

beke.somfai.tamas_351_25

Peptidrendszerek funkcionális szerveződése

Beke-Somfai Tamás

MTA doktori értekezés

Tézisfüzet



HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Budapest, 2025

1. A KUTATÓMUNKA CÉLJA

Az antimikrobiális rezisztencia (AR) globális szinten egyre növekvő egészségügyi és gazdasági kihívás, melynek során a gyógyszerrezisztens kórokozók globálisan komoly egészségügyi és gazdasági károkat okozva. Ez a tendencia új típusú antibakteriális terápiák fejlesztését sürgeti, ahol a természetes antimikrobiális peptidek (AMP-k) és származékaik ígéretes megoldást jelenthetnek. Az elmúlt négy évtized kulcsfontosságú volt bizonyos tulajdonságaik és hatásmechanizmusaik megértésében, azonban továbbra is jelentős ismerethiány áll fenn a komplexképződéssel járó kölcsönhatásaik és biológiai funkcióval is rendelkező szupramolekuláris szerveződéseik terén, ami miatt az idevágó fejlesztések ma is nagymértékben a véletlen felfedezésekre épülnek. A természetes peptidek mellett az elmúlt évtizedekben számos mesterségesen tervezett peptidomimetikum is megjelent. Ezek a nem természetes peptidek, mint például a β -peptidek vagy triazol peptid foldamerek, olyan aminosavakat tartalmaznak, amelyek nem fordulnak elő a természetben, viszont kiválóan utánozzák azok szerkezeti és funkcionális jellemzőit. A β -peptidek például a gerincükben egy további metilénsoport révén nagyobb konformációs szabadsággal bírnak, stabilabbak a proteázokkal szemben, azonban magasabb önrendeződési hajlandóságuk is. A csoporthoz tartozó ún. triazol foldamerek 1,4- és 1,5-diszubsztituált triazolgyűrűket tartalmazó δ -aminosavakból épülnek fel, és a triazol alapú foldamerek szintézise és szerkezeti jellemzése új perspektívákat nyithat a bioaktív, nem természetes peptidek tervezésében, különösen az AMP-k mimikálása terén.

A disszertációban bemutatott kutatómunka a fenti peptidrendszerek esetén fókuszál azok szupramolekuláris rendszereinek jobb megértésére, biológiailag releváns asszociátumainak feltérképezésére, funkcionális tervezésükre, valamint – a triazolok esetén – szerkezeti tulajdonságok alapvető megértésére. A kutatómunka alapkutatási célja jelenlegi tudásunk határait tovább kitolni a tervezhető szerveződéssel járó biológiai kölcsönhatások felé. Ehhez a természetes peptidek esetén a korábbi tudásbázisra építve már kismolekulákkal alkotott társ-szerveződésekkel van lehetőség kezdenem, eljutva a biológiai funkciókig, a β -peptidek esetén az önszerveződés kezdetétől eljutva egy-egy példán keresztül a biológiai relevanciájú szerveződésekig, míg a triazolok foldamerek esetén – a fenti két rendszer évtizedekre visszanyúló kutatási folyamatai mentén – egészen a kezdeti szerkezeti tulajdonságoktól kezdve jutok el az első lehetséges egyszerű asszociátumok szerkezeti tulajdonságaiig. Praktikus, piaci innováció által motiválva pedig remélhetőleg a jövőben hatékonyabb antimikrobiális készítményeket eredményezhetnek melyek visszaszorítják az AR térnyerését, illetve a biológiai

anyagtudományban olyan új nano- és mikroméretű lágyanyagokat eredményezhetnek, melyek lokálisan a célterületen alakulhatnak ki másodlagos kölcsönhatásokon keresztüli szerveződéssel.

2. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

Peptidek szintézise: A természetes peptideket kereskedelmi cégektől vásároltuk (NovoPro, China, EZ Biolab, USA, Bio-Science Kft.), 95% feletti tisztasággal. Minden β -petpidet szilárd fázisú peptidszintézissel, Fmoc védőcsoportot alkalmazva szintetizáltunk áramlásos kémiai módszereket alkalmazva. A peptid szekvenciákat a gyantáról TFA, víz, triizopropilszilán és dithiothreitol eleggyel hasítottuk le szobahőmérsékleten. A triazolok szintéziséhez mikrohullámú üvegcsében N-Boc-propargilamint (627 mg, 4,0 mmol), metil 2-azidoacetátot (475 mg, 4,1 mmol) és 15ml THF-t tettünk, majd 48mg 0,16 mmolos $[RuCl_2Cp^*]$ adtunk hozzá.

Szerkezetvizsgálat: A peptidrendszerek komplex biofizikai és szerkezeti vizsgálatát számos módszerrel igyekeztünk alátámasztani. Szerkezeti tulajdonságaikat CD és folyadékfázisú lineáris dikroizmus (LD) spektroszkópia, FT-IR spektroszkópia és 2D NMR spektroszkópia segítségével vizsgáltuk. Ezen felül a kísérleti módszereket atomi szintű (MD) és durva szemcsés molekuladinamikai (CG-MD) szimulációkkal is kiegészítettük.

