

A kötet az MTA támogatott kutatóhelyeinek beszámolója alapján készült. A Hálózati Tanács elnöke, alelnöke és a TKI igazgatója: azonosították a Hálózati Tanács elnöke, alelnöke és a TKI igazgatója.

Hatvanhárom
Madsz-Ede
Medzsidzsky Kálmán
és
Idel Miklós

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA TÁMOGATOTT KUTATÓHELYEINEK 2003–2006. ÉVI TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEI

ISBN 963-603-663-1

Kiadja
Az MTA Támogatott Kutatóhelyek Irodája
Főszerkesztő: Dr. Idel Miklós
Nyomdai munkákat: Állami Nyomdai Rt.
Főszerkesztő: Felsővezető igazgató
Készült 750 (A5) iv. példányban, 300 példányban
Budapest
2007

A kötetet az MTA támogatott kutatócsoportjainak beszámolói alapján
szerkesztették A Hálózati Tanács elnöke, alelnökei és a TKI igazgatója:

Halász Béla
Madas Edit
Medzihradzky Kálmán
és
Idei Miklós

ISSN 1585–6631

Kiadja
Az MTA Támogatott Kutatóhelyek Irodája
Felelős kiadó: Dr. Idei Miklós
Nyomdai munkálatok: Akaprint Nyomdaipari Kft.
Felelős vezető: Freier László ügyvezető igazgató
Készült 75,6 (A/5) ív terjedelemben, 300 példányban

MTA-ELTE PEPTIDKÉMIAI KUTATÓCSOPORT

Hudecz Ferenc, a kémiai tudomány doktora

Cím: 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A.

Tel.: (1) 372-2828

Fax: (1) 372-2620

E-mail: fhudecz@ludens.elte.hu

A 2003–2006 közötti években elért tudományos eredmények

A Kutatócsoport tudományos tevékenységének központjában biológiailag aktív peptidok, peptid-származékok, valamint peptid-kimérák és konjugátumok szintézise, új szerkezet-hatás típusú törvényszerűségek feltárása áll. Olyan vegyületeket terveznek, állítanak elő és jellemeznek, amelyek megalapozhatják peptid-antigének, illetve gyógyszerhatóanyagok kifejlesztését. A kutatások három témakörre koncentrálnak. Immunokémiai kutatások keretében foglalkoznak mucin glikoproteinek (MUC1 és MUC2), *herpes simplex vírus* D glikoprotein, *Mycobacterium tuberculosis* 16 kDa és 38 kDa, valamint hsp 60 protein, filaggrin antigénszerkezetének feltérképezésével. Előállítanak és jellemeznek új típusú szintetikus peptid-antigéneket és immunogéneket. A rákkemoterápiai kutatások célja tumorelles szerek hatékonyságának növelése, peptid - tumorelles szerbiokonjugátumok szintézise, jellemzése célfelismerő/célbajuttató peptidok felhasználásával, hatásmechanizmus vizsgálatok. Az elmúlt években kiemelten foglalkoztak sejtadhéziós sajátságú peptidok, peptidomimetikumok és peptid-származékok szintézisével is. A neuropeptidok tanulmányozása, előállítása és vizsgálata területén opiát és nociceptin agonista/antagonista peptidok, valamint szintetikus analógjaik, valamint jelzett származékaik szintézise áll a középpontban.

