

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Aszparaginsavat, glutaminsavat, hisztidint és ciszteint tartalmazó peptidok átmenetifém- komplexei

Lukács Márton

Témavezető: **Prof. Dr. Várnagy Katalin** egyetemi tanár



**DEBRECENI
EGYETEM**

DEBRECENI EGYETEM

Kémia Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2020

A tézisekben előforduló rövidítések magyarázata:

Ac-	acetylsoport (védőcsoport)
Ala, A	alanin
Asp, D	aszparaginsav
CD	cirkuláris dikroizmus
CNR-IBB	Consiglio Nazionale Delle Ricerche - Istituto Di Biostrutture e Bioimmagini
-COO ⁻	karboxilátsoport
ESI	elektroporlasztásos ionizáció (electrospray ionization)
ESR	elektronspin-rezonancia spektroszkópia
Fmoc	9-fluorenil-metoxi-karbonil
Gln, Q	glutamin
Glu, E	glutaminsav
Gly, G	glicin
His, H	hisztidin
Im	imidazolilcsoport
Lys, K	lizin
Igβ	stabilitási állandó
MALDI	mátrix által segített lézerdeszorpció ionizáció
Met, M	metionin
MS	tömegspektrometria
-NH ₂	aminocsoport
N _{Im}	imidazolnitrogén
NMR	mágneses rezonancia (nuclear magnetic resonance)
Pro, P	prolin
RP-HPLC	fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
pK	deprotonálódási állandó
tiolát-S ⁻	tiolátsoport
Ser, S	szerin
Tau(9-16)	Ac-EVMEDHAG-NH ₂
Tau(26-33)	Ac-QGGYTMHQ-NH ₂
Tau(26-33)m	Ac-KGGYTMHK-NH ₂

Tau(26-33)mA	Ac-KGGATMHK-NH ₂
Tau(12-16)(30-34)	Ac-EDHAGTMHQD-NH ₂
Thr, T	treonin
TOF	time of flight, repülési időn alapuló analizátor
Trp, W	triptofán
Trt	trítíl
Tyr, Y	tirozin
UV	ultraibolya
Val, V	valin

I. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Napjainkra vitathatatlanul vált, hogy a fémionok az élő szervezetekben előforduló fehérjékkel kölcsönhatásba lépnek komplex vegyületek keletkezése közben. Az elemek élő szervezetekre gyakorolt hatása alapján két kategóriát különíthetünk el: egyrészt a létfontosságú, másrészt a szennyező elemeket. Utóbbi kategória mérgező, illetve közömbös alcsoportokra osztható. A Cu(II) és Zn(II) egyértelműen létfontosságú nyomelemek, míg a Cd(II) mérgező tulajdonságú, a Ni(II) karaktere pedig a vizsgált organizmus minőségének függvénye.

A fémionok az élő szervezetekbe a táplálkozás útján vagy valamilyen külső hatás révén (például ipari munka, környezetszennyezés) kerülnek be, és leggyakrabban oligopeptidekkel és fehérjékkel lépnek kölcsönhatásba azok gyengén vagy erősen koordinálódó oldalláncbeli funkciócsoportjaikon keresztül koordinatív kölcsönhatás eredményeként. Gyengén koordinálódó oldallánc az aszparaginsav és glutaminsav karboxilátoldallánca, erősen koordinálódó pedig a hisztidin imidazolil-, valamint a cisztein tiolátcsoportja. A fémionok különféle folyamatokban vehetnek részt: (i) szerkezetalkító szerepet töltenek be (cink-ujj fehérjék) (ii) elektronátmenettel járó folyamatokat katalizálhatnak különböző enzimek aktív centrumában (iii) további a szervezeteket negatív módon érintő folyamatokban (például létfontosságú ionok helyettesítése, oxidatív stressz, enzimek blokkolása, neurodegeneratív elváltozások létrehozása) játszhatnak szerepet. Amennyiben egy fém vagy annak ionja nagy mennyiségben dúsul fel egy élőlényben akut, illetve idült mérgezés kialakulásával kell számolni.

Az említett oldalláncok és fehérjék, valamint peptidek kölcsönhatását már több évtizede vizsgálják:

Az egy, kettő, illetve több aszparaginsavat és glutaminsavat tartalmazó peptidek fémion szelektivitását a meglévő irodalmi adatok alapján kevésbé kiterjedten tanulmányozták.

A cisztein, illetve multicisztein peptidek több közlemény középpontjába kerültek az elmúlt időszakban, mivel az ilyen aminosavat tartalmazó fehérjék a létfontosságú fémionok (Zn(II), Fe(II/III)) mellett, akár toxikus fémionokkal (Cd(II), Pb(II), Bi(III)) is kölcsönhatásba lépnek.