Morfológia és részecskeméret: A kutatásaink során kialakult szupramolekuláris morfológiákat dinamikus fényszórás mérésekkel (DLS), atomi erő mikroszkópiával (AFM), valamint transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM) segítségével vizsgáltuk. Utóbbihoz kapcsolódóan a lipid rendszerek esetén fagyasztva törést is alkalmaztunk (FF-TEM). Különleges - az oldatfázisú morfológiákba jobb betekintést adó - technikaként krio-elektron mikroszkópiai felvételeket is készítettünk (krio-EM) a Brnóban található CEITEC szerkezetkutató centrumban.

Sejtes vizsgálatok: A természetes peptidek ko-asszociátumai és a β -peptid rendszerek esetében citotoxikus hatásvizsgálatokat humán Monomac 6 sejtvonalon végeztük, négy párhuzamos mérést végezve. Ezen felül antimikrobiális vizsgálatokat is végeztünk, *Escherichia coli* és *Streptococcus pneumoniae* sejtvonalakon ahol a leolvasás 24 óra inkubálás után történt és minden mintát három párhuzamos mérés alapján analizáltunk. Dhvar4 koasszociátumai esetén fluoreszcens mikroszkópiai vizsgálatot is végeztünk HeLa sejteken, fluoreszcensen jelölt peptideket alkalmazva. A méréseket egy Leica TCS SP8 mikroszkópon végeztük. Ide

kapcsolódóan pásztázó elektron mikroszkópiával (FESEM) is készítettünk képeket *E. coli* sejteken egy Zeiss ULTRA Plus FESEM mikroszkópot használva.

3. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A fent összefoglalt célok mentén elért új, tudományos eredményeink alapján egyaránt levonhatóak általános érvényű következtetések valamint specifikus megállapítások is. A megfogalmazott tézispontok tématerületenként a következők:

3.1 TERMÉSZETES PEPTIDEK INDUKÁLHATÓ MAGASABB SZINTŰ SZERVEZŐDÉSEI

Két komponensű rendszerek elméleti vizsgálata (D1)

I. Az AMP-k térszerkezetváltozása negatív töltésű szerves kismolekulákkal alkotott komplexképzés során érdekes, mivel: 1. természetes biomolekulák esetében egy ilyen komplexképződés hatással lehet mind az összetevők funkciójára; 2. ezek a kölcsönhatások megjelenhetnek pl. étkezéssel bevitt mesterséges kismolekulákkal is; 3. amennyiben a szerkezet mellett az AMP-k aktivitása is modulálható így, akkor a peptidek akár targetálhatóak lehetnek. Az erős aggregációs hajlam miatt az NMR spektroszkópia, vagy röntgenkristallográfia nem bizonyultak alkalmas vizsgálati módszernek, ezért egy választott két komponensű rendszeren, a CM15 nevű AMP és a poliszulfonált suramin nevű gyógyszermolekula kölcsönhatásán keresztül vizsgáltuk azok asszociatumpépzésének kezdeti szakaszát MD szimulációk segítségével. Metadinamikai szimulációkkal megmutattuk, hogy a CM15-suramin esetén a legnépesebb klaszter a rendszer 85,5%-át teszik ki, melyben a CM15 helikális téralkatú. Szabadentalpia számítások segítségével meghatározható volt, hogy a relative erős kötődés a suramin és a példa AMP-ként használt CM15 molekula között jelentős entrópia tagot is tartalmaz. A szimulációk alapján megállapítottam, hogy a suramin valójában inkább stabilizálja a CM15 peptidek populációban meglevő helikális térszerkezetét, semmint indukálja annak kialakulását.

A lizofoszfátidsav hatása peptidszekvenciák térszerkezetére (D2)

II. A fenti térszerkezetváltozást kísérletes módszerekkel történő vizsgálatnak is alávettem. Ehhez több AMP-n vizsgáltuk egy micellaképző lipid jelzőmolekula, a lizofoszfátidsav (LPA) szerkezetet befolyásoló hatását, melyet elsősorban CD spektroszkópiával követtünk. Megállapítottuk, hogy az LPA-val történő kölcsönhatások a vizsgált peptidek esetén többször is olyan másodlagos szerkezeteket eredményeztek, melyeket korábban az adott szekvenciára még nem azonosítottak. Általánosságban az LPA és peptid kölcsönhatások alátámasztják, hogy

az AMPk esetén számos aktív szerkezet és kapcsolt mechanizmus még ismeretlen, és azok valószínűsíthetően túlmutatnak a közvetlen membránon kifejtett toxikus hatáson. Ezen felül, az LPA micellák esetén a peptidekre nézve a következő három kötődéstípust azonosítottuk: 1. Micellába ágyazott kötődés helikális peptidszerkezettel; 2. Helikális szerkezet kötődése az LPA micella felszínére; 3. Az LPA micella felületén kinyújtott, β -szál szerkezetben történő peptid kötődés.

