

ÚTON...

Hudecz Ferenc¹
ELTE TTK Szerves Kémiai Tanszék,
MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport



Budapesten születtem 1952. szeptember 12-én. A Mártonhegyi úti általános iskola ének-zenei tagozatra jártam. A felvételin – annak ellenére, hogy hangom nemigen volt – jó hallásom miatt a „b” osztályba kerültem. Az énektanár Vigh Rudi bácsi, a neves népzene kutató, Kodály tanítvány azzal érvelt: „lássuk mi lesz a gyerekből”. Valóban, felső tagozatban (5. osztály) már az énekkar tagja voltam, bár szólót soha nem énekeltem (és ez reális). A zene, a zeneolvasás, a kórus, az éneklés szeretete velem maradt. Fontos emlék számomra Kodály látogatása az iskolában, Szőnyi Erzsébet kísérte, aki a Magyar Kodály Társaság alapító és örökös tiszteletbeli tagja, társelnöke, elnöke. A 40 éves osztálytalálkozón – 2008-ban – felső-tagozatos énektanárunkat, Horváth Karcsi bácsit sikerült rávenni (nem volt nehéz) az öregdiák kórus létrehozására és örülök annak, hogy sokan bekapcsolódtak a munkába.

Az iskola szigorú volt, sokat követelt és sokat adott, emberségre és tartásra nevelt. Az alsó tagozatos osztályfőnök, Vaszkó Béláné, Irén néni igazságos, nyugalmat árasztó, remek tanító volt. A felső tagozatban emlékezetesek voltak Kecskés Mihályné magyar órái, vers- és prózaelemzései. Szerettem a történelmet, Margit néni racionális, világos és jól követhető óráit, ahol bizony fegyelem volt, a jó értelemben és Lujzi néni, a néptánc tanárnő gondos, odafigyelő és értelmes tevékenységre nevelő munkáját. Fontosak, mókások és szeretnivalók voltak a rajzórák Bakonyi Mózes tanár úrral, a gyakorlati foglalkozások Máthé tanár úrral és persze a kémia Wiener Jánosné, Anna nénivel, akinek köszönhetem, hogy érdeklődésem már ott az iskolában a

¹ Hudecz Ferenc Eötvös József-emlékérmét és „Pro European Peptide Society” kitüntetést kapott, lásd *Biokémia XLI. ÉVFOLYAM 1. SZÁM, 2017. március, a szerkesztőség megjegyzése.*

kémia/biokémia felé fordult. Nem fejeltem el biológia tanárunk, Jutka néni meleg szeretetét, amellyel a diákokkal foglalkozott. Jó volt Mártonhegyisnek lenni...

A budapesti Szilágyi Erzsébet Gimnáziumban érettségiztem 1971-ben. A középiskolás évek emlékét meghatározza édesapám halála (1969), aminek háttere egy inoperábilis gyomorrák volt. Tanárain együttérzése és ennek megnyilvánulási formái alapvető élmények maradtak számomra. A kémia-biológia tagozatos osztályban sokat tanultam Fraknói Tibor kémia tanártól, élveztük a kísérleteket és megtanultuk, hogy a reprodukálhatóság elsőrendű követelmény. A logikus gondolkodás, a racionális megközelítés tiszteletét sajátíthattuk el a közelmúltban Rátz tanár úr életműdíjjal kitüntetett Pálfalvi Józsefné, Sárikától, a matematika hiteles, elkötelezett tanárától. Emlékezetesek Nagy Tamásné, Gréti néni magyar órái, a József Attila vagy Radnóti verselemzések és Mohayné Katanics Mária tanárnő ének-zenetörténet órái és természetesen a kamarakórus. Nemcsak szakmai tudást, műveltséget, hanem emberséget, a közösség szolgálatát, a „másik” tiszteletét tanultuk meg. Szerencsés osztály voltunk... És jó közösség. Azóta is figyelünk egymásra, tanulunk egymástól: a gyógytornász és a gyógypedagógus, a szemész, a belgyógyász háziorvos és a tüdőgyógyász főorvos, akit az év orvosának választott kórháza, az akadémikusok, a gyógyszerértároló, a jezsuita szerzetes, a Jezsuita Roma Szakkollégium kezdeményezője, a nemzetközileg elismert szállítmányozási vállalkozó, aki a túlsúlyos-túlméretes eszközök szállításának specialistája a kontinensen, a középiskolai tanár, az 1991-ben alapított biotech cég ügyvezetője, egy magyar tudományos folyóirat főszerkesztője és a többiek – itthon és külföldön.

Biokémikusnak készültem. Mivel előzményei e tudományterületnek nem voltak a családban, a továbbtanulást meghatározta az a beszélgetés, amelyet az MTA Történettudományi Intézetben Angliával és az angol-magyar kapcsolatokkal foglalkozó történészként édesanyám folytatott Straub F. Brunó akadémikussal,

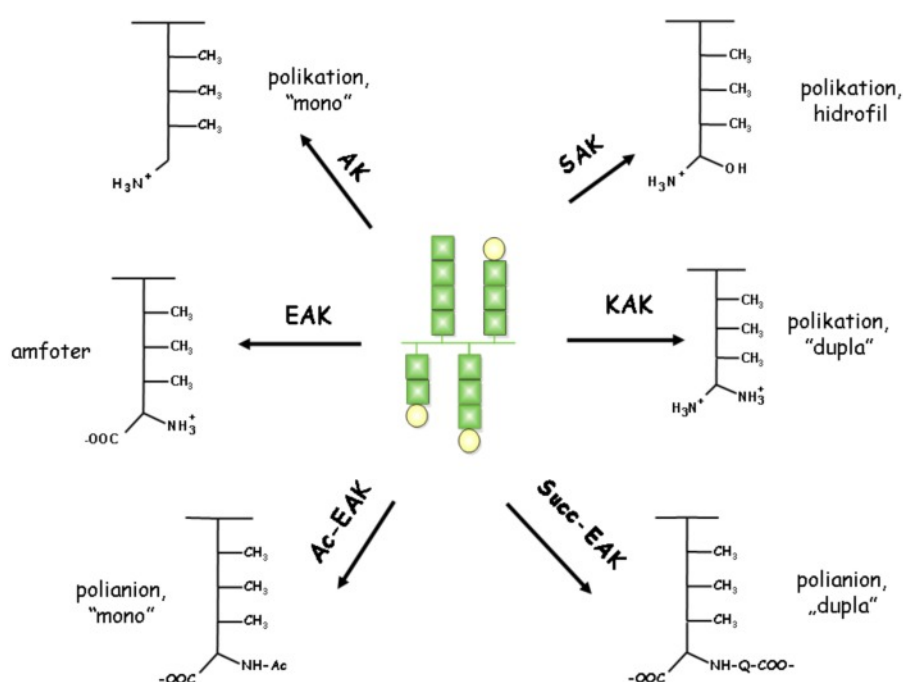
akit – ismeretlenül – felkeresett a kérdéssel, mit tanácsol, hogyan lehet egyetemi tanulmányokat folytatni az 1970-es években Magyarországon? A lehetőségek (SOTE, ELTE, BME) részletes elemzése után Straub akadémikus az ELTE vegyész szakot javasolta.