1. Az immunokémiai kutatások egyik kulcskérdése a fehérjék ellenanyag-válasz kiváltásáért felelős szakaszainak (B-sejt epitópok), illetve a sejt immunválasz létrejöttéért felelős régióinak (T sejt epitópok) azonosítása. A fehérjék epitópszervezetének ismerete lehetővé teszi olyan mesterséges peptidok, peptid-származékok, kimérák és biokonjugátumok racionális tervezését és előállítását, amelyek orvosi biológiai (pl. tumorelles peptid-vakcinák) és/vagy diagnosztikai (pl. TBC vagy *herpes simplex vírus* fertőzés specifikus kimutatása) gyakorlat számára is használható adatokat nyújtanak. A csoport ezért a korábban azonosított lineáris epitópok ismeretében előállított módosított származékokat, ciklust tartalmazó variánsokat, epitóp kimérákat és epitóp peptid konjugátumokat. E téma művelése az EU FP6 programjainak kiemelt kutatási irányzatai közé tartozik. A kutatócsoport munkájának és eredményeinek elismeréseként is tekinthe-

tő, hogy az EU COST Chemistry A16 keretében 2000-2004 között koordinálták azt a programot, amelyben 5 ország 7 laboratóriuma vett részt és amelynek célkitűzése mesterséges antigének előállítása és funkcionális vizsgálata.

1.1. Mucin proteinek epitópjainak modellezése, tumor ellenes vakcinák.

Céljuk a vastagbél karcinomával kapcsolatos mucin-2 (MUC2) fehérje ellenanyag-epitóp szerkezetének feltárása, új, epitópot tartalmazó peptidvariánsok szintézise, ellenanyagkötődési és proteázokkal szembeni viselkedésük vizsgálata volt. Kombinatorikus kémiai szintézissel előállítottak olyan peptidcsoportokat, amelyek TXTXT motívumot tartalmaznak. Meghatározták a domináns epitóp funkciót viselő szekvenciát, új nagyérzékenységű tömegspektrometriás módszert dolgoztak ki a peptidkeverékek összetételének jellemzésére. Megfigyelték, hogy a MUC2 glikoproteinből származó TGTQ szekvenciájú epitóp peptid C- illetve N-terminálisán, a "lebegő szakaszban" megfelelő számú D-aminosav elhelyezése drasztikusan csökkenti e vegyületek lebomlását komplex biológiai mátrixokban (humán szérum, lizoszoma preparátum) úgy, hogy közben az ellenanyagkötődési képesség lényegében nem változik.

1.2. Tuberculin fehérjék T sejt epitópjainak azonosítása, szuperaktív származékok szintézise

Kutatásaik célja a TBC fertőzésre jellemző új epitópok azonosítása, valamint az általuk lokalizált *M.tuberculosis* fehérje eredetű T-sejt epitópok immunválaszt kiváltó képességének fokozása volt. Szintetikus peptidok segítségével azonosítottak egy új, diagnosztikai szempontból jelentős immunodomináns T-sejt epitópot a *M. tuberculosis* 16 kDa fehérjén. Meghatározták a *M. tuberculosis* 16 kDa fehérjén azonosított T sejt epitóp MHC- és TCR- kötődésében szerepet játszó terminális és láncközi aminosavrészeket. Az adatok fontosak lehetnek peptidalapú TBC diagnosztikai eljárás kidolgozása szempontjából. Részletesen elemezték a funkcionális T sejt epitóp peptidet tartalmazó peptid-konjugátumok térszerkeztét és *in vitro* T sejt választ kiváltó képességét. Ezen kívül humán és *M. tuberculosis* eredetű 60 kDa hőszokkfehérjék összehasonlító elemzése alapján - egészséges véradókból származó poliklonális ellenanyag felhasználásával - specifikus epitópokat mutattak ki.

1.3. Herpes simplex vírus proteinek: vírusellenes immunválasz kiváltásának feltételei.

Céljuk a vírusspecifikus immunválasz (ellenanyagválasz) kimutatásának fokozására neutralizáló epitópot tartalmazó peptid-konjugátumok, valamint különböző kötést (tioéter, amid, diszulfid) tartalmazó ciklopeptidek előállítása volt. Tanulmányozták e vegyületek ellenanyagkötődését, térszerkeztét, proteázokkal szembeni viselkedésüket. Kimutatták, hogy az epitópot tartalmazó peptidkonjugátumok ellenanyagfelismerését a hordozó komponens szerkezete jelentős mértékben befolyásolja. E megfigyelés diagnosztikumok fejlesztése szempontjából fontos. Felismerték, hogy az epitópszakaszból kialakított ciklusos származékok igen flexibilis térszerkeztet hozhatnak létre, a ciklus kialakítására használt kötés jelentősen befolyásolja az ellenanyagfelismerést, valamint e vegyületek lebomlását komplex biológiai mátrixokban (humán szérum, lizoszoma preparátum).