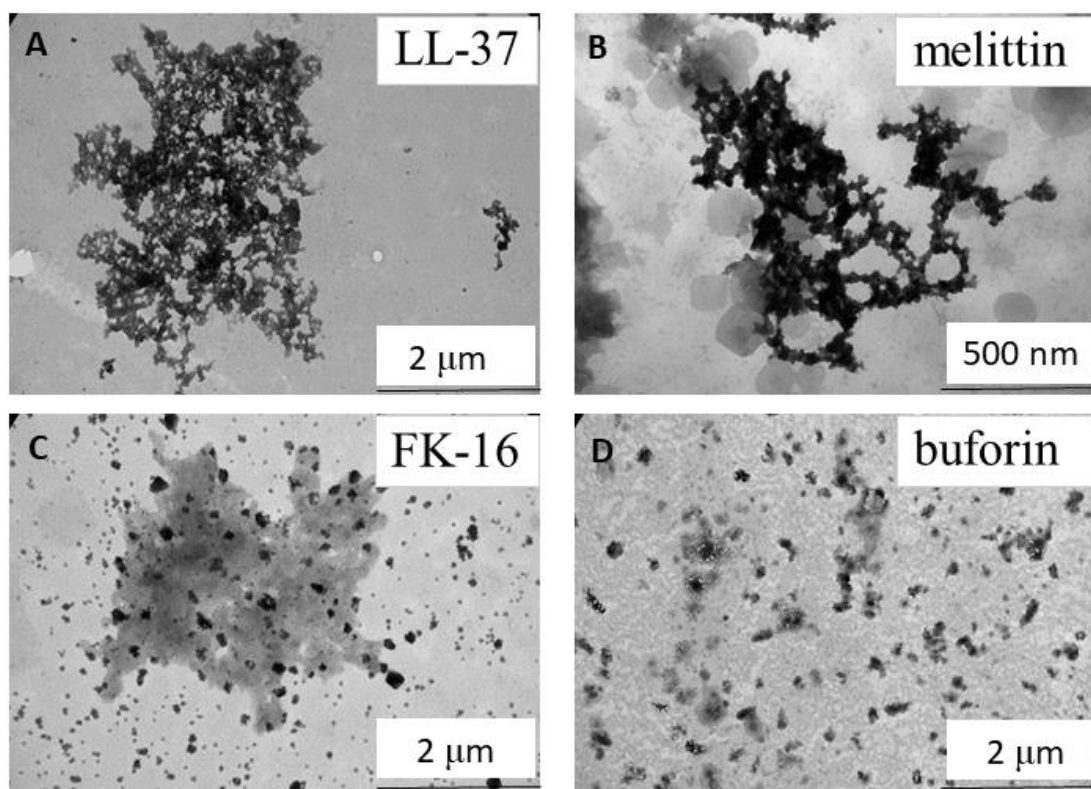
Quorum jelző molekulák királis ko-asszociációi (D3)

III. Humán jelzőmolekulák mellett vizsgáltam, hogy az AMP-k képesek-e más hasonló funkciót betöltő molekulákkal is kölcsönhatni. Ezek közül az egyik legérdekesebb a bakteriális biofilmekben levő baktériumok közötti kommunikációért felelős, az ún. quorum sensing (quorum érzékelő, QS) molekulák csoportja. Kiválasztottuk a reprezentatív LL-37 gazdavédő peptidet, valamint a *Pseudomonas aureginosa* kinolon jelző molekuláját (Pseudomonas quinolone signal, PQS), és ezek kölcsönhatását CD spektroszkópiával követtük. A CD és abszorbancia spektrumok felvétele után megállapítottuk, hogy a PQS és az LL-37 interakciójakor egyedi komplexek, majd makroméretű asszociátumok alakulnak ki, melyek a CD spektrumokban indukált CD jelek megjelenését okozzák. A megfigyelhető indukált CD jelek pozíciói megegyeztek az akirális PQS molekula főbb abszorpciós csúcsaival, ami arra utal, hogy a királis peptiddel rendezett asszociátumok keletkezése indukálhatja a CD jeleket. Az PQS-sel történő komplexképzés eredményeivel rámutattunk arra, hogy a gazdavédő peptidek diverz potenciális védekezési módjai lehetnek mikrobiális fertőzések esetén.

AMP-k ko-asszociátumai endogén vegyületekkel (D4)

IV. További lépésként 9 AMP-t – köztük több természetes gazdavédő peptidet- választottam ki, hogy megvizsgáljuk hemin- illetve biliverdinnel esetleges kölcsönhatásukat, a kialakuló magasabb rendű asszociációkat, valamint ezen kölcsönhatások potenciális biológiai jelentőségét. A CD spektrumokon változások voltak azonosíthatóak melyek alapján megállapítottuk, hogy a hemin jelenléte már 1:1 arányban is jelentős helikális feltekerődéssel jár a legtöbb vizsgált peptid esetében. Ezen felül TEM segítségével azonosítottunk kiterjedt, részlegesen rendezett aggregátum morfológiákat több peptid esetén. A fentiek biológiai relevanciáját sejtes esszékkal teszteltük. Ezek egyértelműen kimutatták, hogy az LL-37 citotoxikus hatását jelentősen csökkent a hemin jelenléte. Ezzel feltehetőleg az immunrendszer képes lehet modulálni a túlexpresszált AMP-k saját sejtekre káros hatását, ezáltal kontrollálni a külső fertőzésekre történő immunválaszt. Másik oldalról viszont -tekintettel az esetlegesen

magas hemin koncentráció szintén toxikus hatására- az eredmények a peptidek hem-kötő tulajdonságát is hangsúlyozzák. Összességében megállapítottuk, hogy a hemin és metabolitjainak kötődése erősen preferált a vizsgált AMP-k esetében, mely alapvetően hozzájárul annak a korábban rögzült szemlélet átértelmezéséhez, hogy az AMP-k funkciója kimerül az ellenséges mikrobiális membrán roncsolásában.



