
Oláh György
Doktori Iskola
XIV.
Konferenciája

Absztrakt
füzet

2017. február 2.

PROGRAM

Az Oláh György Doktori Iskola XIV. Konferencia programja

IDŐPONT: 2017. FEBRUÁR 2. 8³⁰

HELYSZÍN: BME CH ÉPÜLET, SZENT GELLÉRT TÉR 4., CH14-ES TEREM

8⁰⁰-8³⁰ **Érkezés, poszterek kihelyezése**

8³⁰-8³⁵ **Köszöntő**

ELŐADÁSOK:

Szervetlen kémiai és anyagtudományi szekció

Elnök: **Szilágyi Barnabás**

8³⁵-9⁰⁰ Hégely Bence: Egzakt, lokális pályákon alapuló sűrűségfüggő és hullámfüggvény beágyazási sémák

9⁰⁰-9²⁵ Kárpáti Levente: Biodegradálható alifás poliészteramidok szintézise és jellemzése

9²⁵-9⁵⁰ Takács Máté: Nanoszerkezetű WO₃ vékonyrétegek előállítása és alkalmazása gázérzékelő mikrostruktúrákban

9⁵⁰-10¹⁵ Terejánszky István Péter: Nanopipetta-alapú vírusszámláló fejlesztése

10¹⁵-10³⁰ **Szünet**

Szerves kémia és technológia szekció

Elnök: **Kovács Tamara**

10³⁰-10⁵⁵ Bata Zsófia: A fehérjekristályosítás módszerének bemutatása PcPAL példáján keresztül

10⁵⁵-11²⁰ Bata Zsófia: Modeling explanation of altering the enantioselectivity of hydroxylнитrilases

11²⁰-11⁴⁵ Hergert Tamás: DSSC napelemekben alkalmazható, fluorazon összekötőelemet tartalmazó szerves színezékek előállítása

11⁴⁵-12¹⁰ Pál Dávid: Heterociklus egységet tartalmazó optikailag aktív anionszenzorok előállítása és vizsgálata

12¹⁰-13¹⁰ **Ebédszünet**

PROGRAM

Biokémia szekció

Elnök: Kiss Bernadett

13¹⁰-13³⁵ Kozma Bence: Emlőssejt-tenyészetek vizsgálata közeli infravörös spektroszkópiai módszerekkel

13³⁵-14⁰⁰ Nagy Kinga: Uracilos genommal rendelkező vírusok: hogyan élnek túl?

14⁰⁰-14²⁵ Papp-Kádár Veronika: A természetesen előforduló Staphylococcus aureus uracil DNS glikoziláz inhibitor variánsok funkcionális analízise

14²⁵-14⁵⁰ Surányi Éva Viola: A Mycobacterium smegmatis vizsgálata különféle környezeti stressz hatására

14⁵⁰-15⁰⁵ Szünet

Gyógyszeripari és vegyipari technológiák szekció

Elnök: Bell Evelin

15⁰⁵-15³⁰ Lőrincz László: Ibuprofén rezolválása szuperkritikus szén-dioxid alkalmazásával

15³⁰-15⁵⁵ Szabó Adél: A többfunkciós TPPP/p25 fehérje fiziológiás és patológiás kölcsönhatásai: Út specifikus anti-Parkinson molekulák fejlesztéséhez

15⁵⁵-16²⁰ Szabó Éva: Közeli infravörös spektroszkópiai módszerek fejlesztése gyógyszeripari minőségbiztosítási célokra

16²⁰-16³⁵ Díjak átadása, fórum

16⁴⁰ Poszter szekció, fogadás

PROGRAM

KIÁLLÍTOTT POSZTEREK

1. Barabás Júlia: Reaction of N₂O and CO catalyzed with small copper clusters: mechanism and design
2. Bata Zsófia: Experimental and computational characterization of aminophosphonic acid MIO enzyme inhibitors
3. Domán Andrea: In situ evolved gas analysis assisted thermogravimetric (TG-FTIR and TG/DTA-MS) studies on non-activated copperbenzene-1,3,5-tricarboxylate
4. Herbay Réka: Preparation of P-heterocyclic phosphine boranes and optically active phosphine oxides via phosphonium salts
5. Justh Nóra: Aerogél/titán-dioxid kompozitok létrehozása atomi rétegleválasztással
6. Kőrösi Márton: Klórozott mandulasav származékok gáz antiszolvens frakcionálással történő átkristályosítása: egy új módszer nem racém enantiomerkeverékek továbbtisztítására
7. Molnár János: Relation between the supermolecular structure and light scattering behavior in birefringent semicrystalline polymers
8. Murvai Nikoletta: Dissecting the chaperone activity of intrinsically disordered plant dehydrin ERD14 in vivo
9. Nagy Flóra: Rationally designed, effective *Candida antarctica* lipase B immobilized in sol-gel systems
10. Nagyné Kovács Teodóra: Preparation of iron tungstate (FeWO₄) nanosheets by hydrothermal method
11. Németh Renáta: Lab-scale methods for determination of the quality of some minor cereals
12. Papp Soma: Selective ion channels based on peptide-modified nanopores
13. Schall Eszter: Selection criteria for wheat varieties as basis for a new gluten reference material
14. Simon László Ferenc: DNA immobilization strategy and hybridization kinetic on gold SPRi sensorchip

PROGRAM

Egzakt, lokális pályákon alapuló sűrűségfunkcionál és hullámfüggvény beágyazási sémák

Hégely Bence^{1,4}, Nagy R. Péter¹, Ferenczy G. György^{2,3}, Kállay Mihály¹

¹MTA-BME Lendület Kvantumkémiai Kutatócsoport, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, 1111, Budapest, Budafoki út 6-8

²MTA Szerves Kémiai Intézet, Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Budapest, 1117, Magyar Tudósok Körútja 2

³Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, 1094, Budapest, Tűzoltó u. 37-47

⁴hegelyb@mail.bme.hu

Kutatócsoportunk magas szintű sűrűségfunkcionál- (DFT) és hullámfüggvény (WFT) elméleteket ágyazott be egzakt módon alacsonyabb szintű DFT és WFT módszerekbe lokalizált molekulapályák felhasználásával. Munkánk két újítást tartalmaz az eddigi beágyazási technikákhoz képest, melyek közül az első Manby és munkatársai [1] által kidolgozott projektor alapú beágyazási technika továbbfejlesztése. Manby és munkatársainak módszeréhez hasonlóan az általunk alkalmazott beágyazás is lokális molekulapályákon alapul, azonban ahelyett, hogy egy nem fizikai megfontolásokon alapuló energiaszint-eltoló operátorral módosítanánk a Fock operátort, a módszerünkben a Huzinaga-egyenlet oldjuk meg, ami egzaktul érvényesíti a Pauli-elvet. A másik újításunkat a WFT módszerek beágyazása képzi lokális korrelációs módszerekbe. Mivel az utóbbi technikák alapja, hogy a rendszert ún. fragmensekre, lokalizált részrendszerekre osztja, ezért egy egyszerű beágyazási eljárás definiálható, melyben a kémiai szempontból releváns fragmenseket és ezek környezetét alkotó fragmenseket különböző pontosságú módon kezeljük. Az általunk fejlesztett módszereket reakcióenergiák számításával validáltuk és a reakcióhőket kvantummechanikai (QM) / molekulamechanikai (MM), valamint vákuum beágyazási technikákkal kapott adatokkal vetettük össze. Az eredmények értékelésénél arra a következtetésre jutottunk, hogy abban az esetben ha DFT-t ágyazunk DFT-be, akkor a Huzinaga-egyenlet alapú módszer a leghatékonyabb, de egyes esetekben a QM/MM, vagy akár a vákuum beágyazás is versenyképes lehetőség. A hullámfüggvény beágyazásánál egyértelműen az alacsony szintű korrelációs módszerbe történő beágyazás mutatkozott a legjobb eljárásnak, valamint azt is megfigyeltük, hogy a hullámfüggvényt csak akkor érdemes DFT környezetbe ágyazni, ha nem-hybrid funkcionált használunk.

Hivatkozás:

[1] J. D. GoodPaster, T. A. Barnes, F. R. Manby, T. F. Miller III., *J. Chem. Phys.*, **2014**, 140, 18A507

Exact density functional and wave function embedding schemes based on orbital localization

Bence Hégyel^{1,4}, Péter R. Nagy¹, György G. Ferenczy^{2,3}, Mihály Kállay¹

¹MTA-BME Lendület Quantum Chemistry Research Group, Department of Physical Chemistry and Materials Science, Budapest University of Technology and Economics, P.O. Box 91, H-1521 Budapest, Hungary

²Medicinal Chemistry Research Group, Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences, Magyar tudósok körútja 2, H-1117 Budapest, Hungary

³Department of Biophysics and Radiation Biology, Semmelweis University, Tűzoltó u. 37-47, H-1094 Budapest, Hungary

⁴hegelyb@mail.bme.hu

Exact schemes for the embedding of density functional theory (DFT) and wave function theory (WFT) methods into lower-level DFT or WFT approaches are introduced utilizing orbital localization. First, a simple modification of the projector-based embedding scheme of Manby and co-workers [1] is proposed. We also use localized orbitals to partition the system, but instead of augmenting the Fock operator with a somewhat arbitrary level-shift projector we solve the Huzinaga-equation, which strictly enforces the Pauli exclusion principle. Second, the embedding of WFT methods in local correlation approaches is studied. Since the latter methods split up the system into local domains, very simple embedding theories can be defined if the domains of the active subsystem and the environment are treated at a different level. The considered embedding schemes are benchmarked for reaction energies and compared to quantum mechanics (QM)/ molecular mechanics (MM) and vacuum embedding. We conclude that for DFT-in-DFT embedding, the Huzinaga-equation-based scheme is more efficient than the other approaches, but QM/MM or even simple vacuum embedding is still competitive in particular cases. Concerning the embedding of wave function methods, the clear winner is the embedding of WFT into low-level local correlation approaches, and WFT-in-DFT embedding can only be more advantageous if a non-hybrid density functional is employed.

Reference:

[1] J. D. GoodPaster, T. A. Barnes, F. R. Manby, T. F. Miller III., *J. Chem. Phys.*, **2014**, 140, 18A507

Biodegradálható alifás poliészteramidok szintézise és jellemzése

Kárpáti Levente¹, Hamar Gergely¹, Vargha Viktória¹

¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, H-111 Budapest Műegyetem rkp. 3. karpati.levente@mail.bme.hu

Poliészter amidok szerkezetükből következően igen ígéretes anyagok. Az észter és amid csoportok láncon belüli eloszlásának változtatásával a polimerek fizikai, kémiai és fizikai-kémiai tulajdonságai nagymértékben befolyásolhatók. Biodegradálhatóak és biokompatibilisek, nagyon gyakran orvosi célú felhasználásban jelennek meg. Szerkezetüket tekintve megkülönböztetünk alternáló, blokk és random poliészter amidokat. [0]

E munkánk során négy különböző szubsztituált amino alkoholt felhasználva állítottunk elő polikondenzációs reakciók során poliészter amidokat, hogy megállapíthassuk a szubsztituensek hatását a reakcióra, illetve a polimerek tulajdonságaira nézve. A vizsgált reagensek a 2-amino-1-etanol (etanolamin), 1-amino-2-propanol, 2-amino-1-butanol és a 2-metil-2-amino-1-propanol, illetve az hexán-disav (adipinsav) voltak. A reakciókat 4 nyakú gömblombikban végeztük mechanikus kevertetés, inert atmoszféra, illetve vákuumban az amino alkoholok forráspontja (160-180 °C) közelében. A reakciók három fő szakaszból álltak. Az első szakasz során az amino alkoholok forráspontján tartottuk a reakció elegyet 4 órán keresztül, majd a reakció előrehaladottsága miatt tovább emeltük a hőmérsékletet 10-15 °C-al amin további 2 órán át tartottuk a reakció elegyet. Az első két szakasz során a kondenzációs reakcióból keletkező vizet desztillációval távolítottuk el az egyre viszkózusabb rendszerből. A reakció harmadik szakaszában a keletkezett oligomerek továbbreakálását elősegítve ZrO₂ katalizátort adagoltunk a rendszerbe, desztillációs feltétet vákuumcsonkra cserélve vákuumszivattyúval távolítottuk el a reakcióelegyben ragadt vizet. A harmadik lépés 5 órán át tartott 180-190 °C-on. A keletkezett poliésztereket funkciós csoport analízissel, gélpermeációs kromatográfiával (GPC), FTIR és NMR spektroszkópiákkal, illetve DSC és TGA módszerekkel jellemeztük. Továbbá préselt lapok komposztálásával vizsgáltuk biodegradálhatóságukat. A funkciós csoport analízis és a GPC vizsgálatok alapján feltételezzük, hogy az amino alkoholok szubsztituensei gátolták a funkciós csoportok reaktivitását, így jelentős különbséget okozva az egyes anyagok molekulatömegei között. Az FTIR mérések alapján az észteres-amidos láncszerkezet alakult ki a reakciók során, viszont a várt szerkezetet csak NMR (¹H, ¹³C és ¹⁵N) spektroszkópiával sikerült csak egyértelműen bizonyítanunk. A DSC vizsgálatok alapján elmondható, hogy a kapott poliészter amidok elasztomerek, kivéve az etanolaminnal készült típus, amely kristályosságot mutatott. A komposztálás során a préselt polimer lapok teljesen eltűntek 25 nap alatt, ezzel bizonyítva biodegradálhatóságukat.

Hivatkozás:

[1] Okada, M. Chemical syntheses of biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.*, **2002** 27, 87–133.

Synthesis and characterisation of biodegradable aliphatic polyester amides

Levente Kárpáti¹, Gergely Hamar¹, Viktória Vargha¹

¹Budapest University of Technology and Economics, Department a Physical Chemistry and Materials Science, H-111 Budapest Műegyetem rkp. 3. karpati.levente@mail.bme.hu

Polyester amides derived from their special structure are promising materials. Their properties can be tuned according to molecular structure and the distribution of ester and amide groups along the polymeric backbone. These polymers are biodegradable and biocompatible, thus often used in biological, biomedical applications. Depending on the distribution of amide and ester groups they can be sorted into three groups: random, alternating and block polyester amides [0]. Within this study we examined the effect of substituents on the polycondensation reaction and product properties of amino alcohols with adipic acid. The studied amino alcohols were 1-amino-ethanol, 2-amino-1-propanol, 2-amino-1-butanol and 2-amino-2-methyl-1-propanol.

The reactions were carried out in a 4-necked round bottom flask with inert gas inlet and vacuum. We used distillation to remove the water produced during the condensation reaction. The reactions temperatures were at first the boiling points (160-180 °C) of the amino alcohols which were kept for 4 hours. Then the temperature was raised with 10-15 °C as the reaction progressed and kept for 2 hours. The third step of the reactions included the addition of ZrO₂ catalyst to enhance the further reaction of oligomers and change of the distilling apparatus to a vacuum pump. The reaction mixture was kept at 180-190 °C for 5 hours under vacuum. The produced polyester amides were examined with functional group analysis, gel permeation chromatography (GPC), FTIR and NMR spectroscopy, DSC and TGA.

We produced pressed plates of the polyester amides to study their degradability in compost. Based on the results of functional group analysis and GPC we assume that the substituent had a negative effect on the reactivity of the functional groups resulting in mayor decrease in molecular weight. The FTIR spectrum data proved the ester-amid structure of the polymers, NMR spectroscopy confirmed the assumed fine structure of the reaction products. According to the DSC data the produced polymers are elastomers with glass transition temperature lower than room temperature. Only the one produced from ethanol-amine showed crystallinity. After 25 days in compost the pressed plates completely disappeared.

Reference:

[1] Okada, M. Chemical syntheses of biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.*, **2002** 27, 87–133.

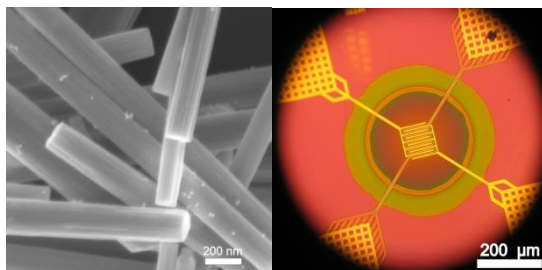
Nanoszerkezetű WO_3 vékonyrétegek előállítása és alkalmazása gázérzékelő mikrostruktúrákban

Takács Máté^{1,2}, Pap Andrea Edit²

¹ MTA Energiatudományi Kutatóközpont, Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, 1121 Budapest, Konkoly-Thege Miklós út 29-33, takacs.mate@energia.mta.hu

² Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyész- és Biomérnöki Kar, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3

Az ipari és polgári környezetben megjelenő veszélyes gázok monitorozása létfontosságú biztonsági, egészségügyi és környezetvédelmi szempontból. Bár a MEMS technológiával előállított, vezetőképesség változás mérésén alapuló gázérzékelők elméletileg tökéletesen megfelelnek az adott feladatra, a legtöbb eszköz kereszt-érzékenysége, válaszideje és stabilitása, még nem felel meg az ipari alkalmazhatósági követelményeknek. Emiatt a világ számos laboratóriumában intenzív kutatómunka folyik, melyek e tulajdonságok javítását célozzák meg [1]. Az egyik lehetséges megoldás fémoxid vékonyrétegek és nanoszerkezetek alkalmazása, mint pl. a hexagonális WO_3 vékonyréteg, melyet hidrotermális növesztéssel és szol-gél eljárással, illetve referenciaként porlasztással is előállítottam, mikro-fűtőtesttel és arany elektróddal rendelkező eszköz membránján.



1. **Ábra:** Au nanorészecskékkel érzékenyített WO_3 nanorúd és a szenzor optikai mikroszkópos képe.

Az így kialakított nanostruktúrált film érzékenységét teszteltem 1-100 ppm NH_3 és H_2S veszélyes gázokra, 140–300°C működési hőmérsékleten. A különböző hexagonális WO_3 rétegek morfológiája nagymértékben befolyásolta a szenzor gázérzékenységét. A hidrotermális növesztéssel és a szol-gél eljárással előállított WO_3 rétegeket ~25 nm Pt és Au nanorészecskékkel érzékenyítettem, majd vizsgáltam a szenzor érzékenységét NH_3 és H_2S gázra ppb-ppm koncentráció tartományban. Az arannyal érzékenyített WO_3 nanorúd esetében sikerült elérni stabil szenzor válaszjelet már 25 ppb H_2S gázkoncentrációnál.

Hivatkozás:

[1] E. Comini, *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 568, 28–40.

Preparation of nanostructured WO₃ layers for gas sensor device

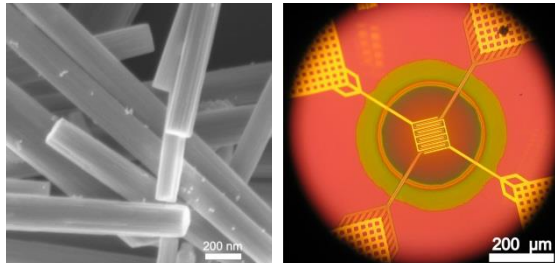
M. Takács^{1,2}, A. E. Pap¹

¹ Research Centre for Energy, Institute for Technical Physics and Materials Science, Konkoly-Thege Miklós út 29-33, H-1121 Budapest, Hungary, takacs.mate@energia.mta.hu

² Budapest University of Technology and Economics, Faculty of Chemical Technology and Biotechnology, Department of Physical Chemistry and Materials Science, Műegyetem rkp. 3, H-1111 Budapest, Hungary

Monitoring of dangerous gases in civil and industrial environment is crucial for safety, health and environmental applications. Although MEMS based conductivity type gas sensors are ideal for portable systems, there is still a huge effort ahead to elaborate appropriate sensors in terms of sensitivity, cross-sensitivity, response time and stability. As nanostructured metal-oxide layers offer high sensitivity, in the last decade the research activity was focused on the related processes and their characterizations [1].

The effect of WO₃ nanocrystal characteristic size and layer morphology on gas sensitive properties was investigated in order to define the optimum preparation process. WO₃ layers were synthesized by hydrothermal acidic precipitation and sol-gel method using different chemicals and reactive sputtering as reference.



1. **Ábra:** Au nanoparticles sensitised WO₃ nanorods and image of the sensor chip.

Micro-hotplate based conductivity type devices were fabricated by MEMS and the sensitivity on NH₃ and H₂S up to 100 ppm was measured in the temperature range of 140–300°C. The measurements revealed that the morphology of the WO₃ nanocrystal influences significantly the sensor sensitivity. Hydrothermally grown hexagonal WO₃ nanorods and the porous sol-gel layer were sensitized by ~25 nm Pt and Au nanoparticles. The sensitised noble metals doped and pure WO₃ layers were deposited on the top of micro-hotplate with gold interdigital electrodes on top. The gas sensitive properties were also measured for NH₃ and H₂S in ppb-ppm range. With gold nanoparticles a lower detection limit of 25 ppb H₂S could be achieved.

Reference:

[1] E. Comini, *Analytica Chimica Acta*, **2006**, 568, 28–40.

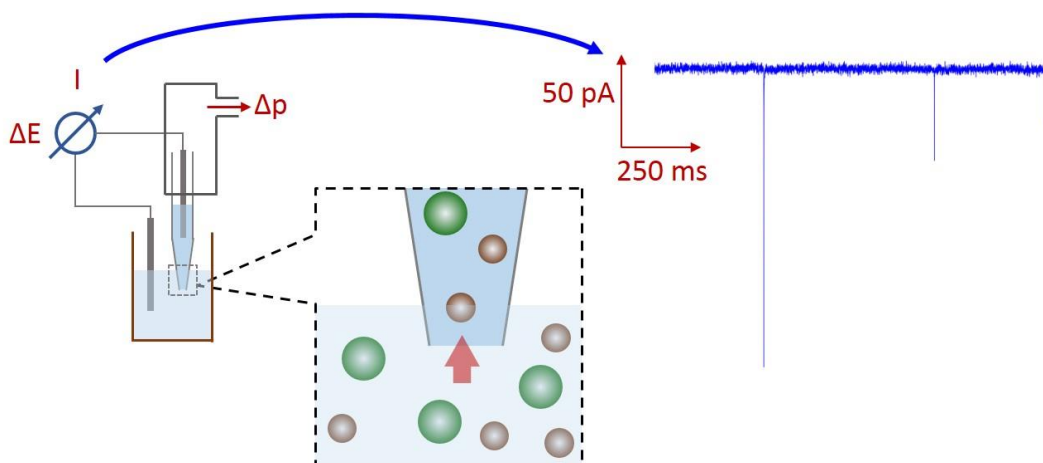
Nanopipetta-alapú vírusszámláló fejlesztése

Terejánszky Péter¹, Makra István¹, Dr. Gyurcsányi E. Róbert¹

¹ MTA-BME „Lendület” Kémiai Nanoérzékelők Kutatócsoport
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.
terejanszky@gmail.com

A nanorészecskék egyre szélesedő felhasználási körének köszönhetően folyamatosan növekszik az igény olyan analitikai technikákra, amelyek a részecskék különböző jellemzőinek (pl.: méret, töltés, koncentráció stb.) minél gyorsabb és pontosabb meghatározását teszik lehetővé.

A nanopórusos részecskeszámláló a Coulter-elvhez hasonlóan működik, de jóval kisebb pórust használunk. A pórus két elektrolitcellát választ el és a feszültség hatására átfolyó áramot mérjük a részecskék nyomásszabályozott áramoltatása során. A részecskék térfogatuknak megfelelő elektrolitmennyiség kiszorításával modulálják a pórus közelében (érzékelő zóna) az ionfluxust, és rövid áramcsökkenéseket okoznak, melyek száma koncentrációjukkal arányos.



1. **Ábra:** A nanopipetta-alapú részecskeszámláló működése.

Kutatócsoportunk kidolgozott egy vírusok számlálására alkalmas nanopipetta-alapú részecskeszámláló eljárást. A módszerünk lehetővé teszi, hogy méret- és koncentráció-standardek használata nélkül, akár 30 nm-es átmérőnél is kisebb vírusokat nagy méretfelbontással karakterizáljunk és mennyiségileg meghatározzunk.

Hivatkozás:

- [1] P. Terejánszky, I. Makra, P. Fürjes, RE Gyurcsányi; *AnalChem*, **2014**, 86, 4688–4697.
- [2] P. Terejánszky, I. Makra, A. Lukács, RE Gyurcsányi; *Electroanalysis*, **2015**, 27, 595–601.
- [3] I. Makra, P. Terejánszky, RE Gyurcsányi; *MethodsX*, **2014**, 86, 4688–4697.

Developing of nanopipet-based viruscounters

P. Terejánszky¹, I. Makra¹, R. E Gyurcsányi¹

¹ MTA-BME “Lendület” Chemical Nanosensors Research Group
 Budapest University of Technology and Economics, Szt. Gellért tér 4, Budapest, 1111 Hungary
 terejanszkyp@gmail.com

As nanoparticles becoming more widespread in many fields, the need for faster and more accurate analytical methods for characterization (size, charge, concentration etc.) is constantly rising.

Nanopore-based particle counters adapt the Coulter principle, although much smaller pores are used. The pore separates two electrolyte chambers, and the voltage-driven ionic current is monitored during particle translocation. As particles replace electrolyte and modulate ion flux near the constriction (aka sensing zone) the resistance rises and short pulses appear on the current curve.

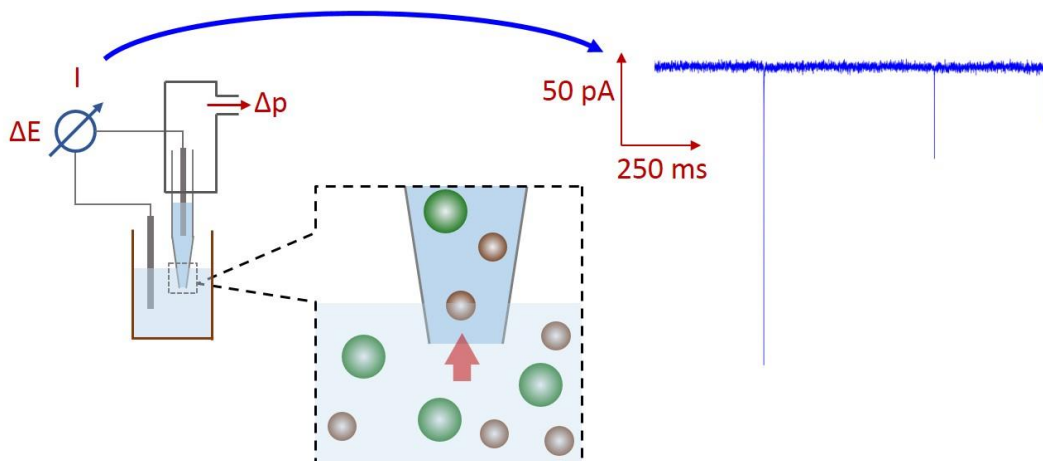


Figure 1: Schematic of nanopipet-based particle counter.

We developed a nanopipet-based particle counter applicable for virus counting. Our method enables accurately determination of the size and concentration of virus particles smaller than 30 nm without the use of standards.

References:

- [1] P. Terejánszky, I. Makra, P Fürjes, RE Gyurcsányi; *AnalChem*, **2014**, 86, 4688–4697.
- [2] P. Terejánszky, I. Makra, A Lukács, RE Gyurcsányi; *Electroanalysis*, **2015**, 27, 595–601.
- [3] I. Makra, P. Terejánszky, RE Gyurcsányi; *MethodsX*, **2014**, 86, 4688–4697.

A fehérjekristályosítás módszerének bemutatása PcPAL példáján keresztül

Bata Zsófia^{1,2,4}, Paizs Csaba³, Vertessy G. Beáta^{2,4}, Poppe László¹

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyész- és Biomérnöki Kar, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111
bata.zsofia@mail.bme.hu

² MTA TTK, Enzimológiai Intézet, Budapest Magyar tudósok körútja 2, H-1117

³ Babeş-Bolyai University Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Kolozsvár str. Universitatii 7-9, R-400084

⁴ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyész- és Biomérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi tanszék, Biostrukt laboratórium, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111

Fehérjék az élő szervezetekben szerteágazó funkciókkal rendelkeznek: szerepük van a kórokozók elleni védekezésben, a sejtek szerkezetének kialakításában, sejtek közötti kommunikációban, molekulák szállításában és tárolásában, illetve az enzimek a legkülönbözőbb kémiai átalakításokat katalizálják. Ezen változatos funkciókat négy szintű rendeződésük által képesek megvalósítani. A fehérjék elsődleges szerkezete a DNS-ben kódolt, szekvenálással meghatározható. A fehérjék funkciójának megismeréséhez azonban ismernünk kell a magasabb szintű rendeződésüket is. Napjainkban ez NMR spektroszkópiával, krioelektron mikroszkópiával és röntgen krisztallográfiával lehetséges. [1] Jelenleg 126 060 makromolekula szerkezet található meg a PDB adatbázisban, amelyből 112 775 –öt röntgenkrisztallográfia segítségével határoztak meg[2].

A széleskörű alkalmazás ellenére, egy új fehérje szerkezetének megismerése továbbra is hosszú hónapok munkájának eredménye, amely még a legátgondoltabb kísérleti terv mellett sem jár garantált sikerrel. Első lépésben fehérjetermelési rendszer létrehozása szükséges, amellyel rutinszerűen, nagy mennyiségben állítható elő a célfehérje. Ezt követi a pufferrendszer azonosítása, amelyben hosszú ideig stabilis a fehérje, mivel a kristályképződés akár több hetet is igénybe vehet. A kristályosítási körülmények azonosítása, így a sok ezer lehetőség közül ezeket csak empirikus úton lehetséges. Ezt a folyamatot mutatja be az előadás a *Petroselinum crispum* fenilalanin ammónialiáz (PcPAL) példáján keresztül, amelyből két és fél éves munkával sikerült olyan kristályt előállítani, amely alkalmas volt jó minőségű diffrakciós adatkészlet felvételére.

Hivatkozás:

[1] I.D.Campbell *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **2002**, 3, 377-381

[2] <http://www.rcsb.org> (2017.01.20)

The process of getting a protein crystal: the journey of getting *PcPAL* to crystallize

Zsófia Bata^{1,2,4}, Csaba Paizs³, Beáta G. Vertessy^{2,4}, László Poppe¹

¹ Budapest University of Technology and Economics, Department of Organic Chemistry and Technology, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111 bata.zsofia@mail.bme.hu

² HAS-RCNS Institute of Enzymology, Budapest, Magyar tudósok körútja 2, H-1117

³ Babeş-Bolyai University Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Cluj-Napoca str. Universitatii 7-9, R-400084

⁴ Budapest University of Technology and Economics, Department of Applied Biotechnology and Food Science, Biostruct laboratory, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111

Proteins fulfill diverse biological functions. They defend the cells against pathogens, support cellular structures, enable communication between cells, store and transport many different molecules, and enzymes catalyze biochemical reactions. These distinct functions are possible by the four level organization of proteins. Their sequence is encoded in DNA, hence can be determined by sequencing. However to fully understand the function and working of a protein its secondary, tertiary and quaternary structures must also be determined. These can be experimentally measured by NMR spectroscopy, cryo-electron microscopy or X-ray crystallography. [1] Currently there are 126 060 macromolecule structures deposited in the PDB database, out of which 112 775 have been determined by X-ray crystallography. [2] These numbers demonstrate that X-ray crystallography is that only method that can be routinely applied to the determination of protein structures today.

Despite its widespread use, determination of the structure of a given protein is a challenging project that takes many months. First a protein production system must be established, enabling the milligram scale production of the target protein. Then the buffer and salt conditions must be optimized, so that the protein is stable and aggregation is avoided. Identification of the optimal crystallization condition from the thousands of different possibilities is only possible by empirical means. This process of systematic multiple optimization steps will be presented through the example of *Petroselinum crispum* phenylalanine ammonia-lyase, for which after two and half years of experiments, 0.5-1 µm well diffracting crystals were obtained.

References:

[1] I.D.Campbell *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **2002**, 3, 377-381

[2] <http://www.rcsb.org> (2017.01.20)

Hidroxinitrilázok megváltoztatott enantioszelektivitásának magyarázata molekula modellezéssel

Bata Zsafia ^{1,2}, Jones Byan ¹, Kazlauskas Romas J. ¹

¹ University of Minnesota, The Biotechnology Institute, 1479 Gortner Ave, Falcon Heights, MN 55108, USA

² Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyés- és Biomérnöki Kar, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111
bata.zsafia@mail.bme.hu

Hidroxinitrilázok (HNL) hidrogén cianid eliminációját katalizálják hidroxicianátokból. A keletkező hidrogén cianid megöli vagy elüzi a növények támadóit. A leggyakoribb szubsztrátok a valinból képződő aceton cianohidrin és a fenilalaninból előállított mandelonitril. Szintetikus célokra a fordított reakció használható fel, karbonil vegyületekre a hidrogén cianid enantioszelektív addíciójával királis vegyületek állíthatók elő. A katalitikus mechanizmushoz szükséges egy bázis a katalitikus centrumban, illetve egy közeli pozitív töltéssel rendelkező rész a fehérjén. Ezeknek a pontos kiléte a különböző HNL-ben változhat. A *Hevea brasiliensis* HNL (*HbHNL*) és az *Arabidopsis thaliana* HNL (*AtHNL*) is az α/β -hidroláz feltekeredésű fehérje családba sorolható, azonban fordított enantioszelektivitást mutatnak mandelonitrile hidrolízisekor [1-2].

A *HbHNL* és az *AtHNL* aktív centruma között 16 aminosav különbség figyelhető meg. Pár aminosav felcserélése inaktív vagy nem expresszálandó fehérjét eredményezett. Az összes 16 aminosav felcserélése szintén a fehérje nem megfelelő feltekeredéséhez vezetett. Az aktív centrumot alkotó aminosavaknak nagyjából a felét felcserélve katalitikusan aktív, stabil enzimeket kaptunk mind a két fehérjéből kiindulva. A mutációk hatására az *AtHNL* esetében megfordult az enantioszelektivitás (E), míg az azonos aminosavak a fehérje aktív centrumában jelentősen csökkentették a mért E értékeket az *HbHNL* esetében. Ligandum kötődés számítógépes modellezése arra utalt, hogy a *HbHNL* mutánsok mind a két vad-típusú fehérjétől eltérő mechanizmus segítségével katalizálják a cianid eliminációt. Molekula dinamikai szimulációk megmutatták, hogy az aktív centrumot felépítő aminosavak eltérő konformációja okozza a fehérjékben megfigyelt a különböző kötő módokat.

Hivatkozás:

[1] K. Gruber et al.: *Journal of Biological Chemistry* **2004** 279.19: 20501-20510.

[2] J. N. Andexer et al. *ChemBioChem* **2012** 13.: 1932-1939.

Modeling explanation of altering the enantioselectivity of hydroxynitrilases

Zsófia Bata^{1,2}, Bryan Jones¹, Romas J. Kazlauskas¹

¹ University of Minnesota, The Biotechnology Institute, 1479 Gortner Ave, Falcon Heights, MN 55108, USA

² Budapest University of Technology and Economics, Department of Organic Chemistry and Technology, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111 bata.zsofia@mail.bme.hu

Hydroxynitrile lyases (HNL) catalyze the elimination of hydrogen cyanide from cyanohydrins. The released hydrogen cyanide kills or deters the predators. Typical cyanohydrin substrates are acetone cyanohydrin derived from valine or mandelonitrile derived from phenylalanine. For synthetic applications, chemists carry out the reverse reaction, an enantioselective addition of hydrogen cyanide to carbonyl compounds. The catalytic mechanisms of HNL share common features of a general active site base and a nearby patch with positive charge, but differ in the details. *Hevea brasiliensis* HNL (*HbHNL*) and *Arabidopsis thaliana* HNL (*AtHNL*) are both from the α/β -hydrolase fold protein superfamily, however they show opposite enantioselectivity for mandelonitrile [1-2].

Switching a few of the sixteen residues that differ in the active sites of *HbHNL* and *AtHNL* disrupted catalysis or folding and switching all sixteen residues disrupted folding. Switching about half of the active site residues yielded catalytically active, stable enzymes in both protein backbones. Mutations reversed enantioselectivity (E) in the *AtHNL*, while placing the same active site residues in the *HbHNL* backbone reduced the E values significantly. Modeling of ligand binding in the mutated active sites suggest that variants of *HbHNL* use a catalytic mechanism different from either wild type protein. Molecular dynamics simulations showed differing active site residue conformations result in altered binding modes in the proteins. Differences in the binding modes suggest different catalytic mechanism for the studied enzymes.

References:

- [1] K. Gruber et al.: *Journal of Biological Chemistry* **2004** 279.19: 20501-20510.
[2] J. N. Andexer et al. *ChemBioChem* **2012** 13.: 1932-1939.

DSSC napelemekben alkalmazható, fluorazon összekötőelemet tartalmazó szerves színezékek előállítása

Hergert Tamás¹, Mátravölgyi Béla², Varga Bálint¹, Thurner Angelika², Alessandro Mordini³, Faigl Ferenc^{1,2}

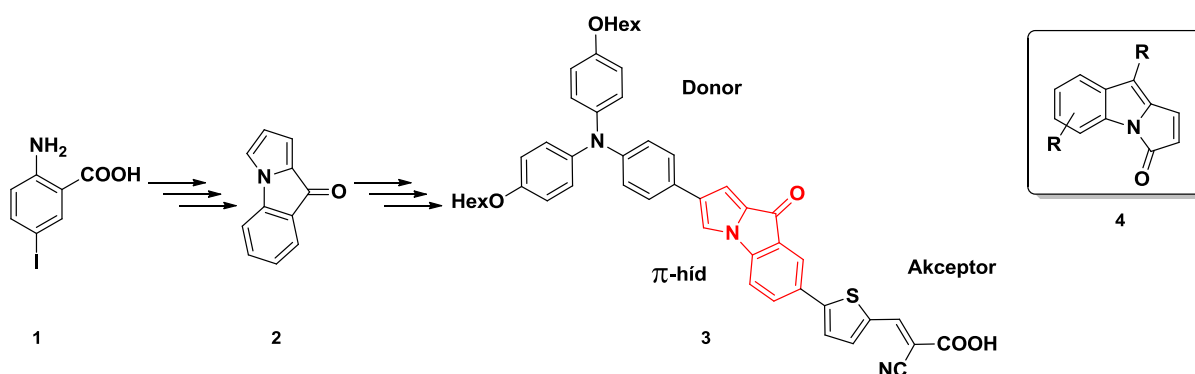
¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 1111 Budapest, Budafoki út 8.

² MTA-BME Szerves Kémiai Technológia Tanszéki Kutatócsoport, 1111 Budapest,

³ Firenzei Egyetem Szerves Kémia Tanszék, Firenze, 50019 - Sesto Fiorentino, Olaszország.
e-mail: hergert.tamas@mail.bme.hu

Az elmúlt évszázadban az emberiség energiaszükséglete rohamosan növekedett, legfőképp a fosszilis energiahordozókra támaszkodva. A források várható kimerülésével egyre több figyelem fordul a megújuló energiák felé. Ezek közül is az egyik legjobban kutatott terület a Nap sugárzását elektromos energiává alakító napelemek. Nagy áttörést jelentett az úgynevezett Grätzel-cella [1], melynek működése egy fémtartalmú szerves komplexmolekulán alapul. A színezékekkel érzékenyített napelemek (DSSC) új kutatási iránya a hatékony, de fémmentes szerves molekulák előállításának vizsgálata [2].

