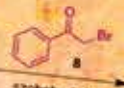
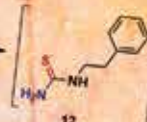
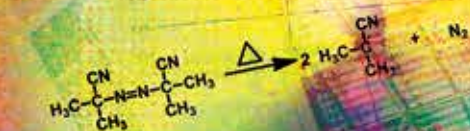


# AKI Kíváncsi Kémikus

Biológiai témákkal  
bővített kutatótábor

# 2022

*Kronika*





# IMPRESSZUM

Felelős kiadó: Dr. Tompos András  
Kiadja: Természettudományi Kutatóközpont  
Cím: 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.  
Honlap: <http://www.ttk.hu/aki/kutatotabor/>

Szerkesztő: Nagyné Dr. Bereczki Laura  
Borítóterv és layout: Turcsányi Mária

Készült a Possum Kft. gondozásában  
Felelős vezető: Várnagy László  
Telefon: (20)93-45-318

E-mail: [info@possumkft.hu](mailto:info@possumkft.hu)  
ISSN 2677-1772

A tábor szervezői:  
Dr. Tompos András  
Nagyné Dr. Bereczki Laura  
Dr. Keszler Anna Mária  
Grádné Szabó Rita  
Kránicz Andrea

Bíráló bizottság:  
Dr. Mihály Judith  
Dr. Tantos Ágnes  
Novákné Dr. Czégény Zsuzsa  
Bajcsi Áron



---

## A kutatótábor létrejöttéhez a következő személyek járultak hozzá:

Balterer Bence  
Bebesi Tímea  
Dr. Bombicz Petra  
Dr. Beke-Somfai Tamás  
Dr. Bódis Eszter  
Bogner Marcell  
Czirok István Sándor  
Dr. Sourav De  
Dr. Demeter Attila  
Dr. Déri Máté  
Dr. Fegyverneki Dániel  
Fekete Ferenc  
Dr. Gaál Anikó  
Dr. Holczbauer Tamás  
Ilyés Kinga

Kiss Laura  
Lendvayné Dr. Györik Gabriella  
Dr. Kozák Eszter  
Dr. Mohai Miklós  
Mangó Katalin  
Dr. May Nóra  
Dr. Mihalovits Levente  
Minus Annamária  
Molnár Dániel  
Dr. Monostory Katalin  
Dr. Németh András György  
Papp Daniella  
Dr. Paszternák András  
Dr. Petri László  
Dr. Pomozi Viola

Dr. Asmaa Selim  
Szabó Renáta  
Szepesi Kovács Dénes  
Dr. Szeri Flóra  
Dr. Szigyártó Imola Csilla  
Dr. Szijjártó Gábor  
Szobota András  
Sztanó Gábor  
Trif László  
Ujvári Kamilla  
Dr. Varga Zoltán  
Dr. Verebélyi Klára  
Vizkeleti Péter  
Dr. Wacha András

# TARTALOMJEGYZÉK

1.	Előszó	4
2.	Résztevők	5
3.	Témák / témavezetők / diákok	6
4.	Program	7
5.	Miniszimpozium	8
6.	Dolgozatok	
	<b>Morvai Eliza, László Anna</b>	10
	Meszesedési rendellenességek vizsgálata egerekben	
	<b>Bózsik Vilmos, Sipos Virág</b>	15
	Az elemi kén felhasználása multikomponensű reakciókban változatos kéntartalmú vegyületek előállítására	
	<b>Ardey Bálint, Simon Dorka Boróka</b>	20
	A valóra vált „magic bullet”: antitest-konjugátumok a rákkutatásban	
	<b>Endreffy Janka, Varga Zsófia</b>	24
	A betegek eltérő gyógyszer-lebontásának genetikai okai	
	<b>Bokor János Márk, Borsodi Eszter</b>	28
	Gyógyszermolekulák kötődésének modellezése fehérjékben	
	<b>Méri Zsófia, Szánti Tünde, Dudla Szilvia Boglárka</b>	34
	Bevezetés a műszaki kerámiák világába	
	<b>Dudás Zita Mónika és Nagygyörgy Zsóka</b>	41
	Tüzelőanyag cellák	
	<b>Balog Gergely, Békei Botond, Fodor Virág</b>	46
	Kristályoktól a molekuláig, avagy a Röntgen-sugárzás, mint atomi vonalzó	
	<b>Gönczi Álmos, Hegyi Patrícia, Haklits Hadasa Hajnalka</b>	52
	Polimer gélek kémiája, kísérletek gumimacival és társaival	
	<b>Bakonyi Bálint, Bercsi Laura</b>	56
	Sejtmembrán-mimetikumok hatása antimikrobiális peptidok konformációjára	
	<b>Bodnár Mária, Tóth Diána</b>	61
	Extracelluláris vezikulák vizsgálata	
7.	Tábori élet képekben	66

# 1. ELŐSZÓ

Dr. Tompos András, Anyag- és Környezetkémiai Intézet igazgató



2022-ben tizenkettedik alkalommal szerveztük meg pályaválasztás előtt álló, kémia és biológia iránt érdeklődő középiskolás diákok számára az „AKI Kíváncsi Kémikus” kutatótábort. Tehetség-gondozó táborunk évente lehetőséget ad a résztvevők számára, hogy egy héten keresztül a Természettudományi Kutatóközpont kutatóival együtt dolgozhassanak, betekintést nyerjenek az itt végzett munkába. Idén a Természettudományi Kutatóközpont 9 kutatócsoportjának 26 kutatója 11 kutatási projekttel fogadta a diákokat az Anyag- és Környezetkémiai Intézet, a Szerves Kémiai Intézet, az Enzimológiai Intézet és a Szerkezetkutató Központ laboratóriumaiban.

A beérkezett pályamunkák bírálata után a legjobb pályázatot benyújtó 25 középiskolást tudtuk fogadni a kutatótábor hetére. A diákok fele Budapestről, a többiek 10 más magyarországi illetve határon túli településről, összesen 18 gimnáziumból érkeztek hozzánk. A diákok az itt töltött egy hét alatt elmélyedtek egy-egy tudományos témában, megismerhették az általunk alkalmazott kísérleti módszereket, bekapcsolódhattak a labormunkába, részt vehettek nagyműszerekkel végzett méréseken. A tábor utolsó napján miniszimpózium keretében színvonalas előadásokban mutatták be a kutatótábor hetében nálunk végzett munkájukat. Jelen kiadványunk a kutatómunka és elért eredmények kidolgozott és maradandó megfogalmazása. Célunk ezzel a kiadvánnyal átfogó képet adni a tábor kutatási tevékenységeiről, és bemutatni milyen hangulatban telt ez a hét a Természettudományi Kutatóközpontban.

## A 12. AKI Kíváncsi Kémikus tábor

Nagyné Dr. Bereczki Laura, szervező



Nagy öröm volt, hogy idén újra megszervezhettük az „AKI Kíváncsi Kémikus” kutatótábort, mert az előző két évben (2020-ban és 2021-ben) a koronavírus-járvány miatt erre nem volt lehetőségünk. A kutatótábor fő szervezője, megformálója a kezdetektől fogva Lendvayné Dr. Györik Gabriella volt, aki azonban időközben nyugdíjba vonult, és szeretne volna a szervezés feladatát átadni, így 2022-ben, 11 tábor után a szervezést új szervezőgárda vette át. Gygeztünk megtartani a tábornak a 11 év során kialakult formáját, amelyhez minden segítséget megkaptunk a korábbi szervezőktől.

A diákok számára legérdekesebb, és a tábor legfontosabb része a laboratóriumokban végzett kutatómunka volt, amelybe a diákok a tábor hetében bekapcsolódhattak. Ez olyan találkozási pont volt, ahol a diákok természettudományok iránti lelkesedése kapcsolódhatott a kutatók tudásával és lelkesedésével, izgalmas kutatómunka keretében. A diákok páronként, vagy hármassal dolgoztak, általában egy kutató páros témavezetésével. Ez, a szinte személyes figyelem, lehetővé tette, hogy a diákokra koncentrált figyelmet fordíthassunk, és így rövid idő alatt viszonylag mélyebb betekintést nyerjenek az adott területre.

A laboratóriumi munka után számos közösségépítő, vagy tudománypopularizáló programra is sor került. A tábor csapatépítő játékkal indítottuk, amelynek eredményeképpen már első este jó hangulatú közösség alakult a diákokból. Hétfőn este meglátogattuk az ELTE Természettudományi Múzeum Biológiai és Őslénytani kiállítását, illetve Ásvány- és Kőzettárat Dr. Sente István tárlatvezetésével, majd Dr. Mohai Miklós periódusos rendszer kvíz játéka kapcsán tudtunk meg sokat a kémiai elemek elnevezéséről. Kedden a János-hegyre kirándultunk a libegővel, majd Bajcsi Áron előadókésztséget fejlesztő improvizációs tréningjén vehettek részt a diákok. Szerdán került sor a már hagyománnyá vált diák-kutató foci és kosárlabda mérkőzésekre. Csütörtökön Dr. Paszternák András „Kémikusok más szerepben” társasjátékával játszhattunk, majd Dr. Szeri Flóra biológus tudományos előadására került sor. Pénteken meghallgathattuk a Természettudományi Kutatóközpont kórusának, a „Chemical Singers”-nek a műsorát, amely után még egy utolsó közös sétát tettünk a budai várban.

Mivel a tábor egyik fő célja, hogy segítséget adjunk a természettudományos érdeklődésű diákok pályaválasztásához, meghívtunk olyan régi táborozókat, akik jelenleg valamilyen rangos egyetem hallgatói azért, hogy segítségükkel a diákok átfogóbb képet kaphassanak ezekről az egyetemekről, illetve első kézből kaphassanak válaszokat az egyetemi élettel kapcsolatos kérdéseikre. A Semmelweis Egyetemről Kiss Laura (általános Orvostudományi Kar), illetve Papp Daniella (Gyógyszerésztudományi Kar) látogatott hozzánk. Molnár Dániel a BME Vegyészmérnöki Karáról mesélt, illetve Vízkeleti Péter is ellátogatott hozzánk a University of Cambridge hallgatójaként, és a Biológiai Diákolimpiával kapcsolatos fontos információkat is megosztott a diákokkal.

A kutatótábor nem lehetett volna sikeres a szervezésben, illetve a pályamunkák bírálatában részt vevő munkatársak segítségével nélkül. A legnagyobb köszönet azonban a témavezetőket illeti, akik egy hetet áldoztak a diákokkal való közös munkára, illetve velük együtt részt vettek a közös esti programokon. Érdekeség, hogy az idei témavezetőink között három volt kutatótáborozót is találunk, ők Szabó Renáta, Ujvári Kamilla és Bajcsi Áron.

## 2. RÉSZTVEVŐK



**Nagygyörgy Zsóka**  
Bolyai Tehetséggondozó  
Gimnázium  
Zenta



**Morvai Eliza**  
Békásmegyeri Veres Péter  
Gimnázium  
Budapest



**Endreffy Janka**  
Békásmegyeri Veres Péter  
Gimnázium  
Budapest



**Dudla Szilvia Boglárka**  
Eötvös József Gimnázium  
Budapest



**Balog Gergely**  
Bethlen Gábor Református  
Gimnázium  
Hódmezővásárhely



**László Anna**  
ELTE Radnóti Miklós  
Gyakorló Általános Iskola és  
Gyakorló Gimnázium  
Budapest



**Varga Zsófia**  
Salgótarjáni Bolyai János  
Gimnázium  
Salgótarján



**Szánti Tünde**  
Vetési Albert Gimnázium  
Veszprém



**Bokor János Márk**  
Illyés Gyula Gimnázium,  
Szakgimnázium és  
Technikum  
Budaörs



**Bodnár Mária**  
Soproni Széchenyi István  
Gimnázium  
Sopron



**Békei Botond**  
ELTE Apáczai Csere János  
Gyakorló Gimnázium  
Budapest



**Bózsik Vilmos**  
Szent István Gimnázium  
Budapest



**Borsodi Eszter**  
Dunakeszi Radnóti Miklós  
Gimnázium  
Dunakeszi



**Tóth Diána**  
Eötvös József Gimnázium  
Budapest



**Fodor Virág**  
Lovassy László Gimnázium,  
Veszprém



**Sipos Virág**  
Salgótarjáni Bolyai János  
Gimnázium  
Salgótarján



**Bakonyi Bálint**  
ELTE Apáczai Csere János  
Gyakorló Gimnázium  
Budapest



**Dudás Zita Mónika**  
Újpesti Könyves Kálmán  
Gimnázium  
Budapest



**Gönczi Álmos**  
ELTE Radnóti Miklós  
Gyakorló Általános Iskola és  
Gyakorló Gimnázium  
Budapest



**Ardey Bálint**  
ELTE Apáczai Csere János  
Gyakorló Gimnázium  
Budapest



**Bercsi Laura**  
Újpesti Könyves Kálmán  
Gimnázium  
Budapest



**Hegyi Patrícia**  
Révai Miklós Gimnázium  
Győr



**Haklits Hadasa Hajnalka**  
Eötvös József Gimnázium  
Tata



**Simon Dorka Boróka**  
Székely Mikó Kollégium  
Sepsiszentgyörgy



**Méri Zsófia**  
Jedlik Ányos Gimnázium  
Budapest

# 3. TÉMÁK / TÉMAVEZETŐK / DIÁKOK

## Tüzelőanyag cellák

**Dudás Zita Mónika és Nagygyörgy Zsóka**

Témavezetők: **Dr. Szijjártó Gábor** tudományos munkatárs és **Dr. Asmaa Selim** tudományos munkatárs, Megújuló Energia Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

## Bevezetés a műszaki kerámiák világába

**Méri Zsófia, Szánti Tünde, Dudla Szilvia Boglárka**

Témavezetők: **Dr. Bódis Eszter** tudományos munkatárs, Plazmakémiai Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

## Polimer gélek kémiája, kísérletek gumimacival és társaival

**Gönczi Álmos, Hegyi Patrícia, Haklits Hadasa Hajnalka**

Témavezetők: **Dr. Verebélyi Klára** tudományos munkatárs és **Bajcsi Áron** PhD hallgató, Polimerkémiai Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

## Az elemi kén felhasználása multikomponensű reakciókban változatos kéntartalmú vegyületek előállítására

**Bózsik Vilmos, Sipos Virág**

Témavezetők: **Dr. Németh András György** tudományos munkatárs és **Szabó Renáta** MSc hallgató, Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Szerves Kémiai Intézet

## A betegek eltérő gyógyszer-lebontásának genetikai okai

**Endreffy Janka, Varga Zsófia**

Témavezetők: **Dr. Déri Máté** tudományos munkatárs, **Fekete Ferenc** PhD hallgató, **Mangó Katalin** PhD hallgató, **Minus Annamária** MSc hallgató, **Dr. Monostory Katalin** kutatócsoport vezető, Metabolikus Gyógyszerkölsönhatások Kutatócsoport, Enzimológiai Intézet

## Gyógyszermolekulák kötődésének modellezése fehérjékben

**Bokor János Márk, Borsodi Eszter**

Témavezető: **Dr. Mihalovits Levente** tudományos munkatárs, Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Szerves Kémiai Intézet

## A valóra vált „magic bullet”: antitest-konjugátumok a rákkutatásban

**Ardey Bálint, Simon Dorka Boróka**

Témavezetők: **Dr. Petri László** tudományos munkatárs, **Szepesi Kovács Dénes** PhD hallgató, Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Szerves Kémiai Intézet

## Meszesedési rendellenességek vizsgálata egerekben

**Morvai Eliza, László Anna**

Témavezetők: **Dr. Kozák Eszter** tudományos munkatárs, **Dr. Pomozi Viola** tudományos munkatárs, Gyógyszerrehabilitáció Kutatócsoport, Enzimológiai Intézet

## Extracelluláris vezikulák vizsgálata

**Bodnár Mária, Tóth Diána**

Témavezetők: **Dr. Gaál Anikó** tudományos munkatárs, **Ilyés Kinga** PhD hallgató, **Bebesi Tímea** PhD hallgató, **Dr. Varga Zoltán** kutatócsoport vezető, Biológiai Nanokémia Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

## Sejtmembrán-mimetikumok hatása antimikrobiális peptidek konformációjára

**Bakonyi Bálint, Bercsi Laura**

Témavezetők: **Dr. Szigyártó Imola Csilla** tudományos munkatárs, **Ujvári Kamilla** BSc hallgató, **Dr. Beke-Somfai Tamás** kutatócsoport vezető, Biomolekuláris Önrendeződés Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

## Kristályoktól a molekuláig, avagy a Röntgen-sugárzás, mint atomi vonalzó

**Balog Gergely, Békei Botond, Fodor Virág**

Témavezetők: **Dr. May Nóra** tudományos főmunkatárs, **Dr. Holczbauer Tamás** tudományos munkatárs, Kémiai Kristallográfia Kutató Laboratórium, Szerkezetkutató Központ





# 4. PROGRAM

## **június 26. vasárnap**

16:00-18:00 Diákok érkezése a Baár-Madas református Gimnázium kollégiumába

18:00-19:00 Megbeszélés, vacsora

19:00-22:00 Ismerkedés, csapatépítés Csákváry-Kiss Nóra pszichológus vezetésével

## **június 27. hétfő**

9:00-10:00 Kutatótábor megnyitó

Köszöntő: Dr. Buday László ELKH Természettudományi Kutatóközpont főigazgató

Dr. Tompos András Anyag- és Környezetkémiai Intézet igazgató

Ismeretterjesztő előadás Dr. Bombicz Petra: Szerkezet meghatározás egykristály röntgendiffrakcióval

10:00-12:00 Látogatás a kutatóközpont laboratóriumaiban

12:00-13:00 Ebéd

13:00-17:00 Munka a laborokban

17:00-19:00 Az ELTE Természettudományi Múzeum Biológiai és Őslénytani kiállítása, illetve az ELTE Ásvány- és Kőzettár megtekintése Dr. Sente István vezetésével

19:00-20:00 Vacsora

20:00-22:00 Periódusos rendszer kvíz játék Dr. Mohai Miklós vezetésével

## **június 28. kedd**

9:00-10:00 Tűz- és balesetvédelmi oktatás  
Perlaki Géza

10:00-11:00 Látogatás a kutatóközpont laboratóriumaiban

11:00-16:00 Munka a laborokban (közben ebéd)

16:00-19:00 Kirándulás a János-hegyre, libegő

19:00-20:00 Vacsora

20:00-22:00 Improvizációs tréning Bajcsi Áron vezetésével

## **június 29. szerda**

9:00-17:00 Munka a laborokban (közben ebéd)

18:00-20:00 Diák-témavezető sportmeccsek

20:00-21:00 Vacsora

21:00-22:00 Volt kutatótáborozók mesélnek: Kiss Laura (SE Általános Orvostudományi Kar) és Papp Daniella (SE Gyógyszerésztudományi Kar)



## **június 30. csütörtök**

9:00-17:00 Munka a laborokban (közben ebéd)

18:00-20:00 Kémikusok más szerepben társasjáték  
Dr. Paszternák András vezetésével

20:00-21:00 Vacsora

21:00-21:30 Dr. Szeri Flóra előadása: Hogyan lesz a megfigyelésből tudomány, különleges jelenségek az ektópiás meszesedés kutatásában

21:30-22:30 Volt kutatótáborozók mesélnek: Molnár Dániel (BME Vegyészmérnöki Kar) Vizkeleti Péter (University of Cambridge)

## **július 1. péntek**

9:00-11:00 Munka a laborokban

11:00-12:00 Miniszimpózium I. szekció

12:00-13:00 Ebéd

13:00-15:00 Miniszimpózium II. szekció

15:00-16:00 A kutatótábort Dr. Tompos András igazgató zárja

16:00-17:00 Fogadás a jelenlegi és volt kutatótáborozók, témavezetők és vendégeink részére

17:00-18:00 Chemical Singers koncert

19:00-21:00 Esti séta a várban

## **július 2. szombat**

11:00-ig Diákok távozása a kollégiumból



# 5. MINISZIMPÓZIUM

**Helyszín:** TTK Kutatóház földszinti kiselőadó

**Időpont:** 2022. július 1. 11:00 - 15:00

11:00-11:05 A miniszimpóziумot megnyitja:

**Dr. Tompos András** igazgató, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

11:05-12:05 Anyag- és szerves kémiai szekció  
vezeti: **Dr. Demeter Attila** tudományos tanácsadó

11:05-11:20

**Dudás Zita Mónika és Nagygyörgy Zsóka**

**Tüzelőanyag cellák**

Témavezetők: **Dr. Szijjártó Gábor és Dr. Asmaa Selim**

11:20-11:35

**Méri Zsófia, Szánti Tünde, Dudla Szilvia Boglárka**

**Bevezetés a műszaki kerámiák világába**

Témavezetők: **Dr. Bódis Eszter**

11:35-11:50

**Gönczi Álmos, Hegyi Patrícia, Haklits Hadasa Hajnalka**

**Polimer gélek kémiája, kísérletek gumimacival és társaival**

Témavezetők: **Dr. Verebélyi Klára és Bajcsi Áron**

11:50-12:05

**Bózsik Vilmos, Sipos Virág**

**Az elemi kén felhasználása multikomponensű reakciókban változatos kéntartalmú vegyületek előállítására**

Témavezetők: **Dr. Németh András György és Szabó Renáta**

12:05-13:00 Ebédszünet

13:00-14:00 Biológiai és biokémiai szekció

vezeti: **Dr. Szeri Flóra** tudományos munkatárs

13:00-13:15

**Endreffy Janka, Varga Zsófia**

**A beteges eltérő gyógyszer-lebontásának genetikai okai**

Témavezetők: **Dr. Déri Máté, Fekete Ferenc, Mangó Katalin, Minus Annamária, Dr. Monostory Katalin**