2. A rákkemoterápiával összefüggő kutatásaik központi kérdése a tumorspecifikus hatás elérése. Ezért tumorellenes ágenszt tartalmazó peptid-biokonjugátumok, valamint új, sejtadhéziós sajátossággal rendelkező ciklopeptidek előállításával és vizsgálatával, új potenciális hatóanyagok azonosításával foglalkoztak. Kutatásaik célja olyan összefüggések feltárása, amelyek hosszabb távon a daganatterápia hatékonyságát javíthatják.

2.1. Daganatgátló hatás fokozása célfelismerő strukturát tartalmazó peptid-hordozókkal, szintézis és hatásmechanizmus vizsgálat.

Új, tuftsinszármazékon alapuló oligopeptid családot hoztak létre és jellemezték a hordozói szempontból releváns sajátosságokat (pl. konformáció, citotoxicitás, immunmodulátor hatás). E vegyületek alkalmas hordozók lehetnek egyszerre többféle tumorellenes szert tartalmazó biokonjugátumok létrehozására. Tanulmányozták ezen oligopeptidek, valamint kemotaktikus ligandumokkal konjugált változataik kemotaktikus hatását különböző sejteken. Kidolgozták a kemotaktikus célbajuttatás koncepcióját. Kimutatták és azonosították a *cis*-akonitil daunomicin két izomerjét. Felismerték, hogy az izomerek *in vitro* tumorellenes hatása egymástól – sejtípustól függően – eltérő. Összefüggést írtak le különböző oldallánc összetételű és töltésű elágazó láncú polipeptidek szerkezete, elektroforetikus sajátosságai és foszfolipid modell membránokra gyakorolt hatása között. Módszert dolgoztak ki antraciklin típusú tumorellenes szerek és oligopeptidek konjugálására négyszógsav segítségével. Felfedezték továbbá, hogy a polianionos polimer polipeptidek makrofág sejtekbe történő felvételében a "scavenger" receptoroknak van szerepe. A felvétel mértékét a negatív töltéssűrűség jelentősen befolyásolja. E vegyületek alkalmas hordozók lehetnek makrofágokban túlélő fertőző mikrobák elleni szert tartalmazó biokonjugátumok létrehozására is.

2.2. Sejtadhéziós sajátosságú peptidek, peptidomimetikumok és peptidszármazékok szintézise

Az angiogenesis gátlásának egyik lehetséges útja $\alpha_v\beta_3$ receptorszelektív antagonisták alkalmazása. Előállítottak olyan peptidmimetikum típusú antagonistákat, valamint receptorszelektív lineáris és ciklopeptideket, amelyek alkalmasak lehetnek a tumorok érrendszerének, illetve a tumorsejtek elpusztítására.

3. Neuropeptidek és származékaik szintézise

Előállítottak olyan új karbamoil és/vagy redukált peptidkötést tartalmazó nociceptin származékokat, amelyek - inaktiválódáshoz vezető - enzimatis hasitással szemben ellenállóak. Előállítottak újabb hatásos agonista illetve antagonistá sajátosságot mutató nociceptin-analógokat. A vegyületek farmakológiai vizsgálata során MVD (egér vas deferens) izolált szerv preparátumon kiváltott simaizom összehúzódást regisztrálva következtettek a vegyületek agonista/antagonista tulajdonságaira. *N*-acetyl oligopeptidek segítségével, receptorkötődési és funkcionális vizsgálatokkal, értelmezték a nociceptin antagonizmus jelenségét. Előállítottak radioaktív fémligandumok befogadására alkalmas és receptorkötődést mutató nociceptin-kelátor konjugátumokat.

