



BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM

Szerves Kémia és Technológia Tanszék

Prof. Poppe László

BÍRÁLAT

KELE PÉTER

“ Bioorthogonally modulated photoresponsive systems for chemical biology applications ”

című MTA Doktori értekezéséről

(HUN-REN, Természettudományi Kutatóközpont

Szerves Kémiai Intézet, 2024)

BÍRÁLÓ: DR. POPPE LÁSZLÓ, egyetemi tanár

(MTA doktora, BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék)

DR. KELE PÉTER a HUN-REN, Természettudományi Kutatóközpont Szerves Kémiai Intézet, Kémiai Biológia Kutatócsoport vezetőként nyújtotta be MTA Doktori értekezését, ahol vezetésével folynak a bioaktív anyagokkal kapcsolatos fotokémiai kutatások, melyek bioortogonális reagensek, fotokémiai jelölések, fehérjemódosítások gyógyszerkutatási irányú fejlesztéseivel és alkalmazásaival foglalkozik. Az általa vizsgált területek fontosságát jelzi, hogy az Európai Kémiai Társaságok Szövetsége 2022-ben a 2020-21 Chemistry Europe Fellow tagozatba választotta Kele Pétert, egyedüli magyar kutatóként.

DR. KELE PÉTER munkásságáról egy 46 oldal terjedelmű, angol nyelven megírt rövid tézisszerű értekezésben számol be, amely 20 levelező szerzőségű közleményén alapul. Az értekezés a kétoldalas *Preface* fejezet után az ötoldalas *Introduction to bioorthogonal chemistry and photoresponsive compounds* általános bevezető fejezetet követően két oldalon (*Structure of the thesis*) indokolja a munka háromfejezetes felépítését. Az ezt követő három fejezet (*1. Toward advanced bioorthogonally controlled fluorogenic probes; 2. Development and understanding of bioorthogonal tools; 3. Conditionally activatable photolabile protecting groups*) tartalmazza a munka bemutatását hasonló alfejezet tagolással (*A. Challenges; B. Discussion of results; C. Evaluation of results and future directions*). Az irodalmi háttér 152 hivatkozás segítségével mutatja be, amelyek között pirossal kiemelve megtalálható a tézisek alapját képező 20 munka is. Bíráló egyetért a tematikai szempontok alapján történő három alfejezetre bontással.

A tartalom és a tudományos eredmények összefoglalását egy kilencoldalas téziszfüzet segíti, amely tartalmazza a 20 felhasznált közleményen alapuló 13 tézispontot.

A tézisszerű rövid mű három részben mutatja be az elért eredményeket. Az első, „*1. Toward advanced bioorthogonally controlled fluorogenic probes / Bioortogonálisan aktiválható fluorogén markerek*” alfejezet öt tézispontozhoz kapcsolódik: 1) nagy Stokes eltolódással rendelkező aziddal modulált fluorogén vegyületek előállítása, az azid funkciós csoport kioltó hatásának elméleti kémiai igazolása és e hatás limitációinak felismerése; 2) két, fluoreszcencia kioltására alkalmas bioortogonális funkciós csoportot (azid/tetrazin) tartalmazó kettős fluorogén jelzővegyületek előállítása, vizsgálata; 3) két, egymástól függő, vagy független kioltómechanizmuson alapuló, kettősen fluorogén rendszerek előállítása és alkalmazása; 4) a tetrazinnal kiváltható kioltómechanizmusok vizsgálata (kötésen keresztüli energiatranszfer, belső konverzió) fenoxazin és cianin vázakon; valamint 5) a közvetített fluorogenicitás koncepciójának kidolgozása és tanulmányozása fluorogén diádokon. E munkák jelentős részében olyan megoldások fejlesztésével foglalkoztak, melyek lehetővé teszik a vörös tartományban emittáló, bioortogonálisan aktiválható fluoreszcens markerek fluorogenicitásának növelését.