13:15-13:30

**Bokor János Márk, Borsodi Eszter**

**Gyógyszermolekulák kötődésének modellezése fehérjékben**

Témavezető: **Dr. Mihalovits Levente**

13:30-13:45

**Ardey Bálint, Simon Dorka Boróka**

**A valóra vált „magic bullet”: antitest-konjugátumok a rákkutatásban**

Témavezetők: **Dr. Petri László, Szepesi Kovács Dénes**

13:45-14:00

**Morvai Eliza, László Anna**

**Meszesedési rendellenességek vizsgálata egerekben**

Témavezetők: **Dr. Kozák Eszter, Dr. Pomozi Viola**

14:00-14:15 szünet

14:15-15:00 Kolloid- és szilárdtestkémia szekció

vezeti: **Dr. Wacha András** tudományos munkatárs

14:15-14:30

**Bodnár Mária, Tóth Diána**

**Extracelluláris vezikulák vizsgálata**

Témavezetők: **Dr. Gaál Anikó, Ilyés Kinga, Bebesi Tímea, Mihály Judith és Dr. Varga Zoltán**

14:30-14:45

**Bakonyi Bálint, Bercsi Laura**

**Sejtmembrán-mimetikumok hatása antimikrobiális peptidek konformációjára**

Témavezetők: **Dr. Szigyártó Imola Csilla, Ujvári Kamilla, Dr. Beke-Somfai Tamás**

14:45-15:00

**Balog Gergely, Békei Botond, Fodor Virág**

**Kristályoktól a molekuláig, avagy a Röntgen-sugárzás, mint atomi vonalzó**

Témavezetők: **Dr. May Nóra, Dr. Holczbauer Tamás**

15:00-15:45 Kutatótábor zárás és értékelés

**Dr. Tompos András** igazgató Anyag- és Környezetkémiai Intézet és **Nagyné Dr. Bereczki Laura** kutatótábor szervező

15:45-17:00 Büfé a kutatótáborozó Diákok, Témavezetőik és Vendégeink részére

17:00-18:30 Chemical Singers koncert









# 6. DOLGOZATOK

## Meszesedési rendellenességek vizsgálata egerekben

**László Anna**

ELTE Radnóti Miklós Gyakorló Általános Iskola és Gyakorló Gimnázium, Budapest

**Morvai Eliza**

Békásmegyeri Veres Péter Gimnázium, Budapest

### Témavezetők:

**Dr. Kozák Eszter** tudományos munkatárs,

**Dr. Pomozi Viola** tudományos munkatárs

### Kutatócsoport:

Gyógyszerrezisztencia Kutatócsoport, Enzimológiai Intézet

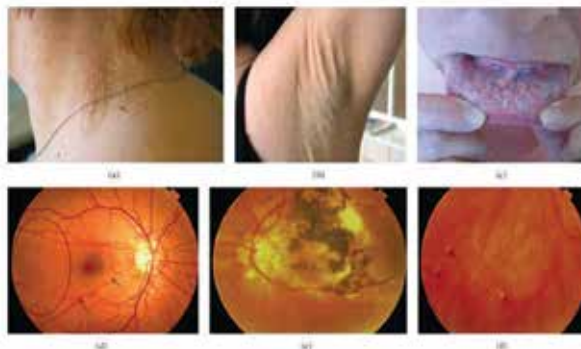


Gregor Mendel több, mint egy évszázada történt, áttörő megfigyelései óta az emberiséget intenzíven foglalkoztatja az akkor még nem ismert DNS és az azóta egyre csak bővülő genetikai tudományterülete. A biológia ezen területének megismerésével sok, korábban megválaszolatlan kérdésre derült fény: ilyenek például az örökletes, genetikai betegségek, melyek rengeteg ember életét követelték vagy nehezítették már meg. Az ilyen betegségek rendkívül alattomosak, hiszen már az okát is csak nagy fáradozások árán lehet megtalálni, és a gyógymód, megoldás onnan még rengeteg további lépésre van. Ilyen, viszonylag ritka genetikai megbetegedések az emberekben a PXE (pseudoxanthoma elasticum) és a GACI (Generalized Arterial Calcification of Infancy).

### A PXE és a GACI

A PXE és a GACI egyaránt recesszíven öröklődő rendellenességek, melyek ektópiás meszesedést okoznak a test különböző szöveteiben. Az ektópia szó jelentése „nem megfelelő helyen”. A két betegség közül a GACI tünetei a súlyosabbak, amelyek már a

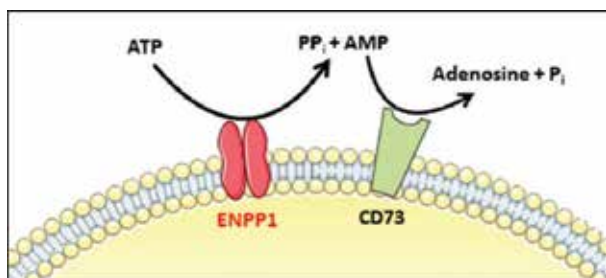
terhesség ideje alatt elkezdnek kialakulni, és gyakran már a magzati fejlődés során megszületik a diagnózis. A GACI legjellemzőbb jelei az artériák középső (media) rétegében, illetve az ízületekben nagy mennyiségben lerakódó kalcium, mely sok esetben halálos egészségügyi problémákkal jár, mint például a magas vérnyomás, a veseelégtelenség, szívroham és sztrók. A PXE ehhez képest kevésbé súlyos, mert ennél a betegségnél az érrendszeri meszesedés lassabban alakul ki és kevésbé intenzív. Az erek mellett tipikusan a bőr (lásd 1. ábra, (a) és (b) kép), illetve a retina alatti úgynevezett Bruch membrán (1. ábra (d), (e) és (f) képek) meszesedik el, ami látáskárosodáshoz vagy akár teljes látásvesztéshez vezethet.



1. ábra: a PXE tünetei

## A PXE és a GACI genetikai háttere

A két betegség hátterében specifikus, meghatározott gének mutációja, vagy akár ezen génszekvenciák teljes hiánya áll, ami a PXE esetében az ABCC6, a GACI-nél pedig az ENPP1 géneket jelenti. Ez a két gén egy-egy fehérjét kódol, melyek elengedhetetlenek a meszesedés folyamatának meggátlásában. A gátlás folyamata a következő: Az ABCC6 géből egy transzport fehérje fejeződik ki, amely fontos szerepet játszik abban, hogy az ATP ki tudjon jutni az extracelluláris térbe. Ezek után az ENPP1 gén által kódolt enzim ezt az ATP-t képes pirofoszfáttá és adenzin-monofoszfáttá alakítani, és az így végeredményként kapott pirofoszfát pedig a kalcium lerakódás inhibitora. A gének hiányában tehát nincs megfelelő pirofoszfát szint a szervezetben, mely megakadályozná a meszesedést.



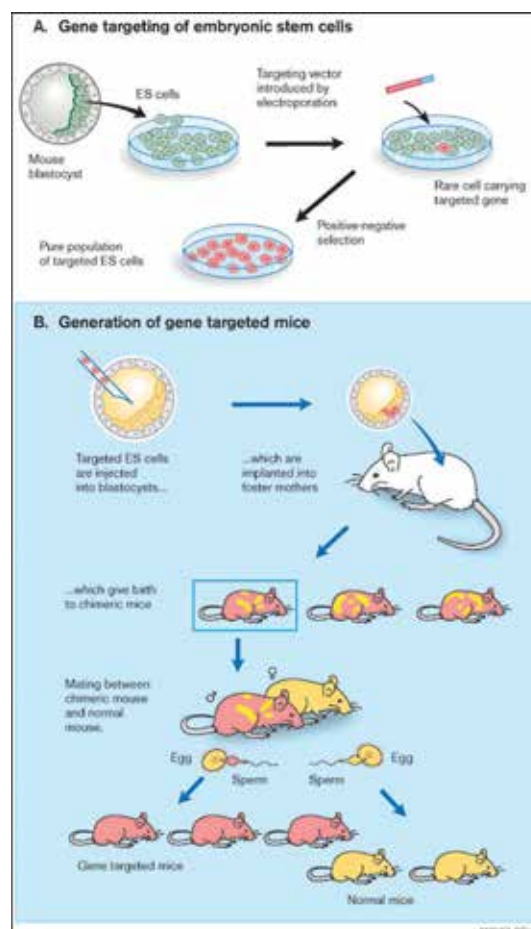
2. ábra: az ABCC6 és az ENPP1 gének szerepe

## Az egérmodell

Nem is olyan régen még hátterét sem ismerve e két betegségnek, sokan kezdtek el foglalkozni a gyógymód megtalálásával. Egyik lehetséges megközelítés, hogy valamilyen módon modellezésre kerül a PXE és a GACI, majd különböző kísérletek elvégzése után kiderülhet, hogy mi vezethet megoldásra. A modellezés egyik legegyszerűbb és legköltséghatékonyabb módja az egerek használata. Emlősökként, felépítésüket tekintve hasonlítanak az emberhez, és tartásuk főleg apró természetük miatt könnyen megoldható, ezért ideális alanyai a kutatómunkának. Az ilyesfajta állatkísérletek szigorú szabályokhoz és feltételekhez vannak kötve, ezzel biztosítva az állatok jólétét.

## A mutáns törzsek létrehozása

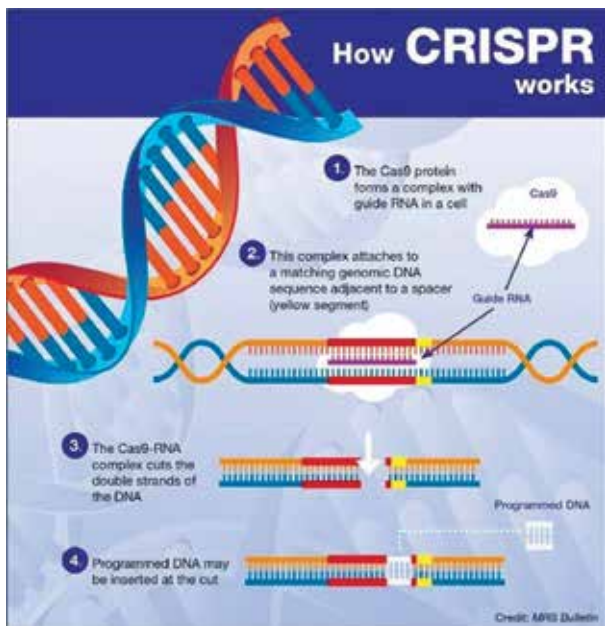
Az egerekben tehát genetikai mutációt kell előidézni, amely többféle eljárással is történhet. Ezek közül az egyik az embrionális őssejt módszer. Ennek során a génmódosítást embrionális őssejteken végzik el, és ezeket injektálják be egy fejlődő egér embrióba. Az így manipulált embriókból úgynevezett kiméra egerek fognak születni. Ezek az állatok testi sejtjeik egy részében hordozzák a manipulált DNS szekvenciát, és azoknál az egyedeknél, amikben az ivarsejteket adó őssejtek is tartalmazzák a kívánt módosítást, a későbbi utódaiknak már minden sejtje hordozza majd ezt a mutációt. Ez a módszer igen bonyolult és időigényes, ezért napjainkra felváltotta a CRISPR/Cas9 rendszeren alapuló génmanipulációs technika, amelynek hatékonysága lehetővé teszi egyetlen megtermékenyített petesejt génmódosítását, az ebből kifejlődő egér pedig minden sejtjében hordozza majd a kívánt mutációt.



3. ábra: Az embrionális őssejt technológia

<sup>1</sup> Kiméra jelentése: genetikai mozaik, kettő vagy annál több genetikailag különböző szöveti sejtet tartalmaz





4. ábra: A CRISPR-Cas 9 technológia

### Munka a laborban

A hét folyamán két nagyobb kísérletsorozatot hajtottunk végre. Az első lényege az volt, hogy egy - a későbbiekben részletezett - módszerrel ektópiás meszesedést idéztünk elő az egerekben, majd megmértük, hogy a pirofoszfáttal kezelt egerek kevésbé meszesedtek-e, mint a kontrollcsoport – tehát a nem kezelt egerek. Mivel a pirofoszfát az, aminek hiánya miatt ki tud alakulni az általunk indukált meszesedés a kísérleti egerekben, a pirofoszfát kezelés várhatóan képes lesz megelőzni a mész lerakódását. A meszesedés mesterséges előidézésére azért van szükség, mert a meszesedés természetes úton nagyon lassan megy végbe, így nehéz vizsgálni. Ezzel a módszerrel viszont egy pár nap alatt mérhető mennyiségű mész rakódik le.

### A szívfagyasztás

Először, a hasfal felnyitása után, egy folyékony nitrogénben lehűtött fém pálcá segítségével fagyasztásos sebet ejtettünk az egerek szívére. Eközben egy műanyag, erre kialakított eszközzel védtük a többi szervet. Ez azért jó módszer, mert a sérülés hatására gyorsan és viszonylag nagy mértékben meg-

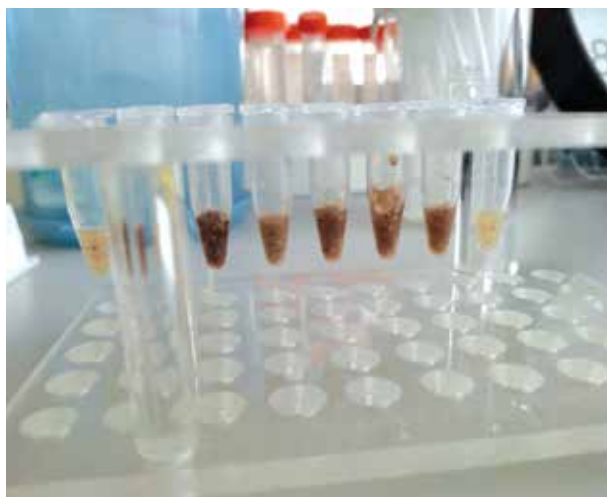


5. ábra: Varrás közben.

indul a meszesedés, viszont az egerek túlélnek a sérülést, az életminőségüket nagyban nem befolyásolja. Ezután a hasfal összevarrása következett, amiben mi is segédkezhettünk. Ez különösen nagy élmény volt, hiszen korábban még nem csináltunk ilyesmit.



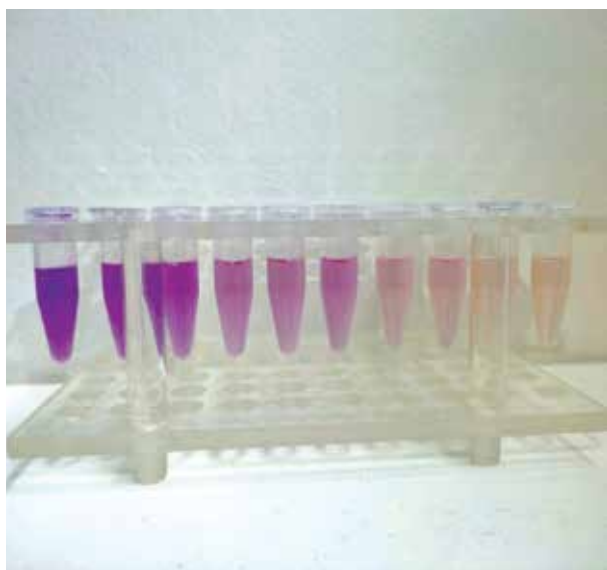
6. ábra: Egy eltávolított szív mikroszkóp alatt. Jól látszik rajta a meszes folt.



7. ábra

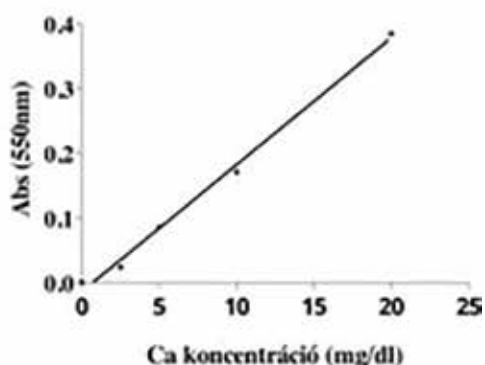
### A kalcium tartalom meghatározása

Következő lépésként a korábban szívfa-gyasztaon átesett, már nem élő egerek szívét eltávolítottuk, majd sósavba raktuk és apróra daraboltuk őket. Így a sósav ki tudta oldani a kalciumot a mintákból. (Ez látható a 7-es képen.) Majd a mintákról centrifugálás után lepipettáztunk a felülúszóból 10-10  $\mu$ L mennyiséget. A felülúszó egy áttetsző folyadék volt, ezt adagoltuk a kalcium mérő reagenshez. A kalcium meghatározáshoz egy készen kapható, kalcium-mennyiség mérésére alkalmas készletet használtunk. Így különböző mértékben lila oldatokat kaptunk, hiszen ez a készlet lila színnel jelzi a kalciumtartalmat. (Ezek



8. ábra

az oldatok láthatók a 8. képen.) Az így kapott mintákat küvettába töltöttük, és fotométerbe tettük, így meg tudtuk határozni, hogy 550 nanométeres hullámhosszon mérve pontosan mennyire intenzív a színreakció az adott minta esetében. Egy standard sort is elkészítettünk, tehát olyan oldatokat amiknek pontosan ismert a kalciumtartalma. Ezek színreakcióját is lemértük a fotométerrel, és ez alapján készítettünk egy kalibráló egyenest. Ehhez tudtuk hasonlítani a mintákat, így könnyedén, egy számítógépes program segítségével pontosan kiszámíthattuk a minták kalcium tartalmát.



9. ábra: A kalibráló görbe

### A kapott eredmények

Az első oszlopban az egér sorszáma, ami alapján beazonosítható, a második oszlopban a minta mért fényelnyelése, a harmadikban pedig az ebből számolt kalcium koncentráció olvasható. A zölddel jelölt sorban egy kezelt, a piros sorokban kezeletlen egerek szerepelnek. Jól látszik, hogy a pirofoszfát hatásos volt, hiszen sokkal kevesebb mészköves rakódott le a kezelt egér szívében. A 9602-es egér esetében kétszeresére kellett hígítani a mintát, mert a kalcium tartalma magasabb volt, mint a standard sor legtöményebb oldata, így nem lehetett volna megbízhatóan meghatározni a koncentrációt.

egér száma	Abs(550)	Ca koncentráció (mg/dl)
9851	0,179	9,83
9601	0,332	17,63
9602 (2x)	0,345	18,30

## Aortafestés

A másik kísérletsorozatban a GACI betegség egér modelljeként használt „tiptoe walking” egerek aortáját vizsgáltuk. Az aorta eltávolítása után azt alkoholban fixáltuk, majd az alizarinvörös nevű festékkel (ami a nevével ellentétben az általunk alkalmazott KOH oldatban feloldva például lila volt) festettük meg. Egy nap után mikroszkóp alatt megvizsgáltuk őket, így remekül látszott a lerakódott mészes, hiszen az alizarinvörös festék csak azt festette meg. (Ez jól látszik az 10-es képen.)

## Összefoglalás, köszönetnyilvánítás

Összefoglalva tehát a hét folyamán genetikai okokból meszesedésre hajlamos egerekkel dolgoztunk, amik, mint a PXE és a GACI emberi betegségek modelljei, fontosak ezen betegségek kutatásában. A kísérletek során

beigazolódott a hipotézis, miszerint az állatok pirofoszfát szintjének növelése segít az elmeszesedés mértékét csökkenteni. Ez az eredmény a későbbiekben hatalmas jelentőséggel bírhat az ezen betegségekben szenvedő emberek számára. A már korábban említett kísérleteken kívül természetesen sok más apróságba is belekóstolhattunk. Megtanultuk, hogyan kell az egerektől vért venni és ebből szérumot, illetve plazmát készíteni, hogyan lehet megmérni a vércukorszintjüket. Ezen kívül sokat tanultunk az egerek tartásával kapcsolatos szabályokról és módszerekről, illetve jártasabbak lettünk a labormunkában is.

A sok érdekes és sokszínű programmal eltöltött hétért szeretnénk köszönetet mondani a tábor szervezőinek és témavezetőinknek, Dr. Kozák Eszternek és Dr. Pomozi Violának. Nekik külön köszönjük, hogy türelmesen kalauzoltak minket a hét folyamán és betekintést engedtek csoportjuk munkájába.



10. ábra



# Elemi kén alkalmazása multikomponensű reakciókban

**Sipos Virág**

Salgótarjáni Bolyai János Gimnázium

**Bózsik Vilmos**

Szent István Gimnázium, Budapest

## Témavezetők:

**Dr. Németh András György** tudományos munkatárs

**Szabó Renáta** MSc hallgató

## Kutatócsoport:

Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Szerves Kémiai Intézet

Az "AKI Kíváncsi Kémikus" kutatótáborban témakörünk az elemi kén felhasználása volt multikomponensű reakciókban. Az elemi kén alkalmazásával kevésbé veszélyes módon tudunk kéntartalmú vegyületeket előállítani, illetve a hagyományos kénező reagensekhez képest egyszerűbben kivitelezhető és energia és anyag felhasználást tekintve hatékonyabb folyamatokat valósíthatunk meg. A kutatóhétre célul tűztük ki az elméleti és a gyakorlati ismereteink bővítését a szintetikus szerves kémia területén, illetve egy engedélyezett gyógyszerhatóanyag (fanetizol) és négy, a kémiai szakirodalomban még nem ismert vegyület előállítását.

**Az első napon (06.27.),** délelőtt a laborbemutatók után előkészültünk a projektmunkához. Mentoraink körbevezettek bennünket a laborokban, majd ismertették velünk az érvényben lévő és követendő biztonsági előírásokat. Ezt követően megbeszéltük a hét felépítését, menettervet készítettünk és közösen megkezdtük a projektmunkát. Első lépésként átbeszéltük a megvalósítani kívánt kémiai reakciók elméleti hátterét és megismerkedtünk a munkához szükséges

eszközökkel. A kész tervvel a kezünkben beszereztük a vegyszerraktárból a szükséges reagenseket, azonban már az elején igazítanunk kellett a projekten, mivel nem találtuk meg az eredetileg használni tervezett vegyszereket (1. ábra). Mentoraink segítségével választottunk egy másik reagenst a rendelkezésre álló vegyszerek közül, mellyel ugyanazon az elven meg tudtuk valósítani a reakcióinkat.

