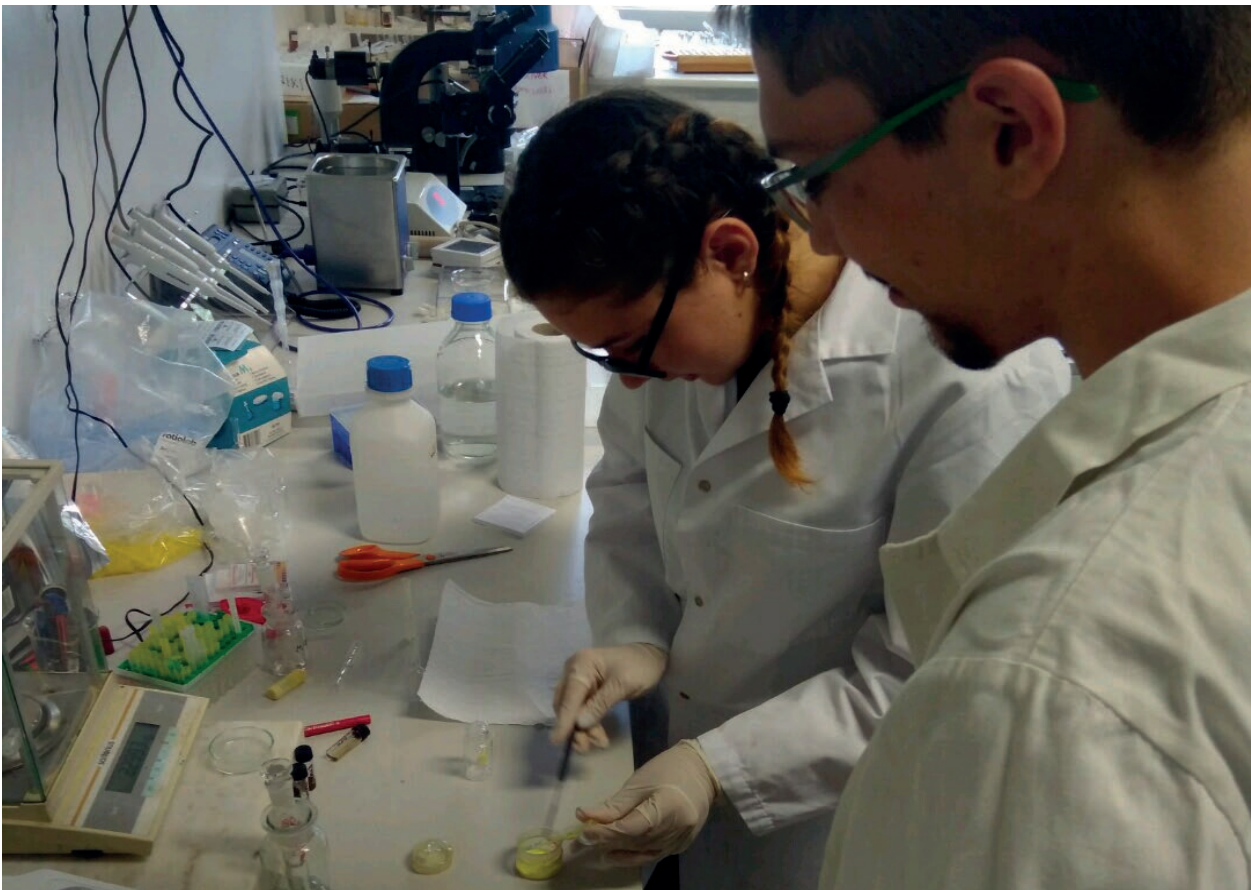


7. ábra Az aszimmetrikus egységben lévő két dro-taverin molekula geometriájának összehasonlítása

amelyből a tér három tengelyének irányába való eltolással az egész kristályt fel lehet építeni. Ezzel összefüggésben az elemi cellák sorozatos ismétlődése adja a kristályoknak a makroszkopikus felépítését, szimmetriáját, amit szabad szemmel is megcsodálhatunk.

A kiértékelés eredményeként megkaptuk az elemi cella paramétereit: $a = 12.3203(3)\text{Å}$, $b = 14.1287(4)\text{Å}$, $c = 16.0231(4)\text{Å}$ élhosszak és $\alpha = 79.9882(8)^\circ$, $\beta = 88.6538(8)^\circ$, $\gamma = 69.1553(9)^\circ$ szögek, ahol a számértékek után zárójelben az utolsó jegy szórása

szerepel. Meghatároztuk továbbá a kristályt felépítő molekulák térszerkezetét és elhelyezkedését, amit a 6. ábra mutat. A dro-taverin molekulák pozitív töltését egy-egy Cl^- ion kompenzálja, valamint aszimmetrikus egységként egy *t*-butanol oldószert is megtalálhat a kristályban. Az aszimmetrikus egység az elemi cella azon része, amely szimmetria műveletet nem tartalmaz. Az aszimmetrikus egységben lévő két molekula tehát olyan eltérő konformációt vesz fel, amelyek nem hozhatók egymással fedésbe, ezt szemlélteti a 7. ábra.



Lumineszcens arany(I)-tartalmú óriásmolekulák vizsgálata

Horváth Réka

ELTE Apáczai Csere János Gyakorlógimnázium, Budapest

Kóczy Ferenc József

Lehel Vezér Gimnázium, Jászberény

Timár Paula

Szent István Gimnázium, Budapest



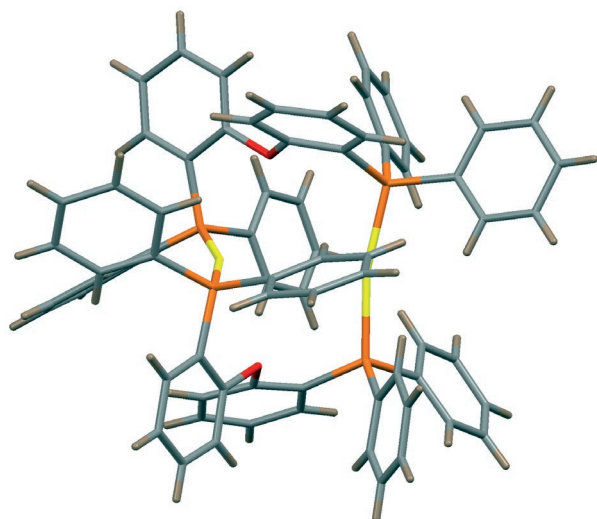
émavezetők:

Jobbágy Csaba, Dr. Baranyai Péter

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémiai Intézet

Bevezetés

A IX. AKI Kíváncsi Kémikus kutatótábor ideje alatt csapatunk lumineszcens arany(I)-tartalmú óriásmolekulákat vizsgálhatott egy héten át az MTA Természettudományi Kutatóközpont Szerves Kémiai Intézetének Szupramolekuláris Kémiai Kutatócsoportjában. A szupramolekuláris kémia



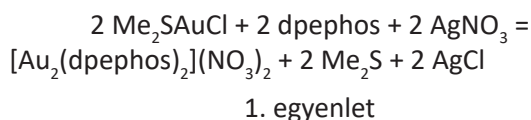
1. ábra: Az $[\text{Au}_2(\text{dpephos})_2]^{2+}$ óriásmolekula térszerkezete. Jelölések: szén, szürke; hidrogén, világos barna; foszfor, narancssárga; arany, sárga; oxigén, piros.

egy még mindig fiatal területe a kémiának, amely a „molekulákon túli” rendszerek, azaz két vagy több molekulaegység alapvetően intermolekulás kölcsönhatásokon alapuló önszerveződésének jelenségét, tulajdonságait és felhasználási lehetőségeit tanulmányozza. A kémia ezen ágának megteremtésében meghatározó szerepet játszott Charles J. Pedersen, Donald J. Cram és Jean-Marie Lehn, akik 1987-ben elnyerték a kémiai Nobel-díjat. Az arany(I)-tartalmú szupramolekulák nagy részében az arany atomok között kialakul egy intra- vagy intermolekuláris kapcsolat, az úgynevezett aurofil kölcsönhatás. Az aurofil kölcsönhatás fogalmát Hubert Schmidbaur vezette be 1988-ban, és olyan kölcsönhatásokra értelmezhető, amelyekben az arany(I)-atomok távolsága kisebb, mint az atomok Van der Waals-sugarainak összege, általában 2.7–3.5 Å. Ez egy, a hidrogénkötéshez hasonló erősségű (29–50 kJ/mol) intra- vagy intermolekulás kölcsönhatás, amely különleges molekulaszervezeteket hozhat létre.

A laboratóriumi munka során a célunk kiinduló vegyületeként az $[\text{Au}_2(\text{dpephos})_2](\text{NO}_3)_2$ (arany-dpephos-nitrát) komplex előállítását, majd ebből ioncseres reakcióval az $[\text{Au}_2(\text{dpephos})_2](\text{BF}_4)_2$ (arany-dpephos-tetrafluoroborát) és $[\text{Au}_2(\text{dpephos})_2](\text{PF}_6)_2$ (arany-dpephos-hexafluorofoszfát)

komplexek létrehozása és szilárdfázisú lumineszcens tulajdonságaik vizsgálata. Ezeknek a szupramolekuláknak a kationos vázát alkotó $[\text{Au}_2(\text{dpephos})_2]^{2+}$ óriásmolekula az 1. ábrán látható.

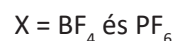
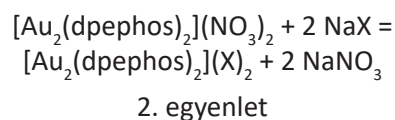
Az arany-dpephos-nitrátot dimetil-szulfid-arany(I)-klorid, dpephos (bis[2-(difenilfoszfino)fenil]éter) ligandum és ezüst-nitrát reakciójával állítottuk elő (1. egyenlet).



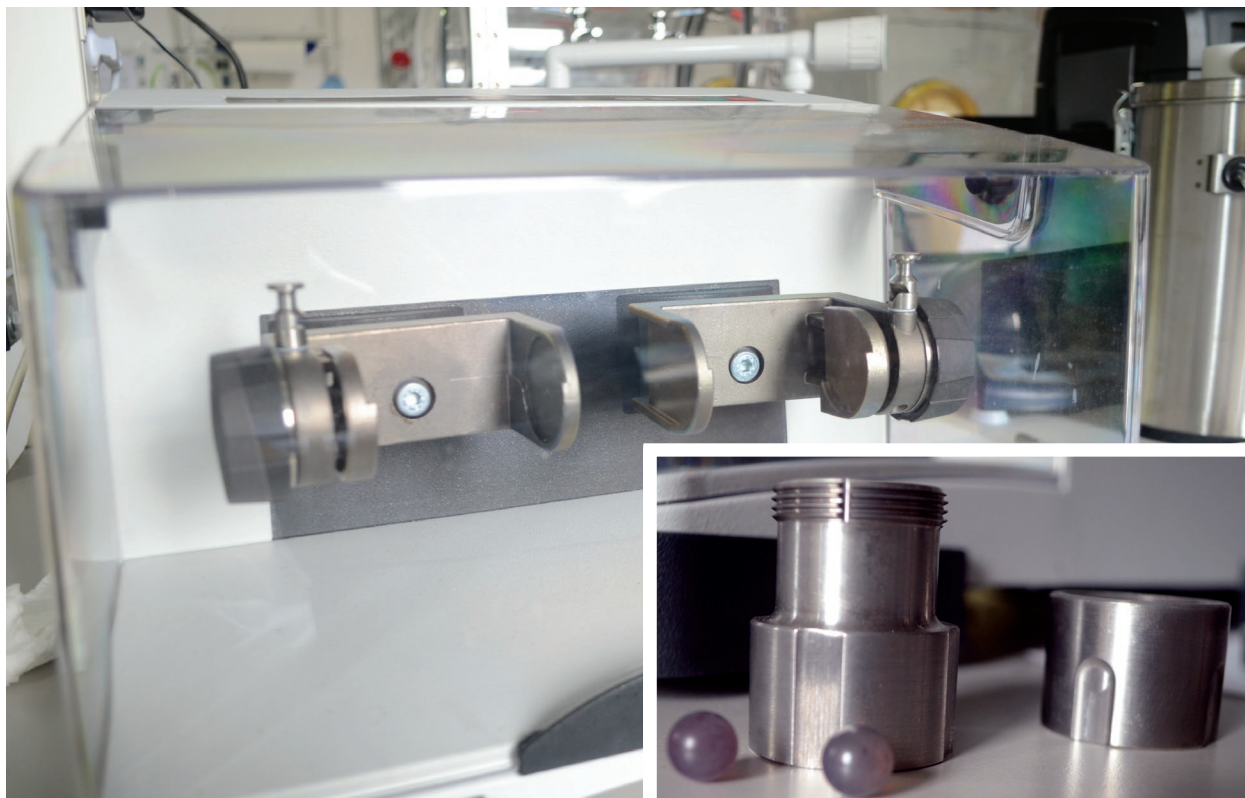
A reaktánsok oldatfázisú reakciója sok időt venne igénybe, ezért az arany-dpephos-nitrát óriásmolekulát szilárdfázisú mechanokémiai szintézissel, a 2. ábrán látható golyósmalom segítségével állítottuk elő.

A dimetil-szulfid-arany(I)-kloridot és a dpephos ligandumot tízmilliliteres achát tégelybe töltöttük, két csepp diklórmetánt adtunk hozzá, és ezután 5 percig őröltük a golyósmalomban. Ebben a lépésben a dimetil-szulfid eltávozott a rendszerből, és a visszamaradó arany(I)-klorid a dpephos

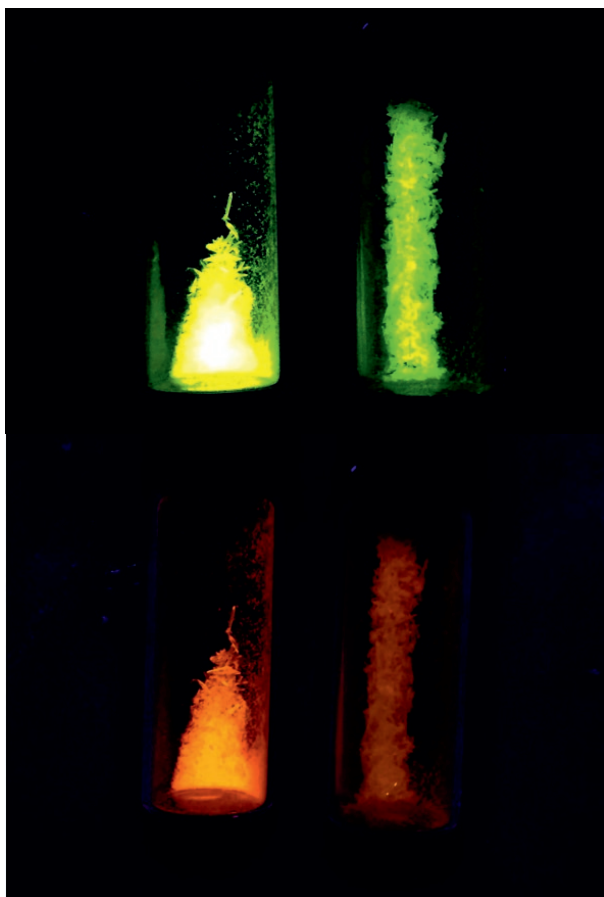
ligandum foszforatomjaihoz koordinálódott. Ezt követően kinyitottuk az őrledényt, és a keverékhez hozzáadtuk az ezüst-nitrátot és még két csepp diklórmetánt. Ezután további öt percig őröltük a keveréket. Az ezüst-nitráttal az aranyhoz koordinálódó klorid-ionokat nem koordinálódó nitrát-ionokra cseréltük, és így egy másik dpephos ligandum koordinálódhatott az arany atomokhoz. Ezt követően a tégelyből kikapartuk a kapott anyagot, diklórmetánban feloldottuk, és mágneses keverőn kevertettük. Az ezüst-klorid csapadékot és a szennyeződésekkel Celite segítségével, szűréssel távolítottuk el. Az arany-dpephos-nitrátot kikristályosítottuk, és szilárdfázisú anioncsere reakcióval előállítottuk belőle az $[\text{Au}_2(\text{dpephos})_2](\text{BF}_4)_2$ és az $[\text{Au}_2(\text{dpephos})_2](\text{PF}_6)_2$ komplexeket (2. egyenlet).



Az $[\text{Au}_2(\text{dpephos})_2](\text{NO}_3)_2$ komplex kristályait az őrledénybe tettük, és hozzáadtuk a NaX (X = BF_4 , PF_6) sókat. A reaktánsokhoz 2 csepp diklórmetánt



3. ábra: A mechanokémiai szintézishez használt golyósmalom

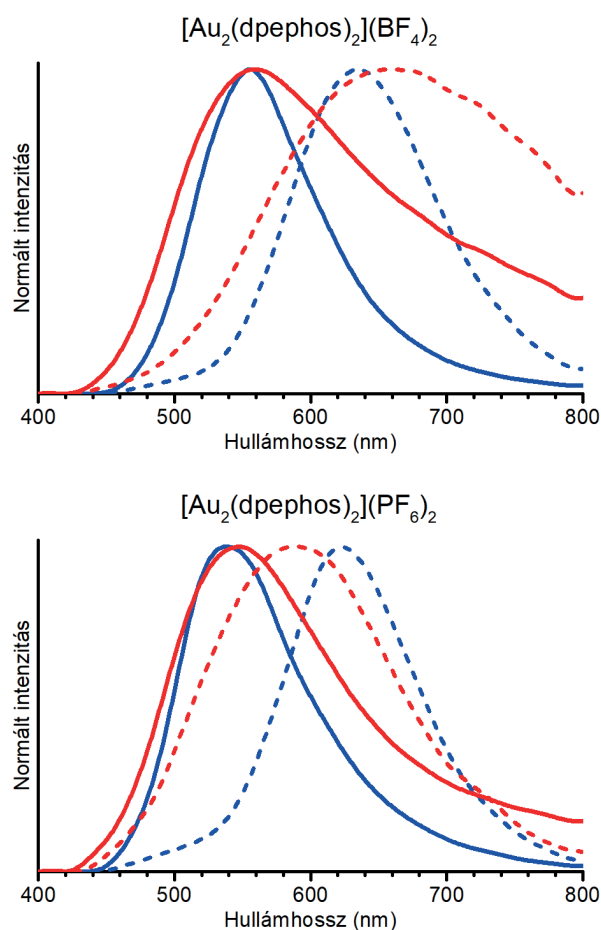


3. ábra: Az $[Au_2(dpephos)_2](BF_4)_2$ (bal oldal) és az $[Au_2(dpephos)_2](PF_6)_2$ (jobb oldal) emissziós színe 365 nm (fent) és 312 nm (lent) hullámhosszú UV fényvel megvilágítva.

adtunk, és 5 percig őröltük a golyósmalomban. A reakció során keletkezett keveréket diklórmetánban kevertettük, és kiszűrtük a nem oldódó $NaNO_3$ -ot. Az anyaooldatra kétszeres mennyiségű dietil-étert rétegeztünk. Az éter rárétegzésével elértük, hogy csökkenjen a komplexünk oldhatósága az anyaooldatban, így másnapra szép kristályok váltak ki a főzőpotharainkban.

A fotolumineszcencia vizsgálata

Az $[Au_2(dpephos)_2](BF_4)_2$ és $[Au_2(dpephos)_2](PF_6)_2$ komplexek kristályait UV fény alá helyeztük, így szabad szemmel is láthattuk az emissziós színeiket. Azt tapasztaltuk, hogy a komplexek emissziós színe megváltozik, ha megváltoztatjuk a gerjesztő fény hullámhosszát, ami különleges jelenség, ugyanis a fotolumineszcens vegyületek általában eltérő hullámhosszú gerjesztés hatására ugyanolyan hullámhosszú fényt emittálnak. Erre az eltérésre

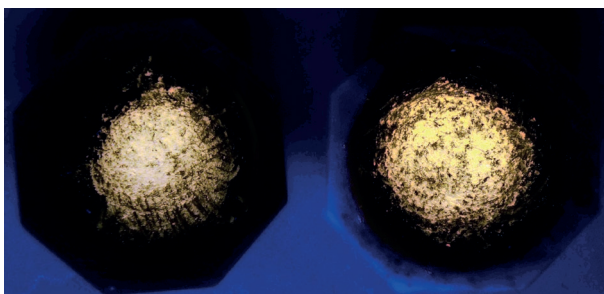


4. ábra: Az $[Au_2(dpephos)_2](BF_4)_2$ és az $[Au_2(dpephos)_2](PF_6)_2$ komplexek alacsony (kék), illetve szobahőmérsékleten (piros), 365 (folytonos) és 312 nm (szaggatott) gerjesztési hullámhosszon mért emissziós spektrumai.

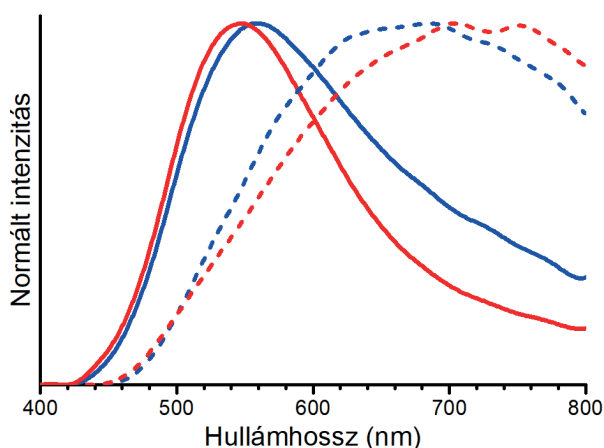
magyarázatként szolgálhat, hogy a gerjesztés során ezeknek a komplexeknek a szerkezete is megváltozik, aminek mértéke függhet a besugárzott fény energiájától is.

A 365 nm-es UV lámpa alatt az arany-dpephos-tertafluoroborát sárgászöld, az arany-dpephos-hexafluorofoszfát zöld színnel, míg a 312 nm-es UV lámpa alatt az arany-dpephos-tertafluoroborát narancspiros, az arany-dpephos-hexafluorofoszfát halvány sárgásnarancs színnel világított (3. ábra).

Tapasztalaink alátámasztása céljából megmértük a komplexek fotolumineszcens spektrumát, vagyis a gerjesztés utáni emisszió intenzitását a látható fény hullámhossz értékeinél. A méréseket alacsony- (77 K), illetve szobahőmérsékleten, 312 és 365 nm-es gerjesztési hullámhosszon végeztük el egyik témavezetőnk segítségével egy Hitachi F2500 spektrofotométeren. A felvett emissziós spektrumok (4. ábra) maximuma a szabad szemmel



5. ábra: A mozsárban megőrölt $[Au_2(dpephos)_2](BF_4)_2$ (bal oldal) és az $[Au_2(dpephos)_2](PF_6)_2$ (jobb oldal) emissziós színe 365 nm hullámhosszú UV fényvel megvilágítva.



6. ábra: Az $[Au_2(dpephos)_2](BF_4)_2$ (kék) és az $[Au_2(dpephos)_2](PF_6)_2$ (piros) komplexek 365 nm gerjesztési hullámhosszon mért emissziós spektrumai őrlés előtt (folytonos) és őrlés után (szaggatott).

is látható színek hullámhossz tartományába esett. A szobahőmérsékletű (piros) és az alacsony hőmérsékletű (kék) spektrumokat összehasonlítva látható, hogy hűtés hatására csökken a görbék alatti terület, ami a molekulák rezgésének lassulásával hozható összefüggésbe. A hőmérséklet változás

hatására bekövetkező lumineszcens színváltozást termokróm lumineszcenciának nevezzük.

Az arany-dpephos-tetrafluoroborát és az arany-dpephos-hexafluorofoszfát kristályait mechanikai hatásnak is kitettük, mozsárban mozsártörővel megőröltük, és figyeltük az emissziós színváltozását. Azt tapasztaltuk, hogy a 365 nm UV fény hatására sárgászölden világító $[Au_2(dpephos)_2](BF_4)_2$ és zölden világító $[Au_2(dpephos)_2](PF_6)_2$ az őrlés során fokozatosan vörösre változtatta lumineszcens színét (5. ábra). A mechanikai erő hatására bekövetkező lumineszcens színváltozást mechanokróm lumineszcenciának nevezzük.

Megmértük az őrlött kristályok emissziós spektrumát, és összehasonlítottuk a kiinduló spektrumokkal (6. ábra). Mechanikai erő hatására a spektrumok kiszélesednek, és az emissziós maximumuk a vörös irányba tolódnak el.

Összefoglalás

A kutatótáborban töltött hét folyamán olyan lumineszcens arany(I)-tartalmú óriásmolekulákat állítottunk elő, amelyek fotolumineszcenciáját különböző külső hatásokkal meg tudtuk változtatni. A hét során épp olyan érdekes és színes egyéniségekkel dolgozhattunk együtt, mint maguk az arany-molekulák. Az első naptól kezdve egy hullámhosszon volt a kis csapat és a csoportvezetők, de nem az UV-fény hatására. Ezúton is szeretnénk köszönetet mondani a témavezetőinknek, Dr. Baranyai Péternek és Jobbágy Csabának, a tábor szervezőjének, Gabi néninek és a Természettudományi Kutatóközpontnak, hogy egy élményekben és új tudásban gazdag héttel ajándékoztak meg minket, és így még „kíváncsibbak” lettünk. Reméljük, nem ez volt az utolsó alkalmunk, hogy itt járhattunk.

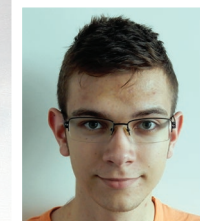
Difenil-amin homo- és kopolimerizációja

Kis Dávid

Ciszterci Rend Nagy Lajos Gimnáziuma, Pécs

Ürmös Miklós

XVI. Kerületi Szerb Antal Gimnázium, Budapest



Témavezetők:

Bencskó György, Dr. Szabó Ákos

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

Az AKI Kíváncsi Kémikus kutatótáborban a méréseinket és kísérleteinket a Polimer Kémiai Kutatócsoportnál végeztük. Témavezetőink Bencskó György és Dr. Szabó Ákos voltak.

A polimerek hosszú, monomerekből (egyszerű molekulákból) álló szerves óriásmolekulák. A polimerizáció az a folyamat, melynek következtében a monomerek polimerekké kapcsolódnak össze. Ez a folyamat iniciátor hatására indul be, majd láncreakcióként folytatódik. A polimerizációnak különböző fajtái vannak pl.: gyökös, kationos, anionos, koordinációs stb.. Ezek azt határozzák meg, hogy milyen mechanizmussal kötődnek össze a monomerek.

A polimereket többek között összetétel szerint tudjuk csoportosítani. Léteznek homopolimerek, amelyek egyfajta monomerekből épülnek fel. Ilyen polimer például a polipropilén. Emellett léteznek a kopolimerek, amelyek többféle monomeregységből állnak. Itt a megkülönböztetés alapja az óriásmole-

kulát alkotó különböző fajta monomerek kapcsolódási sorrendje. Megkülönböztethetünk blokk, random, gradiens és alternáló kopolimereket, de egyéb összetett szerkezetek is elképzelhetők (pl. triblokk terpolimer).

A táborban vezető polimerek előállításával foglalkoztunk (1. ábra). Ezek a polimerek az aromás gyűrűkben található delokalizált elektronoknak köszönhetően képesek az elektromos áram vezetésére. Ezeknek a polimereknek a kutatása meglehetősen aktív kutatási terület, 2000-ben a kémiai Nobel-díjat Alan J. Heeger, Alan G. MacDiarmid és Hideki Shirakawa a vezető polimerekkel kapcsolatos kutatásaikért kapták. Mi a polianilinhez hasonló szerkezetű polimereket állítottunk elő difenil-amin polimerizációja során (2. ábra).

A difenil-amin polimerizációjához 1,006 g difenil-amint feloldottunk 20 ml 3 mólos sósav és 25 ml etanol elegyében. Mágneses keverővel kevertettük, és 0 °C-ra hűtöttük a reakcióelegyet. A kever-



1. ábra: Az előállított vegyületek és színes oldataik.