Elméleti számítások alapján 1-arilpirrol összekötőelemet tartalmazó színezékeket (3) állítottunk elő, vizsgáltuk a védett akceptor egység Suzuki kapcsolási lehetőségeit. Új szintézis utat dolgoztunk ki a π -híd funkciót betöltő fluorazon egység (2) előállítására és további származékokat szintetizáltunk, melyeket fémorganikus úton alakítottunk tovább különböző indolon származékokká (4).



1. Ábra: 1-Arilpirrol alapvázú színezékmolekula (3) szintézisútja és az előállított indolon származék(4)

A jövőben tervezzük további színezékek előállítását jobb hatásfok elérése érdekében, illetve az új kidolgozott szintézisút alkalmazását indol származékok előállítására.

Hivatkozás:

[1] B. O'Regan, M. Grätzel: *Nature* **1991**, (353), 737.

[2] A. Mishra, M. K. R. Fischer, P. Bäuerle: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, (48), 2474.

Synthesis of new dyes for DSSC-s having a fluorazone backbone

Tamás Hergert ¹, Béla Mátravölgyi ², Bálint Varga ¹, Angelika Thurner ², Alessandro Mordini ³, Ferenc Faigl ^{1,2}

¹ Department of Organic Chemistry and Technology, Budapest University of Technology and Economics, 1111 Budapest, Budafoki út. 8., Hungary

² MTA-BME Organic Chemical Technology Research Group, Hungarian Academy of Sciences, 1111 Budapest, Budafoki út. 8., Hungary

³ Institute of Chemistry of Organometallic Compounds, Firenze, Italy
e-mail: hergert.tamas@mail.bme.hu

Over the past century mankind's energy use grew rapidly, mainly relying on fossil fuels. Due to the expected depletion of resources, more and more attention is being turned towards renewable energies. Among them is one of the most researched area the conversion of solar radiation into electrical energy by solar cells. The so-called Grätzer-cell was a great breakthrough of this field [1], which operates based on a metal-containing organic compound. New direction of researches dealing with dye-sensitized solar cells (DSSC) are the development of solar cells containing effective, but metal-free organic molecules [2].

Based on theoretical calculations dyes containing 1-arylpyrrole backbones (**3**) were synthesized. Detailed investigation of the Suzuki-coupling of the low reactive acceptor unit, development of a new synthetic route for the fluorazon unit, which serves as the π -bridge (**2**) were also involved in this research. Other derivatives which were converted to indolone derivatives (**4**) on a new organometallic route were also synthesized.

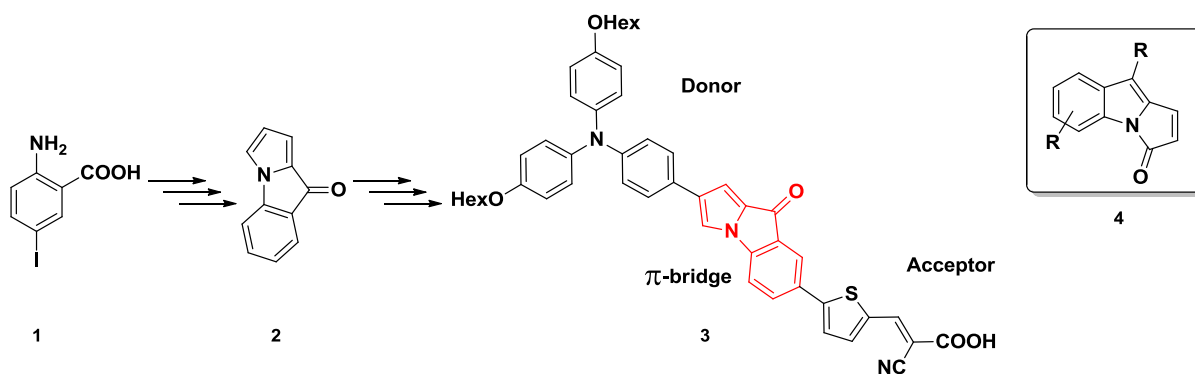


Figure 1: The synthesis route of 1-arylpyrrole based dyes (**3**) and the prepared indole derivatives (**4**)

In the future, we plan to synthesize additional dyes to achieve better efficiency and use of the new developed synthetic route to prepare indole derivatives.

References:

- [1] B. O'Regan, M. Grätzel: *Nature* **1991**, (353), 737.
[2] A. Mishra, M. K. R. Fischer, P. Bäuerle: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, (48), 2474.

Heterociklus egységet tartalmazó optikailag aktív anionszenzorok előállítás és vizsgálata

Pál Dávid^{1,*}, Móczár Ildikó¹, Kormos Attila¹, Baranyai Péter², Óvári László¹, Huszthy Péter¹

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest, Szent Gellért tér 4.

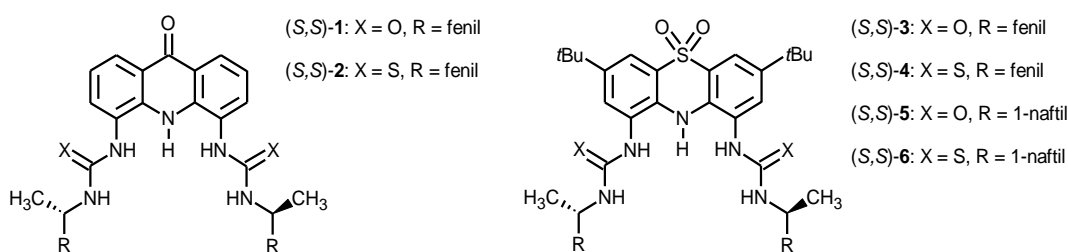
²MTA Természettudományi Kutatóközpont, Szerves Kémiai Intézet, „Lendület” Szupramolekuláris Kémiai Kutatócsoport, Budapest, Magyar Tudósok körútja 2.

*pal.david@mail.bme.hu

Az enantiomerfelismerés a természetben általánosan előforduló jelenség. Mivel számos biológiai folyamat enantioszelektív reakciók révén valósul meg, a környezetünkben megtalálható vegyületek egyes enantiomerjeinek különböző élettani hatásai lehetnek.

A karboxilcsoport az aminosavakban, enzimekben, metabolitokban és más biológiailag aktív vegyületekben különösen gyakori funkciós csoport. Fiziológias pH-n a karbonsavak disszociált formában fordulnak elő, ezért a királis karboxilátok enantiomerjeinek megkülönböztetésére képes anionreceptorok kutatása az utóbbi évtizedben gyors fejlődésnek indult.

Munkánk célja olyan biszkarbamid, illetve bisztiokarbamid típusú enantiomertiszta fluoreszcens anionszenzorok [(S,S)-1–(S,S)-6, 1. ábra] szintézise és vizsgálata volt, amelyek akridon, illetve 5,5-dioxofentiazin egységet tartalmaznak.



1. Ábra Az előállított királis anionreceptorok.

Az előállított (S)-konfigurációjú 1-ariletil-csoportokkal rendelkező szenzormolekulák komplexképző tulajdonságát és enantiomerfelismerő-képességét UV-látható, illetve fluoreszcencia spektroszkópiai módszerrel mandulasav, valamint N-védett α -aminosavak tetrautilammónium-sóinak enantiomerjeivel szemben tanulmányoztuk [1-2].

Hivatkozás:

[1] D. Pál, I. Móczár, A. Kormos, P. Baranyai, L. Óvári, P. Huszthy; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2015**, 26, 1335–1340.

[2] D. Pál, I. Móczár, A. Kormos, P. Baranyai, P. Huszthy; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, 27, 918–922.

Synthesis and studies of optically active anion sensors containing a heterocyclic unit

D. Pál^{1,*}, I. Móczár¹, A. Kormos¹, P. Baranyai², L. Óvári¹, P. Huszthy¹

¹Department of Organic Chemistry and Technology, Budapest University of Technology and Economics, H-1111 Budapest, Szent Gellért tér 4., Hungary

²“Lendület” Supramolecular Chemistry Research Group, Institute of Organic Chemistry, Research Centre of Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences, H-1117 Budapest, Magyar Tudósok körútja 2., Hungary

*pal.david@mail.bme.hu

Enantiomeric recognition is a frequently occurring and vital phenomenon in Nature. Since many biological processes are based on enantioselective reactions, the individual enantiomers of a biologically active compound may have different physiological effects.

Carboxyl group is a particularly common functional group in amino acids, enzymes, metabolic intermediates and several biologically active molecules. Carboxylic acids exist in their dissociated form at physiological pH; therefore, the development of enantioselective anion receptor and selector molecules, which are capable of discriminating the enantiomers of chiral carboxylates, has great importance.

In our research group, novel acridone and 5,5-dioxophenothiazine bis(urea) and bis(thiourea) derivatives containing 1-arylethyl units [(*S,S*)-**1**–(*S,S*)-**6**, Figure 1] were synthesized, and their complexation properties and enantiomeric recognition abilities toward the enantiomers of tetrabutylammonium salts of mandelic acid and *N*-protected α -amino acids were studied by UV–vis and fluorescence spectroscopies [1-2].

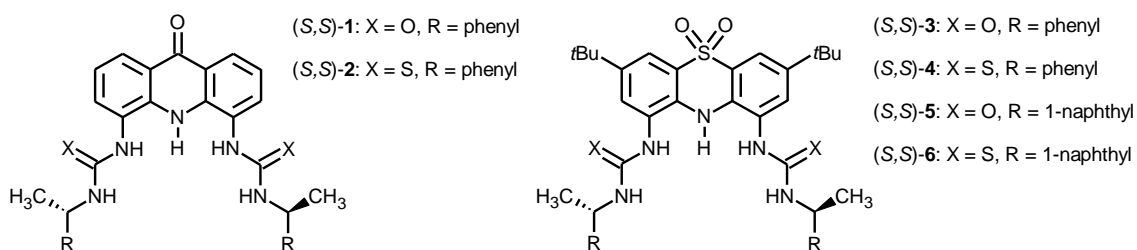


Figure 1: Synthesized chiral anion receptors.

References:

- [1] D. Pál, I. Móczár, A. Kormos, P. Baranyai, L. Óvári, P. Huszthy; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2015**, 26, 1335–1340.
[2] D. Pál, I. Móczár, A. Kormos, P. Baranyai, P. Huszthy; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, 27, 918–922.

Emlőssejt-tenyészetek vizsgálata közeli infravörös spektroszkópai módszerekkel

Kozma Bence^{1,2*}, Párta László², Gergely Szilveszter¹, Salgó András¹

¹ Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4. *bkozma@mail.bme.hu

² Biotechnológiai fejlesztési osztály, Richter Gedeon Nyrt., 1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.

A biotechnológiai úton előállított gyógyszerek közül a legösszetettebb szerkezetű antitest fehérje molekulákat emlőssejtek bioreaktorokban történő tenyésztésével állítják elő. A bakteriális fehérjegyógyszer-termeléshez képest a tenyésztési körülményekre érzékenyebb emlőssejtek tenyésztése precízebb munkavégzést és pontosabb szabályozás megvalósítását kívánja, az emlős szervezethez hasonló, kémiai összetételében kiegyensúlyozott tápoldat és reprodukálható tenyésztési körülmények biztosításával. A sejtek fő energia- és szénforrása a glükóz, aminek tápoldat koncentrációja egy kritikus tenyésztési folyamatparaméter, ezért követése (monitorozása) és szabályozása szükséges.

Az amerikai élelmezési és gyógyszerügyi hatóság (FDA) több mint tíz éve fogalmazta meg a Process Analytical Technology (PAT) című dokumentumot, ami a gyógyszeripari gyártások során alkalmazandó folyamatkövetési és szabályzási irányelveket tartalmazza. Ebben arra sarkallják a gyártókat, hogy a gyártási folyamatokat valós időben, lehetőség szerint a reaktorokba beépített, a tápoldattal direkt érintkező szondákkal kövessék, és a szondák jele alapján avatkozzanak be a folyamatba. A közeli infravörös (NIR) spektroszkópia roncsolásmentes, optikai elven működő gyorsvizsgálati módszer, mely gyógyszeripari gyártási folyamatok minőségi és mennyiségi vizsgálatára alkalmas.

Munkánk során a NIR spektroszkópiát emlőssejt-tenyészetek minőségi vizsgálatára alkalmaztam a PAT elvekkel összhangban, a spektrumokat a reaktorba helyezett szondával, gyártás közben felvéve. A négy különböző reaktor-léptékből származó adatok elemzése során a NIR spektrumok és folyamatparaméterek közti összefüggéseket találtunk, valamint módszert fejlesztettünk különböző léptékű sejtenyészetekben a glükóz-koncentrációjának meghatározására is. Továbbá, kutatócsoportunk által korábban az emlőssejt-tenyészetek glükóz-koncentrációjának becslésére kifejlesztett modellrendszert, a NIR és Raman spektroszkópai módszerek összevetésére is alkalmaztuk glükóz meghatározás szempontjából.

Monitoring of mammalian cell cultivations with near infrared spectroscopy

Bence Kozma^{1,2*}, László Párta², Szilveszter Gergely¹, András Salgó¹

¹ Department of Applied Biotechnology and Food Science, Budapest University of Technology and Economics Szent Gellért tér 4. H-1111 Budapest, Hungary

*bkozma@mail.bme.hu

² Department of Biotechnological Development, Gedeon Richter Plc. Gyömrői út 19-21. H-1103 Budapest, Hungary

The most complex protein structures that are manufactured by the biopharma industry are related to antibodies. These proteins are produced by mammalian cells in bioreactors. Mammalian cell cultivation requires properly balanced chemically defined cultivation media and reproducible, precise control in contrast to bacterial biopharmaceutical protein production because mammalian cells are more sensitive to changes in the cultivation environment than bacterial cells. The main energy and carbon source of the cells is glucose. The glucose concentration of the media is a critical process parameter that needs to be monitored and controlled.

The US Food and Drug Administration (FDA) released the Process Analytical Technology (PAT) guidance more than ten years ago that contains the process monitoring and controlling principles of pharmaceutical manufacturing. The manufacturers are encouraged by regulatory authorities to monitor manufacturing processes real-time with *in-situ* probes that are in direct contact with the cultivation medium. NIR spectroscopy is a non-destructive, optical method that is capable of qualitative and quantitative monitoring of pharmaceutical processes.

In our industry related work, near infrared spectroscopy was utilized to qualitatively monitor several batches of mammalian cell cultivations. Spectra were collected by *in-situ* probes during the cultivation process in harmony with the PAT guidance from four different scale bioreactors. Correlation between multiple critical process parameters and the NIR spectra were detected. Moreover, a method was developed to determine the glucose concentration of the mammalian cell cultivations by NIR spectroscopy. Furthermore, our previously developed model system was adapted to compare the prediction of glucose concentration of cell cultivation media by NIR and Raman spectroscopy.

Uracilos genommal rendelkező vírusok: hogyan élnek túl?

Nagy Kinga^{1,2}, Herczeg Viktória¹, Balogh Bianka¹, Vértessy G. Beáta^{1,2}

¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék; 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4, nagy.kinga@mail.bme.hu.

²Magyar Tudományos Akadémia, Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet; 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

A nukleinsavak a genetikai információ tárolásáért és átadásáért felelős makromolekulák. Két nagy csoportja, a dezoxiribo- (DNS), illetve a ribonukleinsavak (RNS) egymástól az őket felépítő cukormolekulában (az RNS-ben ribóz, míg a DNS-ben dezoxiribóz található), valamint az egyik nitrogéntartalmú heterociklusos bázisban (DNS-ben az adeninnel szemben timin, míg az RNS-ben uracil van) térnek el egymástól. A genetikai információ megőrzése minden élőlény számára elengedhetetlen, az abban bekövetkező változások, sérülések, az adott sejt pusztulását vagy kóros elváltozását (pl. tumoros elfajulás) okozhatják. A DNS-ben megjelenő uracil bázis is hibának számít, éppen ezért a sejtekben számos olyan folyamat megy végbe, amely ennek a minimalizálására szolgál. Az uracil-DNS glikozilázok azok a fehérjék, amelyek a DNS-ben található uracil bázisok eltávolításáért felelősek, a dezoxiribóz és a bázis között kialakuló glikozidos kötés elhasadását katalizálják. Amennyiben nagymennyiségű uracil halmozódik fel a DNS-ben, a hibajavító mechanizmusok túlműködése révén az kettős száltörésekhez, kromoszóma fragmentációhoz, végső soron pedig a sejt pusztulásához vezethet [1].

Az első olyan vírust, amely DNS-e uracilt tartalmaz timin helyett 1964-ben írták le. Ezt követően két, baktériumokat fertőző vírusról is bebizonyosodott, hogy DNS-ükben a timin uracillal helyettesített. Ezek a *Y. enterocolitica*-t fertőző Φ R1-37 (2005), valamint a *Stahylococcus* fajokat fertőző S6 (2014) fágok. A mai napig ismeretlen, hogy ezek a vírusok, hogyan képesek uracilos DNS-üket kialakítani, valamint fenntartani a gazdaszervezetben, ahol olyan mechanizmusok működnek, melyek a DNS-ben lévő uracil szint minimalizálására törekszenek. Kutatómunkám célja azon folyamatok, fehérjék feltérképezése / megismerése, amelyek ezen vírusokat a túlélésben és a fertőzésben segítik. Ehhez a Φ R1-37 bakteriofág genomi DNS könyvtárát használom fel, valamint a gazdasejt (*Y. enterocolitica*) azon fehérjéit vizsgálom, melyek az „uracil ellenes” környezet kialakításáért felelősek, és amelyek feltételezhetően kölcsön hatnak a fág fehérjéivel.

Hivatkozás:

[1] Zhe Cao et al.; *Cancer Letters*, **2016**, 372, 219–225.

Viruses with uracil-DNA: How can they survive?

Kinga Nagy^{1,2}, Viktoria Herczeg¹, Bianka Balogh¹, Beata G. Vertessy^{1,2}

¹Department of Applied Biotechnology and Food Science, Budapest University of Technology and Economics; 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4, nagy.kinga@mail.bme.hu

²Institute of Enzymology, Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Science; 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

The nucleic acids are responsible for the storage and transfer of the genetic information. The two main groups, the deoxyribo- (DNA) and ribonucleic acids (RNA) are differ in some of their building blocks. While RNA contains ribose, DNA contains deoxyribose, and in DNA adenine pairs with thymine, whereas in RNA it pairs with uracil. Preservation of genetic information is essential for all living organisms. DNA lesion can lead to cell death or carcinogenesis. Uracil in DNA is considered an undesirable mistake in the genetic matter and there are several biochemical mechanisms to minimize the occurrence of uracil in DNA. Uracil-DNA glycosylases are responsible for the removal of uracil bases from DNA by catalyzing the cleavage of the glycosidic bond between the deoxyribose and the uracil base. Excessive accumulation of uracil in DNA can lead DNA double strand break and chromosome fragmentation and ultimately cell death due to the repair mechanism [1].

The first virus which genome contains uracil instead of thymine was described in 1964. Thereafter two other bacteriophages where found with uracil genome. These are Φ R1-37 which infects *Y. enterocolitica* (2005), and the S6 phage which infects Stahylococcal species (2014). It is still unknown how can these phages create and maintain their highly uracilated genome in the host where the uracil in DNA is considered an error. The aim of my research is to identify proteins and processes which aid these viruses to infect and survive. I designed experiments with the Φ R1-37 phage genomic library and also with the host (*Y. enterocolitica*) proteins which are responsible for the “anti-uracil” enviroment and may interact with phage’s proteins.