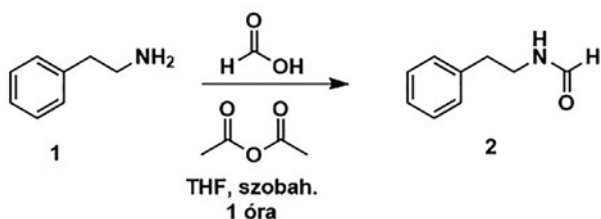


**1. ábra:** A vegyszerek beszerzése a vegyszerraktárból (Vilmos)

Az első napon egyik célkitűzésünk a fanetizol gyógyszerhatóanyag többlépéses szintézisének megkezdése volt. Egy primer amint (1) ecetsav-anhidrid és hangyasav jelenlété-

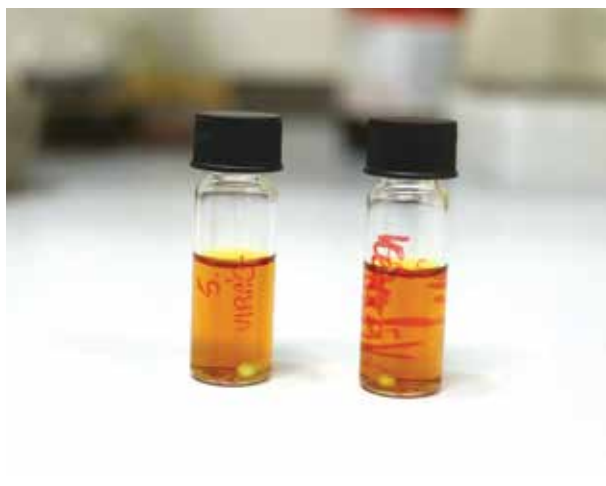


ben acileztünk a **2** formamiddá (2. ábra). Az ecetsav-anhidrid, és a hangyasav reakciójában egy reaktív vegyes anhidrid keletkezik, amely szelektíven acilezi az amint. A reakciót nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrométerrel (HPLC-MS) és vékonyréteg kromatográfiával (VRK) követtük. A reakció végén a terméket bepárlással izoláltuk, tisztaságát HPLC-MS és  $^1\text{H}$  NMR mérésekkel igazoltuk.



**2. ábra:** Az **1** primer aminból a **2** formamid előállítása vegyes anhidriddel

Emellett megismerkedtünk a kutatócsoport által kifejlesztett új kénező reagenssel is, amely lényegében az elemi kén egy aktivált formája. Az elemi ként intenzív kevertetés mellett  $60\text{ }^\circ\text{C}$ -on reagáltattuk egy éjszakán át  $N,N,N',N',N''$ -pentametil-dietilén-triamin bázissal (PMDTA) vízben, amelynek hatására a szilárd kénpor vízoldható poliszulfid anionokká alakult és sárga oldatot képzett (3. ábra). Megbizonyosodtunk róla, hogy az elemi kén teljesen beoldódott, az oldat homogén, így alkalmas a kémiai reakciókban történő felhasználásra.



**3. ábra:** Vízoldható poliszulfid anionokat tartalmazó oldatok

**A második napon (06.28.),** délelőtt részt vettünk egy balesetmegelőzési előadáson, ahol megismerkedtünk az általános biztonsági előírásokkal, szabályokkal, illetve intő hétköznapi példákkal szembesülhettünk háztartási balesetek terén. Bár már előző nap mentorainktól is kaptunk egy átfogó balesetvédelmi oktatást, biztonságtechnikai tudásunk jelentősen bővült. Egyesekben még telefontöltő-fóbiát is kiváltott. Ezután kutató társainkkal részt vettünk a még fennmaradó laborlátogatásokon, majd visszatértünk a saját laborunkba és folytattuk a megkezdett projektünket. Szokás szerint először mentoraink ismertették az aznapi terveket, amely egy-egy elméleti és gyakorlati blokkból állt (4. ábra).

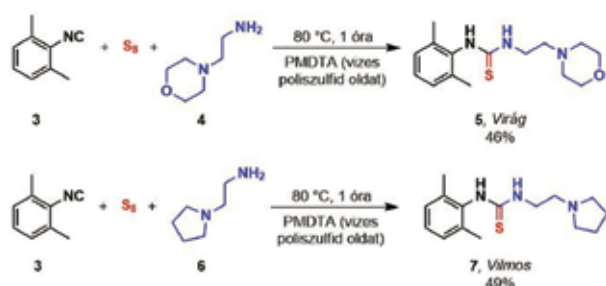


**4. ábra:** A laborban folyó gyakorlati munka a második napon (Virág)

Az izotiocianátok nagyon reaktív vegyületek, ezért mérgezőek és veszélyesek, ellenben ennek köszönhetik szintetikus hatékonyságukat is. Elterjedt előállítási útnak számít izocianidok kénezése elemi kénrel katalizátorok jelenlétében, azonban utóbbiak gyakran drágák, illetve mérgezőek, így a használatuk sem praktikus. Ehelyett mi, az előző nap megismert módon aktivált elemi

kénnel kéneztük az izocianidot. Az így képződött izotiocianátot azonban nem nyertük ki, hanem egy multikomponensű reakcióban hasznosítottuk.

A multikomponensű reakciók lehetővé teszik az izotiocianátok biztonságos, egyszerű, és környezetbarát felhasználását, mivel elkerülhetőek a köztes kinyerési, és tisztítási lépések. Így anélkül tudtunk velük dolgozni, hogy közvetlen kapcsolatba kerültünk volna velük. A multikomponensű reakciókról újonnan szerzett tudást felhasználva előállítottunk 1-1 tiokarbamidot, aktivált kén, egy izocianid, valamint 1-1 primer amin felhasználásával (**4**, illetve **6**). Az izocianid (**3**) és az aktivált kén reakciójában képződő izotiocianát a reakcióban jelen lévő harmadik komponenssel, a primer aminnal készségesen reagál, így jutottunk a tiokarbamidokhoz (**5**, illetve **7**; 5. ábra). A folyamatban lévő multikomponensű reakciókat HPLC-MS, és VRK segítségével követtük és bizonyos időközönként szemrevételezéssel is megvizsgáltuk. A reakciók lejátszódása után az elegyeket éjszakára állni hagytuk, hogy a termék a vizes közegből kiváljon.



**5. ábra:** A tiokarbamidok (**5**, illetve **7**) előállítása izocianidból (**3**) és a megfelelő aminból (**4**, illetve **6**) kiindulva

**A harmadik napon (06.29.),** a célkitűzésünk egy-egy újabb multikomponensű reakció kivitelezése volt. Ezenkívül az előző napi projektjeinket szeretnénk volna befejezni a tiszta tiokarbamidok kinyerésével, illetve folytattuk a fanetizol többlépéses előállítását is.

A napot az **5** és **7** vegyületeket tartalmazó reakcióelegyek ultrahangos rázatásával kezdtük, mivel az előző nap előállított tiokarbamidok nem kristályosodtak ki maguktól. Az

ultrahangos ráztatás hatására azonban mindkét termék tökéletesen kivált, a kapott kristályokat szűrővel kinyertük, majd megmértük a száraz kristályok tömegét és kiszámoltuk a reakció termelését.

A második multikomponensű reakcióinkat, melyeket a jegyzőkönyvekbe MULTI-2-Virág és MULTI-2-Vilmos néven vezettünk be, az előző multikomponensű reakcióinkra alapoztuk. A különbség csupán annyi volt, hogy a multikomponensű reakciók végén nem izoláltuk a tiokarbamidokat, hanem hozzáadtunk még egy komponenst, 2'-bróm-acetofenont (**8**), amellyel egy gyűrűzárási reakcióban gyógyszereszerű tiazolimineket képeztünk (6. ábra).



**6. ábra:** A tiazolimineke (**9**, illetve **10**) előállítása

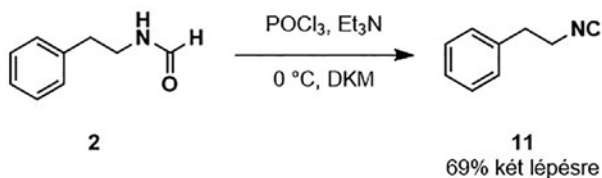
Az előállított tiazolimineket azonban a reakció során felszabaduló HBr-dal sokat képeztek, ezért erősebb lúggal (NaOH) szabadítottuk fel őket, így szabad bázisként tudtuk izolálni a termékeket. Ezzel a folyamattal annyi probléma adódott, hogy a MULTI-2-Vilmos terméke nem élte túl a felszabadítást, és a NaOH oldat hatására elbomlott (7. ábra). A MULTI-2-Virág terméke viszont tökéletesen felszabadult, és bár kristályosítani nem volt időnk, HPLC-MS méréssel igazoltuk, hogy a várt termék keletkezett.



**7. ábra:**  
A MULTI-2-Vilmos terméke



Ezek után előállítottuk a fanetizol szintéziséhez szükséges izocianidot (**11**). A reakció során a korábban előállított formamidot (**2**) egy vízelvonási reakcióban foszforoxikloriddal ( $\text{POCl}_3$ ) reagáltattuk argon atmoszférában, vízmentes környezetben (8-9. ábra).



**8. ábra:** A **11** izocianid előállítása

A reakció végén az izocianidot (**11**) kromatográfias tisztítás segítségével kaptuk meg. Az izocianid szerkezetét és tisztaságát  $^1\text{H}$  NMR mérés segítségével állapítottuk meg.



**9. ábra:** A **11** izocianid előállításának folyamata



**10. ábra:** A fanetizol előállítása

**A negyedik, egyben utolsó labori napon (06.30.)** előállítottuk a fanetizolt (**13**), egy ismert kéntartalmú heterociklusos gyulladáscsökkentő hatóanyagot (10. ábra). A fanetizol előállításához a már korábban is alkalmazott multikomponensű reakciót használtuk fel (6. ábra), az általunk szintetizált **11** izocianidból kiindulva. Bár a termék kinyerésére és tisztítására már nem maradt elegendő idő, de a reakcióelegy HPLC-MS elemzése alapján megállapítottuk, hogy az eljárás sikeres volt.

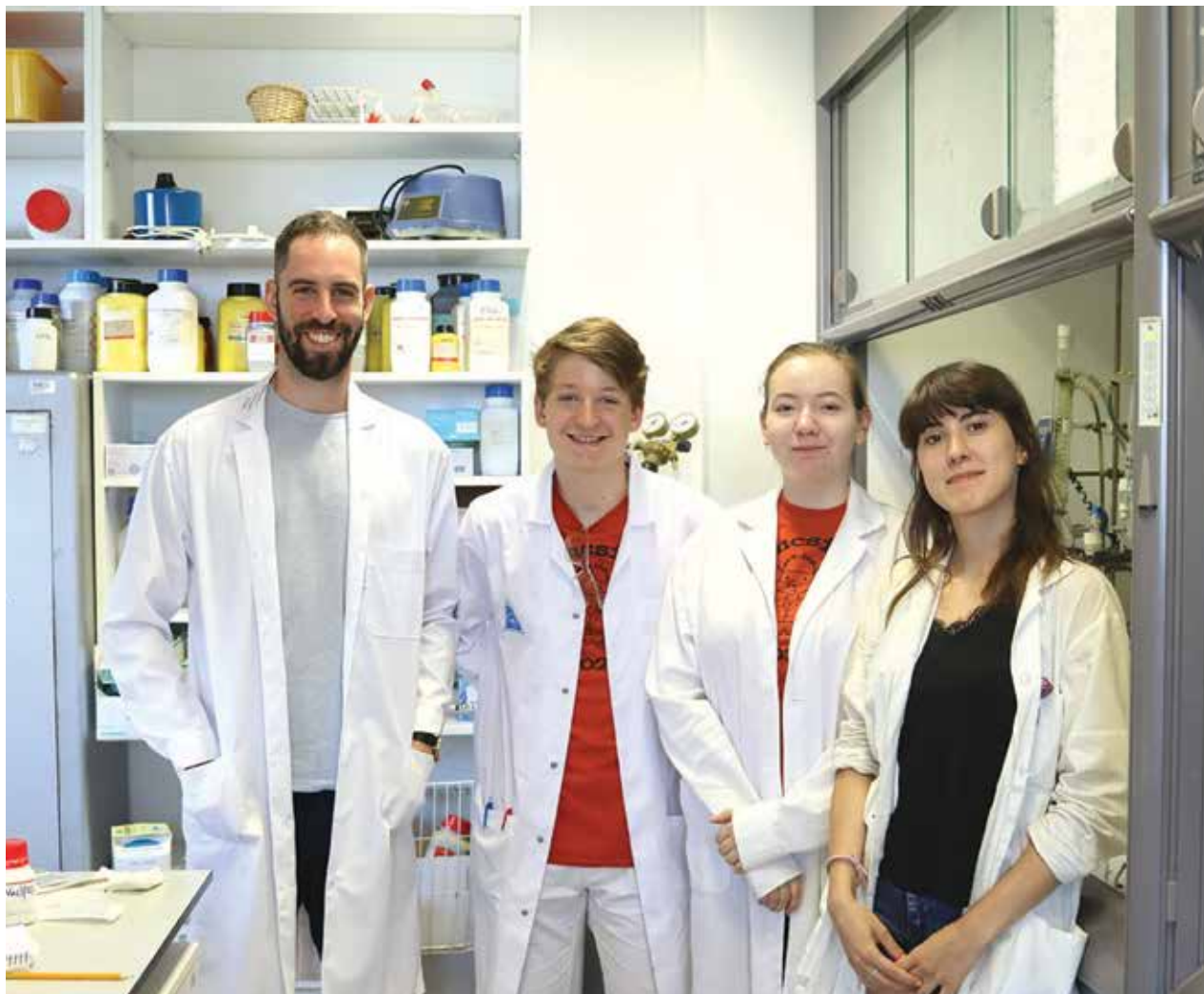
Mivel az előző nap a MULTI-2-Vilmos reakció termékének lúgos felszabadítása során elbomlott a termék, a reakciót megismételtük és ezúttal tömény NaOH oldat helyett ammónia oldattal szabadítottuk fel a terméket. Az ebből vett minták HPLC-MS elemzése arra utalt, a reakcióelegyben ezúttal nem történt jelentős bomlás, tehát ez egy alkalmasabb módszer lehet a tiazolimin-sók felszabadítására. A fennmaradó időben a másnapi miniszimpóziumra készültünk, így elkezdtünk a szövegeinken, illetve prezentációnkon dolgozni. Részletesen átbeszéltük az előadásunk különféle elemeit, rengetegszer elismételtük, viszont minden erőfeszítés megérte a végén.

**Az utolsó napon (07.01.)** került megrendezésre a miniszimpózium. A kutatótársainkkal izgatottan vártuk, hogy egymásnak és a jelenlévő vendégeknek bemutathassuk a héten teljesített projektjeinket. Új élményként páran kissé félénken, míg mások magabiztosan álltak ki a közönség elé. Nagyon jó volt előadni és végighallgatni az előadásokat.

Összegezve a tábori sikereinket, összesen 7 szerves kémiai reakciót végeztünk el. Előállítottunk 1-1 tiokarbamid- és 1-1 tiazolimin-származékot, illetve a megismert

reakciókat felhasználva közösen megvalósítottuk a fanetizol szintézisét is. Emellett megismerkedtünk az analitikai eszközök használatával és gazdag gyakorlati tudást szereztünk a preparatív szerves kémia terén is. Egy nagyon színes és változatos hetet tudtunk a hátunk mögött, melyet tehetséges

és nagyszerű diákok és kutatók társaságában tölthettük. És ha a tudás értéktelen is lenne, akkor sem mentünk volna el üres kézzel, hiszen a tömérdek táborigény mellett Vilmos egyik 3D nyomtatott műanyag darabját bevonták egy vékony aranyréteggel az elektronmikroszkóppal foglalkozó kutatók.



**11. ábra:** Csoportkép

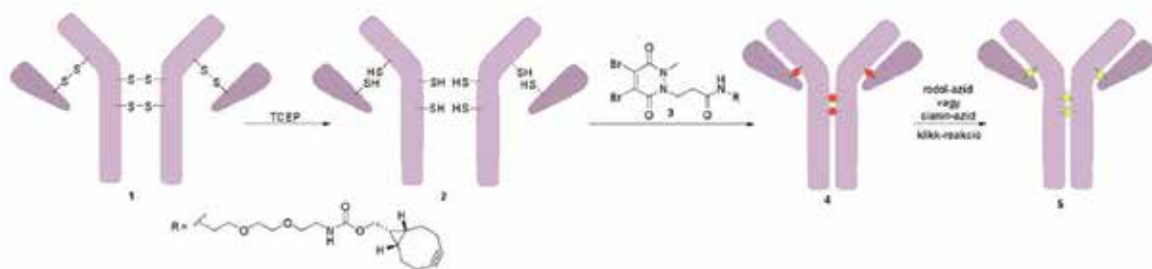




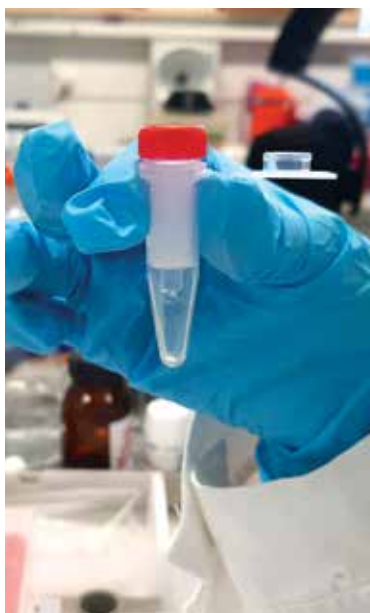
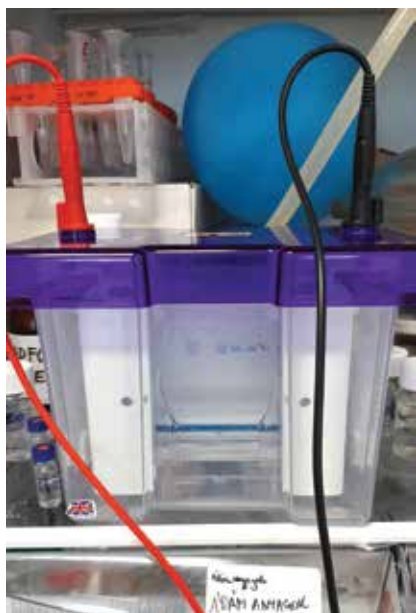
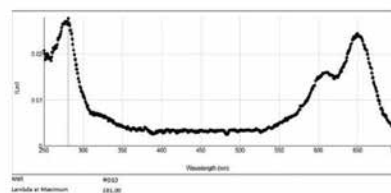
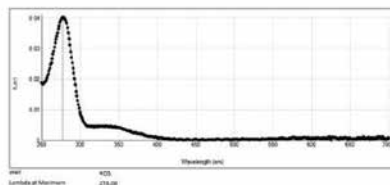


A munkánk következő célja a fluoreszcens festékekkel jelölt antitest előállítás volt. Ennek során redukciós-rekonjugációs módszerrel előállítottuk a szulfocianin-trastuzumab konjugátumot (T-SuCy5). A redukciós lépés során négy diszulfid hidat redukáltunk, amelyek eredetileg az antitest könnyű- és nehézláncait hivatottak összetartani. A TCEP redukáló anyag hatására felnyíló intramolekuláris diszulfidhidak helyére a ciklooktinil csoportot hordozó rekonjugálószer építettünk be. Az utóbbi fő szerepe, hogy ezáltal az antitest bioortogonális reakcióban kapcsolható terápiás vagy diagnosztikai kismolekulához, vagyis akár élő biológiai rendszerekben, adalékanyagtól mentesen is jelölhetővé válik. A rekonjugálási reakciót 4 °C-on, egy egész éjszakán át végeztük.

A rekonjugáció sikerességét másnap SDS-PAGE gélelektroforézis módszerrel vizsgáltuk. Ennek során megállapítottuk, hogy a kezdeti, egységes anyag a redukálás során két részre vált majd újra egyesült. (L: létra referencia; T: teljes antitest; rT: redukált antitest; TCO: ciklooktinil-csoporttal felszerelt, rekonjugált antitest). Miután meggyőződünk a folyamat sikeréről elkezdtük a módosított antitestek jellemzését. Ennek során először meghatároztuk az antitest-konjugátumra jellemző DAR-számot. Ezt a többfunkciós spektrofotométer segítségével, abszorbanancia alapján végeztük el. A DAR- szám az angol „Drug Antibody Ratio” mozaikszóra utal, vagyis a „gyógyszer-antitest arányt” fejezi ki, tehát az egy antitesthez kapcsolódó kismolekulák átlagos számát adja meg. Az általunk előállított konjugátum esetében DAR=4 arányszámot határoztunk meg.