2. ábra: A difenil-amin szerkezete.

tetés közben hozzáadtunk 1,74 g ammónium-peroxo-diszulfátot. Egy éjszakán át kevertettük az elegyet. A lejátszódó kémiai reakció eredményeként sötétzöld koloid oldat keletkezett. Az oldatot 20 percig 5000 rpm-en centrifugáltuk, majd az oldó-



3. ábra: Az emeraldin só szerkezete.



4. ábra: Szürke színű emeraldin bázis.



5. ábra: Az emeraldin bázis szerkezete.

szert dekantáltuk, és a visszamaradó szilárd anyagot etanol-víz elegyével átmostuk. A maradék anyagot 50 °C-on vákuumos szárítószekrényben szárítottuk. 1,19 g zöld színű por, emeraldin só keletkezett (3. ábra). 0,5 g emeraldin sót feloldottunk 0,5 ml 25%-os ammóniaoldat és 3 ml etanol elegyében. Az elegyet 2 órán keresztül kevertettük, így sötétszürke színű emeraldin bázis keletkezett (4. és 5. ábra). Az emeraldin bázist centrifugáltuk, dekantáltuk, mostuk, szárítottuk. Ebből az emeraldin bázisból 0,146 g-ot feloldottunk 0,63 ml hidrazin-1-hidrátnak. 20 percig nitrogént buborékkoltattunk át az oldaton, majd egy éjszakán keresztül kevertettük. Világosszürke színű leukoemeraldin keletkezett, ami a poli(difenil-amin) legredukáltabb formája (6. és 7. ábra). A leukoemeraldint megpróbáltuk előállítani közvetlenül emeraldin sóból is, az emeraldin bázisos lépés kihagyásával úgy, hogy egyidőben adtuk az emeraldin sóhoz a hidrazint és az ammóniát is. Így tejeskávabarna elegyet kaptunk.

Difenil-amin és anilin kopolimerizációját is elvégeztük. Ennek során 0,70 g difenil-amint és 0,385 g anilint feloldottunk 3 mólos sósav és etanol elegyében. Ammónium-peroxo-diszulfát sósavas oldatát adtuk hozzá, majd egy éjszakán keresztül kevertettük 0 °C-

on. A keletkező sötétzöld színű elegyet centrifugáltuk, dekantáltuk, mostuk és szárítottuk, mindezt az emeraldin só előállításakor alkalmazott módszerekhez hasonlóan. 0,9966 g polimer keletkezett.

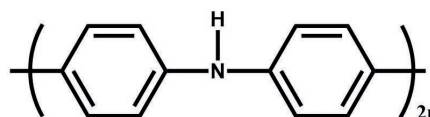
Hasonló módon próbáltuk meg a trifenil-amin és a difenil-amin polimerizációját is abban a reményben, hogy egy térhálós szerkezetű polimert tudjunk létrehozni, de ez a kísérlet sikertelennek bizonyult.

Az előállított anyagok jellemzését is elvégeztük. Ennek érdekében megismerkedtünk az NMR, a GPC, a DSC és az UV spektroszkópia, valamint az impedancia spektroszkópia és ciklikus voltammetria mérésével gyakorlatban és elméletben egyaránt.

A géelpermeációs kromatográfia (GPC) a különböző hosszúságú polimerláncok elválasztásában, az átlagos molekulatömeg és a molekulatömeg-eloszlás meghatározásában segít nekünk. Folyadék-kromatográfias módszerrel elválasztja az óriásmolekulákat a csupán pár monomeregységből álló oligomerektől. A polimerek egy porózus gélt tartalmazó oszlopon haladnak át. A nagyobb molekulák nem férnek be a gél szűk pórusaiba, ezért gyorsabban érnek a cső végére, míg a kisebb molekulák a pórusokba behatolva hosszabb utat tesznek meg, később érnek az oszlop végére. A nagy molekulák kisebb elúciós időnél adnak csúcst a kromatogramon, míg a kis molekuláknak megfelelő csúcsok később jelennek meg. Például az általunk előállított poli(difenil-amin) GPC vizsgálatából kiderült, hogy a legtöbb polimerláncunk 10-15 monomer egység-

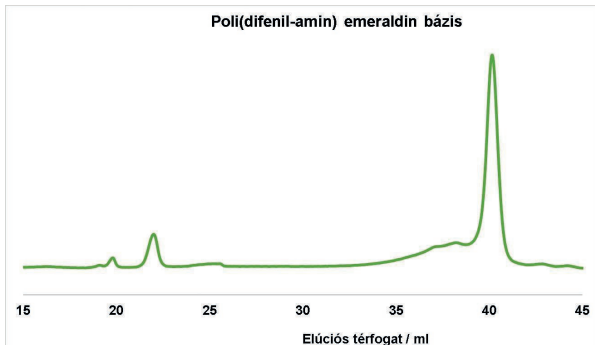


6. ábra: Világosabb színű leukoemeraldin.

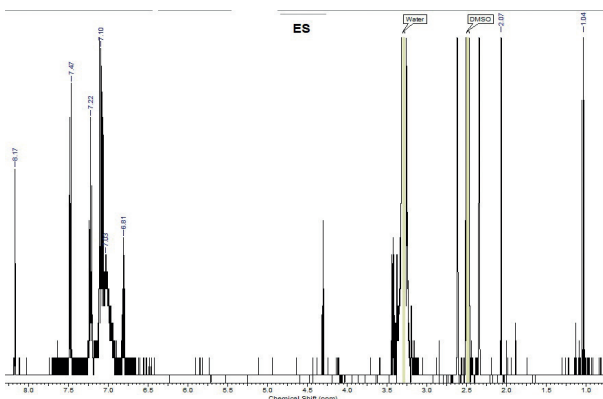


7. ábra: A legredukáltabb forma, a leukoemeraldin szerkezete.

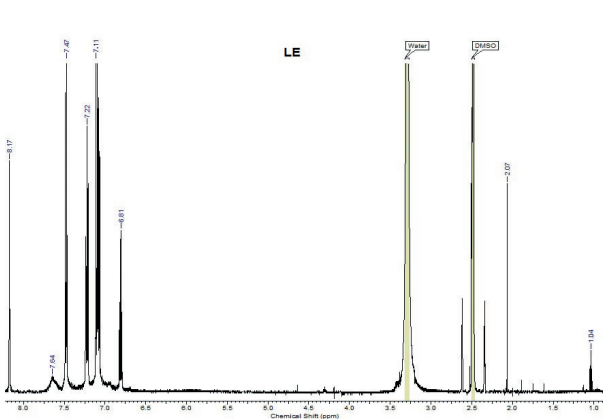
ből állt, de sikerült előállítanunk 200 és 800 monomeregység hosszú láncokat is (8. ábra). Ugyanezen anyagunkat emeraldin só állapotban és leukoemeraldin állapotban NMR-rel is megvizsgáltuk (9. és 10. ábra). Az NMR működése az elektromágneses magrezonancián alapszik, az egyes atomokat körülvevő elektronokról kapott fizikai méréseredmény segít meghatározni az előállt anyag kémiai összetételét. A kapott spektrumok alapján is megállapíthatjuk, hogy sikerült a polimert előállítani, mert a jelek megváltoztak a monomer spektrumához képest. A poli(difenil-amin)-anilin kopolimerről és a dife-



8. ábra: Az emeraldin bázis polimerláncainak hosszáról készült géppermeációs kromatogram.

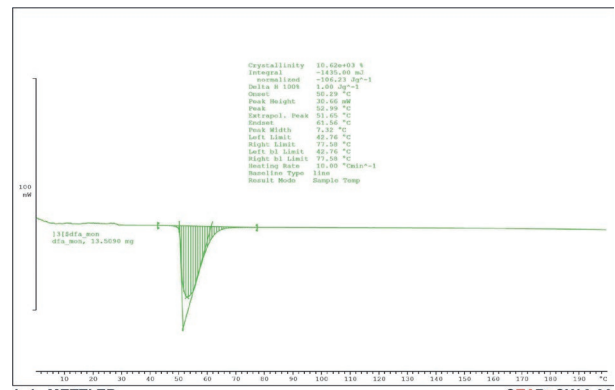


9. ábra: Az emeraldin só mintájáról készült NMR-spektrum.



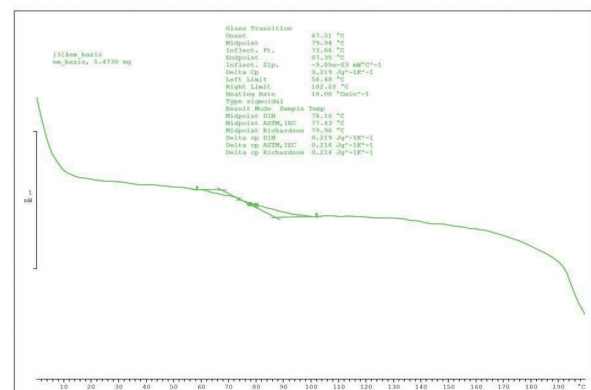
10. ábra: A leukoemeraldin NMR-spektruma.

nil-amin monomerről kalorimetriás (DSC) vizsgálatot is végeztünk, hogy a fizikai tulajdonságait megvizsgáljuk a hőmérséklet függvényében. A DSC-mérések során a minta melegítése közben a gép figyelte az anyag ún. fizikai- vagy a halmazállapotának változását, amit mi a gép által megadott diagram segítségével elemezni tudtunk. A diagramon megállapítható, hogy milyen hőmérsékleten következik be a fizikai állapot megváltozása, illetve kristályosodás vagy a kristályok olvadása. A 11. ábra a difenil-amin monomer kalorimetriás görbéjét mutatja. Ezen a diagramon csak egy nagy olvadási csúcs



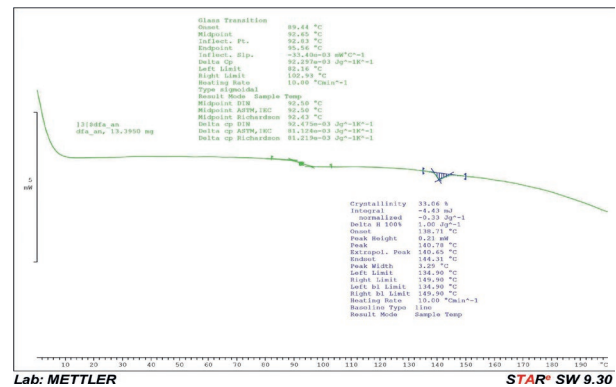
Lab: METTLER STAR® SW 9.30

11. ábra: A difenil-amin monomer kalorimetriás görbéje.



Lab: METTLER STAR® SW 9.30

12. ábra: Az emeraldin bázis kalorimetriás görbéje.



Lab: METTLER STAR® SW 9.30

13. ábra: A difenil-amin és az anilin kopolimerének kalorimetriás görbéje.

észlelhető, ez a monomer kristályos formájának az olvadását mutatja 53 °C-nál, ami megegyezik a szakirodalom szerinti 53 °C-os olvadásponttal. A 12. ábra a poli(difenil-amin) görbéjét mutatja. Itt nincs kristályosodási csúcs, csak egy inflexiós pont 74 °C-nál, ez azt jelzi, hogy ezen a hőmérsékleten vált az anyag üvegesből nagyrugalmas állapotra. A 13. ábrán a difenil-amin anilines kopolimerének diagramja látható. Láthatjuk, hogy a poli(difenil-amin)-nal ellentétben itt 90 °C-nál van inflexiós pont, ami azt jelzi, hogy sikerült kopolimert előállítanunk.

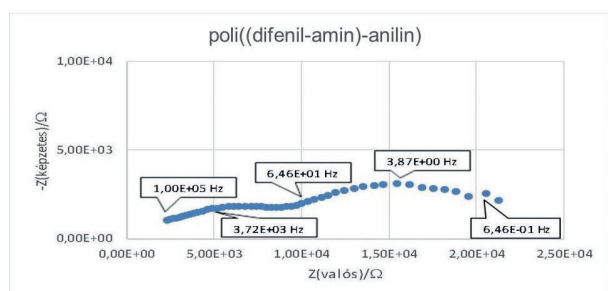
Az előállított polimer elektromos vezetését impedancia-spektroszkópiával tanulmányoztuk. A módszer során váltakozó feszültséget adtunk a mintára, és mértük az áramválaszt. Az így kapott adatokból egy modell-áramkör illesztésével megbecsülhetjük a polimer fajlagos vezetőképességét. Ennek alapján a difenil-amin-anilin kopolimer közepesen jó vezető tulajdonságúnak (14. ábra), míg például az emeraldin bázis rossz vezetőnek, szigetelőnek bizonyult (15. ábra).

A ciklikus voltammetriával (CV) az általunk előállított polimereken zajló redoxireakciókat tanulmányozhatjuk. Így a difenil-amin-anilin CV görbéjén

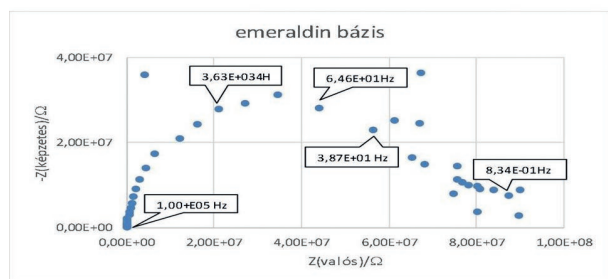
látszik, hogy a polimer megfelelő feszültségre kapcsolva oxidálható, illetve visszaredukálható, míg az emeraldin bázis esetében ez (feltehetőleg a rossz vezetőképességnek köszönhetően) nem áll fenn (16. és 17. ábra).

Az anyagok dimetil-szulfidos oldatán UV abszorbancia méréseket is végeztünk. A mérés segítségével meg tudjuk határozni, hogy különböző fény hullámhosszokon mekkora a fényelnyelés mértéke, vagyis az abszorbancia, ami az anyagba beeső, illetve az azon áthaladt fény energia-hányadosának tizes alapú logaritmusaként adható meg. A diagramokból látszik, hogy az oldatok elnyelése többnyire a zöld tartományban van, ez magyarázza az oldatok vöröses színét (1., 18., 19., 20. és 21. ábra).

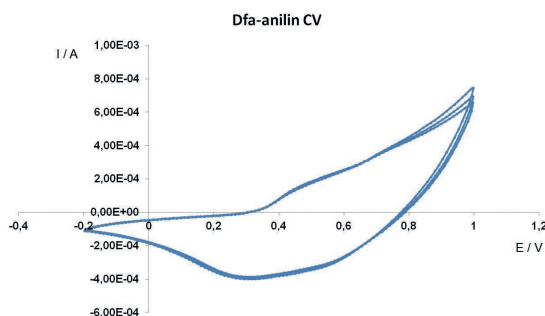
Laboratóriumi tevékenységünk a következő eredménnyel járt: A difenil-amin homopolimerizációját sikerült elvégeznünk, valamint az anilinnel való kopolimerizációja is megtörtént. A keletkezett anyagokat számos vizsgálati módszerrel jellemeztük. Ezen belül az elektromos impedanciamérések megmutatták, hogy a vezető polimer vezetőképessége hogyan változik az összetétel és a kémiai környezet függvényében.



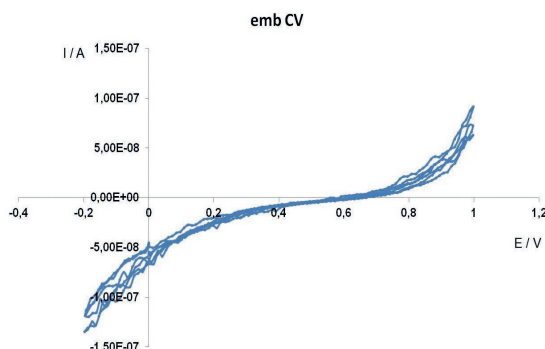
14. ábra: A difenil-amin és az anilin kopolimeréről készült elektromos impedancia mérés Nyquist-diagramja.



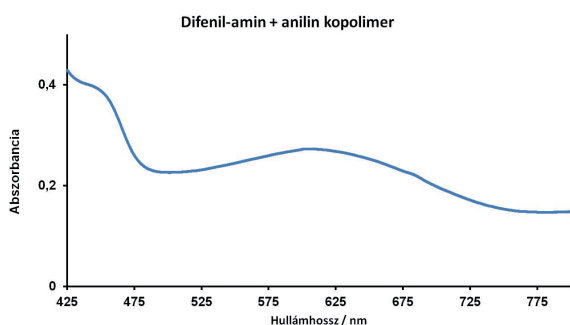
15. ábra: Az emeraldin bázisról készült elektromos impedancia mérés Nyquist-diagramja.



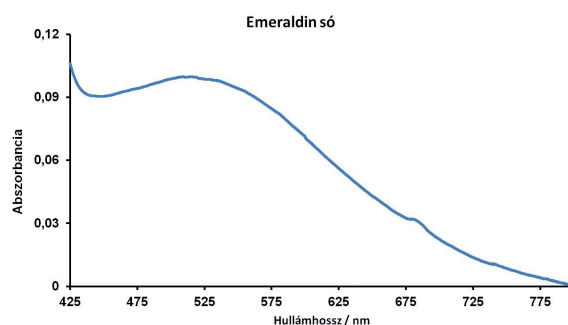
16. ábra: A difenil-amin és az anilin kopolimeréről készült ciklikus voltammetriás mérés grafikonja.



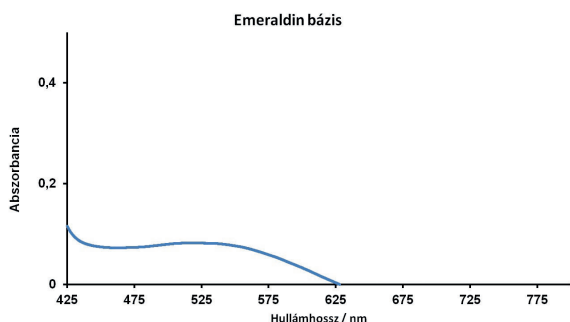
17. ábra: Az emeraldin bázisról készült ciklikus voltammetriás mérés grafikonja.



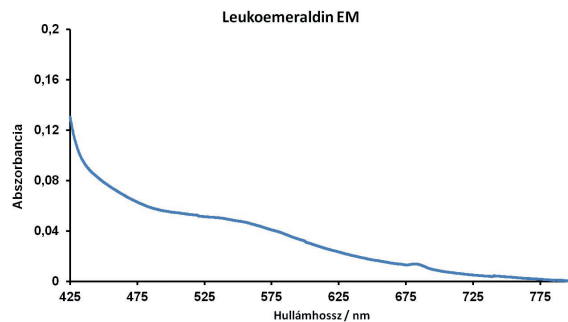
18. ábra: A difenil-amin és az anilin kopolimerének fényelnyelése a látható hullámhossztartományban.



20. ábra: Az emeraldin só fényelnyelése.



19. ábra: Az emeraldin bázis fényelnyelése.

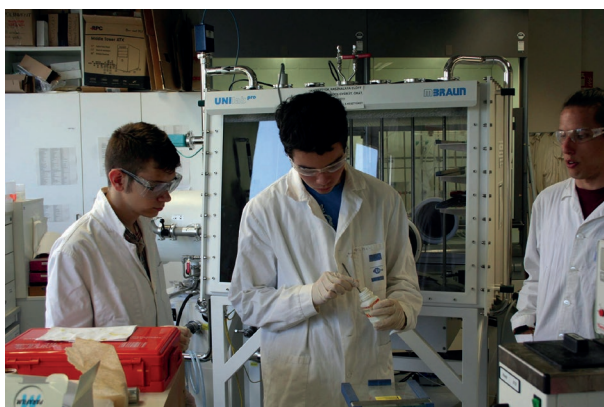


21. ábra: A leukoemeraldin fényelnyelése.

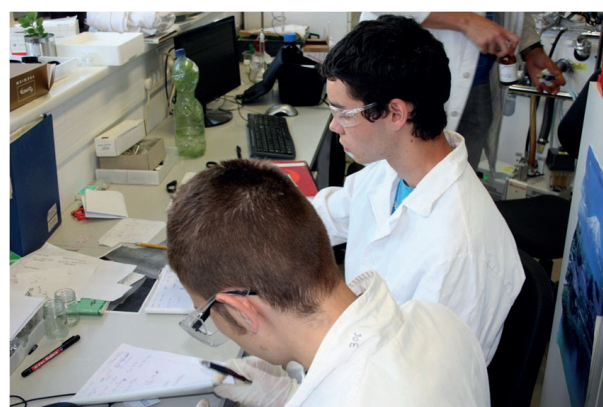
„A táborban elmélyülhettem a polimerkémia rejtelmeiben, az ország legjobb és legérdekesebb mérőeszközeivel dolgozhattam, emellett rengeteg kedves és értelmes emberrel ismerkedhettem meg. Úgy érzem, sikerült belekerülnöm az igazi kutatómunka hangulatos és ugyanakkor komoly hullámába, ami sok lépéssel közelebb hozott a világ megismeréséhez, mind szemléletmód, mind tapasztalat szempontjából. Az egyetemi szintű tudásanyagot részben felfogni igazán csodálatos érzés volt. Mindezek mellett a vegyészmérnöki tanulmányaim megkezdése előtt tudtam hasznos tapasztalatot szerezni. A sok színes kísérlet és a vidám társaság felejthetetlen élményt nyújtott számomra.” ~Miki

„A táborban való részvétel hatalmas élmény volt számomra. A polimerekkel kapcsolatos kutatások

során nagyon sok új dolgot tudhattunk meg a különböző módszerekről, és a különböző mérések eredményeinek kiértékeléséről. Amint azt fentebb írtuk, végeztünk NMR-es méréseket, ami nagyon jelentős szerepet tölt be a szerves kémiában, mégsem hallottam róla korábban. Az UV-s, a GPC-s és a DSC-s mérések is újak voltak számomra. Megtudhattam, hogy mikre kell odafigyelni a kísérletezés során, köztük azt, hogy a tetrahydrofuran oldja a gumikesztyűt, valamint hogy a dekantálás furcsa neve ellenére mindössze a szilárd fázis fölül az oldószer leöntését jelenti. A legjelentősebb számomra mégis az volt, hogy a laboratóriumi munkába való bepillantás és az abban való részvétel megerősítette bennem, hogy tényleg a kémia és a kutatás irányába szeretnék továbbtanulni.” ~Dávid



22. ábra: Folyik a munka...



23. ábra: És itt is.

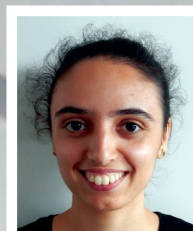
Füstgáz nitrogén-oxid tartalmának csökkentése zeolit katalizátoron

Al-Hag Johanna

Földes Ferenc Gimnázium, Miskolc

Kenyeres Éva

Kalocsai Szent István Gimnázium



émavezetők:

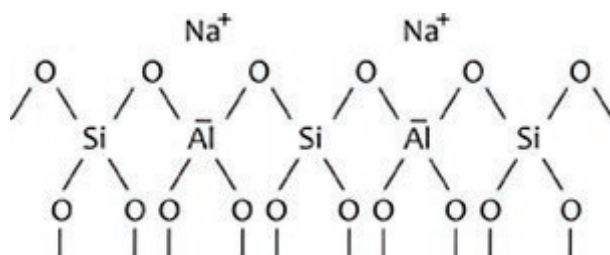
Dr. Solt Hanna, Dr. Lónyi Ferenc

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

Bevezetés

A táborban eltöltött napoknak köszönhetően rengeteg új ismeretet sikerült elsajátítanunk. Mi a zeolitok világában mélyedhettünk el. Kutatásunk során a légszennyezés csökkentésében játszott szerepükkel ismerkedhettünk meg kicsit részletesebben. Chabazit szerkezetű SSZ-13 zeolitot szintetizáltunk, ioncserével katalitikusan aktív fémcentrumokat vittünk be a zeolitba, és végül katalizátorként is kipróbáltuk a nitrogén-oxid szelektív katalitikus redukciójában (NO-SCR).

A zeolitok kristályos alumínium-szilikátok. Tetraéderez koordinációjú Al- és Si-atomok alkotják, melyek egymáshoz oxigénhidakkal kapcsolódnak (1. és 2. ábra). A megosztott oxigéneken keresztül történő kapcsolódás folytán a tetraéderek különböző vázszerkezetekké kombinálódnak. Az így kialakult szerkezetekben molekuláris méretű üregek és ezeket összekötő csatornák szabályos rendszere jön létre. Mivel a zeolitvázban az alumínium formális oxidációs állapota +3, a zeolitvázban az Al-atomok



1. ábra. A zeolitok szerkezetének sematikus ábrázolása



2. ábra. Az SSZ-13 szerkezete

környezetében negatív töltés alakul ki (1. ábra). A zeolitváz negatív töltéseit kationok kompenzálják (a szintézis után rendszerint Na⁺ kationok), amelyek ioncserével tetszőleges más kationokra – adott esetben katalitikusan aktív fémmionokra – cserélhetők.

A nitrogén-oxid emissióért túlnyomórészt a fosszilis tüzelőanyagok magas hőmérsékletű égése a felelős, amely során a levegő nitrogénje oxidálódik. A nitrogén és oxigén alkotta vegyületek közül az NO, NO₂ és N₂O bír jelentős környezetkárosító hatással. Az NO és az NO₂ káros módon a sztratoszférában az ózon bomlását, az atmoszférában pedig az ózon



3. ábra. Az SSZ-13 zeolit szintézise



4. ábra. A zeolit szintéziséhez használt edény

képződését segítik elő, s ugyanakkor a fotokémiai szmog és a savas eső kialakulásában is fontos szerepük van. Továbbá közvetlenül egészségkárosító hatásúak, pl. irritálják a nyálkahártyát, károsíthatják a májat és a légzőrendszert. Az N_2O – többek között – az üvegházhatás kialakulásáért felelős.

A fenti káros hatások miatt rendkívül fontos a nitrogén-oxidok kibocsátásának csökkentése. Ez történhet az égési folyamatok megfelelő szabályozásával, vagy a véggáz kezelésével. Mi a hét során az utóbbi módszerről tanultunk, ezen belül is a kémiai átalakítással (szelektív katalitikus redukcióval) végzett nitrogén-oxid-tartalom csökkentéssel. Redukálószerként használhatunk hidrogént, szén-monoxidot, ammóniát és szénhidrogéneket. Az utóbbiak közül a földgáz tüzelésű hőerőművekben kézenfekvő a metán használata, kísérleteinkben mi is ezt alkalmaztuk. Az SSZ-13 zeolitunk különleges szerkezetének és az ioncsere során létrejött aktív centrumoknak köszönhetően kísérleteinket sikeresen elvégezhetjük.

Kísérletek

SSZ-13 zeolit előállítás

Az SSZ-13 zeolit előállításához először NaOH-ot,

desztillált vizet és $Al(OH)_3$ -ot kevertünk össze mágneses keverővel, majd a keverékhez ún. szerkezet irányító ágensként TMA OH -t (N,N,N-trimetil-1-adamantán-ammónium-hidroxid) adagoltunk, ami a kívánt chabazit zeolitszerkezet kialakulását segíti elő. Végül ún. szilícium-oxid kormot (fumed silica), azaz néhány nanométeres szemcsékből álló SiO_2 -ot adtunk hozzá, amitől az oldat besűrűsödött (3. ábra). Az így kapott szintézis gél teflonnal bélelt rozsdamentes acél nyomásálló tartályba töltöttük (4. ábra). A zeolit kialakulásához a szintézis gél tartalmazó tartályt szabályozható hőmérsékletű kemencében 160 °C-on, autogén nyomáson néhány napig állni hagytuk. Ezután a kemencéből kivett tartályt lehűtöttük, és a képződött szilárd zeolitot a folyadékfázistól centrifugálással elválasztottuk. Végül a zeolitot desztillált vízzel semlegesre mostuk.

