

M A B E



BIOTECHNOLÓGUS NAPOK

2024

Absztraktfüzet

ÁPRILIS 26-27.

HUN-REN TTK NAGYTEREM
1117 BUDAPEST
MAGYAR TUDÓSOK KÖRÚTJA 2.

Cím:

Biotechnológus Napok 2024 - Absztraktfüzet

Szerző:

Magyar Biotechnológus-hallgatók Egyesülete

Szerkesztette:

Moussong Éva

Sepsi Zita

Dr. Tóth Vilmos

A konferenciát támogatta:

HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont

Magyar Biotechnológiai Szövetség

Omixon Biocomputing Kft.

Richter Gedeon Nyrt.

Ceva-Phylaxia Oltóanyagtermelő Zrt.

SOLVO Biotechnology

(Charles River Laboratories Hungary Kft.)

Tosoh Bioscience GmbH

Servier Kutatóintézet Zrt.

VRG Therapeutics Kft.

TargetEx Biosciences Kft.

BioTalentum Kft.

jFermi Biotechnológiai Kft.

Biocenter Kft.

Doktoranduszok Országos Szövetsége Biológiai és Kémiai

Tudományok Osztálya



<https://mbiotechne.hu>

<https://sites.google.com/view/biotechnolgusnapok-2024>

ISBN 978-615-02-0088-0

Kiadás éve: 2024

Kiadja a Magyar Biotechnológus-hallgatók Egyesülete

1202 Budapest, Perczel Mór u. 16.

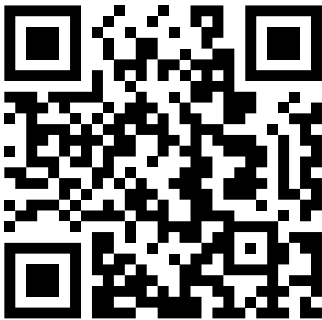
mabe@mbioteche.hu

A MaBE bemutatkozása

Az Egyesület célja, hogy a hazai biotechnológus-hallgatóknak egy olyan közösséget teremtsen, ahol megismerkedhetnek egymással és olyan kapcsolatokat alakíthatnak ki, amelyeket később az üzleti életben is kamatoztathatnak.

Cégek és munkáltatók bevonásával képet szeretnénk nyújtani, hogy milyen lehetőségek várnak a jövő biotechnológusaira (ránk és rátok) a tanulmányaink után és esetleg már közben is. Hazai és nemzetközi partnereinken keresztül számos álláslehetőség, szakdolgozati és kutatási lehetőség válik elérhetővé. MaBE tagok számára a rendezvényeink ingyenesek.

Csatlakozz hozzánk!



mbioteche.hu/csatlakozz



 mbioteche.hu
 facebook.com/mbioteche
 instagram.com/mbioteche/

Tartalomjegyzék

A MaBE bemutatkozása	7
BN-01	
Magyarországon élő pannon méh populációk molekuláris genetikai elemzése mikroszatellit markerekkel	4
BN-02	
Zebrahal embriók genomi uracilosodásának funkcionális genomikai elemzése	5
BN-03	
ScreenGPT – Nagy nyelvi modellek alkalmazásának lehetőségei és korlátai a primer, szekunder és terciér prevencióban	6
BN-04	
Gyógyszermellékhatások számítógépes előrejelzése	7
BN-05	
Amiloidképződés gátlása stabilizált fehérjemutáns segítségével	8
BN-06	
Tumoros folyamatok kialakulásában szerepet játszó fehérje komplexek in vitro karakterizálása	9
BN-07	
A622: kulcsfontosságú oxidoreduktáz a nikotin bioszintézisében	10
BN-08	
Egy multivalens fehérje-fehérje interakció elemzése NMR mérésekkel és bioinformatikai módszerekkel	11
BN-09	
Humán egyszálú DNS-kötő fehérje (HSSB1/NABP2) redox-függő kondenzációja és citoplazmatikus granulációja oxidatív stresszválasz során	12
BN-10	
A polietilén glikol (PEG) elleni antitestek aviditásának vizsgálata hagyományos ELISA módszerrel	13
BN-11	
Bioszimiláris Nivolumab monoklonális antitest affinitás kromatográfiás tisztítása CHO sejt kultúrából	15
BN-12	
A biotinált trastuzumabbal felszerelt univerzális CAR T sejtek tumor szferoidokba és ADCC-rezisztens tumor xenograftokba történő penetrációjának vizsgálata	16

BN-13

Bisy GmbH, biotechnológia a szintézishez
Enzimtechnológiai projektek felgyorsítása RapidFire MS screening technológiák alkalmazásával 17

BN-14

Mikrofluidikai diffúziós rendszerek áramlástan optimalizálása gyógyszerpenetrációs mérésekhez 18

BN-15

Protokoll kidolgozása fehérjeaggregátumok és amiloidszálak cirkuláris dikroizmus spektroszkópiával történő szerkezetvizsgálatára 19

BN-16

Hordozható multifunkciós eszköz fejlesztése hurok által közvetített izotermális amplifikáció (LAMP) kivitelezésére 20

BN-17

Sugárérzékenység mérése cervix tumoros betegekben, a RILA módszer finomhangolása 21

BN-18

Ciklodextrin-segített kapilláris elektroforézis: benzil-izokinolin alkaloidok enantiomer-elválasztása 22

BN-19

Peptaidok szerkezet-aktivitási összefüggéseinek vizsgálata gyakorlati alkalmazásuk megalapozásához 24

BN-20

Enzimkönyvtár a fenntartható gyógyszergyártásért 25

Magyarországon élő pannon méh populációk molekuláris genetikai elemzése mikroszatellit markerekkel

Balázs Réka^{1,3}; Edviné Meleg Erika^{1,3}; Hidas András^{2,3}; Rácz Tímea³; Zajácz Edit³; Pálínkás-Bodzsár Nóra³

¹Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állatbiotechnológiai és Állattudományi Doktori Iskola, Gödöllő

²Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Intézet, Gödöllő

³Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat Génmegőrzési Intézet (NBGK-HGI), Gödöllő

A mézelő méhek fontos szerepet játszanak az ökoszisztémában és a gazdaságban, mégis, populációik világszerte fogyatkoznak. Habár hazánkban ez nem figyelhető meg jelentős mértékben, fennáll a genetikai variabilitás csökkenésének veszélye, és számolnunk kell a különböző fajok hibridizációjának negatív következményeivel.

A vizsgálat célja, a Magyarországon egyetlen tenyésztető ökotípus, a pannon méh genetikai diverzitásának felmérése mikroszatellit lókuszok alapján, az idegen genetikai anyag esetleges jelenlétének kimutatása, és egy fajtaazonosításra alkalmas marker készlet felállítása.

A morfológiai fajtaminősítésen megfelelt méhcsaládok kerültek összehasonlításra a nem megfelelt, a referencia és a más európai országokból származó krajnai méhek csoportjaival. Több mint 300 egyedet genotipizáltunk 20 mikroszatellit marker segítségével, és végeztük el a fragment analízist. Meghatároztuk az alapvető diverzitási paramétereket a csoportokon belül és azok között, valamint felmértük a genetikai struktúrájukat.

Eredményeink szerint az állományok közel állnak a Hardy-Weinberg egyensúly állapotához, vagyis tenyésztésük megfelelőnek mondható. A beltenyésztettség szintje, valamint a genetikai differenciálódás meglehetősen alacsony, a populációk között nincs egyértelmű strukturálódás. A nem megfelelt, a referencia és a krajnai méhminták csoportjaiban magasabb volt a heterozigóta egyedek aránya, és a genetikai differenciálódás mértéke is, mint a megfelelt állományban. A referencia csoport jól elkülönült a többitől, miközben azok meglehetősen nagy átfedésben voltak. Számos egyedi/megkülönböztető allélt mutattunk ki, melyek hozzájárulnak a kielégítő mértékű diverzitáshoz.

A populációgenetikai elemzéseket követően, a vizsgált csoportokból kiválasztásra került egy nagy relevanciával bíró mintagyűjtemény a mélyebbre ható markerkutatáshoz (mtDNS, SNP), mellyel egy, fajtaazonosításra alkalmas marker panel állítható fel, segítve ezzel a méhészeteket és a génmegőrzést.

Kulcsszavak: mézelő méh, mikroszatellit, genetikai diverzitás

Támogatás: VEKOP-2.3.2.-15-2016-00012; Magyar Méhtenyésztők Országos Egyesülete (MMOE)

Zebrahal embriók genomi uracilosodásának funkcionális genomikai elemzése

Szajkó Milda Blanka¹; Pálincás Hajnalka Laura²; Perey-Simon Viktória¹; Latífa Kazzazy³; Varga Máté³; Békési Angéla^{1,2}; Vértessy G. Beáta^{1,2}

¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3.

²HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Molekuláris Élettudományi Intézet, 1117 Budapest, Magyar Tudósok krt. 2.

³Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Genetikai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter stny. 1.

Az uracil DNS-beli előfordulása erősen korlátozott, alapvetően hibaként értelmezik a sejtek, és az uracil-DNS glikozilázok által kezdeményezett báziskivágásos javítómechanizmus révén hatékonyan javítják. Ezért a timidilát bioszintézis gátlása az erős citosztatikus hatása révén régóta alkalmazott rákterápiás stratégia. Ugyanis a megnövekedett sejtbeli dUTP/dTTP arány nagymértékű, timint helyettesítő uracil beépülést okoz, mely a javítás hiperaktivitása révén a DNS fragmentálódását eredményezi. Ugyanakkor a DNS-beli uracilnak lehet biológiai szerepe is. Például az AID/APOBEC DNS-citozin-dezamináz enzimek által katalizált reakcióban keletkező uracil-DNS és annak processzálása jelentős szerepet játszik az adaptív és az örökölt immunitásban. Továbbá a kutatócsoportunkban korábban kimutatták, hogy a teljes átalakulással fejlődő rovarok egyedfejlődése során a lárvális szövetekben uracilos DNS halmozódik fel, mely hozzájárulhat a metamorfózis során zajló programozott sejthalálhoz. Mindezek mellett a csoport legfrissebb eredményei szerint a zebrahal korai embrionális stádiumaiban szintén magas dUTP/dTTP arány és emelkedett DNS-beli uracilszintje is. Ennek funkcionális jelentőségét alátámasztja, hogy amennyiben ezt az állapotot dUTP-t bontó enzim mikroinjektálásával megzavarjuk, az komoly fejlődési zavarokat okoz. Azért, hogy a genomi uracil szerepét megértsük, 2,5 órás embriókban meghatározták a genomi uracil mintázatot a csoportban fejlesztett U-DNA-Seq módszer segítségével. Az első elemzések alapján az uracilban dúsult régiók jelentős átfedést mutatnak bizonyos szatellitákkal. Azért, hogy ennek jelentőségét mélyebben megértsük a 2,5 órás embrionális stádiumra nézve releváns funkcionális genomikai adatokat gyűjtöttem. Ezeket formai és minőségi szempontból szűrtük, majd a meglévő uracilosodási mintázattal részletes összehasonlító elemzést végeztünk a BedTools és a GIGGLE Search programcsomagokat, valamint a Segway genomszegmentációs tanulóalgoritmust alkalmazva.

Kulcsszavak: genomi uracil, embrionális fejlődés, funkcionális genomika

Támogatás: OTKA_FK_21 137867

ScreenGPT – Nagy nyelvi modellek alkalmazásának lehetőségei és korlátai a primer, szekunder és terciér prevencióban

Angyal Viola¹; Ádám Bertalan dr.¹; Elek Dinya dr.¹

¹Semmelweis Egyetem Doktori Iskola, Egészségtudományi Doktori Tagozat, Egészségügyi Közzszolgálati Kar, Digitális Egészségtudományi Intézet, Budapest

Bevezetés: A ChatGPT megjelenése forradalmasította az információ szerzést és koncentrált figyelmet irányított a nyelvi modellekre. Az emberek a legkülönbözőbb feladatokra kezdték el használni, így például egészségmegőrzéssel kapcsolatos tájékozódásra vagy egészségük jobb menedzselésére. Annak ellenére, hogy a mesterséges intelligencia alapú szolgáltatások nem helyettesíthetik az egészségügyi szakemberekkel történő konzultációt, kiegészítő szerepet tölthetnek be az egészségügyi prevenciós folyamatokban, így érdemes megvizsgálni a lehetőségeket és korlátokat.

Célkitűzés: Kutatásunk legfőbb célkitűzése az volt, hogy vizsgáljuk a nagy nyelvi modellek szerepének lehetőségeit és korlátait a primer, szekunder és terciér prevenciós folyamatokban. Ezen tapasztalatokra alapozva további célunk volt megalkotni egy olyan mesterséges intelligencia alapú szolgáltatást, amely segítheti a pácienseket a prevenció különböző szintjein.

Módszer: Vizsgálataink során a GPT-4 modellt tanulmányoztuk, majd létrehoztunk egy webapplikációt, melynek elkészítéséhez ugyanez a modell szolgált alapul. A válaszok helyességét strukturált kérdésekkel igyekeztük javítani. A webapplikáció elkészítéséhez Python programozási nyelvet használtunk, az alkalmazást pedig a Streamlit keretrendszer felhőszolgáltatásán keresztül tettük elérhetővé és tesztelhetővé.

Eredmények: A tesztek eredményei alapján számos területet azonosítottunk, ahol GPT-4 modellt hatékonyan lehetne alkalmazni a prevenciós folyamatokban. Az eredmények alapján sikeresen létrehoztunk egy webapplikáció alapjait, amely a ScreenGPT nevet kapta.

Következtetés: Megállapítottuk, hogy a GPT-4 modell a prevenció mindhárom szintjén felhasználható, további finomhangolások által pedig specifikusabbá tehető. A ScreenGPT rendszert ezen tapasztalatok alapján sikerült megalkotnunk, azonban számos további vizsgálatra van szükség, hogy megbizonyosodjunk megbízhatóságáról.

Kulcsszavak: mesterséges intelligencia, prevenció, adatvezérelt egészségügy

Támogatás: A kutatás támogatásban nem részesült.

Gyógyszermellékhatások számítógépes előrejelzése

*Weber Áron^{1,2}; Kovács Szabolcs¹; Binder Zsófia¹; Keömley-Horváth Bence^{1,2};
Mertus Írisz¹; Szalma János^{1,2}; Santiago Noto¹; Fichó Erzsébet^{1,2}; Csikász-Nagy Attila^{1,2}*

¹Cytocast Hungary Kft., Budapest

²Pázmány Péter Katolikus Egyetem Információs Technológiai és Bionikai Kar, Budapest

A gyógyszerfejlesztés egyszerre költséges és időigényes feladat, mely során sokszor több ezer potenciális molekula közül kerül ki egy, amely megfelelő terápiás hatással rendelkezik. Emellett gyakori, hogy bizonyos mellékhatások csak később, a gyógyszer forgalomba kerülése után derülnek ki. A folyamat felgyorsítására és a szűrési lépések hatékonyabbá tételére több módszer is létezik: különböző laborvizsgálatok modellállatokon és sejtvonalakon, illetve, az utóbbi évtizedekben egyre elterjedtebbé váló számítógépes módszerek.

Ilyen in silico módszerként fejlesztettük ki a Cytocast Cell Simulator platformot, amely képes fehérjekomplexek képződését és szétesését szimulálni egy 3D-s sejtmodellben. A szoftver bemeneti adatként nem csak a megengedett fehérje- és doméninterakciókat használja fel, hanem proteomikai mérésekből származó fehérjemennyiségi adatokat is, így nem csak kvalitatív, hanem kvantitatív képet is ad a szimulált sejt fehérjekomplexomáról.

Ahhoz, hogy a sejtszimulátor gyógyszerek mellékhatásainak előrejelzésére alkalmazható legyen, az első lépés az adott gyógyszer lehetséges célpontfehérjéinek a predikciója. Ehhez egy gépi tanuláson alapuló módszert dolgoztunk ki, mely a gyógyszer SMILES-kódja és adott fehérje szekvenciája alapján képes jósolni, beköthet-e a gyógyszer. Elkészítettünk továbbá egy szoftvercsomagot, mely képes a szimuláció kimeneteit feldolgozni, és azonosítani a megváltozásokat a sejt komplexomában, illetve a sejtútvonalak aktivitásában. Az esetleges mellékhatások előrejelzésére két módszert is biztosítunk, melyek közül az egyik gépi tanuláson alapul, míg a másik irodalmi adatokat felhasználva, fehérjéket, komplexeket és mellékhatásokat köt össze egy gráfba, a predikció pedig a gráf bejárásával történik. Poszterünkön ezt a módszert mutatjuk be egy gyógyszer példáján keresztül.

Kulcsszavak: bioinformatika, rendszerbiológia, sejtszimuláció, gyógyszerfejlesztés

Amiloidképződés gátlása stabilizált fehérjemutáns segítségével

Fodor Enikő^{1,2}; Kun Judit¹; Vető Lilla¹; Molnár Tamás¹; Bulyáki Éva^{1,3}; Moussong Éva^{1,4}; Schlosser Gitta⁵; Micsonai András^{1,2,4}; Kardos József^{1,2}

¹ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék, Budapest

²ELTE NAP Neuroimmunológiai Kutatócsoport, ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék, Budapest

³TargetEx Ltd., Budapest

⁴ELTE – Funkcionális Nukleinsav-motívumok Kutatócsoport, ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék, Budapest

⁵ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Analitikai Kémiai Tanszék, Budapest

A fehérjék funkciójukat (globuláris fehérjék esetén) a megfelelő natív térszerkezet felvétele után képesek ellátni, mely a fehérjék szintézisekor, a feltekeredés folyamán alakul ki. A nem megfelelő térszerkezet/másodlagos szerkezet betegségek kialakulásához vezethet. Ezen egészségügyi problémák külön csoportja az aggregációs betegségek, melyekben a fehérjemonomerek különféle aggregátumokat, amiloidszálakat alkotnak és lerakódnak a szervezetben. Ilyen aggregátumokat hoz létre az általunk kutatott $\beta 2$ -mikroglobulin ($\beta 2m$). A vad típusú (WT) $\beta 2m$ hosszútávú dialízis kezelést követően dialízishez köthető amiloidózist (DRA), míg a természetben előforduló D76N $\beta 2m$ mutáns örökletes szisztémás amiloidózist okoz. A $\beta 2m$ esetén a fehérjének legalább részlegesen le kell tekerednie ahhoz, hogy az amiloidképződés meginduljon, így a fehérjestabilitás növelése jó stratégiának tűnt az aggregáció gátlására. A kutatócsoportunk egy kettős mutáns $\beta 2m$ fehérjét hozott létre (3C61C $\beta 2m$), melyben egy további diszulfidhíd található a vad típusúhoz képest. A stabilitás növelésén túl a $\beta 2m$ -ben a 3-as és 61-es aminosav pozíció összekötése nem teszi lehetővé az amiloid szerkezet kialakulását, mivel ez a két pozíció a kutatási eredmények alapján az amiloid szálban távol helyezkedik el egymástól. Sikeresen kimutattuk, hogy a kettős mutáns nagyobb szerkezeti stabilitással rendelkezik, mint a WT és D76N variánsok, továbbá amiloidot sem képez. Mindemellett az aggregációs kísérletekben a kettős mutáns jelentősen lassította a WT és D76N variáns aggregációs sebességét. Eredményeink szerint a 3C61C nagyobb gátlóhatást gyakorol a vad típusú fehérjére. Mivel a DRA kialakulásához évekig van szükség, így már a reakció lassításával is több tünetmentes időt nyerhetnénk a páciensek számára, mielőtt veseátültetésre kerülne sor. Az általunk vizsgált gátlási mechanizmus új, aggregációs betegségeket célzó terápiák alapját képezheti a jövőben.