Az idegrendszeri vagy neurodegeneratív rendellenességekért olyan fehérjék térszerkezeti megváltozása a felelős, amelyek hisztidint tartalmaznak különböző számban (prion protein (szivacsos agyvelőgyulladás, amiloid- β (Alzheimer-Kór), tau fehérje (tauopátiák)). A tau fehérje és az amiloid- β egyaránt részt vesznek, a közismerten az idősebb generációt érintő betegség, az Alzheimer-kór kialakulásban. A fehérje és fragmensei szisztematikus oldategyensúlyi folyamatnak vizsgálata hozzájárul a kór molekuláris hátterének részletesebb megismeréséhez.

A Debreceni Egyetem Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában szisztematikus vizsgálatok folynak mindhárom fentebb említett témában, én ezekbe kapcsolódtam be, és **a munkám során a következő célokat tűztük ki:**

1. Egy, illetve több aszparaginsavat és glutaminsavat tartalmazó peptidek Cd(II)-ion felé mutatott fémionkötőképességének vizsgálata.
2. Egy, illetve két ciszteint tartalmazó kistagszámú peptidek szisztematikus vizsgálata, amelyek segíthetnek a nagyobb tagszámú peptidek oldategyensúlyi viselkedésének

értelmezésében. A kutatás arra irányult, hogy a ciszteinek száma és pozíciója a peptidek szekvenciájában hogyan befolyásolja azok Cd(II)- és Zn(II)-komplexeinek összetételét és stabilitását. Az eredményeket a Ni(II)-ion tanulmányozásával tettük teljessé.

3. A tau fehérje szabad N-terminális régiójában megtalálható 14. és 32. számú hisztidint (His 14 és His32) és azok környezetét tartalmazó fragmensek és mutánsaik vizsgálata elsősorban Cu(II)-ion jelenlétében. Mivel a Ni(II)-ion segíthet utóbb említett részecskék koordinációs kémiai viselkedésének értelmezésében, így néhány esetben a Ni(II)-komplexek tanulmányozását is terveztük elvégezni.

II. ALKALMAZOTT TECHNIKÁK

pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg a különböző ligandumokra jellemző deprotonálódási állandók értékeit, valamint a Cu(II)-, Zn(II)-, Ni(II)- és Cd(II)-komplexek stabilitási állandóit. A vizsgálatokat vizes közegben végeztük 298 K hőmérsékleten, 0,20 mol/dm³ ionerősség alkalmazása mellett, a légköri szén-dioxid, oxigén- és ózongáz kizárásával. A fémion/ligandum arányt 2:1 és 1:4 között változtattuk. A PSEQUAD és SUPERQUAD számítógépes szoftverek felhasználásával a kísérleti adatok alapján határoztuk meg a fémkomplexekre jellemző stabilitási szorzatokat. Ezekből a MEDUSA programmal készítettük el a képződő részecskék koncentráció-eloszlását a pH-függvényében.

UV és UV-látható spektrofotometriás módszerrel a réz(II)-, nikkel(II)- és kadmium(II)-komplexeket, valamint a tiolcsoportot tartalmazó ligandumok oldatait vizsgáltuk. A spektrumokat Perkin Elmer Lambda 25 típusú kétsugaras spektrofotométeren rögzítettük jól zárható 1,000 cm úthosszú kvarc küvettában, 2:1, 1:1, 1:2 és 1:3 fémion/ligandum arányok mellett a pH változtatásával, 200-900 nm hullámhossztartományban. Az arányokat és a pH értékeket a pH-potenciometriás mérések alapján választottuk meg.

Az általunk tanulmányozott Cu(II)-, illetve Ni(II)-komplexek CD-aktív tulajdonságúak, mivel kiralitás centrumot tartalmaznak. A **cirkuláris dikroizmus** (CD) méréseket Jasco J-810 típusú készüléken hajtottuk végre a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén, valamint a CNR-IBB (Consiglio Nazionale Delle Ricerche - Istituto Di Biostrutture e Bioimmagini, Catania, Olaszország) központban. A spektrumok pH-függését vizes közegben rögzítettük, több esetben egyedi minták felhasználásával, 2:1, 1:1, 1:2 és 1:3 fémion/ligandum arányok mellett, különböző pH-értékeken, 0,100 és 1,000 cm úthosszúságú küvettákban, 200-800 nm hullámhossz-tartományban.

^{113}Cd NMR vizsgálatokat a Cd(II) -komplexben a fémionhoz kötődő tiolat- S^- donoratomok számának meghatározásához használtunk. A spektrumokat Bruker AMX 400 MHz készüléken vettük fel, és a kiértékelés során MestreNova 8.1 szoftvert használtunk.

Az **elektronspin-rezonancia spektroszkópia** (ESR) olyan részecskék vizsgálatára alkalmas, amelyek párosítatlan elektront tartalmaznak, vagyis paramágneses sajátságúak. A Cu(II) -ionra ez igaz, így komplexei tanulmányozhatók ezzel a módszerrel. A fémion körül kialakult koordinációs módokat, egyúttal a koordinációban részt vevő donoratomok minőségét, a komplexekre számított paraméterek összehasonlításával tudjuk megállapítani, mivel a módszer nem abszolút.

A méréseket a CNR-IBB kutatóközpontban a velünk együttműködésben álló Dr. Giuseppe Pappalardo és munkatársai végezték. A mérések egy számítógép által vezérelt Bruker Eleksys E500 CW-ESR készüléken történtek. A minták legfeljebb 10% metanolt tartalmaztak a felbontás javítása érdekében, valamint 150 K hőmérsékleten, különböző pH-értékeken és fémion/ligandum arány alkalmazása mellett történtek vizsgálatok.

A komplexek összetételének alaposabb megismeréséhez **tömegspektrometriás** méréseket is végeztünk. A mérések ugyancsak Olaszországban a Giuseppe Pappalardo vezette kutatócsoport által készültek. A nagyhatékonyságú ESI-MS spektrumokat Q Exactive (orbitrap) tömegspektrométeren (Thermo Fisher Scientific) kerültek felvételre, pozitív módon.

III. Vizsgált ligandumok

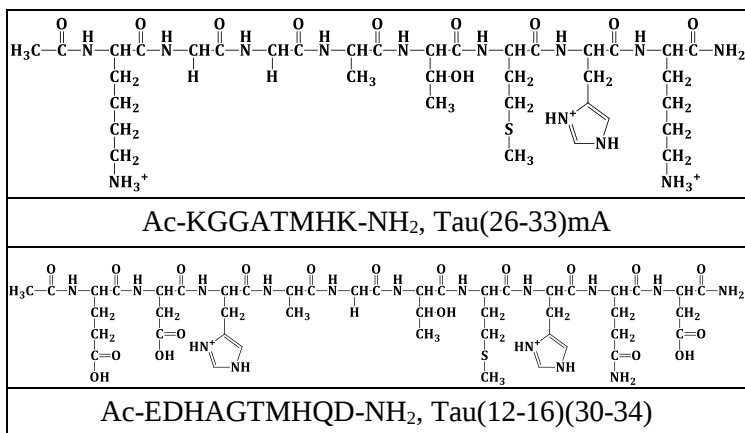
A vizsgált ligandumok egy részét kereskedelmi forgalomból szereztük be: az aszparginsav- és glutaminsav-tartalmú peptideket (DA, DD, EE, DE, DDD, DDDD) a Bachem cég állította elő. A cisztein aminosavat tartalmazó peptideket (Ac-SAAC-NH₂, Ac-SCCS-NH₂, Ac-CSC-NH₂, Ac-CSSC-NH₂, Ac-CGSC-NH₂), valamint az Ac-EVMEDHAG-NH₂ ligandumot a Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén, míg a tau fehérje szekvenciájához köthető, többi peptidet (Ac-QGGYTMHQ-NH₂, Ac-KGGYTMHK-NH₂, Ac-KGGATMHK-NH₂, Ac-EDHAGTMHQD-NH₂) a CNR-IBB kutatóközpontban állítottuk elő. Az összes ligandum szerkezeti képlete az 1. táblázatban található.

A peptidek szintéziséhez Liberty 1TM (CEM, Matthews, NC) automata mikrohullámú peptidszintetizáló készüléket és Fmoc/tBu védőcsoport stratégiát alkalmaztunk. A peptidek N-terminális aminocsoportjának védettségét acilezéssel értük el, a C-terminális vég amidálását pedig a Rink Amide AM típusú gyanta biztosította. Az amino- és karboxilcsoportok aktiválásához a szintézisek során TBTU/HOBt/DIEA stratégiát használtunk. A gyantát, illetve az oldalláncban található védőcsoportok eltávolítását TFA/H₂O/TIS(/DODT) elegyében végeztük, és az így nyert oldatból a peptidet hideg dietil-éterben történő kicsapással nyertük ki. Szűrés vagy centrifugálás után a ligandumokat liofizáltuk, majd a tisztaságukat nagynyomású folyadékkromatográfiás (HPLC), ESI-MS, ESI-TOF és/vagy MALDI-TOF technikákkal ellenőriztük. Amennyiben az előállított anyag csak a hatóanyagot és esetleg inert szennyezőt tartalmazott, további tisztítás nélkül alkalmaztuk azt. Ha szükséges volt a peptid tisztítása abban az esetben RP-HPLC technikát alkalmaztunk.

1. táblázat: A vizsgált ligandumok összeg- és szerkezeti képlete

Ligandumok szerkezeti képlete	Ligandumok összegképlete
$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \\ {}^*\text{H}_3\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{OH} \end{array} $	DA
$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \\ {}^*\text{H}_3\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \\ \quad \quad \\ \text{OH} \quad \quad \text{OH} \end{array} $	DD
$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \\ {}^*\text{H}_3\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \\ \quad \quad \\ \text{OH} \quad \quad \text{OH} \end{array} $	EE
$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \\ {}^*\text{H}_3\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{C}=\text{O} \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{OH} \quad \quad \text{C}=\text{O} \\ \quad \quad \\ \quad \quad \text{OH} \end{array} $	DE
$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \quad \quad \parallel \\ {}^*\text{H}_3\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \quad \\ \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \\ \quad \quad \quad \quad \\ \text{OH} \quad \quad \text{OH} \quad \quad \text{OH} \end{array} $	DDD
$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \quad \quad \parallel \quad \quad \parallel \\ {}^*\text{H}_3\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{OH} \quad \quad \text{OH} \quad \quad \text{OH} \quad \quad \text{OH} \end{array} $	DDDD
$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \quad \parallel \quad \quad \parallel \quad \quad \parallel \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \quad \text{CH}_3 \quad \quad \text{CH}_3 \quad \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{OH} \quad \quad \text{OH} \quad \quad \text{OH} \quad \quad \text{SH} \end{array} $	Ac-SAAC-NH ₂

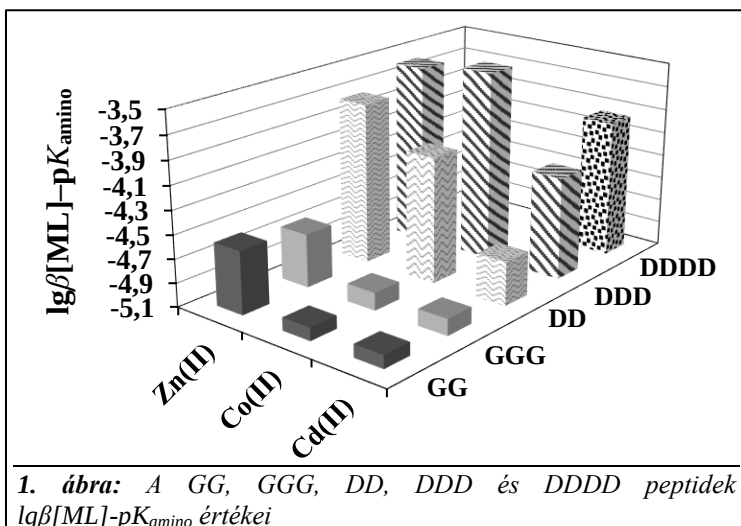
[illegible]



IV. Új tudományos eredmények

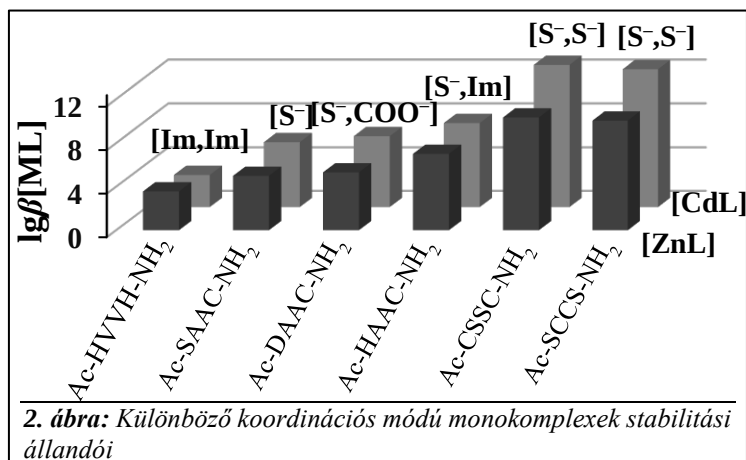
4.1. Jellemeztük a növekvő számban aszparaginsavat és/vagy glutaminsavat tartalmazó peptidek Cd(II)-ion kötőképességét.

- Megállapítottuk, hogy a karboxilátsoportok részvételével kezdődik el a komplexképződés, gyengén savas pH tartományban, protonált komplexek keletkezése közben.
- A pH növelésével az ammóniumcsoport deprotonálódik és $[\text{NH}_2, (\text{COO}^-)_x]$ koordinációs mód valósul meg, ami nem képes megakadályozni a fémion hidrolízisét a lúgos pH-tartományban.
- A karboxilátsoportok növekvő száma a $[\text{CdL}]$ komplexek stabilitásának kismértékű növekedését eredményezi, amelyet a komplexek növekvő töltése nem befolyásol.
- A többi vizsgált fémion eredményével való összevetésből arra következtettünk, hogy a peptidek nem szelektívek Cd(II)-ionra (1.ábra).