A Kutatócsoport tagjai 2003 és 2006 között 83 cikket és 36 könyvrészletet publikáltak. Ezek közül 115 jelent meg angol nyelven. A kutatók 129 alkalommal mutattak be posztert/előadást nemzetközi, 45 esetben pedig hazai konferencián. Meghívottként 11 alkalommal adtak elő nemzetközi konferencián. Eredményeiről az MTA Peptidkémiai és az MTA Bioorganikus kémiai munkabizottságainak ülésein 59 esetben számoltak be. A kutatók jelentős része (Biczókné Magyar Anna, Bősze Szilvia, Hudecz Ferenc, Mező Gábor, Süli Vargha Helga, Uray Katalin) az ELTE-n akkreditált PhD programban témavezetőként működik. Nyolc hallgató nyert el PhD fokozatot az elmúlt periodusban. Jelenleg kilencen folytatják tanulmányaikat. A csoportban 24 hallgató készített diploma-, 8 hallgató pedig Tudományos Diákköri dolgozatot az elmúlt 4 évben. A Kutatócsoport vezetője szervezte meg a 30. FEBS (Budapest, 2005) keretében lezajlott „Bioconjugates” szimpoziumot, valamint a 1st European Chemistry Congress (Budapest, 2006) keretében a „Chemistry meets biomolecules” szimpoziumot. A csoport tevékenységét a hazai és nemzetközi tudományos együttműködés jellemezte. A kollaborációk sikerét nemzetközi szervezetek (Európai Közösség, Európai Rákkutató Társaság), és programok (ERASMUS), valamint kétoldalú programok (Magyar-Brit, Magyar-Flamand, Magyar-Lengyel, Magyar-Olasz, Magyar-Spanyol, Magyar-Japán, Magyar-Vallon) segítették. A kutatásokat az OTKA, GVOP-KMA, GVOP-AKF, NKFP, és az NKTH, valamint az EU6, COST, EACR és az European Peptide Society, a Milleneumi Richter Alapítvány, Alapítvány a Magyar Peptid- és Fehérjekutatásért támogatta.

Válogatott közlemények 2003–2006

- Windberg E, Uray K, Illyés E, Skribanek Z, Price MR, Sebestyén F, Hudecz F: Heteroclitic recognition of combinatorial (TXTXT)-T-1-T-2 peptide mixtures by mucin-2 protein specific monoclonal antibody. *J. Peptide Sci.* 2004 10: 56-65.
- Hudecz F: Synthesis of peptide bioconjugates. In: *Methods in Molecular Biology, vol.298: Peptide Synthesis and Applications* (ed.: J. Howl) Humana Press, Totowa, NJ, USA 2005 pp. 209-224.
- Hudecz F, Bánóczy Z, Csík G: Medium-sized peptides as carrier for biologically active compounds. *Medicinal Research Reviews*, 2005 25: 679-786.
- Ligeti M, Gündüz Ö, Magyar A, Kató E, Rónai AZ, Vita C, Hudecz F, et al.: Synthesis and biological studies of nociceptin derivatives containing the DTPA chelating group for further labeling with therapeutic radionuclides. *Peptides* 2005 26: 1159-1166.
- Manea M, Hudecz F, Przybylski M, Mező G: Synthesis, solution conformation and antibody recognition of oligo tufts in based conjugates containing a β -amyloid(4-10) plaques specific epitope *Bioconjugate Chemistry* 2005 16: 921-928.
- Mező G, Hudecz F: Synthesis of linear, branched and cyclic peptide chimera. In: *Methods in Molecular Biology, vol.298: Peptide Synthesis and Applications* (ed.: J. Howl) Humana Press, Totowa, NJ, USA 2005 pp. 63-76.