Kulcsszavak: $\beta 2$ -mikroglobulin, amiloid, dialízis, DRA

Támogatás: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (PD135510, K138937, 2019-2.1.6-NEMZ_KI-2019-00012, 2019-2.1.11-TÉT-2019-00079 és 2019-2.1.11-TÉT-2020-00101), Magyar Tudományos Akadémia, Nemzeti Agykutatási Program 3.0 (NAP2022-I-3/2022), Eötvös Loránd Tudományegyetem Egyetemi Kiválósági Alap (EKA 2022/045-P278-1). M. É. munkáját a Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-23-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programja támogatta.

Tumoros folyamatok kialakulásában szerepet játszó fehérje komplexek in vitro karakterizálása

Horváth Patrik¹; Boros Eszter¹; Katran Viktória¹; Ecsédi Péter¹; Szakács Dávid¹; Tihanyi Borbála¹; Gellén Gabriella²; Papp Dávid²; Schlosser Gitta²; Nyitray László¹; Kardos József¹

¹ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék, Budapest

²ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Analitikai Kémiai Tanszék, Budapest

A tumorok kialakulása egy rendkívül összetett, soktényezős folyamat, amelyben a tumorok mikrokörnyezetét alkotó számos komponens szerepet játszik, beleértve a különféle sejtek által szekretált fehérjéket, a szabályozó folyamatokat végző szignalizációs útvonalak résztvevőit, valamint az extracelluláris mátrixot is. A tumorok kialakulásának hátterében álló folyamatok megértéséhez nélkülözhetetlen az abban résztvevő fehérjék vizsgálata, és a fehérjék között kialakult komplexek azonosítása és karakterizálása.

Kutatócsoportunk az elmúlt években három fehérje egymással történő új kölcsönhatását azonosította, amely kölcsönhatás tagjai külön-külön is fontos szerepet játszanak a tumorok kialakulásában. A három fehérjének azonban nem csak a tumorgenezis folyamatában van fontos szerepe, hanem különféle fiziológiás folyamatokban is, mint például az angiogenezis, vagy az axonnövekedés. A három fehérje, nevezetesen a cink-függő endopeptidázok közé tartozó mátrix metalloproteináz-2 (MMP2), az annexin A2 (ANXA2) kalcium-függő, foszfolipidkötő fehérje, valamint egy sejtfelszíni receptor, a neuropilin-1 (NRP1). Kutatásunk célja, hogy in vitro karakterizáljuk a 3 fehérje között kialakuló kölcsönhatást, továbbá hogy megvizsgáljuk milyen biológiaiilag releváns folyamatokban, és hogyan vehet részt a 3 fehérje által alkotott komplex. Eddigi kísérleteink során rekombinánsan előállított fehérjékkel dolgozva bebizonyítottuk, hogy a 3 fehérje mindegyike képes egymáshoz kötődni szubmikromólos kötési erősséggel. Továbbá, az interakció hatására az MMP2 képes a két újonnan azonosított partnerét limitált proteolízissel hasítani, amelyet befolyásol a fehérjék poszttranszlációs módosulása.

A három fehérje közötti kölcsönhatás részletesebb ismerete, valamint a fehérjekomplexek atomi felbontású szerkezetének ismerete nagyban elősegítheti a tumorok kialakulásának pontosabb megértését, valamint új, terápiás célpontokat jelenthet a későbbiekben.

Kulcsszavak: tumor, fehérje-fehérje kölcsönhatás, MMP2, NRP1, ANXA2

Támogatás: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (K138937), Magyar Tudományos Akadémia, Nemzeti Agykutatási Program 3.0 (NAP2022-I-3/2022).

A622: kulcsfontosságú oxidoreduktáz a nikotin bioszintézisben

Mokos Dániel¹; Schrüfer Anna¹; Jurič Jernej¹; Berger Tamara¹; Gruber Karl^{1,2}; Daniel Bastian^{1,2}

¹University of Graz, Institute of Molecular Biosciences, Graz, Ausztria

²BioTechMed, Graz, Ausztria

A dohányipar egy több milliárd dolláros iparág [1], amely kizárólag a nikotin élettani hatásaira épül. Bár a dohány a globális gazdaság egyik főszereplője, a nikotin bioszintézisének néhány lépése még mindig kevésbé ismert. A kezdeti lépések jól karakterizáltak, míg a későbbi lépések esetében feltételezték enzimeket, de azok pontos működését in vitro még soha nem mutatták ki [2]. Az A622-ről már bebizonyosodott, hogy döntő szerepet játszik az alkaloid bioszintézisben [3,4], ezért jelenlegi célunk az A622 szerkezeti és funkcionális jellemzése.

Mivel a *Nicotiana tabacum*-ból származó A622 natív formáját nehéz volt rekombináns úton előállítani és tisztítani, megpróbáltuk más alkaloid termelő növényekben található természetes homológjait jellemezni, valamint "összekvencia rekonstrukcióval" (Ancestral-Sequence Reconstruction, ASR) fehérjéink elméleti őseit előállítani, melyek általában hasonló funkciójúak, de stabilabbak, ahogy azt korábban Mattevi és munkatársai kimutatták [5].

Sikerült rekombinánsan előállítanunk és tisztítanunk hat, a természetben nikotintermelő növényekben megtalálható A622 homológot, valamint két ősi változatot, és kristályosítási kísérleteket végeznünk velük. Az egyik ősváltozatból különböző körülmények között fehérjekristályokat nyertünk, és teljes adatkészletet gyűjtöttünk a szerkezetmeghatározáshoz, majd a szerkezetet 1,3 Å felbontással megoldottuk. Ez segített a kötődési mechanizmus felvetésében, valamint a fehérje aktivitásának predikciójában.

Kulcsszavak: nikotin, struktúrbiológia, bioszintézis, biokatalízis, 3D

Támogatás: Ezt a kutatást az Osztrák Tudományos Alap (FWF) támogatta a P 34337-B számú projekt keretében.

[1] Statista. (June 16, 2021). Value of the tobacco market worldwide from 2012 to 2025 (in million U.S. dollars) [Graph]. In Statista. Retrieved March 18, 2022, from <https://www.statista.com/forecasts/1098876/tobacco-global-market-value>, (no date).

[2] Xu S, Brockmöller T, Navarro-Quezada A, Kuhl H, Gase K, Ling Z et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2017;114(23): 6133–6138. doi:10.1073/pnas.1700073114

[3] M. Kajikawa, N. Hirai, T. Hashimoto, Plant Mol Biol. 2009;69: 287–298. doi:10.1007/s11103-008-9424-3

[4] K.D. DeBoer, J.C.Lye, C.D. Aitken CD, A.K.K. Su, J.D. Hamill, Plant Mol Biol. 2009;69: 299–312. doi:10.1007/s11103-008-9425-2

[5] Nicoll, C.R.; Bailleul, G.; Fiorentini, F.; Mascotti, M.L.; Fraaije, M.W. and Mattevi, A, Nature Structural & Molecular Biology, 2020; 1: 14–24. doi:10.1038/s41594-019-0347-2

Egy multivalens fehérje-fehérje interakció elemzése NMR mérésekkel és bioinformatikai módszerekkel

Nagy-Kanta Eszter¹; Dobson-Kálmán Zsófia¹; Péterfia Bálint Ferenc¹; Gáspári Zoltán¹

¹Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionikai Kar, Budapest

A fehérjék szerkezetének és működésének leírása elengedhetetlen ahhoz, hogy olyan sejtszintű folyamatokat megérthessünk, mint például az agyi ingerület továbbítás. Ahhoz, hogy precízen tudjunk terápiás eljárásokat fejleszteni, nem csupán egy-egy fehérje szerkezetét kell minél részletesebben leírni, hanem az elemek egymáshoz kapcsolódását és dinamikáját is.

A dinein könnyű lánc (DLC2) fehérje a dinein motor komplex egyik eleme, de „hub” (központi) elemként a sejt homeosztázisban is fontos szerepet tölt be. Több, mint 100 interakciós partnerét azonosították. Ezek egyike a GKAP, egy neurális állványfehérje, ami a szinapszisok fogadó oldalán, a poszt-szinaptikus denzitásban expresszálódik. Egy doménjét leszámítva rendezetlen, és több partnerrel is kapcsolódik, így interakcióival rugalmasan szabályozza az NMDA-receptorokon keresztül közvetített idegi jelátvitelt. Két nem kanonikus (az LC8 hub [1] adatbázisban leírt általános motívumtól eltérő) DLC2 kötő motívuma van, így a dimerként funkcionáló DLC2-vel 2:4 arányban képes hetero-hexamer komplexet kialakítani. Az ilyen összetett komplexek szerkezeti vizsgálata technikai kihívást jelent.