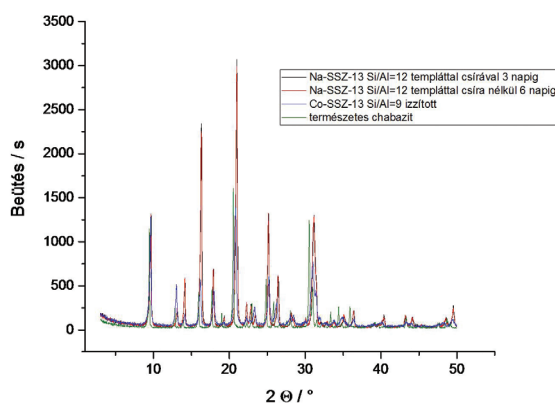
Katalitikusan aktív centrumok kialakítása ioncserevel

A korábbi ismeretek szerint a Co^{2+} ionok a metán redukálószerrel végzett NO-SCR reakció aktív centrumai lehetnek. Ezért az előzőekben szintetizált SSZ-13 zeolitba ioncserevel kobalt centrumokat vittünk be. Az ioncserehez a zeolitra 0,1 mol/dm³ koncentrációjú $Co(NO_3)_2$ -oldatot öntöttünk, majd a

szuszpenziót 6 órán át 80 °C-on olajfürdőn kevertük. Érdekeség, hogy az ioncsere folyamatban a kobaltionok főleg $\text{Co}(\text{OH})^+$ formában kerülnek be a zeolitrácsba. Ennek az az oka, hogy az SSZ-13 zeolitra jellemző nagy Si/Al arány miatt az Al atomok egymástól viszonylag távol helyezkednek el a zeolitvázban. Ezért a zeolitváz egymástól távoli negatív töltéseit az egy pozitív töltésű $\text{Co}(\text{OH})^+$ ionok könnyebben képesek kompenzálni, mint a két pozitív töltésű Co^{2+} ionok. (A $\text{Co}(\text{OH})^+$ ionok a víz Co^{2+} ionokon lejátszódó heterolitikus disszociációjával keletkeznek: $\text{Co}^{2+} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Co}(\text{OH})^+ + \text{H}^+$; a folyamatban keletkező ionok a zeolitváz negatív töltéseit kompenzáló ionok lesznek.)

A szerkezet ellenőrzése

Miután elkészült a zeolit, porröntgen-diffrakciós méréssel ellenőriztük, hogy valóban a megfelelő (chabazit) szerkezet alakult-e ki. A módszer lényege, hogy a mintáról különböző szögben visszaverődő röntgensugarak jutnak a detektorba, amit a detektor mozgatásával ér el a műszer. A minta szerkezetét a mérés során kapott ún. diffraktogramon megjelenő diffrakciós vonalakból lehet azonosítani (5. ábra). Az x-tengelyen a minta síkja és a detektor közti szög nagysága látható (a mintánkról a $2\theta = 3\text{--}50^\circ$ közötti tartományban készítettünk felvételt). Az y-tengely a beütésszámot mutatja, azaz hogy hány foton érkezik másodpercenként a detektorba. Három különböző szintetikus minta diffraktogramját hasonlítottuk össze a természetes chabazitával. A szerkezetek azonosságát, vagyis a szintézis sikerességét az igazolta, hogy a diffrakciós vonalak mindegyike azonos, vagy közel azonos 2θ szögeknél jelent meg. Az egyes diffrakciós vo-

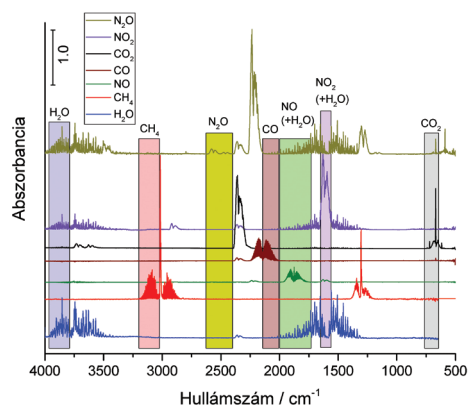


5. ábra. Az előállított SSZ-13 zeolitok röntgen-diffraktogramjai

nalak intenzitásai azonban eltérhettek egymástól amiatt, hogy a szintézist követően a zeolitról még nem távolítottuk el a szerkezetirányító vegyületet (templátot). Az x-tengelyen való kisebb eltolódást pedig a zeolitváz alumíniumtartalma befolyásolta. A természetes chabazitban (a természetben megtalálható zeolit) viszonylag nagy az Al koncentráció, ami a zeolit hőstabilitása szempontjából nem előnyös. Ezért az itt előállított SSZ-13 zeolitot lényegesen nagyobb Si/Al-aránnyal szintetizáltuk. Meg kell jegyezni, hogy a szintetizált zeolit diffraktogramján amorf rész jelenlétére utaló, széles tartományban elhúzódó lapos alapvonal-emelkedést nem láttunk, ami szintén a sikeres szintézisre utal.

A katalizátor élesben

Miután megbizonyosodtunk arról, hogy a katalizátorunk szerkezetileg megfelelő, már alig vártuk, hogy bevehessük. Ám a “bevetést” még megelőzte néhány előkészület: a katalizátor előkezelése és a reakcióelegy összeállítása. Az előkezelést 10,2% O_2 -t tartalmazó O_2/He gázeleggyel végeztük 550 °C-on. Az előkezelés célja a zeolit pórusaiban adszorbeált víz eltávolítása, illetve a zeolit savas formájának előállítás volt. Az utóbbi folyamatban a zeolitváz negatív töltéseit kompenzáló ammónium-ionokat bontjuk el, ami ún. Brönsted-sav centrumok kialakulásához vezet: $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}^+$. A reagáló elegyünk összetételét pedig tömegáramlás-szabályozó műszerek segítségével úgy állítottuk be, hogy az egyes reaktánsok koncentrációja a következő legyen: CH_4 : 0,4%, NO : 0,4%, O_2 : 2,0% He vivőgázban. A $2\text{NO} + \text{CH}_4 + \text{O}_2 = \text{N}_2 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ bruttó reakcióegyenlettel leírható NO-SCR reakciót egy átáramlásos mikroreaktorban



6. ábra. Termékelegy összetételének meghatározása infravörös spektroszkópiai módszerrel

Analysis Gas	Units	Min Conc	Max Conc	Detector	2	4	12	13	14	15	16	17	18	19	20	28	29	30	31	32	33	34	44	45	46
NO-15-30	ppm	0	1000	Faraday						✓								✓							
CH4-12-15	ppm	0	1000	Faraday		✓				✓										✓					
O2-32	ppm	0	1000	Faraday																	✓				
CO2-12-28-44	ppm	0	1000	Faraday			✓																✓		
N2-28	ppm	0	1000	Faraday																					
NO2-30-46	ppm	0	1000	Faraday																					✓
N2O-28-30-44	ppm	0	1000	Faraday																				✓	
Water	ppm	0	1000	Faraday																					✓
He-4	%	0	100	Faraday	✓																				

7. ábra. Termékelegység összetételének tömegspektrometriás meghatározásához használt mátrix

játszottak le 100 mg Co,H-SSZ-13 katalizátor jelenlétében. A zeolitikatalizátor működését a 300-600 °C hőmérséklettartományban vizsgáltuk. Az NO átalakulás mértékét (konverzióját) a reaktorból kilépő gázelegység összetételének meghatározásával követtük nyomon. Ebben két, a kutatótáborban megismert eszköz: az infravörös spektrométer és a tömegspektrométer volt segítségünkre.

1) Az infravörös spektroszkópia

Az infravörös sugárzás tartományában megfigyelhető fényabszorpció a molekulák rezgésére és forgására vezethető vissza. A hullámszám értékekből, ahol a fényabszorpció bekövetkezik, a molekula minőségre, míg az abszorpció mértékéből a komponens koncentrációjára lehet következtetni. Ennek megfelelően ez a mérés a reaktáns és termék gázok minőségi és mennyiségi vizsgálatát tette lehetővé. Meg kell jegyezni, hogy infravörös abszorpció sávot csak akkor kapunk, ha az adott molekulában dipólusmomentum-változás következik be. Így például a gázfázisú heteronukleáris molekulák (NO, NO₂, N₂O, CO, CO₂, CH₄, H₂O) karakterisztikus sávjai megjelennek a spektrumban, míg a kétatomos homonukleáris molekulák (O₂, N₂) gázfázisban nem adnak sávot (6. ábra). A reaktorból kilépő gázelegység mennyiségi analíziséhez az egyes komponensekre olyan elnyelési tartományokat kerestünk, melyek lehetőleg nem fednek át más komponens sávjával (6. ábra).

A mérést kalibráció előzte meg, amelyben az adott komponens ismert koncentrációban tartalmazó kalibrációs gázeleggyel a kiválasztott elnyelési tartományban numerikus integrálással meghatároztuk a sáv alatti területet. Az így kapott kalibrációs értékek (koncentráció/terület egység) ismeretében azután ki tudtuk számolni a reaktorból kilépő ismeretlen összetételű gázelegységben az egyes komponensek koncentrációját.

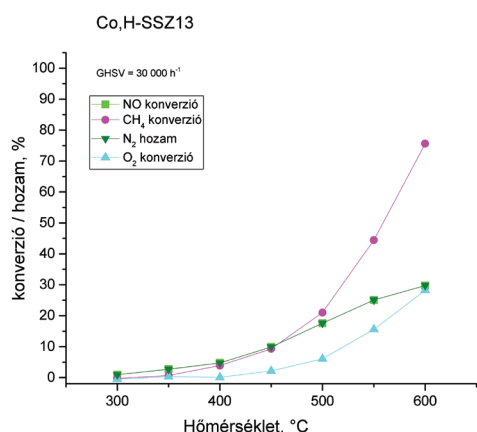
2) Tömegspektrometria

Mivel az N₂ és O₂ gázfázisban infravörös inaktív

(lásd fentebb), így ezek koncentrációjára a tömegspektrometriás mérésből következtettünk. (Természetesen tömegspektrometriás módszerrel a többi komponens koncentrációja is meghatározható.) A tömegspektrométer (MS) működésének lényege, hogy található benne egy ionforrás (tórium-oxid bevonatú Ir izzószál), mely elektronokat ad le. Erre vezetjük rá a gázelegységet, amelyen a molekulák különböző módon ionizálódnak és/vagy fragmentálódnak (pl.: CH₄ + e⁻ = CH₄⁺ + 2e⁻ vagy CH₄⁺ + e⁻ = CH₃⁺ + H⁰ + e⁻). Ezután az ionok egy analizátorra jutnak, amely rádiófrekvencia segítségével szabályozza, hogy mikor milyen tömegszámú (pl.: m/z(NO₂⁺)= 30:2=15, ahol m a móltömeg, míg z a töltésszám) ionok jussanak a detektorhoz. Ez alapján méri a műszer az egyes komponensek koncentrációit. A komponensek koncentrációinak egymás melletti meghatározását a tömegspektrométerhez tartozó analízis szoftver segítségével végezhetjük el. A mérés előtt az m/z arányok figyelembevételével egy mátrixon állíthatjuk be, hogy mely ionok koncentrációját mérje a detektor (7. ábra).

Az egymást kiegészítő infravörös spektroszkópai és tömegspektroszkópai módszerekkel pontosan meg tudjuk határozni, hogy a katalitikus mérés során a reakcióhőmérséklet függvényében milyen összetételű termékelegység keletkezett, és ebből ki tudjuk számítani a reakcióban fogyott reaktánsok átalakulásának (konverziójának) mértékét, illetve a keletkező termékek hozamát (8. ábra).

A katalitikus mérések eredményeiből megállapítottuk, hogy az NO redukciója metánnal nitrogénre teljesen szelektíven megy végbe (csak N₂ képződik a reakcióban, más nitrogén-oxid nem), míg a metán redukálószerre nézve csak 350°C-ig szelektív a reakció (azaz amíg a metán csak az NO redukciójára fogy). Azonban magasabb hőmérsékleten felgyorsul a metán és az oxigén káros mellékreakciója (a metán égése), s így a redukálószer jelentős fogyása miatt az NO-konverzió



8. ábra. A Co,H-SSZ-13 zeolitikatalizátoron a hőmérséklet függvényében kapott konverziós görbék

már csak kis mértékben tud tovább növekedni.

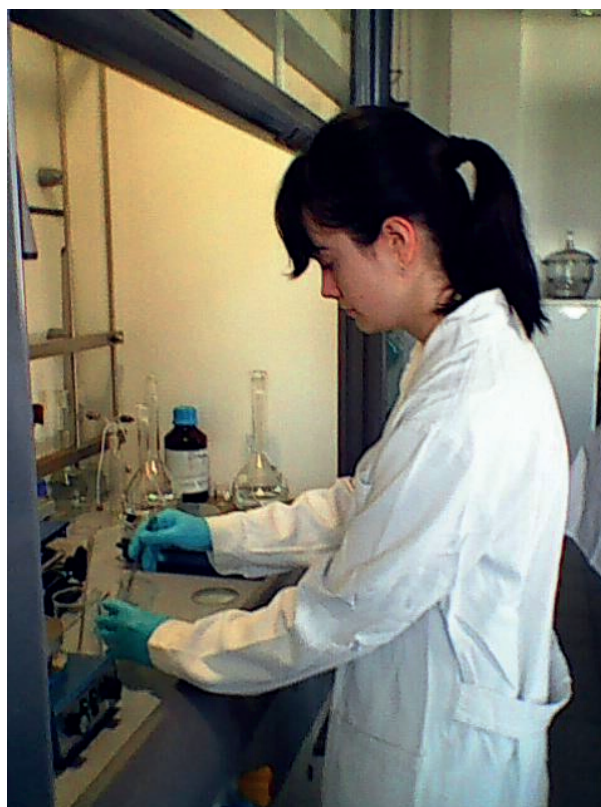
Tapasztalatok, következtetések

Azt tapasztaltuk, hogy a katalizátorunk a teljes hőmérséklettartományban nitrogénre szelektíven működik, azonban az aktivitásának a további fokozása szükséges. Ez több aktív centrum kialakításával, illetve a reagáló molekulák tartózkodási idejének növelésével (a reaktáns elegy áramlási sebességének csökkentésével) minden bizonnyal

orvosolható. Magas hőmérsékleten (450 °C felett) a metán redukálószer káros égési mellékreakciója jelentősen gyorsul. Ezt okozhatja pl. a minta előállításakor a zeolit pórusaiban visszamaradó ún. vázon kívüli különféle alumínium-oxid képződmények jelenléte. Kedvezőbb katalitikus tulajdonságú katalizátor előállításához ezek a képződmények esetleg enyhe savval kioldhatók, illetve kialakulásuk gondosabban kivitelezett zeolitszintézissel (pl. a kívánt szerkezetű zeolitcsírák alkalmazásával a szintézis gélben) megakadályozható.

Összefoglalás, köszönetnyilvánítás

Ez alatt a felejthetetlen hét alatt rengeteget tanultunk, és sok új tapasztalatot szereztünk. Megismerkedhettünk néhány fontosabb műszer működésével, és betekintést nyerhettünk a laboratóriumi munkálatokba. Mindezekért köszönettel tartozunk témavezetőinknek, Lónyi Ferencnek és Solt Hannának, akik megmutatták nekünk a laboratóriumok világát. Szeretnénk külön köszönetet mondani Lendvayné Győrik Gabriellának, a tábor megszervezéséért, és a labormunka utáni pihentető délutáni programokért, melyeken szintén sok új élménnyel gazdagodtunk.



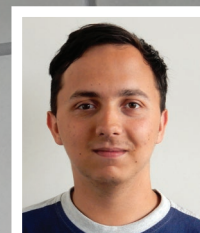
Az elektrokatalízis alapjai

Engel Botond

Bolyai Farkas Elméleti Líceum, Marosvásárhely

Veres Eszter Vivien

Zrínyi Ilona Gimnázium és Kollégium, Nyíregyháza



émavezetők:

Dr. Bakos István, Vass Ádám

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

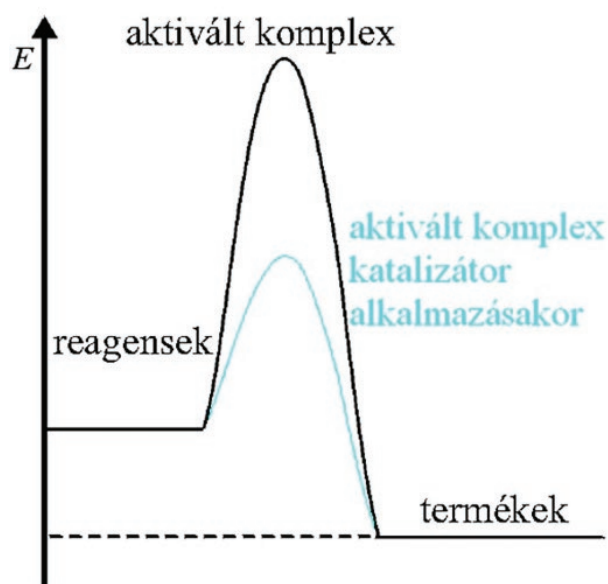
Bevezetés – Az elektrokémiáról

Az MTA Természettudományi Kutatóközpont által megszervezett kilencedik AKI Kíváncsi Kémikus nyári táborban az elektrokatalízis alapjaival foglalkoztunk, ami egy nagyon izgalmas kutatási témát jelentett számunkra. Először a kutatásunkhoz nélkülözhetetlen alapfogalmakkal ismerkedtünk meg, az elektrokémia alapjaival.

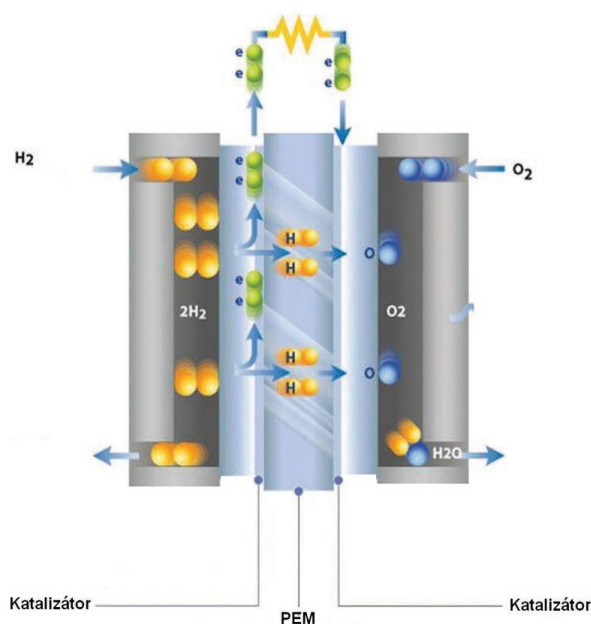
Az elektrokémia a fizikai kémia azon ága, amely az

elektromos áram hatására bekövetkező kémiai változásokkal, illetve a kémiai reakciókat kísérő elektromos jelenségekkel foglalkozik. Ezek a változások az elektrokémiai folyamatok, amelyek mind a redoxireakciók csoportjához tartoznak, hiszen a reakcióban résztvevő elemek oxidációs száma megváltozik. Ezen folyamatok során elektromos és kémiai energia egymásba való átalakulása történik.

Az elektrokémiai kutatásoknak napjainkban fontos szerepe van, számos területen alkalmazzák, ilyen



1. ábra Egy reakció energiadiagramja katalizátor nélkül és katalizátorral



2. ábra Tüzelőanyag-cella

például az energiatermelés és –tárolás, vagy fémek korrózióvédelme.

A katalizátorokról

A katalizátorok olyan anyagok, melyek úgy növelik meg a reakciósebességet, hogy csökkentik a reakció aktiválási energiáját, így a reakció gyorsabban megy végbe (1. ábra). A folyamat lejátszódása után a katalizátort változatlan formában kapjuk vissza, emiatt az újabb reakciót segíthet elő.

Az elektrokatalizátorok elektrokémiai folyamatokban résztvevő katalizátorok. Az elektrokatalizátorok rendkívül fontos szerepet játszanak, hiszen nélkülük sok reakció nem is menne végbe.

Munkánk célja

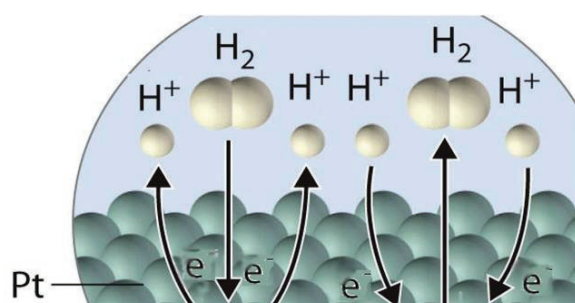
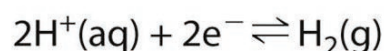
Manapság az emberi tevékenységek által egyre több energiát használunk fel, hiszen elektromos áram nélkül mai modern életünk szinte elképzelhetetlen lenne. Ennek jó részét fosszilis, azaz nem megújuló energiaforrásokból nyerjük; ide tartozik többek között a kőolaj, a földgáz, a kőszén. A felsorolt anyagokból azonban csak korlátozott készletek állnak rendelkezésünkre, szemben a megújuló energiaforrásokkal, amilyen például a szél-, a víz-, a napenergia és a geotermikus energia. Ezek felhasználásával, a megfelelő berendezésekkel jelentős mennyiségű energiát nyerhetünk, amelyek azonban térben és időben eltérő módon állnak rendelkezésünkre, így tárolásukat és későbbi felhasználásukat meg kellett oldani. Jelenleg az egyik megoldás erre, hogy a megújuló energiaforrások segítségével termelt elektromos energiát vízbontásra használjuk, az így előállított hidrogént tároljuk, majd később tüzelőanyag-cellákban (2. ábra) visszaalakítjuk elektromos energiává. A tüzelőanyag-cella egy olyan elektrokémiai áramforrás, amelyben az áramtermelő folyamat valamilyen tüzelőanyag (pl. hidrogén) oxidációja. A hidrogén a tüzelőanyag-elemben vízzé oxidálódik, így ez az eszköz teljesen környezetbarát. A laboratóriumban azt vizsgáltuk meg, hogy milyen katalizátorok a legalkalmasabbak ezen reakció elősegítéséhez, és hogyan juthatunk a lehető legtöbb elektromos energiához a hidrogén oxidációjával.

A kutatás

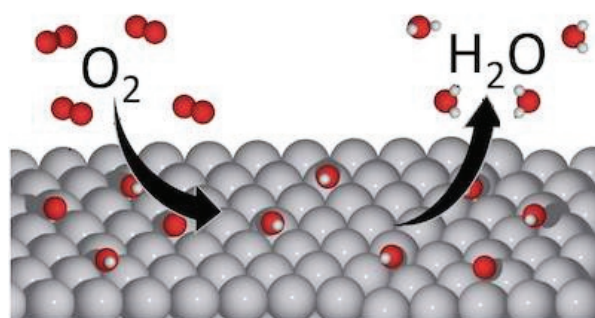
Miután megkaptunk minden szükséges elméleti információt, és balesetvédelmi tájékoztatót is hallottunk, kezdetét vehette kutatásunk. Kísérle-

teinket egy platinakatalizátor ciklikus voltammetriás viselkedésének tanulmányozásával kezdtük. A platina az elektrokémiában az egyik legfontosabb katalizátorként használatos fém, hiszen platinafelületen megy végbe legjobban a hidrogén oxidációja (3. ábra), s az oxigén redukciója (4. ábra). Emiatt a platina a legfontosabb elektrokatalizátor (5. ábra). Az elektrokémiai kutatások legfőbb célja, hogy ezt a rendkívül drága nemes fémet más fémmel helyettesítsék.

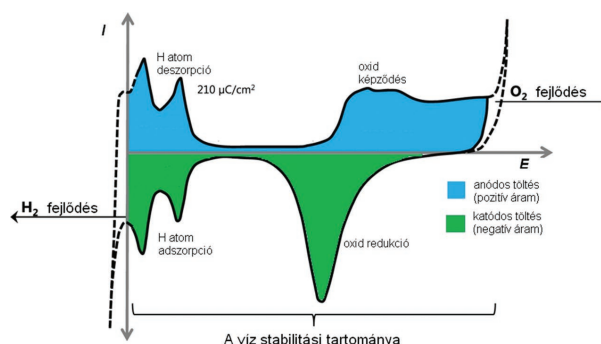
A mérés során három elektródra volt szüksé-



3. ábra Hidrogén oxidációja platina katalizátoron



4. ábra Oxigén redukciója



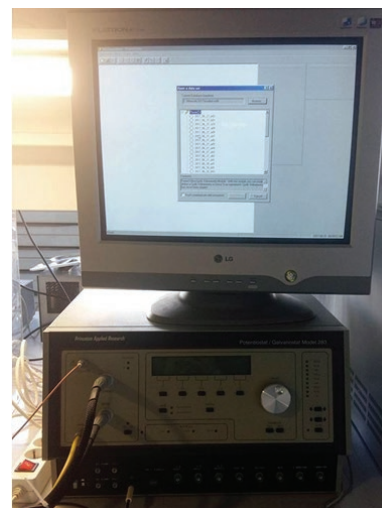
5. ábra Platina katalizátor voltammogramja



6. ábra Az általunk használt elektrokémiai cella



7.1 ábra Analóg potenciosztát



7.2 ábra Digitális potenciosztát

günk: munkaelektrodra, amely maga a vizsgálandó elektród; referenciaelektrodra, amely állandó potenciálú, ehhez hasonlítjuk a munkaelektrod potenciálját; és segédelektrodra, amely az áram vezetéséhez szükséges, és amelyen lejátszódik a munkaelektrodéval ellentétes elektródfolyamat. Mindhárom elektród kénsavoldatba merült, amibe argon gázt buborékolattunk (6. ábra). A mérést analóg és digitális potenciosztát (a po-

tenciál szabályozására használatos műszer) segítségével is elvégeztük. Érdekes összehasonlítása volt ez a régi s a mai műszereknek (7.1, 7.2 ábra).