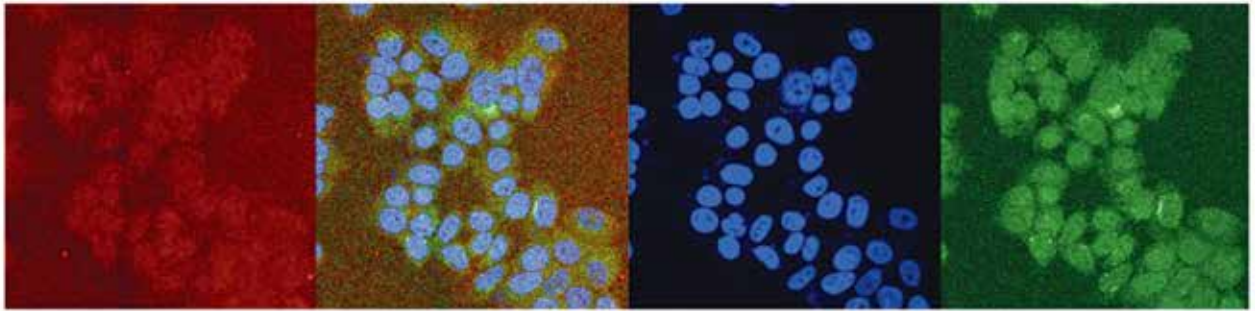




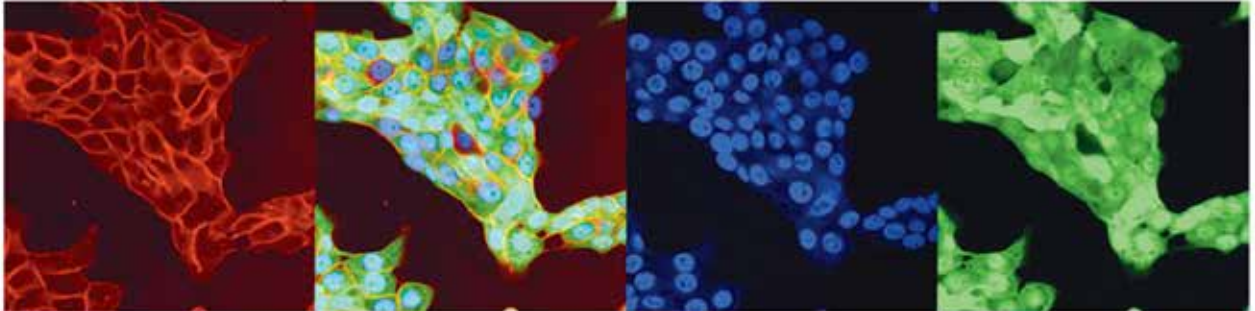
Végül az előállított antitest-festék biokonjugátumok „működését” ellenőriztük konfokális mikroszkópia segítségével. A vizsgált során megfigyelt NCI-N87 sejtek GFP-fehérjét és Her2 receptort expresszálnak. Ezzel párhuzamosan a Her2 receptort nem expresszáló (Her2-) MCF-7 sejtvonalon végeztünk kontrollkísérleteket. A sejtmagokat minden esetben DAPI-festéssel tettük láthatóvá. A mikroszkópia alapján megállapítottuk, hogy az NCI-N87 sikerült a membránjelölés az általunk előállított antitest-konjugátummal (vörös), míg a Her2- MCF7-sejtvonalon nem történt specifikus jelölés. A DAPI-festéssel történő sejtmagjelölés és a sejtek által expresszált GFP-fehérje mindkét esetben jól láthatóvá teszi a sejtek elhelyezkedését. Megállapítottuk tehát, hogy a Her2 receptort túlexpresszáló sejtek esetében szelektíven sikerült a sejtek körvonalát megjelölni a T-SuCy konjugátum segítségével.

A kutatótábor során tehát végrehajtottuk egy monoklonális antitest kémiai módosítását redukciós-rekonjugációs módszerrel. Ennek során szintetizáltuk a konjugációhoz szükséges kismolekulát, majd az előállított antitest-konjugátum többféle módszerrel is jellemztük. Megállapítottuk a termék tisztaságát, a hozzá kapcsolódó fluoreszcens festékmolekulák számát és végül konfokális mikroszkóp alatt azt is megvizsgáltuk, hogy képes-e az általunk előállított antitest-konjugátum különbséget tenni az egészséges és a rákos sejtek között. A kutatótáborban végzett munkánk során találkoztunk biológiai és gyógyszerkémiai laboratóriumokban gyakran alkalmazott módszerekkel és eszközökkel, megismerkedtünk több fontos laboratóriumi készülék, például az ultracentrifuga, a gélelektroforézis készülék, a többfunkciós spektrofotométer, az NMR-spektrométer, valamint preparatív és analitikai célú nagyhatékony-ságú folyadékkromatográfiás készülék működésével és használatával.

MCF7 (Her2-) +T-Sucy



NCI-N87 (Her2+) +T-Sucy





# A betegek eltérő gyógyszerlebontásának genetikai okai

**Endreffy Janka**

Békásmegyeri Veres Péter Gimnázium, Budapest

**Varga Zsófia**

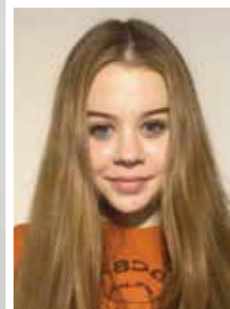
Salgótarjáni Bolyai János Gimnázium, Salgótarján

## Témavezetők:

**Dr. Déri Máté** tudományos munkatárs, **Fekete Ferenc PhD** hallgató, **Mangó Katalin PhD** hallgató, **Minus Annamária MSc** hallgató, **Dr. Monostory Katalin** kutatócsoport vezető

## Kutatócsoport:

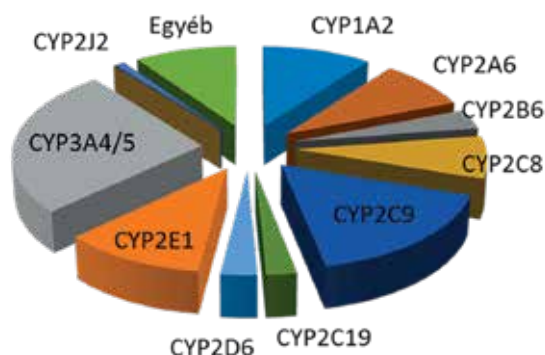
Metabolikus Gyógyszerkölsönhatások Kutatócsoport, Enzimológiai Intézet



A Természettudományi Kutatóközpont által szervezett „AKI Kíváncsi Kémikus Kutatótáborában” 2022. június 26. és július 02. között „A betegek eltérő gyógyszerlebontásának genetikai okai” témában folytathattuk munkánkat témavezetőink, Dr. Monostory Katalin, Déri Máté, Fekete Ferenc, Minus Annamária irányításával. A citokróm P450 enzimek polimorfizmusainak vizsgálata mindkettőnk számára számos új és hasznos ismeretet foglalt magában, melyekről eddigi tanulmányaink során nem volt lehetőségünk ilyen részletességgel tanulni.

A citokróm P450 (CYP) enzimek legnagyobb mennyiségben a májban található, fő feladatuk pedig a xenobiotikumok (a szervezet számára idegen anyagok) oxidatív lebontása, így azok kiüríthetővé válnak a szervezetből. A gyógyszer-hatóanyagok a metabolizmus során általában inaktiválódnak. A gyógyszer-metabolizmusban részt vevő CYP enzimek a CYP1-CYP3 enzimszaládokba tartoznak (1. ábra). A CYP enzimek vizsgálata azért fontos, mert a CYP génekben lévő egy nukleotidot érintő báziscsere, illetve inzerció, vagy deléciós mutációknak köszönhető nagyfokú genetikai polimorfizmus megváltozott CYP

aktivitást eredményezhet, így megváltozott gyógyszer-metabolizmushoz vezethet. A kutatásunk során lehetőségünk volt a saját CYP enzimeink polimorfizmusainak megvizsgálására. A táborban általunk vizsgált CYP gének: CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5.



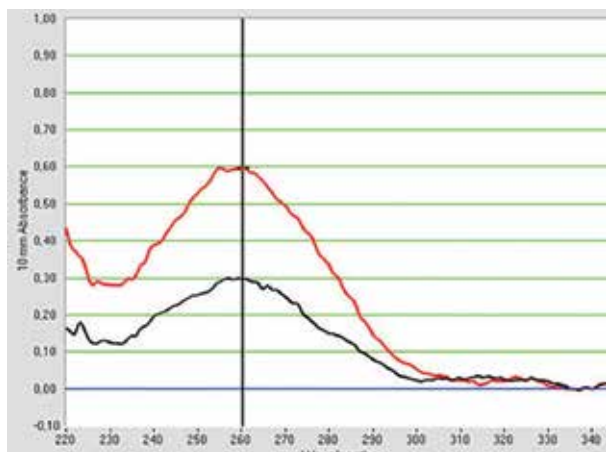
**1. ábra:** CYP enzimek mennyisége a májban. (Zanger és Schwab, 2013)

A munkafolyamat 1. szakasza a DNS izolálás, amely a mi esetünkben ujjbegyből vett vérmintából történt. A levett mintákat (H84 és H85) különböző pufferekkel megtisztítottuk a DNS izoláló kit protokollja alapján. Az elkészí-

tett mintáinknak megmértük a DNS koncentrációját és tisztaságát is. Ezt a mérést NanoDrop 1000 spektrofotométerrel végeztük (2. és 3. ábra).



**2. ábra:** NanoDrop 1000 spektrofotométer



**3. ábra:** az izolált DNS minták (H84-piros és H85-fekete) abszorpciós spektruma 220-340 nm hullámhosszon

A folyamat 2. szakasza a PCR („Polymerase Chain Reaction”) alapú genotípus meghatározás volt. Első lépésként elkészítettük a reakcióelegyet, ami DNS polimeráz enzimből, adott CYP génre specifikus „forward” és „reverse” primerekből, a mutációs helyre specifikus, fluorofór molekulával jelölt próba szekvenciákból és vízből áll (4. ábra). A reakció során a CYP génre specifikus primerekkel és a DNS polimeráz enzimmel felszaporítjuk a mutációt tartalmazó vagy nem tartalmazó genomi szekvenciárészt a mintában. A próbák lehetnek ún. „vad”, vagy „mutáns” próbák, melyek a mutáció meglététől vagy hiányától

függően adnak detektálható fluoreszcens jelet. Referencia mintaként már ismert genotípusú mintát alkalmaztunk, melyek használata azért fontos, hogy az aktuálisan vizsgált ismeretlen genotípusú mintát tudjuk mivel összehasonlítani.



**4. ábra:** A PCR reakcióelegy alkotóelemei

Ezután hozzáadtuk a reakcióelegyhez az általunk izolált DNS mintákat (5. ábra), majd a már kidolgozott hőmérsékleti protokoll alapján lefuttattuk a tesztet (6. ábra) amely befejeztével ki tudtuk elemezni a kapott eredményeket és így megállapítani a CYP genotípusokat (7-10. ábra).

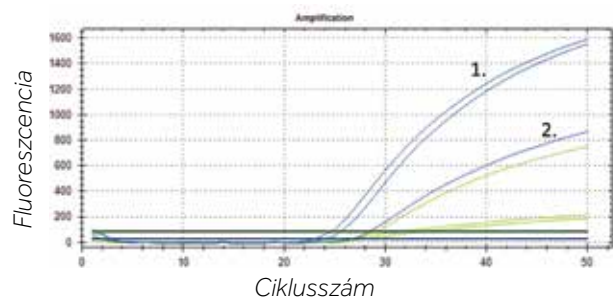


**5. ábra:** A minták hozzáadása a reakcióelegyhez



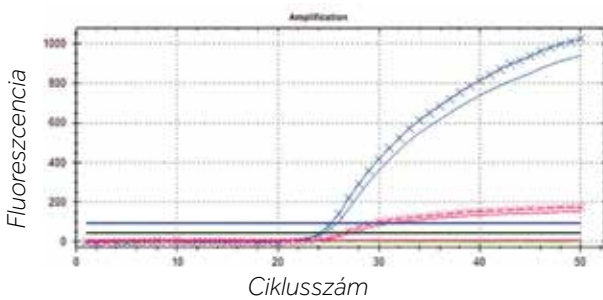


**6. ábra:** A teszt futtatása előtt látható képernyő, rajta a reakció hőmérsékleti protokolljával

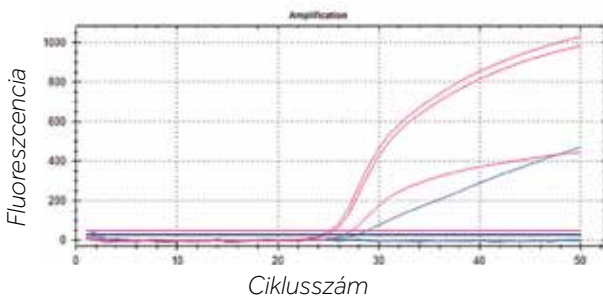


**9. ábra:** CYP2C19\*1/\*1 homozigóta vad (1.) és CYP2C19\*1/\*17 heterozigóta (2.) genotípusú minták PCR eredménye. (Kékkel a vad típusú szekvenciára, zölddel a mutáns szekvenciára specifikus próba jele.)

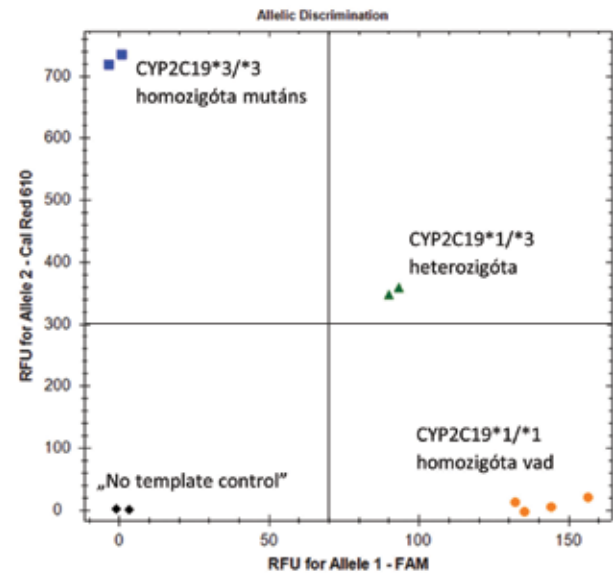
Mutáció azonosítás szekvenencia-specifikus fluoreszcens próbával (qPCR):



**7. ábra:** CYP2C9 \*1/\*2 heterozigóta genotípusú minta PCR eredménye. (Kékkel a vad típusú szekvenciára, pirossal a mutáns szekvenciára specifikus próba jele. X jelöli az ismeretlen minta futási görbét, folytonos vonallal a referencia minta van jelölve.)



**8. ábra:** CYP3A5\*3/\*3 homozigóta mutáns (1.) és CYP3A5\*1/\*3 heterozigóta (2.) genotípusú minták PCR eredménye. (Kékkel a vad típusú szekvenciára, pirossal a mutáns szekvenciára specifikus próba jele.)



**10. ábra:** CYP2C19\*3 alléldiszkriminációs vizsgálatának eredménye. (Kékkel a CYP2C19\*3/\*3 homozigóta mutáns, zölddel a CYP2C19\*1/\*3 heterozigóta, sárgával a CYP2C19\*1/\*1 genotípusú minták vannak jelölve. FAM-vad típusú szekvenciára specifikus fluorofór jelölés, CalRed610-mutáns szekvenciára specifikus fluorofór jelölés.)



Az általunk kapott összes eredményt az alábbi táblázatban összesítettük:

Gén	Allél	SNP	Gyak. a kaukázusi populációban	H84 genotípusa	H85 genotípusa	CYP aktivitás	Hatóanyag
CYP2C9	*2	3608 C>T	10-17%	CYP2C9 *1/*3	CYP2C9 *1/*2	↓	nem szteroid gyulladásgátlók, antidiabetikumok, antiepileptikumok, vérhígítók
	*3	42614 A>C	6-7%			↓	
CYP2C19	*2	19154 G>A	6-15%	CYP2C19 *1/*17	CYP2C19 *1/*1	↓	antiepileptikumok, vérhígítók, antidepresszánsok
	*3	17948 G>A	<1%			↓	
	*4	1 A>G	<1%			↓	
	*17	-806 C>T	21-25%			↓	
CYP3A4	*1B	-392 A>G	3-5%	CYP3A4 *1/*1	CYP3A4 *1/*1	↓	immunszuppresszánsok, antibiotikumok, kemoterápiás szerek, antidepresszánsok
	*22	15389 C>T	2,5-8%			↓	
CYP3A5	*3	6986 A>G	88-97%	CYP3A5 *3/*3	CYP3A5 *3/*3	↓	

Az egyes CYP allélok kaukázusi populációban leírt gyakoriságát is feltüntettük a táblázatban, így figyelembe véve azt, hogy a kapott eredmény mennyire tekinthető „átlagosnak”.

A tábor mindkettőnk számára egy remek lehetőség volt megismerkedni egy tudományos labor berendezéseivel, betekintést nyerni a labormunka folyamatába, közelebbről megismerni a PCR tesztek működési elvét, illetve olyan ismereteket szerezni a témavezetőinktől, melyeket eddig a gimnáziumi tanulmányaink alatt nem sikerült ilyen alaposan megismerni, és amelyeknek hasznát fogjuk venni későbbi tanulmányaink során. Mindket-

ten egészségügyi pályán szeretnénk elhelyezkedni, és az itt eltöltött 1 hét még inkább megerősített minket ezen szándékunkban. Ezúton is szeretnénk megköszönni témavezetőinknek a végtelen türelmet, segítséget és kedvességet, amivel felénk fordultak! Ezen kívül szeretnénk köszönetet mondani a tábor szervezőjének, Nagyné dr. Bereczki Laurának, aki nélkül ez a tábor nem jöhetett volna létre, illetve a TTK minden dolgozójának! Külön köszönjük Bajcsi Áronnak a remek csapatépítést a táborban! Reméljük, hogy lesz még alkalmunk az „AKI Kíváncsi Kémikus” tábor köreiben újra találkozni!



# Gyógyszermolekulák kötődésének modellezése fehérjékben

**Borsodi Eszter**

Radnóti Miklós Gimnázium, Dunakeszi

**Bokor János Márk**

Illyés Gyula Gimnázium, Szakgimnázium és Technikum, Budaörs

**Témavezetők:**

**Dr. Mihalovits Levente** tudományos munkatárs

**Kutatócsoport:**

Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Szerves Kémiai Intézet



## A gyógyszerkutatás bemutatása.

A gyógyszerkutatás folyamata nyolc lépésre osztható fel (1. ábra), ezek közül a leggyakrabban az első háromban alkalmazhatók a számítástechnikai kémiai eszközök a fejlesztés segítésére.

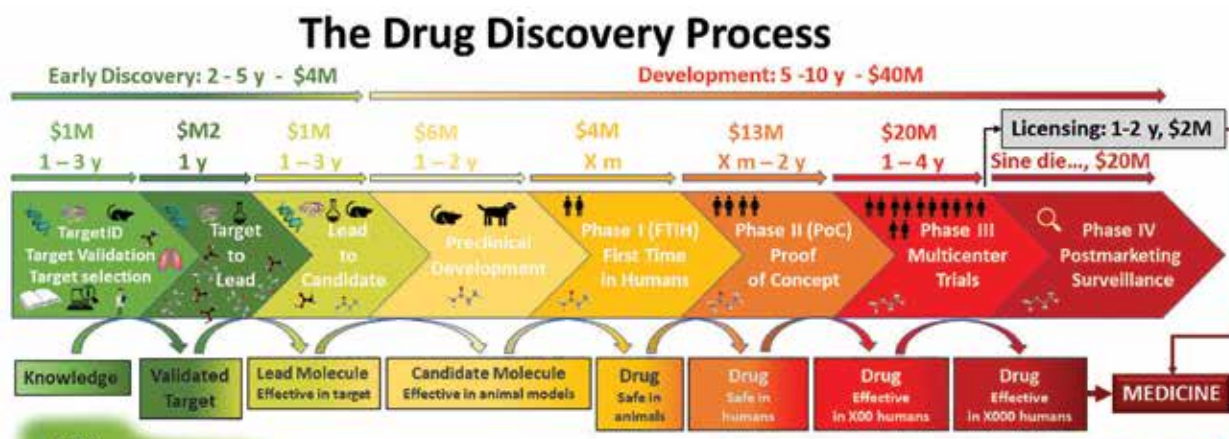
Az első lépésben történik meg a cél kitűzése, annak meghatározása, hogy mire szeretnénk gyógyszert készíteni, illetve ide tartozik az is, hogy információt gyűjtünk az adott betegségről, a lehetséges fehérje célpontokról és az esetlegesen korábban már ismert hatásos molekulákról. A második lépésben a korábban gyűjtött tudás alapján megpróbálunk olyan molekulákat találni, amelyek kapcsolódnak az adott fehérje célponthoz és befolyásolják működésüket, majd a talált molekulákat továbbfejlesztik, hogy hatásosabban kötődő vegyületet kapjanak. Ezeket "lead" nek nevezzük. A harmadik lépésben elkezdődik a lead vegyületek farmakokémiai paramétereinek tökéletesítése, mely során a molekulák szervezetbe való jutását segítő tulajdonságok optimalizálása történik. Végül már csak egy darab ligandum marad, az ún. jelölt (candidate). Az előbb felsorolt vegyületeket minden esetben előállítják és megfelelő vizs-

gálatoknak vetik alá, a molekulák optimalizálása a kísérleti eredmények alapján történik.

A negyedik lépésben következik a preklinikai fázis és az állatkísérletek. Ennél a lépésnél azt vizsgálják, hogy komplexebb élő szervezetekben, állati modellekben is hatásos-e a gyógyszerjelölt, illetve folyamatosan vizsgálják a lehetséges mellékhatásokat és a későbbi emberi fogyasztásra szánt biztonságos dózisiról is információt nyernek. Az ötödik lépésben kerül sor az emberi szervezetben való első tesztelésekre. Ekkor még egészséges önkénteseknek adják be a gyógyszerjelölt molekulát, hogy megfigyeljék az emberi testre gyakorolt hatását és vizsgálják korábban nem tapasztalt mellékhatások megjelenését. A hatodik lépés során már beteg embereket kezelnek a vizsgált jelölttel. Ezt nevezik Proof of Concept (PoC) vizsgálatnak, mert itt bizonyítják be, hogy a tervezett hatóanyag valóban működik-e az emberi szervezeten belül a vizsgált indikációban.

Ezt követi a hetedik lépés, ahol már tömegesen vizsgálják a gyógyszerjelölt adott betegséggel szembeni hatásosságát, egymástól független klinikai vizsgálóhelyeken. Ebben a fázisban a legnagyobb az esély (körülbelül 70





1. ábra: a gyógyszerkutatás lépései (forrás: <https://doctortarget.com/machine-learning-applied-drug-discovery/>)

%) a jelölt molekula bukására, mivel itt már több száz, illetve több ezres betegszámon történnek a vizsgálatok. Ezen fázis teljesítése esetén a gyógyszer fejlesztője beadhatja a szükséges dokumentációt a teljes fejlesztésről a gyógyszerhatóságnak és az alapos elbírálás után megtörténhet az új gyógyszer szabadalmazása és forgalmazása. A piacra való bevezetés után megkezdődik a nyolcadik, utánkövetési lépés, amiben megfigyelik, hogy fellép-e bármilyen váratlan, akár hosszútávú mellékhatás, ami miatt azonnal megkéne szakítani a gyógyszer gyártását és forgalmazását.

### Kis molekulás gyógyszerek hatásmechanizmusa.

A legtöbb betegség akkor alakul ki, amikor a szervezet bizonyos biokémiai folyamatai nem megfelelően mennek végbe, ezt gyakran a szervezetben található fehérjék abnormális működése okozza. A kismolekulás gyógyszerek hatásmechanizmusa a fehérje működésének befolyásolásán, gyakran gátlásán alapul: megtámadjuk a fehérjét egy ligandummal (kismolekula, a gyógyszer hatóanyaga), ami a fehérje célzott kötőhelyére beköt, ahol módosítja, gátolja a célpont működését. Ha a ligandum és a fehérje környezete között csak másodlagos kötések alakulnak ki, azt nem-kovalens kötődésnek nevezzük. Amennyiben a gyógyszermolekula aktív része (warhead régió) és a célzott fehérje valame-

lyik oldallánca között kovalens kötés is léte-sül, már kovalens inhibícióról beszélhetünk. A kovalens inhibíció két lépésben történik meg, elsőként a nem-kovalens kötődésnek megfelelő molekuláris felismerés jön létre, majd ezután a kovalens lépésben alakul ki a kovalens kötés a fehérje és ligandum között.

### Elméleti háttér és elvégzett munka

Számítógépes gyógyszertervezés lehetőségei, modellezés, in silico szűrő módszerek.

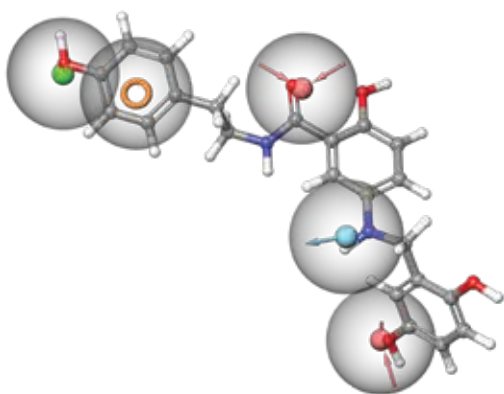
Gyógyszermolekulák tervezésére kétféle lehetőség áll rendelkezésre: fehérjeszerkezet alapján (szerkezet alapú tervezés), vagy már ismert és hatásos ligandumokat alapul véve (ligandum alapú tervezés).

Munkánk során ligandum alapú módszerekből négyet használtunk:

1. QSAR (quantitative structure-activity relationship): kiválasztottuk a célpontunkat (esetünkben a SARS-CoV-2 fő proteázát), és a ChEMBL adatbázisból letöltöttük az ismert inhibitorait és az enzimmel szemben mért aktivitási értéküket, név szerint az  $IC_{50}$ -t, ami megmutatja, hogy adott fehérjekoncentrációt esetén mekkora ligandum koncentráció szükséges a fehérje aktivitásának felére csökkentéséhez. Egymásra illesztettük a ligandumokat a Maestro megjelenítő program segítségével, ezáltal megépítettük a fehérje

kötőhelyének lehetséges negatívját. Szintén a Maestroba implementált program segítségével és az  $IC_{50}$  értékek felhasználásával felépítettünk egy szerkezet-hatás összefüggés modellt, amelynek segítségével kísérletileg még nem meghatározott molekulák lehetséges  $IC_{50}$  értéke vált pediktálhatóvá a fő proteázzal szemben.

2. Farmakofór szűrés: hipotézist állítottunk fel (2. ábra), hogy milyen szerkezeti elemekre (hidrogénkötés donor, aromás gyűrű stb.) és ezek egymáshoz képesti elrendeződéséhez van szükség egy olyan molekula felépítéséhez, amely optimális másodlagos kölcsönhatásokat tud kialakítani a fehérje kötőhelyének környezetével. A korábban is használt Maestro segítségével egy molekulakönyvtár tagjait ráillesztettük a farmakofór elrendeződésre, majd a program a farmakofór modell szerkezettel való egyezés alapján rangsorolta a könyvtár tagjait. A hipotézissel legjobb egyezést mutató molekulákat további optimalásnak vethetjük alá egyéb módszerekkel.



**2. ábra:** a farmakofór hipotézis és az arra legjobban illeszkedő molekula (zöld gömb: hidrofób részlet; gyűrű: aromás részlet; kék gömb kifelé nyíl: H-kötés donor; piros gömb befele nyíl: H-kötés akceptor)

3. CoMFA (comparative molecular field analysis): szintén egy QSAR módszer, amely megtalálható a Maestroban. Az adott ligandum körül definiál egy rácsot, majd egy próbatestet a rácspontra helyezve kiszámítja a próbatest és a ligandum közötti kölcsönhatásokat, letapogatja a ligandumot és környe-

zetét. Segítségével információt nyerhetünk, hogy mely térrészek felé érdemes változtatni a meglévő molekulát, molekulákat az enzimaktivitás növelésének érdekében.

4. Shape screening: Kiválasztottunk egy megfelelő enzimaktivitással rendelkező referencia molekulát, amire ráillesztettük a molekulakönyvtárunk összes tagját, majd a modellező program alakjában alapján rangsorolta őket. Ezen számolásoknál a referencia molekula alakjával való minél nagyobb hasonlósággal rendelkező molekulák keresése a cél.

Szerkezet alapú kutatási módszerekből a következőkbe nyertünk betekintést:

1. Dokkolás: Ezen módszer lényege, hogy a vizsgálandó molekulákat beillesztjük a fehérje előre definiált kötőhelyére a kulcs-zár hasonlat analógiáját használva (a kulcsokat bepróbáljuk a zárba). A dokkolás során a modellező program igyekszik a lehető legtöbb és legkedvezőbb enzim-ligandum kölcsönhatással rendelkező pózokat hozzárendelni az adott molekulákhoz. A pózokat a "docking score" nevű mennyiség jellemzi, amely a kölcsönhatások minőségét leíró energia jellegű mennyiség. A módszer alkalmas rendkívül nagy számú, akár milliós nagyságrendű molekulakönyvtárak gyors kötőhelyre való beillesztésére, majd a minél alacsonyabb (mivel energia jellegű mennyiségről beszélünk, minél alacsonyabb, annál inkább exotermebb a molekula bekötődése, tehát energianyereséggel jár) score-al rendelkező vegyületeket kiválaszthatjuk, ezzel egyfajta szűrést elvégezve. A kapott pózokat vizuálisan is megvizsgálva lehetőség nyílik a ligandum módosítási lehetőségeinek értékelésére, annak érdekében, hogy javítsuk a fehérje-ligandum kölcsönhatásokat. Mi a módszert az általunk létrehozott molekulakönyvtár szűrésére használtuk.

2. Molekuladinamika (MD): Molekuladinamikai szimulációk során a rendszerünket felépítő atomok mozgását, dinamikus viselkedését

vizsgáljuk a klasszikus newton-i mozgásegyenlet segítségével ( $F = m \times a$ ). A molekuladinamika során megvizsgálhatjuk a ligandumok kötőhelyen való időbeli viselkedését. Figyelemmel követjük, hogy a szimulációs idő múlásával is kötve marad-e a vizsgált molekula, illetve milyen kölcsönhatásokat és milyen gyakran alakít ki környezetével. Ezzel a módszerrel megvizsgálható a kötőpókok minősége, de kevésbé alkalmas szűrés jellegű vizsgálatokra. Esetükben a legígéretesebb molekulák kötőpózáinak vizsgálatára alkalmaztuk.

Mindkét megközelítés segítségével elvégezhető virtuális szűrés, amelynek lényege, hogy egy rendkívül nagy tagszámú könyvtár minden elemét ellássunk valamilyen, a kötődést jellemző értékkel (jóslott aktivitás, docking score stb.) és ez alapján sorrendet állítsunk fel a molekulák között. Az első néhány (első száz, első ezer) vegyületet ezután előállíthatjuk és letesztelhetjük kísérletileg vagy további, jóval kifinomultabb számolások segítségével szűkíthetjük a szóba jöhető molekulák számát. Gyakran azonban a modellezési feladat nem a szóba jöhető molekulák számának csökkentésére irányul, hanem retrospektív, utólagos analízisre szolgál. Ezek során reakciómechanizmusokat számolhatunk modell-, akár fehérjekörnyezetben, precízebb vizsgálatokat végezhetünk a kötődéssel kapcsolatban, tanulmányozhatjuk az enzim-ligandum komplexek dinamikus viselkedését, de az itt felsoroltakon túl is rengeteg lehetőség áll rendelkezésre a gyógyszer-molekulák modellezéssel való jellemzésére. A következő bekezdésekben néhány általunk elvégzett összetettebb modellezési feladatot mutatunk be.

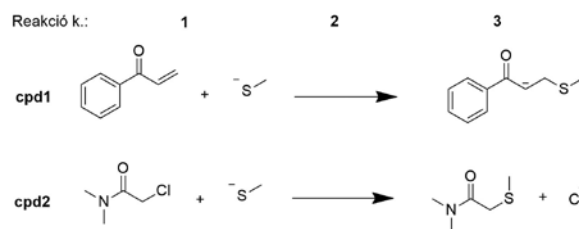
### Kémiai reakciók vizsgálata modellrendszerben (QM)

Kémiai reakciók modellrendszerben való vizsgálatát a Gaussian nevű programmal végeztük, melynek segítségével kvantummechanikai (QM) számításokat tudunk futtatni.

A kovalens inhibíció során gyakran előforduló reakció típusokat modelleztünk (3. ábra), s eközben vizsgáltuk a reakció energiaprofilját. A reakció során a kiválasztott ligandumok és a ciszteint helyettesítő metil-tiolát molekulaközötti Michael addíciót, illetve nukleofil szubsztitúciót vizsgáltuk. A kapott energiaprofil és az aktiválási energia fontos információval szolgál a molekula fehérjével szemben mérhető aktivitásának predikciójához. Minél alacsonyabb a reakció gátja, annál könnyebben köt hozzá a molekula a cisztein oldallánchoz, beleértve a fehérje összes ciszteinjét, így fontos, hogy a túl aktív vegyületek kötődését "megnehezítsük" megfelelő warhead optimalizációval.

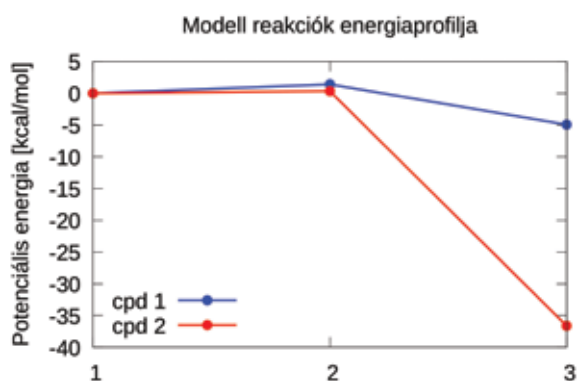
A modellezéshez előbb el kellett készítenünk a reakciót alkotó molekulákat a Maestro programban, majd mindegyiken megkötéses szerkezet optimalizálást hajtottunk végre QM elméleti szinten. A reakció lefolyását scan-ek futtatásával vizsgáltuk, s ezek segítségével azonosítottuk a kiindulási, átmeneti és végállapotokat. Az említett állapotok szerkezetét optimalizáltuk, ezután energia értékeiket kigyűjtöttük, ezzel létrehozva az energiagörbéket.

A 4. ábrán a reakciók energiaszintjei láthatók a reakciókoordináták függvényében. Az első koordináta a kiindulási állapot, ami energiafelvétel mellett a transition state-be (TS) vagy átmeneti állapotba kerül, vagyis a reakcióban kialakuló legmagasabb energiaszintű szerkezetté alakul át, majd a termék kialakulásakor egy alacsonyabb energiaszintre kerül, energia leadása mellett. A két vizsgált vegyület közül a második tűnik potenciálisan aktívabbnak a cisztein helyettesítő metil-tioláttal szemben, így valószínűsíthető, hogy ez a molekula nagyobb affinitással bír a fehérjék ciszteinjével szemben.



3. ábra: modellezett reakciók

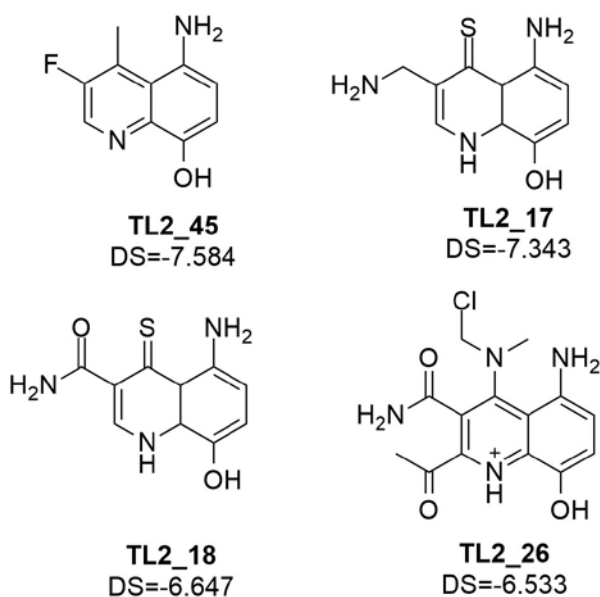




**4. ábra:** a modellreakciók számolt energia értékei (1: kiindulási állapot; 2: átmeneti állapot; 3: végállapot)

### Dokkolás és a kapott pózok vizsgálata klasszikus molekuladinamikával

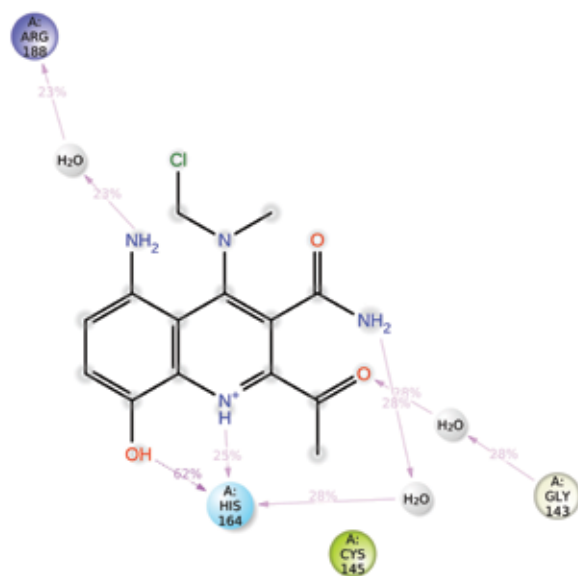
Ezen munka során a SARS-CoV-2 fő proteázának gátlására potenciálisan alkalmas molekulák tervezését végeztük. Irodalmi kutatás és kémiai intuíció alapján létrehoztunk egy molekulakönyvtárat, melynek tagjait bedokkoltuk a fő proteáz kötőhelyére. A kapott eredmények alapján kiválasztottuk a legjobbakat, melyeket tovább növesztettük különféle molekularészletekkel, s az új vegyületeket szintén bedokkoltuk, kötődésüket értékeltük. Egy hét munkája alatt találtunk 4 nagyon ígéretes molekulát. (5. ábra)



**5. ábra:** a dokkolási vizsgálatok alapján legjobb kötődésű vegyületek (DS: docking score)

Az ábrán látható, hogy mindegyik molekulának ugyanaz az alapja, csak oldalláncaikban térnek el. Ez azért van, mert egy online molekulakönyvtárban található molekulát választottunk alapnak, amelyről a könyvtár leírása alapján tudtuk, hogy a célponttal szemben aktivitást mutat. Könyvtárunk létrehozásakor ezt kezdtük el módosítani, az alapvázra különböző oldallánccokat aggattunk, így létrehozva a könyvtár tagjait. Az ábrán a bal felső molekula rendelkezik a legnegatívabb docking score-al így ennek szintézise és biológiai vizsgálata tűnik a kutatás szempontjából legígéretesebbnek.

Ezek után klasszikus molekulamechanika (MM) alapú molekuladinamikai szimulációk segítségével megvizsgáltuk, hogy a legjobb docking score-ral rendelkező molekulák mennyire stabilan kötődnek a fő proteáz aktív helyéhez. A szimuláció eredményeképp a következőket tapasztaltuk a **TL2\_26** példáján bemutatva (6. ábra): a ligandum hidroxilcsoportja és a His164 oldallánc között stabil hidrogénkötés tud kialakulni, továbbá az aktív helyen található víz molekulákon keresztül is képesek hidrogén kötések kialakulni a fehérje és a ligandum között. Mindezek biztosítják, hogy a ligandum megfelelően kötődjön a célpont aktív helyéhez és ott megfelelő ideig legyen képes gátló hatását kifejteni.



**6. ábra:** az MD szimuláció alatt előforduló enzim-ligandum kölcsönhatások és gyakoriságuk

## Kovalens kötődés modellezése fehérjékben QM/MM MD módszerrel

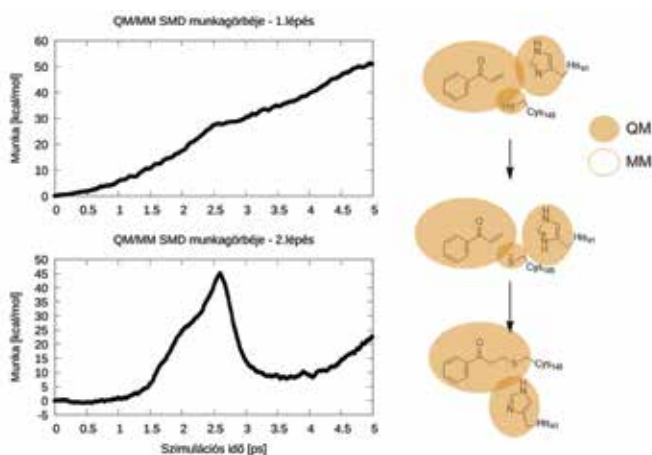
Mivel kovalens kötődéskor a klasszikus molekulamechanikai potenciál nem képes a kémiai reakcióval járó elektron átrendeződést kezelni, a kovalens inhibíció modellezéséhez szükség van a kémiailag releváns régió kvantummechanikával való leírása. Sajnos a teljes rendszer leírása lehetetlen lenne kvantummechanikával az MD szimulációk során, ám a kémiai reakció szempontjából kevésbé releváns régiókat kezelhetjük MM szinten, így létrehozva a QM/MM hibrid keretrendszert a szimulációk leírásához. A QM/MM MD szimulációk során általában a vizsgált ligandum és a célzott oldallánc alkotja a QM régiót, míg a fehérje többi része, illetve az oldószerdoboz molekulái mind az MM régió részét képezik. A módszer segítségével megalkothatjuk a fehérjében lejátszódó kémiai folyamat energiaprofilját, viszonylag alacsonyabb számítási költséggel.

A szimuláció során először felépítettük az enzim-ligandum komplexet majd ezt egy vízdobozba helyeztük, s definiáltuk a QM és MM régiókat. Az így létrejött rendszert előkészítettük az MD szimulációk futtatásához, elvégeztünk egy minimálási, egy melegítési és egy ekvilibrálási lépést. Az előkészített rendszert ezután húzott molekuladinamikai (SMD, steered molecular dynamics) szimulációnak vetettük alá, melynek során az általunk definiált reakciókoordináta

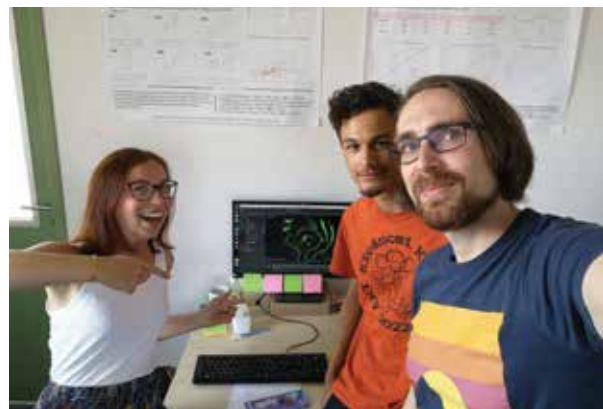
mentén húztuk végig a rendszert, így lejátszatva a reakciókoordinátával definiált reakciót. Az ennek során kapott szerkezeteket felhasználtuk az úgynevezett Umbrella Sampling mintavételezést alkalmazó MD szimulációk kezdőszerkezeteként. Ezen módszer lényege, hogy a reakció koordináta mentén szimulációs ablakokat futtatunk majd ezek eredményeiből a WHAM (weighted histogram analysis method) segítségével fel tudjuk építeni a reakció koordináta mentén a kovalens reakció energiaprofilját. Az Umbrella Sampling végeztével megalkottuk volna a kötődési reakció energiaprofilját és értékeltük volna annak alakját, erre azonban idő szűke miatt nem volt lehetőség. A mellékelt ábrán csak az SMD húzások során kapott munkagörbék láthatók. Az ebben a szekcióban leírt összes lépést az AmberTOOLS programcsomaggal végeztük.

### Összefoglalás

Munkánk során betekintést nyerhettünk a számítógépes gyógyszertervezés módszereinek széles tárházába. Végeztünk ligandum- és szerkezet alapú modellezési-, szűrési feladatokat, reakciómechanizmus kutatást és molekuladinamikai szimulációk futtatását és kiértékelését is. Az eredmények alapján két molekula közül sikerült a modellrendszerben potenciálisan aktívabbat megtalálnunk, egy molekula-könyvtár szűrésével sikerült lehetséges SARS-CoV-2 fő proteáz inhibitorokat azonosítanunk, végezetül egy kiválasztott vegyület fő proteáz Cys145 oldalláncával való kovalens reakciójának munkagörbéjét is kiszámoltuk.



**7. ábra:** az enzimműnyezetben modellezett reakciók (jobbra) és a hozzájuk tartozó QM/MM SMD szimulációk munkagörbéje (balra)



**8. ábra:** közös kép témavezetőnkkel és a munkaállomásunkkal



# Bevezetés a műszaki kerámiák világába

**Dudla Szilvia Boglárka**

*Eötvös József Gimnázium, Budapest*

**Méri Zsófia**

*Jedlik Ányos Gimnázium, Budapest*

**Szánti Tünde**

*Vetési Albert Gimnázium, Veszprém*

**Témavezető:**

**Dr. Bódis Eszter** tudományos munkatárs

**Kutatócsoport:**

*Plazmakémiai Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet*



## Bevezetés

A 2022-es AKI Kíváncsi Kémikus Kutatótábor keretein belül korszerű műszaki kerámiákkal ismerkedtünk meg témavezetőnk segítségével. Egy hét alatt két gyakran használt műszaki kerámiát, az alumínium-oxidot ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), a cirkónium-dioxidot ( $\text{ZrO}_2$ ), illetve e két kerámiából készített keveréket, úgynevezett cirkónium-dioxiddal szívósított alumínium-oxid (ZTA) kompozitot vizsgáltuk. A tábori munka során az egykomponensű (monolit) és többkomponensű/ társított kompozit kerámiák tulajdonságainak összehasonlító vizsgálatát végeztük el.

## Mit érdemes tudni a műszaki kerámiákról?

A műszaki kerámiák definíció szerint, fémek és átmeneti fémek oxidjaiból, nitridjeiből, boridjaiból, karbidjaiból, illetve ezek elegyeiből felépülő szerkezeti anyagok, amelyeket ionos és/vagy erős kovalens kötés jellemez. Általában jó hőállóságukhoz és kémiai ellenállóságukhoz, nagy keménység és nagy kopásállóság társul, mindamellett, hogy kis sűrűség jellemzi őket. Legtöbbjük hő- és

elektromos szigetelő, ugyanakkor vannak hővezető, szupravezető és félvezető tulajdonsággal rendelkező kerámiák is [1]. Kiváló tulajdonságaiknak köszönhetően számos alkalmazási területen megelőbbnek bizonyulnak a fém- és műanyagalapú rendszerekkel szemben. A műszaki kerámiák szerkezeti anyagként történő szélesebb körű felhasználását ridegségük, vagyis alacsony törési szívósságuk ugyanakkor akadályozza. A mindennapokban ismert hagyományos kerámiákhoz hasonlóan, egyetlen, kellőképpen nagy ütéserő hatására a kerámia szerkezete súlyosan sérülhet, katasztrófaszerűen törhet. Ennek megakadályozására megfelelő mikroszerkezet kialakítása nyújthat megoldást kétféle módon: egyrészt a kerámia testek szerkezetében lévő hibahelyek csökkentésével, másrészt különféle adalékanyagok alkalmazásával, vagyis kompozit létrehozásával. A szerkezeti hibahelyek csökkentése a kerámia testeket alkotó szemcsék méretének csökkentésével; valamint minél pórusmentesebb, vagyis kis porozitású kerámia test kialakításával érhető el.

A kompozit kerámiák már-már külön csoportját alkotják a műszaki kerámiáknak. Kiala-

kításukkor a több, különböző monolit kerámiák előnyös tulajdonságainak ötvözésére nyílik lehetőség, így létrehozva egy jobb, összetett tulajdonságokkal rendelkező társított rendszert, így lehetőséget teremtve a szélesebb körű alkalmazhatóságukra, amelyek pl. a rakétatechnika, hadiipar, energiatermelés és akár az orvosbiológia területe is [2].

A kutatótáborban végzett kísérletünk során a fent említett két műszaki kerámiával, az  $\text{Al}_2\text{O}_3$  és a  $\text{ZrO}_2$  illetve az ezekből készült ZTA kerámia kompozittal dolgoztunk.

Az  $\text{Al}_2\text{O}_3$  az egyik legelterjedtebb, leggyakrabban használt műszaki kerámia, amelyet jó elektromos- és hőszigetelő tulajdonság, valamint magas olvadáspont és nagy keménység jellemez [1,2]. Ugyanakkor törési szívóssága alacsonynak mondható, így sérülékenyebb monolit kerámia helyett inkább kompozitként, például szilikáttal adalékolt formában használják. Hőcserélők, különleges égőfejek, magas hőmérsékletű gázokat szűrő berendezések, valamint gázturbina alkatrészek gyártásakor alkalmazzák [1].

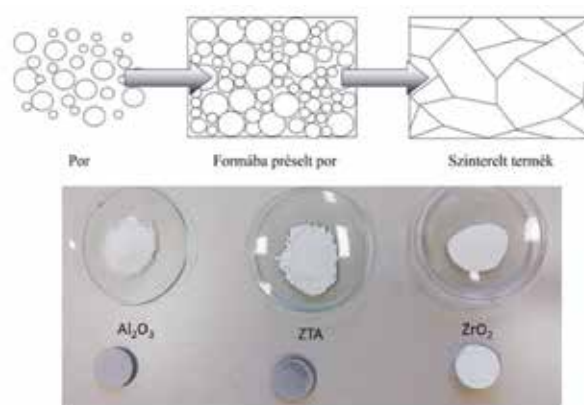
A  $\text{ZrO}_2$  az egyik legjobb törési szívóssággal rendelkező műszaki kerámia, éppen ezért a „kerámiák acéljának” is nevezik. Magasabb olvadáspont, ugyanakkor valamivel alacsonyabb keménység jellemzi az  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -hoz képest. Három kristálymódosulata létezik – köbös, tetragonális és monoklin  $\text{ZrO}_2$  – amelyek hőmérsékletváltozás hatására reverzibilisen egymásba alakulhatnak és a tetragonális  $\rightarrow$  monoklin  $\text{ZrO}_2$  ( $t \rightarrow m \text{ZrO}_2$ ) kristálymódosulátváltást 3-9%-os térfogatnövekedés kíséri. Ez utóbbi folyamat szinte lehetetlenné teszi a tiszta tetragonális  $\text{ZrO}_2$  ( $t\text{-ZrO}_2$ ) szerkezeti anyagként történő felhasználását, ugyanakkor mégis ezen tulajdonságát kihasználva, erősítő/szívósító adalékanyagként kiválóan alkalmazható. Ugyanis a  $t \rightarrow m \text{ZrO}_2$  átalakulás pl. repedésből származó húzófeszültség hatására is bekövetkezhet, ezért a szerkezet sérülésekor (mikrorepedések megjelenése)  $t \rightarrow m \text{ZrO}_2$  átalakulás megy végbe és a megjelenő nagyobb térfogatú  $m\text{-ZrO}_2$  szemcsék a repedés útját elzárják, illetve azok terjedését megakadályozzák.

A harmadik vizsgált kerámia kompozit a ZTA volt, amely 80 m/m%  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -ból és 20 m/m%  $\text{ZrO}_2$ -ból álló porkeverék. A ZTA kompozit széleskörűen használt anyag. Tulajdonságai az alapanyagaira vezethetők vissza, ugyanakkor a monolit kerámiához képest kedvezőbb mechanikai jellemzőkkel (nagy keménység és jó törési szívósság) bír. Kivételesen erős, kémiailag ellenálló anyag. Számos alkalmazási területen van jelen, többek között fogászati és orvosi implantátumok, vágóeszközök, csapágyak, szelepek, órlógyöngyök, olvasztótégelyek és kerámia szűrők elkészítéséhez használják [3]. A ZTA porkeverék előállítása nagy energiájú bolygómalomban történt kerámiabetétes őrlőtégelyben, 300 fordulat/perces keverés mellett, 30 percen keresztül.

A kutatótábor során, kísérletünk célja a  $\text{Al}_2\text{O}_3$  és  $\text{ZrO}_2$  kerámiák és ezekből készült ZTA kerámia kompozit előnyös tulajdonságainak bemutatása volt, bizonyítva az összetett anyagrendszerekben történő gondolkodás előnyösségét.

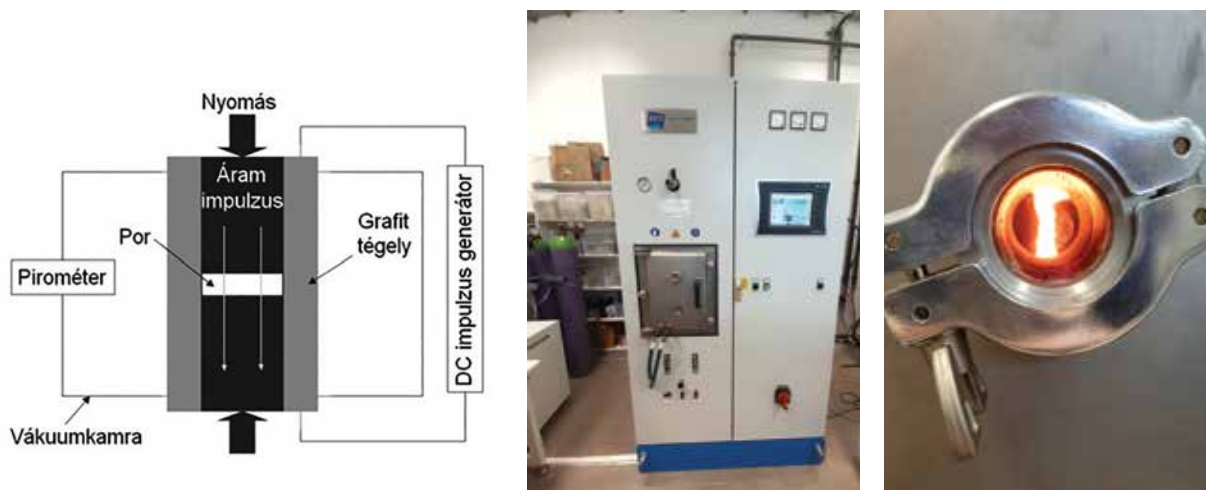
### Kerámia testek előállítása

Tömbi kerámia testeket formázással és magas hőmérsékleten történő hőkezeléssel állítjuk elő, amelyet szinterelésnek nevezünk. A folyamatot az alábbi, 1. ábra is mutatja.



**1. ábra:** Tömbi kerámia test kialakításának szemléltető ábrája, illetve a kiindulási kerámiaporokból általunk előállított kerámia testek





**2. ábra:** Szikrakisüléses plazmaszinterelő berendezés sematikus ábrája, illetve munka a laborban

Munkánk során az  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$  és ZTA kerámia testek elkészítését egy modern porkohászati eljárással, úgynevezett szikrakisüléses plazmaszinterelő berendezés (Spark plasma sintering, SPS) segítségével végeztük el. A munkafolyamatot a 2. ábra mutatja.

A szinterelési eljárás során egy grafittegelyt megtöltünk a kiindulási kerámia porral, amelyet az SPS berendezésbe helyezünk. A készülék egytengelyű nyomással préseli a mintát, miközben a teljes mintatartón pulzáló egyenárammal magas hőmérsékletet hoz létre. A pulzáló egyenáram hatására a kerámiapor szemcsék között, és azok felületén mikrokisülések jönnek létre, amik csupán a szemcsék felületét olvasztják meg, ezáltal felgyorsítva például a szemcsék közötti nyakképződést és magát a szinterelési folyamatot. Az általunk vizsgált kerámiák hőkezelése az alábbi módon történt: 3 g kerámia port egy grafit lappal bélelt grafit-mintatartóba töltöttünk, amit az SPS berendezésbe helyezve

még egy grafitköpennyel is körbe vontunk. A szinterelési folyamatot egy számítógép vezérelte, amelyet előzetesen témavezetőnkkel átbeszéltünk és megírtunk. A kerámia testek hőkezelése egységesen  $1300^\circ\text{C}$ -on történt, mindössze 5 perces hőntartási idővel, 50 MPa egytengelyű nyomás mellett. A minták felfűtése és lehűtése szabályozottan történt,  $100^\circ\text{C}/\text{perc}$  sebességgel.

### Alkalmazott vizsgálati módszerek

A kerámia testek tömörségét, vagyis relatív sűrűségét Arkhimédész módszerrel végeztük el (3. ábra), amelynek segítségével a testek porozitása kiszámítható.

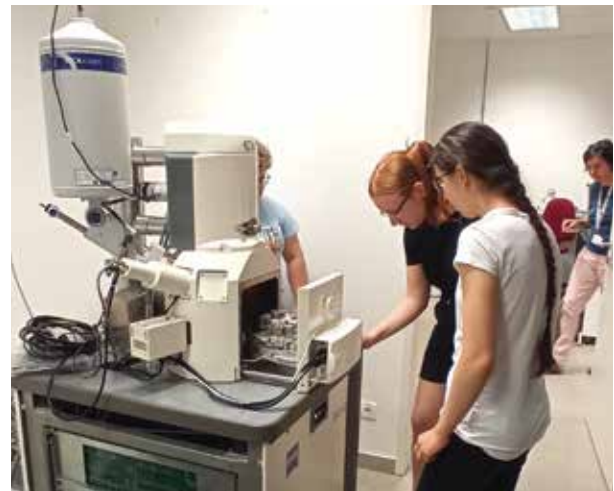
A szinterelt kerámiatestek mikroszerkezetét pásztázó elektronmikroszkóp (SEM) segítségével vizsgáltuk (4. ábra), amely során mágneses lencsékkel irányított vékony elektronnyalábbal pásztázza végig a minták töretfelületét. Az elektronsugár és a minta kölcsönhatásából származó szekunder és a visszaszórt elekt-



**3. ábra:** Sűrűségmérés Archimédész módszerrel

ronokat detektálja a készülék. A visszaszórt elektronok detektálásakor az elektronok rugalmasan és rugalmatlanul szóródnak a mintán és azok mennyisége függ a vizsgált anyagok tömegszámától, ezért következtethetünk a minták kémiai összetételére. A szekunder elektronok a minta felületéről, annak morfológiájáról adtak információt, mivel elsősorban gyengén kötött, külső héjon lévő elektronokat detektálunk ebben az esetben.

Röntgendiffrakciós vizsgálattal (XRD), a kerámiák kristályos szerkezetét és összetételét vizsgáltuk (5. ábra). A röntgensugár a kristályos anyagok rácsszerkezetén szóródik/diffraktál meghatározott szögben, amelyet detektálva meghatározható az anyagra jellemző szerkezet. XRD-vel meghatároztuk a kerámia mintáink főbb kristályszerkezeti jellemzőit, illetve a szinterelés során végbe menő fázisátalakulásokat. A mintákról  $2\theta = 10-60^\circ$  közötti tartományban készítettük a felvételt.

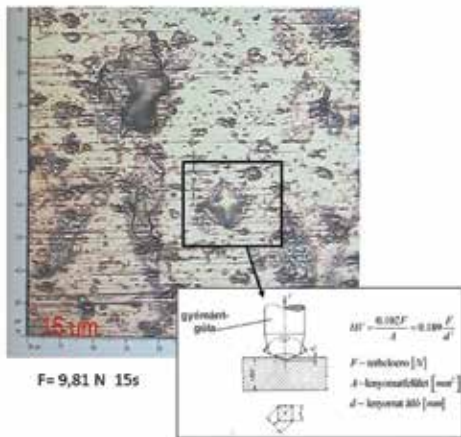


**4. ábra:** Elektronmikroszkópos mérés



5. ábra: Röntgen diffrakciós mérés

A kerámia testek mechanikai tulajdonságait műszerezett keménységmérő segítségével határoztuk meg, amely megadja a kerámia testek Vickers mikrokeménységét illetve azok merevségét, vagyis a rugalmassági modulusát. A vizsgálat során a műszer egy gyémánt gúlát nyom a mintafelületre 500 mN erővel, majd a visszamaradt lenyomat nagyságából következtetünk a minta keménységére (6. ábra). A testek merevségét a műszer a minta deformációjából számítja ki.

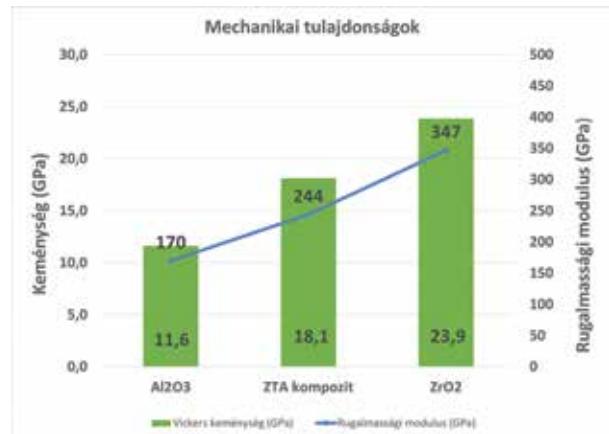


6. ábra: Keménységmérés

## Eredmények

1. A kerámiák porozitása és mechanikai tulajdonságainak összefüggése

A testek mechanikai jellemzőinek és porozitásuk eredményeit az alábbi, 7. ábra mutatja.



7. ábra: Vizsgált kerámiák mechanikai jellemzői és porozitásuk

Megfigyelhető, hogy 1300°C-on történő szinterelést követően az Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> kerámia porozitása 14% volt, a három vizsgált kerámia minta közül a legmagasabb. A relatív magas porozitásnak köszönhetően a test Vickers keménysége (11,6 GPa) bizonyult a legalacsonyabbnak, ezzel szemben ugyanakkor a merevsége, vagyis a rugalmassági modulusa csupán 170 GPa-t ért el.

A szinterelt ZrO<sub>2</sub> kerámia test porozitása rendkívül alacsony lett, megközelítette a 0%-ot vagyis relatív sűrűsége 99,88 % volt. A jó-



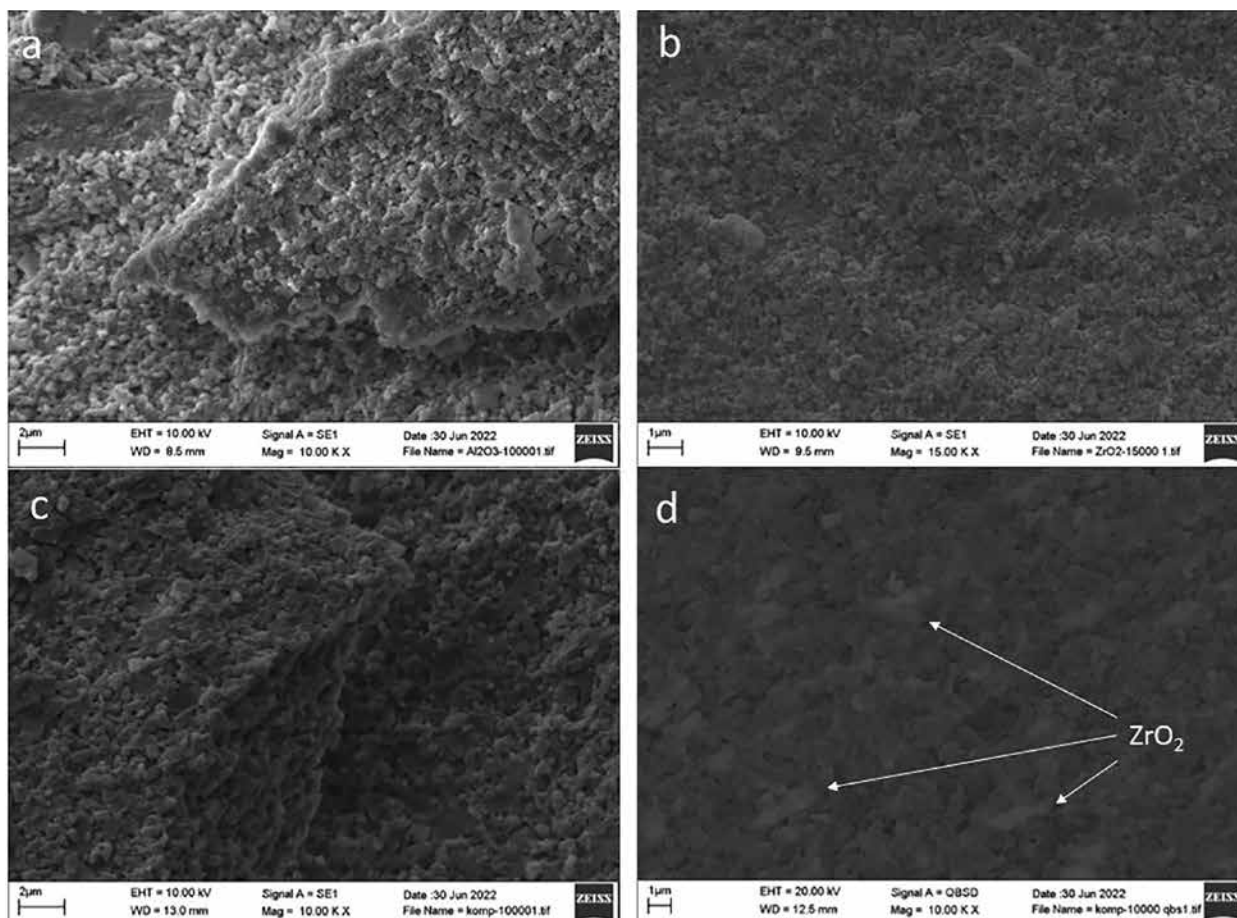
formán teljesen pórusmentes  $ZrO_2$  kerámia Vickers keménysége 23,9 GPa volt, elérve a legnagyobb értéket a többi, általunk vizsgált kerámiához képest. Ugyanakkor a merevségi adatokat figyelembe véve elmondható, hogy a  $ZrO_2$  a teljesen tömör szerkezetének köszönhetően a legridegebb lett, mivel a rugalmassági modulus ennél a mintánál volt a legmagasabb (347 GPa), dupla akkora, mint az  $Al_2O_3$  testé.

Látható, hogy a ZTA kompozit esetén a mért mechanikai tulajdonságok - az elvártak szerint- a két másik monolit kerámia értékei közötti értékeket mutattak. A ZTA kompozit Vickers keménysége 18,1 GPa, míg a rugalmassági modulusa 244 GPa volt. A test porozitása a  $ZrO_2$  -hoz képest viszonylag magas, ám az  $Al_2O_3$ -hoz képest a felére csökkent, 8,1% értéket mutatott. Összehasonlítva tehát a kompozit esetén egy kemény, mégis viszonylag „rugalmas”-nak mondható kerámiát kaphatunk. Ezek tükrében feltételezzük, hogy 20m/m%  $ZrO_2$ -tartalom elősegíti az  $Al_2O_3$

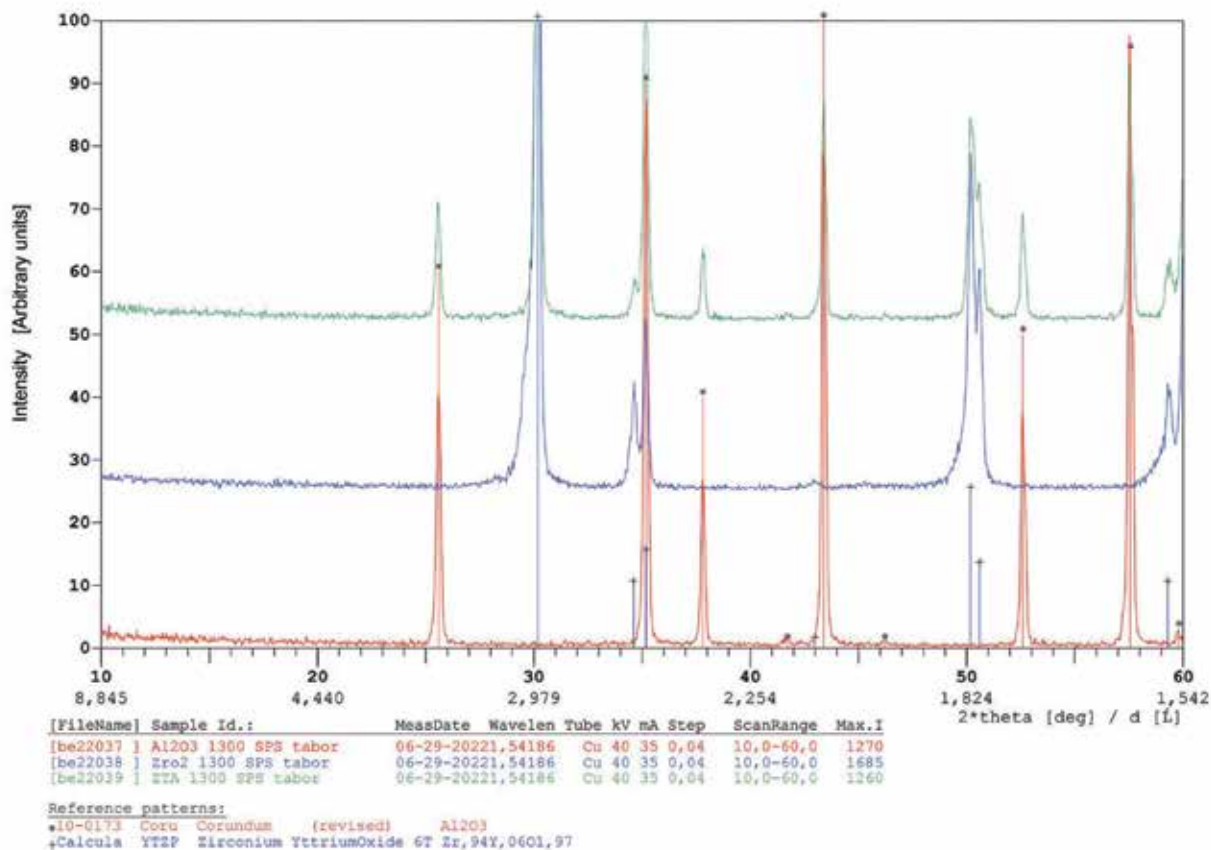
szintereléskor a testek erőteljesebb tömörödését, vagyis a porozitás csökkenését, ami a minta keménységének javulását eredményezi. Ugyanakkor a test merevsége nem éri el 100%-ban  $ZrO_2$  tartalmú minta merevségét, egy kevésbé rideg kerámia jött létre a ZTA kompozit esetén.

## 2. Kerámia testek mikroszerkezeti jellemzői

A testek mechanikai tulajdonságait a mikroszerkezeti vizsgálatok alátámasztják. A három kerámia, SEM által készített töretfelületi képei a 8. ábrán láthatók. Az  $Al_2O_3$  (8.a. ábra) felületén jól kivehetővé váltak a pólusok, és azok mennyisége, míg a  $ZrO_2$  (8.b. ábra) mikroszerkezete jóformán teljesen pórusmentes. A ZTA kompozit felületéről készített felvételen (8.c. ábra) kevés, de még jól látható pórus figyelhető meg. A ZTA kompozitról, készített visszaszórt elektronokat detektáló felvételen (8.d. ábra) kivehetőek voltak az  $Al_2O_3$  mátrixban található, homogén eloszlású  $ZrO_2$  szemcsék.



**8. ábra:** SEM szekunder detektorral történő felvétele a)  $Al_2O_3$ ; b)  $ZrO_2$ ; c) ZTA kompozit; d) ZTA kompozit visszaszórt elektron detektorral történő felvétele



9. ábra:  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (piros),  $\text{ZrO}_2$  (kék), ZTA (zöld) kerámia testek XRD vizsgálatának eredménye

A XRD mérés során kapott felvételek összehasonlító ábrája a 9. ábrán látható. A 100%  $\text{Al}_2\text{O}_3$  -ot és 100%  $\text{ZrO}_2$  -ot tartalmazó minták esetén, a két összetevőre jellemző diffrakciós csúcsok figyelhetők meg. Az  $\text{Al}_2\text{O}_3$  esetén korundot ( $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ) detektáltunk, míg a  $\text{ZrO}_2$  tartalmú minta esetében tetragonális kristályszerkezetű  $\text{ZrO}_2$ -ot kaptunk. A ZTA kompozit fázisösszetételét tekintve a minta mindkét, az  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  -ot és t- $\text{ZrO}_2$ -ra jellemző diffrakciós csúcsokat tartalmaz, tükrözve a kompozit összetételét.

## Konklúzió

A vizsgálati eredményekből elmondható, hogy a tiszta, 100%  $\text{Al}_2\text{O}_3$  -ot tartalmazó minta 1300°C-on történő SPS szinterelése porózus testet eredményezett, így a várthoz képest egy kevésbé kemény, ugyanakkor kevésbé rideg kerámiát kaptunk. Ezzel szemben a  $\text{ZrO}_2$  hőkezelése nagyon alacsony

porozitásának köszönhetően kemény, de éppen ezért merev, rideg kerámiát eredményezett. Levonva a következtetést, mindkét monolit kerámiának megvannak a maga jó tulajdonságai, amelyek magukkal hozzák a kevésbé előnyös jellemzőket is. Mindezzel szemben, a ZTA kompozit kerámia esetében megfelelően tömör, kemény, ugyanakkor kevésbé rideg kerámia hozható létre, ezzel egyfajta arany középutat képviselve az  $\text{Al}_2\text{O}_3$ - $\text{ZrO}_2$  kerámiák között.

## Hivatkozási lista

- [1] Szépvölgyi János: /Korszerű szerkezeti kerámiák, Magyar Tudomány,2002/7 890
- [2] Szépvölgyi János, Bevezetés az anyagtudományba III. BME egyetemi jegyzet 2010
- [3] <https://www.iqsdirectory.com/articles/ceramic/zirconia-ceramics-and-zta.html>

# Tüzelőanyag-cellák

**Dudás Zita Mónika**

Újpesti Könyves Kálmán Gimnázium, Budapest

**Nagygyörgy Zsóka**

Bolyai Tehetség Gondozó Gimnázium, Zenta

## Témavezetők:

**Dr. Szijjártó Gábor** tudományos munkatárs

**Dr. Asmaa Selim** tudományos munkatárs

## Kutatócsoport:

Megújuló Energia Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

A TTK Megújuló Energia Kutatócsoportjának egyik főbb kutatási területe a tiszta energiatermelés, melynek kapcsán a csoport tüzelőanyag-cellákkal foglalkozik. A kutató tábor ideje alatt nekünk is ezekkel a tüzelőanyag-cellákkal volt szerencsénk megismerkedni. Témavezetőink, Dr. Asmaa Selim és Dr. Szijjártó Gábor elmagyarázták nekünk a berendezés működését, illetve megmutatták a cellák elkészítését, amelyben mi is részt vehettünk. Ezután különböző mérési programokat futtattunk le, amelyek segítségével az

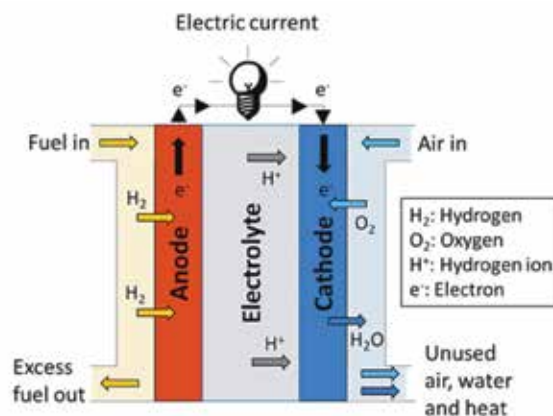
adott tüzelőanyag-cella U-I karakterisztikájáról, teljesítményéről, illetve várható élettartamáról kaphattunk pontosabb képet. A következőkben a táborban tanultakat mutatjuk be. Jó olvasást kívánunk!

## Mik azok a tüzelőanyag-cellák?

A tüzelőanyag-cellák olyan berendezések, amelyek elektromos áram termelésére alkalmasak. Többféle tüzelőanyag – cella is létezik [1-3], mi a munkánk során a PEM – cellákkal



1. ábra: Témavezetőinkkel



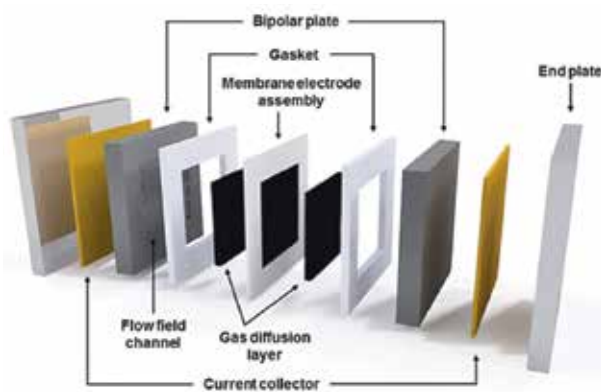
2. ábra: A tüzelőanyag – cella működése



(Proton Exchange Membrane Fuel Cell , vagyis Protoncsere membrános cella) foglalkoztunk. A cellán belül egy térben elválasztott redoxi-reakció játszódik le, mely során kifelé hasznosítható elektromos energia(áram) termelődik. A berendezés csupán hidrogén és oxigén gázt igényel, melyből az elektromos áram mellett víz keletkezik, melynek egy részét a rendszer felhasználhatja. A cella belseje (ahol a kémiai reakció lejátszódik) egy anód és egy katód térből áll, amelyeket a Nafiont tartalmazó protoncsereelő membrán választ el. A hidrogéngázt az anód térbe vezetve, katalizátor segítségével eloxidáljuk, mely során hidrogén-ion és elektron keletkezik. A protoncsereelő membrán segítségével a hidrogén-ion (azaz a proton) átdiffundál a katód térbe. Az elektron pedig a membránt megkerülve (mivel az az elektronokat nem ereszt át) egy elektromos kábelen át, az áramkörbe csatlakoztatva keresztül jut a katód térbe. A cella katód oldalára kívülről oxigén gáz érkezik, amely a katalizátor segítségével reakcióba lép a hidrogén ionokkal és az elektronokkal. A reakció során víz keletkezik, melynek egy részét a Nafion membrán visszaforgatja, mivel a működéséhez szüksége van a nedvességre. A többi víz pedig távozik a rendszerből.

### A tüzelőanyag-cellák felépítése:

A tüzelőanyag-cellákat a gyakorlati alkalmazások során cellakötegekként használják, amik több sorba csatlakoztatott cellából állnak. Maguk a cellák rétegesen épülnek fel. Középen található a protoncsereelő membrán, amelyet két oldalról közrefognak az anód és katód oldali gázdifúziós elektródok (GDE), amelyek gyakorlatilag porózus szerkezetű, elektromosan jól vezető szénpapírok, katalizátor réteggel ellátva. A protoncsereelő membrán a két gázdifúziós elektróddal együtt az ún. membránelektrod-együttes (membrane electrode assembly - MEA). A MEÁt kívülről közrefogja egy-egy bipoláris lemez (bipolar plate - BPP). Ezekbe különféle geometriájú áramlási csatornák vannak belemarva, amelyek biztosítják



3. ábra: A tüzelőanyag – cella felépítése [2]

a gázok áramlását és az aktív MEA felületen való egyenletes eloszlását. A lemezeket az áramszedők követik, amelyeknek a BPP felőli oldala vezető, hátoldala pedig elektromosan szigetelő, hogy az összehúzó csavarokon keresztül ne alakulhasson ki rövidzárlat. A cellát végül két fém véglap fogja össze.



4. ábra: 4 MEÁs tüzelőanyag – cellaköteg

### Membrán készítése

A tüzelőanyag-cellák működése nagyban függ a protoncsere membrán összetételétől és tulajdonságaitól. Kutatásunk során egy Nafion tartalmú membránt készítettünk el. Az 5 tömegszázalékos Nafion oldatból először elpárologtattuk az oldószert, majd a teljesen kiszáradt és összedarabolt Nafion gyantát feloldottuk dimetil – acetamidban. Az így kapott

oldatot szétterítettük egy Petri – csészében majd 24 órán keresztül 80 °C – on és 4 órán keresztül 120 °C – on hőkezeltük. Amikor kihűlt, a membránhoz vizet adtunk és így levált a Petri – csésze aljáról és oldaláról. Mikrométer segítségével több helyen is megmértük a vastagságát, majd a kapott eredményeknek kiszámoltuk az átlagát és megkaptuk, hogy a membránunk átlagos vastagsága 48,4  $\mu\text{m}$ .



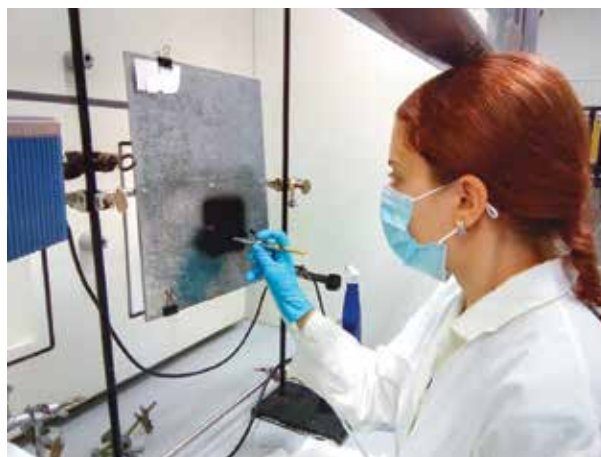
**5. ábra:** Membrán vastagságának mérése

### Gázdifúziós elektród

Az elektród elkészítéséhez szénpapírra és katalizátorra volt szükségünk. A katalizátorból tintát készítettünk, melynek összetevői:

- 46,88 mg katalizátor (QuinTech C-40-PT)
- 0,5 mL Nafion oldat (DuPont, 5 m/m%)
- 0,5 mL izopropanol (Molar Chem)

A katalizátort, a Nafion oldatot és az izopropanolt mágneses keverővel 30 percen keresztül intenzíven kevertettük. Az így kapott katalizátor tintát festékszóró pisztoly segítségével egyenletesen felhordtuk az 50 cm<sup>2</sup>-es szénpapír felszínére. Az így elkészült gázdifúziós elektródot (GDE) 30 percen keresztül 80 °C-on, majd ezt követően 30 percig



**6. ábra:** Készül a gázdifúziós elektród

125 °C-on szárítottuk. Összesen 2 db elektródot állítottunk elő (katód és anód). Mindkét elektród Pt tartalma 0,15 mg/cm<sup>2</sup> volt.

Amikor az elektródok elkészültek, a membránt közéjük helyeztük és 3 percen keresztül 120 °C – on, 4,5 t nyomással préseltük. Így kaptuk meg a membránelektrod együttesünket (MEA).

A membránelektrod együttes elkészítése után összeszereltük a tüzelőanyag-cellát. A cellát nyomatékulccsal húztuk össze 5 Nm forgatónyomatékkal.



**7. ábra:** Tüzelőanyag-cella összeszerelése

## Mérések és tesztlécek

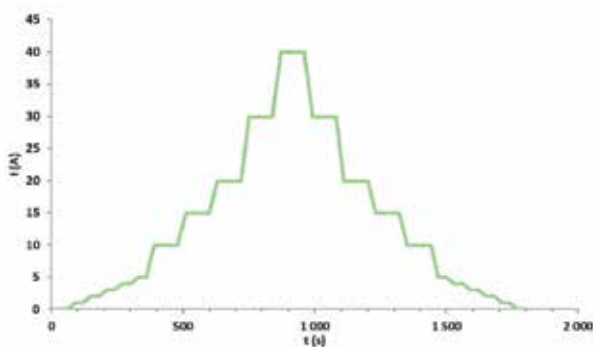
A saját tüzelőanyag – cellánk elkészítése után különböző mérési programokat futtatunk le a teszter berendezésen, hogy pontosabb képet kapjunk magának a cellának a működéséről, U-I karakterisztikájáról, illetve várható élettartamáról. A mérések során a New European Driving Cycle (NEDC) beállításait és lépéseit követtük, amely egy tüzelőanyag-cellák vizsgálatához használt, EU szabvány szerinti protokoll [2].

Cella hőmérséklet: 80 °C

Katód nyomás: 2,3 bar

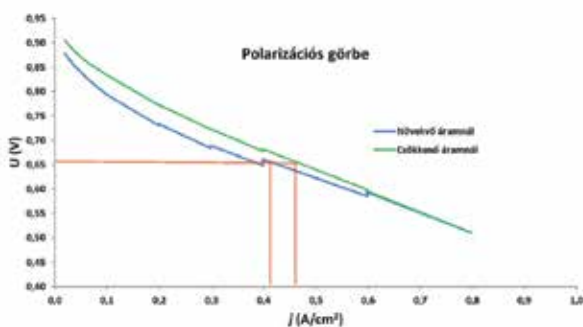
Anód nyomás: 2,5 bar

Áramlási sebesség: 200 mL/perc



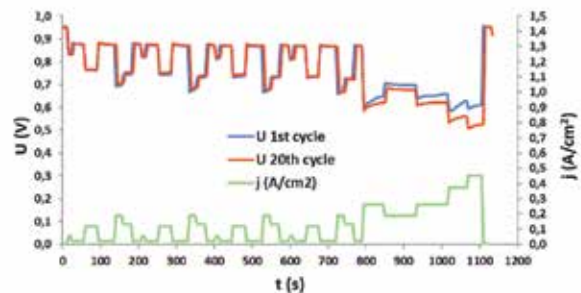
**8. ábra:** Áram változtatása az idő függvényében, polarizációs görbe felvétele során (NEDC protokoll szerint)

A fenti mérési körülmények alapján beállítottuk az áramerősségeket és a következő polarizációs görbéket kaptuk:



**9. ábra:** Polarizációs görbe, vagy más néven U-I karakterisztika (NEDC protokoll szerint)

A görbe alapján meghatároztuk a 650 mV - hoz tartozó áramerősségek átlagát és ez alapján beállítottuk a világoszölddel jelölt áram programot (FC-DLC teszt; Dynamic Load Cycle), amelyben a legnagyobb áramsűrűség az előbb említett átlag érték. A protokollban a 650 mV azért ilyen kitüntetett mennyiség, mert ez az érték tekinthető a tüzelőanyag-cellák átlagos működési feszültségének.

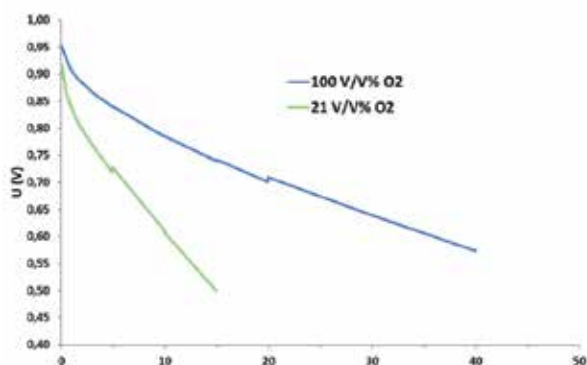


**10. ábra:** Membránelektrod-együttes élettartamának vizsgálata: FC-DLC teszt; az 1. és a 20. ciklus összehasonlítása

Az FC-DLC teszt olyan mérés, amelyben a fentebb látható áramprogramot folyamatosan ötvenszer egymás után lefuttatják (16,4 óra) és az 50 ciklus előtti és utáni polarizációs görbét hasonlítják össze. A görbék áramsűrűség-maximumához tartozó feszültségek különbségéből a MEA degradációja számolható, tehát a MEA élettartamáról kapunk információt. 50 DLC ciklus elméletileg 550 km vezetés (kb. egy tankolással megtehető út) hatásával egyenlő. Az idő rövidege miatt mi 20 DLC ciklust futtattunk le és magát az első ciklust hasonlítottuk össze az utolsóval; a különbség, főként a nagyobb áramsűrűségek esetén, így is érzékelhető.

Végül megvizsgáltuk, hogy hogyan változik a polarizációs görbe, ha a katód gáz oxigéntartalmát változtatjuk, vagyis tiszta oxigén helyett levegőt használunk:





**11. ábra:** Katód gáz oxigéntartalmának hatása a polarizációs görbe lefutására (tiszta oxigén vs. levegő)

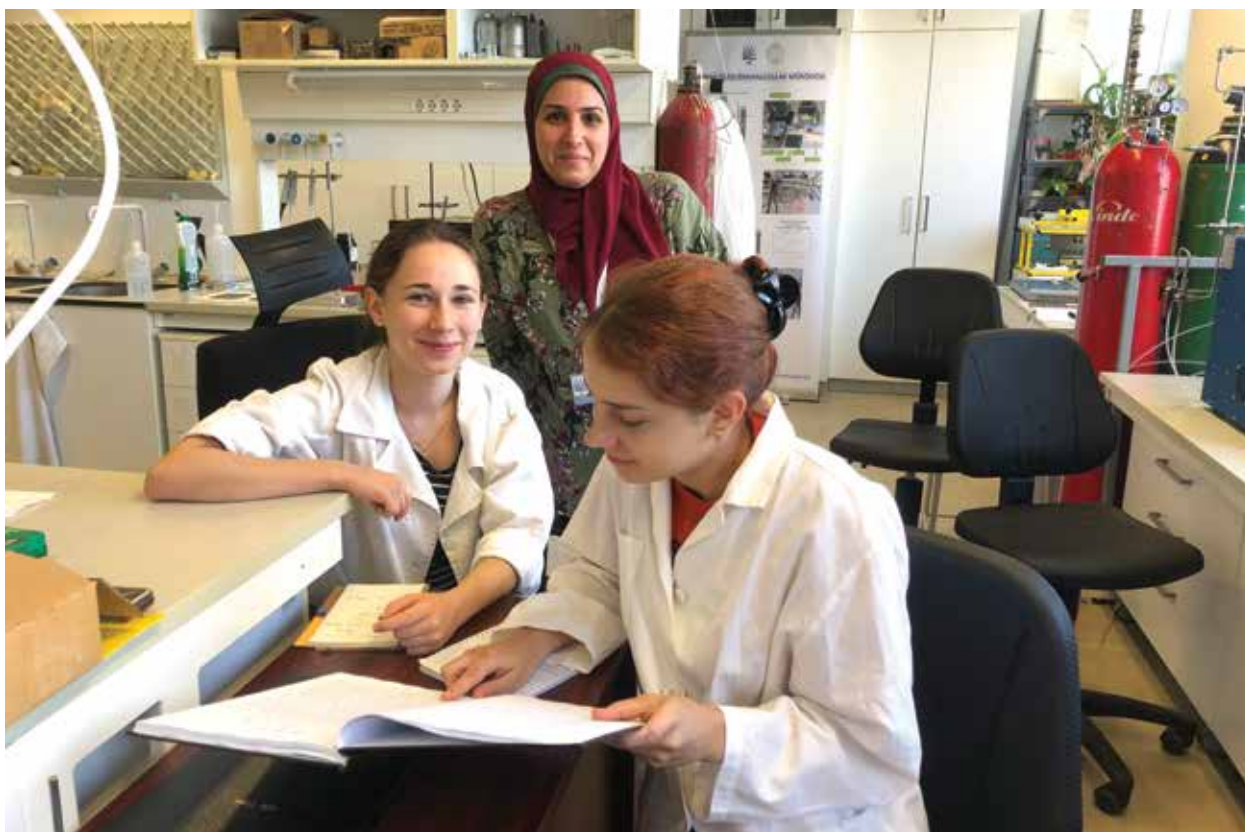
### Cella - fejlesztés lehetséges irányai

A tüzelőanyag-cellák szélesebb körű felhasználásának fontos eleme a gazdaságosság és a magas hatásfok. Ennek következtében a cella fejlesztésnek számos iránya létezik, például a költséghatékonyabb membrán fejlesztés, melynek következtében elhanyagolható lenne a Nafion alkalmazása. Továbbá az elektród fejlesztésben fontos a rendszer jobb szén-monoxid tűrése, a magasabb élettartam végett [3]. (A kőolaj és

földgáz-származékokból előállított, úgynevezett barna hidrogén, óhatatlanul is tartalmaz szén-monoxidot, mely lemergezi az elektród felületén található vékony katalizátor réteg aktív helyeit.) A bipoláris lemezek terén pedig egy minél hatékonyabb áramlási geometria kifejlesztése a cél, amely a cella belsejében végbemenő kémiai folyamatok hatásfokán segítene. Ezen felül a cellák élettartamának a növelése is szükséges ahhoz, hogy ezek a nagyszerű berendezések széleskörűen felhasználhatóak legyenek.

Felhasznált irodalom

- [1] Gajdos Gergely: Irányított felületi reakciók alkalmazása tüzelőanyag-cellák elektro-katalizátorainak fejlesztéséhez, Diplomamunka, Budapest, 2016
- [2] Danielle Verde Nolasco: Optimization of membrane electrode assembly for PEM fuel cells, Diplomamunka, Budapest, 2021
- [3] Gubán Dorottya CO-toleráns anód oldali elektro-katalizátorok előállítása polimer elektrolit membrános tüzelőanyag-elemekhez, PhD értekezés, Budapest, 2015



# Kristályoktól a molekuláig, avagy a Röntgen-sugárzás, mint atomi vonalzó

**Fodor Virág**

Lovassy László Gimnázium, Veszprém

**Balog Gergely**

Bethlen Gábor Református Gimnázium,  
Hódmezővásárhely

**Békei Botond**

ELTE Apáczai Csere János Gyakorló Gimnázium,  
Budapest

**Témavezetők:**

**Dr. May Nóra** tudományos főmunkatárs,

**Dr. Holczbauer Tamás** tudományos munkatárs

**Kutatócsoport:**

Kémiai Kristallográfia Kutató Laboratórium, Szerkezetkutató Központ

Az 2022-ben megrendezett „AKI Kíváncsi Kémikus” kutatótáborban, a „Kristályoktól a molekuláig, avagy a Röntgen-sugárzás, mint atomi vonalzó” témában dolgozhattunk témavezetőink, May Nóra, és Holczbauer Tamás segítségével. Ezúton is köszönjük nekik a tanítást és munkánk irányítását.

## Elméleti összefoglaló

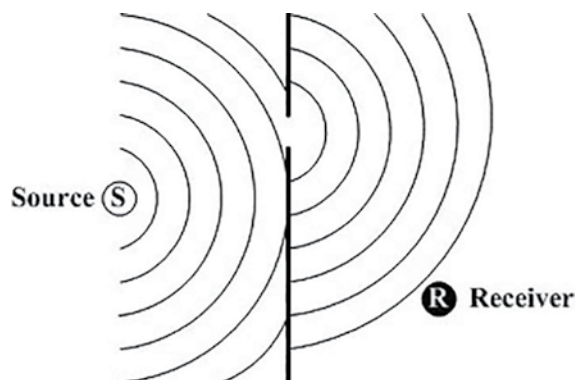
A kutatók egyre kisebb dolgokat tudtak megvizsgálni az egyre inkább fejlődő mikroszkópokkal, például az elektronmikroszkóppal a vírusokat, a pásztázó alagútmikroszkóppal már az atomokat is meg lehetett figyelni kicsiben. De volt egy elméleti határ, aminél kisebb dolgokat nem láthattunk: a látható fény hullámhossza. Csak szemléltetésként a látható fény hullámhossza kb.  $10^{-7}$ m, míg a molekulák átlagosan  $10^{-10}$ m nagyságúak. Ezért, ha a molekulák szerkezetét szeretnénk látni, akkor használunk egykristály diffraktométert, amivel még az atomok közötti kötéseket is látjuk. De az eljárás során használt röntgensugárzást nem lehet lencsével fókuszálni, vagyis az optikai mikroszkópoknál használt eljárás nem működik, ezért más módszereket kell alkalmaznunk.

## Alapjelenségek

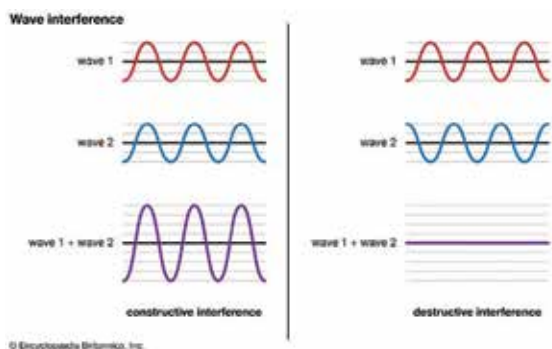
Először is nézzünk meg pár alapfogalmat, hogy megértsük a röntgendiffraktométer működését.

Diffrakció: Amikor a hullámok a hullámhosszukhoz képest kis résen haladnak át, akkor a rés árnyékolt területére is behatolnak, a résből látszódnak kiindulni (1. ábra)

Interferencia: Akkor történik, ha különböző hullámok találkoznak, melyeknek fáziskülönbsége állandó. Az azonos fázisú hullámok erősítik, a különböző fázisúak gyengítik egymást. (2. ábra) Fényérzékeny lemezzel fogjuk



1. ábra: Diffrakció

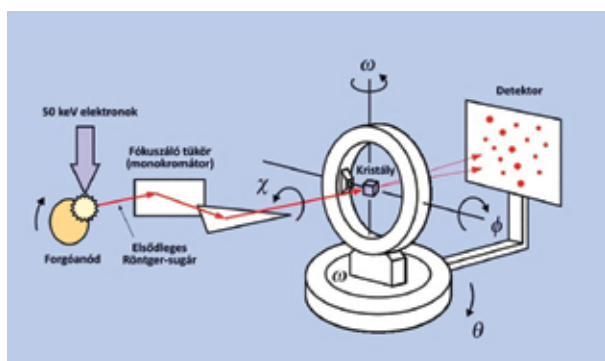


2. ábra: Interferencia

fel ezeket a diffraktométerben. Az erősítésnél fekete foltok, a gyengítésnél fehér foltok lesznek láthatóak. Ezek elhelyezkedéséből határozzuk meg az elemi cellát matematikai műveletekkel.

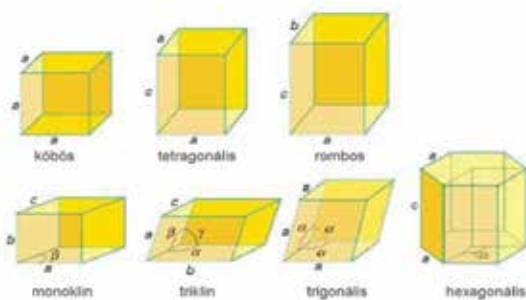
### Egykristály röntgendiffraktométer

A röntgendiffraktométerbe először egy egykristályt kell helyezni (kb.  $10^{18}$  cellából álló kristály), és mivel a kristály részként viselkedik a röntgensugárzás számára, ezért a fentebb említett jelenségek fognak lezajlani. A gép fontos része az úgynevezett „beam stop” (direkt sugár fogó), megállítja azt a direkt röntgensugárzást, amely a fényérzékeny lemezre diffrakció nélkül menne, aminek az árnyéka egy fehér folt lesz a kép közepén. A kristályt a tér minden irányába elforgatjuk a goniométerrel, hogy minél több reflexiót gyűjtsünk. (3. ábra: [www2.sci.u-szeged.hu/inorg/MOMA/ch07s03.html](http://www2.sci.u-szeged.hu/inorg/MOMA/ch07s03.html))



3. ábra: Egykristály röntgendiffraktométer felépítése

A fentebb említett módon felvett diffrakciós képekből tudjuk visszafejteni az elektron sűrűségeket a rács szerkezetének és az elemi cella paramétereinek meghatározásához. Az elemi cella a kristály azon legkisebb egysége amelyből a tér három tengelyének irányába való eltolással az egész kristályt fel lehet építeni. Az aszimmetrikus egység az elemi cella azon része, amiből szimmetriaműveletekkel az elemi cella felépíthető (tengelyes tükrözés, középpontos tükrözés, forgatás, forgatásos tükrözés, valamint ezek eltolással történő kombinációi: csavartengely és csúszósík). Majd meghatározzuk a kristály tércsoportját, amely hét kristályrendszerbe sorolható: (4. ábra: [www.feis.unesp.br/Home/departamentos/engenhariamecanica/maprotec/6aula\\_cme.pdf](http://www.feis.unesp.br/Home/departamentos/engenhariamecanica/maprotec/6aula_cme.pdf))



4. ábra: Kristályrendszerek

Összességében a szimmetriaelemek kombinációja a 7 kristályrendszerben 32 kristályosztályt ad és ebbe sorolható be a 230 tércsoport.

Az így meghatározott elektronsűrűségek maximumaiba atomokat helyezünk, és így már jól értelmezhető képet kapunk a kristályt felépítő molekula térszerkezetéről.

### Kísérleti rész, munka menete

Egykristály előállítása, kiválasztása

Az egykristály elkészítéséhez a vizsgálandó anyagot, ha por formában érkezik, ha nem, fel kell oldani, és ki kell kristályosítani. A por kis mennyiségét többféle, olyan oldószer-





**5. ábra:** Ampulla mikroszkóp alatt

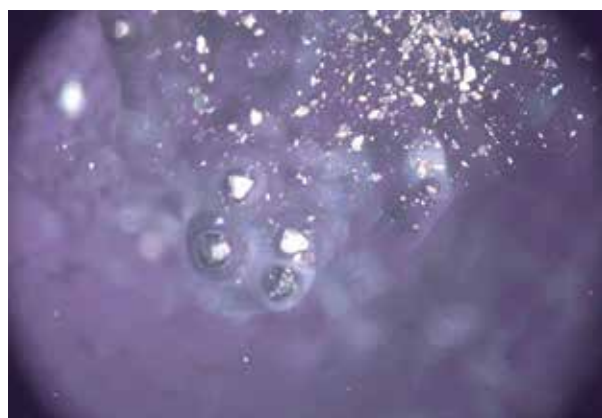
ben oldjuk fel, amiben közepesen jól oldódik az anyag, nem párolog túl gyorsan, hogy ne zavarja a kristály növekedését, de ne tartson több hétig a kristályosítás. Ezeket az ampullákat, amelyekbe az oldatok kerültek, normális körülmények között 3-5 naponta, esetünkben naponta ellenőriztük, hogy vannak e benne egykristályok. Ezt úgy ellenőriztük, hogy mikroszkóp alatt (5. ábra) vizsgáltuk, hogy voltak e benne legalább 0,1mm-es, legfeljebb 0,5mm-es kristályok, amelyek polárszűrő alatt egységes képet mutatnak. A polárszűrő olyan lencsepár, amely két egymásra merőleges polárszűrőt tartalmaz, így nem engedi át a fényt. Az alsó lencse csak egy adott síkban polarizált fényt enged át, aminek a szögét a két lencse közé helyezett kristály elforgatja, így a második lencsén átjut a fény (6. ábra).



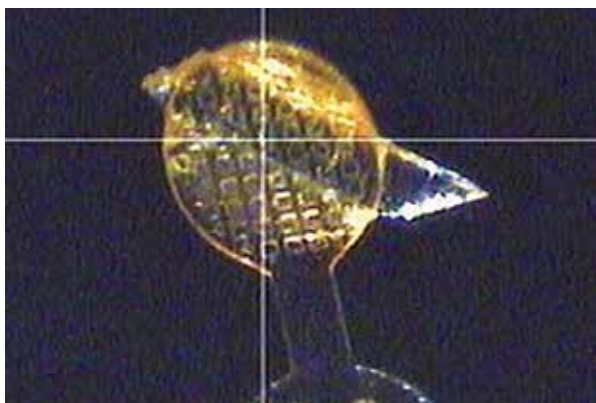
**6 a. ábra:** Polárszűrő nélkül

Ha az egész kristály egyformán engedi át a fényt, akkor a polárszűrő forgatásakor egyszerre fénylik fel az egész kristály. Amikor találtunk egy ilyen kristályt, elkülönítettük a többi kristálytól, hogy ki tudjuk venni az ampullából. Ezt pár darab rézdróttal oldottuk meg. A kiválasztott kristályokat tárgylemezre raktuk, egy olajcsepre, hogy ne oldódjon fel, és ne veszítsük el a kristályt. Itt minden oldalt megvizsgáltuk és a túl nagy kristályokból levágtunk darabokat. Majd ezeket raktuk a diffraktométerbe.

A kristályosításhoz étert, illetve acetont oldószert használtunk, bár az acetonhoz kellett ezen kívül vizet és szén-tetrakloridot is adni, hogy az anyag feloldódjon. Az elkészült ampullákat lezártuk, lyukakat ütöttünk a tetejükbe, hogy lassan tudjon párologni az oldószer, és ott hagytuk estére. Másnap reggel az éteres ampullában találtunk egy megfelelőnek tűnő kristályt, ezért kiszedtük, és miután a második ellenőrzésnél is megfelelőnek bizonyult, felraktuk egy kristálytartó hurokra (7. ábra), és elvittük a diffraktométerhez. A kristálytartót egy mágnes segítségével kell a goniométerre helyezni, amihez nagyon közel van a kristály hűtését biztosító cső valamint a direkt sugárfogó. Sajnos az első két kiválasztott kristály így a felhelyezés során elveszett, mert a kristálytartó vége hozzáért ezekhez az eszközökhöz. A mérés nem bizonyult pontosnak, ezért másnap ismét kerestünk



**6 b. ábra:** Polárszűrő hatása

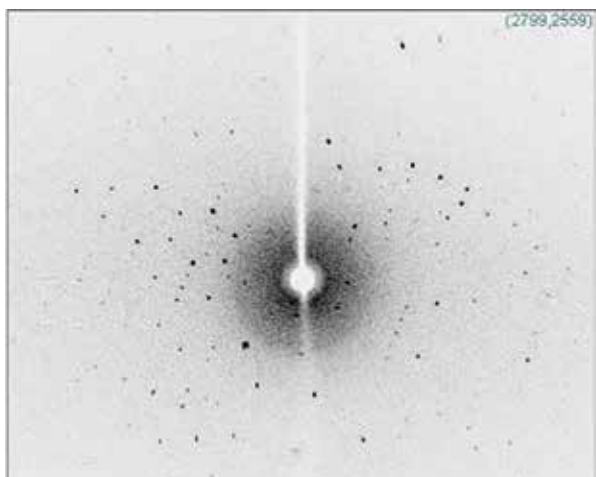


**7. ábra:** Kristály a goniométerfejen

kristályokat, és találtunk egyet, ami megfelelőnek tűnt a második oldatban, amelyet sikerült is ráhelyezni a műszerre, és elindítottuk a mérést.

### Mérés az egykristály-röntgendiffraktométerrel

A mérés elindítás után a program először csak körbeméri a kristályt, néhány frame-t gyűjt be, hogy az alapján meghatározza az elemi cellát és a neki megfelelő mérési stratégiát (forgatási szögek, besugárzási idő/kép). Egy ilyen szórás kép akkor jó, ha minél nagyobb szórás intenzitást mutatnak a pontjaink, illetve nincsenek nagy és elmosódott foltok, mert azok rontják a mérés pontosságát és minőségét. (8. ábra) A megfelelő mérési stratégia megtalálása után elindítjuk a mérést, ami több órát is igénybe vesz. Mi mindkét nap délután indítottuk el, egész éjszaka hagytuk futni, és csak másnap délelőtt állítottuk le. Ezután értékeltük ki a felvett diffrakciós képeket.



**8. ábra:** Szórás kép

### Eredmények kiértékelése

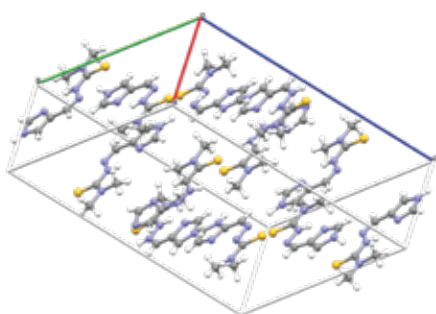
Miután a műszerünkkel begyűjtöttük a kellő mennyiségű szórás képet, ezeket értelmeznünk, kiértékelnünk kellett. Ehhez a Crystal-Clear nevű programot használtuk, ami elvégezte a szórás képek integrálását (a pontok intenzitását vizsgálta), illetve figyelembe véve az abszorpciós korrekciót is, megadta az elemi cella pontosított adatait és a kristályrendszert. Ezt követően a cellán belüli molekulák elhelyezkedését kellett megoldanunk. A cella méreteiből kiszámoltuk a cella térfogatát, amit ha elosztunk  $17\text{Å}^3$ -mel (ami körül-belül egy nem hidrogén atom térfogata) akkor megkapjuk a nehézatomok számát. Ha ezt elosztjuk a vizsgált molekulában lévő nem-hidrogén atomok számával (13) akkor megkaptuk a molekulák számát a cellában. Ezt követően több számítógépes programmal (SIR, Olex) tovább finomítottuk a vizsgált molekula szerkezetét. