

Bírálat
Martinek Tamás
„Peptid foldamerek: szerkezet és alkalmazás” című MTA doktori értekezéséről

Földünk élő szervezeteinek három és fél milliárd éves evolúciója csodálatos biopolimereket - mint például a proteinek, nukleinsavak és poliszacharidok - hozott létre, melyek nem kovalens kötésekkel kialakított szekunder, terciér és kvaterner szerkezetei nélkülözhetetlenek az élet funkcióinak ellátásához. Ezen komplex biomolekulák bizonyos funkciói azonban viszonylag egyszerű szintetikus úton előállítható oligomerekkel, mint amilyenek például a foldamerek, is kiválthatók. A foldamerek, mint szintetikus modellvegyületek előállítása és vizsgálata nem csak azért rendkívül fontos, mert ez által jobban megismerhetjük és megérthetjük az élettani szempontból nélkülözhetetlen, ám igen bonyolult, az előbb már említett, biomolekulák működését, hanem azért is, mert az ilyen jellegű kutatások széleskörű alkalmazást nyújtó vegyületek kifejlesztéséhez vezethetnek, többek között a gyógyászatban, a nanotechnológiában és az organokatalízis területén. Másrészt, a szintetikus, az izolálási, illetve elválasztási és szerkezetvizsgáló módszerek, valamint a számítási kémia utóbbi néhány évtizedben bekövetkezett rohamos fejlődése a kutató kémikus számára olyan információk megszerzését, illetve olyan problémák megoldását is lehetővé teszik, amelyekre korábban gondolni sem volt érdemes.

Ilyen gondolatok ébredtek bennem Martinek Tamás doktori értekezésének olvasása közben.

A Szerző a foldamerek kutatása terén elért, és az értekezésében is leírt új tudományos eredményeit négy főbb téma köré csoportosítva tárgyalja: 1.) foldamerek szerkezetének sztereokémiai szabályozása, 2.) oldalláncok alakjának és térkitöltésének hatása a másodlagos szerkezetre, 3.) lánc hossz-függési vizsgálatok és konformációs polimorfia, valamint 4.) foldamer építőelemekből konstruált nanostrukturált rendszerek.

Az értekezésben leírt új tudományos eredmények ismertetésétől eltekintek, mivel azt a Szerző által írt 4 és fél oldalas összefoglalásban megfogalmazottnál tömörebben úgysem tudnám megtenni. Mindössze az általam leglényegesebbnek ítélt eredményekre szeretnék rámutatni.

- 1.) A természetes proteinek/peptidek és a szintetikus peptid foldamerek szekunder szerkezetének alapos elemzésével kimutatta, hogy a gerincben lévő kiralitáscentrumok konfigurációja és a Ramachandran/Balaram-féle ϕ , ψ torziós szögek között általánosítható összefüggés áll fenn, és szabályokat állított fel a hélix, illetve a szál konformáció kialakulását illetően. Alátámasztotta, hogy a homokiralitás nem feltétele a periodikus szekunder szerkezetek kialakulásának, és meghatározta, hogy ez a kötöttség meddig lazítható. A fenti összefüggések és szabályok segítségével több új hélix-, illetve szál konformációjú új peptid foldamer szekunder szerkezetet tervezett, állított elő és igazolt kísérletesen.

Alkalmas szerkezetvizsgáló módszerekkel igazolta, hogy a H12 helikális szerkezetű homokirális *transz*-2-aminociklopentánkarbonsav monomerekből kiépített foldamer, nempoláris Z6 szál-típusú konformációba kapcsolható, ha az utóbbi monomereket *cisz*-2-aminociklopentánkarbonsav egységekre cseréljük, rámutatva arra, hogy a β -peptid foldamerek körében a szerkezet sztereokémiai eszközökkel hatékonyan szabályozható.