Figyelembe véve, hogy az egyik partnerfehérje rendezetlen, a szerkezeti vizsgálatokat NMR spektroszkópiával végeztük, pEV vektorral transzformált *E. coli*-ban expresszáltatott ¹³C-¹⁵N-jelölt GKAP és jelöletlen dinein fehérjékkel. Emellett molekuladinamikai módszerekkel és az AlphaFold2-Multimer kalkulációit is felhasználva létrehoztunk szerkezeti modelleket, amivel ez az összetett komplex jellemezhető. A két nem tipikus DLC2-kötőmotívumot aminosavszinten elemeztük az NMR mérésekből nyert kémiai eltolódás perturbáció adatokkal és a molekuladinamika során kapott szerkezeti sokaságokkal.

Az ilyen komplexek szerkezetének ismeretében jobban megérthetjük az olyan folyamatok molekuláris, vagy akár atomi szintű hátterét, mint a tanulás, memória vagy az agyi plaszticitás.

Kulcsszavak: fehérjeszerkezet, NMR, molekuladinamika

Támogatás: Az NMR méréseket prof. Perttu Permi végezte a finnországi Jyväskylä-i Egyetemen. A kutatás az NKFIH támogatásával készült (TKP2021-EGA-42).

[1] <https://lc8hub.cgrb.oregonstate.edu/>

Humán egyszálú DNS-kötő fehérje (HSSB1/NABP2) redox-függő kondenzációja és citoplazmatikus granulációja oxidatív stresszválasz során

Pálinkás János^{1,7}; Harami M. Gábor^{1,2,7}; Kovács J. Zoltán^{1,3,7}; Jezsó Bálint^{1,7}; Tárnok Krisztián⁴; Harami-Papp Hajnalka^{1,2}; Hegedüs József¹; Lamiya Mahmudova¹; Kucsma Nóra⁵; Tóth Szilárd⁵; Szakács Gergely^{5,6}; Kovács Mihály^{1,3}

¹ELTE-MTA "Lendület" Motorenzimológia Kutatócsoport, Biokémiai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Pázmány P. s. 1/c, H-1117 Budapest, Magyarország

²Jelenlegi cím: Laboratory of Single Molecule Biophysics, National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, USA

³HUN-REN-ELTE Motorfarmakológia Kutatócsoport, Biokémiai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Pázmány P. s. 1/c, H-1117 Budapest, Magyarország

⁴Élettani és Neurobiológiai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Pázmány P. s. 1/c, H-1117 Budapest, Magyarország

⁵HUN-REN Molekuláris Élettudományi Intézet, Természettudományi Kutatóközpont, Magyar Tudósok körútja 2, H-1117 Budapest, Magyarország

⁶Center for Cancer Research, Medical University of Vienna, Borschkegasse 8a, 1090 Wien, Austria

⁷Szerzők egyenlő mértékben járultak hozzá

A humán egyszálú DNS-kötő fehérje 1 (hSSB1/NABP2/OBFC2B) központi szerepet játszik a DNS-törések és az oxidált DNS-károsodások javításában. Munkánk során kimutattuk, hogy a hSSB1 redox-függő folyadék-folyadék fázisszeparáción (LLPS – liquid-liquid phase separation) megy keresztül egyszálú DNS vagy RNS jelenlétében. Ezen eredmények nagy mértékben különböznek a bakteriális SSB LLPS tulajdonságától, melyet korábbi munkánk során szintén feltártunk. A hSSB1 nukleoprotein kondenzátumok fiziológias ionos körülmények között, sejtes oxidatív stresszválaszt kiváltani képes kezelés hatására alakulnak ki. A hSSB1 rendezetlen régiója (IDR – intrinsically disordered region) nélkülözhetetlen az LLPS-hez, míg az oligonukleotid/oligoszacharid-kötő (OB – oligonucleotide binding) domén mindhárom cisztein aminosava szükséges a redox-függő kondenzációs tulajdonság fenntartásához. A hSSB1 kölcsönható fehérjepartnerei szelektíven képesek feldúsulni a hSSB1 kondenzátumokban, jelezve, hogy a kondenzátumok tartalma szoros szabályozás alatt áll. A hSSB1 ezen LLPS tulajdonságai nem csak a genomjavítás során lehetnek fontosak, ugyanis különböző sejtvonalakban oxidatív stresszválasz során a citoplazmában sikerült kimutatnunk hSSB1 kondenzátumokat. E citoplazmatikus hSSB1 granulumok erős kolokalizációt mutatnak stresszgranulumokkal, melyek a sejtes stresszválasz során kiemelten fontos extranukleáris, RNS-metabolizmusban szerepet játszó membrán nélküli organellek. Ezen eredmények a hSSB1 oxidatív stresszválaszban betöltött, eddig nem ismert extranukleáris szerepét feltételezik, összekapcsolva a genomjavítást és a citoplazmatikus stresszválaszt.

Kulcsszavak: biomolekuláris kondenzátumok, folyadék-folyadék fázisszeparáció, DNS hibajavítás, egyszálú DNS-kötő fehérje, oxidatív stressz

Támogatás: A kutatást a Magyar Tudományos Akadémia "Lendület" Programja (LP2011-006/2011), illetve az ELTE KMOP-4.2.1/B-10-2011-0002, NKFIH K-123989, and NKFIH K-134595 pályázatok, továbbá az NRDIO (VEKOP-2.3.3-15-2016-00007 to ELTE) pályázatok támogatták. H.M.G.-t a Magyar Tudományos Akadémia Prémium Posztdoktori Programja támogatta (PREMIUM-2017-17). K.J.Z. és P.J. az Új Nemzeti Kiválóság Program támogatásával (ÚNKP-21-3 K.J.Z. és ÚNKP-19-2 P.J.), és a Kooperatív Doktori Program támogatásával rendelkezett az Innovációs és Technológiai Minisztérium által. P.J.-t az ELTE Joseph Cours ösztöndíja támogatta. A munka az ELTE "Szintplusz" Térmaterületi Kiválóság program keretében zajlott a Magyar Innovációs és Technológiai Minisztérium támogatásával, valamint a 2018-1.2.1-NKP-2018-00005 számú, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap támogatásával megvalósuló, a 2018-1.2.1-NKP támogatási program keretében finanszírozott projekt keretében.

A polietilén glikol (PEG) elleni antitestek aviditásának vizsgálata hagyományos ELISA módszerrel

Facskó Réka^{1,2,3}; Mészáros Tamás^{1,2,3}; Szebeni János^{1,2}; Kozma Tibor Gergely^{1,2}

¹Semmelweis Egyetem, Transzlációs Medicina Intézet, Nanomedicina Kutató és Oktató Központ, Budapest

²SeroScience Kft., Budapest

³Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Budapest

A polietilén glikol (PEG), ill. PEG-konjugált terápiás készítmények az elmúlt két évtizedben jelentősen elterjedtek a gyógyászatban, így egyre nagyobb az érdeklődés a PEGilált hordozók ellen kialakuló immunválasz kutatására is [1-3]. Különösen, hogy az utóbbi években jelentősen megnőtt a PEGilált terapeutikumokkal kezelték száma, ugyanis a Comirnaty és a Spikevax vakcinák esetében PEG-gel konjugált lipid nanorészecske gyógyszerhordozó rendszert alkalmaztak [4-6]. Korábbi eredményeink alapján ezen oltásokat követően szignifikánsan megemelkedtek az anti-PEG antitestszintek, valamint megállapítottuk, hogy a megemelkedett anti-PEG antitestszint összefüggésben van az oltásra adott túlérzékenységi reakciók súlyosságával [7]. A szervezetben jelenlévő anti-PEG antitestek PEGilált készítménnyel történő kölcsönhatásait azonban az antitestek aviditása is befolyásolja. Hatással van a kialakuló immun-komplex minőségére, a létrejövő effektor funkciókra és az immun-komplex szervezetből való kiürülésére is [8].

Vizsgálataink során célunk volt meghatározni, hogy az anti-PEG antitestek átlagos kötési aviditását hogyan befolyásolták a PEGilált terápiás szerekkel történő kezelések.

Az anti-PEG antitestek átlagos kötési aviditását Friguet és mtsai. [9] által leírt hagyományos ELISA módszerrel határoztuk meg Comirnaty és a Spikevax vakcinált és COVID-19 oltásban nem részesült önkéntes donorjainktól gyűjtött plazma mintákban. Az egyensúlyi állandók meghatározásához Bobrovnik és mtsai. [10] által javasolt alternatív megközelítést alkalmaztuk, amely az egyensúlyi állandók pontosabb meghatározását teszi lehetővé.

Eredményeink szerint a Comirnaty és Spikevax oltásokat kapott személyekben a COVID-19 oltásban nem részesültekhez képest szignifikánsan magasabb az anti-PEG antitestek affinitása, valamint összefüggést találtunk az anti-PEG antitestek affinitása és az oltásra adott túlérzékenységi reakció súlyossága közt.

Kutatásaink felhívják a figyelmet a PEGilált COVID-19 oltások által megváltoztatott anti-PEG antitest repertoárra. Ennek ismerete különösen fontos egy újabb PEG tartalmú terápiás készítmény alkalmazása előtt, hiszen a szervezetben jelen lévő antitestek nem csak hatáscsökkenéshez, de súlyos allergiás reakcióhoz is vezethetnek.

Kulcsszavak: Anti-PEG antitest, ELISA, affinitás, aviditás

Támogatás: A 2023-2.1.2-KDP-2023-00016 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a KDP-2023 pályázati program finanszírozásában valósul meg.