Így az ELTE TTK vegyész szakos hallgatója lettem 1972-ben, 1977-ben szereztem kutatóvegyészi diplomát. Az egyetemen nagy hatással voltak rám Kucsman Árpád elegáns szerves kémiai előadásai, a speciális kurzusok között pedig megfogtak Medzihradzsky Kálmán peptidkémiai előadásai, Gergely János immunológiai és Kovács János sejttani stúdiumai. Önálló gondolkodásra, szuverén kutatói működésre készítettek fel Haiman Ottó fizika vizsgái, az Eötvös Collegista Turczai Gyula és Beke Gyula matematika, illetve fizikai kémiai szemináriumai. Talán a legtöbbet Szekerke Mária tudományos tanácsadónak köszönhetek, akinél – rákkutatással kapcsolatos témában – a tudományos diákköri munkát kezdtem az egyetemi évek alatt, diplomáztam és doktoráltam (Dr. rer. nat., ELTE, 1980). Az ő nyitottsága, nemzetközi-szakmai széleslátókörűsége és a gondolkodás szabadságának tiszteletben tartása nagyban segítette szakmai fejlődésemet.

1979 májusában, az ELTE TTK biológus bálon ismertem meg azt a hallgatót, aki december 1-én feleségem lett, aki végzés után ledoktorált, aki kezdetben a Kőbányai Gyógyszerárugyár (ma Richter G. Vegyészeti Nyrt.) munkatársa, majd a Semmelweis Egyetem Biofizikai Intézet elkötelezett oktatója, sikeres Ph.D. hallgatók témavezetője, habilitált docens, a biológiai tudomány kandidátusa (1994), kutató (h index: 15). Nemcsak feleség, gyermekeink édesanyja (és Lili unokánk nagymamája), lelkes oktató és kutató, de társam minden vonatkozásban...

Kezdetben különböző tumorellenes szerek albumin, majd polipeptidek (Ara-C) illetve (m-AMSA) DNS kötődésének tanulmányozásába kapcsolódtam be. Később olyan új típusú elágazó láncú polimer polipeptid család szintézisére,

jellemzésére törekedtünk, amelynek segítségével egyrészt tanulmányozni lehet a primer szerkezet (aminosav sorrend, aminosav összetétel) és a térbeli elrendeződés (oldatbeli konformáció) közötti összefüggéseket, másrészt a kémiai szerkezet befolyásoló hatását releváns funkcionális biológiai sajátságokra. E vegyületekben a polilizin gerinchez különböző felépítésű, rövid peptid oldalláncok kapcsolódnak (1. ábra). Az oldalláncvégi aminosavak megválasztásával létre lehetett hozni különböző töltésű, töltéssűrűségű, hidrofil/hidrofób karakterű vegyületeket.



1. ábra. Elágazó láncú, polilizin gerincű polipeptidok sematikus szerkezete. A = Ala, K = Lys, E = Glu, S = Ser.

Az oldatbeli térszerkezet meghatározására CD spektroszkópiai vizsgálatokat végeztem – első külföldi tanulmányutak keretében (1978, 1979 és 1982) – a nemzetközi elismertségű Dr. Karel Blaha kutatócsoportjában, Prágában (Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czechoslovak Academy of Sciences). Megállapítottuk, hogy a láncvégi aminosavak mineműsége (töltés, oldallánc hidrofób karaktere) meghatározó módon befolyásolja az oldatbeli térszerkezetet: alifás, aromás oldalláncú aminosavak jelenléte a terminálison rendezett konformációt eredményez, míg az amfoter Glu azonos pozícióban rendezetlen térszerkezetet hoz létre – azonos körülmények között. Dr. Gaál

Dezső (Országos Onkológiai Intézet) vizsgálataival összefüggéseket irtunk le az immunmoduláló hatás és a szerkezet között, míg Dr. Rajnavölgyi Évával (ELTE Immunológia Tanszék) kezdeményezett együttműködés bizonyította, hogy a láncvégi aminosavak konfigurációja jelentősen befolyásolja a polipeptidek immunválaszt kiváltó képességét. E kísérletek, a közös munka több évtizedes eredményes közös kutatómunkát alapoztak meg és megtanítottak arra, hogy komplex problémák vizsgálata – amely „team”-ben lehet sikeres – során mennyire fontos a „más” szakmai háttérű kutató megközelítésének, gondolatrendszerének a megértése. A kémikust a vegyület előállítása, a szerkezet leírása, a kémiai reaktivitás és a szerkezet összefüggése érdekli elsősorban. A biológus, orvosbiológus a biológiai funkció, a jelenség, a sejten vagy szervezeten belüli viselkedés megértésére törekszik. Az elágazó láncú polipeptidek szintézise és kémiai/biológiai viselkedése terén elért eredményeket az 1985-ben benyújtott kandidátusi disszertáció foglalta össze.

Fontos megjegyezni, hogy a későbbiekben bővülő polipeptidcsalád, valamint a funkcionális tanulmányok során bizonyítást nyert, hogy az oldalláncvégi aminosav hidrofobicitása és a molekula töltésviszonyai meghatározóak a polipeptid foszfolipid modellmembránon kifejtett aktivitásában, citotoxicitásában. *In vivo* kísérletek bizonyították a töltés kiemelt szerepét a keringésben töltött időre, illetve biodisztribúcióra, tumorban való feldúsulásra vonatkozóan.

1983-ban lehetőségem nyílt csatlakozni Stanley A. Plotkin professzor csoportjához az első (1892) független amerikai biomecinális kutatóintézetben (Wistar Institute, Philadelphia), amely C. Wistar orvos (1761-1820), egyetemi tanár (University of Pennsylvania), az első amerikai anatómia tankönyv szerzője nevét viseli, <https://www.wistar.org/>. Itt ismerkedtem meg azokkal a kérdésekkel, amelyek kapcsolatot keresnek a fehérjék, glikoproteinek immunválaszt kiváltó képessége, specifikus immunfelismerése (ellenanyag- illetve T-sejt receptor-kötődés) és a kémiai szerkezet között. E jelenségek

molekuláris szintű értelmezése e poszt-doktori, vendégkutatói tanulmányút során került érdeklődésem előterébe – s ehhez az egyetemi évek alatt Gergely professzor ELTE előadásai biztos alapot nyújtottak.

Az 1980-as évek elején széleskörű kutatások indultak meg annak tisztázására, hogy az immunválaszért felelős fehérjéken belül mely szakaszok játszhatnak meghatározó szerepet a specifikus immunválasz kiváltásában. Az Intézetben feladatom először az immunválaszért felelős humán citomegalovírus fehérjék azonosítása, izolálása és az aminosav sorrend megismerése volt. Megtanultam számos új technikát (pl. ELISA, dot-blot, immunprecipitáció), majd bekapcsolódtam a herpesz szimplex vírus (HSV) D glikoprotein antigén-szerkezetének feltérképezésébe, jártasságot szereztem B- és T-sejt epitópok (antigéndeterminánsok) predikciója, kísérleti azonosítása és kémiai szintézise terén. A kutatás során az „átfedő” és/vagy „csökkenő hosszúságú” peptid-stratégia együttes alkalmazásával hozzájárultunk a D burokfehérje antigén-szerkezetének meghatározásához.

A Wistar Intézetben folytatott kutatómunkának köszönhetően eljutottam a philadelphiai Magyar Klub egyik rendezvényére, ahol a Nobel-díjas Wigner Jenő tartott előadást pályafutásáról, szakmai fejlődéséről. Az előadó szerénysége, az előadás közvetlen stílusa lehetővé tette, hogy egy személyes beszélgetés után megkérjem Wigner Jenőt az elhangzottak leírására. A kézirat pár héten belül megérkezett. A közlés lehetőségét Wigner Jenő 100. születésnapja alkalmából felajánlottam a Magyar Tudomány számára. A kéziratot és annak leiratát a folyóirat 2002. novemberi száma, illetve annak melléklete hasonló kiadásban közölte <http://epa.oszk.hu/00700/00775/00048/wigner.html>.