Kimutatta, hogy az (1S,2R) és (1R,2S) alternáló konfigurációjú *cisz*-2-aminociklopentánkarbonsav egységekből álló oligomer igen stabil H10/12 típusú alternáló hélixet, míg az (1S,2S) és (1R,2R) alternáló konfigurációjú *transz*-2-

aminociklopentánkarbonsav egységekből álló oligomer stabil poláris szál konformációt vesz fel. Igazolta, hogy az utóbbi oligomerek szekunder szerkezetükből következően nanostrukturált (amiloid-típusú) fibrillumokat képeznek. A fenti eredményekkel alátámasztotta, hogy azonos konstitúció mellett, csupán a kiralitáscentrumok konfigurációjának megfelelő beállításával, a β -peptid foldamerek valamennyi főbb szekunder szerkezeti típusa kialakítható.

2-Aminociklopentánkarbonsav és *N*-aminoprolin monomereket alternálva tartalmazó tervezett kiralitáscentrumokkal rendelkező aza- β -peptid hexamereket állított elő, és így, a sztereokémiai kontroll, valamint a megerősített H-kötések révén, vizes oldatban is stabil H12 és H10/12 hélixek alakultak ki, anélkül, hogy az oldalcsoportokat ennek érdekében fel kellett volna áldozni. Ezzel rámutatott arra is, hogy nem kell minden kiralitáscentrumot megkötni ahhoz, hogy a szekunder szerkezetet kiépíthessük.

A sztereokémiai programozás elvét alkalmazva, olyan, csak β -aminosav-egységeket tartalmazó foldamert tervezett, majd állított elő, amelyben a peptidkötések orientációja és ennek megfelelően a térkémi mintázata hármass periódicitást mutat, valamint amiben minden harmadik β -aminosav-egység proteínogén oldalláncot hordoz, ezzel létrehozva az eddig még nem publikált, a proteinekhez hasonló felszínű H14/16 hélixet. Azt is kimutatta, hogy a kvázi-random térkémi beállítás nem hoz létre helikális szerkezetet, még azonos konstitúció esetén sem.

Térkémi kódolással α - és β -aminosav-egységek sorrendjében és arányában különböző $\beta\beta\alpha$, $\alpha\beta$ és $\alpha\alpha\beta\beta$ peptid foldamereket tervezett, majd állított elő, és kísérleti úton igazolta az eddig még nem közölt H9-12, H16/18 és H9/12/9/10 hélixek kialakulását. Kimutatta, hogy a H9-12 és a H9/12/9/10 hélixek részben, vagy egészben vizes közegben is megtartották szerkezetüket. Azt is kiemelném, hogy a H16/18 hélix a publikálás idejében az addig nyilvántartott legnagyobb átmérőjű ilyen szerkezet volt.

- 2.) Öt, illetve hat (1*R*,2*R*,3*R*,5*R*)-2-amino-6,6-dimetil-biciklo[3.1.1]heptán-3-karbonsav monomerből β -peptidet épített, és az ezekben a foldamerekben lévő nagy térigényű oldalcsoportok szterikus ütközése révén kialakította a H12 hélix szerkezetet. Igazolta, hogy ezek a hélixek metanolban önasszociációt mutatnak.

Kimutatta, hogy a ciklohexán oldalláncot tartalmazó alternáló heterokirális β -aminosavakból álló peptid foldamerek egy többségben lévő H10/12 konformációjú hélix és egy kisebbségben lévő H18/20 konformációjú hélix közötti konformációs polimorfiát mutatnak.

- 3.) (1*S*,2*S*,3*S*,5*S*)-2-Amino-6,6-dimetil-biciklo[3.1.1]heptán-3-karbonsav és az *L*-szerinnel azonos térkémiájú, a 3-as helyzetben hidroximetil oldalláncot tartalmazó β -aminosav építőelemek megfelelő kombinációjával olyan oktamert és nanomert állított elő, amelyben a nagy térigényű csoportok között legalább két szterikus ütközés alakulhat ki. Kísérleti úton igazolta, hogy ezek a foldamerek koncentráció- és oldószer-függő másodlagos szerkezeteket vesznek fel. Deuterált dimetil-szulfoxidban a H12 hélix az uralkodó konformáció, de 100 μ M-os koncentráció fölött deuterált metanolban kialakul az addig az ideig legnagyobb átmérőjűnek nyilvántartott peptid foldamer H18 hélix.
- 4.) *Cisz*-(1*R*,2*S*)-2-aminociklopentánkarbonsav monomerekből hexamert, heptamert és oktamert állított elő, és kimutatta, hogy ezek a szál konformációjú β -peptid foldamerek

hosszirányú hidrogénkötések, valamint oldalirányú hidrofób kötőerők révén nanoméretű fibrillumokat képeznek. Ezeket a nanostruktúrákat β -peptid foldamerek körében először írta le.