[1] Chen, B.M., T.L. Cheng, and S.R. Roffler, Polyethylene Glycol Immunogenicity: Theoretical, Clinical, and Practical Aspects of Anti-Polyethylene Glycol Antibodies. *Acs Nano*, 2021. 15(9): p. 14022-14048.

[2] Kozma, G.T., et al., Pseudo-anaphylaxis to Polyethylene Glycol (PEG)-Coated Liposomes: Roles of Anti-PEG IgM and Complement Activation in a Porcine Model of Human Infusion Reactions. *Acs Nano*, 2019. 13(8): p. 9315-9324.

[3] Kozma, G.T., et al., Anti-PEG antibodies: Properties, formation, testing and role in adverse immune reactions to PEGylated nano-biopharmaceuticals. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2020. 154: p. 163-175.

- [4] Echaide, M., et al., mRNA Vaccines against SARS-CoV-2: Advantages and Caveats. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. 24(6): p. 16.
- [5] Szebeni, J., et al., Applying lessons learned from nanomedicines to understand rare hypersensitivity reactions to mRNA-based SARS-CoV-2 vaccines. *Nature Nanotechnology*, 2022. 17(4): p. 337-346.
- [6] Dezsi, L., et al., A naturally hypersensitive porcine model may help understand the mechanism of COVID-19 mRNA vaccine-induced rare (pseudo) allergic reactions: complement activation as a possible contributing factor. *Geroscience*, 2022. 44(2): p. 597-618.
- [7] Kozma, G.T., et al., Role of anti-polyethylene glycol (PEG) antibodies in the allergic reactions to PEG-containing Covid-19 vaccines: Evidence for immunogenicity of PEG. *Vaccine*, 2023.
- [8] Chang, T.C., et al., Impact of anti-PEG antibody affinity on accelerated blood clearance of pegylated epoetin beta in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022. 146: p. 10.
- [9] Friguet, B., et al., Measurements of the true affinity constant in solution of antigen-antibody complexes by enzyme-linked immunosorbent-assay. *Journal of Immunological Methods*, 1985. 77(2): p. 305-319.
- [10] Bobrovnik, S.A., et al., Traditional ELISA methods for antibody affinity determination fail to reveal the presence of low affinity antibodies in antisera: an alternative approach. *Journal of Molecular Recognition*, 2010. 23(5): p. 448-456.

Bioszimiláris Nivolumab monoklonális antitest affinitás kromatográfiás tisztítása CHO sejt kultúrából

Fejér Rebeka¹; Gudor Szilárd^{1,2}; Bálint Emese-Éva^{1,4}; Albert Beáta^{1,3,4}; Salamon Pál^{1,3,4}

¹Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Biomérnöki Tanszék, Csíkszereda, Románia

²George Emil Palade Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány- és Technológiai Egyetem, Gyógyszerészeti kar, Marosvásárhely, Románia

³Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Pécs, Magyarország

⁴Corax-Bioner CEU SA, Str. Mikó, nr. 1, et. 1, cam. 100, 530174, Csíkszereda, Románia

A rekombináns DNS technológia fejlődése miatt az irányított terápiás monoklonális antitestek (mAbs) jelentősége az utóbbi időben drámaian megnőtt, kiemelt helyet foglalva el a globális biotechnológiai gyógyszeriparban. Ezeknek a bioszimiláris termékeknek a szintézise emlős expressziós rendszerekben történik, főként kínai hörcsög petefészkek (CHO) sejt kultúrákban. Az előállítási hozamok fejlődésével a monoklonális antitestek termelése néhány milligrammról grammokra növekedett literenként. Ez a fejlődés jelentős nyomást gyakorol a downstream folyamatokra, módosításokat tesz szükségessé a nagyobb hatékonyság eléréséhez. Az egyik elterjedt és elsődleges kromatográfiás tisztítási lépés a monoklonális antitestek downstream folyamatában a Protein A affinitási kromatográfia.

Kutatásunk célja CHO emlős sejt vonalban expresszált, bioszimiláris Nivolumab monoklonális antitest jellemzése. Ehhez szükséges a Protein A affinitási kromatográfiával történő tisztítás, valamint a különböző passzázsok közötti összefüggések meghatározása, továbbá a molekulaméret validálása MALDI-TOF-MS és SDS-PAGE elválasztással.

A tisztítás során négy növekvő passzázsból származó mintával dolgoztunk, hogy megvizsgáljuk az időbeli korrelációkat. Az eredményeink megerősítik, hogy az előállított antitestek koncentrációja arányosan nő a passzázsok számának növekedésével. A kutatás során sikerült jellemezni a bioszimiláris Nivolumab monoklonális antitestek szerkezetét.

Kulcsszavak: monoklonális antitest tisztítás, Protein A affinitás kromatográfia, bioszimiláris Nivolumab

Támogatás: Ezen kutatási munkát Románia Kutatási és Innovációs Minisztériumának a POC/161/6/3-398/390074/ 09.11.2021 számú projektje finanszírozta. Gudor Szilárd munkáját a Collegium Talentum tehetséggondozó program (SHA) támogatta. Salamon Pál munkája a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal útján az Új Nemzeti Kiválóság Program, az ÚNKP-23-4-II által valósult meg.

A biotinált trastuzumabbal felszerelt univerzális CAR T sejtek tumor szferoidokba és ADCC-rezisztens tumor xenograftokba történő penetrációjának vizsgálata

Nagy Lőrinc¹; Mezősi-Csaplár Marianna¹; Rebenku István¹; Vereb György^{1,2,3,#}; Szőr Árpád^{1,#}

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, HUN-REN-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport, Debrecen

³Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Debrecen

A kiméra antigén receptor (CAR) T sejtek hatékonysága a daganatterápiákban korlátozott, mert a terápiás célpont molekula hiányozhat vagy eltűnhet a kezelés során. Az univerzális CAR (UniCAR) T sejtek megoldást kínálnak erre a problémára oly módon, hogy adapter molekulákon, például biotinált antitesteken keresztül ismerik fel a molekuláris célpontjukat, lehetővé téve párhuzamosan több marker targetálását is.

Kutatócsoportunk korábban bizonyította, hogy a konvencionális CAR T sejtek képesek behatolni a tumorok extracelluláris mátrixába (ECM), ellentétben a terápiás antitestekkel, melyek hatása (ADCC) ellen a tumor így védettséget élvez. Jelen kutatásunkban azt vizsgáltuk, hogy a szintén antitestek által irányított UniCAR T sejtek is képesek-e ilyen tumorpenetrációra. A létrehozott UniCAR konstrukcióban egy biotinkötő streptavidin-2 monomer (mSA2) biztosította a biotinált trastuzumab (BT) antitesthez való kapcsolódást és így a HER2 target közvetett felismerését. Az UniCAR T sejtek aktiválódását és citotoxikus hatékonyságát konvencionális immunoassay-kel validáltuk, majd 3D tumor szferoidokon a sejtek HER2 felismerését és tumorpenetrációs kapacitását, míg in vivo egérkísérletben a HER2+ tumor xenograft elleni reakcióit vizsgáltuk.

Eredményeink alapján a BT által irányított UniCAR T sejtek hatékonyan és specifikusan reagálnak a HER2 mind molekuláris, mind sejtfelszíni formája ellen. Az UniCAR T sejtek BT jelenlétében aktívan penetráltak a tumor szferoidokat és sejtpusztulást váltottak ki azok központi régiójában. Továbbá in vivo kísérleteink igazolták, hogy az UniCAR T sejtek fiziológiás körülmények között képesek megkötni a BT antitesteket és ezáltal célba venni a tumor xenograftokat. A natív HER2 és biotin jelenléte miatt ez a konstrukció ugyanakkor mellékhatásokat mutatott a tüdőben. Eredményeink alapján elmondható, hogy egy hasonló, adapter molekulákat alkalmazó konstrukció megoldást kínálhat a jövőben az antitest terápiára rezisztens, vagy magas heterogenitást mutató tumorok ellen.

Kulcsszavak: emlőrák, HER2, trastuzumab, univerzális kiméra antigen receptor, immunterápia, sejtes terápia

Támogatás: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal: OTKA K143771 és FK132773
Európai Unió és Európai Regionális Fejlesztési Alap: GINOP-2.3.3-15-2016-00003 és GINOP-2.3.2-15-2016-00044

Magyar Tudományos Akadémia: Bolyai János Kutatási Ösztöndíj

Innovációs és Technológiai Minisztérium, Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal, Új Nemzeti Kiválóság Program: ÚNKP-21-5-DE-482; ÚNKP-22-3-I-DE-196; ÚNKP-23-3-II-DE-249; ÚNKP-22-3-II-DE-139

Bisy GmbH, biotechnológia a szintézishez Enzimtechnológiai projektek felgyorsítása RapidFire MS screening technológiák alkalmazásával

***Bodnár Vivien¹; Heimhilcher Sven¹; Ebner Katharina¹; Glieder Anton¹ és
Winkler Margit²***

¹bisy GmbH, Wünschendorf 292, 8200 Hofstätten, AUSZTRIA

²Molekuláris Biotechnológiai Intézet, Graz-i Műszaki Egyetem, Petersgasse 14, A-8010 Graz, AUSZTRIA

A Bisy a Graz-i Műszaki Egyetem és az Osztrák Ipari Biotechnológiai Központ folyamatosan növekvő biotechnológiai spin-off vállalkozása, amelyet 2014-ben Glieder Anton alapított.