E tanulmányútnak másik érdekessége, tanulsága is volt. Feleségem és a két fiú, Gergő (1981) és Andris (1983) 1984. januárban csatlakoztak hozzám. 8 hónap alatt megtapasztalták az amerikai életformát több vonatkozásban is, voltak az Empire State Building tetején New Yorkban, sétáltak a Metropolitan lépcsőin és

Princetonban. Gergő az egyetem (University of Pennsylvania) bölcsődéjében észlelte, hogy az angol nyelv ismerete nem alapvető a kapcsolatteremtésben, a gesztusok, a testbeszéd alapot adhat arra, hogy komfortosan érezze magát a gyerek egy idegen országban, barátai legyenek. (A két fiú később a nyelvtanulásban versenyeztek, kettejüknek nyolc nyelvből nemcsak vizsgájuk van.) Szüleik pedig megtanulták, hogy egy hasmenéses fertőzés nem csupán meggyógyítandó, hanem az egyetem kutatóit inspiráló körülmény, amely egy új vírus tudományos leírását, közzétételét teszi lehetővé az izolálást követően.

Hazatérésünk után, továbbra is az ELTE–MTA Peptidkémiai Kutatócsoport munkatársaként megvédtem kandidátusi disszertációm (1986), majd a tanulóévek folytatásaként R. W. Baldwin professzor meghívására a Nottinghami Egyetem Rákkutató Laboratóriumában (CRC Laboratories, University of Nottingham) dolgoztam 1988 őszétől. Monoklonális ellenanyag – tumorellenes szer (daunomicin, methotrexát), valamint elágazó láncú polipeptid konjugátumok szintézisével, funkcionális jellemzésével foglalkoztam (1988/89, majd többször 1990 és 1995 között). Első eredményeink abban az 1990-ben induló American Chemical Society (ACS) folyóiratban (Bioconjugate Chemistry) jelentek meg, amelynek társszerkesztője lehettem később (2007–2014 között), az alapító főszerkesztő, C. F. Meares (University of California, Davis) felkérésére. A „célbajuttatási” kutatás mellett a nottinghami tanulmányutak során egy másik projekt keretében Dr. M.R. Price biokémikussal a mucin glikoproteinek (MUC1) antigénszerkezete felderítésén dolgoztunk, különös tekintettel arra, hogy e fehérjék hibás/csökkent mértékű glikozileződése jellemző a tumorsejtek felszínén megjelenő struktúrákra, amelyek a beteg szervezetben specifikus ellenanyag termelődést váltanak ki. Bebizonyítottuk, hogy az epitópként azonosított – szénhidrát oldalláncot nem tartalmazó – peptidszakaszok alkalmasak tumorellenes immunválasz kiváltására, valamint tumorspecifikus ellenanyagok kimutatására vérmintából, sőt polipeptiddel/albuminnal konjugált formában a kötődés kifejezettebb.

A család Nottinghamban is velem volt. A gyerekek már nagyobbak és az egyetemhez (lakásunkhoz) közeli Dunkirk Primary School iskolába jártak (<http://www.dunkirkprimary.com/>), ahol megtapasztalták a kulturális sokszínűséget, a kreatív, értelmes és együttműködő légkört, barátokat és önbizalmat szereztek. Feleségem megismerhette a patch-clamp módszert és a Yorkshire puding elkészítésének titkát. (A szakirodalmat követve kiderült, hogy 2008-ban „The Royal Society of Chemistry” állásfoglalást közölt (<http://www.rsc.org/aboutus/news/pressreleases/2008/perfectyorkshire.asp>) E szerint: „a Yorkshire pudding isn't a Yorkshire pudding if it is less than four inches tall” – a hirt a BBC is átvette.

A tanuló/vándorévek lezárásának a Kumamotoi Egyetemen, H. Maeda professzor laboratóriumában végzett kutatások tekinthetők (1991-92). E japán kutatócsoport írta le először az „enhanced permeability and retention” (EPR) effektust, amely arra utal, hogy „solid” tumor szövetekben nagy molekulatömegű vegyületek (pl. módosított fehérjék, polimerek) és tumorelles szert (pl. neokarcinosztatin) tartalmazó konjugátumaik feldúsulhatnak, ami új terápiás lehetőséget vet fel. Egy három hónapos meghívás során kutatásokat végeztem az általunk előállított, nagy molekulatömegű elágazó polipeptidekkel, megvizsgálva a kémiai szerkezet és a jelzett vegyületek biodisztribúciója, tumorbeli felhalmozódása között, s e kutatások folytatódtak a következő években is.

Hazatérésem után az eredményeket MTA doktori disszertációban „Protein, illetve polipeptid tartalmú biokonjugátumok: Tervezés és szintézis szerkezet-hatás összefüggések alapján” címmel foglaltam össze és védtem meg. Elmondható, hogy az 1990-es évekre kialakult az a két kutatási irány, amelyek meghatározták a következő évtizedeket: a) fehérjék antigénszerkezetének feltérképezése, epitópok azonosítása klasszikus és kombinatorikus kémiai módszerekkel, „szuper”-antigének kutatása szintetikus vakcinák és diagnosztikumok előállítása céljából, b) tumorelles és antimikrobiális

kemoterápiás hatású vegyületek, epitóp és enziminhibitor peptidek specifikus célsejtbe juttatása oligo/polipeptid/fehérje biokonjugátumaik segítségével.

1993-tól az MTA kémiai tudományok doktora és az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport tudományos tanácsadójaként, 1997 és 2001 között Széchenyi Professzori Ösztöndíjasként dolgoztam. 1996-ban habilitáltam és egyetemi magántanári címet kaptam az ELTE-n. 1999-től – az akkor bevezetett pályázati rendszerben, sikeres pályázat alapján – a kutatócsoport vezetője lettem. 2003 óta rendes egyetemi tanárként, előbb oktatási és tudományos rektorhelyettes (2003-2006), az egyetem rektoraként (2006-2010), majd a Szerves Kémia Tanszék vezetőjeként (2010-2016) és az Eötvös Collegium biológia-kémia műhely vezetőjeként (2010-2016) működtem. A rektori periódus dokumentumaiból ad ízelítőt egy válogatás.

Közben fiaink befejezték a Gimnáziumot (ELTE Trefort Ágoston Gyakorló Gimnázium), ahol remek tanároktól nemcsak ismereteket, de nyitott, értékorientált megközelítési módot, kritikai készséget, a teljesítmény elismerését és a minőség tiszteletét tanulták meg. Felvételiztek sikerrel az ELTE Bölcsészkarra (Andris), illetve a Budapesti Corvinus Egyetemre (Gergő, majd Andris is), diplomát szereztek (kettőt is: Gergő közgazdász [2004], majd Ph.D., [2009], Andris egyiptológus [2006], majd közgazdász [2008]).

A következőkben érdekesebb tudományos eredményeket mutatom be – vázlatosan.

1. Epitóp peptidek, szintetikus immunogének, antigének kutatása

Az elmúlt közel két és fél évtizedben a fentiekben jelzett predikciós stratégia és kísérletes megközelítések segítségével epitóp fehérjeszakaszokat azonosítottunk (lásd 1.1. fejezet), tanulmányoztuk milyen szerkezeti/kémiai feltételei lehetnek az epitóp funkció kialakulásának (pl. poszt-transzlációs

átalakulások) (lásd 1.2. fejezet). Másrészt előállítottunk oligopeptid epitópokat, származékokat és konjugátumokat annak tanulmányozására, hogy a kémiai szerkezet megváltoztatásával milyen törvényszerűségek mentén javítható az ellenanyag-kötődés, MHC-, illetve T-sejt receptor kötődés, illetve immunogenitás (lásd 1.3. fejezet).