Reference:

[1] Zhe Cao et al.; *Cancer Letters*, **2016**, 372, 219–225.

A természetesen előforduló *Staphylococcus aureus* uracil DNS glikoziláz inhibitor variánsok funkcionális analízise

Papp-Kádár Veronika¹, Balázs Zoltán¹, Nagy Gergely Nándor¹, Ozohanics Olivér², Juhász Tünde³, Vékey Károly², Liliom Károly³, Vértessy G. Beáta¹

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológiai és Élelmiszertudományi Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3.
telefon: (36-1) 463-1355, e-mail: kadar.veronika@ttk.mta.hu

²Szerves Kémiai Intézet, Természettudományi Kutatóközpont, Magyar Tudományos Akadémia, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

³Enzimológiai Intézet, Természettudományi Kutatóközpont, Magyar Tudományos Akadémia, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

A *Staphylococcus aureus* egy fertőző patogén baktérium, amely a kórházi fertőzések leggyakoribb okozója. A DNS fenntartása a mutagén hatásokkal és szerekkel szemben a sejt életképességéhez kulcsfontosságú. A sejt ebből a célból több DNS javító fehérjét állít elő, melyek egy komplex kaszkád rendszerben működnek együtt. A bázis-kivágó hibajavító útvonal első enzime az uracil-DNS glikoziláz (SaUDG), amely az uracilt képes eltávolítani a DNS-ből, amely a citozin spontán dezaminációjából vagy a dUTP spontán beépüléséből eredhet.

A *S.aureus* genom egyedülálló módon kódol egy nemrég felfedezett inhibitor fehérjét, az ún. *S. aureus* uracil-DNS glikoziláz inhibitor (SaUGI). Jelen munkánk célja a SaUDG és SaUGI komplex jellemzése, a kölcsönhatásban fontos aminosavak feltérképezése. Helyspecifikus mutagenézissel létrehoztunk, majd tisztítottunk öt pontmutáns SaUGI fehérjét, amelyek eltérő kinetikai tulajdonságokat mutattak a vad típussal szemben.

A kutatás során számos módszert alkalmaztunk, többek közt termofluorimetriát, izotermális titrációs kalorimetriát, agaróz-alapú aktivitás mérést, tömegspektrometriát és mikroskálás termoforézist a kinetikai paraméterek meghatározására.

The functional analysis of naturally occurring variants of *Staphylococcus aureus* uracil DNA glycosylase inhibitor

Veronika Papp-Kádár¹, Zoltán Balázs¹, Gergely N. Nagy¹, Olivér Ozohanics², Tünde Juhász³, Károly Vékey², Károly Liliom³, Beáta G. Vértessy¹

¹ Budapest University of Technology and Economics, Department of Applied Biotechnology and Food Science, H-1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3. Hungary
phone: (36-1) 463-1355, e-mail: kadar.veronika@ttk.mta.hu

²Institute of Organic Chemistry, Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences, H-1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2. Hungary

³Institute of Enzymology, Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences, H-1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2. Hungary

Staphylococcus aureus is a virulent pathogen that is currently the most common cause of infections in hospitalized patients. Maintaining of DNA integrity against mutagenic effects and agents is important for the cell viability. For that purpose, the bacterial cell produces several common DNA repair enzymes that can act in cascade systems. The first member of the base excision repair system is an uracil-DNA glycosylase enzyme (UDG) which can remove the uracils in DNA that result from the spontaneous deamination of cytosine or the incorporation of dUTP during replication.

Interestingly the *S. aureus* genome encodes a recently described inhibitory protein of SaUDG, so-called *S. aureus* uracil-DNA glycosylase inhibitor (SaUGI). In the present work we focused on characterization of the interaction between SaUDG and SaUGI, our objective is to discover the important amino acids in binding. We made site-directed mutagenesis, and purified five mutant proteins, that showed different kinetical behaviour as compared to wild-type enzymes.

In our research we applied several methods including thermofluorimetry, isothermal titration calorimetry, agarose assay-based activity measurement, mass spectrometry and microscale thermophoresis to characterize the enzymatic reaction and determine the kinetical parameters.

A *Mycobacterium smegmatis* dezoxiribonukleotid készletének vizsgálata különféle környezeti stressz hatására

Surányi Éva Viola^{1,2}, Hirmondó Rita², Szentgyörgyvári Richárd^{1,2}, Szabó Judit Eszter², Vértessy G. Beáta^{1,2}, Tóth Judit²

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Budapest 1111, Szt. Gellért tér 4., ebottger@mail.bme.hu
² Magyar Tudományos Akadémia, Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest 1117, Magyar tudósok körútja 2.

A DNS replikáció pontossága kulcsfontosságú szerepet játszik minden élőlény számára a genom épségének megőrzése érdekében. A sejtbeli finomhangolt dezoxiribonukleozid-5'-trifoszfát (dNTP) készlet hozzájárul a pontos replikációhoz, így a készlet megzavarása erősen mutagén hatású [1]. Érdekes módon a patogén *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) mutációs rátája kimondottan alacsony *in vitro* körülmények között hibás bázispárjavító enzimek nélkül is, míg *in vitro*, a betegekből vett köpetmintákban gyakran többféle antibiotikumra rezisztens törzsek izolálhatók, melyek kizárólag egy pontos nukleotid mutációkkal jönnek létre. Ezek alapján célunk a *Mycobacterium smegmatis* (*Msm*) dNTP készlet méretének és összetételének vizsgálata különféle genotoxikus stressz hatására. A fertőző *Mtb* helyett használható a nem-patogén *Msm*, mivel a DNS-metabolikus és hibajavító enzimek készletük nagyban megegyezik. A kezelések utáni dNTP koncentrációkat fluoreszcencián alapuló DNS-polimerizációs eljárással mértük meg. Eredményeinkből kiderül, hogy a nukleotid szintekben változás következik be a kezelések hatására: antibiotikumok esetén több nagyságrendes növekedés tapasztalható, míg tápanyagszegény környezetben a készlet csökkenése jellemző.

A mikobakteriális dUTPáz létfontosságú enzim, mely szintén hozzájárul a genom integritásának megőrzéséhez a nem-kanonikus dUTP elhidrolizálásával. A *Staphylococcus* eredetű Stl represszor fehérje mikobakteriális kifejeztetése magas dUTP szintet, és csökkent telepképző képességet eredményezett, a dUTPáz enzim inhíbeálása révén [2]. Az Stl fehérje DNS kötő szakaszának, illetve az Stl és dUTPáz komplex kölcsönható felszínének felderítésére egy kapcsolható rendszert hoztunk létre, mellyel sejtes környezetben vizsgálhatók ezen interakciók.

Hivatkozások:

- [1.] L. J. Wheeler, I. Rajagopal, C. K. Mathews; *DNA Repair (Amst)*. **2005**, 4, 1450-1456.
- [2.] R. Hirmondó, J. E. Szabó, K. Nyíri, Sz. Tarjányi, P. Dobrotka, J. Tóth, B. G. Vértessy; *DNA Repair (Amst)*. **2015**, 30, 21-27.

Investigation of the deoxynucleotide pool of *Mycobacterium smegmatis* under different genotoxic stress conditions

Éva Viola Surányi^{1,2}, Rita Hirmondó², Richárd Szentgyörgyvári^{1,2}, Judit Eszter Szabó²,
Beáta G. Vértessy^{1,2}, Judit Tóth²

¹ Department of Applied Biotechnology and Food Science, Budapest University of Technology and Economics, Budapest, Szt. Gellért square 4., H-1111, Hungary, ebottger@mail.bme.hu

² Institute of Enzymology, Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Magyar tudósok körútja 2., H-1117, Hungary

The fidelity of replication is essential for every organism to maintain their genome integrity. It has been shown that perturbation of the well conserved deoxyribonucleoside 5'-triphosphate (deoxynucleotides, or dNTPs) pool results in elevated mutation rate [1]. Interestingly, the pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) has an especially low *in vitro* mutation rate although it lacks the mismatch repair enzymes. However, *in vivo* samples from patients often exhibit resistance to more than one drugs, caused exclusively by various single-nucleotide mutations. Based on these observations, our aim is to establish the relationship between different types of genotoxic stresses and the deoxynucleotide pool size and balance in *Mycobacterium smegmatis* (*Msm*). As a valid model of *Mtb*, we used the non-pathogenic *Msm*, since they share the same DNA metabolic and repair routes. dNTP concentration following genotoxic treatments were measured applying a fluorescence-based DNA-polymerization method. Our results showed that different environmental stresses cause changes in the dNTP pool size: for antimycobacterial agents, there are several orders of magnitude increase in the deoxynucleotide pool size, while exposing cells to nutrient starvation caused reduced dNTP amounts.

dUTPase is an essential enzyme in the nucleotide pool regulation of Mycobacteria by its deoxyuridine triphosphatase activity. Our laboratory showed that expression of the Staphylococcal repressor protein (Stl) resulted in high cellular dUTP level and disturbed colony formation in Mycobacteria by inhibiting dUTPase [2]. To explore the interaction surface between Stl and i) its recognizing DNA; and ii) dUTPase, we designed a reporter system which enables us to test these interactions in a cellular environment.

References:

- [1.] L. J. Wheeler, I. Rajagopal, C. K. Mathews; *DNA Repair (Amst)*. **2005**, 4, 1450-1456.
- [2.] R. Hirmondó, J. E. Szabó, K. Nyíri, Sz. Tarjányi, P. Dobrotka, J. Tóth, B. G. Vértessy; *DNA Repair (Amst)*. **2015**, 30, 21-27.

Ibuprofén resolválása szuperkritikus szén-dioxid alkalmazásával

Lőrincz László¹, Zsemberi Máté¹, Bánsághi György¹, Madarász János², Sohajda Tamás³, Székely Edit¹

¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rkp 3., lorinczlaszlo006@gmail.com

²Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, 1111 Budapest, Szent-Gellért tér 4.

³Cyclolab Kft, 1097 Budapest, Illatos út 7.

Manapság egyre nagyobb jelentősége van az optikailag aktív anyagok előállításának, olyan környezetbarát módszerekkel, amelyek ipari méretben is jól alkalmazhatóak. Az ibuprofén (IBU) elterjedt gyógyszeripari modellvegyület, amely egy kiralitás centrumot tartalmazó gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító szer. Gyakran racém formában forgalmazznak, viszont csak az (S) enantiomerje hatásos, melynek hatása tisztán alkalmazva majdnem 100-szer erősebb. A racém ibuprofén resolválásának egyik lehetősége a diasztereomer sóképzésen alapuló elválasztás antiszolvens módszerrel.

Az antiszolvens módszer lényege, hogy a szerves savat reagáltatjuk egy enantiomertiszta szerves bázissal olyan oldószerben, melyben a keletkezett diasztereomer só jól oldódik, majd ezt az oldatot elegyítjük egy nyomásálló készülékben a szuperkritikus szén-dioxiddal. Mivel a poláris diasztereomer só nem oldódik az apoláris szén-dioxidban, ezért a só kristályai kiválnak a készülékben, az el nem reagált komponensek pedig extrakciós módszerrel eltávolíthatók.

Munkánk során az ibuprofén (*R*)-feniletíl-aminnal (FEA) történő resolválását és kristályosítását vizsgáltuk szuperkritikus gáz antiszolvens (GAS) módszerrel. Részletesen vizsgáltuk a racém anyag és a resolváló szer molarányának hatását, amelynek jelentős hatása van mind a diasztereomer tisztaságra, mind a termelésre.

Különböző kiindulási enantiomer felesleg értékű elegyekből vizsgáltuk a továbbtisztítási lehetőségeket az első lépésben keletkező só átkristályosításával, illetve félekvivalens molarányú újresolválással. Mindkét esetben elmondható, hogy sikerült továbbtisztulást elérni, amivel akár 99%-os enantiomer tisztaság is elérhető. A GAS módszerrel elvégzett sikeres átkristályosítás alapján, a továbbtisztíthatóságot átkristályosítással vizsgáltuk fél-folyamatos SAS módszerrel is, amely szintén eredményes volt.

Köszönetnyilvánítás: A kutatómunkát az OTKA (K108979) és az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

Resolution of ibuprofen using supercritical carbon dioxide

László Lőrincz¹, Máté Zsemberi¹, György Bánsághi¹, János Madarász², Tamás Sohajda³, Edit Székely¹

¹Budapest University of Technology and Economics, Department of Chemical and Environmental Process Engineering, Műegyetem rakpart 3, Budapest H-1111, Hungary

²Budapest University of Technology and Economics, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Szent Gellért tér 4, Budapest H-1111, Hungary

³Cyclolab Ltd., Illatosút 7, Budapest H-1097, Hungary

There is an increasing demand in several fields of the chemical industry for optically active compounds. Large capacity production of substances of high enantiomeric purity require economically and environmentally favourable routes. Ibuprofen has been applied as a pharmaceutical model compound which is a widely applied analgesic and is often marketed in racemic form. However, the bioavailability of pure (S)-IBU is 100 times higher than that of the racemic form. The resolution of racemic ibuprofen can be carried out using antisolvent crystallization based on diastereomeric salt formation.

In gas antisolvent method an organic solution of the racemate and the resolving agent was placed in a high-pressure vessel followed by the pressurization with carbon dioxide acting as an antisolvent. The unreacted enantiomers and the solvent were removed by the extraction step. After depressurization, the diastereomeric salt was recovered in solid form.

In this work we studied the resolution of ibuprofen (IBU) with (R)-1-(phenylethyl)amine (PhEA) as a model system to investigate the effects of the molar ratio between the racemic compound and the resolving agent in details, that had a significant effect on both the diastereomeric purity and yields.

We investigated the feasibility of further purification, by recrystallization at molar ratio 1 and resolution at molar ratio 0.5. Different initial enantiomeric purity was observed in the products compared to that in the starting materials. The conclusion could be made that the further purification was accomplished in case of both molar ratios. The further purification can be carried out up to any extent, 99% of raffinate enantiomeric purity can be achieved in three steps. The further purification was investigated based on these results by using the semi-continuous supercritical antisolvent method (SAS), which was also successful.

Acknowledgment: This work was supported by the National Scientific Research Foundation (grant No. K108979) and the Bolyai János Research Fund.

A többfunkciós TPPP/p25 fehérje fiziológias és patológias kölcsönhatásai: út specifikus anti-Parkinson molekulák fejlesztéséhez

Szabó Adél

MTA TTK Enzimológiai Intézet, 1117 Budapest, Magyar tudósok krt. 2.,
szaboadel90@gmail.com

A neurodegeneratív betegségek kialakulásában meghatározó szerepet játszanak a rendezetlen fehérjék. A Sejtarchitektúra csoport azonosított egy ilyen agyspecifikus fehérjét, melyet Tubulin Polymerization Promoting Protein/p25-nek (TPPP/p25) nevezett el; a fehérje a mikrotubuláris rendszer stabilitását és dinamikáját szabályozza. A TPPP/p25 eredendően rendezetlen: szerkezet nélküli N- és C-terminális szegmensei egy flexibilis „core” régiót fognak közre. A fehérje normál humán agyban az oligodendrocitákban fejeződik ki, míg Parkinson-kór (PD) és multiszipstémás atrófia esetén az ideg- és a glia sejtek zárványtesteiben halmozódik fel a szintén rendezetlen α -szinukleinnel (SYN) együtt, ami ezen betegségek jellemző kórképe. A TPPP/p25 a „neomorphic moonlighting” fehérjék prototípusa, mivel többféle, eltérő fiziológias és patológias funkciót lát el, génszintű változás nélkül. A csoport specifikus gyógyszer-célpont validálását tűzte ki célul a PD kezelésére. Bár a TPPP/p25 és a SYN a PD biomarker fehérjéi, gyógyszer-célpontként való alkalmazásuk nem ideális, mert rendezetlen és többfunkciójú, „moonlighting” fehérjék.

Csoportunk ezért egy új, innovatív stratégiát dolgozott ki, amely a patológias TPPP/p25-SYN komplex kontaktfelületét javasolja specifikus gyógyszer-célpontként, a TPPP/p25 fiziológias (tubulin) kölcsönhatásának befolyásolása nélkül. Ehhez fontos a TPPP/p25 fiziológias és patológias kölcsönhatásaiban szerepet játszó szegmensek azonosítása. Vad típusú és mutáns (N- és/vagy C-terminális nélküli) humán rekombináns TPPP/p25-tel végzett molekuláris és sejtszintű vizsgálataink megmutatták, hogy a C-terminális szegmens játszik meghatározó szerepet a tubulinnal való kölcsönhatásban, míg a patológias TPPP/p25-SYN komplex kialakulásában a flexibilis „core” régió vesz részt. Szintetizált peptidokkal végzett kísérletek megerősítették, hogy a TPPP/p25 178-187 és 147-156 szakaszai kulcsfontosságúak a fiziológias és a patológias komplex kialakulásában. A patológias komplex kontaktfelületét, mint gyógyszer-célpontot, sejt szinten validáltuk: bizonyítottuk a „core” TPPP/p25 és SYN sejtben belüli ko-aggregációját CHO sejtekben immunfluoreszcens mikroszkópiával; a kontakt felület mimikáló peptid gátolta a két biomarker fehérje patológias ko-aggregációját. Az új stratégiával kapott eredmények jelentősen hozzájárulnak hatékony, specifikus anti-Parkinson molekulák fejlesztéséhez.

Physiological and pathological interactions of the multifunctional TPPP/p25: development of specific anti-Parkinson drugs

Adél Szabó

Institute of Enzymology RCNS HAS, 1117 Budapest, Magyar tudósok krt. 2,
szaboadel90@gmail.com

Disordered proteins often play crucial roles in the etiology of neurological disorders. The Cell Architecture Research Group has identified such a disordered brain-specific protein denoted Tubulin Polymerization Promoting Protein/p25 (TPPP/p25); it modulates the dynamics and stability of the microtubule network. TPPP/p25 is a disordered protein: the unstructured N- and C-terminal segments are straddling a flexible, core region. The protein is expressed in oligodendrocytes of the normal human brain, while in the case of Parkinson's disease (PD) and Multiple System Atrophy it is co-localized and co-enriched with the neuronal alpha-synuclein (SYN) in both neurons and oligodendrocytes forming inclusion bodies as a characteristic clinical symptom. TPPP/p25 is a prototype of the "Neomorphic Moonlighting Proteins" displaying multiple, distinct physiological and pathological functions without alteration at gene level. Our group has especially focused on the validation of drug target(s) for PD therapy. Although both SYN and TPPP/p25 are hallmarks of PD, yet they are not ideal drug targets due to their disordered structure and multiple (moonlighting) functions.

Our group has elaborated a new, innovative strategy based upon targeting the interface of the pathological TPPP/p25-SYN complex without influencing the physiological interaction of TPPP/p25 with tubulin. Therefore, it was necessary to identify the binding segments on TPPP/p25 involved in its physiological and pathological interactions. Our analysis with N- and/or C-terminal free species of TPPP/p25 at molecular and cellular levels revealed that the C-terminal segment plays a crucial role in its interaction with tubulin/microtubule, while the core region is involved in the interaction with SYN forming a pathological complex. Further studies with synthesized peptides underlined that distinct segments, 178-187 aa and 147-156 aa, are participated in the interface of the physiological and pathological complexes of TPPP/p25, respectively. The interface of the pathological complex as a drug target was validated at cellular level: core-TPPP/p25-SYN aggregates were visualized in living CHO cells by immunofluorescence microscopy; the uptake of "interface-peptide" counteracted the pathological assembly of the two hallmark proteins of PD. Thus the established new strategy could significantly contribute to the development of effective anti-Parkinson drug with unique specificity.