A második, „2. Development and understanding of bioorthogonal tools / Bioortogonális reagensek fejlesztése” alfejezet további öt tézispontot alapol meg: 6) csökkent hidrofobicitással rendelkező, monobenzociklooktin reagens (COMBO) előállítás és vizsgálata; 7) egy hidrofil *transz*-ciklookténnal (DOTCO) módosított nem természetes aminosav előállítása és genetikai kódolása és a hidrofil aminosav egyszerű, gyors mosással való eltávolításának igazolása; 8) a nikotinamidból levezethető tetrazinokon a szterikus és elektronikus hatások vizsgálata szerkezet-hatás vizsgálatok segítségével; 9) a pironin váz, mint bioortogonális funkciós csoport alkalmazása kölcsönösen ortogonális bioortogonális reakciókban, illetve olyan olyan új, hullámhossz-változtató fluorogének előállítása, ahol a pironin váz bioortogonális reakciója a π -rendszer kiterjesztését eredményezi; valamint 10) nagy térigényű izonitril csoporttal módosított nem-természetes aminosav (BICK) genetikai kódolása és az izonitril csoport kölcsönösen kizáró bioortogonális reakciókban való alkalmazása. E munkák főként ahhoz köthetőek, hogy a fluoreszcens mikroszkópiás vizsgálati módszerek fejlődésével lehetővé vált több biológiai képlet egyidejű szuperfelbontású vizsgálata, melyekhez az élő sejtekben több biomolekula, organelum stb. egyidejű szelektív jelölésére van szükség. Ezeket az igényeket kielégítendő terveztek és állítottak elő olyan új bioortogonális funkciós csoportokat, melyek lehetővé teszik több, egymásra nézve is szelektív bioortogonális reakció egyidejű alkalmazását.

A harmadik „3. Conditionally activatable photolabile protecting groups / Feltételesen aktiválható fotolabilis védőcsoportok” alfejezet három további tézispontot támaszt alá: 11) a kumarin típusú fotolabilis védőcsoportok aktiválási hullámhosszának vörös-irányú módosítása a π -elektronrendszer kiterjesztésével; 12) a 488 nm-es gerjesztést lehetővé tevő ultrafluorogén, vinil tetrazinnal módosított kumarin előállítása; valamint 13) a feltételesen aktiválható fotolabilis védőcsoportok koncepciójának kidolgozása és az elmélet igazolása vinil tetrazinnal modulált kumarinalapú fotolabilis védőcsoport segítségével, élő sejtekben. Ezek a kutatások a fénnel lehasítható vegyületek előállítását célozták, mivel a fotolabilis védőcsoportok lehetővé teszik pl. terápiás hatóanyagok fénnel történő felszabadítását, megnyitva ezzel az utat ún. fotoaktivált kemoterápiás eljárások felé. A fotoaktiválható kemoterapeutikumok esetében a védőcsoport ideiglenesen inaktíválja a gyógyszervegyületet, majd a tumor környezetébe jutva és megfelelő hullámhosszú fénnel besugározva lehasítható, amivel a gyógyszervegyület visszanyeri biológiai aktivitását.

Az alfejezetek megfelelnek a jelölt közleményiben vizsgált kérdésköröknek és fedik a téziszűzetben felsorolt 13 tézist. Megállapítható volt, hogy a vizsgált, igen aktuális területeken felmerülő, jól kiválasztott témákat igényes, sokoldalú megközelítésen alapuló módszerekkel vizsgálta és a vizsgálatok alapján érdemi és előremutató következtetéseket vont le. Ezekkel kapcsolatban különösebb formai kifogásom sincs, csupán a bírálat végén megfogalmazott észrevételek / kérdések merültek fel bennem.

Apróbb formai észrevételek az értekezéssel kapcsolatban:

- A fejezetcímbe is alkalmazott „*activatable*” kifejezés a Merriam Webster szótár szerint nem létezik; helyette alkalmazható az „*activable*” (jelentése: capable of being activated).
- A „*Bioorthogonal chemistry*” (5. oldal) részben (és később több helyen is) használt „*live organism*”/„*live system*” helyett jobb lenne a „*living organism*”/„*living system*” alkalmazása.
- Az értekezés ugyan tézisszerű, de ennek ellenére jó lett volna a nem triviális rövidítéseket mindenütt feloldani az első előfordulási helyen. Ráadásul ez nem konzekvensen történt, pl. a „super resolution microscopy (SRM)” vagy a „protein of interest (POI)” esetében a rövidítés feloldása megtörtént, míg a „BODIPY”. „FRET” vagy „TBET” rövidítéseknél nem. Ugyancsak erősen hiányzott a „GCE” rövidítés esetében a „genetic code expansion” feloldás (amit persze a kontextusból és az eredeti közleményekből ki lehetett következtetni).