1.1. Epitópok azonosítása

A fehérjeepitópok azonosítása az elmúlt évtizedek során hozzájárult a korábban említett HSV D burokfehérje, és a MUC1 glikoprotein antigénszerkezetének megismeréséhez, de lehetővé tette további lineáris és folytonos topográfiás B-sejt (ellenanyag) epitópok, valamint T-sejt epitópok lokalizálást, jellemzését, amint ezt az alábbi két példa demonstrálja.

Dr. M.R. Price professzorral közös vizsgálatainkban meghatároztuk a vastagbél tumorok esetében kimutatott MUC2 glikoprotein egyik lineáris B-sejt epitóp régióját ($^{16}\text{PTPTGTQ}^{22}$) és jellemeztük oldatbeli konformációját. A Furka professzor által kifejlesztett keveréses-osztásos kombinatorikus kémiai módszerrel, a glikoprotein TXTXT motívumot tartalmazó szakaszai közül kiválasztottuk a magepitópot ($^{21}\text{TQTPT}^{25}$) és értelmeztük a fehérjegerinc heteroklitikus ellenanyag kötődését.

A *M. tuberculosis* baktérium 16kD és 38kD protein antigénszerkezetek tanulmányozása során – együttműködésben J. Ivanyi (MRC, London) és F. Dieli (University of Palermo) professzorokkal predikciós módszerekkel és átlapoló, majd szubsztituált peptidekkel bizonyítottuk T-sejt epitópok jelenlétét, meghatároztuk a magepitópot és az MHC kötődésben kiemelt szerepet játszó aminosavakat.

1.2. A poszt-transzlációs módosulás hatása az ellenanyag felismerésre

A következő két példa segítségével azt vizsgáltuk, miért viselkednek a fehérjék bizonyos szakaszai epitópként, azaz milyen szerkezeti tényezőkre vezethető

vissza az immunfelismerésért felelős molekula részlet megjelenése. Lineáris B-sejt epitópok azonosítása során korábban tisztázták, hogy a poszt-transzlációs módosítás (pl. glikozilezés, citrullináció) kiemelt szerepet játszhat egyes fehérjék immunogenitásában. A tumoros megbetegedéssel összefüggésbe hozható mucin glikoproteinek, illetve az autoimmun betegségekben autoantigénként szerepet játszó fehérjék (pl. filaggrin, fibrin) a poszt-transzlációs módosulás előtt nem viselkednek „idegen” fehérjeként, míg azt követően immunreakciót váltanak ki. Ismeretes, hogy az érintett mucin glikoproteinek egészséges szövetben jelentős mértékben glikozilezettek, míg rosszindulatú megbetegedésekben – nemcsak túltermelődnek, de – a tumoros szövetből izolált fehérje alig tartalmaz szénhidrát oldalláncokat. A fehérjegerinc így hozzáférhetővé válik az immunrendszer számára és mint „testidegen antigén” fehérje immunválaszt indukálhat.

Annak tisztázására, hogy a glikozilezés milyen szerepet játszhat a MUC2 glikoprotein immunfelismerésében, előállítottunk olyan glikoheptapeptideket, amelyekben a $^{16}\text{PTPTGTQ}^{22}$ peptid egy, kettő, vagy mindhárom Thr oldalláncához monoszacharid egység kapcsolódik. Kimutattuk, hogy akár egyetlen D-glükóz jelenléte jelentősen meghatározhatja a fehérjeszakasz ellenanyag-kötődését. A T²¹ oldalláncához kapcsolt D-glükóz például teljesen megakadályozza az ellenanyag - epitóp kötődést. Egy másik megfigyelés arra hívta fel a figyelmet, hogy a rheumatoid arthritis (RA) autoimmun kórképben az arginin (Arg) helyett citrullint (Cit) tartalmazó fehérjék fontos szerepet játszanak a betegség kialakulásában. Igazolták, hogy a peptidil-arginin-deimináz enzimek katalizálják az Arg/Cit átalakulást, amely bizonyos fehérjékben (pl. fibrin, filaggrin) megváltoztatja a töltésviszonyokat. Ennek hatására módosul a térszerkezet, új fehérjeszakaszok, új, immunválaszt kiváltó epitópok jelenhetnek meg, ami (autoimmun) ellenanyagok bioszintéziséhez vezet.

Együttműködésben Sármay Gabriella professzorasszonnyal és munkatársaival (ELTE Immunológia Tanszék) a filaggrin egyik epitóprégióját

(³⁰⁶SHQESTXGXSRSGRS³²⁴) (X = Cit) vizsgálva megállapítottuk, hogy az autoimmun válasz kiváltásában döntő szerepe van az Arg/Cit átalakulásban résztvevő aminosavak számának és egymáshoz viszonyított elhelyezkedésének. Ezen epitóprégióon belül - az egészséges és RA betegségben szenvedő személyek szérummintáinak összehasonlításával - lokalizáltuk azt a legkisebb peptidszakaszt (³¹¹TXGRS³¹⁵), amely ellenanyag (B-sejt) epitópként viselkedik és alkalmas lehet a betegség korai és specifikus kimutatására is.

Egy másik, az RA kialakulásban fontos szerepet játszó, esetenként arginin helyett citrullint (X) tartalmazó fibrin fehérje (α - és β -lánc) antigénszerkezetét tanulmányozva Dr. Guy Serre professzorral és munkatársaival (CNRS, Université Toulouse 3) folytatott közös kutatásaink során három immundomináns fehérje epitóprégiót azonosítottunk. A fibrin α - és β -láncából származó Arg/Cit tartalmú ³⁴GPRVVXHQSACKDS⁴⁸ (α 36-50) és ⁶⁰RPAPPPISSGGYXAX⁷⁴ (β 60-74) peptidek szérum ellenanyagkötésének összehasonlító tanulmányozása alapján jelentős különbséget lehetett tapasztalni az egészségesek és betegek mintái között. E tanulmányok, valamint az epitóp orientáció - kötődés elemzés alapján (lásd később) választottuk ki azt az ellenanyag (B-sejt) epitóp peptidet (⁶⁰RPAPPPISSGGYXAX⁷⁴, β 60-74), amelyet „célbajuttató” egységként használtunk egy háromkomponensű biokonjugátum tervezésénél, szintézisének.

1.3. Epitópok szerkezetének módosítása: miként befolyásolható az immunfelismerés hatékonysága?

A fehérjeepitópok felhasználásával olyan kémiai struktúrákat (peptidek, peptid-konjugátumok) lehet létrehozni, amelyek – szerkezetüktől függően – mesterséges (cél)antigénként ellenanyag, illetve T-sejt válasz kimutatására, ezáltal egyes betegségek (például HSV fertőzés, tumor, autoimmun betegségek) korai diagnosztikájára és/vagy a kezelés hatékonyságának monitorozására lehetnek alkalmasak. Más konstrukciók hatékony védelmet alakíthatnak ki

például bizonyos tumoros megbetegedések, vírus-, baktérium vagy parazitafertőzéssel szemben, vakcinaként működhetnek.

Kutatásaink során arra kerestük a választ, hogy szisztematikusan módosított szerkezetű epitóp peptidekkel (pl. gyűrűbe zárt, a lebegő szakaszokkal átalakított, D-aminosavval szubsztituált) vagy konjugátumok révén sokszorozott származékokkal, miként befolyásolható az immunfelismerés hatékonysága (ellenanyag-kötődés, MHC- illetve T-sejt receptor kötődés, illetve immunválasz), illetve milyen lehetőségek nyílnak más, releváns biológia tulajdonságok (pl. védelem a gyors enzimatis lebomlás ellen) kialakítására. A lehetséges stratégiákat és az elért eredményekből nyújt válogatást az alábbi összefoglalás.