- Schlosser G, Pocsfalvi G, Huszár E, Malorni A, Hudecz F: MALDI-TOF mass spectrometry of a combinatorial peptide library: effect of matrix composition on signal suppression. *J. Mass Spectrom.* 2005 40: 1590-1594.
- Schlosser G, Vékey K, Malorni A, Pocsfalvi G: Combination of solid-phase affinity capture and mass spectrometry to study non-covalent interactions: example of minor groove binding drugs, *Rapid. Commun. Mass Spectrom.* 2005 19: 3307-3314.
- Szabó R, Peiser L, Plüddemann A, Bósze S, Heinsbroek S, Gordon S, Hudecz F: Uptake of of branched polypeptides with poly[L-Lys] backbone by bone-marrow derived murine macrophages: The role of the class A scavenger. *Bioconjugate Chemistry* 16: 1442-50 (2005)
- Sztaricskai, F., Sum, A., Roth, E., Pelyvás, I.F., Sándor, Sz., Batta, Gy., Herczegh, P., Reményi, J., Miklán Zs, Hudecz F: A new class of semisynthetic anthracycline glycoside antibiotics incorporating a squaric acid moiety. *J. Antibiotics* 2005 58: 704-714.
- Tugyi R, Mező G, Fellinger E, Andreu D, Hudecz F: The effect of cyclization on the enzymatic degradation of herpes simplex virus glycoprotein D derived epitope peptide. *J. Peptide Sci.* 2005 11: 642-649.
- Tugyi, R., Uray, K., Iván, D., Fellinger, E., Perkins, A., Hudecz, F.: Partial D-amino acid substitution: improved enzymatic stability and preserved antibody recognition of a MUC2 epitope peptide. *PNAS* 2005 102, 413-418.
- Bósze, Sz., Csík, G., Kóczán, Gy., Hudecz, F.: Synthesis and spectroscopic properties of 4-ethoxymethylene-2-(1)-naphtyl-5(4H)-oxazolone labelled fluorescent peptides. *Biopolymers*, 2006 81: 81-91.
- Krikorian D, Stavrakoudis A, Biris N, Andreu D, de Oliveira E, Mező G, Majer Zs, Hudecz F et al.: Influence of sequential oligopeptide carriers on the bioactive structure of conjugated epitopes. *Biopolymers*, 2006 84: 383-399.
- Ligeti M, Bósze Sz, Csámpai A, Gündüz Ö, Al-khrasani M, Rónai AZ, Medzihradzky-Schweiger H, Benyhe S, Borsodi A, Hudecz F, Magyar A: Synthesis of enzymatically resistant nociceptin-related peptides containing a carbamic acid residue. *J. Peptide Sci.* 2006 12: 481-490.
- Mező G, Láng O, Jakab A, Bai BK, Szabó I, Schlosser G, Láng J, Kőhidai L, Hudecz F: Synthesis of oligotufsin based branched oligopeptid conjugates for chemotectic drug targeting (CDT). *J. Peptide Sci.* 2006 12: 328-336.
- Mihala N, Csámpai A, Ilas J, Kikelj D, Kiss R, Süli-Vargha H: The synthesis of alternative diketopiperazines as potential RGD mimetics. *J. Peptide Sci.* 2006 12: 663-669.
- Reményi J, Csík G, Kovács P, Reig F, Hudecz F: The effect of the structure of branched polypeptide carrier on intracellular delivery of daunomycin. *Biochim. Biophys. Acta – Biomembranes* 2006 1758: 280-288.
- Zsoldos-Mády V, Csámpai A, Szabó R, Mészáros-Alapi E, Pásztor J, Hudecz F, Sohár P: Synthesis, structure, and in vitro antitumor activity of some glycoside derivatives of ferrocenyl-chalcones and ferrocenyl-pyrazolines. *ChemMedChem.* 2006 1: 1119-1125.