Közeli infravörös spektroszkópai módszerek fejlesztése gyógyszeripari minőségbiztosítási célokra

Szabó Éva, Slezsák János, Gergely Szilveszter, Salgó András

Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer tudományi Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4., szabo.eva@mail.bme.hu

A közeli infravörös (NIR) spektroszkópia a gyógyszeriparban is elterjedt analitikai eszköz, mivel gyors- és roncsolásmentes mérést tesz lehetővé. Alkalmazása kiterjedhet az alapanyagok, köztitermékek és végtermékek vizsgálatára, valamint a termelési folyamatok valós idejű monitorozására is. Előadásomban három példán keresztül mutatom be a kiindulási alapanyagok és a végtermék ellenőrzése terén végzett kutatási eredményeimet, melyek során NIR spektroszkópián alapuló módszerek fejlesztését tűztem ki célul.

A minőségi és a mennyiségi kiértékelések során a spektrumok matematikai transzformációin túl csoportelemzést (CA), főkomponens-elemzést (PCA) és részleges legkisebb négyzetek (PLS) módszerén alapuló regressziót alkalmaztam. A sokváltozós adatelemzésekkel (MVDA) kapott eredményeink igazolják, hogy NIR spektrumok alapján megkülönböztethetők a megfelelően tárolt és a hőhatásnak kitett emulóssejtes tápoldatporok. [1] Ezen felül három, eltérő optikai elven működő készüléket (diszperziós, Fourier-transzformációs, diódasoros) hasonlítottunk össze:

- kismolekulás alapanyagok polietilén (PE) fólián keresztüli megkülönböztetésében,
- valamint a transzdermális gyógyszerkészítmények hatóanyag (API) koncentrációjának mennyiségi meghatározásában.

Hivatkozás:

[1] É. Szabó, L. Párta, D. Zalai, S. Gergely, A. Salgó; *J. Near Infrared Spectrosc.* **2016**, 24(4), 373–385.

Development of near infrared spectroscopic methods for quality assurance purposes in pharmaceutical industry

Éva Szabó, János Slezsák, Szilveszter Gergely, András Salgó

Department of Applied Biotechnology and Food Science, Budapest University of Technology and Economics, Szent Gellért tér 4., H-1111 Budapest, Hungary. szabo.eva@mail.bme.hu

Near infrared (NIR) spectroscopy is a widespread analytical device in pharmaceutical industry as it can enable rapid and non-destructive measurements. Its application covers controlling of raw materials, intermediers and products as well as real-time monitoring of production process. In this presentation three examples introduce my research in development of NIR spectroscopic methods for quality assurance of raw materials and final products with near infrared spectroscopy.

Over mathematical transformations of spectra, cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and partial least squares (PLS) regression were applied to qualitative and quantitative evaluations. Our results based on multivariate data analysis (MVDA) confirm, that well stored and heat-treated cultivation media for mammalian cells can be separated using NIR spectra. [1] Furthermore, effectiveness of three near infrared spectrophotometers with different optical arrangements (dispersive, Fourier-transformed, diode-array) were compared

- in discrimination of different types of small molecular pharmaceutical raw materials through polyethylene (PE) packaging,
- as well as in quantitative analysis of active pharmaceutical ingredient (API) concentration in transdermal gel formulations.

Reference:

[1] É. Szabó, L. Párta, D. Zalai, S. Gergely, A. Salgó; *J. Near Infrared Spectrosc.* **2016**, 24(4), 373–385.

N₂O és CO kis rézklaszterekkel katalizált reakciója: mechanizmus és design

Barabás Júlia¹, Olasz András², Veszprémi Tamás¹, Höltzl Tibor²

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, 1111, Budapest, Műegyetem rkp. 3., julia.barabas@mail.bme.hu.

²Furukawa Electric Institute of Technology, 1158, Budapest, Késmárk u. 28/A.

Az utóbbi években a fémklaszterek kutatása iránt igen nagymértékben megnőtt az érdeklődés, köszönhetően elsősorban annak, hogy fizikai és kémiai tulajdonságaik jelentősen különböznek a tömbi anyagétól. Tulajdonságaik méretfüggők, hiszen a felület szerkezete és az elektronikus tulajdonságok erőteljesen változnak a méret függvényében ebben a mérettartományban. Így többek között a katalitikus aktivitás is szabályozható a méret hangolásával [1; 2]. A kis ionos rézklaszterek katalitikus aktivitását kísérleti módszerekkel is vizsgálták [3].

Ezen munkának célja a $\text{Cu}_x + \text{N}_2\text{O} + \text{CO} \rightarrow \text{Cu}_x + \text{N}_2 + \text{CO}_2$ ($x = 4-15$) reakció reakciómechanizmusának meghatározása sűrűségfüggő elméleten alapuló számításokkal, ahol a réz mint katalizátor van jelen. Az eredmények azt mutatták, hogy a N₂O gát nélkül kötődik meg a rézklaszter felületén, majd a következő lépésben a nitrogén-oxigén kötés elszakad. A kémiai kötések analízise során azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az oxidion képződése a meghatározó hajtóerő ebben a reakcióban. Emellett megállapíthatjuk, hogy a Cu-O és a Cu-N kötések viszonylag gyengék, ennek köszönhetően deszorbeálódik könnyen a N₂ a klaszterről. Fontos megjegyezni, hogy a páratlan atomszámú rézklaszterek esetében a N₂O adszorpciója termodinamikailag kedvezőbb a páros atomszámúakhoz viszonyítva. A CO adszorpciójának vizsgálata alapján a CO először egy rézatomhoz kötődik a Cu_xO klaszteren, majd egy átmeneti állapoton keresztül kialakul a Cu_x-CO₂ rendszer. Az így képződött CO₂ eliminációja termodinamikailag kedvező folyamat már alacsony hőmérsékleten is.

Összefoglalva megállapítható, hogy a számított eredmények azt mutatják, hogy a rézklaszter jól alkalmazható katalizátorként a $\text{N}_2\text{O} + \text{CO} \rightarrow \text{N}_2 + \text{CO}_2$ reakcióban[4].

Hivatkozás:

[1] P. Serp, K. Philippot; *Nanomaterials in Catalysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, **2013**.

[2] A. T. Bell; *Science*, **2003**, 299, 1688-1691.

[3] S. Hirabayashi, M. Ichihashi; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2014**, 16, 26500-26505.

[4] J. Barabás, T. Höltzl; *J. Phys. Chem. A*, 2016, 120, 8862-8870.

Reaction of N₂O and CO catalyzed with small copper clusters: mechanism and design

J. Barabás¹, A. Olasz², T. Veszprémi¹, T. Höltzl²

¹ Budapest University of Technology and Economics, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Műegyetem rkp. 3., H-1111, Budapest, Hungary, julia.barabas@mail.bme.hu.

² Furukawa Electric Institute of Technology, Késmárk u. 28/A, H-1158, Budapest, Hungary.

In the past few years small metal clusters have become an increasingly interesting topic, because their physical and chemical properties are significantly different from those of the corresponding bulk material. One of the main advantages are their improved catalytic properties, namely high efficiency and selectivity, stability and easy recovering. Catalyst performance is generally sensitive to the particle size because the surface structure and electronic properties can change greatly in this size range. This opens the way to tailor their catalytic activities by appropriate size selection [1, 2]. Catalytic activity of small ionic copper clusters was studied recently using experimental methods [3].

The aim of this work is to determine the reaction mechanism of copper clusters, Cu_x (x = 4-15) toward N₂O and CO using density functional methods. It was shown that N₂O adsorbs on the copper cluster without an activation barrier and the nitrogen-oxygen bond is broken during the next step. The analysis of the chemical bonding showed that the oxide ion formation is an important driving force of the reaction. We can also state that the Cu-O and Cu-N bonds are relatively weak, therefore the N₂ can leave the cluster relatively easily. These facts are important in terms of the reaction pathway. It is important to note that by the clusters consisting even number of copper atoms the N₂O adsorption is thermodynamically more favorable. Examination of CO adsorption shows that first the CO binds to copper atoms on the Cu_xO cluster and then through transition state we can get the Cu_x-CO₂ system. The elimination of the thus formed carbon-dioxide is thermodynamically a highly favoured process, even at low temperature.

In conclusion, the calculated results suggest that copper cluster can be a good catalyst of N₂O + CO → N₂ + CO₂ reaction [4].

References:

- [1] P. Serp, K. Philippot; Nanomaterials in *Catalysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, **2013**.
- [2] A. T. Bell; *Science*, **2003**, 299, 1688-1691.
- [3] S. Hirabayashi, M. Ichihashi; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2014**, 16, 26500-26505
- [4] J. Barabás, T. Höltzl; *J. Phys. Chem. A*, 2016, 120, 8862-8870.

Aminofoszfonsav MIO enzim inhibitorok kísérletes és számítógépes vizsgálata

Bata Zsófia^{1,2}, Qian Renzhe³, Roller Alexanger⁴, Hammerschmidt Friedrich³, Paizs Csaba⁵, Vertessy G. Beáta^{2,6}, Poppe László¹

¹ BME-VBK, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111 bata.zsofia@mail.bme.hu

² MTA TTK, Enzimológiai Intézet, Budapest Magyar tudósok körútja 2, H-1117

³ University of Vienna, Institute of Organic Chemistry, Bécs Währinger Strr 42 A-1090

⁴ University of Vienna, Institute of Inorganic Chemistry, Bécs Währinger Strr 42 A-1090

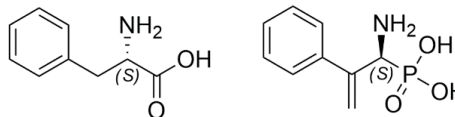
⁵ Babeş-Bolyai University Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Kolozsvár str. Universitatii 7-9, R-400084

⁶ BME-VBK, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi tanszék, Budapest Magyar tudósok körútja 2, H-1117

Aromás aminosav ammonia-liázok és 2,3-aminomutázok közös tulajdonsága, hogy tartalmazzák a poszt-transzlációs módosulással létrejövő 3,5-dihydro-4-methylidene-5H-imidazol-5-one (MIO) prosztetitkus csoportot. A MIO-enzimek felhasználhatóak – ipari szinten is – α - és β -aminosavak enantioszelektív előállítására, utat nyitva környezetbarátabb és olcsóbb kémiai szintézisek alkalmazására. MIO enzimekről több szerkezet is található a PDB adatbázisban, azonban nagytöbbségük hiányos, vagy katalitikusan inaktív konformációban kristályosodott ki. Kompetitív inhibitorok alkalmazása elősegítheti a fehérjék katalitikusan aktív konformációban való kristályosodását.

A három királis aminofoszfonsav inhibíciós tulajdonságait és fehérjéhez való kötődését vizsgáltuk kinetikai mérésekkel és izotermális titrációs kalorimetria segítségével. A mérések

a MIO enzimek képviselőjeként a *Petroselinum crispum* fenilalanin ammónialiázzal (PcPAL) történtek. Az ábrán bemutatott 1-amino-2-fenilprop-2-én-1-ilfoszfonsav (APPA) mért K_i értéke volt a legalacsonyabb. A két legerősebben kötődő molekulát enantiotiszta formában is vizsgáltuk. Meglepő módon az S-APPA, a fehérje természetes szubsztrátjának tükörképi párja, mutatta a legnagyobb inhibíciós hatást. Az elvárásoknak megfelelően az S-APPA hozzáadása elősegítette a PcPAL kristályosodását. Dokkolás segítségével modelleztük az inhibitorok kötődését a fehérje aktív centrumába. A modellezési eredmények alapján valószínűsíthető, hogy a foszfonsav csoport által kialakított három hidrogén híd felelős a vizsgált molekulák erős kötődéséért. A kísérletes megfigyelt inhibíciós hatás, és a dokkolási eredmények is a fehérje N-MIO intermedieren keresztül történő reaktivitására utalnak.



1. Ábra: A PcPAL preferát enantiomerje a természetes szubsztrát fenilalanin és a legerősebb inhibitor APPA esetében

Experimental and computational characterization of aminophosphonic acid MIO enzyme inhibitors

Zsofia Bata^{1,2}, Renzhe Qian³, Alexanger Roller⁴, Friedrich Hammerschmidt³, Csaba Paizs⁵, Beáta G. Vertessy^{2,6}, László Poppe¹

¹ BUTE, Department of Organic Chemistry and Technology, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111 bata.zsofia@mail.bme.hu

² HAS-RCNS Institute of Enzymology, Budapest, Magyar tudósok körútja 2, H-1117

³ University of Vienna, Institute of Organic Chemistry, Vienna Währinger Str 42 A-1090

⁴ University of Vienna, Institute of Inorganic Chemistry, Vienna Währinger Str. 42 A-1090

⁵ Babeş-Bolyai University Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Cluj-Napoca str. Universitatii 7-9, R-400084

⁶ BUTE, Department of Applied Biotechnology and Food Science, Budapest, Műegyetem rkp. 3, H-1111

Aromatic amino acid ammonia-lyases and 2,3-aminomutases contain the post-translationally formed prosthetic 3,5-dihydro-4-methylidene-5*H*-imidazol-5-one (MIO) group. The so called MIO-enzymes may be used – even at industrial scale – for the stereoselective synthesis of enantiopure α - or β -amino acids, hence making the chemical processes more environmentally friendly and more affordable. Even though there are a number of structures already available in the PDB for MIO enzymes, many of them are incomplete or are in a non-catalytically active conformation. Non-covalent competitive inhibitors may enhance crystallization in the catalytically active conformation, thus serving enhanced function-structure

relationship studies on these proteins.

This study describes the characterization of three aminophosphonic acid inhibitors designed for MIO enzymes with phenylalanine ammonia-lyase from

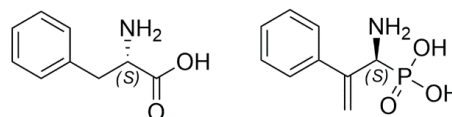


Figure 1: Favored enantiomers of *PcPAL* of the natural substrate phenylalanine and the strongest inhibitor APPA

Petroselinum crispum (*PcPAL*) using enzyme kinetic measurements and isothermal titration calorimetry. From the three molecules the novel 1-amino-2-phenylprop-2-en-1-ylphosphonic acid, shown on the Figure, had the smallest K_i . Following a study with the racemic inhibitors, the *R* and *S* enantiomers were investigated individually. Unexpectedly, the *S* enantiomer of APPA – which is virtually the opposite enantiomer of natural substrate – caused the largest inhibitory effect. Thus *S*-APPA was used in the following crystallization experiments of *PcPAL*. Docking studies confirmed that the inhibitors bind in a similar way as the native substrate, and suggest the molecular mechanism of the inhibition. The inhibitory effect of these aminophosphonic acid compounds further support mechanism of these enzymes involving the *N*-MIO intermediate.

Nem aktivált réz-benzol-1,3,5-trikarboxilát *in situ* fejlődő gáz analízissel kapcsolt termogravimetriás (TG-FTIR és TG/DTA–MS) vizsgálata

Domán Andrea¹, Madarász János², László Krisztina¹

¹Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék,
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1521, Budapest,
doman.andrea@mail.bme.hu

²Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék,
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1521, Budapest

A napjainkban legelterjedtebben alkalmazott gáztárolási módszerek, a gázok nagy nyomáson történő tárolása vagy kriogén tárolók alkalmazása veszélyesek és drágák. Megoldást jelenthet az adszorpciós gáztárolás, ehhez azonban megfelelő adszorbensekre van szükség.

Az utóbbi néhány évtizedben kerültek a kutatás középpontjába a fémorganikus térhálók vagy MOF-ok (Metal Organic Frameworks), melyek fémionokból és szerves ligandumokból felépülő kristályos anyagok. Nagy állandó porozitással, szabályos pórusrendszerrel rendelkező háromdimenziós vázszerkezetek, melyek molekuláris állapotú gázok megkötését teszik lehetővé.

Metán tárolására a réz-benzol-1,3,5-trikarboxilát (Cu_3BTC_2) vagy HKUST-1 az egyik legintenzívebben tanulmányozott MOF. 3D vázszerkezete rendkívül nagy mennyiségű metán megkötésére képes, elérheti a DOE által kitűzött legutóbbi célértéket is (263 cm^3 metán/ cm^3 MOF, 35 bar nyomáson), így ígéretes anyag alacsony széndioxid kibocsátású üzemanyagok tárolására. A szintézise során nyert kristályok pórusait oldószer tölti ki, melyet a felhasználás előtt hőkezeléssel (aktiválás) el kell távolítani. Az így visszamaradt szabad réz oldalaknak és üres pórusoknak köszönhető a nagy látszólagos felületük. A termogravimetria kulcsfontosságú módszer nemcsak az oldószertartalom meghatározására, hanem az aktiválási hőmérséklet optimalizálásához is. Nem aktivált HKUST-1 kristályok termikus viselkedését tanulmányoztam inert és oxidatív közegben egyaránt. Az *in situ* csatolt tömegspektrometriás és Fourier transzformációs infravörös spektroszkópiás gázelemzés a fentiekén túlmenően lehetőséget nyújt a szintetizált termék összetételének vizsgálatára is.

In situ evolved gas analysis assisted thermogravimetric (TG-FTIR and TG/DTA–MS) studies on non-activated copperbenzene-1,3,5-tricarboxylate

Andrea Domán¹, János Madarász², Krisztina László¹

¹ Department of Physical Chemistry and Materials Science,
Budapest University of Technology and Economics, 1521 Budapest,
doman.andrea@mail.bme.hu

² Department of Inorganic and Analytical Chemistry,
Budapest University of Technology and Economics, 1521 Budapest

In the current quest for energy storage systems, a new type of porous material with immense technological potential has recently emerged. The outstandingly large adsorption capacity of porous metal organic frameworks (MOFs) is a consequence of their unique pore structure. MOFs are composed of transition metal ions or clusters linked together by organic ligands. Those that form a three-dimensional open framework with ordered and permanent pore structure are relevant for gas storage application. These days the most widely used gas storage methods such as high pressure gas storage or cryogenic storage are dangerous and expensive. One solution could be the adsorbed gas storage therefore suitable adsorbents are required. Copper benzene-1,3,5-tricarboxylate (Cu_3BTC_2) or HKUST-1 is one of the most intensively studied MOFs for methane adsorption. Its 3D network can adsorb extraordinarily large amount of methane, practically meeting the US DoE target ($263 \text{ cm}^3 \text{ methane/ cm}^3 \text{ MOF}$ at 35 bar) for natural gas storage. It is therefore a very promising material for storing low carbon dioxide emission fuels.

During the synthesis the solvent molecules fill the pores, which have to be removed (activation) prior to the application, leaving behind free copper sites, empty pores and thus outstandingly high apparent surface area. Thermogravimetry (TG) is the key method for providing information on the volatile content and the temperature stability of the MOF samples that is essential in optimizing the activation conditions.

The results of a complete thermogravimetric study of HKUST-1 are reported here together with mass spectrometry and Fourier transform infrared spectroscopy analyses of the evolved gases up to 800 °C. Oxidative and inert conditions were applied to reveal the stoichiometry of the as-received synthesis product.