ábra i (A-D) AMP-hemin ko-asszociátumok TEM ábrái, melyek eltérő méreteloszlást és komplexitást mutatnak

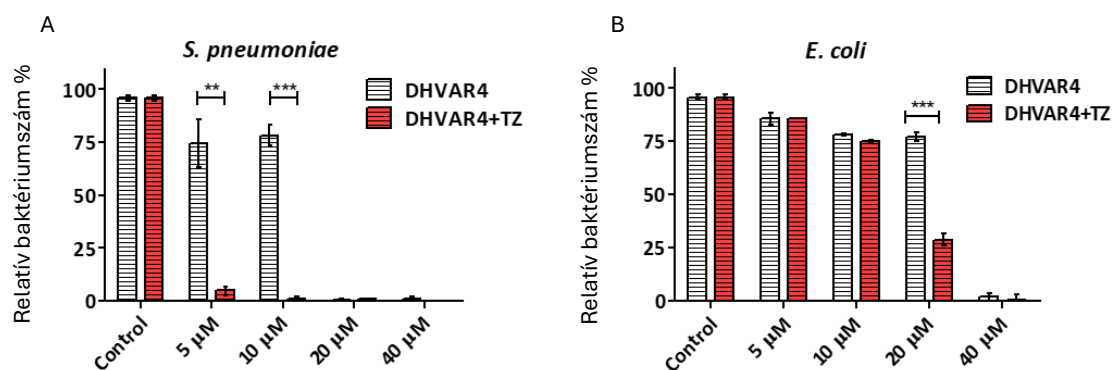
Három komponensű rendszerek kialakulásának szimulációs és kísérletes vizsgálata (D5, D6)

V. Vizsgáltuk MD szimulációkkal és kísérletes módszerekkel is CM15-suramin molekulával alkotott komplexét lipid kettősrétegek jelenlétében. A CD, DLS és MD vizsgálatok eredményei egymással összhangban nyújtottak betekintést egy dinamikus rendszerbe, ahol a peptid kölcsönhatása a lipid kettős réteggel és a suramin molekulákkal versengő módon alakul, amelyben a peptid-suramin arány, valamint több más tényező is befolyásolja az egyensúly kialakulását. Megállapítottam, hogy a CM15-suramin komplex vízben könnyen nagy aggregátumot alkothat, azonban PC kettősréteg jelenlétében ezek kisebbek lesznek, néhány egyedi peptid pedig belép a fejcsoport régióba. További megállapítás, hogy a negatívan töltött PC/PG rendszer esetében a CM15-suramin asszociátumok nem is épülnek fel igazán, inkább a kis kezdeti komplexek "beleoldódnak" a kettősréteg felszíni régióiba. Az elméleti és a kísérleti eredmények összhangban voltak egymással.

Biológiai aktivitás és mögöttes mechanizmus (D7)

VI. Megvizsgáltam, hogy lehetséges-e valamely AMP antibakteriális hatását növelni szerves kismolekulákkal történő asszociátum képzéssel. Ehhez néhány anionos élelmiszer-adalék, pl. a tartrazin (TZ), és egy nyálból származtatott AMP (DHVAR4) kölcsönhatását és közös aktivitását tanulmányoztuk. Ez a kölcsönhatás jelentősen növelte az antibakteriális hatást mind Gram-pozitív (*S. pneumoniae*), mind Gram-negatív (*E. coli*) baktériumokra nézve, míg emlős sejtekre nézve nem tapasztaltuk a toxicitás növekedését. (ábra ii).

Megállapítottuk, hogy az AMP aktivitás pozitívan módosítható ételfesték molekulák által. Ezen felül azonosítottuk, hogy a növelt aktivitás mechanisztikus háttere a DHVAR4-TZ komplexek membrán kölcsönhatásához kapcsolódik, ahol a peptid növekvő helikális jellegét a TZ hatásának köszönheti, amelynek eredményeként AMP-foszfolipid hidrogén kötések jönnek létre. Ezek megzavarják a kettősréteg integritását és szabályozott blebképződéshez vezetnek a célsejtek membránján. A kevert antibakteriális összetevőkre megfigyelt szinergikus hatásokkal szemben ez egy alapvetően más mechanizmus, ahol a TZ közvetlenül molekuláris szinten kapcsolódva befolyásolja a membránon található AMP-t elősegítve annak biológiailag aktív helikális konformációját.



ábra ii A DHVAR4 TZ komplex rendszer antibakteriális hatékonysága Gram pozitív (A) és Gram negatív (B) baktériumok ellen. Referencia: A DHVAR4 AMP egyedül mért antimikrobiális hatása

3.2NEM TERMÉSZETES, β -PEPTIDEK KOMPLEX ASSZOCIÁTUMAI

Membránaktív asszociátumok vázszerkezete - kezdeti elméleti számolások (D8)

VII. Az önszerveződő peptid-alapú mesterséges membránaktív nanorendszerek racionális, alulról-felfelé tervezésének támogatása érdekében kvantumkémiai számítások segítségével hasonlítottam össze a természetes, α -peptidek, és az aminosavak homológ során következő legegyszerűbb nem természetes, ún. β -peptidek redőzött rétegből felépülő hordószerű csövet alkotó szerveződéseit. Praktikus szempontból közelítve, a természetes fehérjék esetében ez a

vázszerkezet alkotja a β -hordó membránfehérjéket. Megállapítottam, hogy a β -peptidek nagyobb affinitást mutatnak a nanocsövek kialakítására, mint a természetes peptidek. A nyitott redőzött réteg szerkezetéhez viszonyítva egy energetikailag stabil nanocső kialakításához hat peptid szükséges α -peptidek esetében, de már kettő is elég β -peptidek használatakor. Megállapítottam továbbá az energetikai analízisből, hogy az α -peptidek csőtestének az antiparallel elrendezés a kedvezőbb, míg a β -peptidek esetén a parallel orientáció a preferált.