Szénhordozós platínakatalizátor vizsgálata

Méréseinket ezután egy szénhordozós platina katalizátor segítségével folytattuk. A kísérletet a katalizátor előkészítésével kezdtük el. Összekevertünk



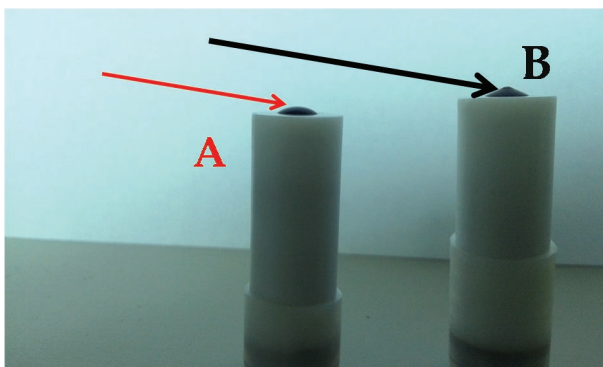
8.1 ábra Automata pipetta alkalmazása



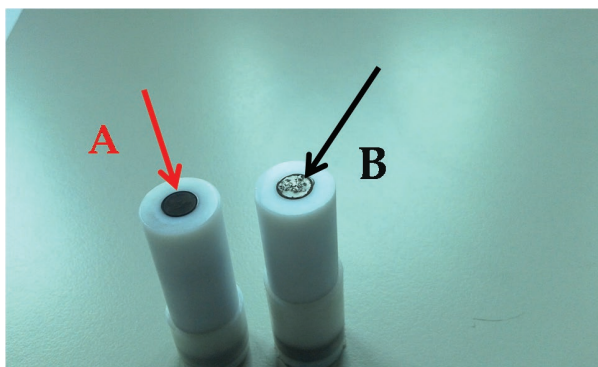
8.2 ábra Ultrahangos rázóató használata



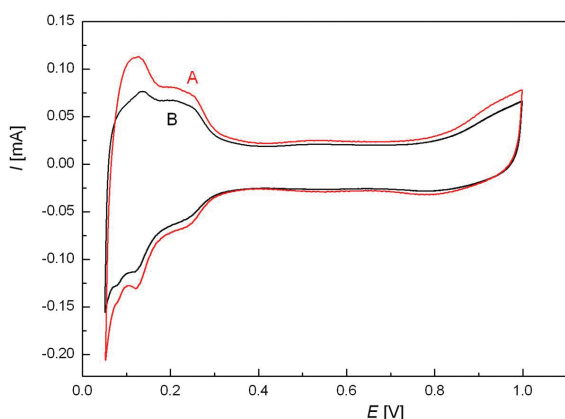
9. ábra Készül a szénhordozós platina katalizátor



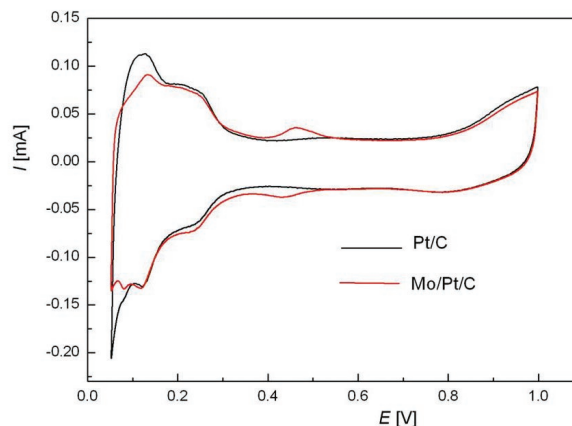
10. ábra Száradás



11. ábra A végeredmény



12. ábra Szénhordozós platina katalizátor voltammogramja



13. ábra Molibdénrel módosított szénhordozós platina katalizátor voltammogramja

2 mg 20 m/m% platínát és 80 m/m% aktív szenet tartalmazó keveréket 2 ml vízzel, izopropanollal és Nafion oldattal (8.1 ábra). Ezekből szuszpenziót készítettünk ultrahangos rázóató segítségével (8.2 ábra), majd a szuszpenziót üvegszén elektródra pipettáztuk (9. ábra), végül pedig fél óráig száradni hagytuk (10. ábra). A vizsgálatot még izgalmasabbá tette, hogy az ábrán B-vel jelölt elektródon levő cseppben lett egy levegőbuborék, amelynek köszönhetően különböző módon száradt meg a két elektród felülete (11. ábra).

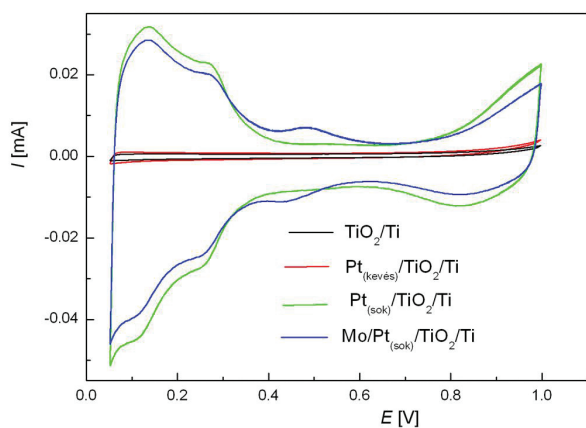
A két cseppentés voltammogramjának összehasonlítása azt mutatta, hogy a B elektródon kisebb a hidrogénre jellemző deszorpciós csúcs, vagyis a mért áramerősség kb. 0,025 mA-rel kisebb, mint az A-n (12. ábra).

Szénhordozós platina katalizátor módosítása molibdénrel

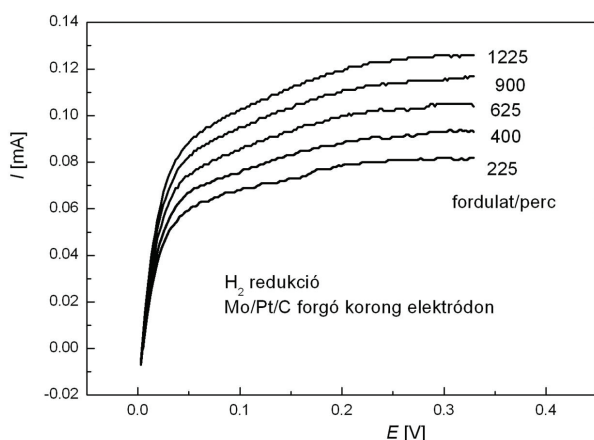
A fenti módszerrel kapott katalizátort ezután módosítottuk molibdénrel úgy, hogy $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ oldatba mártottuk az elektródot nagyjából 5 percnyi időtartamra. A méréseink során kapott voltammogram azt mutatta (13. ábra), hogy a platina felületére molibdén vált ki, hiszen megfigyelhető a molibdén jellegzetes csúcsa.

Forgó titán elektród módosítása platinnal és molibdénrel

A forgó titán elektródra H_2PtCl_6 oldatból platínát, majd $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ oldatból molibdént választottunk ki. A platinaléválasztást először elektromos áram használata nélkül végeztük, ekkor kis mennyiségű platina vált le az elektródra, majd áram hatására megfelelő mennyiségű fém vált le, amelyet a voltammogram is jól mutat (14. ábra), hiszen megjelent a platínára jellemző hidrogén-deszorpciós csúcs. A molibdén leválása is megtörtént, ui. a



14. ábra Platinával és molibdénnel módosított forgó titán elektród voltammogramja



15. ábra Hidrogén oxidációja a forgó titán elektródon

molibdén jellegzetes csúcsa is megfigyelhető a voltammogramon.

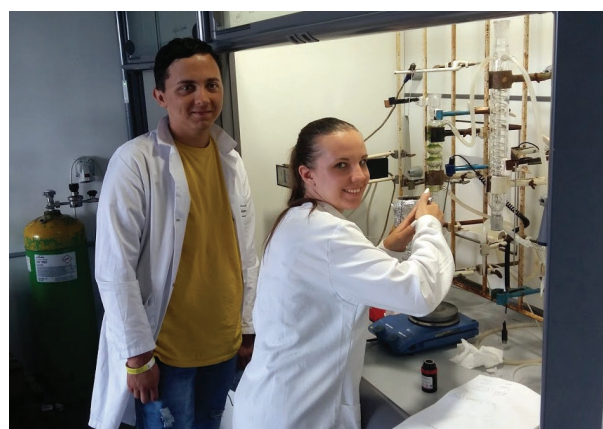
Ezután ugyanezen az elektródon a hidrogén oxidációját mértük úgy, hogy forgó korong elektródot alkalmaztunk (15. ábra). Azt tapasztaltuk, hogy minél nagyobb a fordulatszám, annál nagyobb a mért áram.

Összefoglalás

A kutatótáborban főként platinával és molibdénnel mint lehetséges elektrokatalizátorokkal foglalkoztunk. Ezek különböző mennyiségben, különböző elektródokon más-más eredményt mutattak. Az, hogy ezek közül melyik alkalmazható legnagyobb határfokkal a gyakorlatban, vagyis melyik a legjobb energiahasznosítás céljából, egyelőre nyitott kérdés maradt számunkra. Az MTA Anyag- és Környezetkémiai Intézetében eltöltött egyhetes kuta-



16. ábra Témavezetőinkkel



17. ábra Így kutattunk mi

tómunkánk során rengeteg mérési módszert, laboratóriumi eszközt, eljárást ismertünk meg, sokat tanultunk az elektrokatalízisről, új tapasztalatokat szereztünk, és érdekes emberekkel találkoztunk. Nagyon jól éreztük magunkat az intézetben, egy örök élmény marad számunkra a tábor.

Köszönetnyilvánítás

Végül, de nem utolsó sorban, szeretnénk köszönetet mondani témavezetőinknek, Bakos Istvánnak és Vass Ádámnak, akik bevezettek minket az elektrokémia csodálatos világába, és így bepillantást nyerhettünk az aktuális elektrokémiai kutatásokba; valamint Lendvayné Győrik Gabriellának, a tábor főszervezőjének, akinek hála megismerhettük az MTA Természettudományi Kutatóközpontjának életét, és eltölthettünk egy felejthetetlen hetet Budapesten (16, 17. ábra).

A glicerín fotokatalitikus reformálása



Somogyi Anett

Svetozar Marković Gimnázium, Szabadka, Szerbia

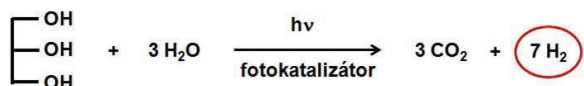
émavezetők:

Dr. Tólas Emília, Szijjártóné Majrik Katalin, Dr. Szijjártó Gábor

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

1. Bevezetés

A megújuló forrásból származó energiák térben és időben nem igény szerint állnak rendelkezésünkre, ezért fontos, hogy tárolni tudjuk azokat. Az egyik alternatíva az, hogy kémiai energia formájában történjen a tárolás. A jövő egyik lehetséges energia-hordozója a hidrogén, melynek előnye, hogy nagy energiasűrűséggel rendelkezik, nagy hatásokkal alakítható át (pl. tüzelőanyag-elemekben) elektromos energiává, illetve környezetbarát is, mivel az átalakítás végterméke a víz. Hidrogént többféle módon nyerhetünk megújuló energiaforrásból, ilyen pl. a szélenergiából nyert elektromos energiával történő vízbontással. Egy másik mód lenne erre a szerves anyagok fotokatalitikus reformálása, amely során a fény energiáját hasznosítjuk, a reakció eredményeként pedig a szén-dioxid mellett hidrogén képződik. Ilyen reakció a glicerín fotokatalitikus reformálása, ekkor a glicerín és a víz reagál egymással hidrogén fejlődése közben. A folyamat bruttó egyenletét az 1. ábra mutatja.



1. ábra A reakció bruttó egyenlete

A glicerínre mint reaktánsra azért esett a választás, mert a biodízel-gyártás mellékterméke, így nagy mennyiségben és könnyen elérhető. Továbbá, a biodízelt növényekből állítják elő, azok pedig növekedésük során megkötik a szén-dioxidot a levegőből, így a fotokatalitikus reakció ré-

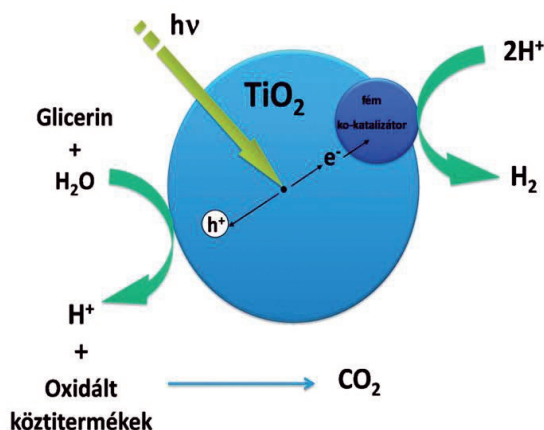
vén nem nő a bruttó szén-dioxid kibocsátás. Fotokatalizátorként platinával módosított titán-dioxidot használtunk, a TiO_2 pedig félvezető. A fotokatalitikus reakció indító lépése során a besugárzó fény gerjeszti a TiO_2 elektronjait, ezért azok a vegyértéksávból a vezetősávba lépnek, és ott szabadon mozoghatnak. Ehhez azonban szükséges, hogy a fény hullámhossza megfelelő legyen, azaz a fény által közölt energia egyenlő vagy nagyobb legyen, mint a félvezető tiltott sávja. Tiltott sávnak nevezzük azokat az energiasávokat elválasztó tartományokat, melyekhez nem tartoznak valós elektron energiaszintek, tehát a sávok közé eső energiájú elektronok nem lehetnek jelen a kristályban.

A besugárzás hatására egy elektron-lyuk pár keletkezik. A töltéshordozók a félvezető felületére kijutva redoxireakcióba léphetnek az ott található molekulákkal. Az is megtörténhet azonban, hogy a töltéshordozók rekombinálódnak, és a befektetett energiát hő, fény stb. formájában kibocsátják, amely ilyen módon elveszik. A fotokatalizátorok hatékonyságát megnövelhetik a ko-katalizátorok, melyek lehetnek a félvezető felületén elhelyezkedő fém nanorészecskék. Szerepük egyrészt az, hogy az elektronokat maguk felé irányítsák, és így gátolják a töltésrekombinálódást, másrészt viszont katalitikusan aktív helyet biztosítanak a hidrogénfejlődéshez. Gyakran használt ko-katalizátor a platina. A pozitív töltésű lyukak oxidálják a glicerint, és a vizes oldatból hidrogén ionok és oxidált köztitermékek keletkeznek, majd szén-dioxid szabadul fel. A hidrogén ionok a platinán az ott lévő elektronok

segítségével redukálódnak, és kialakul a hidrogén molekula (2. ábra).

2. Célkitűzés

Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk, hogyan viselkedik a nagy felületű, lecsapással és öregítéssel előállított TiO_2 ¹ különféle módon kialakított (impregnálás utáni kalcinálás, magas hőmérsékletű hidrogénes, illetve nitrogénes kezelés) Pt tartalmú ko-katalizátorok esetén. A kutatócsoport korábbi munkái során már kiderült, hogy a szol-gél módszerrel előállított TiO_2 -ra felvitt $\text{Pt}(\text{NH}_3)_4(\text{NO}_3)_2$ -ből kalcinálással vagy (magas hőmérsékletű) hidrogénes redukálással kapott minták a metanol fotokatalitikus reformálásában eltérő aktivitást mutattak. A kalcinált platinát tartalmazó fotokatalizátor jobb eredményt adott, mint a redukált.² Az irodalomból az is ismeretes volt, hogy a SiO_2 -ra felvitt $\text{Pt}(\text{NH}_3)_4(\text{NO}_3)_2$ nitrogénben bontva nagy diszperziású Pt katalizátort eredményezett.³ Ezért tanulmányozni kívántuk a TiO_2 -ra felvitt $\text{Pt}(\text{NH}_3)_4(\text{NO}_3)_2$ -ből nitrogénes kezeléssel nyert minta fotokatalitikus aktivitását is.

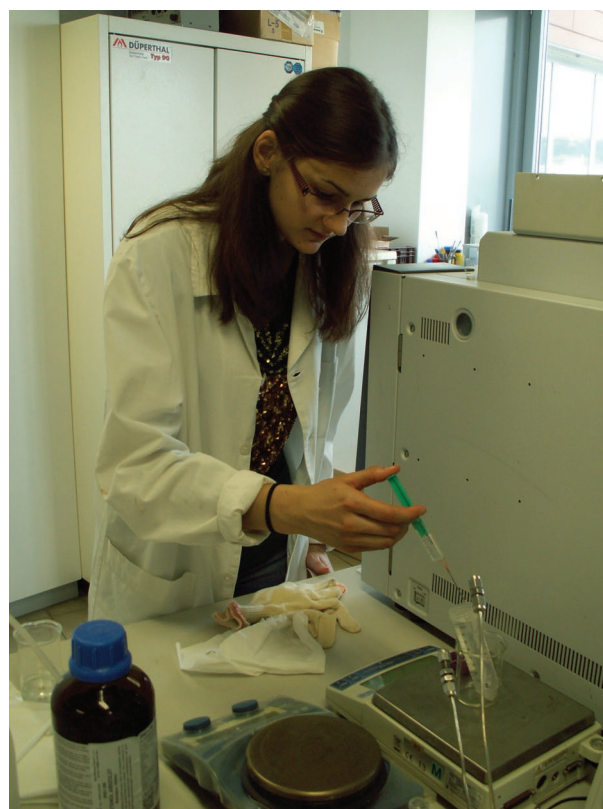


2. ábra A fotokatalitikus reakció sémája

3. A kísérleti munka menete

3.1 A katalizátor előállítása

Először kimértem 5 mg $\text{Pt}(\text{NH}_3)_4(\text{NO}_3)_2$ -at, és azt a témavezetőim előzetes tapasztalatai alapján 0,6 ml 18,2 MΩ*cm fajlagos ellenállású (gyakorlatilag ionmentes) vízben oldottam fel. Erre az incipient wetness módszer, azaz száraz impregnálás miatt volt szükség, melynek lényege, hogy a hordozó felületére felvinni kívánt sórt annyi vízben kell feloldani, amit az fel tud venni, és ezt egyenesen kell a hordozóra csepegtetni. A hordozó ebben az esetben 250 mg TiO_2 volt. Három mintát készítet-

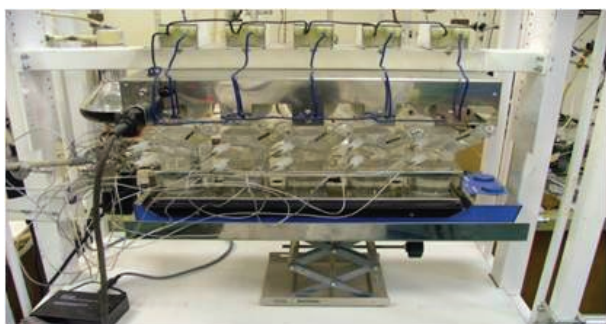


3. A és B ábra Munka közben

tem el így, majd ezek 20 órán keresztül száradtak a szárítószekrényben 90°C-on. Ezután mindegyiket más-más módon kezeltük: az elsőt hidrogénáramban bontottuk (redukáltuk) 400 °C-on, a másodikat nitrogén áramban bontottuk 400°C-on, miközben a gázok áramlási sebessége ~20 cm³/perc volt. A harmadik mintát kalcináltuk, tehát kemencében hevítettük 300°C hőmérsékleten levegő jelenlétében. Mivel fontos, hogy a katalizátor kellően homogén por legyen, a kezelés után a mintákat mozsárban dörzsöléssel összekevertük. A munka néhány mozzanata a 3. A és B ábrán látható.

3.2 A fotokatalitikus reakciók kivitelezése

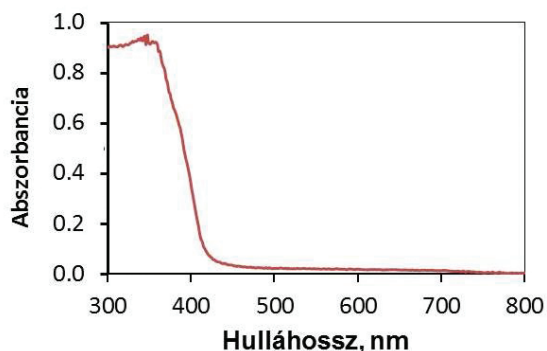
6%-os törzsoldatot készítettünk 30 cm³ glicerín és



4. ábra A fotoreaktor

470 cm³ víz felhasználásával. A glicerines vizes oldatot és a fotokatalizátorokat a fotoreaktor-rendszerbe tettük, amely felső megvilágítású, 270 cm³ térfogatú kvarc edényekből áll. Ez az eszköz tíz katalizátoros vizsgálatára alkalmas, de jelenleg egy csatornát használtunk. A reakcióhőmérséklet ~35°C volt, a túlmelegedést ventilátor segítségével akadályoztuk meg. A lámpa, amely nélkülözhetetlen a reakció kivitelezéséhez, Osram gyártmányú higanygőz lámpa volt, amely UV-A (365 nm) és látható komponensekből álló fényt adott. Az edényekben mágneses keverőt használtunk annak érdekében, hogy a katalizátorok ne ülepedjenek ki. A reaktoron keresztül folyamatosan N₂ gáz buborékolta át.

A fejlődő H₂ detektálása gázkromatográf (GC) történt, hővezető-képességi detektor segítségével. A kromatográfiai eljárások célja elválasztani egymástól a többkomponensű gáz, gőz vagy folyadékkeverékek összetevőit. Ez az elválasztás a komponensek két fázis közötti ismételt megoszlásán alapul. Az ebben résztvevő fázisok közül az egyik mozgásban van, ez a mobil vagy mozgófázis, az



5. ábra Diffúz reflexiós UV-látható spektrum

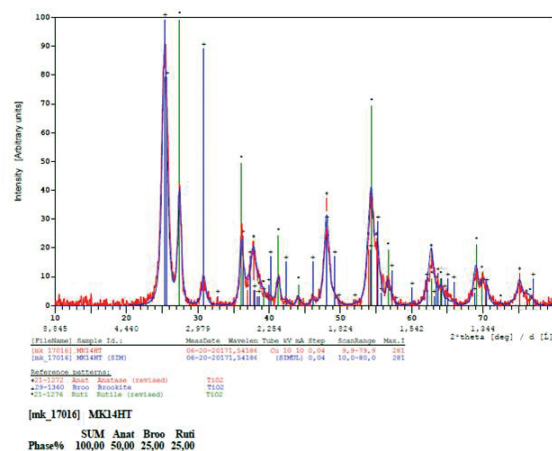
álló vagy stacioner fázis pedig helyhez kötött. A gázkromatográfiában a mozgó fázis mindig gáz, az állófázis pedig lehet szilárd (gáz-szilárd adszorpció kromatográfia), mint a mi esetünkben, vagy folyadék (gáz-folyadék megoszlási kromatográfia) is. Az eredményt a kromatogramon láthatjuk, amely az idő függvényében ábrázolja az oszlopból kimosódó komponensek által a detektorban keltett jel intenzitását. A mennyiségi meghatározáshoz negatív csúcsot adó argont használtunk belső standardként, vivógáz pedig a nitrogén volt (4. ábra).

4. Mérési eredmények és értékelésük

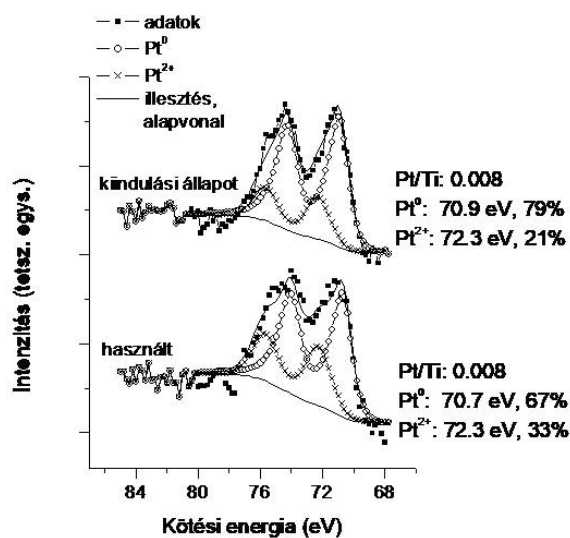
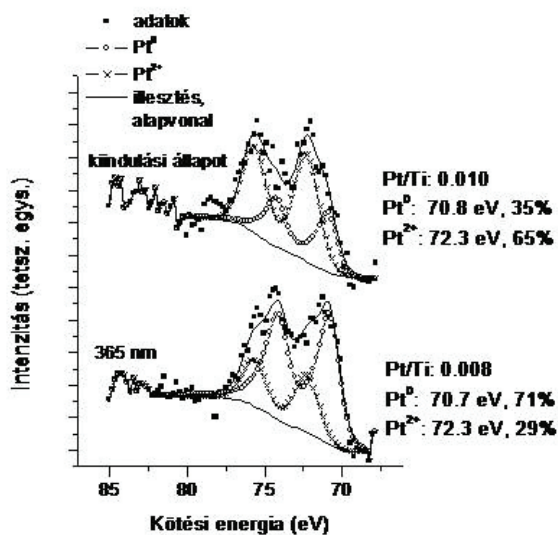
4.1 Katalizátorok jellemzése

Az előállított katalizátorok jellemzése azért fontos, hogy a szerkezet és a katalitikus tulajdonságok közötti összefüggéseket fel tudjuk tárni. A diffúz reflexiós UV-látható spektroszkópiás vizsgálat megmutatta, hogy a látható tartományba eső fényt nem tudtuk hasznosítani a reakció során, hiszen a TiO₂-nak 400 nm fölött már alig van elnyelése (5. ábra), összhangban azzal az ismerettel, hogy a TiO₂ tiltott sávja 3,1 eV körüli érték.

A röntgen diffrakció (XRD) módszert alkalmazva az derült ki, hogy a lecsapással és öregítéssel előállított TiO₂ polimorf módosulatok keveréke, 50% anatáz, 25% rutil és 25% brookit fázist tartalmazott (6. ábra). A röntgen-fotoelektron spektroszkópiás (XPS) mérésből (7. ábra) látható, hogy a kalcinált fotokatalizátor esetében a reakció során a platina csak részben redukálódott *in situ*, ellentétben a metanol fotokatalitikus reakciójában korábban megfigyeltekkel². A friss, N₂-ben bontott mintában a Pt redukáltabb állapotban volt, mint a friss kal-

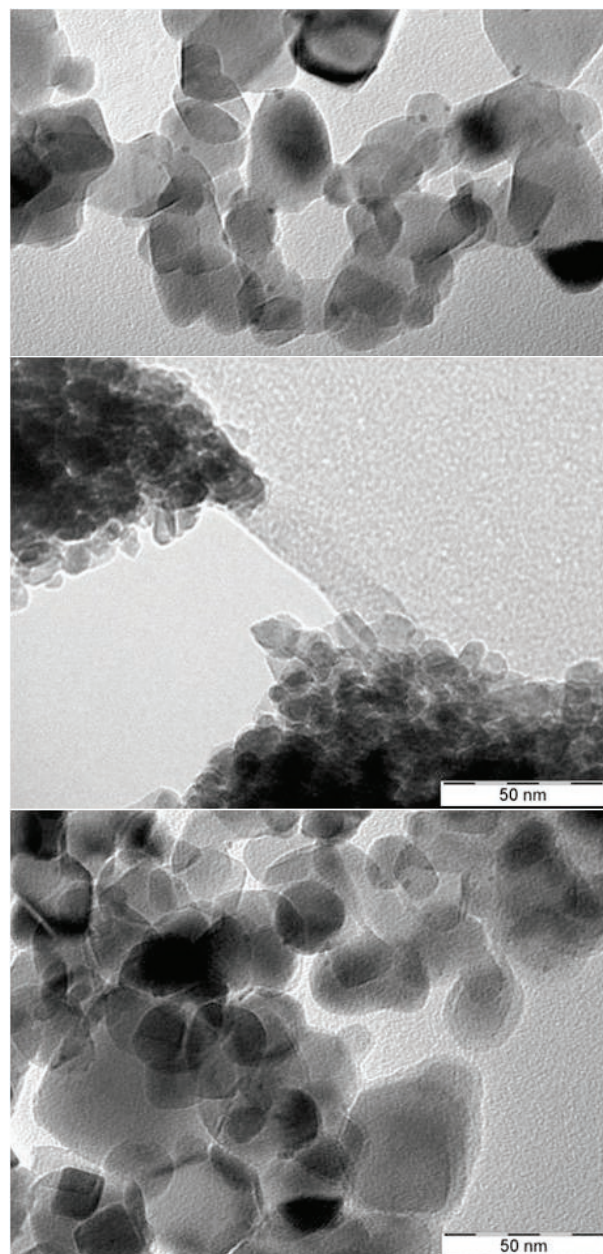


6. ábra A röntgen diffrakciós (XRD) vizsgálat eredménye



7. ábra A röntgen- fotoelektron spektroszkópiás (XPS) eredmények. A: kalcinált minta; B: nitrogénben bontott minta.

cinált mintában, de az irodalom³ alapján vártakkal szemben nem teljes mennyiségében volt redukált állapotban. A használt, N₂-ben bontott minta a használt kalcinált mintához hasonlított, de a Pt a kiindulási állapothoz képest kissé oxidáltabb volt (7. B ábra). A redukált minta esetében viszont a Pt szinte teljes mértékben Pt⁰ formában volt jelen. A fotokatalitikus reakció alatt a felületi platina és felületi titán aránya nem változott meg jelentősen. A redukált minta elektronmikroszkópos (TEM) felvételén (8.A ábra) látható, hogy a minta 2-3 nm-es fém platina szemcsékkel homogénezen borított. A kalcinált mintán nem láthatók fémes szemcsék



8. ábra transzmissziós elektron mikroszkópos (TEM) képek. A: A hidrogénben bontott redukált minta; B: kalcinált minta; C: nitrogénben bontott

(8.B ábra), míg a N₂-ben bontott minta (8.C ábra) esetén jóval kevesebb a fémesen kiredukálódott Pt a hidrogénben bontotthoz képest. Emellett a Pt szemcseméret-eloszlása is egyenetlen.

4.2 A fotokatalitikus reakció vizsgálata

A 9. A ábra a hidrogénfejlődést ábrázolja az idő függvényében. Látható, hogy a hidrogénképződés sebessége 1 óra reakcióidő után állandó értékre állt be, és a redukált minta egy nagyságrenddel jobb eredményt adott, mint a kalcinált és nitrogénben bontott minták. Ez még szembetűnőbb, ha a 270 perc reakcióidőhöz tartozó H₂ fejlődés értéke-

ket ábrázoljuk egymás mellett. A 9.B ábra a $88 \text{ m}^2/\text{g}$ fajlagos felületre vonatkoztatott adatokat mutatja. A redukált mintán kapott jó katalitikus eredmény azzal lehet összefüggésben, hogy ezen a mintán a Pt teljes mennyisége fémes állapotban, egyenletes eloszlásban 2-3 nm átmérőjű részecskék formájában volt jelen, míg a másik két mintán a Pt nem volt teljes mennyiségében redukált állapotban, 1 nm körüli Pt tartalmú részecskék is nagy számban megjelentek, melyek feltehetőleg szintén nem járultak hozzá a töltés-szeparációhoz, mivel túl kicsik ahhoz, hogy fémes fázisként viselkedjenek.

A fotokatalitikus reakció leállítását követően megmértük a reakcióelegyek kémhatását: a nitrogénben bontott mintához 6,44, a redukált mintához 4,17, a kalcinált mintához 6,32 pH-jú reakcióelegy tartozott. A legnagyobb fotokatalitikus aktivitáshoz tartozott a legsavasabb reakcióelegy, összhangban a 2. ábrán bemutatott reakcióesémával.

5. Összefoglalás

Munkám során három különböző ko-katalizátor formázási módszerrel (kalcinálás, magas hőmérsékletű hidrogénes, illetve nitrogénes kezelés) állítottam elő Pt/TiO₂ fotokatalizátort, melyek közül a magas hőmérsékletű hidrogénes redukció eredményezte a legaktívabb mintát.

Köszönetnyilvánítás

Először is szeretném megköszönni a lehetőséget az MTA TTK-nak, hogy részt vehettem ebben a fantasztikus táborban, valamint Gabi néni (Lendvayné Győri Gabriellának), amiért mindvégig gondunkat viselte. Hálás vagyok témavezetőimnek, Tóth Emília, Szijjártóné Majrik Katalinnak és Szijjártó Gábornak a kitartásért, amellyel a sok új ismeretet próbálták a fejembe önteni, illetve amiért betekintést nyerhettem a munkájukba, és a rengeteg segítségért, amit tőlük kaptam. Turi Ildikónak köszönöm a gyakorlati munkában nyújtott segítségét. Vass Ádámnak és Pászti Zoltánnak köszönettel tartozom a katalizátorok jellemzéséért.

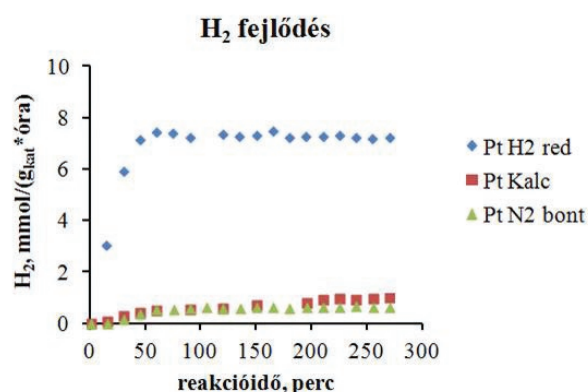
Hivatkozások:

¹ Szijjártóné Majrik Katalin - Leccsapással, öregítés-sel kapott TiO₂ előállítás: 90 ml desztillált vízbe folyamatos kevertetés mellett 5 ml Ti-izopropoxidot csepegtetett, ekkor pehelyszerű kicsapódást lehetett megfigyelni. 5 perc után 5 ml cc. HNO₃-t adott

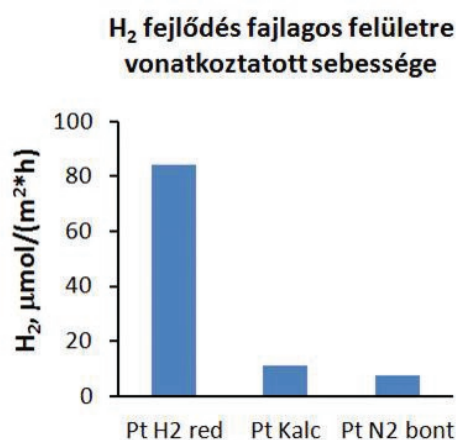
az elegyhez. Az oldat kb. 30 perc elmúltával kitisztult, ezt követően szobahőmérsékleten 4 napig kevertette (aging). Ezután 60 °C-on bepárolta, 12 órára szárítószekrénybe tette, majd összemozsarázta. Végül 400°C-on kalcinálta 5 órán át (10 °C/min felfűtéssel).

² E. Tóth, Z. Pászti, L. Korecz, A. Domján, P. Németh, G.P. Szijjártó, J. Mihály, A. Tompos, PtO_x-SnO_x-TiO₂ catalyst system for methanol photocatalytic reforming: Influence of cocatalysts on the hydrogen production, Catalysis Today, in press <http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2017.02.009>

³ M. K. Oudenhuijzen, P. J. Kooyman, B. Tappel, J. A. van Bokhoven, D. C. Koningsberger: Understanding the influence of the pretreatment procedure on Platinum particle size and particle-size distribution for SiO₂ impregnated with [Pt²⁺(NH₃)₄](NO₃)₂: a combination of HRTEM, Mass Spectrometry, and Quick EXAFS. Journal of Catalysis 205, 135–146 (2002)



9. A ábra Hidrogénfejlődés az idő függvényében



9. B ábra A hidrogénfejlődés fajlagos felületre vonatkoztatott sebessége

Liposzómás gyógyszerhordozó rendszerek

Fraknói Ádám

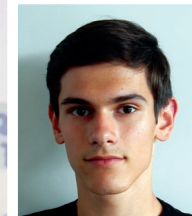
Jedlik Ányos Gimnázium, Budapest

Kegyés Dávid-Valentin

Kölcsey Ferenc Főgimnázium, Szatmárnémeti, Románia,

Ujvári Kamilla

József Attila Gimnázium és Közgazdasági Szakgimnázium, Monor



témavezetők:

Dr. Szigyártó Imola Csilla, Deák Róbert, Dr. Mihály Judith

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

Bevezetés

Az egyhetes kutótáborozásunk a liposzómák világába kalauzolt minket. A liposzómák története a 60-as évekig vezet minket vissza: Az első foszfolipid kettősréteget 1961-ben fedezte fel Alec D. Bangham egy elektronmikroszkóp tesztelése közben. 1965-ben, amikor a felfedezés nyilvánosságra került, sokan kezdték kutatni ezeket a rendszereket, mert a modern orvostudomány jövőjét látták benne. Mára nemcsak ezen a területen alkalmazzák, hanem például a kozmetikai iparban is nagy szerepet töltenek be a liposzómás arckrémek.

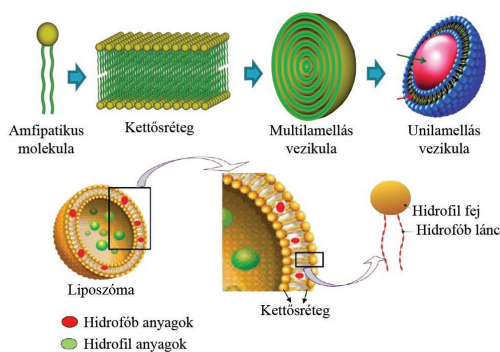
A filmtabletták, kapszulák, porok, kúpok mellett a nanohordozók még nem annyira elterjedtek, de

jelenleg ezek adják a gyógyszeripar legérdekesebb és leginnovatívabb területét. A gyógyszerhordozó nanorendszerek lehetnek polimer, lipid, fém vagy más szervesen alapúak, de a kutótáborban csapatunk kizárólag a liposzómás gyógyszerhordozókra összpontosított. A liposzómába csomagolt anyag azért ígéretesebb társainál, mert növeli a hatóanyag biohasznosulását, a szervezetbe célzottan bejuttatható, kisebb mennyiségben és kevesebb mellékhatással fejt ki ugyanazt a hatást. Mindezek a tulajdonságok főleg a vízben rosszul oldható és súlyosabb mellékhatással rendelkező gyógyszereknél előnyösek.

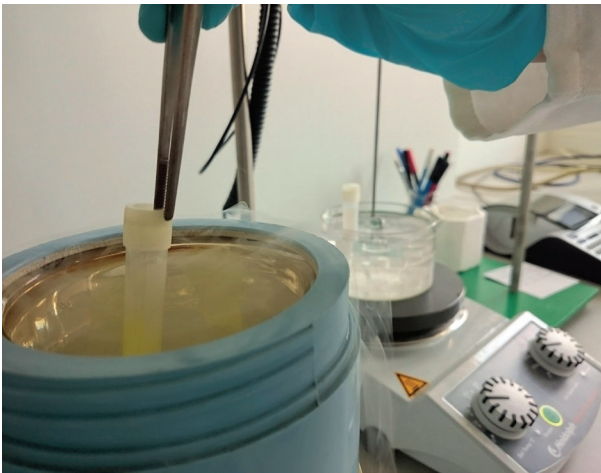
A liposzómáink összetétele

A liposzómák általánosan három fő komponensből állnak:

- 1) **Lipidek:** A liposzóma nélkülözhetetlen alapja, témavezetőink választása a DOPC-re (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) esett.
- 2) **Pufferek (hidratáló közeg):** A PBS (Phosphate Buffered Saline) nevű anyagot használtuk.
- 3) **Gyógyszerhatóanyag:** Jelen esetben a *kurkumin*, mely a kurkuma fűszernövény hatóanyaga. A kurkumin zsírban oldódó antioxidáns. Bár számos egészségre pozitív hatása van, rossz vízoldhatósága miatt gyógyászati/gyógy-szeripari alkalmazása nem elterjedt.



1. ábra Liposzómák felépítése



2. ábra Hőtornáztatás

A liposzómák foszfolipidekből épülnek fel. A foszfolipidek a glicerinnel két zsírsav és egy foszforsav molekulával képzett észterei. A lipidek amfipatikus molekulák, vagyis a molekulának a nagyobbik része a hidrofób, a kis poláris fejrésze pedig a hidrofil egységét képezi. Ezek vízben kettősréteggé állnak össze, majd rázás hatására keverednek és gömböské záródnak, ún. multilamellás (többrétegű) vezikulákká, de extrudálással könnyen átalakíthatóak unilamellás (egyrétegű) vezikulákká. Az unilamellás vezikula olyan, mint egy golyó, közepét víz vagy az adott poláris oldószer tölti ki. Ezekben a gyógyszerhatóanyag polaritásától függően helyezkedik el: ha poláris, akkor a gömb belsejében, ha apoláris, akkor a kettősrétegben vagy rátapadva a kettősrétegre, ha pedig a hatóanyag poláris és apoláris egységeket is tartalmaz (pl. kurkumin), akkor mindkét helyen megtalálható [1. ábra].

A minták elkészítése

A rövid elméleti felkészítés után belevágtunk a gyakorlati részbe. Ahhoz, hogy vizsgálni tudjuk a liposzómáinkat, előbb elő kellett állítsuk azokat. A munkafolyamat a következőképpen nézett ki: az



3. ábra Mintáink extrudálás előtt és után



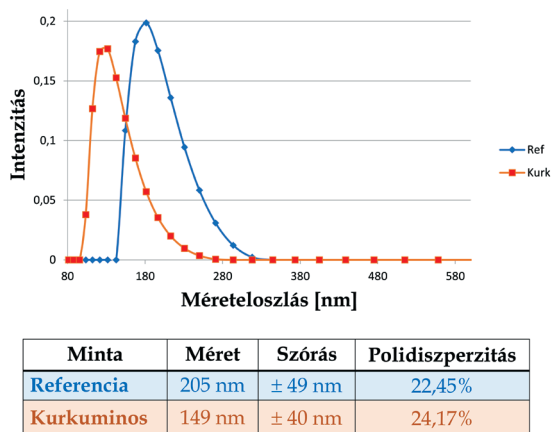
4. ábra Minta kimérése küvettába DLS mérés előtt

összetevők kimérése után két oldatot készítettünk, egy referenciát, amely csak a DOPC-t tartalmazta és egy ugyanilyen koncentrációjú DOPC-t, amelyhez kurkumint is adtunk. A szilárd DOPC oldószereként 2:1 arányban kloroformot és etanolt használtunk. Rotációs vákuumbepárló készülék segítségével elpárologtattuk oldatainkról az oldószert, majd vákuum szárítóban hagytuk éjszakára, hogy az esetleges oldószer maradványok is teljesen elpárologjanak. Következő nap PBS oldattal hidratáltuk az üveg falán keletkezett DOPC és DOPC-kurkumin lipid filmet, ezzel megvalósítva a kettős rétegek gömbbé záródását. Ezután mintáinkat hőtornáztattuk, azaz tízszer melegítettük fel és hűtöttük le őket melegített vízfürdő és folyékony nitrogén segítségével, ennek eredményeképpen egy homogén oldatot kaptunk. Végül az így kapott multilamellás vezikulákat unilamellás vezikulákká kellett átalakítanunk. Mintáinkat 200 nm-es pórusú membránon extrudáltuk nagy nyomáson [2. ábra] [3. ábra].

Mérések, eredmények kiértékelése

Dinamikus fényszórás

Megvizsgáltuk liposzómáink méreteloszlását. Ezt dinamikus fényszórás (DLS) segítségével határoztuk meg. A küvettába töltött mintánkat a készülékben egy lézernyaláb világítja meg, majd a benne lévő detektor a szórt fényt méri. A műszer ezekből az adatokból számolja ki a minta részecskéinek átlagos nagyságát, miközben a részecskéinket gömb alakúnak tételezi fel. Hőtornáztatás után, extrudálás előtt végezve a mérést mintánk inhomogénnek bizonyult, méreteloszlása túl széles volt. Érdekes, hogy extrudálás után a kurkuminos oldatunkban lévő molekulák méretei (kb. 150 ± 40 nm) kisebbek voltak, mint a referencia oldatban lévő



5. ábra Liposzómák méreteloszlása a DLS szerint

molekuláké (kb. 200 ± 50 nm) [4. ábra], [5. ábra]. A kurkuminos mintánkban nem záródott be minden kurkumin molekula a liposzómák belsejébe, hanem a külső közegben is maradtak molekulák. Ezeket a későbbi betöltési határfok vizsgálat érdekében méretkizárásos oszlop kromatográfiával (G25-s oszlop) eltávolítottuk. További vizsgálatokat ezután a művelet után végeztük el.

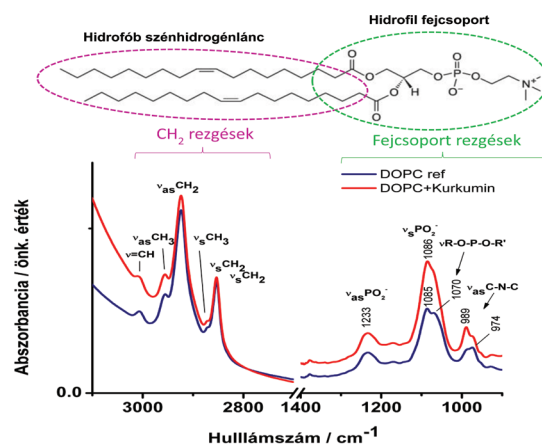
Infravörös spektroszkópia

Infravörös spektroszkópiával a kurkumin és a lipid molekulák közötti kölcsönhatást vizsgáltuk. A vizsgálat azon alapszik, hogy a molekulák atomjai, atomcsoportjai egymáshoz képest állandó mozgásban vannak. A molekulák rezgései nem véletlenszerűek, azokat a kvantummechanika törvényei szerint az atomi tömegek és az atomokat összekötő kötések erőssége határozza meg.

A különböző funkciós csoportok rezgései az infravörös fény hatására gerjesztődnek. Minden funkciós csoport adott hullámhosszon nyel el (abszorbeál) fényt, ezek ismeretében meg lehet állapítani anyagunk összetételét. A mérés megkezdése előtt folyékony nitrogént töltöttünk a spektrométerbe, majd a méréshez a mintánkból egy gyémántkristályra csepegtettünk 5-5 ml-t. A referencia, illetve a kurkuminos mintáink spektruma a lipidek foszfát-csoportjainak fényelnyelésében különbözött, ebből arra következtethetünk, hogy a kurkumin a liposzómánkban nem a lipidek szénláncai között, hanem a fejcsoportok közelében helyezkedik el [6. ábra] [7. ábra].

UV-látható spektroszkópia

Ezzel a módszerrel a kurkumin bezáródási határfokát akartuk megtudni. Ehhez először egy kalibrációs

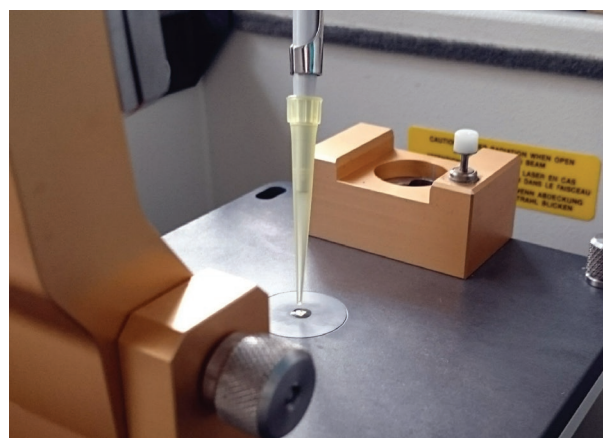


6. ábra Infravörös spektrumok

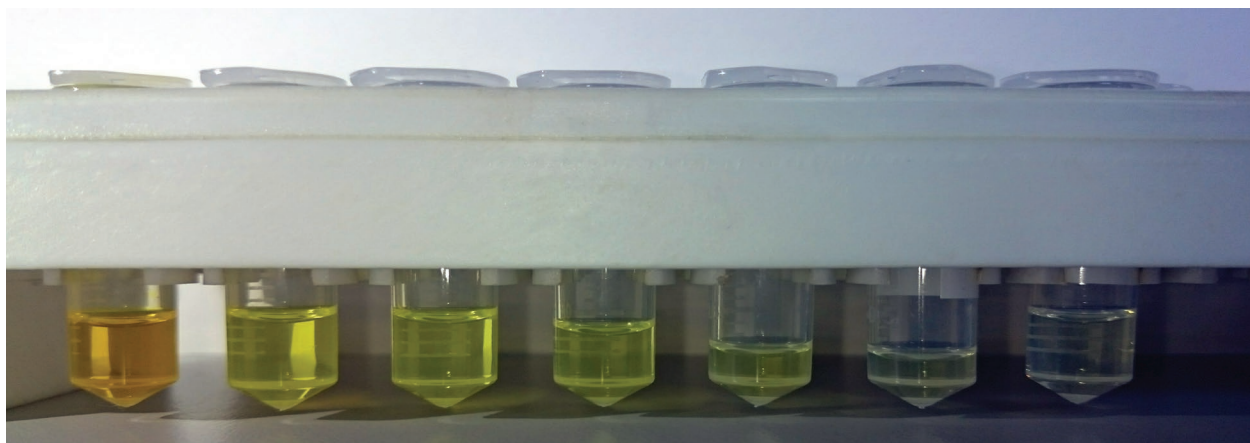
sort kellett készítenünk. Ismert koncentrációjú kurkuminos oldatok fényelnyelését vizsgáltuk a fény hullámhosszának függvényében. Majd az abszorbanca maximális értékét ábrázoltuk a kurkumin oldat koncentrációjának függvényében, így kaptunk egy kalibrációs görbét [8. ábra]. Ezután az ismeretlen koncentrációjú kurkumin koncentrációját is meg tudtuk határozni a kalibrációs görbe alapján. Ebből a bezáródási határfokot kiszámoltuk, ami 80% lett. Ez azt jelenti, hogy a mintakészítésnél bemért kurkumin 80%-a sikeresen a liposzómákba jutott [9. ábra].

Lineáris dikroizmus spektroszkópia

A mérés elve: a mintára két, egymásra merőleges síkban polarizált fénykomponenst bocsátanak, és ezek elnyelésének különbségét mérik. Képletel leírva. Majd az így kapott görbét ábrázolják (x tengelyen a fény hullámhossza, y tengelyen az LD). Amennyiben a kapott görbe a referenciánkhöz képest felfelé helyezkedik el, akkor a gyógyszer ható-

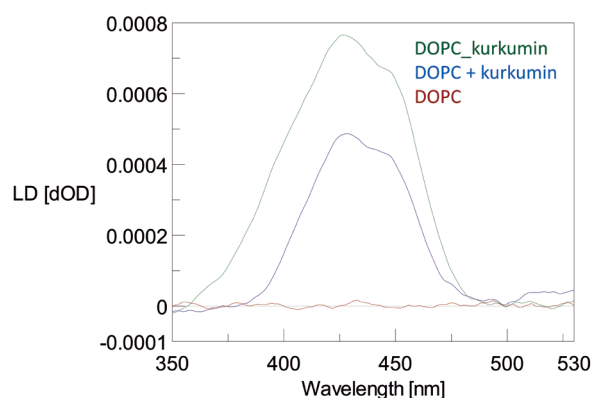


7. ábra Az infravörös spektrométer gyémánt mérőegysége

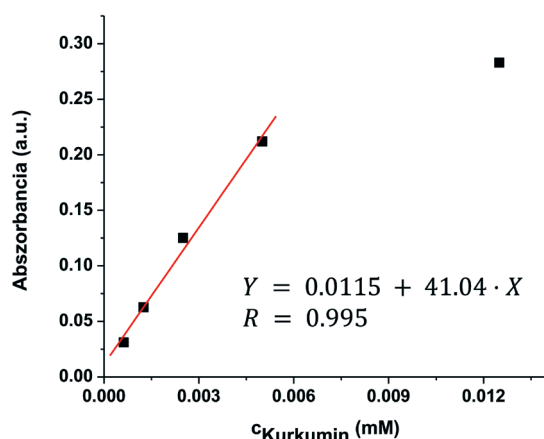


8. ábra Hígítási sor a kalibrációs görbe meghatározásához

anyaga a liposzómában a hidofil fejnél helyezkedik el, ha pedig lefelé, akkor a hidrofób szénláncoknál. Mintáinkat egy áramlásos Couette cellába helyeztük el, majd a cellát egy gépben különböző fordulatszámokon (3000 és 5700 rpm) forgattuk. A műveletet



10. ábra LD eredmények



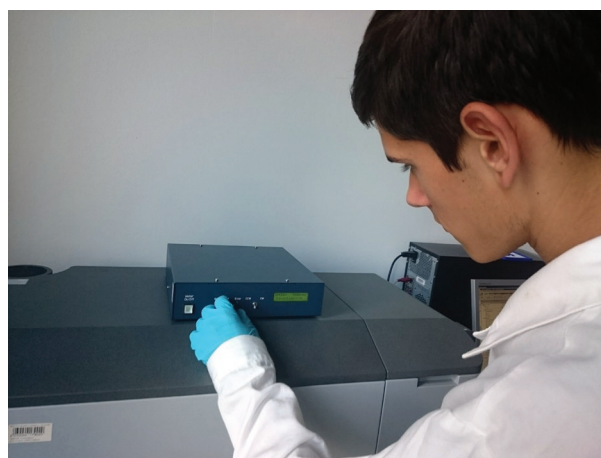
9. ábra Kalibrációs görbe

összesen három mintával végeztük el, sima DOPC oldattal (referencia), kurkuminos DOPC oldattal és kurkumin+DOPC oldattal, ez utóbbinál utólag – a vizsgálat előtt – adtuk hozzá a kurkumint.

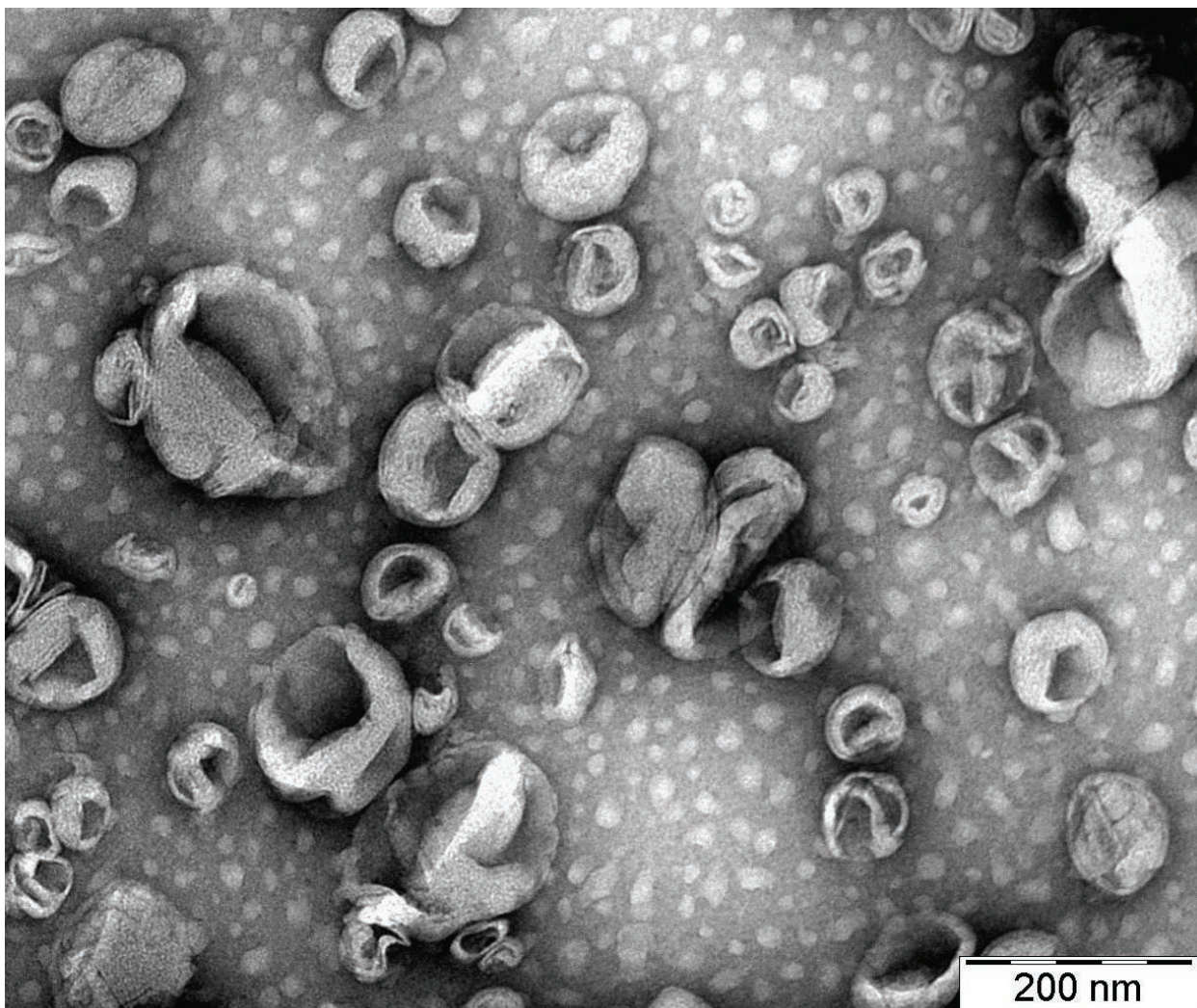
A grafikonon a kurkuminos DOPC oldat görbéje a referencia oldat görbéje fölött található, tehát a hatóanyagunk a hidofil fej közelében helyezkedhetett el [10. ábra]. Azt tapasztaltuk továbbá, hogy nagyobb pörgési sebességhez nagyobb jel tartozik, kivéve, amikor utólag adtuk hozzá kurkumint. Ennek oka, hogy a kurkumin molekulák lazábban kötődtek a liposzómákhoz, hiszen nem a kettősréteg belsejében helyezkedtek el, hanem kívülről kötődtek a liposzómákhoz gyenge másodrendű kölcsönhatással [11. ábra].