P-Heterociklos foszfin-boránok és optikailag aktív foszfin-oxidok előállítása foszfóniumsók intermedieren keresztül

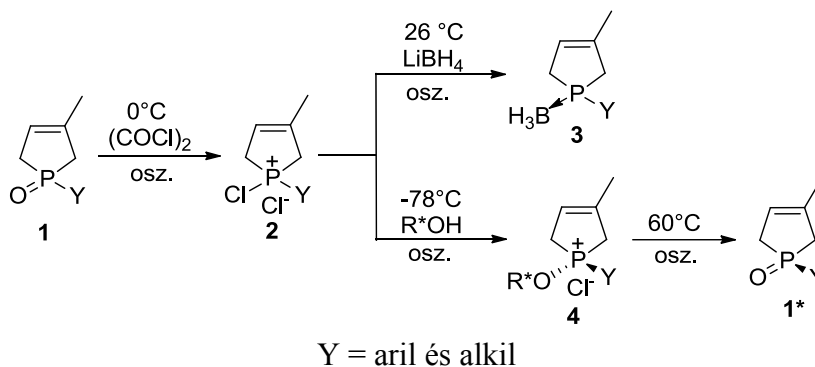
Herbay Réka, Bagi Péter, Fogassy Elemér, Keglevich György

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék,
1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3., e-mail: herbay.reka@mail.bme.hu

Optikailag aktív foszfinok átmenetifém-komplexei enantioszelektív reakciókban alkalmazhatóak katalizátorként, ami mutatja az enantiomertiszta foszforvegyületek előállításának fontosságát [1,2].

Kutatócsoportunkban már évek óta foglalkoznak *P*-heterociklusos vegyületek reakcióival [3], így kutatómunkám során célkitűzésünk volt a 3-foszfólén-boránok (**3**), illetve optikailag aktív 3-foszfólén-oxidok (**5***) előállítása újszerű irodalmi eljárások felhasználásával [4,5]. A 3-foszfólén-oxidokat (**1**) először oxalil-kloriddal reagáltattuk, és így a megfelelő klór-foszfóniumsókhoz (**2**) jutottunk. A klór-foszfóniumsókat (**2**) LiBH₄-del reagáltatva állítottuk elő a megfelelő 3-foszfólén-boránokat (**3**).

Az előállított gyűrűs klór-foszfóniumsók (**2**) értékes intermedierek, ugyanis azokat királis alkoholokkal reagáltatva egymással diasztereomer viszonyban álló alkoxi-foszóniumsók (**4**) képződtek nem egyenlő arányban. Az alkoxi-foszóniumsó (**4**) diasztereomereket nem 1:1 arányban tartalmazó keveréket melegítve *Arbuzov*-reakcióban kaptuk a várt optikailag aktív foszfólén-oxidot (**1***).



1. ábra: 3-Foszfólén-boránok (**3**) és optikailag aktív 3-foszfólén-oxidok (**5***) előállítása

Hivatkozás:

- [1] Börner, A., Ed. *Phosphorus Ligands in Asymmetric Catalysis*; Wiley-VCH: Weinheim, 2008.
- [2] Kollár, L.; Keglevich, G. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 4257.
- [3] Bagi, P.; Ujj, V.; Czugler, M.; Fogassy, E.; Keglevich, G. *Dalton Trans.* **2016**, 45, 1823.
- [4] Rajendran, K. V.; Gilheany, D. G.; *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 817
- [5] Kenny, N. P.; Rajendran, K. V.; Jennings, E. V.; Gilheany, D. G. *Chem. A Eur. J.* **2013**, 19, 14210.

Preparation of *P*-heterocyclic phosphine boranes and optically active phosphine oxides via phosphonium salts

R. Herbay, P. Bagi, E. Fogassy, G. Keglevich

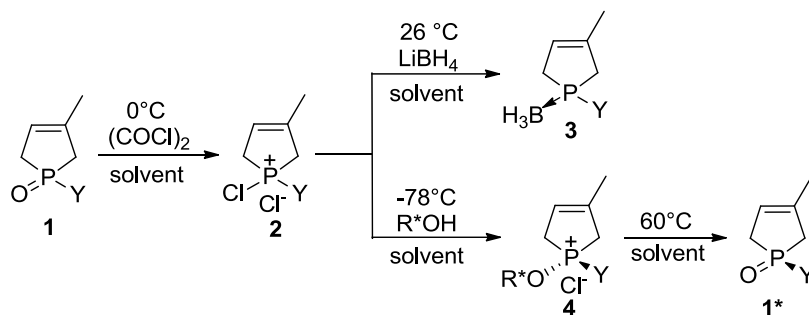
Department of Organic Chemistry and Technology, Budapest University of Technology and Economics, Budapest, Műegyetem rkp. 3., e-mail: herbay.reka@mail.bme.hu

Optically active phosphines form an important group among organophosphorus compounds, as their transition metal complexes are widely used catalysts in homogeneous enantioselective catalytic reactions [1,2].

Continuing the work of our research group in the field of *P*-heterocyclic compounds [3], we aimed the preparation of 3-phospolene boranes (**3**) and optically active phospolene oxides (**1**) via chlorophosphonium salts (**2**) inspired by the methods found in the literature [4,5].

First, aryl- or alkyl-3-phospolene oxides (**1**) were reacted with oxalyl chloride to give the corresponding chlorophosphonium salts (**2**), which were then reacted with LiBH₄ to afford 3-phospolene boranes (**3**) in good yields.

Moreover, the cyclic chlorophosphonium salts (**2**) were reacted with chiral alcohols (R*OH) to provide diastereomeric alkoxyphosphonium salts (**4**) in a ratio different from 1:1. Optically active 3-phospolene oxides (**1***) were formed by the *Arbuzov-collapse* of the diastereomerically enriched alkoxyphosphonium salts (**4**).



Y = aryl and alkyl

1. ábra: Preparation of 3-phospolene boranes (**3**) and optically active 3-phospolene oxides (**5***)

References:

- [1] Börner, A., Ed. *Phosphorus Ligands in Asymmetric Catalysis*; Wiley-VCH: Weinheim, 2008.
- [2] Kollár, L.; Keglevich, G. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 4257.
- [3] Bagi, P.; Ujj, V.; Czugler, M.; Fogassy, E.; Keglevich, G. *Dalton Trans.* **2016**, 45, 1823.
- [4] Rajendran, K. V.; Gilheany, D. G.; *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 817
- [5] Kenny, N. P.; Rajendran, K. V.; Jennings, E. V.; Gilheany, D. G. *Chem. A Eur. J.* **2013**, 19, 14210.

Aerogél / TiO₂ kompozitok létrehozása atomi rétegleválasztással

Justh Nóra¹, Mikula Gergő János¹, Dr. László Krisztina², Nagy Balázs², Dr. Erdélyi Zoltán³, Dr. Parditka Bence³, Igricz Tamás⁴, Dr. Szilágyi Imre Miklós^{1,5}

1: BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.
justh.nora@gmail.com

2: BME Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, 1521 Budapest, Pf. 91

3: DE Szilárdtest Fizikai Tanszék, 4026 Debrecen, Bem tér 18/b

4: BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék, 1111 Budapest, Budafoki út 8. F. II. mfsz.

5: MTA-BME Műszaki Analitikai Kémiai Kutatócsoport, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.

Munkánk során aerogélekkel foglalkoztunk, melyek számos előnyös tulajdonsággal bírnak, például nagy a fajlagos felületük, kiváló hőszigetelők, elektromos jellemzőik a szintézis során befolyásolhatóak, és akár félvezető-oxidokkal is adalékolhatóak. Az aerogél struktúra bevonására a választásunk a gázfázisú felületkontrollált atomi rétegleválasztásra (ALD) esett. Ezen módszer lehetővé teszi nanoszerkezetek felületének homogén bevonását. Célunk tehát titán-dioxid/aerogél kompozitok létrehozása volt. A szol-gél eljárással szintetizált rezorcin-formaldehid polimer hidrogélt szuperkritikus CO₂-dal szárítottuk, így létrehozva a polimer aerogélt (RFA). Ebből elszenesítéssel nyertük a szén aerogélt (RFCA). A hordozókra két különböző hőmérsékleten választottunk le ALD-vel titán-dioxidot. Az alkalmazott prekursorok [TiCl₄] és H₂O voltak. A mintákat N₂ adszorpcióval, valamint TG/DTA-MS, FT-IR, Raman, XRD, SEM-EDX és TEM módszerekkel vizsgáltuk.

A SEM-EDX eredmények és a TEM-felvételek alapján a TiO₂ leválasztása sikeres volt mind a két hordozón mindkét hőmérsékleten. A Raman-felvételek alapján a 250 °C-on létrehozott kompozitok esetében kristályos fázist azonosítottunk, míg 80 °C-on amorf TiO₂ jött létre. Metilnarancs oldatba helyezve a mintákat követtük a festék UV-fény alatt bekövetkező bomlását, így vizsgálva a fotokatalitikus felhasználási lehetőségeket. Az RFA esetén a leválasztott kristályos, anatóz TiO₂ jelentős aktivitást mutatott, ugyanakkor az amorf TiO₂ is elősegítette a festék bomlását. Emellett az RFA mint nagy fajlagos felületű hordozó is mutatott korlátozott aktivitást. Az RFCA esetén ez a tendencia csak a fajlagos felület figyelembe vétele esetén áll fenn, mivel az ALD jelentősen befolyásolta azt. Az RFCA hordozó katalitikus hatása önmagában is nagymértékű volt az RFA-hoz képest. Valamint azt tapasztaltuk, hogy a 250 °C-os ALD hőmérséklet rontja a hordozó és a belőle előállított kompozit aktivitását is, mivel ezen a hőmérsékleten már több funkciós csoport leszakad. Összességében ezekből az aerogélekből nagy fajlagos felületű és aktivitású kompozitok hozhatóak létre, melyekben az amorf TiO₂ is katalitikus hatást fejt ki.

Preparation of aerogel/TiO₂ composites by atomic layer deposition

Nóra Justh¹, Gergő János Mikula¹, Dr. Krisztina László², Balázs Nagy², Dr. Zoltán Erdélyi³, Dr. Bence Parditka³, Tamás Igricz⁴, Dr. Imre Miklós Szilágyi^{1,5}

1: BME Department of Inorganic and Analytical Chemistry, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.
justh.nora@gmail.com

2: BME Department of Physical Chemistry and Materials Science, 1521 Budapest, Pf. 91

3: Department of Solid State Physics, University of Debrecen, 4026 Debrecen, Bem tér 18/b

4: BME Department of Organic Chemistry and Technology, 1111 Budapest, Budafoki út 8. F. II. mfsz.

5: MTA-BME Technical Analytical Chemistry Research Group, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.

The aerogels in our research focus have several favorable properties, e.g. high specific surface, excellent heat insulation, their electrical properties can be tuned through their synthesis, and they can be doped with semiconductor oxides. To coat the aerogel structures atomic layer deposition (ALD) we chose, because it is a surface controlled, gas phase deposition technique and it enables the coating of complex nanostructures. Hence, our aim was to prepare aerogel/TiO₂ composites. The resorcinol-formaldehyde hydrogel prepared by sol-gel was dried by supercritical CO₂, and we obtained the polymer aerogel (RFA). From it the carbon aerogel (RFCA) was prepared by pyrolysis. TiO₂ was grown on both substrates by ALD from TiCl₄ and H₂O precursors at two temperatures. The samples were studied by N₂ adsorption, TG/DTA-MS, FT-IR, Raman, SEM-EDX and TEM.

Based on the SEM-EDX and TEM results the TiO₂ deposition was successful on both substrates and temperatures. Based on the Raman spectra we could identify the anatase crystalline phase at 250 °C, but at 80 °C the TiO₂ was amorphous. To test photocatalytic properties of the samples, the decomposition of methyl-orange dye under UV radiation was followed by UV-VIS. In the case of the RFA the ALD grown crystalline TiO₂ showed significant photocatalytic activity, while the composite with the amorphous TiO₂ phase also catalyzed the MO decomposition to a smaller extent. The high surface area RFA substrate also had a small photocatalytic effect in itself. However, in the case of RFCA, the photocatalytic data had to be corrected with the BET surface area, because the ALD influenced it considerably. The RFCA substrate was an even better a photocatalyst than the RFA, but the ALD deposition at 250 °C lowered this activity, due to loss of surface function groups. In summary, high specific surface area and photocatalytic composites can be made from resorcinol-formaldehyde aerogels, and in these composites the amorphous TiO₂ has also photocatalytic effect.

Klórozott mandulasav származékok gáz antiszolvens frakcionálással történő átkristályosítása: egy új módszer nem racém enantiomerkeverékek továbbtisztítására

Kőrösi Márton¹, Madarász János², Sohajda Tamás³, Székely Edit⁴

¹ BME Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék, 1111 Budapest, Budafoki út 6-8.;
mkorosi13@gmail.com

²BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.

³Cyclolab Kft., 1097 Budapest, Illatos út 7.

Az enantiomerek eltérő élettani sajátosságai miatt a vegyipar több ága számára is fontos az enantiomertiszta vegyületek előállítása. Sok esetben azonban nem érhető el egy lépésben a kellő enantiomertisztaság. Ilyenkor szükség van az enantiomerkeverék továbbtisztítására, valamint a művelet háttérében álló, korlátozó folyamatok ismeretére [1].

Enantiomerkeverékek átkristályosítással történő továbbtisztítása céljából elsőként alkalmaztunk szuperkritikus szén-dioxiddal megvalósított gáz antiszolvens (GAS) frakcionálást. Ennek során a kristályosítani kívánt klórozott mandulasav-származékok telített acetonitriles oldatát laboratóriumi autoklávban elegyítettük szuperkritikus szén-dioxiddal. Az így létrejövő polaritáscsökkenés nagy túltelítettséget eredményez, ami kristálykiváláshoz vezet. A műveleti paraméterek megfelelő beállításával (esetünkben 160 bar, 40 °C, 100 mg sav telített oldatának bemérése) részleges kristályosítás érhető el. Ezután tiszta szén-dioxiddal végzett extrakcióval eltávolíthatóak az oldott komponensek, így a felhasznált segédoldószer is. A minimális mennyiségű szerves oldószer használata mellett a művelet előnyei lehetnek még a gyorsaság, a kristályos termék nagy tisztasága és számos esetben szabályozható morfológiája.

Az enantiomertisztaság megváltozásán kívül vizsgáltuk a továbbtisztítás során tapasztalt eutektikus viselkedés és az olvadási fázisdiagramok korrelációját. A két mérési módszerrel kapott eutektikus összetételek jó egyezése a pillanatszerű kristályosodás dacára a termodinamikai kontroll dominanciáját sugallja. Akárcsak a tradicionális átkristályosítások esetén, a továbbtisztíthatóság ezúttal is függ a kiindulási enantiomertisztaság eutektikus ponthoz viszonyított helyzetétől. Fentebb említett előnyei miatt azonban a GAS frakcionálás hatékony módszer lehet a nem racém enantiomerkeverékek átkristályosításában.

Hivatkozás:

[1] F. Faigl, E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálovics, J. Schindler, *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, 8., 947–959.

Gas antisolvent fractionation of chlorinated mandelic acid derivatives: a new method for the further purification of non-racemic enantiomeric mixtures

Márton Kőrösi¹, János Madarász², Tamás Sohajda³, Edit Székely⁴

¹ BUTE; Department of Environmental and Chemical Process Engineering, Budafoki út 6-8; H-1111 Budapest, Budafoki út 6-8.; mkorosi13@gmail.com

²BUTE; Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Szent Gellért tér 4. H- 1111 Budapest,

³ Cyclolab Ltd., Budapest, P.O.Box 435, H-1525 Hungary

Because of their different biological effects, the production of pure enantiomers is needed by multiple chemical industries. In many cases it is not possible to reach the necessary enantiomeric purity in one step. Thus, it is needed to further purify the non-racemic mixture and to know the limiting background processes.

Gas antisolvent fractionation is used for the first time for the enhancement of enantiomeric purity by recrystallization. Saturated acetonitrile solutions of the chlorinated mandelic acids were mixed with supercritical carbon-dioxide in a laboratory autoclave. The decrease in the polarity of the solvent results in huge oversaturation and precipitation. By choosing appropriate operational parameters (160 bar, 40 °C and the solution of 100 mg of acid) a partial precipitation can be performed. The dissolved components, thus also the organic solvent can be extracted using supercritical carbon dioxide. Besides the minimal amount of organic solvent applied, the main advantages of the method are its rapidity, the high purity of the crystalline product and its often controllable morphology.

In our study, not only the change in the enantiomeric purity during the further purification was investigated, but the also the correlations between the eutectic behavior observed during the recrystallizations and in the melting point phase diagrams of the compounds. The very similar eutectic compositions according to both methods suggest the dominance of thermodynamic control despite the instantaneous precipitation during the GAS process. As well as in traditional recrystallization, the relation of the initial enantiomeric purity and the eutectic composition strongly influences, limits the possibility of further purification. However, according to its advantages mentioned above, GAS fractionation can be an effective method in the further purification of non-racemic mixtures by recrystallization.

Reference

[1] F. Faigl, E. Fogassy, M. Nógrádi, E. Pálovics, J. Schindler, *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, 8., 947–959.

Szemikristályos polimerek optikai tulajdonságait befolyásoló szerkezeti tényezők felderítése

Sepsi Örs¹, Molnár János², Lenk Sándor¹, Ujhelyi Ferenc¹, Menyhárd Alfréd²

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Atomfizika Tanszék, 1111 Budapest, Budafoki út 8.

² Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, 1111 Budapest, Egry József u. 1., molnar.janos@mail.bme.hu

Az izotaktikus polipropilén (iPP) a csomagolóipar területén is széleskörűen elterjedt, egyik legdinamikusabban fejlődő tömegműanyag. Népszerűségét elsősorban alacsony árának és jó mechanikai tulajdonságainak (ütésállóságának, szakítószilárdságának) köszönheti. Ezen iparág területén használt anyagoknak a mechanikai követelmények és az alacsony ár mellett egy harmadik, kulcs tulajdonsággal is rendelkezniük kell: megfelelő optikai tulajdonságokkal, átlátszósággal kell bírniuk. A szemikristályos polimerek (mint az iPP), a kristályos fázis fényszórása következtében az ipar bizonyos területei által elvárt átlátszóságot önmagukban nem tudják teljesíteni.

Kutatásom célja, azon szerkezeti tényezők felderítése, melyek döntően meghatározzák egy szemikristályos polimer optikai tulajdonságait, elsősorban homályosságát, illetve egy olyan modell készítése és validálása, mellyel az optikai tulajdonságok leírhatók, értelmezhetők. A modell megalkotásához előzetes méréseket végeztem különböző szerkezetű (gócsűrűség, szferolitméret, mintavastagság) mintákon, több különböző mérési módszerrel azért, hogy minél többet megtudjak a homályosságot befolyásoló tényezőkről.

Az előzetes mérések alapján, a modell alapjául szolgáló szórási egységnek a szferolitot választottam melynek fényszórását a Mie szórás törvényszerűségei szerint számítottuk. Egyetlen szferolit esetén a mért és számított szórási kép jó egyezést mutat. A valódi mintát szóró egységek sokaságával jellemeztem és többszörös szórás figyelembe vételével számítottam az optikai tulajdonságokat (fényszórás, homályosság). A modell jól közelíti a valóságot, azonban a becsült és mért értékek között még van eltérés. A modell leírja a homályosság szferolitmérettől, mintavastagától és hullámhossztól való függését, illetve a szórás iránykarakterisztikáját is. A becsült és mért értékek egyezése egyelőre még nem pontos, a modell finomhangolása még folyamatban van. A célul kitűzött modell, ha a finomhangolás eredményes lesz, jelentősen gyorsíthatja majd a clariferek fejlesztésének folyamatát. A kristályos szerkezet és optikai tulajdonságok jobb megismerése továbbá lehetőséget ad az olcsóbb szemikristályos polimerek felhasználási területének kibővítésére.

Relation between the supermolecular structure and light scattering behavior in birefringent semicrystalline polymers

Ö. Sepsi¹, J. Molnár², S. Lenk¹, F. Ujhelyi¹, A. Menyhárd²

¹Department of Atomic Physics, Budapest University of Technology and Economics, 1111 Budapest, Budafoki út 8.