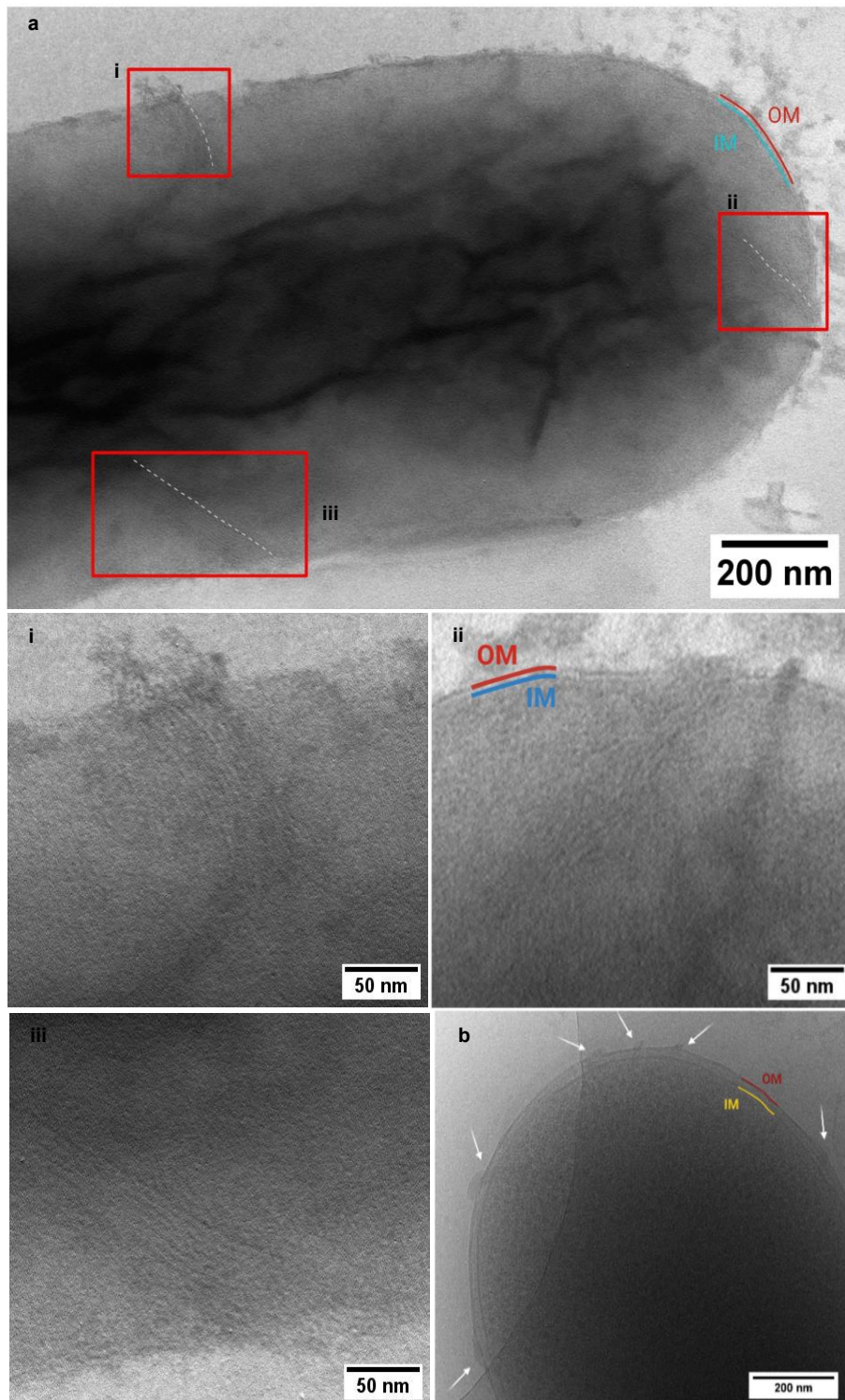
Membránaktív rendszerek dinamikus asszociátumai (D9)

VIII. A természetes aminosavakból álló α -peptidek és természetes fehérjerészletek β -redőzött rétegek kialakításához szükséges egyik legfontosabb tulajdonsága a nem természetes β -peptidekkel szemben az, hogy a nyújtott peptidgerinc mentén az egyes oldalláncok váltakozva helyezkednek el. Ezért, hasonló vázszerkezet előállításához olyan heterokirális rendszereket terveztem, melyeknek hidrofób és hidrofil oldalláncai az alternáló kiralitás miatt váltakozva az ellentétes oldalra kerülnek. Az optimált szekvenciáknál végül módosításokkal azt is sikerült elérni, hogy végtelen és oldhatatlan fibrillumok keletkezzenek. Ezzel sikerült olyan önszerveződő β -peptideket alkotnunk, melyek oligomerizálódnak vízben, ám önszerveződésük nem feltétlenül folytatódik végtelen fibrillumok felé. Az öt kérdéses szerkezetből három volt vízoldható, melyek egyben membránaktívak is voltak. Megállapítottuk, hogy a legigéretesebb peptid (**5**) a membrán mélyebb rétegeibe is beágyazódik, és ott intermolekuláris H-kötéseket is kialakít. Ezzel sikerült egy olyan heterokirális β -peptid szekvenciát előállítani, mely nyújtott konformációban oligomerizálódik, és membránba ágyazódva is valószínűsíthetőleg asszociátumot képez.