4.2. Jellemeztük az egy- és két-cisztein-tartalmú peptidek Cd(II)- és Zn(II)-komplexeit összevetve a korábban vizsgált ciszteint tartalmazó peptidekkel.

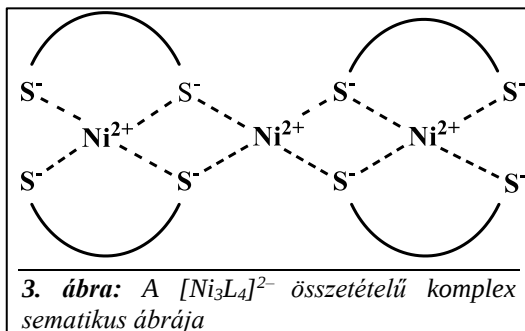
- Megállapítottuk, hogy stabilis mono- és biszkomplexek keletkeznek, és a stabilitásra minden esetben a $\text{Cd(II)} > \text{Zn(II)}$ sorrend adható meg.
- Az egy-cisztein-tartalmú peptid komplexeinek stabilitási állandóit összevetve az Ac-DAAC-NH₂ és Ac-HAAC-NH₂ peptidek megfelelő komplexeinek értékével azt a megállapítást tettük, hogy a ligandumokban jelenlévő egyéb donorcsoportok növelik a képződő komplexek stabilitását, ami mindkét fémion esetén az $\text{Ac-SAAC-NH}_2 < \text{Ac-DAAC-NH}_2 < \text{Ac-HAAC-NH}_2$ sorrendben változik.
- A két ciszteint tartalmazó peptidekkel képződő komplexek stabilitása akkor a legnagyobb, ha a kialakuló $[\text{S}^-, \text{S}^-]$ makrokelát tagszáma 12 vagy 15.
- A kapott adatokat összevetve a korábban vizsgált két terminális donorcsoportot tartalmazó peptidekre kapott eredményekkel



(2. ábra) azt a következtetést vontuk le, hogy mind a Cd(II)-, mind a Zn(II)-komplexek stabilitása a koordinálódó donorcsoportok alapján az $[\text{Im}, \text{Im}] < [\text{S}^-] < [\text{S}^-, \text{COO}^-] < [\text{S}^-, \text{Im}] < [\text{S}^-, \text{S}^-]$ sorrendben nő.

4.3. Tanulmányoztuk, hogy két-cisztein-tartalmú peptidekben a ciszteinek közötti aminosavak számának növekedése hogyan befolyásolja a képződő Ni(II)-komplexek sztöchiometriáját.

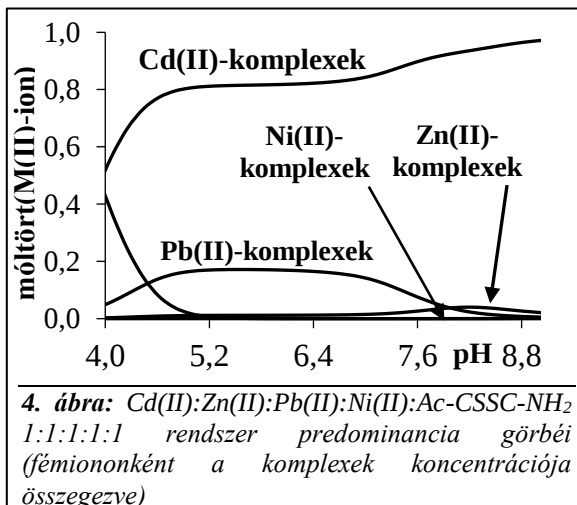
- Megállapítottuk, hogy Ni(II)-ion jelenlétében a gyengén savas és semleges pH-tartományban előtérbe kerül a többmagvú komplexek képződése, ahol a koordinálódott tiolát-S⁻ hidligandumként két fémionhoz is kötődik, mint például a $[\text{Ni}_3\text{L}_4]^{2-}$ komplexben (3. ábra).



Ezek az eredmények kiegészíti a hasonló szekvenciájú kistagszámú peptidekre korábban közölt irodalmi adatokat, amelyekben csak egymagvú komplexek keletkezését feltételezték [1-3].

-
- [1] M. Rowinska-Zyrek, D. Witkowska, S. Bielinska, W. Kamysz, H. Kozlowski; *Dalton Transactions*, **2011** (40) 5604-5610.
[2] M. Rowinska-Zyrek, D. Witkowska, D. Valesin, W. Kamysz, H. Kozlowski; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2007** (101) 1699-1706.
[3] P. Kolkowska, K. Krzywoszynska, S. Potocki, P. R. Chetana, M. Spodzieja; S. Rodziejewicz-Motowidlo, H. Kozlowski; *Dalton Transaction*, **2015** (44) 9887-9900.