²Department of Physical Chemistry and Materials Science, Budapest University of Technology and Economics, 1111 Budapest, Egrý József u. 1., molnar.janos@mail.bme.hu

Isotactic polypropylene (iPP) is one of the fastest-developing and widely used commodity polymer in the packaging industry due to its low cost and good impact resistance. However, in certain areas of the packaging, good mechanical properties are not enough without proper optical properties. As a result, amorphous polymers with good optical properties (polystyrene, poly(vinyl chloride), polycarbonates etc.) are more often used in this area, but these polymers are much more expensive than iPP. iPP, like all other semicrystalline polymers, usually has strong light scattering and poor transparency, because the supermolecular units formed during crystallization scatters the light. In the industrial practice highly efficient nucleating agents called clarifiers, are used to overcome this drawback and reduce the haziness of semicrystalline polymers.

Our research aims to reveal all key factors that determine the haze and to develop a model which describes optical properties of semicrystalline polymers based on structural parameters. Model samples with variable structural parameters, like nucleus density, spherulite size, sample thickness were used during the development of our model. Its reliability was tested in a wide range of haze, on samples which were made under different conditions, having different thicknesses. Our model describes well the haze-spherulite size, haze-thickness and haze-wavelength relations.

The predicted and measured values have some deviates, however, the fine-tuning of the model is still in progress. If the fine-tuning will be successful then the model could significantly accelerate the development process of clarifiers, furthermore with a better understanding of the relationship between the crystalline structure and optical properties the quality of the PP products could be improved further and its application could be expanded into new markets.

Az ERD14 rendezetlen chaperon fehérje *in vivo* sejtvédő hatásának vizsgálata

Murvai Nikoletta¹, Szalainé Ágoston Bianka^{1,2}, Magos Zoltán¹, Felméry Anna¹, Tantos Ágnes¹, Szabó Beáta¹, Láng András², Perczel András², Kalmár Lajos¹, Tompa Péter^{1,3}

¹Enzimológiai Intézet, Természettudományi Kutató Központ, Magyar Tudományos Akadémia, Budapest, Magyarország - murvai.nikoletta@ttk.mta.hu

²ELTE Kémiai Intézet, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest, Magyarország

³VIB Department of Structural Biology, Vrije Universiteit Brussel, Brüsszel, Belgium

Az ERD14 (*Early Response to Dehydration 14*) egy, az *Arabidopsis thaliana*-ban fellelhető növényi stresszfehérje, amely abiotikus stressz (hideg, szárazság és magas sótartalom) hatására valamennyi növényi szövetben nagy mennyiségben expresszálódik és fehérje mennyisége a proteom közel 40%-át is kiteheti. Az ERD14 *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok szerint feltételezhetően univerzális chaperon aktivitással rendelkezik. A védő hatás pontos mechanizmusa azonban még nem ismert. Ennek feltérképezése és a szerkezet-funkció közti összefüggések megismerése kutatásunk célja heterológ, bakteriális rendszerben.

Az ERD14 *in vitro* és *in-cell* NMR mérések alapján nagymértékű szerkezeti rendezetlenséggel jellemezhető, csupán néhány konzervált régiója vesz fel tranziensen másodlagos struktúrát (K-szegmensek), melyek nagy valószínűséggel vehetnek részt a partner fehérjék kötésében és a védőhatás kifejtésében [1]. A szerkezet-funkció összefüggés feltárása során különböző deléciós és szekvenciálisan kevert mutánsok sejt túlélésre gyakorolt hatását tanulmányoztam a vad típusú fehérjét tartalmazó sejtekkel szemben. Az ERD14 wt fehérjét túltermelő sejtek életképességi aránya 40%-ról 75%-ra emelkedett az alkalmazott stressz körülmények között (50°C x 15 perc), az egyes kontroll fehérjéket tartalmazó sejtekkel szemben. A randomizált aminosav szekvenciájú ERD14 konstrukció esetén hiányzó chaperon aktivitás, amely a teljesen rendezetlen kontrollfehérje, a Calpastatin esetén is fennáll, arra enged következtetni, hogy a védőhatás kifejtése nem csupán a fehérje aminosav összetételének hozadéka, hanem fehérje-fehérje interakciókra vezethető vissza. A mérések során a Kc- és az S-szegmensek bizonyultak a funkció kifejtésében leginkább fontos régióknak. Hiányuk a védőhatás jelentős mértékű visszaesését eredményezte: a sejtek csupán 53-57%-a élte túl a stresszhatásokat.

Az ERD14 *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok alapján univerzális chaperon aktivitással rendelkezik, a védő hatás pontos mechanizmusa azonban még nem ismert. Az elvégzett *in vitro* és *in-cell* NMR spektrumok alapján a fehérje sejtes környezetben is fenntartja rendezetlen karakterét. A mért spektrumokon detektálható jel kiszélesedések és eltolódások, viszont kölcsönhatásra engednek feltételezni, melyek főleg a védőhatás kifejtésében is fontos K-szegmensek régióiba lokalizálódnak.

Hivatkozás:

[1] Szalaine Agoston, B.; Kovacs, D., Tompa, P. & Perczel, A., *Biomol. NMR Assign.* **2011**, *5*, 189-193.

Dissecting the chaperone activity of intrinsically disordered plant ERD14 *in vivo*

Nikoletta Murvai¹, Bianka Szalaine Agoston^{1,2}, Zoltan Magos¹, Anna Felmery¹, Agnes Tantos¹, Beata Szabo¹, Andras Lang², Andras Perczel², Lajos Kalmar¹, Peter Tompa^{1,3}

¹Institute of Enzymology, Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary - murvai.nikoletta@ttk.mta.hu

²Institute of Chemistry, Eötvös L. University, Budapest, Hungary

³VIB Department of Structural Biology, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium

Intrinsically disordered stress proteins (IDSPs), such as *A. thaliana* ERD14, can protect client proteins and cells under dehydration stress conditions. The protein's chaperone activity have been proven *in vitro* and it's suspected universality was examined with different methods like a special survival experiment developed by the lab. In addition to clarify the wild-type ERD14 protective role, the systematically examination of the sequentially mixed and deletion mutants in *E. coli* bacterial expression system that can reveal the structure-function relationship. In the survival experiments dehydration and increased temperature are modeled as abiotic stress effects.

The protein is largely disordered both *in vitro* and *in vivo*, with its short conserved regions (Ka-, Kb-, Kc-, Chp- and H-segments), which transiently sample helical conformations *in vitro*, involved in recognizing partner proteins in the cell^[1]. Overexpressed ERD14 raises viability of cells from 40% to 75% following heat stress (50°C x 15 min) and the solubility remained after stress for the complete proteome as a result of the increased thermal tolerance. Deleting Kc-, Chp- and H-segments decreases chaperone activity, whereas scrambling the entire protein impairs activity. It has revealed that the more important regions are the Kc- and S-segments in the perspective of survival. The fully disordered chaperone is stable in the cell under stress, its protective effect is not saturable, which suggest that its primary effect is a physical protection of proteins localized in the cytoplasm.

In-cell NMR data were mapped to the sequence of ERD14. The disappearance and broadening scores have been located at the regions of K-segments, which have a significant effect on survival rate in the applied stress assay. It is a strong presumption that these conserved regions of ERD14 (Ka through Kc) are participated in partner binding and it had been confirmed before that the K-segments have greater propensity of forming secondary structures. The results of the NMR measurements demonstrate that ERD14 is mostly disordered in the cytoplasm. In all data provide evidence that the structural disorder and protein function could be connected in live cells, leading to a testable molecular hypothesis about molecular mechanism of this intrinsically disordered chaperones.

References:

[1] Szalaine Agoston, B.; Kovacs, D., Tompa, P. & Perczel, A., *Biomol. NMR Assign.* **2011**, 5, 189-193.

Racionálisan tervezett, hatékony, szol-gél rendszerekbe zárt *Candida antarctica* lipáz B

Nagy Flóra¹, Weiser Diána¹⁻³, Bánóczy Gergely¹, Oláh Márk¹, Kemény Sándor⁴, Poppe László^{1,2}

¹Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, H-1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3, E-Mail: nagy.flora@mail.bme.hu

²SynBiocat Kft., H-1024 Budapest, Lövőház u 19/1,

³Fermentia Kft., H-1049, Budapest, Berlini út 47-49,

⁴Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék, Budapesti Műszaki és gazdaságtudományi Egyetem, H-1111 Budapest, Budafoki út 8.

A biokatalízisnek egyre fontosabb szerepe van a modern szerves kémiai szintézisek során, a kiemelkedő aktivitásnak, szelektivitásnak és specifitásnak köszönhetően. Az előbb említett előnyök ellenére a biokatalizátorok széles körű alkalmazásához az újrafelhasználhatóságnak kulcsszerepe van, ennek hiányában az enzimek használata gazdaságtalan. Az immobilizált enzimek, funkcionális hatékonyságukkal és jó visszaforgathatóságukkal megoldást jelentenek a problémára.

A szol-gél immobilizálás egy a számos immobilizálási módszer közül, melynél az enzim egy polimer mátrix rendszerbe van rögzítve. Az enzimet körül vevő polimer láncok képesek szignifikánsan növelni a biokatalizátor kémiai és fizikai tulajdonságait.

Munkánk során a bioinformatika és a kísérlettervezés eszközeit felhasználva, racionális tervezés útján hoztunk létre szol-gél rendszerekbe zárt *Candida antarctica* lipáz B (CaLB) biokatalizátorokat. A bioinformatika eszköztárának segítségével az enzim aktív centruma molekuláris bioimprintig segítségével formálható, ahol az imprinting ágens a szubsztrát vagy egy ezzel analóg molekula. Az immobilizálás során az imprinting ágensek megfelelő megválasztása növelheti a rögzített lipáz aktivitását és enantiomerszelektivitását.

A kísérlettervezés – az eredmények statisztikai elemzésén alapulva – egy alkalmas megoldást biztosít komplex kompozíciók optimalizálásánál a kísérletek számának minimalizálásával. A biokatalizátorok katalitikus tulajdonságainak statisztikai elemzésével az optimális elegy összetétel felfedezhető.

Az “immobilizáció mérnökség” segítségével kapott összetételeket a CaLB rögzítésére laboratóriumi méretben, a legsikeresebb készítményt méret növelve is sikeresen előállítottuk. Az így keletkezett új biokatalizátorok lehetővé teszik racém alkoholok és aminok kinetikus reszolválását rázatott kisüvegben és folytonos rendszerben egyaránt.

Rationally designed, effective *Candida antarctica* lipase B immobilized in sol-gel systems

Flóra Nagy¹, Diána Weiser¹⁻³, Gergely Bánóczy¹, Márk Oláh¹, Sándor Kemény⁴, László Poppe^{1,2}

¹Budapest University of Technology and Economics, Department of Organic Chemistry and Technology, Műegyetem rkp. 3, H-1111 Budapest, E-Mail: nagy.flora@mail.bme.hu

²SynBiocat LLC, Lövőház u 19/1, H-1024 Budapest

³Fermentia Ltd., Berlini út 47-49, H-1049, Budapest

⁴Budapest University of Technology and Economics, Department of Chemical and Environmental Process Engineering, H-1521 Budapest

Biocatalysis is becoming increasingly important as an efficient and green tool for modern organic synthesis due to the high activity, selectivity and specificity under mild reaction conditions. Despite of all advantages, for large extent commercialization of these biocatalysts, their reusability factor becomes obligatory, failing this attribution they would be no longer economic. Immobilized enzymes with functional efficiency and enhanced recovery are able to solve this problem.

The sol-gel immobilization is one of the multifarious immobilization methods, where the enzyme is entrapped in a cross-linked polymer matrix. The polymer chains around the enzyme are able to significantly increase the chemical and physical properties of the biocatalysts. During this work, rational development of sol-gel enzyme immobilization process was performed using bioinformatics and experimental design tools for manufacturing sol-gel entrapped *Candida antarctica* lipase B (*CaLB*) biocatalysts. Bioinformatic tools can help in tuning the shape of the active site of the enzyme by molecular imprinting with substrates or their analogues. The mutual effect of bioimprinting agents influencing the activity and enantioselectivity of lipases could be tuned by rationally selected additives during entrapment. Experimental design – based on statistical analysis of outcomes – provides a suitable solution to minimize the practical effort to optimize complex compositions. Investigating the catalytic properties of the biocatalysts, with the aid of mixture model-based response surface graphics, the optimal component combination can be explored.

This “immobilization engineering” approach was applied in design of suitable ternary silane blends for entrapment of *CaLB* from laboratory to pilot scale. The efficiency and robustness of the resulting novel, industrially applicable “green catalysts” enabled kinetic resolutions of several racemic alcohols and amines in batch and continuous-flow modes.

Vas-volframát (FeWO_4) nanolemezek előállítása hidrotermális eljárással

Nagyné Kovács Teodóra¹, Dr. Pokol György^{1,2}, Dr. Lukács István³, Dr. Szilágyi Imre Miklós^{1,4}

¹BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, 1111 Budapest, Szent Gellért 4., kovacs.teodora@mail.bme.hu

²MTA Természettudományi Kutatóközpont, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

³MTA Műszaki fizikai és anyagtudományi kutatóintézet, 1121 Budapest, Konkoly-T. út 29-33.

⁴MTA-BME Műszaki Analitikai Kémiai Kutatócsoport, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.

A volfrám-oxidokat és fém-volframátokat elterjedten alkalmazzák katalizátorként, fotokatalizátorként, gázszenzorként, stb. és gyakran állítják elő hidrotermális úton, mely nátrium-volframátból (Na_2WO_4) és sósavból indul ki. A reakció végeredményét befolyásolják a felhasznált prekursorok, segédanyagok, pH és hőmérséklet (180-200 °C). A szakirodalom szerint a hexagonális volfrám oxid (h- WO_3) előállításánál Na_2SO_4 vagy $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a segédanyag, FeWO_4 -nél pedig Mohr-só [$(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$], FeSO_4 vagy FeCl_3 .

Kutatómunkánk során azt vizsgáltuk, miképpen befolyásolja a termék kristályos fázisait és morfológiáját a különféle segédanyagok: Na_2SO_4 , FeSO_4 , Mohr-só, ammónium-vastimsó [$(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$] és FeCl_3 . Minden reakciót 180 és 200 °C-on is elvégeztünk.

A reakciótermékek kristályszerkezetét röntgen-pordiffrakcióval (XRD), morfológiáját pásztázó elektronmikroszkópiával (SEM) tanulmányoztuk. Az előállított tiszta fázisú termékeket (h- WO_3 nanorudak és FeWO_4 nanolemezek) további módszerekkel vizsgáltuk (EDX, TEM, FT-IR, Raman, Uv-Vis), végül pedig fotokatalitikus aktivitásukat mértük.

Na_2SO_4 esetén 180 és 200 °C-on is tiszta h- WO_3 -ot állítottunk elő, 50-500 nm vastag nanorudas formában. FeSO_4 alkalmazásával 180 °C-on a termék keverék lett, mely tartalmazott FeWO_4 -ot is, 200 °C-on azonban tiszta fázisban keletkezett. Utóbbira egységes, 20-30 nm vastag lemez alak jellemző. A többi segédanyagot azonos tömeg- vagy mólarány szerint használtuk fel (180 és 200 °C-on is), de egyik esetben sem keletkezett tiszta fázisú FeWO_4 . A termékek jellemző fázisai: h- WO_3 , és egyéb, Fe^{3+} ionokat tartalmazó vegyületek (pl. $\text{Na}_{0,24}(\text{H}_3\text{O})_{0,76}\text{Fe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$, $\text{Fe}_2(\text{WO}_4)_3$).

A h- WO_3 nanorudak ($E_g=3,05$ eV) és az FeWO_4 nanolemezek ($E_g=1,73$) is fotokatalitikusan aktívak voltak. A FeWO_4 minta két és félszer hatékonyabb fotokatalizátornak bizonyult, melynek lehetséges oka a h- WO_3 -hoz képest kisebb tiltott sáv szélessége és a rendezettebb kristályszerkezete.

Preparation of iron tungstate (FeWO₄) nanosheets by hydrothermal method

Teodóra Nagyné Kovács¹, Dr. György Pokol^{1,2}, Dr. István Lukács³, Dr. Imre Miklós Szilágyi^{1,4}

¹Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Budapest University of Technology and Economics, Szent Gellért tér 4., Budapest, H-1111, Hungary, kovacs.teodora@mail.bme.hu

²Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences, Magyar tudósok körútja 2., Budapest, H-1117, Hungary

³Research Institute for Technical Physics and Materials Science, Hungarian Academy of Sciences, Konkoly-Thege út 29-33., Budapest, H-1121 Hungary

⁴MTA-BME Technical Analytical Chemistry Research Group, Szent Gellért tér 4., Budapest, H-1111, Hungary

Tungsten oxides and metal tungstates are widely used in catalysis, photocatalysis, gas sensing etc and often prepared by hydrothermal synthesis. This method uses sodium tungstate (Na₂WO₄) and hydrochloric acid as starting materials. The used precursors, additives, pH and temperature (180-200 °C) all influence the result of the reaction. Na₂SO₄ and (NH₄)₂SO₄ are needed as additives for the preparation of hexagonal tungsten oxide (h-WO₃) and Mohr's salt [(NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O], FeSO₄ or FeCl₃ for obtaining iron tungstate (FeWO₄).

We investigated the effects of different additives on the crystal phases and morphology of the products: Na₂SO₄, FeSO₄, Mohr's salt, ammonium iron alum [(NH₄)Fe(SO₄)₂·12H₂O] and FeCl₃. All the experiments were done both at 180 and 200°C.

Crystal structure of the products was characterized by X-ray powder diffraction (XRD), their morphology by scanning electron microscopy (SEM). The pure phase products (h-WO₃ nanorods and FeWO₄ nanosheets) were studied by other methods (EDX, TEM, FT-IR, Raman, Uv-Vis) and their photocatalytic activity was measured.

We prepared at 180 and 200 °C pure h-WO₃ with Na₂SO₄ and it was composed of 50-500 nm thick nanorods. Then, FeSO₄ was used at 180 °C and the product was heterogenous which contained FeWO₄ but at 200°C it was obtained in pure phase. It had uniform sheet-like shape with a thickness of 20-30 nm. Afterwards, we applied the other additives in the same weight and molar amount. Detected phases were: h-WO₃ and other Fe³⁺ compounds (e.g. Na_{0.24}(H₃O)_{0.76}Fe₃(SO₄)₂(OH)₆, Fe₂(WO₄)₃) but FeWO₄ did not form either.

Both h-WO₃ nanorods (E_g=3.05 eV) and FeWO₄ nanosheets (E_g=1.73) had good photocatalytic activity. The nanosheets were two and a half times more efficient photocatalyst than nanorods. Reason for it can be the smaller band gap of FeWO₄ and its well crystallized sheets with little defects.

Kisgabonák minőségének vizsgálata laboratóriumi módszerekkel

Tömösközi Sándor¹, Langó Bernadett¹, Bicskei Bernadett¹, Németh Renáta¹, Denisse Bender², Stefano D'Amico², Regine Schoenlechner²

¹Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, H-1111 Budapest, Szent Gellért tér 4., tomoskozi@mail.bme.hu

²Department of Food Science and Technology, University of Natural Resources and Life Sciences, A-1190 Bécs, Muthgasse 18.

A kisgabonák fontos szerepet töltenek be a gluténmentes élelmiszerek előállításában. Azonban jelenleg nem áll rendelkezésünkre a búzáéhoz hasonló összetett minősítési módszertan és az esetek többségében az összetétellel és technológiai tulajdonságokkal kapcsolatos tudásunk is hiányos.