Összegzés

A célunk kurkuminos liposzóma elkészítése, majd biofizikai jellemzése volt. Munkánk során megis-



11. ábra Forgási sebesség beállítása az LD műszeren



12. ábra Liposzómák elektronmikroszkópos képe

merkedhettünk számos alapvető laboratóriumi művelettel (analitikai mérleg, automata pipetta használata) és műszerrel, mint például elektronmikroszkóppal, UV-Vis spektrofotométerrel, LD spektroszkóppal, infravörös spektrométerrel és még sok más laborberendezéssel. A vizsgálatok során kapott eredményeket kiértékelve a következőket mondhatjuk el:

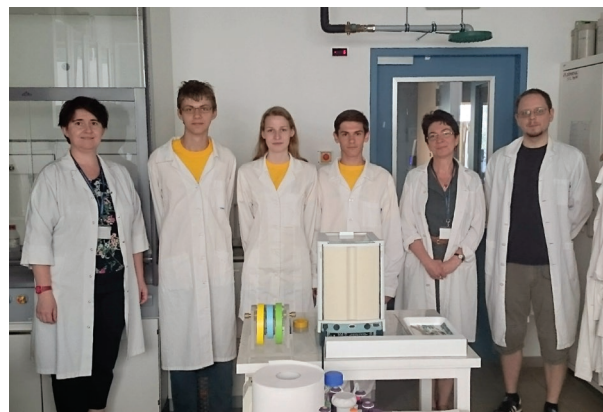
- Liposzómáink átlagosan kb. 200 nm-esek voltak.
- A kurkumint 80%-os hatásfokkal sikerült bezárunk.
- A kurkumin a hidofil fejcsoportnál helyezkedik el.

A liposzómáinkat elektronmikroszkóp alatt is megnéztük, ahol szépen kirajzolódtak a liposzómák **[12. ábra]**.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnénk köszönetünket kifejezni, hiszen

témavezetőink, a tábor szervezői és a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont Anyag- és Környezetkémiai Intézet támogatása nélkül most nem írhatnánk ilyen büszkén az első közös publikációnkat a Krónikába. Hálásan köszönjük az élményt **[13. ábra]**!



13. ábra Témavezetőinkkel együtt

Gyógyszer rezisztenciát okozó fehérjék vizsgálata

Bereczki Kristóf

SzTE Gyakorló Gimnázium, Szeged

Dobolyi Zsófia

ELTE Apáczai Csere János Gyakorló Gimnázium, Budapest

Horváth Ákos

Bonyhádi Petőfi Sándor Evangélikus Gimnázium



émavezetők:

Dr. Telbisz Ágnes, Horváth Tamás

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet

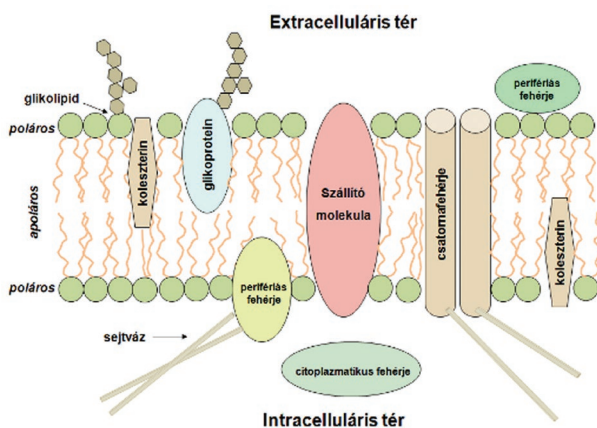
Bevezetés

Az előző tanévben nagyon sokat foglalkoztunk kémiával, illetve biológiával főként a közelgő érettségi, és versenyek kapcsán. Így elhatároztuk, hogy megírjuk pályázatainkat a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont „AKI Kíváncsi Kémikus” egy hetes nyári kutatótáborára, amelyet idén már a kilencedik alkalommal rendeztek meg. A jelentkezéshez három témát kellett megjelölnünk, és végül mind abban a témában kutathattunk, ami a legjobban érdekelt minket, azaz a gyógyszer rezisztenciát okozó fehérjék vizsgálatával.

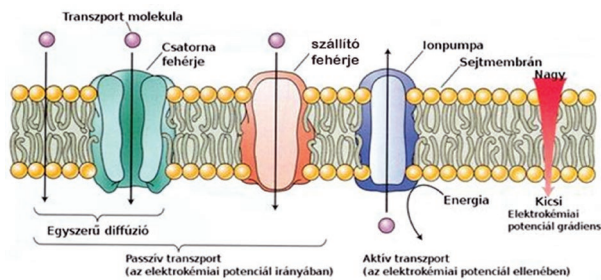
Témánk

De mi is az a gyógyszer rezisztencia? A szervezetünkbe nagyon sokféle kórokozó juthat be, ilyenek pl. a vírusok, baktériumok, gombák, illetve a szervezet saját sejtjeinek kóros szaporodásával ráksejtek keletkezhetnek, melyek túlélnek és szaporodnak a szervezetünkben. A gyógyszereknek az a célja, hogy a kórokozókat, ráksejteket elpusztítsák, vagy megakadályozzák szaporodásukat. Ha a kórokozó, illetve ráksejtek a kezelés ideje alatt szaporodni képesek, vagy akár csak nem pusztulnak el, akkor mutációk alakulhatnak ki, így már nem tud hatni rájuk a gyógyszer, úgynevezett rezisztencia alakul ki, így idővel a terápia hatástalanná válik.

A fehérjék az élőlények alapvető molekulái, számos feladatot látnak el bennünk: lehetnek pl. enzimek, hormonok, alvadásképzők, felelnek izmaink mozgásáért. A kettős lipidmembránba (1. ábra) beágyazva különböző funkciójú membránfehérjék találhatóak. A membránon az anyagok több úton képesek átjutni. Van aktív, valamint passzív transzport (2. ábra). Az általunk vizsgált aktív transzport makromolekulák vagy töltéssel rendelkező molekulák esetén működik, amelyek nem képesek maguktól áthatolni a sejthártyán, így a membránfehérjéknek kell őket „átpumpálnia”. Mi a fehérjék egy különleges csoportjával, a multidrog transzporterek közé tartozó ATP Binding Cassette (ABC) transzporter



1. ábra: A kettős lipidmembrán

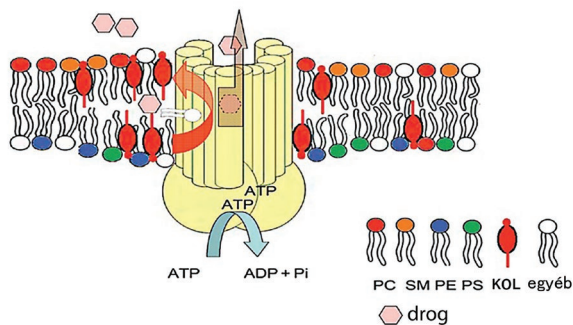


2. ábra: Aktív-, illetve passzív transzport sematikus ábrája

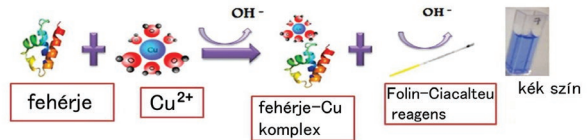
fehérjékkal dolgoztunk (3. ábra). A multidrog rezisztencia fehérjék olyan membrán transzporterek, amelyeket ATP hasítás energiája révén számos gyógyszert, citosztatikus vegyületet képesek kipumpálni a sejt belsejétől. Ezen transzportereknek három fő fajtája létezik, ezek az ABCB1, ABCG2 (mi ezzel a kettővel foglalkoztunk), valamint az ABCC1.

Kutatásunk célja

A táborban töltött idő alatt célunk egy ABC multidrogtranszporter fehérjét kifejező emlős sejt drogtanszportjának mérése volt, továbbá egy eddig – általunk vizsgált fehérjékre – ismeretlen hatásokkal bíró kísérleti drogot teszteltünk. Ezen vizsgálatainkat a már említett ABC multidrog transzporterekre hajtottuk végre. A drogtesztelésnek nagyon fontos lépése ez a vizsgálat, ugyanis a fehérje és a gyógyszer molekula interakciója döntő fontosságú lehet a gyógyszer sejten belüli hatására és további sorsára. Amennyiben a vizsgált anyag (például egy antibiotikum) szubsztrátja valamely ABC transzporternek, az könnyedén kipumpálja az előbbi a sejtből, ezzel megakadályozva, hogy kifejtsen hatásait a célsejtekben. Munkánk során modellsejteket vizsgálunk *in vitro* technikával, melynek lényege, hogy az adott mérés nem az élő szervezetben, hanem azon kívül zajlik le. A kutatásunk céljának megfelelő sejtvoalakra – ezek esetünkben Sf9 rovarsejtek voltak – témavezetőink bevitték az ABC fehérje génjét bakulovírus segítségével, majd az ABCG2-bakulo-

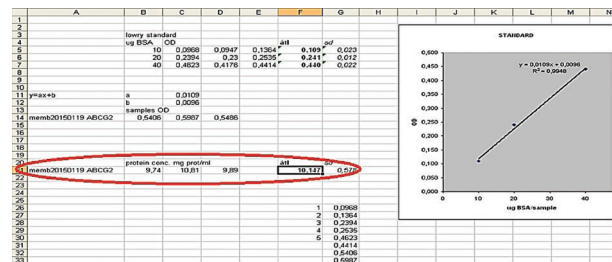


3. ábra: ABC transzporter fehérjék működése



4. ábra: A két reakció, mely együttesen okozza a kialakuló komplex kék színét

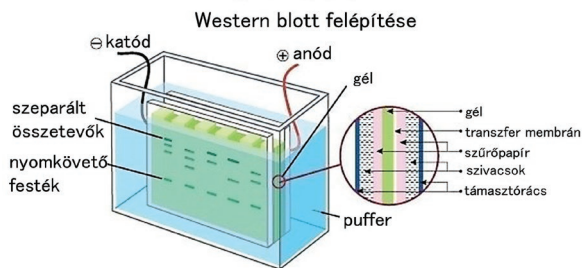
vírussal fertőzött sejtek expresszálták a kívánt fehérjéket. Ez a néhány, nem általunk végzett lépés készítette elő számunkra azt a membránpreparátumot, amelyen elvégezhetjük a méréseket. A lentebb felsorolt kísérletek végeztével az adatok összegyűjtése és kielemezése következett. Ez komoly feladatnak ígérkezett, különösen a rengeteg információt tekintve, ami a több kontrollt és különböző koncentrációkat használó mérésekben keletkezett. Azonban mindez kulcsfontosságú volt az eredmények megbízhatóságához, és a végkövetkeztetés helyes levonásához.



5. ábra: A Lowry-féle protein meghatározás eredménye

A Lowry-féle protein meghatározás

Végcélunk szempontjából nagy szükség volt a korábban említett membránpreparátum összfehérje tömegének meghatározására, amit viszonyítási alapként használtunk. A Lowry-féle protein meghatározás egy kromogén, más néven színeképző eljárás, amikor a fehérje és egy szerves vegyület által létrehozott színes komplex elnyelését mérjük spektrofotométer segítségével. A fehérjemennyiségtől függően létrejövő erős kék színt két reakció hozza létre; a peptid kötés nitrogénjének koordinációja Cu^{2+} ionnal, és a fenollal reagáló Folin-Ciocalteu-reagens tirozin általi redukciója (4. ábra). Egy meghatározott hullámhosszon (660 nm) az elnyelés mértéke egyenesen arányos a minta összfehérje-koncentrációjával. A meghatározáshoz



6. ábra: A gélelektroforézis során használt szerkezet felépítése

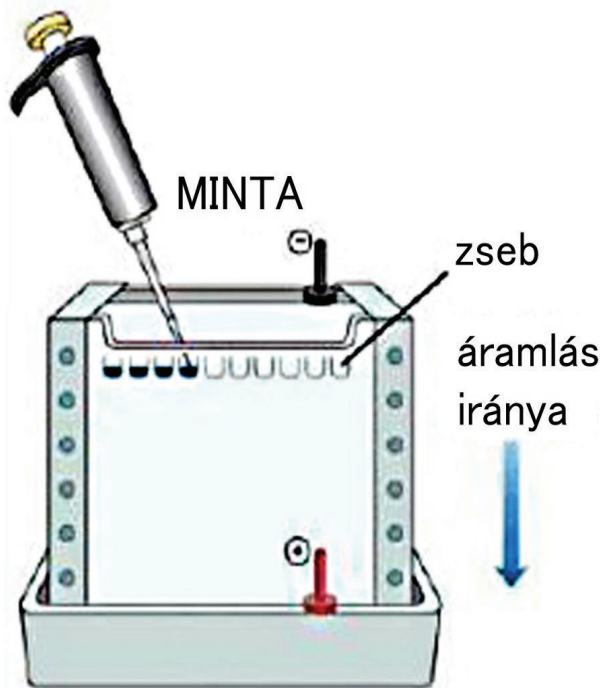
és az ellenőrizhetőség érdekében kalibrációs egyenest is készítettünk ismert koncentrációjú szarvasmarha szérum albumin (BSA) oldattal, és az ismeretlen fehérjekoncentrációt a grafikonról olvastuk le. Az eljárás előnyei közé sorolandó, hogy rendkívül érzékeny, akár 1 µg fehérjét is képes kimutatni, ugyanakkor kivitelezése lassú és számos anyag (pl. glicin) zavarja. A Lowry-féle proteinmeghatározás eredményét az 5. ábra szemlélteti, a grafikon alapján kiszámoltuk a membránpreparátum fehérje koncentrációját mg/ml egységben.

SDS-Page gélelektroforézis és western blott (6. ábra)

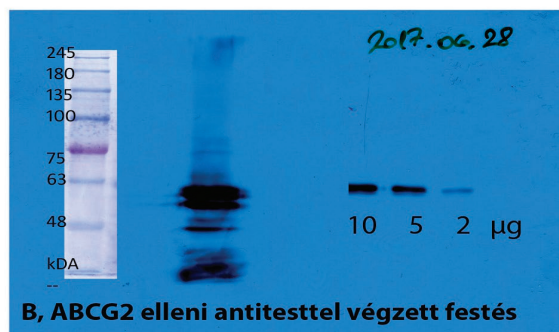
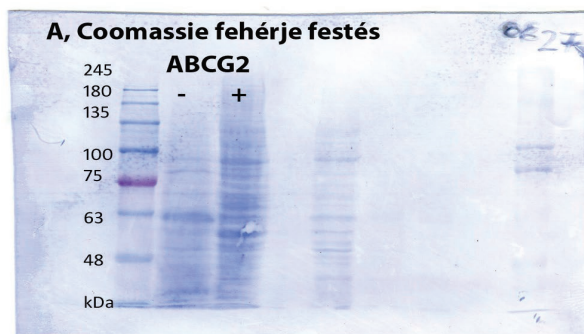
A gélelektroforézis módszerrel a fehérjék méret szerinti elválasztása volt a célunk. A gél maga poliakrilamid alapú, melynek monomerje egy rákkeltő

hatású vegyület, az akrilamid, így fokozott elővigyázatosságot igényelt a gél előállítás. A polimer forma azonban már nem káros az egészségre nézve. A fehérjeminta előkészítésének első lépéseként denaturáltuk a fehérjéket. Ez történhet fizikai úton hőkezeléssel, vagy kémiai úton erős savak vagy bázisok, továbbá egyes sók és szerves anyagok (pl. jelen esetben detergens) adagolásával. A denaturálás során a fehérjék elsődleges szerkezete sértetlen marad. A másodlagos, különösen pedig a harmadlagos és negyedleges szerkezetben azonban alapvető változások történnek, kitekerednek és negatív össztöltést kapnak.

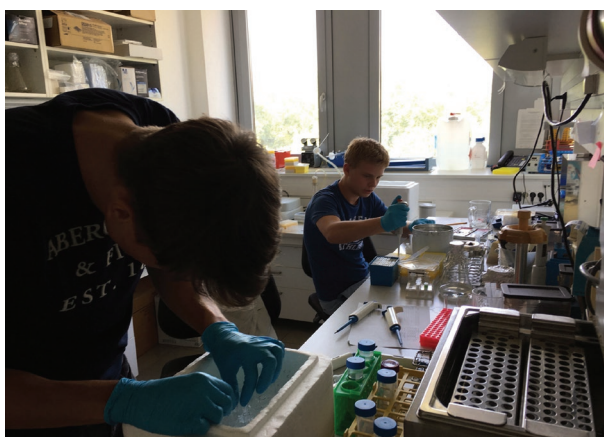
A denaturálás után következett a szétválasztás méret szerint. A fehérjéket az elkészített gél lapon lefuttattuk a felső zsebkéből, ennek során a negatívan töltött fehérjék a + pólus felé áramlottak méretük szerinti sebességgel (7. ábra). A vizsgálat tárgyát képező fehérjét specifikus antitest kötés alapján lehet azonosítani. Ehhez a gél lapról átfuttattuk a fehérjéket azonos elhelyezkedéssel egy poli-vinilidén-difluorid (PVDF) membránra, majd ezt a membránt megjelöltük a megfelelő antitesttel. Ezeket a folyamatokat nevezzük western blotolásnak. A minta felvitelhez színes puffert alkalmaztunk, amely mutatta a fehérjefront haladását, valamint hogy meddig kell folytatni az elektroforézist. Az elektroforézis befejezése után a gélen a fehérjéket Coomassie festéssel megfestettük. A



7. ábra: A fehérjék gél lapon való lefuttatása



8. ábra: A Coomassie festés és az antitesttel való festés eredménye

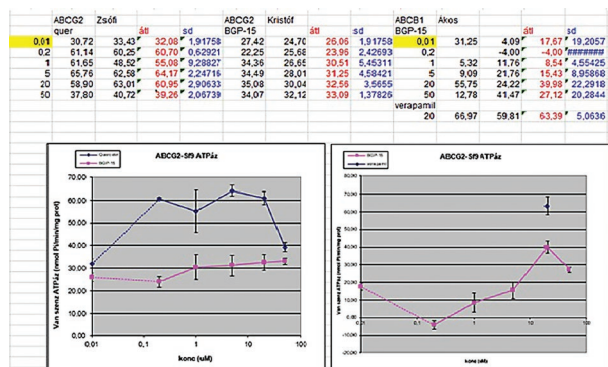


9. ábra: Munka közben

legvégén a PVDF membránt is megfestettük Coomassie fehérje festéssel. A célzott fehérje festéshez specifikus antitestre (elsődleges antitest) és egy ehhez specifikusan kapcsolódó jelölt másodlagos antitestre van szükség, ami a fehérje megjelenítését szolgálja. A jelen esetben a másodlagos antitesthez kötött enzim révén egy lumineszkáló szubsztrátum sötét foltja jelezte a pontos helyet röntgen filmen előhívva. A 8. ábrán jól látható, hogy a minden fehérjét megjelenítő Coomassie festés során erőteljesen megfestődtek az Sf9-sejtekben lévő különböző fehérjék. Az antitesttel végzett specifikus festés láthatóvá teszi azt a csíkot, amely az ABCG2-t tartalmazza. A markersorral / létrával összevetve pedig a kimutatott fehérjék (ABCG2) méretét is meg tudtuk állapítani. Az ábrán látható, hogy kb. 63 kDa volt a keresett fehérjék tömege.

Az ATPáz aktivitás mérése (9. ábra)

Az ABC multidrog transzporterek által végzett drogtanszport ATP függő. Az ATPáz aktivitás szorosan kapcsolt a drogtanszporthoz, ezért a drogkölcsonhatás vizsgálata lehetséges az ATPáz aktivitás mérésén keresztül. Először a multidrog fehérjét termelő sejtekből membránt preparáltunk, majd 37°-on

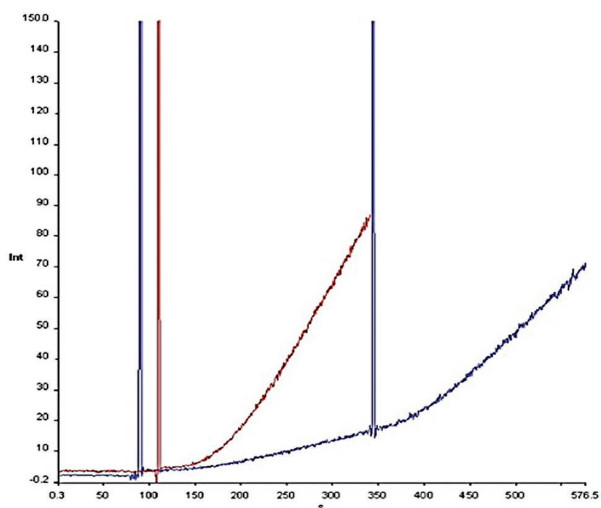


10. ábra: Az ATP aktivitás mérésének eredménye

inkubáltuk a membránt ATP és a vizsgálandó drog jelenlétében. A reakciót 30 perc után leállítottuk, és komplexképzés révén megmértük a felszabadult szervetlen foszfát mennyiségét fotometriával. A különböző körülményekkel kapott adatokat össze kellett vetni, hogy pontos képet kaphassunk a transzport aktivitásáról. Először, miután az általunk használt membránpreparátumban nem csak ABC transzporterek voltak, le kellett vonni a háttéraktivitást, amely minden más ATP-bontó tevékenységgel rendelkező enzimtől jöhetett. Ezt úgy értük el, hogy egy ismert ABC transzporter-inhibitorral blokkoltuk a mi fehérjénk aktivitását, ekkor a kapott eredmény csakis a többi enzim aktivitását mutatta. Ezt a végső eredményből levonva ki lehetett szűrni a legtöbb háttérzajt. Továbbá a transzporterünknek volt egy alapaktivitása, azaz a vizsgálandó drog hozzáadása nélkül is volt valamekkora ATP-bontó képessége. Amennyiben azonban drog hozzáadása nélkül mérjük meg az aktivitást, majd levonjuk az előbb már megkapott háttérzajt, megkaphatjuk az ABC transzporterek alapaktivitását. Ezen adatok ismeretében és a különböző droghígításokkal kapott eredményekkel már egy viszonylag tiszta képet kaphattunk arról, hogy mekkora volt az ABC transzporterek specifikus aktivitása (10. ábra). Ha egy diagramra felvázoljuk az alapaktivitást a drog hozzáadása előtt és a transzporter aktivitását a különböző hígítású drogdátok hozzáadása után, kirajzolódik előttünk, hogy mennyivel növelte meg a gyógyszer a transzmembránprotein aktivitását. Ebből következtethetünk arra, hogy előbbi milyen mértékben aktiválta utóbbit, vagyis, hogy a drog szubsztrátja-e a transzporternek. Az ABCG2-es transzporter esetében különösebb emelkedés nem volt megfigyelhető az általunk vizsgált vegyület esetében, míg az ABCB1-esnél egy ponton nagyobb mértékű aktiválódást tapasztalunk. Ez azt jelenti hogy az ABCG2-esnek nem szubsztrátja az általunk vizsgált drog, míg az ABCB1 szelektíven transzportálja a vizsgált anyagot. Tehát az ABCB1-est nagy mértékben expresszáló sejtek kilökhetik a kísérleti gyógyszert magukból, így semlegesítve annak hatását.

ABC multidrogtranszporterek transzport mérése fluoreszcens szubsztráttal

A tábor utolsó napján az ABCB1 multidrog transzporter transzportját calceinnel mértük. Az elvégzett kísérletünkben egy látványos diagramot (11. ábra) kaptunk, amely szépen mutatja a calcein szintjének a növekedését a sejtekben, miután beadtuk nekik az ABC transzporter inhibitor verapamilt. Az



11. ábra: Az ABCB1 fehérjét tartalmazó sejt és a parentális sejt diagramja calcein hatására

első két hirtelen kiszögellés a calcein vegyület beadásának pillanata. A piros görbe azokat a kontroll sejteket mutatja, melyek alpból nem fejeznek ki ABCB1-et. Ezekben a sejtekben a calcein vegyület kipumpálása nem túl intenzív, így az könnyedén felszaporodhat. A kék görbe azokat a sejteket mutatja, melyekben azonban a mesterségesen bevitt transzporter génről sok ABCB1 keletkezik, így azok a sejtek gyorsabban pumpálták ki magukból a festékanyagot. Azonban a harmadik kiszögellés, azaz a verapamil beadásának pillanata után a gör-

be emelkedni kezd, jelezvén, hogy az inhibitor sikeresen gátolta a transzportereket, így itt is megindult a calcein vegyület gyors felvétele.

Összefoglalás

A fentebbi kísérletek elvégzése, és a kapott adatok kiértékelése után megállapíthattuk, hogy a vizsgált gyógyszerhatóanyag alkalmas gyógyászati célokra, azonban egy ABC transzporternek szubsztrátuma, így azokban a szervezetben, amelyek nagy számban tartalmazzák, azokban előfordulhat, hogy nem fejti ki olyan mértékben a pozitív hatását.

Köszönetnyilvánítás (12. ábra)

Köszönjük az MTA TTK vezetésének a lehetőséget, hogy a táborban részt vehettünk. Hatalmas köszönettel tartozunk a témavezetőinknek, Telbisz Ágnesnek és Horváth Tamásnak, akik egész héten foglalkoztak velünk és segítettek a munkánkat. A tábor elképzelhetetlen lett volna Lendvayné Győrik Gabriella (Gabi néni) nélkül, aki mindvégig velünk tartott és kalauzolt bennünket.

Munkánk során korszerű eszközökkel dolgozhattunk, és témavezetőinknek köszönhetően bepillantást nyerhettünk a kutatók világába, és mindennapjaikba, így közelebb kerülhettünk hosszú távú céljaink eléréséhez, hogy egy napon mi is közülük egynek vallhassuk majd magunkat.