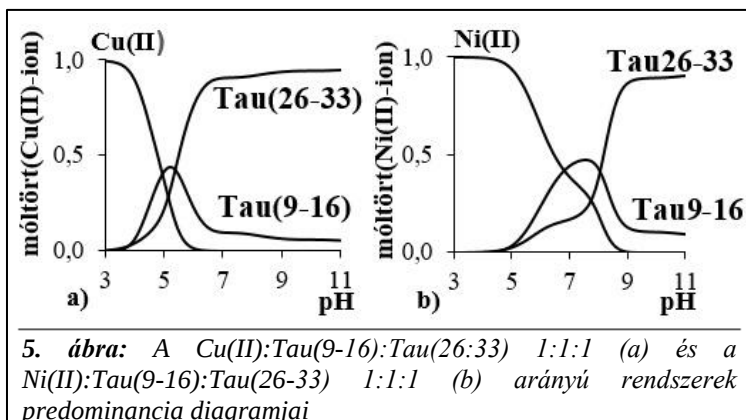
- Megállapítottuk továbbá, hogy a peptidek C-terminális pozíciójában található cisztein aminosav oldallánca az elsődleges fémionkötőhely.
- Arra a következtetésre jutottunk, hogy a cisztein aminosavak szekvencián belüli távolságának növekedésével (i) a polinukleáris komplexek képződése háttérbe szorul, valamint, hogy (ii) a horgonycsoport mellett jelenlévő második tiolátcsoport, a horgonycsoportot megelőző peptidnitrogén donorok koordinációját egyre kisebb mértékben gátolja.
- Összevetve különböző fémionok [ML] komplexinek stabilitását a következő sorrend állítható fel: $\text{Cd(II)} > \text{Pb(II)} > \text{Zn(II)} > \text{Ni(II)}$, azaz a ligandumok a Cd(II) -iont képesek a leghatékonyabban megkötni, ami összhangban van az összes fémkomplexet tartalmazó predomancia görbékkel (4. ábra).



**4.4. Tanulmányoztuk a tau fehérje His14 és His32 tartalmú
fragmenseinek és a His32 tartalmú mutánsainak komplexképző
sajátságait Cu(II)-, illetve Ni(II)-ion jelenlétében.**

- Megállapítottuk, hogy a hisztidin mind a Cu(II)- mind a Ni(II)-ion megkötésére képes, de a Ni(II)-komplexei termodinamikai stabilitása számottevően kisebb, mint a Cu(II)-komplexei.
- A hisztidin az elsődleges kötőhely a molekulákban, azonban a Tau(9-16) peptidnél a szekvenciában jelenlévő karboxilcsoportok képesek a M(II)-Im koordinált komplexek stabilitását megnövelni a Cu(II)-ion esetén a gyengén savas, míg a Ni(II)-ionnál a fiziológiai pH tartományban.
- A pH növelésével a peptidek szekvenciájában a hisztidint megelőző peptid-NH csoportok fémion indukált deprotonálódása és koordinációja játszódik le: (i) A Cu(II)-ion esetében ez két lépésben történik, míg (ii) a Ni(II)-ion esetében kooperatív a folyamat.
- Megállapítottuk, hogy a kétféle kötőhely esetében a hisztidin aminosavak eltérő környezete miatt eltérő CD-spektrumok jellemzőek a Tau(9-16) és Tau(26-33), valamint annak mutánsai Cu(II)- és Ni(II)-komplexeire. Ez a jelenség a His14 és His32 aminosavakhoz való kötődés megkülönböztetésére ad lehetőséget.
- Az adatokból arra következtettünk, hogy mindkét fémion esetén a His32 a kedvezőbb kötőhely, amelyet az 5. ábra szemléltet.

- A Tau(12-16)(30-34) peptidben a kétféle környezetű His kötőhely összekapcsolt formában van jelen. Ez különbségeket eredményezett: (i) a két imidazolilcsoport kötődése megnöveli a keletkező Cu(II)- és Ni(II)-komplexek stabilitását (ii) a Tau(12-16)(30-34) peptid két ekvivalens Cu(II)-iont is képes megkötni. Az ekvimoláris rendszer spektroszkópiás vizsgálatával azonosítottuk, hogy a His32 az elsődleges kötőhely, mindkét fémion számára, ami alátámasztotta a két natív szekvenciára megállapított preferencia sorrendet (5. ábra).