A HSV D glikoprotein (gD-1) N-terminális szakaszán lokalizált B-sejt epitóp szakasz (⁹LKMADPNRFRGKDL²²) béta-kanyar másodlagos szerkezetet vesz fel receptor kötődése során. A kétféle általunk tervezett és szintetizált **ciklusba zárt változat** azonban, a lineáris peptidhez képest, három nagyságrenddel csökkent ellenanyagkötődést mutatott. Ugyanakkor ciklusos szerkezet kedvezően befolyásolja az epitóp peptid enzimatis lebomlását lizoszóma preparátumban. Az ugyancsak a HSV gD-1 fehérjén azonosított epitópot tartalmazó peptid (²⁷⁸LLEDPVGTVA²⁸⁷) ciklusos származékai a ciklust létrehozó kovalens kötéstől függően jóval nagyobb stabilitást mutattak, mint a lineáris változat: tioéter > amid > diszulfid kötés.

Az epitóp peptidek szerkezetét az epitóp sajátosságért (specifikus kötődés) felelős epitóp „mag” N- és C-terminálisán elhelyezkedő **„lebegő” régiók kicserélésével** szintén át lehet alakítani. Ezzel a „mag” szakasz ellenanyag kötődése B-sejt epitóp esetében vagy MHC-, illetve T-sejt receptor kötődése a T-sejt epitóp esetében megváltoztatható. Kísérleteink bizonyították, hogy a „lebegő szakaszok” kialakíthatóak úgy, hogy az optimális kötődés megtartása mellett a peptid enzim-rezisztens legyen szérumban és lizoszomális enzimekkel

szemben is. Kimutattuk, hogy a MUC2 glikoprotein egyik B-sejt epitóp peptidben (TPTPTGTQTPT) a „magot” (PTGTQ) körülvevő L-aminosavak egy részét D-izomerre cseréljük (tpTPTGTQtp, ahol a kisbetű a D-izomer), akkor e peptid megtartotta teljes ellenanyag kötődését és nem bomlik le testfolyadékokban.

Megfigyeltük, hogy a lineáris B-sejt epitóp peptidek, illetve a T-sejt **epitóp peptidek sokszorozása** előnyösen befolyásolhatja az ellenanyag, illetve T-sejt felismerést. A HSV gD-1 fehérje epitópot tartalmazó ⁹LKMADPNRFRGKDL²² peptid és makromolekuláris hordozóhoz kapcsolt származékai - a hordozó szerkezetétől függően, azonos szubsztitúció fok mellett - az ellenanyag kötődés mértékét javították (pl. szekvenciális oligopeptid vagy elágazó láncú Leu tartalmú polipeptid alkalmazásakor) vagy akár két nagyságrenddel csökkent (pl. KLH fehérje hordozó esetén).

Kimutattuk a specifikus immunválasz hatékonysága függ attól, hogy az előzetes immunizáláshoz szabad vagy konjugált epitóp peptidet, illetve milyen szerkezetű polipeptidet választottunk.

Halálos dózisú HSV vírussal fertőzött egerek túlélése jelentősen nőtt attól függően, hogy a konjugáláshoz milyen hordozót használtunk. A HSV gD-1 B sejt epitóp konjugátum immunválaszát egerekben a hordozó polipeptid szerkezete jelentős mértékben meghatározta. A vakcináció ez esetben az állatok 50 %-át megmentette a pusztulástól.

A *M. tuberculosis* fertőzés/érintettség kimutatására a baktérium 38 kDa, illetve 16 kDa fehérje több T-sejt epitóp régiót tartalmaz. Ha az általunk tanulmányozott szakaszoknak megfelelő epitóp peptideket (rende ³⁵⁰DQVHFQPLPPAVVKLSDALI³⁶⁹, illetve ⁹¹SEFAYGSFVRTVSLPVGAD¹¹⁰) elágazó láncú polipeptiddel vagy ugyanazzal az elágazó polipeptiddel konjugáljuk és PPD+ személyek limfocitáinak T-sejt válaszát tanulmányozzuk, azt vehetjük észre, hogy a „szabad” peptiddel szemben az egyféle vagy még inkább a kétféle

epitópot tartalmazó konjugátum jelentős specifikus immunválaszt vált ki és ezáltal jelzi az érintettséget.

Egy másik kísérletsorozatban azt vizsgáltuk, hogy miként befolyásolja a kapcsolt epitóp peptid orientációja (N-C vagy C-N) az ellenanyagkötődést. Ennek érdekében olyan biokonjugátum-sorozatokat szintetizáltunk, amelyben a filaggrinból származó (hosszabb) epitóprégió peptid ($^{306}\text{SHQESTXGXSRSGRSGS}^{324}$) vagy egy (rövidebb) epitóp peptid ($^{311}\text{TXGRS}^{315}$) N- vagy C-terminálisához biotint kapcsoltunk.

A konjugátum avidinkötődési tulajdonságának megőrzését az biztosította, hogy a biotin és az epitóp peptid között 6-aminohexánsav „távolság-tartó” részlet került beiktatásra. A négy vegyületet összehasonlítva megállapítottuk, hogy a hosszabb epitóprégió peptidet tartalmazó két konjugátum ($^{306}\text{SHQESTXGXSRSGRSGS}^{324}\text{K}$ -biotin és biotin- $^{306}\text{SHQESTXGXSRSGRSGS}^{324}$) egyaránt kötődött az RA betegekől származó szérum ellenanyagokhoz. Ugyanakkor a rövid epitóp peptid tartalmú biokonjugátumok között jelentős különbség volt észlelhető: a biotint az N-terminálison tartalmazó (biotin- $^{311}\text{TXGRS}^{315}$) peptidet nem ismerte fel az ellenanyagminta, míg a C-terminálisra beépített biotin ($^{311}\text{TXGRS}^{315}$ -biotin) nem zavarta az ellenanyagkötődést.

E kísérleti eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy az epitóp orientációja (N-C vagy C-N) meghatározó lehet a sokszorozás (pl. hordozó polipeptidhez vagy szilárd felszínhez, ELISA lemezhez történő kovalens kötés) során az ellenanyag kötődésében, s ez hatékony immundiagnosztikumok kialakításánál döntő szempont lehet.

A fenti példák jelzik, hogy a peptid epitópok szerkezetének módosításával (pl. gyűrűbe zárás, a lebegő szakaszok átalakítása, sokszorozás) növelni lehet az immunfelismerés hatékonyságát, valamint az immunválasz kiváltó képességet.

A megfelelően kialakított származékok alkalmassá tehetik e peptideket, peptid-konjugátumokat tumoros (emlő, vastagbél karcinoma), fertőző (HSV, *M. tuberculosis*), valamint autoimmun (RA, Crohn szindróma) betegségek korai kimutatására, a kezelés eredményességének monitorozására és esetenként vakcinációval történő megelőzésére. Kutatásaink az „érdeklődés-vezérelt” alap kutatások csoportjába tartoznak. Adataink azonban – reményeink szerint is – hozzájárulhatnak a korszerű diagnosztika és/vagy terápia eszköztárának bővítéséhez.