12. ábra: Témavezetőinkkel: Telbisz Ágnessel és Horváth Tamással

Egy ritka genetikai betegség (PXE) egérmodellje

Harcsa-Pintér Noémi

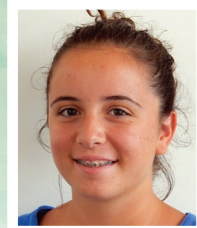
SZTE Gyakorló Gimnázium, Szeged

Márka Emese

Hunter College High School, New York, NY, USA

Voloncs-Mindszenty Lili

International Christian School of Budapest, Diósd



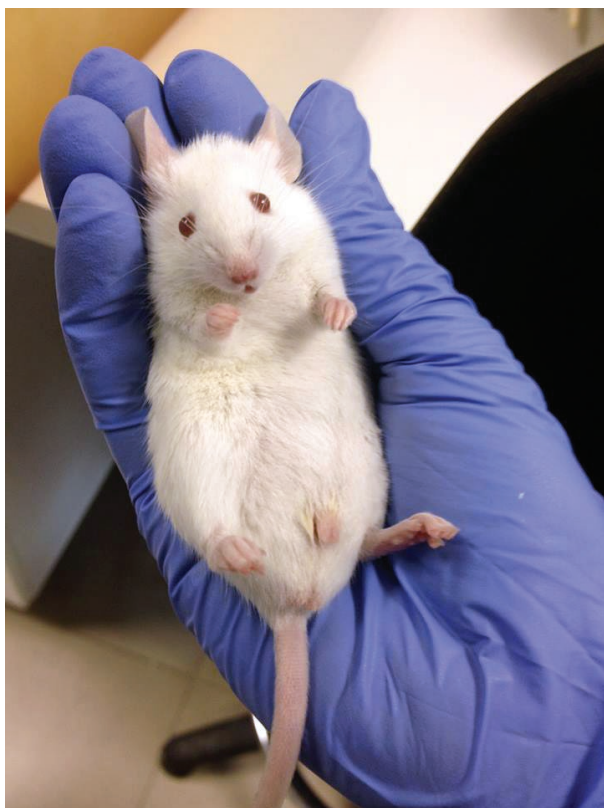
émavezetők:

Dr. Dedinszki Dóra, Kozák Eszter, Dr. Tókési Natália

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet

Bevezetés

A kutatótábor ideje alatt lehetőségünk volt megismerkedni egy ritka genetikai betegséggel, a PXE



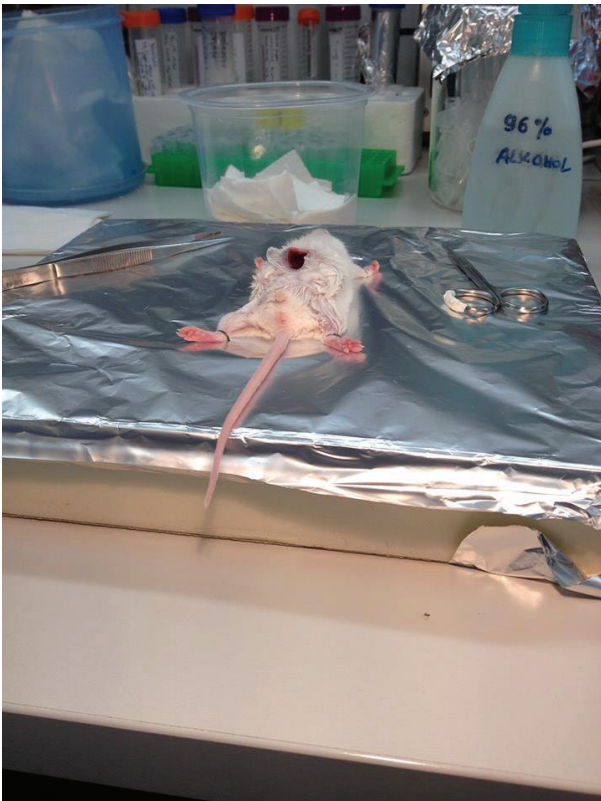
1. ábra: Altatásban lévő egér

(pseudoxanthoma elasticum) kutatásával. A betegség több szerv meszesedését okozza, és jelenleg nincs rá gyógymód. A betegséget az ABCC6 fehérje mutációja vagy hiánya idézi elő. Az egészséges ABCC6 fehérje ATP-t transzportál, ami később enzimatikusan hasítódik és pirofoszfát (PPi) képződik, amely a meszesedést gátolja. A kutatótáborban egereken vizsgáltuk, hogy valóban elősegíti-e a meszesedés gátlását, ha az egerek szervezetébe egészséges humán ABCC6 fehérjét juttatunk.

A PXE-ről

A PXE egy recesszíven öröklődő genetikai betegség, 70-100 ezer emberből egy beteg van. Elsősorban három szervet érint: a szemet, a bőrt és a kardiovaszkuláris rendszert, de akár a vesében is kialakulhat meszesedés. A szemünkben a retina érhálózata meszesedik, emiatt a betegség előrehaladtával vaklás is kialakulhat. A bőrön főként a hajlatokban alakul ki a meszesedés, itt az elasztikus rostok elveszítik a rugalmasságukat, kalcifikálódnak, ami a bőr megereszkedéséhez vezethet. A kardiovaszkuláris rendszerben pedig a közepes méretű erek középső rétege veszíti el elaszticitását, ami magas vérnyomást, vagy akár infarktust is okozhat.

A betegség által érintett fehérje a már említett



2. ábra: A szív fagyasztásos sebzése

ABCC6, ami az ATP-binding cassette (ABC) transzporter fehérjék családjának egyik tagja. A fehérje kialakulását kódoló *ABCC6* génben eddig több mint 300 mutációt azonosítottak. 1503 aminosavból épül fel, körülbelül 165 kDa nagyságú, és 17 transzmembrán régióval rendelkezik. Legnagyobb mértékben a májban fejeződik ki, illetve kisebb mértékben a vesében. A májsejtek bazolaterális membránjában helyezkedik el, és egy máig ismeretlen metabolit transzportját végzi a májból a vér felé.

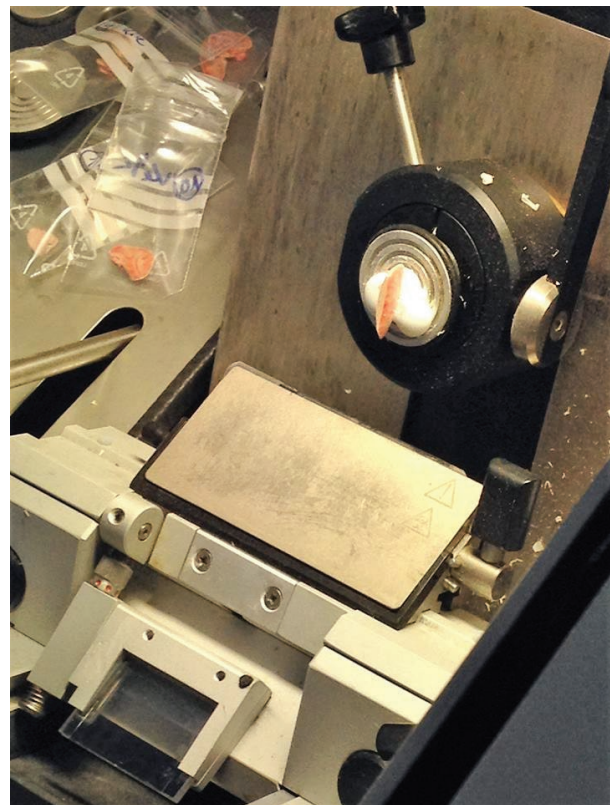
Módszerek

A kísérleteink során *ABCC6* KO egerekkel dolgoztunk. Ez egy olyan egértörzs, amelyben a célzott géniütéses (knock-out - KO) technikával "törölték" az *Abcc6* gént. Így ezek az egerek nem termelik az *Abcc6* fehérjét, és ezért a PXE betegséghez hasonló tüneteket mutatnak. Mivel ezekben az egerekben nem fejeződik ki az *Abcc6* fehérje, így alkalmassá válnak a megfelelő technikával bejuttatott egészséges humán *ABCC6* funkcionális vizsgálatára.

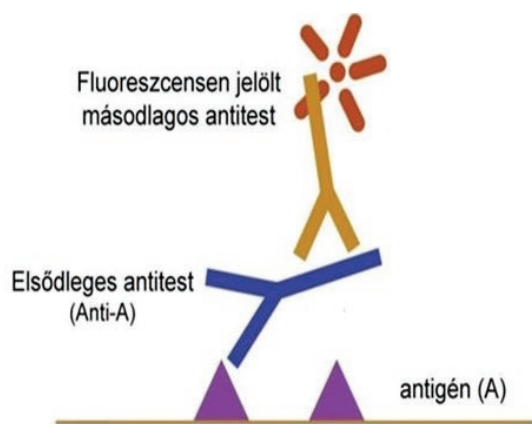
Első lépésként hidrodinamikus farokvéna injektálást (tail vein injection - TVI) végeztünk. Nagy sebességgel nagy térfogatú fiziológiás sóoldatban hígított, humán *ABCC6* fehérjét kódoló, a májsej-

tekben specifikusan kifejeződő plazmidot injektáltunk az egerek farokvénájába. Mivel a farokvéna összeköttetésben van a májjal, így a nagy térfogat miatt okozott hidrodinamikus sokk következményeként a vénában visszafelé kezd áramolni a vér, ami lehetővé teszi a májsejteknek a plazmid felvételét. A kontroll egereket is farokvéna injektáltuk, csak ebben az esetben a beinjektált folyadék fiziológiás sóoldat volt, amely plazmidot nem tartalmazott. Nagyon érdekesnek találtuk, hogy miután farokvéna injektáltuk az egereket, a vérük térfogatának hirtelen növekedése miatt ernyedtté váltak, és alig bírtak mozogni, de kb. 20-30 perc múlva, amikor megszűnt a hidrodinamikus sokk hatása, újra mozgékonyá váltak.

Másnap egy fagyasztásos sebet ejtettünk az egerek szívében. Ehhez az egerek hasfalát felnyitottuk, a szívüket láthatóvá tettük, és egy speciális eszközzel védtük a többi szervet. Folyékony nitrogénben kb. -80 °C-ra hűtöttünk egy fém pálcikát, majd 10 másodpercre a diafragmán keresztül az egér szívéhez érintettük. A sebzés után összevarrtuk a hasfalat, a bőrt összekapcsoltuk. Ez a folyamat indukált meszesedést eredményez, amely pár napon belül kialakul, ellentétben a több hónap alatt kialakuló spontán meszesedéssel.



3. ábra: A máj fagyasztva metszése



4. ábra: Immuncitokémia sematikus ábrája

Másnap, az egerek terminális diszlokációját követően kivettük az egerek szívét és máját. A szíveket sósavba áztatva feldaraboltuk, hogy kioldódjanak belőlük a Ca^{2+} -ionok, és 2 napig állni hagytuk. A májakat lefagyasztottuk, fagyasztva tároltuk, és később fagyasztott állapotban elmetesztük 8 μm vastag szeletekre. A májszeleteket metanolban fixáltuk, így megőrizték a struktúrájukat.

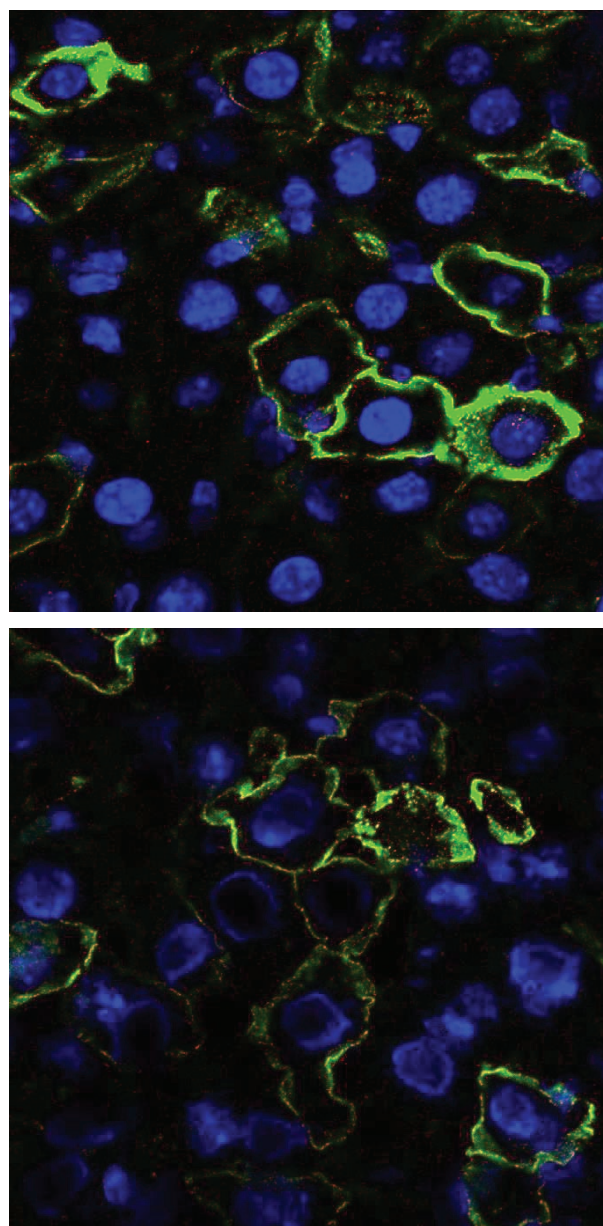
Ezek után immuncitokémia módszerével megfestettük a májszeleteket. Az elsődleges antitest specifikusan felismeri a humán ABCC6 fehérjét, a másodlagos antitest pedig az elsődleges antitestet. A másodlagos antitestek fluoreszcensen jelölve voltak (Alexa488-zöld), így azok a sejtek, amelyek kifejezték (expresszálták) a humán ABCC6 fehérjét, zölden jelölődtek. A fehérjéken kívül a májsejtek sejtmagját is megfestettük (DAPI festék-kék), majd konfokális mikroszkóppal vizsgáltuk az eredményeket. A mikroszkópos képeken kék színnel láttuk a sejtmagokat, zöld színnel pedig az ABCC6 fehérjét. Ez igazolta, hogy a májsejtekben ténylegesen megjelent a humán fehérje, amely az általunk bejuttatott plazmidról fejeződött ki. A képeken az is jól látszott, hogy a fehérje a sejtmembránban lokalizálódik. Észrevettük, hogy nem minden májsejt expresszáta a fehérjénket. Ennek egyik oka, hogy az ereken keresztül a plazmid nem tudott minden sejtbe eljutni, csak azokhoz, amelyek az erek körül helyezkedtek el.

Kísérleteink utolsó lépéseként kolorimetriával meghatároztuk a kivett szívek Ca^{2+} tartalmát. Ehhez a sósavban feldarabolt szíveket centrifugáltuk, majd a felülúszóból mintát vettünk, és a szívizomban lerakódott kalcium mennyiségét Calcium (CPC) LiquiColor Test segítségével határoztuk meg. A komplexometrián alapuló teszt során minél lilább

árnyalatot láttunk, annál több Ca^{2+} -t tartalmazott. A szín mélységének meghatározására fotometriás eljárással mértük a fényelnyelést, majd kiszámoltuk a szívek Ca^{2+} tartalmát. Azt az eredményt kaptuk, hogy a humán ABCC6-ot kifejező egerek szívében lényegesen kevesebb Ca^{2+} volt, mint a kontroll (a humán ABCC6-ot nem expresszáló) egerek szívében.

Összegzés

Az eredmények azt mutatták, hogy az ABCC6 fehérje expresszáldott a kezelt egerek májsejtjeiben, és hogy ugyanazoknak az egereknek a sebzett szívé-



5-6. ábra: Immuncitokémia eredménye konfokális mikroszkóppal. A zölddel festődő sejtek expresszálták a humán ABCC6 fehérjét.

ben kevesebb volt a Ca^{2+} tartalom. Ezzel igazoltuk a hipotézisünket, hogy az egerekbe juttatott humán ABCC6 fehérje közvetett módon hozzájárult a PPI felszabadulásához, ami így megakadályozta a szív meszesedését.

Köszönetnyilvánítás

A táborban szerzett tapasztalatokat, új ismereteket és a felejthetetlen élményt köszönjük témavezetőinknek, Dedinszki Dórának, Tőkési Natáliának és Kozák Eszternek, akik az egy hét alatt bemutatták nekünk, milyen egerekkel

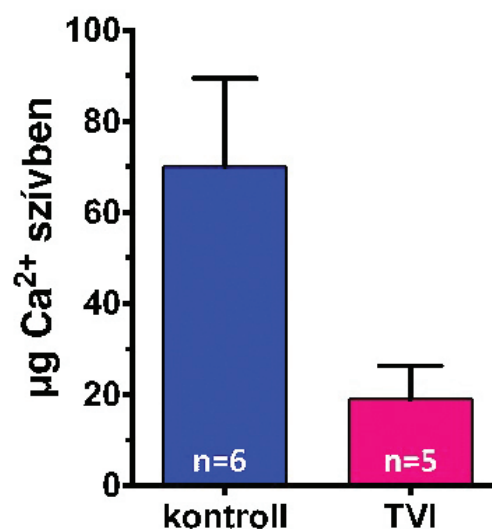


7. ábra: Humán ABCC6-ot expresszáló (a) és nem expresszáló (b) egerek szíve fagyasztásos sebzés után. Az a) ábrán látható, hogy a humán ABCC6 fehérje által közvetett módon felszabaduló PPI csökkentette a szív meszesedését (fehér gyűrű), míg a b) ábrán látható kontroll egerekben az ABCC6 fehérje hiánya miatt nagy mértékű meszesedés figyelhető meg.

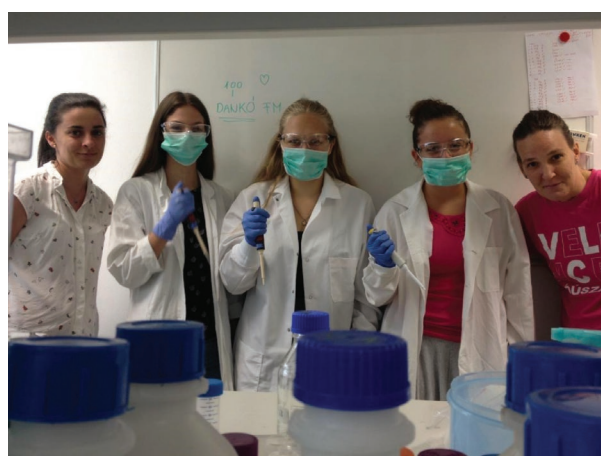


8. ábra: Szív Ca^{2+} tartalmának meghatározása kolorimetriával

kísérletezni, magyarázatokkal láttak el bennünket, és a lehetőségekhez mérten betekintést engedtek laborjuk munkájába. Köszönjük a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpontjának támogatását, valamint külön köszönettel tartozunk Lendvayné Győrik Gabriellának, aki fáradtságos munkájával ebben az évben is megszervezte és levezényelte az „AKI Kíváncsi Kémikus” kutatótábort, gondoskodott rólunk, és a laborokon kívüli szórakozást is lehetővé tette. Rengeteg élménnyel gazdagodtunk, új barátságokat kötöttünk, és nagyon szerencsésnek érezzük magunkat, hogy részt vehettünk ebben a táborban.



9. ábra: Ca^{2+} mennyiségi meghatározása humán ABCC6-ot nem expresszáló (kontroll) és expresszáló (TVI) egerek szívéből. Az ábrán látható, hogy sokkal több Ca^{2+} van a kontroll egerekben, mint a kezelt egerekben.



10. ábra: A csoport

Ugráló gének

Kocsa János

Keszthelyi Vajda János Gimnázium

Kozma Csaba

Bonyhádi Petőfi Sándor Evangélikus Gimnázium

Témavezetők:

Dr. Orbán Tamás, Némethy Kornélia

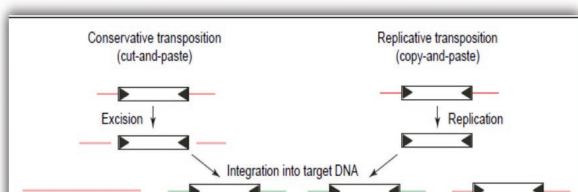
MTA Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet



Bevezetés

Az „AKI Kíváncsi Kémikus” Kutatótábor keretében egy egyhetes kutatómunkában vehettünk részt a MTA TTK Enzimológiai Intézetében Orbán Tamás és Némethy Kornélia témavezetésével, akik nem csak szakmai ismereteket adtak át, hanem általuk betekintést nyerhettünk a laboratóriumi mindennapok poénos szituációiba is.

Elméleti háttér



1. ábra: Transzpozonok csoportosítása működésük szerint

A genomikai kutatások előrehaladtával mostanra már ismert, hogy az élőlények, és köztük az ember genetikai állományában sok „ugráló elem”, úgynevezett transzpozon fordul elő. A transzpozonok mobilis genetikai elemek, azaz a genomban helyük megváltoztatására képesek. Az emberi genom 45 %-át teszik ki, de a kukorica genetikai állományának is 80%-át alkotják.

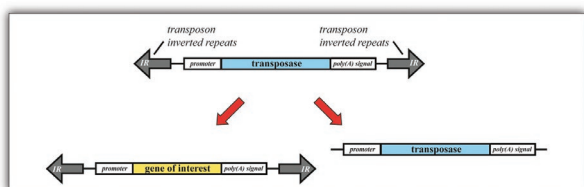
Az ugráló elemek alapvetően két nagy csoportba sorolhatók. Az egyik ilyen csoport az RNS transzpozonok, más néven „Retrotranszpozonok”.

Ezek önmaguk másolásával változtatják meg helyüket. Ezt az informatikából származtatott kifejezéssel „copy and paste” mechanizmusnak, vagy replikatív transzpozíciónak nevezzük. Először RNS szintetizálódik róluk, majd erről a reverz transzkriptáz nevű enzim újra DNS-t szintetizál, ami valahova be tud épülni a genomba. A másik csoport a DNS transzpozonok, melyek önmagukon kódolt transzpozáz enzim segítségével kivágják, majd beillesztik magukat valahova máshova a genomban. Ezt a folyamatot „cut and paste” mechanizmusnak, másnéven konzervatív transzpozíciónak nevezzük (1. ábra). Mi DNS transzpozonokkal dolgoztunk.

A DNS transzpozon két végén ismétlődő szekvenciákból áll („inverted repeat”, IR szekvenciák), a köztük a transzpozáz enzimet kódoló DNS szekvencia található (2. ábra). A transzpozáz enzim a két ismétlődő szekvenciát ismeri fel, és a köztük lévő részt kivágja, majd beilleszti valahol máshol a genomba. Ez az áthelyezési funkció génbeviteli eljárásokban is alkalmazható. Ilyen alkalmazás esetén a két ismétlődő szakasz között az általunk bevinni kívánt szekvencia található, a transzpozáz enzimet kódoló részt pedig egy külön plazmidon visszük be (3. ábra).



2. ábra: DNS- transzpozon felépítése



3. ábra: DNS transzpozon alkalmazása génbeviteli eljárásokhoz

Mi tehát ezzel a mechanizmussal foglalkoztunk a hét során.

Részvételünk a kutatásban:

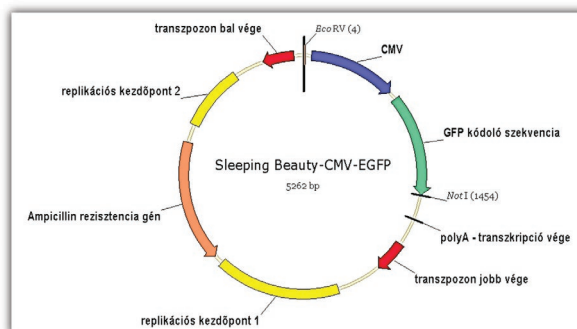
Az általunk bevitt gén egy zöld fluoreszcens fehérjét, azaz GFP-t (green fluoreszcens protein) kódolt. Egy immortális, tehát korlátlanul osztódni képes emberi sejtvonallal, azaz HEK 293 (human embryonal kidney) sejtekkel végeztük kísérleteinket. Ezekből a letapadó sejtekből álló sejtenyészetből először is tripszin enzim segítségével felszedtük a sejteket, majd megszámláltuk azokat. A számlálás előtt a mérésre szánt sejtuszuspenzióra tripánkék festéket juttattunk, amely sötétkékre festette az elpusztult sejteket, így miután ezt behelyeztük a sejt számláló műszerbe, a festődés alapján meg tudtuk határozni az élő és a halott sejtek számát.



4. ábra: A sejtenyészetek

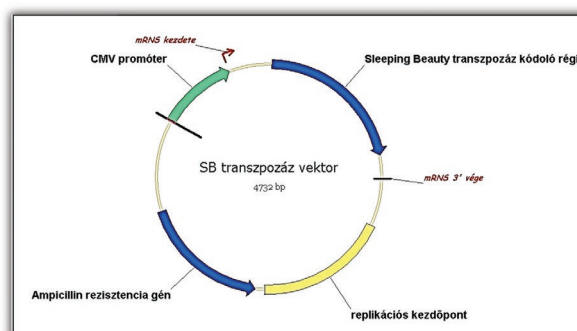
Az eredmény szerint a sejtek 89% volt élő, vagyis $7,6 \times 10^5$ sejtet tartalmazott 1 ml szuszpenzió, melyet úgy hígítottunk, hogy 200 000 db sejt legyen 1 ml sejtuszuspenzióban. Ebből 2x2 ml-t kitettünk sejtenyésztő lemezre (4. ábra), és 24 óráig termosztátban inkubáltuk, hogy a sejtek letapadjanak és osztódhassanak.

A második napon végeztük el a transzfektálást, azaz a plazmidok eukarióta sejtekbe történő bejuttatását. Mindkét sejtenyészet esetében a



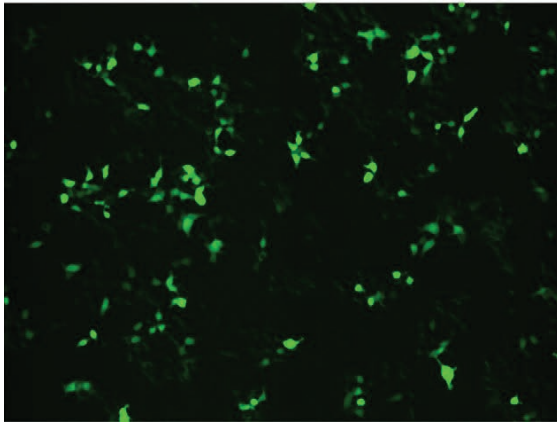
5. ábra: GFP-t kódoló plazmid vektor

FuGENE lipid tartalmú reagenst alkalmaztunk, amely körülveszi és átjuttatja a plazmidokat a sejt hátyán. Mindkettőbe kétféle plazmidot juttattunk be, az egyik a kettő közül mind a két sejtenyészetben megegyező volt. Ezekben a DNS transzpozonokra jellemző ismétlődő szekvenciák, azaz transzpozon végek között volt a GFP-t kódoló szekvencia (5. ábra). A másik plazmidon volt az ezen transzpozon végeket felismerni és kihalászni tudó transzpozáz enzim kódoló DNS-szakasz (6. ábra). A sejtenyészetben alkalmazott két típus abban különbözik, hogy az egyik normál, a másikon pedig egy mutáns enzimet kódoló szekvencia van, amely nem tudja lehasítani a GFP-t kódoló szekvenciát. Azt, hogy

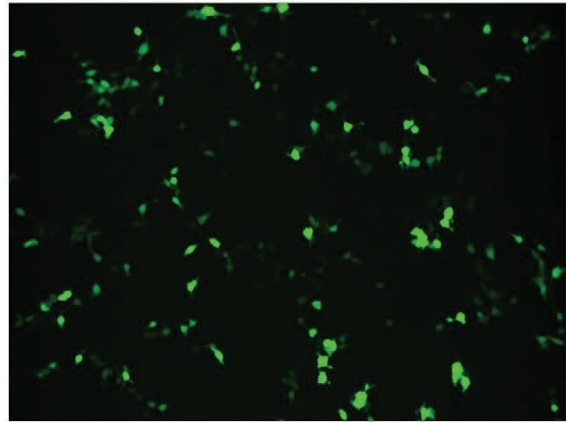


6. ábra: Transzpozáz enzimet kódoló plazmid vektor

JANÓ



CSABA



7. ábra: Fluoreszcencia mikroszkópos vizsgálat eredménye

melyikbe milyen került ebből, azt nekünk kellett a kísérletsorozat végén megállapítanunk. A transzfekció végbemeneteléhez az így előkészített lemezeket 24 órán keresztül inkubáltuk.

A transzfekció végbemenetelét fluoreszcencia mikroszkóppal végzett vizsgálattal igazoltuk. Ha a sejtenyészetekben sikeres volt a transzfekció, akkor a plazmidon lévő GFP kifejeződött, így egyes sejtek kék fényben megvilágítva zöld fluoreszcens fényt bocsátottak ki. Ez mindkettőben megfigyelhető volt, tehát a sejtekbe bejutottak a plazmidok (7. ábra). Ezzel azonban azt nem állapíthattuk meg, hogy melyikben expresszáldott működő enzim. Ezért ezt úgy mutattuk ki, hogy a GFP gént tartalmazó plazmidot izoláltuk, és mivel a működő enzim kivágja a GFP gént és a sejt saját örökítő anyagába illeszti be, ezért megrövidül a plazmid. Így ezek méretének összehasonlításával megállapítható, hogy melyikben vágódott ki rész, tehát hol volt a működő enzim. Ennek a kimutatási módszernek a neve excíziós esszé.