Cégünk egyedi megoldásokat kínál *Pichia pastoris* fehérjeexpresszióhoz és törzsfejlesztéshez. Vállalatunk biokatalizátor-készleteket, vektorokat és törzseket tartalmazó expressziós készleteket, biotechnológiai folyamatfejlesztést és méretnövelést, valamint projekt megvalósíthatósági tanulmányokat kínál. A Bisy rendelkezik szellemi tulajdonjogokkal különböző fehérjék koexpressziójára és a metanol-független indukcióra vonatkozó innovatív expressziós technológiákhoz. A Bisy kereskedelmi licenccel rendelkezik a Gibson-klónozásra is, amely lehetővé teszi az innovatív K+F megoldásokhoz szükséges áteresztőképességet.

Nemrégiben megkezdtük downstream feldolgozási repertoárunk, valamint analitikánk bővítését, élvonalbeli technológiák és berendezések felhasználásával. Az itt bemutatott projekt az Agilent Rapidfire rendszert alkalmazó új szűrési technológiák létrehozását foglalja magában, kombinálva triple quad MS/MS termékanalízissel, hogy megkönnyítsük a jövőbeli projekteket, és növeljük a sikerességi arányt autentikus szubsztrátokat és biokatalitikus reakciókat alkalmazva az enzimaktivitási vizsgálatokhoz.

Az első kísérletek a biokatalitikus reakciókból származó vanillin kimutatására szolgáló analitikai eljárás létrehozására lehetővé tették a mintánkénti elemzési idő 5 percről 10 másodpercre történő csökkentését. Ezen túlmenően analitikai eljárást hoztunk létre a *Pichia pastoris* által termelt, nem specifikus peroxigenáz enzimváltozatok által katalizált hidroxilálással előállított termékek elemzésére, és azt mutáns könyvtárak szűrésére alkalmaztuk.

Kulcsszavak: Bisy, *Pichia*, Rapidfire, MS

Támogatás: bisy GmbH

Mikrofluidikai diffúziós rendszerek áramlástan optimalizálása gyógyszerpenetrációs mérésekhez

Kocsis Dorottya¹; Erdő Franciska¹

¹Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionikai Kar, Budapest

A bőrön keresztüli gyógyszerbevitel hatékonysága fontos a topikális készítményekben, így vizsgálatához megbízható, könnyen alkalmazható és költséghatékony megoldásra van szükség. Az általunk fejlesztett mikrofluidikai diffúziós kamrák („skin-on-a-chip” rendszerek) alkalmazsak különféle barrier modellek – szintetikus membránok, 2D és 3D sejtkultúrák, ex vivo bőrminták – transzdermális penetrációjának vizsgálatához, melyek a klasszikus farmakokinetikai módszerekkel szemben kisebb méretű mintákat, következésképp kevesebb sejtet és feláldozott állatot igényelnek.

A saját fejlesztésű eszközök mellett az IvTech Ltd. LiveBox2 makro-skálán mozgó rendszerét is használtuk, ami fiziológiás barrierok sejtkultúrás modellezésére lett tervezve. Ismereteink szerint transzdermális penetrációs eredmények még nem elérhetők ezen az eszközön, így célunk volt, hogy validáljuk és összehasonlítsuk két mikrofluidikai rendszerrel, miközben optimalizáljuk az áramlási dinamikát.

Kontrollként a farmakokinetikában barrier modellként gyakran alkalmazott cellulóz-acetát, valamint a sejtkultúrák alapjaként is használt poliészter membránt választottuk. Közelítve a mesterséges bőrmodellekhez, dolgoztunk sejtmentes és keratinocytákat tartalmazó alginát- és metakrilátkorongokkal, melyek a bionyomtatásban használt biotinták alapanyagai, valamint ex vivo patkánybőrrel. A méréseket három különböző áramlási sebességen végeztük.

Az eredmények reprodukálhatóak voltak mindhárom eszközön. A két vizsgált membrán hasonló jellemzőket mutatott, melyekhez közel állt az üres alginát- és metakrilátkorong permeabilitása is, míg a patkánybőrön mért értékek jellemzően alacsonyabbak voltak. A sejtes korongokban 3 és 4 hét inkubálás után csökkent a gyógyszerpenetráció, ami sejt-sejt kapcsolatok kialakulására, ezáltal a barrierfunkció erősödésére utal. A nagyobb áramlási sebesség nagyobb koncentráció-grádienst tartott fenn, azonban a leggyorsabb áramlásnál a felszívódás nem fokozódott tovább, ami összefüggésben van a csatorna falán fellépő kisebb nyíróerővel, melyet az áramlástan számítások is megerősítettek.

A vizsgált eszközök mind sikeresen alkalmazhatóak gyógyszerpenetrációs vizsgálatokhoz, azonban a bőrmmodell és az áramlási sebesség gondos megválasztása elengedhetetlen.

Kulcsszavak: skin-on-a-chip, bionyomtatás, mesterséges bőrmmodellek

Támogatás: A Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-23-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

Protokoll kidolgozása fehérjeaggregátumok és amiloidszálak cirkuláris dikroizmus spektroszkópiával történő szerkezetvizsgálatára

Nyiri Márton Péter¹; Moussong Éva^{1,2}; Frank Wien³; Micsonai András^{1,2,4}; Kardos József^{1,4}

¹ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék, Budapest

²ELTE – Funkcionális Nukleinsav-motívumok Kutatócsoport, ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék, Budapest

³SOLEIL Synchrotron, Gif-sur-Yvette, 91192 Franciaország

⁴ELTE NAP Neuroimmunológiai Kutatócsoport, ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék, Budapest

A fehérjeaggregátumok, oligomerek, illetve kereszt- β -lemezes szerkezetű amiloid szálak megjelenése a szervezetben olyan patológiás folyamatokhoz köthetők, melyek összefüggésben állnak az Alzheimer-kór, a Parkinson-kór, illetve más aggregációs betegségek kialakulásával. In vitro és in vivo vizsgálatok alapján a betegségben érintett peptidek és fehérjék különböző aggregátumai eltérő citotoxicitást mutatnak, a szerkezet-hatás összefüggésről azonban korlátozottak az információink. A cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia széleskörűen használt, olcsó, egyszerű és gyors módszer a fehérjék szerkezetének vizsgálatára. A távoli-UV tartományban a fehérjék CD spektruma főként a peptidgerinc geometriájától, vagyis a másodlagos szerkezet-összetételtől függ. Bár a módszer maga nem csak globuláris fehérjék kvantitatív jellemzésére alkalmas, az elmúlt évtizedekben csak kisebb számban jelentek meg olyan publikációk, melyek a fehérjeaggregátumok, amiloidszálak, vagy membrán fehérjék CD spektrumának jellemzésével foglalkoznak. Ennek oka legfőképpen az, hogy az ilyen formában lévő fehérjék mintái nehezen vizsgálhatók a gyakori inhomogenitás, kicsapódás, és fényszórási effektusok miatt. Másrészt az általában magas β -lemezes szerkezet tartalmat a korábbi spektrumelemző módszerek nem tudták jól becsülni. A mérés akkurátus kivitelezése és a kapott spektrumok kiértékelése fokozott körültekintést igényel. Jelen munkában részletesen vizsgáltuk az inhomogenitás, differenciális fényszórás, morfológiai diverzitás különböző peptidek és fehérjék aggregátumainak CD spektrumára gyakorolt hatását. Kidolgoztunk egy mérési protokollt a fehérjeaggregátumok, amiloidszálak vizsgálatára, amely reprodukálható és kvantitatívan is elemezhető adatgyűjtést és helyes szerkezetbecslést tesz lehetővé.

Kulcsszavak: cirkuláris dikroizmus, fehérjeszerkezet, másodlagos szerkezet, amiloid, Alzheimer-kór

Támogatás: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (PD135510, K138937, 2019-2.1.6-NEMZ_KI-2019-00012, 2019-2.1.11-TÉT-2019-00079 és 2019-2.1.11-TÉT-2020-00101), Magyar Tudományos Akadémia Nemzeti Agykutatási Program 3.0 (NAP2022-I-3/2022), Eötvös Loránd Tudományegyetem Egyetemi Kiválósági Alap (EKA 2022/045-P278-1). A munka „a Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-23-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.”

Hordozható multifunkciós eszköz fejlesztése hurok által közvetített izotermális amplifikáció (LAMP) kivitelezésére

Szives András¹; Dr. Poór Viktor Soma²; Dr. Zenke Petra³

¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Budapest

²Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Igazságügyi Orvostani Intézet, Pécs

³Állatorvostudományi Egyetem, Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Intézet, Budapest

Több mint két évtizede jelent meg a hurok által közvetített izotermális sokszorosítás (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP), ami nukleinsav amplifikálásra használt reakció. A LAMP mellett számos más izotermális amplifikáló (IA) reakció is létezik, melyeket a polimeráz láncreakció (PCR) alternatíváiként lehet alkalmazni. Amíg azonban a legtöbb IA reakció nem képes felvenni a versenyt a PCR-rel, a LAMP számos tulajdonságában előnyösebb. Egyik ilyen attribútuma a minimális eszközigény. Amíg a hagyományos PCR kivitelezése drágább laborfelszerelést igényel, a LAMP reakció elvégzéséhez elegendő egy fűtőegység vagy vízfürdő, a termék detektálása pedig akár szabad szemmel, illetve különböző fényforrások (pl. UV) segítségével is elvégezhető. A bemutatott sajátosságok lehetővé teszik, hogy a LAMP egy mobilis, terepi alkalmazásra különösen megfelelő eljárássá váljon, aminek megvalósítását egy erre alkalmas eszköz nagyban segítené. A különböző LAMP reakciók elvégzéséhez léteznek kereskedelmi forgalomban kapható készülékek, viszont ezek az eszközök relatív drágák és nehezek, vagy csak egyes alap funkciókat biztosítanak, illetve hálózati áramforrást igényelnek. A reakció kivitelezésének laboratóriumi körülményektől való függetlenítéshez szükség van egy könnyű, több eszközt magában foglaló hordozható készülékre. Célunk egy olyan, nagyrészt 3D eljárással nyomtatott készülék előállítása, mely több, a genetikai vizsgálatokhoz alapvetően szükséges munkafolyamat megvalósítására képes eszközt foglal magában, úgymint lepörgető centrifugát, vortexet, fűtő egységet, UV-, illetve kék fény LED szalagot (utóbbiak a reakciótermék detektálására). A fent említett célok megvalósítására kialakított készülékünket úgy tervezzük átalakítani, hogy ne támaszkodjon kizárólag hálózati áramforrásra, hanem akkumulátorral legyen működtethető.