2. Célbajuttatás fehérje- vagy peptid-biokonjugátumokkal

Az elmúlt időszakban a kutatás másik iránya azt vizsgálja, milyen feltételek teljesülése szükséges ahhoz, hogy egy hatóanyag (pl. gyógyszer, enzim inhibitor) vagy jelzőmolekula (pl. fluorofór) az érintett (cél)sejtbe jusson úgy, hogy egyidejűleg ne veszélyeztesse az egészséges sejteket. A molekulaszervezet és a „célbajuttató” sajátság közötti összefüggések feltárása során egyfelől figyelembe kell venni a célsejt (pl. tumorsejt vagy fertőzött sejt) és az egészséges sejtek közötti szerkezeti, működésbeli különbségeket. Másfelől olyan új molekulákat biokonjugátumokat kell tervezni, szintetizálni, amelyek jellemzően a célsejteken fejtik ki hatásukat. Ezek – egyszerű esetben – két alkotórészből állnak: az egyik komponens például olyan fehérje, elágazó láncú polimer polipeptid vagy oligopeptid, amely képes kötődni és bejutni a „célsejtbe”. A másik alkotórész a sejt elpusztítására/jelzésére – kis mennyiségben is – képes vegyület. A kutatás célja e két alkotórész „azonosítása” és annak kikísérletezése, hogy a konjugálás során mely molekularészt lehet a másikhoz úgy kapcsolni, hogy egyik partner se veszítse el funkcióját.

Az eredeti tudományos közleményeket közlő, 1990-be induló ACS Bioconjugate Chemistry folyóirat megjelenése integrálta a sokféle tudományterületről származó eredményeket, amikor definiálta a biokonjugátum fogalmát

(<http://pubs.acs.org/journal/bcches>) és lehetőséget adott olyan szintézismódszerek, kémiai/biológiai analitikai eljárások közlésére. A biokonjugátum olyan vegyület, amely két- vagy több partner molekulát kovalens kötéssel kapcsol össze úgy, hogy a komponensek a kötés létrehozása után is megőrzik eredeti funkcionális sajátságait, amelyek motiválták a kovalens kapcsolatot. Ilyen tulajdonságok lehetnek: a „riporter” sajátság (pl. kromofór/fluorofór jelleg, radioaktivitás), a kötődési/felismerési képesség (pl. enzim-szubsztrát, hormon-receptor, ellenanyag-antigén) vagy az *in vitro/in vivo* kifejtett „biológiai” hatás (pl. citosztatikus/citotoxikus hatás, sejtbejutási képesség, vagy a specifikus immunválaszt kiváltó képesség, farmakokinetikai sajátság).

A kémikus számára e követelmény teljesítése komplex feladatot jelent. Egyrészt azonosítani kell a partner vegyületeknek azon részeit (funkciós csoportokat, régiókat), amelyek részt tudnak venni a konjugálási folyamatban, azaz nem felelősek a megőrzendő – funkcionális tulajdonságért. Másrészt, olyan kémiai kötést kell kiépíteni a partnerek között, amely kellően stabil és nem befolyásolja a partnerek jellemző, a funkcionális sajátságokért felelős szerkezeti elemeit. A kísérletező a lehetséges reakciókörülmények (pl. hőmérséklet, fény, oldószer, sav/bázis érzékenység) által meghatározott „kémiai teret” (chemical space) jelentős mértékben csökkenteni kényszerül. Ügyelnie kell arra is, hogy a célvegyület tisztítása során „enyhe” körülményeket használjon.

A fentiekből érzékelhető, hogy a biokonjugátumok tervezése, szintézise, jellemzése multidiszciplináris megközelítést követel meg, amelyben a szerves kémiai kompetencia jelentősen kiegészül. A biokonjugátumok kutatását jelentősen motiválja a széleskörű alkalmazás is: az alaptudományokban, az életjelenségek sejtszintű vizsgálatától a gyógyszerkutatásig, a korszerű molekuláris diagnosztikától a teljes test képalkotó technikák fejlesztéséig. A következőkben néhány példán, a peptid-biokonjugátumok, illetve komponenseik

kutatása során feltárt új törvényszerűségeket, eredményeket mutatom be – a teljesség igénye nélkül.

Hatóanyagok „célsejtbe juttatásának” koncepcióját Paul Ehrlich fogalmazta meg (Nobel-díj, 1908) (http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1908/ehrlich-bio.html). A kifejezést („Zauberkegel”, „mágikus golyó”) Carl Maria von Weber „A bűvös vadász”, „Der Freischütz”) című operájából kölcsönözte. Napjainkra az elv a gyógyszerkutatás egyik stratégiai fontosságú irányává vált. Amennyiben a kiválasztott vegyület csak a „beteg” sejtbe jut, csökkenhetnek a mellékhatások, kisebb lehet a terápiás dózis, javulhat a terápiás hatékonyság.

A hordozók, amelyekhez kovalens kötéssel kapcsolódik hatóanyag és/vagy riporter molekula két csoportba oszthatók: az egyik típus (pl. monoklonális ellenanyag, hormon, epitóp) rendelkezik a célsejtet felismerő szerkezettel (pl. receptor, akceptor, enzim) és képes specifikusan kötődni. A másik csoportba tartoznak azok a vegyületek, amelyek nem rendelkeznek sejt felismerő szerkezeti egységgel (vagy az még nem ismert), de sejtbe történő felvételük – valamilyen oknál fogva – egyes sejt típusok részéről kedvezményezett, s így a hozzájuk kapcsolt molekula („cargo”) e sejtekben nagyobb koncentrációban lehet jelen.

Kutatásaink (szintézis, szerkezeti/funkcionális jellemzés) párhuzamosan folytak/folynak polipeptid (elágazó láncú és szekvenciális polipeptidek), illetve oligopeptid (pl. sejtpenetráló peptidek, MHC ligandum/T-sejt epitóp) hordozókkal. A kialakított biokonjugátumok közös sajátossága, hogy a „cargo” jellemzően tumorellenes (pl. antraciklin, folsav-antagonista, hormon-antagonista, vinka alkaloid, ferrocén származék) vagy antimikrobiális (pl. izoniazid, metotrexát) hatású kemoterápiás szer, illetve riporter molekula (fluoreszcein, oxazon származék, kelátor) sajátosságú vegyület.

2.1. Makromolekuláris, polipeptid tartalmú biokonjugátumok

Az elágazó láncú polimer polipeptid hordozók csoportjában az egyes vegyületek egymástól meghatározott tulajdonságokban (pl. töltés, oldatbeli térszerkezet) eltérnek. Ez a szisztematikusan megválasztott molekulákból álló csoport lehetőséget adott annak tanulmányozására, hogy a hordozó hogyan befolyásolja a hozzá kovalensen kapcsolt „cargo” tulajdonságait? A molekulaszervezet (a hordozó felépítése, a kötéstípus a hordozó és „cargo” molekularész között) és a biológiai hatása közötti összefüggések feltárása lényegét tekintve a „felfedező kutatás” igazi célja és öröme. Az összefüggések alapján előállított, a korábbi törekvéseknél hatékonyabbnak mutakozó vegyületek, pl. a tumorellenes szert (Dau), vagy a *Leishmania donovani* parazitafertőzés elleni szert (MTX) tartalmazó konjugátumok új irányokat jelölhetnek ki, vagy létező irányokat erősíthetnek meg a gyógyszerkutatás ezen területein.