Munkánk során köles és cirok fajták hántolását, őrlését és frakcionálását végeztük el különféle laboratóriumi eljárásokkal. Meghatároztuk és egymással összevetettük a különböző őrlési frakciók beltartalmi összetételét (fehérje, hamu, élelmi rost, stb.). Megkíséreltük a búzaminősítésben általánosan alkalmazott mikro léptékű reológiai módszerek alkalmazását ezen kevésbé használatos gabonák technológiai minőségének vizsgálatára.

A sikérháló hiányának ellenére, a köles és cirokalapú tészták esetén a dagasztási elven működő reológiai készülékek (mint a mikro-Valorigráf) alkalmasnak bizonyultak a különféle fajták és őrlési frakciók hidratációs folyamatainak, tésztakialakulásának és stabilitásának jellemzésére.

Természetesen a görbékről leolvasható paraméterek (tésztakialakulás, stabilitás, ellágyulás, stb.) egy az egyben nem feleltethetők meg a búzaminősítésben alkalmazott jellemzőknek és a hidratációs, valamint szerkezetátalakulási folyamatok mögött is részben más jelenségek állnak. Ezért szükséges a kisgabonákra alkalmazható értékelési módszer kidolgozása és a víz-örleményből előállított tészta modellrendszerek állagát és viselkedését befolyásoló molekuláris tényezők azonosítása. Mindezek a kutatómunka folytatásának fő célkitűzéseit is jelentik.

Köszönetnyilvánítás: Munkánk kapcsolódik a „Gluténmentes tészta minőségének javítása hemicellulóz hálózat kialakításával” (OTKA-ANN 114554) című projekt szakmai céljainak megvalósításához.

Lab-scale methods for determination the quality of some minor cereals

Sándor Tömösközi¹, Bernadett Langó¹, Bernadett Bicskei¹, Renáta Németh¹, Denisse Bender², Stefano D'Amico², Regine Schoenlechner²

¹Department of Applied Biotechnology and Food Science, Budapest University of Technology and Economics, 1111 Szent Gellért tér 4, Budapest, Hungary, tomoskozi@mail.bme.hu

²Department of Food Science and Technology, University of Natural Resources and Life Sciences, 1190 Muthgasse 18, Vienna, Austria

No doubt about the importance of utilization of minor cereals in GF food production. However, the coherent methodology for determination their complex quality is missing. In most cases the knowledge about the composition and technological quality is also insufficient.

In our work, millet and sorghum varieties were decorticated and milled with different lab-scale procedures. The chemical composition (protein, ash, dietary fiber content, etc.) of different milling fractions was determined and compared. We attempted to utilize some micro-scale rheological methods generally used in wheat qualification for investigation the technological quality of milling fractions of neglected cereals.

Despite the lack of gluten network in millet or sorghum-based dough, the rheological methods using mixing effects (like micro scale Z-arm mixer) seems to be suitable for characterization the hydration process, dough development and stability of different varieties and milling fractions.

Naturally, new procedure is needed for evaluation of mixing curves, where the better understanding of composition-functionality relationship is required.

Acknowledgement: This work is connected to the scientific program of research project titled “Improving gluten-free dough by a novel hemicellulose network” (id: OTKA-ANN 114554).

Peptidmódosított nanopórusokon alapuló szelektív ioncsatornák

Papp Soma, Gyurcsányi E. Róbert

MTA-BME „Lendület” Kémiai Nanoérzékelők Kutatócsoport, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szt. Gellért tér 4, H-1111, Budapest, Hungary, papp.soma@mail.bme.hu

Klinikai és környezeti minták esetén elterjedten alkalmaznak ionszelektív elektródokat ionok aktivitásának szelektív meghatározására [1]. Ezek az elektródok legtöbbször egy lágyított polimer membránba ágyazott, erősen lipofil ionofor kiváló szelektivitását használják ki. Bár a természetben számos ligandum rendelkezik kiváló ionszelektivitással, a hidrofób membrán kizárja az ilyen hidrofil anyagok alkalmazását. Ezért egy újfajta, nanopórusokat tartalmazó aranyozott membránon alapuló felépítést javasolunk. Az átlagosan 10 nm körüli átmérőjű, aranyozott pórusokba a hidrofóbicitástól függetlenül lehetséges tiol- vagy diszulfidcsoportokat tartalmazó vegyületeket immobilizálni. Korábban már megmutattuk, hogy egy ionoforral, kationcserélővel és hidrofób vegyülettel módosított nanopórusos membrán felhasználásával kiváló szelektivitással rendelkező ezüstion-szelektív elektród készíthető [2]. Jelen munkában bemutatjuk, hogy a fenti elgondolás kiterjeszhető hidrofil ligandumokra is. Ehhez egy hidrofil peptidet alkalmazunk, melyről korábban már bizonyították, hogy kellő szelektivitással komplexálja a réz(II) iont [3]. A membránokat hagyományos Philips elektródtestekbe szereltük, így hozva létre az ionszelektív folyadékmembrán-elektrodokat. Potenciometriás mérések során az elektródok réz(II) ionra a 10^{-3} és 10^{-5} M s régióban nernsti választ adtak, kb. 10^{-7} M-s kimutatási határral. A peptiddel módosított nanopórusos membránelektrodok szelektivitása a releváns kationokra eléri a legkorszerűbb ionofor alapú elektródokét. Mivel minden komponens kovalens kötással rögzítünk a felületen, ezért az elektródok élettartama jelentősen meghaladhatja a hagyományos lágyított polimer membránok élettartamát, melyekből a használat során folyamatosan kioldódnak az aktív komponensek [4].

Hivatkozás:

- [1] E. Bakker, P. Bühlmann, and E. Pretsch, *Chem. Rev.*, **1997**, 8, 3083–3132.
- [2] G. Jágerszki, Á. Takács, I. Bitter, and R. E. Gyurcsányi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, 7, 1656–1659.
- [3] W. Yang, D. Jaramillo, J. J. Gooding, D. B. Hibbert, R. Zhang, G. D. Willett, and K. J. Fisher, *Chem. Commun.*, **2001**, 19, 1982–1983.
- [4] G. Jágerszki, A. Grün, I. Bitter, K. Tóth, and R. E. Gyurcsányi, *Chem. Commun. (Camb)*, **2010**, 4, 607–609.

Selective ion channels based on peptide-modified nanopores

Soma Papp, Róbert. E. Gyurcsányi

MTA-BME “Lendület” Chemical Nanosensors Research Group, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Budapest University of Technology and Economics, Szt. Gellért tér 4, H-1111, Budapest, Hungary, papp.soma@mail.bme.hu

Ion-selective electrodes (ISEs) are widely used for selective measurement of ion activities in clinical and environmental analysis [1]. Most often these electrodes take advantage of the excellent selectivity of a highly lipophilic ionophore that is incorporated in hydrophobic plasticized polymer membrane. While there is large range of natural ligands with excellent ion-selectivities, the hydrophobic membrane matrix impedes the use of such hydrophilic complexing agents. Therefore, we propose a new membrane construction that is based on the use of gold nanoporous membranes with average pore diameter of 10 nm to which thiol or disulfide functionalized compounds, regardless of their hydrophobicity, can be linked. We have shown earlier that such nanoporous membranes modified with a mixed monolayer of an ionophore, cation-exchanger and a hydrophobic compound can form the basis of silver ion-selective electrodes with excellent selectivities[2]. Here we show that the concept can be extended to hydrophilic ligands as demonstrated by using a hydrophilic peptide, Gly-Gly-His, known to bind Cu^{2+} with considerable selectivity [3]. The membranes were inserted in conventional Philips electrode bodies to construct liquid contact ISEs. The potentiometric investigation revealed Nernstian response for copper(II) ions in the 10^{-3} to 10^{-5} M region, with submicromolar limit of detection (ca. 10^{-7} M). The selectivity of the peptide modified nanoporous membrane ISEs matched that of the state of the art ionophore-based copper(II) ion selective electrodes for the most relevant cations. Furthermore, as all active components are covalently bound to the nanoporous support, the proposed peptide-based nanopores are expected to exhibit longer lifetime than the conventional plasticized polymeric membrane based ISEs, from which the active components continuously leach during use[4].

References:

- [1] E. Bakker, P. Bühlmann, and E. Pretsch, *Chem. Rev.*, **1997**, 8, 3083–3132.
- [2] G. Jágorszki, Á. Takács, I. Bitter, and R. E. Gyurcsányi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, 7, 1656–1659.
- [3] W. Yang, D. Jaramillo, J. J. Gooding, D. B. Hibbert, R. Zhang, G. D. Willett, and K. J. Fisher, *Chem. Commun.*, **2001**, 19, 1982–1983.
- [4] G. Jágorszki, A. Grün, I. Bitter, K. Tóth, and R. E. Gyurcsányi, *Chem. Commun. (Camb)*, **2010**, 4, 607–609.

Glutén referencia anyag gyártásához szükséges szelekciós kritériumok megállapítása búzafajták kiválasztásához

Schall Eszter¹, Hajas Livia¹, Török Kitti¹, Bugyi Zsuzsanna¹, Katharina Scherf², Peter Koehler², Roland Poms³, Tömösközi Sándor¹

¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, s.eszter@mail.bme.hu

²Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Germany

³MoniQA Association, Austria

A glutén mennyiségi meghatározásának fejlesztése az egyik legfontosabb kérdéskör a cöliákiában szenvedő beteg biztonsága szempontjából. Jelenleg a legelterjedtebb meghatározási módszer a rutin analitikában az ELISA (enzyme linked immunosorbent assay). Egyéb analitikai megoldásokat, mint például folyadékkromatográfiás, DNS alapú (PCR) módszereket is használnak és/vagy fejlesztenek erre a célra. Ezeknek a módszereknek a validálását számos tényező hátráltatja, mint például a valós élelmiszereket modellező referencia anyag hiánya, mely szükséges a mért eredmények pontosságának biztosításához és a különböző módszerekkel kapott eredmények összehasonlításához. A gluténmentes termékek analíziséhez szükséges megfelelő referencia anyag fejlesztése még számos megválaszolendő kérdést tartogat:

- 1) A gluténforrás formája: izolált fehérje frakció vagy natív forrás (pl. búzaliszt)?
- 2) Stabilitás: a fejlesztett referencia anyagnak milyen a hosszú távú eltarthatósága?
- 3) Egy búzafajta vagy kiválasztott fajták keverékének a használata jobb?
- 4) Hogyan lehet a legjellemzőbb fajtákat kiválasztani a megfelelő referencia anyag glutén forrásaként?

Munkánk fő célkitűzése a referencia anyag gyártásához megfelelő búzalisztek kiválasztásához szükséges szelekciós kritériumok megállapítása. A világ modern búzafajtáit reprezentáló 36 különböző mintát gyűjtöttünk össze, melyek komplex jellemzését elvégeztük. Mindegyik mintát vizsgáltuk közeli infravörös spektroszkópiával, megállapítottuk a nyers fehérje tartalmat, a nedves siker tartalmat, a fehérje összetételt vizsgáltuk SE-HPLC és Osborne frakcionálás után RP-HPLC-vel. A gluténtartalmat két különböző antitestet alkalmazó ELISA teszttel is mértük. A kapott eredmények alapján minőségi és mennyiségi kritériumokat állapítottunk meg és ezek alapján öt búzafajtát választottunk ki, melyek a kritériumoknak megfelelnek és így alkalmasak lehetnek referencia anyag gyártására.

Selection criteria for wheat varieties as basis for a new gluten reference material

Eszter Schall¹, Lívía Hajas¹, Kitti Török¹, Zsuzsanna Bugyi¹, Katharina Scherf², Peter Koehler², Roland Poms³, Sándor Tömösközi¹

¹Budapest University of Technology and Economics, Department of Applied Biotechnology and Food Science, Hungary, s.eszter@mail.bme.hu

²Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Germany

³MoniQA Association, Austria

The improvement of gluten quantification is one of the key questions for increasing the safety of foods intended for celiac disease patients. Currently, the most frequently applied methods in routine gluten analysis are enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). Other analytical procedures, such as LC-MS or PCR are also used and/or under development. Appropriate validation of these methods is limited by various factors, in particular by the lack of reference materials (RM) to assure the accuracy of results and to compare results obtained with different methods. In view of developing a RM for gluten(-free) analysis, principle questions on the adequate approach are still in discussion:

- 1) The format: Isolated protein fractions or native materials (i. e. wheat flour)?
- 2) The stability: How can long-term stability be ensured?
- 3) Representative and commutable: Should a single cultivar or a mixture of selected cultivars be used?
- 4) Selection criteria: How can the most representative cultivars be selected for RM production?

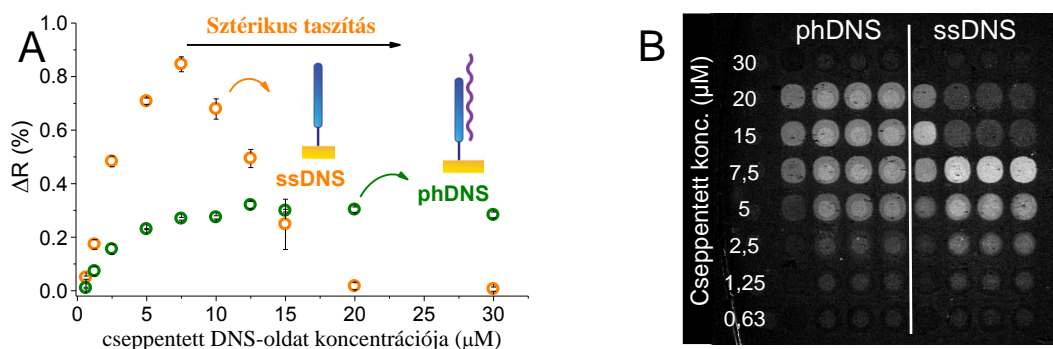
In this study, the selection criteria for representative wheat cultivars as basis for the development of a new RM for gluten(-free) analysis were defined. Grains of wheat cultivars from different geographical origins from selected countries all over the world were collected and milled into white flours. All samples were characterised by near-infrared spectroscopy, determination of crude protein and wet gluten content, SE-HPLC and RP-HPLC after modified Osborne fractionation. The gluten content was quantified by two ELISA test kits using different antibodies. Based on the generated data, qualitative and quantitative selection criteria were developed and, finally, five wheat cultivars were chosen that were demonstrated to be the most representative for wheat gluten.

DNS immobilizációs eljárás és hibridizációs kinetikai módszer fejlesztése SPRi szenzorchipen

Simon László¹, Gyurcsányi E. Róbert¹

¹MTA-BME “Lendület” Kémiai Nanoérzékelők kutatócsoport, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem – H-1111, Budapest, Szent Gellért tér 4. simon.laszlo@mail.bme.hu

Munkánk során célunk volt egy olyan szenzorchip kifejlesztése, amely DNS felismerő szálakat alkalmazva lehetőséget biztosít mikroRNS szálak felismerésére képalkotó felületi plazmon-rezonanciás (SPRi) módszerrel. A tiol végcsoporttal ellátott DNS-szálak immobilizálása arany felületre körültekintő optimalizálást igényel, tekintettel arra, hogy a DNS szálak igen erősen adszorbeálódnak nem-specifikusan a szenzorchip arany felületére [1]. Egyaránt fontos a megfelelő felületi borítottságú DNS rétegek kialakítása a mikroRNS szálakkal történő hatékony hibridizáció érdekében [2]. A hibridizációs assay-ben a felismerés szelektivitása, érzékenysége és a hibridizáció kinetikája nagymértékben függ a DNS szálak immobilizálási módjától. Munkánk során mikrocseppentéses technikával immobilizáltunk tiol-végcsoporttal ellátott DNS szálakat egyszálú, és a komplementer szekvenciájú DNS szállal előhibridizált formában az SPRi szenzorchip arany felületére. Az egyszálú formában történő immobilizáláskor esetenként olyan nagy felületi DNS-borítottság alakulhat ki, hogy a mikroRNS szálak kötődése sztérikusan gátolt lesz, ez azonban az előhibridizált forma esetében nem tapasztalható. Ennek megfelelően a nagyobb felületi borítottságú foltokon a disszociációs egyensúlyi állandó értéke nagyobb, amely gyengébb kölcsönhatásra utal.



1. Ábra: A SPR jel a mikroRNS szálak hibridizációjakor. Az immobilizációs módszert az ábrán jelöltük. B SPR kép a különböző koncentrációjú oldatokból és különböző formában immobilizált DNS-foltokról.

Hivatkozás:

- [1] Li, H. and Rothberg, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2004**, 101, 14036–14039.
 [2] L. Simon, G. Lautner and R. E. Gyurcsányi. *Anal. Methods*, **2015**, 7, 6077-6082.

DNA immobilization strategy and hybridization kinetic measurement on gold SPRi sensor chip

László Simon¹, Róbert E. Gyurcsányi¹

¹MTA-BME “Lendület” Chemical Nanosensors Research Group, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Budapest University of Technology and Economics – H-1111, Budapest, Szent Gellért tér 4. simon.laszlo@mail.bme.hu

We were interested to develop surface plasmon resonance imaging (SPRi) chips for a panel of microRNA strands of diagnostic relevance. However, microspotting of terminal thiol labelled DNA onto gold needs careful optimization to overcome problems related with the nonspecific surface adsorption of DNA strands [1] as well as to establish optimal surface densities for subsequent hybridization with microRNAs [2]. Here we show that the sensitivity and selectivity of the hybridization assay as well as the kinetic parameters of the hybridization may vary in a large extent depending on the DNA probe immobilization. The study involved microspotting of DNA probes both as thiol labelled single-stranded DNA (ssDNA) and in prehybridized form with a complementary DNA (phDNA). The latter was found to self-regulate the optimal surface density of DNA probes at sufficiently high spotting concentrations after removal of the prehybridized complementary strands, i.e., activation of the DNA probes. In contrast in case of spotting ssDNA probes the hybridization efficiency for microRNA showed a sharp maximum as function of the probe concentration. While the optimal probe concentration may seem the one corresponding to the maximal signal the kinetic analysis reveals that the binding strength is much decreased (K_d increased).

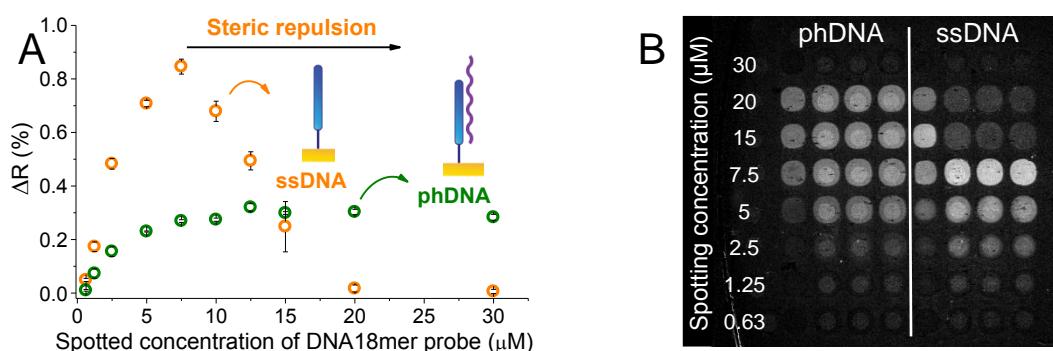


Fig. 1: **A** SPR response of DNA spots to microRNA. The DNA immobilization form indicated on the graph. **B** Typical SPR image of DNA spots immobilized in different concentration (μM) and form (ssDNA or phDNA).

References:

- [1] Li, H. and Rothberg, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2004**, 101, 14036–14039.
 [2] L. Simon, G. Lautner and R. E. Gyurcsányi. *Anal. Methods*, **2015**, 7, 6077–6082.