Kulcsszavak: izotermális nukleinsav amplifikáció, LAMP, 3D nyomtatás, multifunkcionális készülék, diagnosztika

Támogatás: Munkánkat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal Egyetemi Innovációs Ökoszisztéma című pályázati konstrukcióján belül, az Állatorvostudományi Egyetem által elnyert, 2019-1.2.1-EGYETEMI-ÖKO-2019-00010 számú pályázat biztosította.

Sugárérzékenység mérése cervix tumoros betegekben, a RILA módszer finomhangolása

Tar Andrea-Viktória^{1,2}; Sándor Gyöngyvér Orsolya²; Kocsis S. Zsuzsa²; Farkas Gyöngyi²; Vízkeleti Júlia³; Erdélyi Borbála³; Mészáros Norbert^{3,4}; Lakosi Ferenc⁵; Végváry Zoltán⁶; Varga Szilvia³; Székely Gábor²; Takácsi-Nagy Zoltán^{3,4}; Polgár Csaba^{3,4}; Sveiczér Ákos¹; Jurányi Zsolt²

¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

²Sugárbiológiai és Onkocitogenetikai Osztály, Sugárterápiás Centrum, Országos Onkológiai Intézet

³Sugárterápiás Centrum, Országos Onkológiai Intézet

⁴Semmelweis Egyetem, ÁOK, Onkológiai Tanszék

⁵Somogy Megyei Kaposi Mór Oktató Kórház, Dr. Baka József Diagnosztikai, Onkoradiológiai, Kutatási és Oktatási Központ

⁶Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Onkoterápiás Klinika

A sugárterápia a betegek 5-10%-ban súlyos mellékhatásokat okoz. Jelenleg nincs olyan módszer, amivel vizsgálni lehetne a sugárérzékenységet. A Radiation Induced Lymphocyte Apoptosis (RILA) ígéretes klinikai módszernek tűnik a sugárérzékenység kimutatására. A módszer hátránya, hogy a határértékek betegcsoportonként és centrumonként változhatnak. Ezért célunk volt a módszer határértékének beállítása, a munkafolyamatok hatékonyságának javítása és klinikai validálása cervix tumoros betegekben.

84 definitív radiokemoterápiára előjegyzett beteg vérmintáját dolgoztuk fel. Mintát veszünk a sugárterápia előtt, 3 hónappal, 1 és 2 évvel a kezelés befejezése után. Ezekben az időpontokban kérdőívekkel és képalkotó vizsgálatokkal mérjük fel a toxicitásokat. RILA vizsgálatot végeztünk a sugárterápia előtti vérmintából, és detektáltuk FACS módszerrel a sugárzás (8 Gy) okozta apoptózis mértékét CD8+ és CD4+ limfociták esetében. Vizsgáltuk a különböző inkubációs idők hatását a RILA értékekre. Teszteltük a vitatott CO₂-os tenyésztési lépés szükségességét. Vizsgáltuk továbbá a sugárzás kiváltását bleomycinnel.

Jelenlegi határértékeink -0,03% CD8+ limfocitákra és 0,28% a CD4+ fehérvérsejtekre. A CD4+ RILA esetében a posztirradiációs idő növekedése változtatott a RILA értéken. Teszteltük a CO₂-os tenyésztési lépésének szükségességét. Folyamatban van a preirradiációs idő elhagyásának tesztelése, így a teljes teszt 4 napról 3 napra való rövidítése. Eddigiek alapján a módszer hasonló eredményeket mutat, mint a historikus kontroll, azonban a mellékhatásokkal való validálásra még szükség van. Vizsgáltuk a sugárkezelés kiváltását bleomycinnel, hogy ne vegye el a vizsgálat a besugárzók gépidejét a betegek kezelésétől, illetve, hogy olyan laborok is átvehessék a vizsgálatot, akiknek nincs módjukban besugarazni a vérmintákat.

Megállapítottuk a határértékeket cervix tumoros betegek esetében. Bizonyítottuk, hogy elhagyható a CO₂ a limfociták tenyésztése során, és hogy a RILA eredményeket nem befolyásolják a különböző inkubációs idők CD8+ limfociták esetében. Továbbá ígéretesnek tűnik a bleomycin 70 és 80 µg/ml koncentrációban a minták besugárzásának kiváltására. Eredményeinket azonban még validálni kell a mellékhatásokkal, ami a kétéves nyomon követés végén lehetséges.

Kulcsszavak: limfociták, áramlási citométer, sugárérzékenység

Támogatás: Nemzeti Tumorbíológiai Laboratórium (2022-2.1.1-NL-2022-00010)

Tématerületi Kiválósági Program (TKP2021-EGA-44)

Innovatív Daganatdiagnosztikai és Terápiás Eljárások Fejlesztése az Országos Onkológiai Intézetben (2020-1.1.6-JÖVŐ-2021-00008)

Ciklodextrin-segített kapilláris elektroforézis: benzil-izokinolin alkaloidok enantiomer-elválasztása

Várnagy Erzsébet¹; Dr. Tóth Gergő²; Dr. Hosztafi Sándor²; Dr. Fejős Ida¹;
Dr. Malanga Milo³; Dr. Béni Szabolcs⁴

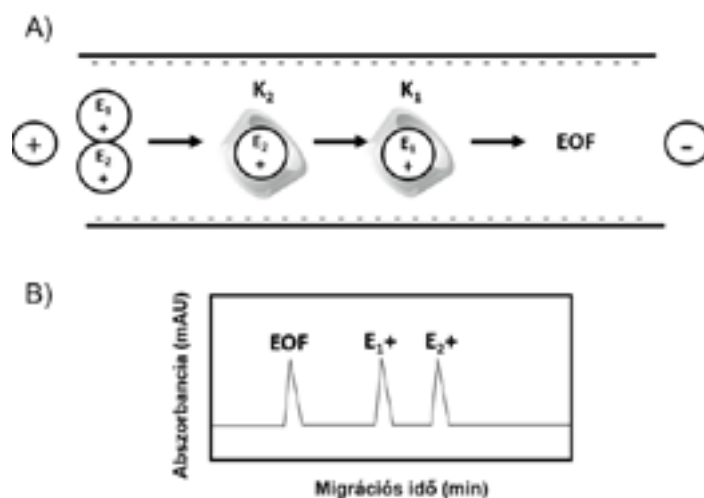
¹Semmelweis Egyetem, Farmakognóziai Intézet Budapest 1085 Üllői út 26.

²Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet Budapest 1092 Hőgyes Endre utca 9.

³CarboHyde Ltd, Budapest 1045, Berlini utca 47-49.

⁴Eötvös Loránd Tudományegyetem, Analitikai Kémiai Tanszék Budapest 1117 Pázmány Péter stny. 1/A.

A modern gyógyszeranalitika egyik fontos feladata és egyben nagy kihívása a királis vegyületek elválasztása, ami máig nehezen prediktálható analitikai feladat, ellenben az enantiomerek eltérő biológiai hatásának köszönhetően kiemelt jelentőségű. A Contergan-botrány megrendítette a társadalmat, és felhívta a figyelmet az enantiomertiszta hatóanyagok óriási jelentőségére. A királis elválasztásokra leggyakrabban a HPLC, SFC, GC és a kapilláris elektroforézis (CE) technikák alkalmazhatóak, melyek közül a CE bizonyult a leghatékonyabbnak, a robusztusság szempontjából pedig a HPLC a legkiemelkedőbb. CE esetén az elválasztáshoz királis szelektor szükséges, melyre leginkább ciklodextrineket (CD-k) alkalmaznak, melyek diasztereomer komplexképzés révén tesznek különbséget az enantiomerek között. A CD-k apoláris üregének és szintetikusan módosított funkciós csoportjainak köszönhetően az adott elválasztáshoz alakítható, elősegítve ezzel a kívánt vegyület enantiomerjeinek minél hatékonyabb elválasztását.



1.ábra: Egy racemát elválasztása ciklodextrin-segített kapilláris elektroforézissel.

A) Az elválasztás folyamata, pozitív töltéssel rendelkező E₁ és E₂ enantiomerek K₁ és K₂ egyensúlyi folyamattal jellemezhető inklúziós komplexet képezhetnek a szelektorral, melyeknek eltérő lehet az elektroforetikus mobilitása. B) Elektroferogram: az elválasztott enantiomerek és az elektroosmotikus áramlás (EOF) feltüntetésével.