V. EREDMÉNYEK HASZNOSÍTHATÓSÁGA

A Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékének Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában már évtizedek óta kutatjuk különféle biológiai szempontból meghatározó jelentőséggel bíró fémionok és fehérje modell (oligo)peptidek komplexkémiai viselkedését in vitro körülmények között. A kapott eredmények tudományosan helytálló alapokat biztosítanak későbbi akár biológiai és/vagy orvosi kutatásokhoz.

A kutatócsoportnál végzett munkám során fény derült arra, hogy az $[\text{NH}_2(\text{COO}^-)_x]$ ($x = 2-5$) koordinációs mód önmagában nem elegendő a Cd(II) -ion szelektív megkötésére, tehát szükség van valamilyen más donorcsoport jelentlétére is a peptidek szekvenciájában a szelektivitás növeléséhez.

Az eredmények azt mutatták, hogy elsősorban a CXXC és CXXXC szekvenciák kedvezők a Cd(II) -ion szelektív megkötésére a fiziológiás pH-tartományban, így a Cd(II) -ion szelektív megkötésére alkalmas peptidek tervezhetők ezen szekvenciák beépítésével a molekulába. A Ni(II) -komplexek eredményei hozzájárultak, hogy különböző környezetben lévő ciszteint tartalmazó nagyobb peptidek komplexeinek spektrális paramétereit értelmezni tudjuk, és így azok szerkezetére következtethessünk.

A tau fragmensek esetében egy általános tendencia nem vonható le, a fehérjében található más kötőhelyek koordinációs kémiai viselkedésének megismerése nélkül. Ugyanakkor a tauopátiák molekuláris hátterének megismeréséhez a tau fehérje két N terminális kötőhelye eltérő fémionkötőképességének ismerete mindenképpen hasznosnak bizonyulhat.

VI. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK (PUBLICATIONS)

Az értekezés alapját képző közlemények (Articles connected to the thesis) (2):

Tudományos folyóiratban megjelent közlemények (Published articles) (2):

1. M. Lukács, Gy. Szunyog, Á. Grenács, N. Lihi, Cs. Kállay, G. Di Natale, T. Campagna, V. Lanza, G. Tabbi, G. Pappalardo, I. Sóvágó, K. Várnagy, Copper(II) **Coordination Abilities of the Tau Protein's N-Terminus Peptide Fragments: A Combined Potentiometric, Spectroscopic and Mass Spectrometric Study**, *ChemPlusChem*, 84 (2019) 1697-1708. IF: 2,753
2. N. Lihi, M. Lukács, M. Raics, Gy. Szunyog, K. Várnagy, Cs. Kállay, **The effect of carboxylate groups on the complexation of metal ion with oligopeptides – Potentiometric investigation**, *Inorganica Chimica Acta*, 472 (2018) 165-173. IF: 2,433

Az értekezés anyagához kapcsolódó előadások (Lectures connected to the thesis) (7):

1. Lukács Márton, Szunyog Györgyi, Grenács Ágnes, Kállay Csilla, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Cire Gizella, Várnagy Katalin, Sóvágó Imre: **A tau fehérje két kötőhelyét modellező peptidok Cu(II)- és Ni(II)-komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata**, 53. Komplexkémiái Kollokvium, Velence, 2019.05.21.-05.23., E11
2. Lukács Márton, Szunyog Györgyi, Grenács Ágnes, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Cire Gizella, Várnagy Katalin, Sóvágó Imre: **A tau fehérje két kötőhelyét modellező peptidok Cu(II)-komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata**, Tavasz Szél Konferencia, Debrecen, 2019.05.03.-05.05., 311. oldal
3. Lukács Márton, Szunyog Györgyi, Grenács Ágnes, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Cire Gizella, Várnagy Katalin, Sóvágó Imre: **A tau fehérje két kötőhelyét modellező peptidok Cu(II)-komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata**, I. Fialat

- Kémikusok Fóruma Szimpózium Konferencia, Debrecen, 2019.04.03-04.05., 39. oldal
4. Lukács Márton, Kerekes Zsuzsanna, Várnagy Katalin: **Tau fehérje kötőhelyét modellező peptidek vizsgálata**, Tavasz Szél Konferencia, Győr, 2018. 05.04.-05.06., 203. oldal
 5. Lukács Márton, Várnagy Katalin: **Terminálisan védett cisztein tartalmú peptidek oldategyensúlyi és spektroszkópiás vizsgálata**, 51. Komplexkémiai Kollokvium, Balatonvilágos, 2017.05.29-05.31., E11
 6. Lukács Márton, Várnagy Katalin: **Terminálisan védett cisztein tartalmú peptidek oldategyensúlyi és spektroszkópiás vizsgálata**, Tavasz Szél Konferencia, Miskolc, 2017.03.31-04.02., 195. oldal
 7. Lukács Márton, Várnagy Katalin: **Terminálisan védett cisztein tartalmú peptidek oldategyensúlyi és spektroszkópiás vizsgálata**, XXXIII. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Miskolc, 2017.03.29-03.31., 16. oldal