Az amfoter sajátságú, oldallánc végeken Glu aminosavat tartalmazó elágazó láncú polipeptiddel konjugált daunomicin (cAD-EAK) L1210 leukémiában szenvedő egereken végzett állatkísérletekben teljes túlélést eredményezett. A kezeletlen vagy csak daunomicinnel (Dau), illetve a polipeptid és Dau keverékével kezelt állatok 10-24 napon belül elpusztultak. Ezzel szemben, az azonos dózisú kezelés, amelyet az oldallánc végeken Ser aminosavat tartalmazó, polikationos polipeptidhez – azonos kötéssel – kapcsolt daunomicinnel (cAD-SAK) végeztünk, nem eredményezett túlélést, az állatok 24 napon belül elhaltak. E megfigyelés világosan dokumentálja a hordozó molekula komplex szerepét a Dau tumorellenes hatására nézve.

A hatás különbség elemzésére irányuló kutatások eredményei arra utaltak, hogy a kétféle konjugátumból (cAD-EAK vs. cAD-SAK) – azonos körülmények között – lényegében azonos kinetika szerint szabadul fel a hatásért felelős Dau és hasonló mértékű a különböző sejtvonalakon tapasztalt *in vitro* citoxikus hatás is. Jelentős különbséget lehetett észlelni ugyanakkor a sejtfelvétel mértékében sejtkultúrákban *in vitro*, illetve a biodisztribúció jellemzőiben *i.v.* kezelés után

(véráramban eltöltött idő, szöveti megoszlás). Ezek az egybeesések és különbözőségek megegyeznek a polipeptid hordozók esetében leírtakkal, azaz a konjugátumok sajátságaira a hordozó molekularész markáns hatással van.

A *Leishmania donovani* parazita fertőzés elleni szert (metotrexát, MTX), valamint elágazó láncú, polikationos sajátságú polipeptid makromolekulát tartalmazó konjugátumok hatásának összehasonlító vizsgálata szerint a polikationos polipeptidek oldalláncának felépítése fontos szerepet játszik az fertőzés ellenes hatás létrejöttében. A kezeletlen, a szabad vagy polipeptid + MTX keverékkel kezelt állatokhoz képest, az MTX – ALK konjugátum, amelyben a Leu aminosav a polilizin gerinchez közel helyezkedik el, a parazitaszám drámai csökkenését eredményezte *in vitro* és *in vivo*.

Az *in vivo* kísérletek jelentős különbségeket mutattak a konjugátumok (tumorellenes, illetve *L. donovani* fertőzés ellenes) hatásában. Újabb kísérleteink arra utalnak, hogy a szabad hatóanyag vagy az elágazó láncú polipeptiddel konjugált származék felvétele a sejtek (pl. szenzitív, illetve rezisztens tumorsejtek, makrofágok) részéről egymástól eltérő mechanizmus szerint valósul meg. A szintetikus polipeptid konjugátumok folyadék fázisú endocitózissal jutnak a sejtbe. Kimutattuk azt is, hogy e konjugátum család esetében – a hordozó szerkezete által meghatározott mértékben – az A típusú scavenger receptor is részt vesz a folyamatban.

2.1. Oligopeptid biokonjugátumok

A sejtpenetráló peptidok leírását követően, az irodalom áttekintése után, felmerült a kérdés: vajon milyen eredményre vezethet ugyanannak a vegyületnek (pl. Dau, folsav antagonist) célsejtbe juttatása különböző „architektúrájú” peptid típusú vegyülettel? Milyen különbségek azonosíthatók az elágazó láncú polipeptidhez, sejtpenetráló vagy sejtfelszíni receptorhoz specifikusan kötődő oligopeptidhez kapcsolt hatóanyag sejtfelvétel között?

Szerkezet-hatás összefüggések elemzésére sejtpenetráló oligopeptidek konjugátumait állítottuk elő tumorellenes hatású vegyületekkel (daunomicin, fólsvav antagonist, ferrocén származék, illetve vinblasztin), valamint enzim aktivátor/szubsztrát/inhibitor származékokkal vagy „riporter” molekulával. A hatásos vegyületek esetében ígéretes első lépéseket tettünk a mechanizmus tisztázására is (pl. a tubulin rendszerre gyakorolt hatás, kalpain aktiválás).

Újabb kísérleteinkben, az ErbB2 receptor ligandumát az LTVSPWY oligopeptidet és Dau-t tartalmazó konjugátum állítottunk elő. Az ErbB2 receptor fokozott expresszióját figyelték meg bizonyos (pl. HER2 receptor pozitív emlő) tumorok esetében, ligandumát fágtár stratégia segítségével azonosították. A konjugátum felhasználásával azt kívántuk vizsgálni, hogy mennyiben tér el tumorsejt fehérje-expressziós profil a szabad és konjugált Dau kezelés esetében az érzékenyen reagáló HL-60 humán leukémia sejteken. A kezelést követő proteomikai analízis világosan kimutatta, hogy a Dau=Aoa-LTVSPWY-amid konjugátum, illetve a szabad Dau kezelt sejtek – a kezeletlen kontroll sejtekhez képest – más fehérjéket, más mennyiségben szintetizálnak.

A szabad Dau-val és a célfelismerő egységgel rendelkező konjugátummal kezelt HL-60 humán leukémia sejtek közötti különbség igen markánsnak bizonyult. A három fehérje közül kettő [proliferating cell nuclear antigen (Cyclin), protein kinase C inhibitor protein 1 (KCIP-1)] több mint 10-szer nagyobb, míg a tubulin beta-5 chain fehérje 5-ször kisebb mértékben jelent meg a konjugátummal kezelt sejtek lizátumában, a szabad Dau kezeléshez képest. A kezelt sejtek fehérje mintázata nemcsak egymástól, de a kezeletlen sejtektől is jelentős mértékben különbözik. Érdemes megjegyezni, hogy a „receptor-felismerő” egység lecserélése a Dau=Aoa-LTVSPWY-amid konjugátumban sejtpenetráló tulajdonságú oligopeptidre (pl. oktaargininre) más fehérjemintázatot eredményez újabb és eltérő mechanizmusú sejtbejutást valószínűsít.

E vázlatos áttekintés is jelzi, hogy a proteomikai megközelítési módszer lehetőséget adhat a hatásmechanizmus (szabad vs. konjugált hatóanyag) megértésére, valamint fehérje célpontok, bioszintetikus utak felfedezésére, s új utakat nyithat a gyógyszer-hatóanyag célpontok azonosításában.

A fentiekben is érintett eredményeink arra utaltak, hogy a szabad hatóanyag és fehérjével, elágazó láncú polipeptiddel vagy selt penetráló peptiddel (pl. oktaarginin) konjugált származékok hatása és sejtekbe történő bejutása egymástól eltérő mechanizmus szerint valósul meg. A Dau kismolekulaként diffúzió útján, a receptor felismerő egységgel bíró ellenanyag konjugátum receptor mediált endocitózissal, míg a különböző szintetikus polipeptid konjugátumok – a hordozó szerkezete által meghatározott módon – pl. az „A típusú” scavenger receptor bekapcsolódásával vesz részt a folyamatban.

3. Célbajuttatás B-sejt epitóp felismerés alapján

Az epitóp peptidok azonosítása, szerkezeti módosítása alapján újabban egy olyan célbajuttató háromkomponensű, nanorészecskét tartalmazó peptid biokonjugátum konstrukciót alakítottunk ki, amely képes elpusztítani azokat a B-sejteket, amelyek az autoimmunválasz során keletkező citrullinált fibrin epitópspecifikus ellenanyagokat állítják elő és új távlatokat nyithat a RA betegek kezelésben. E konjugátumcsalád létrehozása és jellemzése a Kutatócsoport (Dr. Magyar Anna, Dr. Uray Katalin), Prof. Kiss Éva (ELTE Kémiai Intézet, Határfelületi- és Nanoszerkezetek Laboratóriuma), Prof. Sármay Gabriella (ELTE Immunológia Tanszék) és munkatársaik közös eredménye.