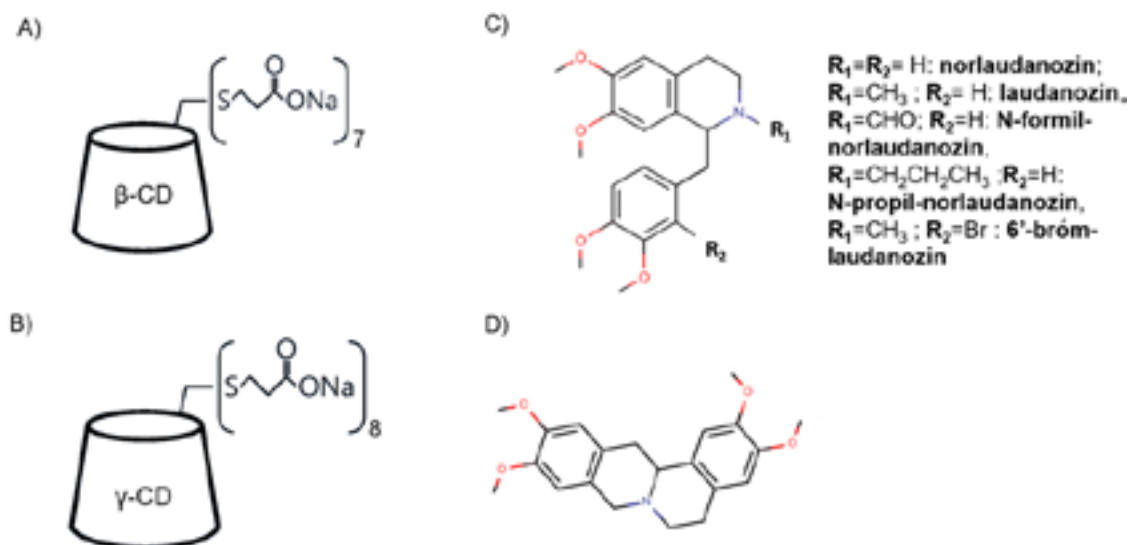
Munkánk célja a benzil-izokinolin vázas alkaloid laudanozin és 5 szintetikus származékának (6'-bróm-laudanozin, N-formil-norlaudanozin, norlaudanozin, N-propil-norlaudanozin) ill. a tetrahidroprotoberberin vázas xilopinin (2. ábra) enantiomerjeinek elválasztása ciklodextrin-segített CE-vel és királis HPLC alkalmazásával.

Több, mint 20 különböző natív, semleges és negatív töltéssel rendelkező CD-nel vizsgáltuk a racém laudanozin viselkedését CE-ben, és megállapítottuk, hogy a királis elválasztás szempontjából a β -CD-származékok üregmérete optimális, a sugammadex (SGX, 2. ábra) bizonyult a leghatékonyabb szelektornak. A laudanozin származékok esetén kísérleteinket éppen emiatt ezen szelektorral végeztük. A tetraciklusos xilopinin esetén a β -CD származékok üregméretét találtuk megfelelőnek, subetadex alkalmazásakor detektáltuk a max. felbontást ($R_s=9,31$) és a

legnagyobb komplex stabilitási állandó értéket (7018 M⁻¹).

Az enantiomerek szemi-preparatív izolálása érdekében 3 különböző ciklodextrin-alapú és 5 eltérő poliszacharid-alapú állófázist teszteltünk a királis HPLC-ben.

További tervünk az ígéretes CD-analit rendszerek NMR spektroszkópiás jellemzése az enantiomer-elválasztás folyamatának molekuláris szintű megértése céljából.



2.ábra: A) A subetadex sematikus szerkezete. B) A sugammadex sematikus szerkezete.
C) Laudanozin származékok. D) Xilopinin.

Kulcsszavak: enantiomer-elválasztás, ciklodextrin, királis szelektor, CE, NMR

Köszönetnyilvánítás: Köszönettel tartozunk a Carbohyde Zrt.-nek és Cyclolab Kft.-nek, hogy a méréseinkhez használt ciklodextrineket rendelkezésre bocsájtották.

Peptaibolok szerkezet-aktivitási összefüggéseinek vizsgálata gyakorlati alkalmazásuk megalapozásához

Balázs Dóra¹; Rozsnyói Ákos¹; Szekeres András¹; Terna Gergő¹; Vágvölgyi Csaba¹; Marik Tamás¹; Chetna Tyagi¹; Kredics László¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Biológia Intézet, Mikrobiológiai Tanszék, Szeged

A biológiailag aktív másodlagos anyagcseretermékek vizsgálata egyre inkább előtérbe kerül a biotechnológia és a mezőgazdaság területén, köszönhetően sokrétű és célzott hatásuknak. Ilyen másodlagos anyagcseretermékek a *Trichoderma* fonalgomba fajok által termelt, jellegzetes tulajdonságokkal rendelkező peptaibolok is: jellemzően rövid, 6-20 aminosav hosszú peptidek, melyek nagy mennyiségben tartalmazhatnak nem-fehérjealkotó aminosavakat, összekapcsolódva pedig ioncsatornákat hoznak létre a sejtmembránban, ezáltal kifejtve sejtroncsoló hatásukat. Napjainkban a laboratóriumi vizsgálatok mellett számítógépes molekulamodellzési technikák segítségével is vizsgálhatók a peptidek, ezáltal elősegítve szerkezeti jellegzetességeik mélyebb megismerését.

Munkánk során 8 *Trichoderma* törzs teljes peptaiboltermelését határoztuk meg HPLC-MS módszer segítségével. Ezt követően megvizsgáltuk a peptaibolkivonatok minimális gátló koncentrációjának (MIC, minimal inhibitory concentration, mg/ml) értékét 11 Gram-pozitív és Gram-negatív baktériummal szemben. A peptaibolok kivonatának növekedésllassító hatását (EC, effective concentration, mg/ml) 4 növénypatogén gombatörzzsel szemben határoztuk meg. Az in vitro kísérletekkel párhuzamosan gyorsított molekuladinamikai (aMD, accelerated molecular dynamics) szimulációk segítségével modelleztük a kiválasztott peptaibolszekvenciák feltekeredési mechanizmusait. A laboratóriumi és in silico kísérletek eredményeit szerkezet-aktivitási összefüggések (SARs, structure-activity relationships) vizsgálatával elemeztük. Eredményeink alapján összefüggéseket találtunk a jellegzetes aminosav-motívumok, a szekvenciák hossza és aminosav-tartalma, illetve a hidrofób és hidrofil régiók elhelyezkedése és a peptaibolkivonatok kifejtett hatása között.

Eredményeink segíthetik a peptaibolok háttérmechanizmusainak mélyebb megértését és a biológiailag aktív szekvenciákat termelő *Trichoderma* törzsek célzott és gyors kiválasztását ipari célokra.

Kulcsszavak: peptaibol, *Trichoderma*, molekulamodellzés

Támogatás: A munka a Kulturális és Innovációs Minisztérium Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával (ÚNKP-23-4-SZTE-544 és ÚNKP-23-4-SZTE-643), valamint az Interreg VI-A IPA Magyarország-Szerbia Program FERTILEAVES (HUSRB/23S/11/027) projektjének támogatásával készült.

Benedek András¹; Tasnádi Gábor²; Vértessy G. Beáta³

¹HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Budapest

²Servier Kutatóintézet, Budapest

³HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Budapest

Az amid kötés kialakítását a leggyakrabban használt gyógyszeripari reakcióként tartják számon [1]. Ennek ellenére a nagyipari léptékben alkalmazott amid kötés kialakítási módszerek se nem hatékonyak, se nem fenntarthatóak. A szakirodalomban és a kereskedelmi forgalomban sokféle kapcsoló reagens elérhető, de ezek közös hátránya a reagensek mérgező volta, alacsony atomhatékonysága és használatuk költségessége. Így égető szükség volna az amid kötés kialakítását elősegítő környezetbarát katalitikus rendszerek használatára [2].

Ígéretes megoldás az enzimek alkalmazása. Az amid kötés szintetázok olyan ATP-függő enzimek, melyek képesek a karboxil csoportot tartalmazó reaktáns egy karbonsav-AMP inermédier kialakításával a reakcióra aktiválni, majd ugyanezen a molekulán belül az amin csoportot tartalmazó intermediert is megkötni, és a két molekulát összekapcsolni. Mindezt vizes közegben, alacsony hőmérsékleten (pl. 30°C-on és 7.5-es pH értéken) képesek végrehajtani, így az ártalmas kapcsoló reagensek helyett valódi zöld alternatívát tudnak nyújtani.

A gyógyszeripari szintézisek során számos különböző karbonsav és amin funkciós csoporttal rendelkező inermédier összekapcsolására lehet szükség. Így egyetlen, bármilyen karbonsavat akármilyen aminnal összekapcsolni képes amid kötés szintetáz enzimmel önmagában nem lehet a kihívást megoldani. Kutatómunkánk célja minél több új amid kötés szintetáz gén szekvencia adatbázisból történő felkutatása, majd az aktív helyen fellelhető aminosav oldallánc eltérések figyelembe vételével a leginkább ígéretes találatok laboratóriumi előállítása és szubsztrát preferenciájának karakterizálása. Ezúton szeretnénk egy olyan enzim könyvtárat létrehozni, amely lehetőséget ad célzott sztereo- és regioszelektív amid kapcsolások megvalósítására környezetbarát alternatívát nyújtani.

Bízunk benne, hogy eredményeink hozzájárulnak majd az enzimes amid kapcsolás ipari térhódításához, ezzel pedig a gyógyszeripar ökológiai lábnyomának jelentős csökkentéséhez.

Kulcsszavak: enzim könyvtár, zöld kémia, katalízis

Támogatás: Servier Kutatóközpont, Budapest

[1] J. Med. Chem. 59, 4385–4402 (2016)

[2] Nat Catal 2, 10–17 (2019)

[3] Nature 593, 391–398 (2021)