Az értekezés alapját képező poszterek (Posters connected to the thesis (5)):

1. Lukács Márton, Szunyog Györgyi, Grenács Ágnes, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Várnagy Katalin, Sóvágó Imre: **Metal ion binding ability of the free N-termini of tau protein: appraisal of preference by solution equilibrium study**, International Symposium on Metal Complexes, Hajdúszoboszló (Debrecen), 2019.06.11-06.14., 131-132. oldal
2. Giuseppe Di Natale, Lukács Márton, Valeria Lanza, Giovanni Tabbi, Tiziana Campagna, Kállay Csilla, Giuseppe Pappalardo: **Copper(II) binding within the N-terminal region of the Tau protein: the use of model peptides for the evaluation of metal ion binding preferences**, International Symposium on Metal Complexes, Hajdúszoboszló (Debrecen), 2019.06.11-06.14., 99. oldal
3. Grenács Ágnes, Lihi Norbert, Bodnár Nikolett, Pataki Zsombor, Pálinskás Dóra Csilla, Lukács Márton, Várnagy Katalin: **Effects of polar side chains on the formation of nickel(II), zinc(II) and cadmium(II) complexes of cysteine peptides**,

- International Symposium on Metal Complexes, Hajdúszoboszló (Debrecen), 2019.06.11-06.14., 112. oldal
4. Lukács Márton, Szunyog Györgyi, Lihi Norbert, Grenács Ágnes, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Várnagy Katalin: **Copper(II) complexes of peptides mimicking the Tau protein binding sites**, 35th International Conference on Solution Chemistry, Szeged, 2018.08.26.-08.30., 91. oldal
 5. Lukács Márton, Várnagy Katalin: **Cadmium(II) and zinc(II) complexes of terminally protected tetrapeptides containing cysteinyl residue**, 13th European Biological Inorganic Chemistry Conference Budapest, 2016.08.28.-09.01., 161. oldal

Az értekezés alapját képező egyéb publikációk (Other related publication) (1):

1. Lukács Márton, Szunyog Györgyi, Grenács Ágnes, Giuseppe Di Natale, Giuseppe Pappalardo, Várnagy Katalin, Sóvágó Imre: **A tau fehérje két kötőhelyét modellező peptidek Cu(II) komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata**, I. Fiatal Kémikusok Fóruma konferencia kiadvány, Debrecen, 2019.04.03.-04.05., 97-102., 97-101. oldal



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**
H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/244/2020.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Lukács Márton
Neptun kód: GPYR6X
Doktori Iskola: Kémiai Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10069269

A PhD értekezés alapján szolgáló közlemények

Időben nyelvtudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

1. **Lukács, M.**, Szunyog, G., Grenács, Á., Lihi, N., Kállay, C., Di Natale, G., Campagna, T., Lanza, V., Tabbi, G., Pappalardo, G., Sóvágó, I., Várnagy, K.: Copper(II) Coordination Abilities of the Tau Protein's N-Terminus Peptide Fragments: A Combined Potentiometric, Spectroscopic and Mass Spectrometric Study.
ChemPlusChem. 84 (11), 1697-1708, 2019. ISSN: 2192-6506.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/cplu.201900504>
IF: 2.753
2. Lihi, N., **Lukács, M.**, Hadháziné Raics, M., Szunyog, G., Várnagy, K., Kállay, C.: The effect of carboxylate groups on the complexation of metal ion with oligopeptides - Potentiometric investigation.
Inorg. Chim. Acta. 472, 165-173, 2018. ISSN: 0020-1693.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2017.07.032>
IF: 2.433





**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1., Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

További közlemények

Idégen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

3. Balogh, B. D., Bihari, Z., Buglyó, P., Csire, G., Kerekes, Z., **Lukács, M.**, Sóvágó, I., Várnagy, K.:

Metal binding selectivity of an N-terminally free multithistidine peptide HAVAHHH-NH.

New J. Chem. 43 (2), 907-916, 2019. ISSN: 1144-0546.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C8NJ04538K>

IF: 3.288

4. Lihi, N., **Lukács, M.**, Szűcs, D., Várnagy, K., Sóvágó, I.: Nickel(II), zinc(II) and cadmium(II)

complexes of peptides containing separate aspartyl and cysteinyl residues.

Polyhedron. 133, 364-373, 2017. ISSN: 0277-5387.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2017.05.044>

IF: 2.067

A közlő folyóiratok összesített impact faktora: 10,541

**A közlő folyóiratok összesített impact faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
5,186**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudásmetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2020.08.26.