A művelet első lépéseként a lemezről a sejteket tripszinnel felszedtük. Ezt követően szétroncsoltuk a sejteket, és plazmid izoláló reagenscsomaggal vontuk ki a plazmidokat. A következő lépésben a plazmid DNS-ek egy szakaszát, amelybe beletartozott a GFP-t kódoló szakasz is, PCR-rel (polymerase chain reaction) felszaporítottuk a méréshez. A PCR egy ciklikusan ismétlődő láncreakció. Egy ciklus során az első szakaszban hő hatására denaturálódik a DNS, így annak száalai kettéválnak, ami lehetővé teszi a következő szakaszban a visszahúzásuk során a primerek becsatlakozását. Primerből két féle van, ami a kiválasztott szekvencia két ellentétes végéhez

kapcsolódik. Így a *Thermus aquaticus* polimeráz, azaz a Taq polimeráz (olyan DNS-polimeráz, mely hőforrásokban élő baktériumból (*Thermus aquaticus*) származik) a primertől indulva létre tud hozni komplementer DNS szálat 5'-3' irányban. A ciklus végén megint emelkedik a hőmérséklet, ami az enzim aktivitását fokozza. A következő ciklusban ugyanez a folyamat játszódik le, azonban az előzőben a Taq Polimeráz által létrehozott komplementer szálon a felszaporítani kívánt DNS szekvencia másik végéhez kapcsolódni tudó primer hibridizálódik. Így a polimeráz már csak a kívánt szekvencia másik végéig képes létrehozni a DNS-t, mert ennek a szálnak ekkor már ez a vége (8. ábra). Tehát kialakul a felszaporítani kívánt rész, amibe a mi esetünkben beletartozik a két transzpozonvég által határolt rész, és a további ciklusokban megsokszorozódik. Két teljes PCR kört végeztünk el egyenként 35 ciklussal a két-két különböző primerrel.

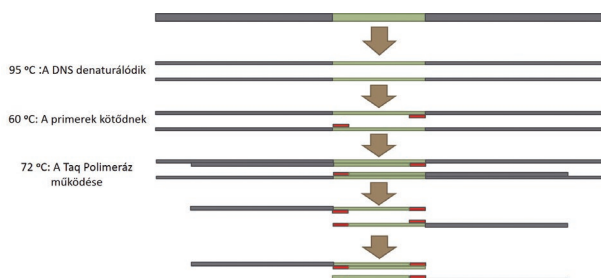
Ha a GFP-t kódoló szekvencia kivágódott, akkor rövid, 400 bázispár hosszúságú szakaszok keletkeztek. Amennyiben nem vágódott ki, akkor hosszú PCR termékek jöttek létre, és hosszukból adódóan a ciklusok harmadik szakaszában nem tudta őket a Taq polimeráz előállítani, így sok különböző hosszúságú DNS darabka keletkezett. Ezt mutatja az általunk végzett gélelektroforézis eredménye. Agaróz gélen futtattuk a felszaporított DNS mintákat, amin jól látszik, melyik plazmid mellett volt bejuttatva a működő transzpozáz géneje, mivel ebben az esetben rövid, 400 bázispár nagyságú DNS szegmensek keletkeztek, míg a másik esetben csak különböző méretű darabokból álló elmosódott rész látszik (9. ábra).

Összefoglalás:

HEK 293-as sejtek genomjába juttattunk be GFP-t kódoló gént DNS transzpozonok segítségével. A HEK sejtekből két sejtenyészetet készítettünk. A GFP-t kódoló gént és a transzpozáz enzimet kódoló gént két külön plazmidon juttattuk be. A kettő közül az egyik plazmid mind a két sejtenyészetben megegyező volt. Ezekben a DNS transzpozonokra jellemző ismétlődő szekvenciák között volt a GFP-t kódoló gén, míg a másik plazmidon a transzpozáz enzimet kódoló szekvencia volt. A két sejtenyészetben alkalmazott típus abban különbözött, hogy az egyikben mutáns enzimet kódoló szekvencia van, ami nem tudja kihatolni a GFP-t kódoló szekvenciát. A plazmidok transzfektálásának sikerességéről fluoreszcencia mikroszkópos vizsgálat segítségével győződünk meg. Ezt követően excíziós esszét végeztünk, hogy bizonyítsuk: a normális transzpozáz hatására az egyik plazmid megrövidült, míg a másik nem, hiszen ez utóbbinál maradt a GFP-t kódoló gén az ismétlődő szekvenciák között. PCR segítségével felszorítottuk a két ismétlődő szekvencia közé eső részt, majd a sokszorosított DNS szekvenciákat agaróz gélen futtattuk. Az eredményen szembetűnő volt a különbség, hiszen a normál transzpozáz esetében kicsi DNS darabkákat kaptunk, melyek hosszabban vándoroltak az agaróz gélen. Ezzel szemben a másik esetben egy elmosódott futtatási képet kaptunk, mivel a Taq polimeráz nem tudott végigérni teljesen a sokszorosítani kívánt DNS részleten, így eltérő méretű DNS darabkák keletkeztek.

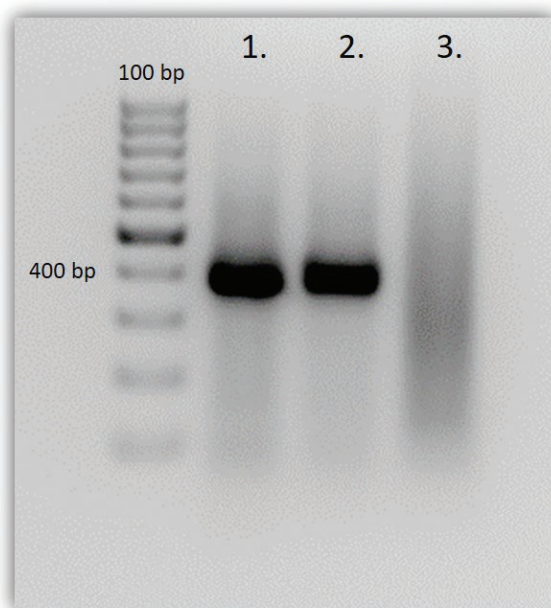
A kísérlet továbbgondolása:

Abban az esetben, ha több idő állt volna rendelkezésünkre, excíziós esszé nélkül is



8. ábra: PCR működése

meggyőződhattünk volna róla, hogy melyik plazmidon volt mutáns, és melyiken a normál transzpozáz enzimet kódoló gén. Ennek a módszernek a neve kolónia esszé, és olyan mutáns transzpozáz esetében is működne, amelyik ugyan ki tudná vágni a GFP génjét, de nem tudná azt a genomba beilleszteni. Ehhez a sejteket a transzfekeció sikerességének ellenőrzése után állni hagyjuk, majd ismét megvizsgáljuk fluoreszcencia mikroszkóp segítségével. Ekkor ugyanis a két minta közül már csak azon fluoreszkáltak volna a sejtek, amelybe a normál transzpozáz tartalmazó enzimet transzfektáltuk. Ennek oka az, hogy eleinte a plazmidon lévő vagy kivágott, de nem beillesztett GFP génről is szintetizálódik fehérje, így közvetlenül a transzfekeció után még nem állapítható meg, hogy melyik minta tartalmazza a mutáns és melyik a normál enzimet kódoló plazmidot. Ezzel szemben később a sejtől a plazmidok a sejt szelekciós folyamatainak köszönhetően kiürülnek. Ekkor már csak az a minta fluoreszkálna, amibe a normális transzpozáz kódoló plazmidot transzfektáltuk, hiszen a GFP génje itt beépül a HEK sejt genomjába, így a sejt képes GFP-t szintetizálni a plazmidok kisselektálódása után is.



1. : Kontroll működő transzpozáz
2. : Működő transzpozáz /Janó/
3. : Mutáns transzpozáz /Csaba/

9. ábra: Gél elektroforézis képe

Az ERD14 rendezetlen fehérje RNS kötésének vizsgálata

Nyilas Tamás

Egészségügyi Középiskola, Zenta, Szerbia

Vizkeleti Péter

ELTE Radnóti Miklós Gyakorlóiskola, Budapest



émavezetők:

Dr. Tantos Ágnes, Murvai Nikoletta

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet

Bevezetés

Az ERD14 egy rendezetlen növényi chaperon („dajkafehérje”), amely más fehérjét véd stresszhatásoktól (pl. dehidratációtól), így azok nem veszítik el funkciójukat. Ez a chaperon azonban – a legtöbb chaperonnal ellentétben - ATP (energia) felhasználása nélkül látja el funkcióját. Korábbi vizsgálatok eredménye alapján már valószínűsíthető volt, hogy képes RNS-t kötni, és ez kulcsfontosságú is lehet a működési mechanizmusában, így kiismerése jelen-

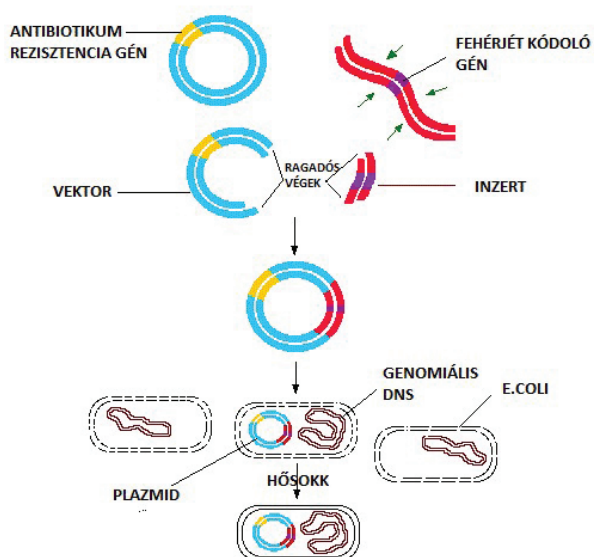
tős lépés lenne a hasonló fehérjék megértésében. Mi azt vizsgáltuk, hogy – amennyiben ténylegesen kölcsönhatásba lépnek - hogyan változik a kötés a koncentrációk függvényében.

Fehérje munka

Az ERD14 fehérjénket bakteriális heterológ rendszerben állítottuk elő, tehát baktériumsejteket transzformáltunk, hogy ERD14 fehérjét fejessenek ki (expresszáljanak), állítsanak elő.

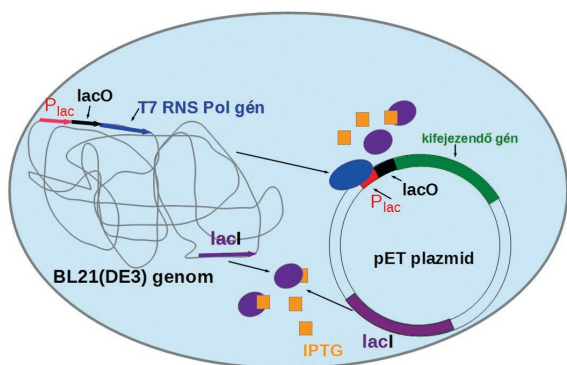
Előzetesen a fehérjét kódoló gén ki lett vágva növényi DNS-ből (inzer) restriktions endonukleázzal, amely felismer egy adott bázissorrendet, és elhasítja a DNS mindkét szálát. Ha a két szál nem azonos hosszúságú lesz a vágás után, ragadós végekről beszélünk, ezek könnyebben illeszthetők össze más, azonos restriktions endonukleázzal hasított DNS-sel. Ezután az inzer beépült a hozzáadott, azonos restriktions endonukleázzal hasított vektorba, mely egy antibiotikum rezisztencia gént is tartalmazott, így jött létre vektorból és inzerből a plazmidunk. Mi már kész plazmidokat kaptunk kézhez, és ezeket kellett bejuttatnunk az előzőleg kompetenssé tett E. coli baktériumokba. Attól kompetens egy baktériumsejt, hogy kémiai úton porózussá, átjárhatóvá lett téve a membránja, így könnyen fel képes venni a plazmidunkat. Miután a hő sokk alkalmazása során a baktériumsejtek egy része felvette a plazmidot, jégre helyezve bezártuk a membránjukat, és hagytuk őket egy darabig, hogy a bevitt antibiotikum rezisztencia gént expresszálják. Így, mikor antibiotikummal tápláltuk és osztódni hagytuk őket az éjszakára, csak azok a sejtek maradtak

PLAZMID INZERTÁLÁS



1. ábra: A vektor és inzer alkotta plazmid bejuttatása E. coli sejtekbe

életben, amelyek felvették a plazmidunkat. Mikor másnap már elegendő koncentrációban voltak jelen baktériumok az oldatban (átlátszatlaná vált), elkezdődhetett az ERD14 fehérje expresszá-lása. Az ábrán látható lacI (lac, mint laktóz) regu-látor gén egy lac-represszor fehérjét kódol, mely a lacO operátorhoz köt. Ez a represszor megakadá-lyozza, hogy a Plac promótertől induló RNS poli-meráz enzim mRNS-t írjon le, meggátolva ezzel az utána lévő gén kifejeződését. Ez a mechanizmus természetesen található meg baktériumokban, és lehetővé teszi, hogy a laktáz (laktózt bontó) enzim csak laktóz jelenlétében expresszálódjon. Ennek oka, hogy a represszor csak laktóz hatására szenved olyan térszerkezeti változást, amely miatt leköt az operátorról, lehetővé téve ezzel a laktáz génjé-nek expresszá-lását és a laktóz lebontását. Tehát ez a mechanizmus garantálja, hogy a baktérium nem pazarol erőforrásokat laktáz enzimre laktóz jelen-léte nélkül. A mi, fehérje-expresszá-lásra tervezett baktériumtörzsünk (BL21*) genomialis DNS-ében



2. ábra: A lac-operon leegyszerűsített működése

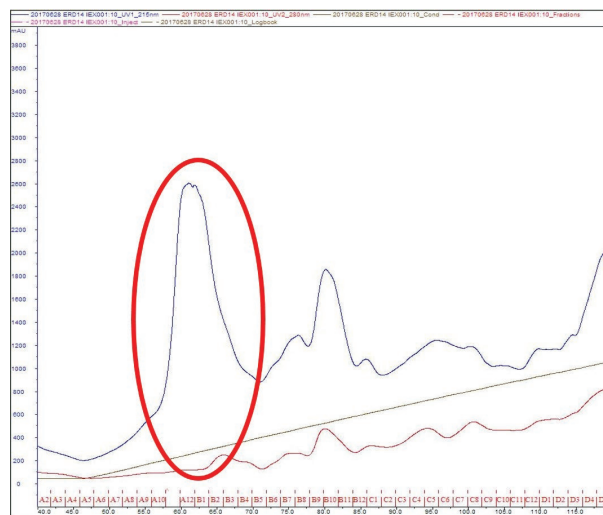
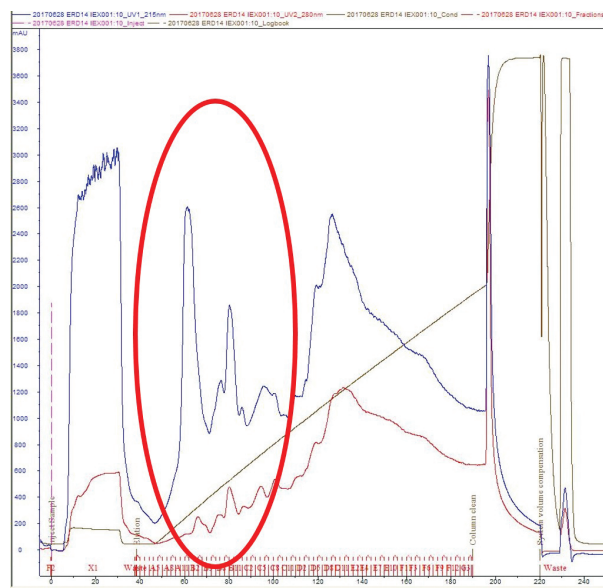
azonban Plac és lacO után fág eredetű, a baktéri-um enzimeitől különböző T7 RNS polimeráz gén található, így az fog leírni laktóz jelenlétében, és ez az enzim tudja majd a plazmidunkról az ERD14 fehérje génjét leírni.

Az expresszá-lás megkezdéséhez IPTG-t (izopropil-tiogalaktózid) adtunk a rendszerhez, amely egy nem metabolizálódó laktóz analóg, tehát a baktérium nem tudja lebontani, azonban ugyanúgy eléri a lac-represszor térszerkezetváltozását, mint a laktóz tenné. Mivel az expresszá-lt T7 RNS polime-ráz csak a mi génünk előtt lévő promóterhez képes kötni, így egyedül a mi génünkről tudott mRNS-t leírni, amely a várt nagy mértékű expresszá-láshoz vezetett.

Következő lépésként eltávolítottuk a baktériumo-

kat a tápoldatból, és szonikálással feltártuk őket: ultrahanggal szétzúrtuk a sejtek membránjait, így az oldatba kerültek a baktérium fehérjéi a mi fe-hérjénkkal együtt. Centrifugálást követően a sejt-törmelék leülepedett, így le tudtuk pipettázni a tisztább oldatot. Ezután – mivel tudtuk, hogy a mi fehérjénk termostabil – felülúszó forralással dena-turáltuk a termolabilis fehérjéket, majd ezeket is centrifugálással ülepítettük, és még tisztább oldat-hoz jutottunk.

Ezek után a fehérjeoldatunkat folyadék kroma-



3., 4. ábra: A folyadék kromatográfiás készülék által rajzolt grafikon. Vízszintes tengelyen az idő haladtával a különböző frakciók láthatók, a barna grafikon a lemosó oldat sókoncentrációját, a kék és piros grafikonok pedig a lemosódó oldatban lévő fehérjék UV-elnyelését mutatja. Az első grafikon a teljes folyamat, a második azon belül a 40 és 120 ml közötti tartomány kinagyítva, utóbbi a mi fehér-jénk lemosódásának helyét mutatja.

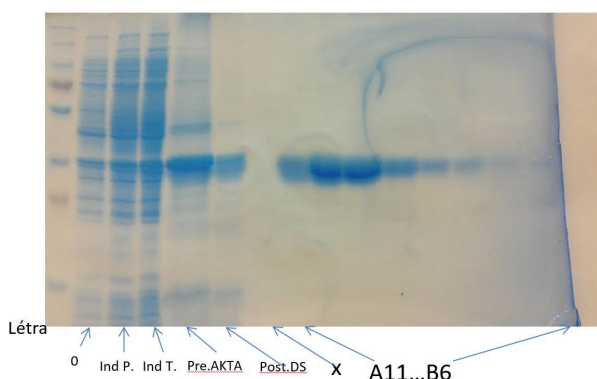
tográfias készüléssel tisztítottuk tovább, mely során a készülék egy ún. ioncsere oszlopra vitte fel a fehérjeoldatot, ahol a fehérjék töltésükből adódóan kitapadtak. Ezután növekvő koncentrációjú (barna grafikon a 3. és 4. ábrán) sóoldattal mosta le a fehérjéket, és a különböző fehérjék más-más koncentrációnál jöttek le az oszlopról, az idő függvényében pedig különböző kémcsövekbe töltötte a készülék ezeket a frakciókat. Emellett a készülék a lejövő oldatok adott hullámhosszú UV elnyelését is mérte, ezt ábrázolja a 3. és 4. ábrán a kék és a piros grafikon. Az UV elnyelési spektrum segített nekünk az ERD14 fehérjét tartalmazó frakciók megtalálásában, amelyeket egybeöntve olyan oldathoz jutottunk, amely csak vizet, sót, és ERD14 fehérjét tartalmazott.

A sótól dialízissel szabadultunk meg, mely során az oldatunk egy féligáteresztő membránszacskóban lebegett desztillált vízben, így az éjszaka folyamán az ionok egyenletesen oszlottak el a vízben, kidiffundálva a mi oldatunkból. Végül a vízből és fehérjéből álló oldatot megfagyasztottuk, és liofilizáció során elszublimáltatta nekünk a jeget az ezért felelős kutató, ezzel tiszta, pókhálószerű fehérjéhez juttatva bennünket.

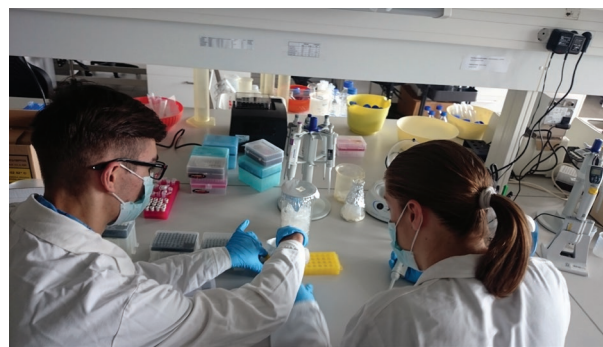
A fehérje munka megkoronázása gyanánt a különböző fázisok végén nyert mintákat megfuttattuk poliakrilamid gélen elektroforézissel, mely eredménye – még ha csöppet elkenődve is – az 5. ábrán látható, és szépen mutatja, ahogy egyre tisztább és tisztább fehérjeoldatokat kaptunk.

RNS munka

Miután a fehérjénk elkészült, hozzáláttunk az RNS szintetizálásához is, melyet négy fő komponens:



5. ábra: A különböző fázisok végén nyert minták poliakrilamid gélen futtatva. Nyilakkal jelölve a fázisok címkéje. Jól látszik a fehérjeoldat fokozatos tisztulása.



6., 7. ábra: Két lelkes leendő kutató RNS munka közben.

DNS templát, NTP mix (DNS építőelemek), T7 RNS polimeráz és puffer oldat megfelelő arányú keverékből állítottunk elő. Ilyenkor derül rá fény, ki az igazán jó munkatárs, mivel a feladat nagy odafigyelést, türelmet és összhangot igényel. Apró mennyiségekkel kell dolgozni, így nem előnyös, ha valakinek reszket a keze. Kesztyűt és köpenyt kell húzni, sőt szájmascsk és hajgumi sem árt, mert az emberi haj és nyál rengeteg RNS-t bontó RNáz-t tartalmaz, és RNáz mentesítő szerrel kellett kezelni mindent a kísérlet közelében. Miután az RNS elkészült, meg kellett tisztítani azt, mivel rengeteg géntörmelék maradt még a szükséges RNS mellett. A tisztítást egy speciálisan erre a célra, gyárilag összeállított tisztító csomaggal végeztük el.

Kölcsönhatás

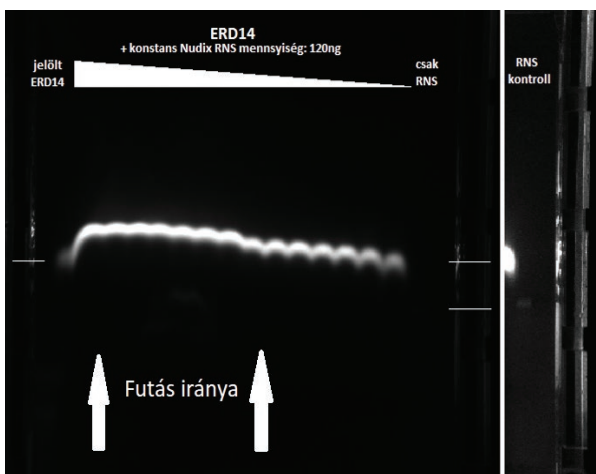
Miután rendelkezésünkre állt a kellő mennyiségű fehérje és RNS, hozzáláthattunk e kettő kölcsönhatásának vizsgálatához, mely az EMSA kísérlet névre hallgat. Ennek során több mintát előkészítettünk, melyekben az RNS mennyisége állandó volt, viszont a fehérje mennyisége fokozatosan nőtt. A mintákat nagy odafigyeléssel agaróz gélbe pipettáztuk, majd elektroforézissel megfuttattuk őket.

Végeredményként azt kaptuk, ahogy az a 8. ábrán is látszik, hogy a fehérje és az RNS együttese nagyobb utat tett meg a gélben, mint a kettő külön-külön, ami valószínűleg a közöttük létrejött kölcsönhatásból eredő térszerkezeti változásnak

tudható be. Emellett az is gyönyörűen leolvasható, hogy a gélben tapasztalt sebesség a koncentrációk arányától is függ.

Végszó, köszönetnyilvánítás

Számunkra egy életre szóló élmény volt, hogy betekintést nyerhettünk a laborban folyó munkába, és a szakmában jártas kutatóktól tanulhattunk. Kiemelten köszönjük Tantos Ágnesnek és Murvai Nikolettának, a laborban való utazásunk koordinátorainak az összes átadott ismeretet és a teaszüneteket. Az MTA Természettudományi Kutatóközpontnak szeretnénk megköszönni a lehetőséget, hogy részt vehettünk a táborban, az Anyag- és Környezetkémiai Intézet munkatársainak a szervezést és Gabi néninek a lelkes és odaadó teregetést a tábor folyamán.



8. ábra: Összeállított minták agaróz gélen futtatva. Balról jobbra: fehérje minta, 12 különböző koncentrációjú minta fehérjével és RNS-sel, RNS minta.



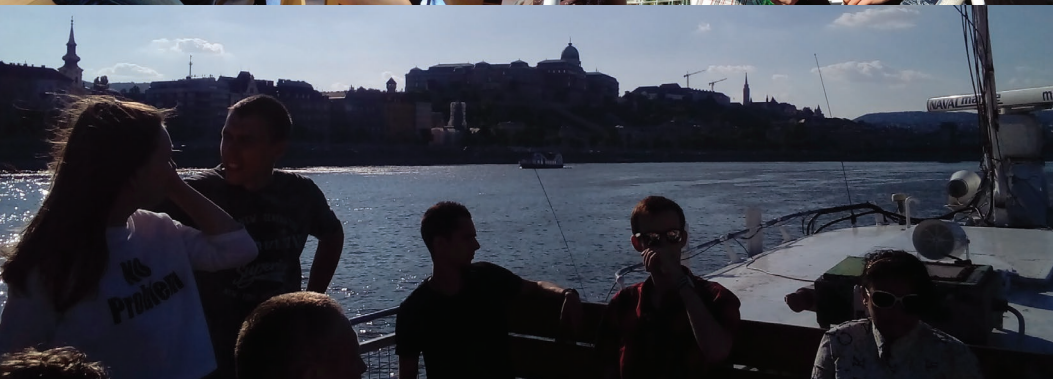
9. ábra: Témavezetőinkkel. Balról jobbra: Nyilas Tamás, Tantos Ágnes, Murvai Nikoletta, Vizeleti Péter.

8 HOZZÁJÁRULÁSOK

A kutatótábor létrejöttéhez a következő személyek járultak hozzá:

Babinszki Bence	Dr. May Nóra
Dr. Bakos István	Dr. Mihály Judith
Dr. Baranyai Péter	Murvai Nikoletta
Barta-Rajnai Eszter	Nagyné Dr. Bereczki Laura
Bartha Gábor	Némethy Kornélia
Bencskó György	Dr. Orbán Tamás
Csorba Benjámin	Dr. Paszternák András
Dr. Deák Andrea	Dr. Paszternák-Szendy Barbara
Deák Róbert	Pásztor Szabolcs
Dedinszki Dóra	Dr. Pokol György
Dr. Demeter Attila	Pusztai Árpád
Farkas Vajk	Robotka József
Fegyverneki Dániel	Rosenbergerné Dr. Mihályi Magdolna
Gál Gyula Tamás	Dr. Sebestyén Zoltán
Dr. Hajdú Zsuzsanna	Dr. Sebestyénné Petruska Zsuzsanna
Dr. Holczbauer Tamás	Dr. Solt Hanna
Horváth Tamás	Sütő Péter
Illés Ádám	Dr. Szabó Ákos
Dr. Jablonkai István	Dr. Szigyártó Imola Csilla
Jámbor Andrea	Dr. Szijjártó Gábor
Janzsó Péter	Dr. Szijjártóné Majrik Katalin
Dr. Jemnitz Katalin	Dr. Tálás Emília
Jobbágy Csaba	Dr. Tantos Ágnes
Kasztovszky Anna	Dr. Telbisz Ágnes
Kozák Eszter	Dr. Tőkési Natália
Kránicz Andrea	Vass Ádám
Dr. Lónyi Ferenc	

9 TÁBORI ÉLET KÉPEKBEN







**Magyar Tudományos Akadémia
Természettudományi Kutatóközpont**

**1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.
www.ttk.mta.hu/kutatotabor
www.facebook.com/akitabor**