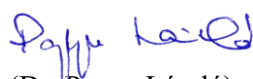
Felmerült észrevételek és kérdések:

1. A kétszeresen azid funkciót tartalmazó fluorogén keresztkötők esetében mennyire volt várható a tényleges keresztkötés kialakítás biológiailag releváns fehérjekoncentrációk esetén? Nem lehetett volna-e előre jelezni a problémát ilyen koncentrációtartományba eső proteinkoncentrációk előkísérletekkel?

2. A fluorogén molekulák és a linkerek jellemzően hidrofób karakterűek, ami számottevően módosíthatja biológiai rendszerekbeli eloszlásukat. Történtek-e kísérletek pl. a multikromoforikus rendszerek kialakítása során a linkerek hidrofilitásának növelésére (pl. alkil linker helyett cukoralapú vagy polietilénoksi linker)? A hidrofilitás növelés fontosságát jelzi a későbbi kísérletek során a TCO kapcsolóelemek helyett a DOTCO módosítás sikere.
3. A pironin vázas reagensek esetében vizsgálták-e ezen vegyületek stabilitását az élő sejtekben potenciálisan előforduló karboxilészteráz/promiszkuus proteáz enzim bontással szemben is (pl. célsejt nyers extraktummal, vagy ismert mintaproteázok biológiailag releváns koncentrációval)?
4. Biokompatibilis megközelítésként a biológiai rendszereken belüli szétszórt helyi fénygerjesztésre elképzelhető-e a fotolabilis rendszerek manipulálása biológiai fény-gerjesztéssel (pl. a Szentjánosbogár is világít). Van-e ilyen rendszerre irodalmi példa?
5. A 3. téma 2 vegyülete mutatta a legjobb tulajdonságokat. Ennek kapcsán érdekes lehetne a (+)-töltésű rész még közvetlenebb kapcsolata a kumarin résszel. Megvalósítható lenne-e a kapcsolt piridínium rész kialakítása 1-vinilpiridínium sóként? Végeztek-e ennek tulajdonságaira számításokat?

Az értekezés hozzám eljutott példányában sajtóhibát, apróbb formai, stilisztikai hibákat és fogalmazásbeli pontatlanságot csak mérsékelt számban találtam (ezekből csak néhányat említettem). A bevezető elemzésből és a kísérletek leírásból kitűnik, hogy az értekezés komoly, igényes, összetett és önálló elemző és kísérleti munkán alapul. A frissen lekért és adatok szerint Dr. Kele Péter PhD fokozatának megszerzése óta 70 közleményt jelentetett meg (66 SCI közlemény, ebből 42 esetben levelező szerző, 2 esetben egyedüli szerző), 1 szabadalomban társfeltaláló. Önhivatkozások nélküli idézettsége 2015, az öt legmagasabb idézettségű munkájára önhivatkozások nélkül 769 hivatkozást kapott, összéidézettség alapján számított H-indexe 27. Ezek az adatok messze meghaladják a Szerves és biomolekuláris kémia terület minimumkövetelményeit (SCI publikációk és szabadalmak száma >35; IF >80; független SCI idézetek >200), tehát az értekezés tudományos tartalmának mennyisége megkérdőjelezhetetlen. Az értekezésben foglaltakat tudományos tartalmukat illetően is értékesnek és igen tiszteletre méltó teljesítménynek tartom. Az értekezés MTA Doktora cím megszerzéséhez szükséges nyilvános vitára bocsájtását és sikeres védelmet követően az MTA Doktora cím odaítélését melegen javaslom.

Budapest, 2025. február 20.



(Dr. Poppe László)