A biokonjugátumban biodegradábilis poli(tejsav-glikolsav) + pluronic sav kopolimer nanorészecskéhez kapcsolódik az az oligopeptid, amely felismeri a célsejtet, specifikusan kötődik a receptorhoz és egy másik oligopeptid, amely a célsejt elpusztításáért „felelős”. Azokat a B-sejteket vettük célba, amelyek a fibrin β -láncból származó 60 RPAPPPISSGGYXAX 74 (β 60-74) epitóp-specifikus és a RA autoimmun betegség kialakulásában szerepet játszó autoellenanyag

fehérjéket termelik. Ezen sejtek felszínén ugyanis – a célsejtre jellemző – receptorok vannak, amelyek ezt az epitóp peptidet ismerik fel, kötődnek hozzá.

Az előző fejezetben leírtuk, hogy az epitóp peptid orientációja befolyásolhatja az ellenanyaghoz (célsejthez) való kötődést. E megfigyelésre való tekintettel az epitóp peptid orientációját úgy választottuk meg, hogy a nanorészecskéhez kapcsolást követően is megőrződjön az ellenanyag-kötődési képesség. A peptid ($\text{NH}_2\text{-}^{60}\text{PAPPPISSGGYXAX}^{74}\text{-CONH}_2$) szabad N-terminális aminocsoportján keresztül N-C orientációban – savamid kötéssel – történt a kovalens kötés kialakítása. A konjugátum harmadik alkotórésze a sejt elpusztulását, komplement aktiváló sajátsága révén előidéző, a HIV gp 120 glikoproteinből származó, az irodalomban leírt fehérjeszakasz aktivitásért felelős peptid ($^{233}\text{CNNKTFNGTGPCTNVSQ}^{251}$) konjugálásra kialakított származéka lett C-N orientációban.

A funkcionális kísérletek arra utalnak, hogy a három-komponensű, biodegradábilis konjugátum a) kötődik a fibrin β -lánc $\beta 60\text{-}74$ epitóp peptid specifikus IgG ellenanyaghoz és az RA betegből származó B-sejtekhez, b) aktiválja a komplement rendszert és ennek következményeként, c) elpusztította *in vitro* azokat a B-sejteket, amelyek fibrin β -lánc $\beta 60\text{-}74$ epitóp peptid specifikus ellenanyagot (autoellenanyag) termelnek.

4. Kitekintés

A fenti rövid és vázlatos ismertetés jelzi, hogy a terület, mind biomolekuláris kémiai, mind pedig gyógyszer- és vakcina-kutatási vonatkozásban nemzetközileg fontosnak és eredetinek tekinthető. A biokonjugátumok és alkotórészeik kutatása terén elért eddigi eredményeink izgalmasak és biztatóak. Az ELTE Doktori Iskola keretében témavezetőként tizenhat esetben segíthettem Ph.D. dolgozat, több mint 35 esetben szakdolgozat megszületését, a hallgatók TDK munkáját. Eredményeink elismerésének is tekinthető, hogy 1998-tól az ACS Bioconjugate Chemistry „Advisory Board” tagjaként, 2007 és 2014 között pedig

Associate Editorként vehettem részt a szakterület vezető folyóiratának munkájában, ahol 25 cikket közölhattünk. Több mint 70 alkalommal kértek fel meghívott előadóként nemzetközi tudományos konferenciákon (pl. Angliában, Japánban, Koreában, Kínában, Svájcban, az USA-ban). Az eredményeket MTA Akadémiai Díjjal (1996), 1999-ben az ELTE TTK Tudományos Díjával (1999), az MTA Zemplén Géza fődíjjal (2005), majd az MTA Bruckner Győző díjjal (2008), MTA tagjává történt megválasztással (2010, 2016) és más kitüntetésekkel ismerték el. Vendégprofesszor lehettem több egyetemen (pl. Konstanzi Egyetemen, Osakai Egyetem, Helsinki Egyetem) megválasztottak a European Peptide Society elnökének (2010-16).

1977 óta tanítok az egyetemen, az utóbbi 25 évben biológusok számára adok elő szerves kémiát; a vegyészeknek gyógyszerkutatással és biokonjugátumokkal kapcsolatos előadásokat. Angol és spanyol kollégákkal az egyik első magyarországi TEMPUS (1989-1992) és több COST projekt koordinátora/meghívott résztvevője voltam. Az Erasmus-program keretében – 1998-tól – diákjaim német, angol, spanyol és finn egyetemekre jutottak/jutnak el. Fontosnak tartom a nemzetközi tapasztalatszerzést, a diákok és oktatók bekapcsolódását a TEMPUS/ERASMUS és más, kutatási programokba. Öröm számomra, hogy munkámat az ELTE Eötvös József Collegiuma „Eötvös Collegiumért emlékéremmel” ismerték el (2016).

Epilógus

Gergő megnősült (2015) és feleségével, Dórizal, lányukkal, Lilivel (2016) Londonban élnek. Andris feleségül vette Katit (2016), Brüsszelben élnek és dolgoznak. Szakmájukban, eredménnyel.

Üzenetek

1. A leírtakból talán látszik, hogy e kutatás nemcsak szellemi izgalmat vált ki a kutatócsoport tagjaiból, egyetemi hallgatókból, hanem igencsak hasznos: lehetővé teszi a betegség korai felismerését, gyorsabb gyógyulás, kevesebb és

kevésbé kíméletlen mellékreakció ígéretét rejti magában a daganatos és fertőző betegségek kezelésében.

2. Fontosnak tartom azt a szemléletet és kutatói magatartást, amelyet Ritoók Zsigmond akadémikus egy interjúban fogalmazott meg: „De attól félek, a kevés dologhoz sem lehet úgy érteni igazán, hogy az ember az egésznek a látását elveszíti a szeme előtt.” (Magyar Tudomány, 2009: 1246)

3. A kutatók felelőssége nagy, magatartásuk példaértékű minta lehet: remélem, hogy képesek leszünk jobban megérteni, miért „viselkedik” másként a másik, milyenek az értékei, és miért azok. A tudományos elemzések segíthetik legyőzni a xenofóbiát, a „mástól”, az „ismeretlentől” való félelmet, elutasítást; a tanulás/tanítás folyamatának megértését és lehetőségeinek/korlátainak felmérését a XXI. századi körülmények között; az eligazodást a digitális generációk világában, az értékek felismerését, megőrzését és új értékek létrehozását.

Utószó

Az MTA székfoglaló előadások szövege olvasható a Magyar Kémiai Folyóiratban (2012, 2017) megjelent/megjelenő számaiban. További tájékozódást nyújthatnak a 2012-ben megjelent rövid közlemények, amelyek az MTA-ELTE Peptidkémiai kutatócsoportban elért, vonatkozó eredményeket foglalták össze:

Hudecz, F. (2012) „Peptid-út”: a Trefort-kerttől Lágymányosig. *Magyar Kémiai Folyóirat*, **118 (1)**: 5-16

Hudecz, F. (2017) Biokonjugátumok – összefogni érdemes. *Magyar Kémiai Folyóirat*, (in press)

Hudecz, F. (2012) Néhány új eredmény az MTA-ELTA Peptidkémiai Kutatócsoportban. *Magyar Kémiai Folyóirat*, **118 (2-4)**: 87-88 (2012).

További információk a honlapomon: <http://peptid.chem.elte.hu/hudecz.html>, a csoport publikációi: <http://peptid.chem.elte.hu/publikaciok.html> érhetők el.