Lamellin β -peptidek környezetérzékeny asszociációja (D10)

IX. Fentieket figyelembe véve továbbfejlesztettem a heterokirális β -peptid szekvenciákat olyan módon, hogy azok lehetőség szerint antimikrobiális hatással is rendelkezzenek. A tervezett peptidek pozitív töltésűek voltak (2K ill. 3K), és negatív ionok (pl. foszfát ionok) esetén képesek voltak asszociátumok kialakításához kapcsolt konformációváltozásra. Megállapítottuk, hogy ezek a peptidek képesek lamelláris morfológiákat felépíteni foszfát csoportok jelenlétében. Kimutattuk, hogy ezek az ún. „lamellinek” erős antimikrobiális hatással rendelkeznek. Spektroszkópiai vizsgálatokkal, valamint krio-EM és hagyományos TEM technikákkal sikerült megmutatni, hogy mechanizmus szempontjából a baktériumokon kifejtett toxikus hatásuk valószínűleg annak köszönhető, hogy kötődnek a Gram negatív baktériumok külső membránjában található lipopoliszacharidok foszfátgazdag régióihoz, és azokról

elindulva befelé alkotnak lamelláris morfológiákat melyek felvágják a membránt ezzel sejthalált okoznak. (ábra iii).



ábra iii Bakteriális vizsgálatok TEM és krio-EM képei, vizes közegben 3K-val. a. i-iii E. coli TEM képe és annak nagyításai. b. krio-EM kép ugyanarról a rendszerről. OM: külső membrán; IM: belső membrán

3.3 TRIAZOL FOLDAMEREK KEZDETI VIZSGÁLATA

Alapvető szerkezeti elemek, triazol aminosavak szerkezeti tulajdonságai (D11)

X. A peptid foldamerek terén nemrégiben új típusú rendszerekként jelentek meg az 1,4- és 1,5-szubsztituált triazol aminosavakat tartalmazó foldamerek. A jobb tervezhetőségükhöz elméleti vizsgálatokat végeztünk a két legfontosabb alapegység, az 1,4-szubsztituált (4Tzl) és a 1,5-szubsztituált (5Tzl) 1,2,3-triazol aminosavak konformációs terével kapcsolatban, kvantumkémiai számítások és NMR spektroszkópia felhasználásával. Azonosítottam, a két molekula összes stabil konformerét, illetve megállapítottam, hogy az 5Tzl esetében jóval több stabil konformer található. Szintén megállapítottam, hogy utóbbi konformerek energetikailag közel állnak egymáshoz.

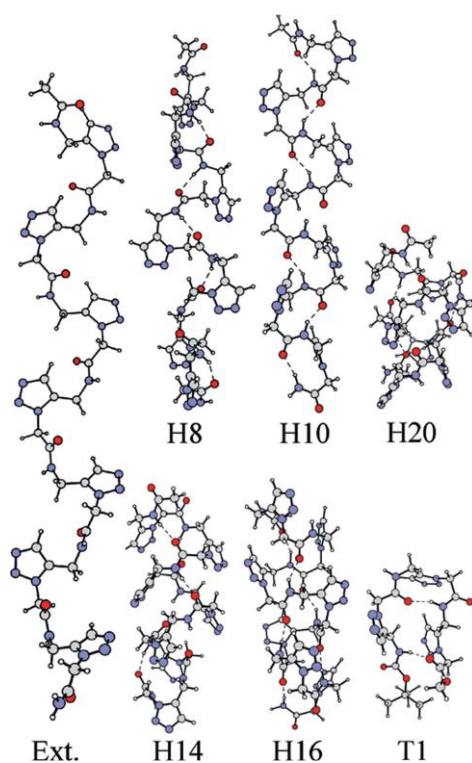
Szubsztituált 5Tzl aminosavak és azok szerkezeti preferenciája (D12)

XI. Svéd szerves kémikus kollegákkal sikeresen előállítottuk az elméletileg lehetséges nyolc királis 5Tzl mono- és diszubsztituált származékot ruténium-katalizált azid-alkin cikloaddíció (RuAAC) révén. Az egyes építőelemek konformációs tulajdonságainak értékelésére a monomereken egy szisztematikus kvantumkémiai tanulmányt végeztem, amely az energetikai minimumokat és azok alapvető tulajdonságait célozta meghatározni. Összességében kimutattuk, hogy minden királis szubsztituált vegyületnek több alacsony energiaszintű konformere van, ami változatos konformációs sokféleséget eredményezhetne, ha homooligomereket szintetizálnánk ezekből.

Hosszabb triazol foldamerek szerkezete és energiája (D12, D13, D14)

XII. Áttekintettük a különböző RuAAC szintézissel előállított aminosavak alkalmazási területeit, melyből világossá vált, hogy meglevő természetes peptidekbe történő egy aminosavas beillesztések mellett a több triazol aminosavat tartalmazó foldamereknek is széleskörű alkalmazhatósága lehet, azonban ezek szerkezeti tulajdonságai kevésbé ismertek. Ezért kvantumkémiai számításokkal vizsgáltam, hogy az egyes oldalláncok hogyan befolyásolhatják a triazol peptidek másodlagos szerkezeteinek energiasorrendjét. Királis és akirális építőelemekből felépített egyszálú heptamer peptidek esetén összesen 8 szerkezeti elemre koncentráltam. Megállapítottam, hogy királis aminosavak esetén a vegyes szubsztituációs minták, mint például az (S,R)-7 és az (R,S)-7, konformációs sokféleséget

eredményezhetnek homooligomerek esetében, mivel több másodlagos szerkezeti elemnek van közel azonos relatív energiája, függetlenül attól, hogy jobb-, vagy balmenetese. Számolások mellett akirális építőelemekből előállítottunk homooligomereket és azok szerkezetét NMR-spektroszkópiával is vizsgáltuk. Ezek eredményét kombinálva a számított másodlagos szerkezetekkel, a tetra-oligomerek esetén sikerült megállapítani, hogy a homooligomereknek nincs egyetlen preferált konformációja, inkább egyszerre több helikális és hajlított konformert foglalnak el a peptidek. A több stabil konformer jelenléte nemcsak a megfigyelt NOE-k által, hanem az azt támogató számítási módszerekkel kapott relatív energiaeloszlások által is alátámasztott. A számítások alapján a tetramer valószínűleg H16-ot, egy hajlított konformert, vagy akár H20-as hélixhez szükséges téralkatot is felvehet. Az akirális oligomerek esetén az ilyen konformációs flexibilitás előnyös tulajdonság, mivel azt jelzi, hogy a gerinc szerkezete elég rugalmas ami elvezethet a szerkezeti sokféleséghez a későbbi szekvenciális módosítások során.



ábra iv 5Tzl heptamerek másodlagos szerkezetei

4. AZ EREDMÉNYEK HASZNOSÍTÁSI LEHETŐSÉGEI

Az dolgozatban taglalt eredmények mind elméleti, mind gyakorlati szempontból ígéretes irányokat vetítenek előre a természetes AMP-k, és a nem természetes peptidek területén. A feltárt makroszkópikus asszociátumok és az egyes példákon keresztül megértett funkcionális szerepük előrevetíti és remélhetőleg segíti a hasonló peptid-alapú szupramolekuláris lágyanyagok gyógyszerészeti és biotechnológiai alkalmazásainak elterjedését, ahol hasonló komplexképzés, majd kiterjedt asszociátumok elérése akár *in vivo* rendszerekben is tervezhetőek lesznek. Ezek közül példaként említhetjük a dolgozatban tárgyalt heminek kötésére alapuló MIT-s szabadalmat, mely idézi a kapcsolódó eredményeinket. Az AMP-k komplexképződésének és szerkezetének mélyebb megértése lehetővé teszi új, hatékonyabb antimikrobiális terápiák kidolgozását. A quorum érzékelő molekulák és AMP-k által képzett királis szupramolekuláris rendszerek felvetik a kölcsönhatás és a képződmények esetleges szerepét biofilmek elleni stratégiák kidolgozásában. A biofilmekben tapasztalható antibiotikum-rezisztencia egyre súlyosabb probléma, ezért az AMP-k olyan módosítása, amely fokozza azok hatékonyságát biofilmek ellen, kulcsfontosságú áttörést jelenthet. A nem természetes β -peptidek szupramolekuláris szerkezeti sajátosságai remélhetőleg kiaknázzhatóak lesznek új generációs membránaktív gyógyszerek kifejlesztésében. Az ilyen struktúrák kontrollált aggregációja lehetőséget biztosít a célzott bakteriális sejtkárosításra, miközben minimalizálhatja a gazdasejtekre gyakorolt toxikus hatásokat. Az LPS által indukált sejtfelszínről induló lamelláris morfológiák képzése remélhetőleg új fejezetet nyit a bioinspirált szupramolekuláris antibiotikumok fejlesztésében. A triazol peptidek szerkezeti alapjainak felderítése remélhetően hozzájárul újfajta peptid-alapú nanokompozitok kifejlesztéséhez. Az 5Tzl kanyart preferáló konformerei már ma is alkalmazásra kerülnek fehérjékben történő prolin aminosavak helyettesítésére. Szubsztituált oligopeptidjeik tulajdonságai klikk-kémián keresztül elérhető hidrogél mátrixokat vetít előre, melyre remélhetőleg a jövőben egyre több példát láthatunk.

Az egzotikus peptidek változatos összetétele és szerkezete egyenlőre számos szerteágazó, egyedi esetet ír le, mely pont ellentétes a természetes peptidek és fehérjék egységes felépítésével szemben. Utóbbiak szerkezeti tulajdonságait így viszonylag könnyű adatbázisokba csatornázni, mely megalapozta az AI-alapú, adatbázisokra támaszkodó tervezésüket (Alfafold). Azonban kijelenthető, hogy a növekvő mennyiségű egyedi példatanulmány, valamint az AI intuitív algoritmusainak gyors fejlődése közösen eléri majd azt

a kritikus pontot ahonnan az új szekvenciák tervezése költséghatékony rutinfeladattá válik, és igazi áttörést eredményezhet az egzotikus rendszerek térnyerésében.

5. A DISSZERTÁCIÓ ELKÉSZÍTÉSÉHEZ FELHASZNÁLT KÖZLEMÉNYEK

- D1. G. Kohut, A. Sieradzan, F. Zsila, T. Juhász, Sz. Bősze, A. Liwo, S. Samsonov, **T. Beke-Somfai**: The molecular mechanism of structural changes in the antimicrobial peptide CM15 upon complex formation with the drug molecule suramin: a computational analysis *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2019**, *21*, 10644-10659
- D2. T. Juhász, J. Mihály, G. Kohut, C. Németh, K. Liliom, **T. Beke-Somfai**: The lipid mediator lysophosphatidic acid induces folding of disordered peptides with basic amphipathic character into rare conformations *Scientific Reports*, **2018**, *8*, 14499
- D3. F. Zsila, M. Ricci, I. Cs. Szigyártó, P. Singh, **T. Beke-Somfai**: Quorum Sensing Pseudomonas Quinolone Signal Forms Chiral Supramolecular Assemblies with the Host Defense Peptide LL-37, *Front. Mol. Biosci.* **2021**, *8*, 742023
- D4. T. Juhász, M. Quemé-Peña, B. Kővágó, J. Mihály, M. Ricci, K. Horváti, Sz. Bősze, F. Zsila, **T. Beke-Somfai**: Interplay between membrane Aktive host defense peptides and heme modulates their assemblies and in vitro activity, *Scientific Reports*, **2021**, *11*, 18328
- D5. G. Kohut, T. Juhász, M. Quemé-Peña, Sz. Bősze, **T. Beke-Somfai**: Controlling Peptide Function by Directed Assembly Formation: Mechanistic Insight using Multiscale Modelling on an Antimicrobial Peptide – Drug – Membrane system, *ACS Omega*, **2021**, *6*, 24, 15756–15769
- D6. M. Quemé-Peña, T. Juhász, J. Mihály, I. Cs. Szigyártó, K. Horváti, Sz. Bősze, J. Henczkó, B. Pályi, Cs. Németh, Z. Varga, F. Zsila, **T. Beke-Somfai**: Manipulating Active Structure and Function of Cationic Antimicrobial Peptide CM15 by the Polysulfonated Drug Suramin: A Step Closer to *in vivo* Complexity *ChemBioChem*, **2019**, *20*, 1578-1590
- D7. M. Ricci, K. Horváti, T. Juhász, I. Szigyártó, Gy. Török, F. Sebák, A. Bodor, L. Homolya, J. Henczkó, B. Pályi, T. Mlinkó, J. Mihály, B. Nizami, Z. Yang, F. Lin, X. Lu, L. Románszki, A. Bóta, Z. Varga, Sz. Bősze, F. Zsila, **T. Beke-Somfai**: Anionic Food

- Color Tartrazine Enhances Antibacterial Efficacy of Histatin-derived Peptide DHVAR4 by Fine-Tuning its Membrane Activity *Quarterly Reviews of Biophysics*, **2020**, *53*, E5
- D8. **T. Beke**, A. Czajlik, B. Bálint, A. Perczel: A Theoretical Comparison of Self-Assembling α - and β -Peptide Nanostructures: Toward Design of β -Barrel Frameworks *ACS Nano*, **2008**, *2*, 545-553
- D9. I. Cs. Szigyártó, J. Mihály, A. Wacha, D. Bogdán, T. Juhász, G. Kohut, G. Schlosser, F. Zsila, V. Urlacher, Z. Varga, F. Fülöp, A. Bóta, I. Mándity, **T. Beke-Somfai**: Membrane active Janus-oligomers of β^3 -peptides, *Chemical Science*, **2020**, *11*, 6868-6881
- D10. K. El Battioui, S. Chakraborty, A. Wacha, D. Molnár, M. Quemé-Peña, I. Cs. Szigyártó, Cs. L. Szabó, A. Bodor, K. Horváti, G. Gyulai, Sz. Bősze, J. Mihály, B. Jezsó, L. Románszki, J. Tóth, Z. Varga, I. Mándity, T. Juhász, **T. Beke-Somfai**: In situ captured antibacterial action of membrane incising peptide lamellae, *Nat. Commun*, **2024**, *15*, 3424
- D11. A. Said-Ståhlsmiden, A. J. Paterson, I. Cs. Szigyártó, L. Thunberg, J. R. Johansson, **T. Beke-Somfai**, N. Kann: Chiral 1,5-disubstituted 1,2,3-triazoles - versatile tools for foldamers and peptidomimetic applications, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2020**, *18*, 1957-1967
- D12. N. Kann, J. R. Johansson, **T. Beke-Somfai**: Conformational properties of 1,4- and 1,5-substituted 1,2,3-triazole amino acids – building units for peptidic foldamers, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2015**, *13*, 2776-2785
- D13. J. Johansson, E. Hermansson, N. Kann, B. Nordén, **T. Beke-Somfai**: δ -Peptides from RuAAC-Derived 1,5-Disubstituted Triazole Units, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *13*, 2703-2713
- D14. J. Johansson, **T. Beke-Somfai**, A. Said-Ståhlsmiden, N. Kann: Ruthenium-Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition Reaction: Scope, Mechanism and Applications, *Chemical Reviews*, **2016**, *116*, 14726-14768