Kimutatta, hogy a nanoméretű fibrillumképződés az (1R,2R) és az (1S,2S) alternáló konfigurációjú *transz*-2-aminociklopentánkarbonsav egységekből álló poláris szál konformációjú hexamer esetén is fellép.

Igazolta, hogy a szabad *N*-terminálissal rendelkező, (1S,2S)-2-aminociklohexánkarbonsav egységekből álló, β -peptid oligomerek H14 konformációjú hélicei nanoméretű multilamelláris vezikulákat képeznek. Azt is kimutatta, hogy az előbbi vezikulákat határoló membránt köteggé rendeződött vertikális amfifil β -peptid hélixek alkotják. Ilyen foldamer nanostruktúrákat elsőként írt le.

A nanoméretű vezikulákat megfigyelte az (1R,2S) és az (1S,2R) alternáló konfigurációjú *cisz*-2-aminociklohexánkarbonsav egységekből álló hexamer H10/12 típusú héliceinél is, de kimutatta, hogy ezek alakja kevésbé szabályos, mint a H14 hélixekből kialakuló részecskéké.

Az értekezésben leírt új tudományos eredményeket hitelesnek, érdekesnek és fontosnak tartom.

Martinek Tamás a foldamerek kutatása területén nemzetközi mércével mérve is egy igen ismert és elismert kutató. Ezt nemcsak az ebből a témakörből született publikációinak minősége és mennyisége, valamint a rájuk kapott nagyszámú elismerő független hivatkozás bizonyítja, hanem az is, hogy az évente kétszer megrendezendő foldamerekről szóló nemzetközi konferencia szervező bizottságának is állandó tagja, ugyanúgy, mint az ilyen irányú kutatások elindítását ösztönző mentora, Fülöp Ferenc akadémikus is.

Az értekezéssel, mint írásművel nem vagyok teljes mértékben megelégedve, és jöllehet, mint az a lenti felsorolásból is kitűnik, kifogásom tárgyának alapjai apróbb hibák, amelyek nem csökkentik a dolgozat, és még kevésbé az annak alapját képező kiemelkedően magas színvonalú kutatómunka értékét, mégis bosszantóak, mert véleményem szerint ezek nagy része elkerülhető lett volna egy alapos és figyelmes átolvasással. Ezen apróbb hibák közül, nem a teljesség igényével, az alábbiakat sorolnám fel: 3. oldal 6. sor: „2-amino-ciklobután-karbonsav” helyett „2-aminociklobután-karbonsav” kellett volna; 3. oldal 7. sor: „2-amino-ciklohexán-karbonsav” helyett „2-aminociklohexán-karbonsav” kellett volna; 3. oldal 9. sor: „2-amino-ciklopentán-karbonsav” helyett „2-aminociklopentán-karbonsav” kellett volna; 3. oldal 10. sor: „terc-butoxikarbonil” helyett „*terc*-butoxikarbonil” kellett volna; 4. oldal alulról az 5. sor: „metilén csoport” helyett „metiléncsoport” kellett volna; az 5. oldal utolsó két sorában ezt írja: „A dolgozat külső hivatkozásai felső indexben találhatók. A saját munkáinkra kapcsos zárójelben megadott számmal utalunk.” Ebben az esetben az a probléma, hogy négyféle irodalomjegyzék van („7 Az értekezés alapját adó közlemények”, „8 Kapcsolódó közlemények”, „9 Egyéb közlemények”, „10 Irodalomjegyzék”) és mind a négy 1-es sorszámmal kezdődik, ezért a felső indexben szereplő irodalmi hivatkozásról egyrészt olvasás közben nem derül ki, csak amennyiben hátra lapozunk, hogy az lehet saját munkára való hivatkozás is, másrészt az sem, hogy az egyes irodalomjegyzékek idézetei között átfedés van, például: $10^5 = 8[12]$, $10^{13} = 8[6]$, $10^{34} = 7[13]$, $10^{46} = 7[10]$, $10^{49} = 7[5]$, $10^{50} = 7[9]$, $10^{135} = 7[3]$, $10^{170} = 7[8]$, $10^{171} = 7[1]$, és $10^{182} = 8[23]$; itt jegyzem meg, hogy az első saját hivatkozás a 7. oldalon jelenik meg és az mindjárt a [2], és előtte sehol sem találtam az [1]-et;

a 6. oldalon lévő 2. ábrán az „oligo-fenilén-etilén” helyett „oligo-fenilén-etinilén” (egy acetilén vagy más néven etin származék szerepel az ábrán!) kellett volna; 7. oldal 9. sor: „azokra vonatkozásokra” helyett „azokra a vonatkozásokra” kellett volna; 9. oldal alulról a 7. sor: „2-amino-ciklobután karbonsav” helyett „2-aminociklobután-karbonsav” kellett volna; 10. oldal alulról a 12. sor: „-aminovakból” helyett „-aminosavakból” kellett volna; 12. oldal alulról a 2. sor: „ α ,aminoxikarbonsav” helyett „ α -aminoxikarbonsav” kellett volna; az „illetve” szó előtt számos esetben nem tesz vesszőt, például: 15. oldal 8. sor, 17. oldal 8. sor, 22. oldal 17. sor, 32. oldal alulról a 17. sor, 53. oldal alulról a 12. sor, 57. oldal utolsó sor; 79. oldal alulról a 10. sor, 84. oldal alulról a 20. sor, stb.; 22. oldal 11. sor: „tetrametilfluorformamidiniumhexafluorofoszfát” helyett „tetrametilfluorformamidinium-hexafluorofoszfát” kellett volna; a 22. oldalon alulról a 14. sorban „nyers terméket”, míg ugyanazon az oldalon alulról a 3. sorban „nyersterméket” ír; 22. oldal 16. sor: „trietilamin” helyett „trietil-amin” kellett volna; 25. oldal 17. sor: „uranil acetát” helyett „uranil-acetát” kellett volna; 22. oldalon alulról a 12. sorban „oldószer-rendszer”-t, míg a 23. oldal 10. sorában „oldószer rendszer”-t ír; 23. oldal alulról a 17. sor: „Mhz” helyett „MHZ” kellett volna; 23. oldal 5. sor: „A deprotektálást” helyett „A védőcsoport eltávolítását” kellett volna; 14. oldal 11. sor: „szerkezet” helyett „szerkezetet” kellett volna; 15. oldal alulról a 9. sor: „and” helyett (kétszer is!) „és” kellett volna; 22. oldal 17. sor: „dimetilszulfid” helyett „dimetil-szulfid” kellett volna; 22. oldal 19. sor: „dietiléterrel” helyett „dietil-éterrel” kellett volna; 22. oldal alulról a 13. sor: „kromatográfiához” helyett „kromatográfiához” kellett volna; 23. oldal alulról a 10. sor: „Spectrospo Y” helyett „Spectroscop Y” kellett volna; 24. oldal alulról a 11. sor: „KBr₂” helyett „KBr” kellett volna; 28. oldal első sor: „and” helyett „és” kellett volna; a 28. oldalon, az 1. táblázatban, a felső indexben szerepel saját munkára vonatkozó irodalmi hivatkozás száma is, pld.: $10^{46} = 7[10]$, $10^{171} = 7[1]$ stb.; 34. oldal alulról a 14. sor: „Ez sáv” helyett „Ez a sáv” kellett volna; 34. oldal utolsó előtti sor: „peptid kötések” helyett „peptidkötések” kellett volna; 33. oldal alulról a 12. sor: „Az NOE” helyett „A NOE” kellett volna; 40. oldal alulról a 12. sor: „analógjai” helyett „analogonjai” kellett volna; 53. oldal alulról a 11. sor: „analógoké” helyett „analogonoké” kellett volna; 59. oldal 3. sor: „analógjának” helyett „analogonjának” kellett volna; 40. oldal alulról a 8. sor: „CD₃OH and ” helyett „CD₃OH és ” kellett volna; 49. oldal alulról a 8. sor: „megszintetizáltuk” helyett „előállítottuk” kellett volna; 50. oldal alulról a 3. sor: „(39a és b ábrák)” helyett „(40a és b ábrák)” kellett volna; a 42. ábra (54. oldal) aláírásában „(14-16)” helyett „(20-23)” és „(17-19)” helyett „(24-27)” kellett volna; 53. oldal 17. sor: az „(1S,2R)-ACPC” egymás után kétszer szerepel, a második „(1S,2R)-ACPC” helyett „(1R,2S)-ACPC”-nek kellett volna lenni; 53. oldal alulról a 10. sor: „Ez azt jelzi, hogy lánc hossz javítja a konformációs stabilitást...” helyett „Ez azt jelzi, hogy a lánc hossz javítja a konformációs stabilitást...” kellett volna; 61. oldal 1. sor: „megszintetizáltuk” helyett „előállítottuk” kellett volna; 69. oldal utolsó sor: „összevetvethető” helyett „összevethető” kellett volna; a 66. ábrán (76. oldal) a középső ciklopentángyűrű kiralitáscentrumaiból kiinduló kötések az 1R, 2S konfigurációk miatt szaggatott vonallal, és nem vastag vonallal kellett volna rajzolni; a 71. ábra (82. oldal) felső részén lévő „b” helyett „c”-t kellett volna írnia; 88. oldal alulról a 3. sor: „nano részecskéket” helyett „nanorészecskéket” kellett volna; 88. oldal 5. sor: „dezaggregálhatók” helyett „H14 hélix alkotóelemeikre bonthatók” kellett volna; stb..

A továbbiakban néhány kérdést tennék fel a Jelöltnek:

- 1.) Körülbelül hány új vegyület szerepel az értekezés alapjául szolgáló közleményekben, és ezek közül eddig melyiket vizsgálták biológiai hatás szempontjából? Amennyiben vizsgálták valamelyiket, az milyen hatással rendelkezik?

- 2.) Lehetséges-e valamilyen módszerrel meghatározni a foldamerek másodlagos kötésekkel létrehozott aggregátumainak a kinetikai, vagy termodinamikai paramétereit? Amennyiben igen, milyen módszerrel, illetve módszerekkel?
- 3.) Az értekezés benyújtása óta, annak témaköréből ez idáig hány új közlemény jelent meg, illetve hányat fogadtak el publikálásra?
- 4.) A nanorészecskék jellemzésére az értekezésben leírtakon kívül nem gondolt-e az erre a célra sokszor alkalmasabbnak tartott „Nanoparticle Tracking Analysis” módszerre? Példaként itt megadnék egy közleményt: van der Pol, E. *et al.*, Optical and non-optical methods for detection and characterization of microparticles and exosomes, *J. Thromb. Haemost.*, **2010**, 8, 2596-2607.
- 5.) Előállítottak és tanulmányoztak már aromás gyűrűt tartalmazó β -homoaminosav monomerekből (például: β -homofenilalanin, β -homofenilglicin, β -homotirozin, β -homotriptofán, β -homohisztidin, stb.) álló foldamereket? Fellépett-e ebben az esetben az aromás gyűrűk közötti π - π -köölcsönhatás? Amennyiben igen, hogyan befolyásolta ez a másodlagos szerkezetet?
- 6.) A foldamerek szerkezetének felderítésében, ahogy az az értekezés „Irodalmi áttekintésében” is szerepel gyakran használnak Röntgen krisztallográfiát. Próbálkoztak ezzel a módszerrel?
- 7.) A 26. oldal 11. sorának közepétől ezt írja: „Az SA módszerben 1000 random struktúrát generáltunk 1000 K-en, ...” Az 1000 K nem elírás?

Végezetül ki szeretném hangsúlyozni, hogy a doktori mű, a korábbi tudományos fokozatot követően, jelentős, eredeti tudományos eredményekkel gyarapította a tudomány szakot, nagymértékben hozzájárult annak fejlődéséhez, ezért azt messzemenően elegendőnek tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez, és a nyilvános vita kitűzését javaslom.

Budapest, 2013. április 7.

Huszthy Péter
a kémia tudomány doktora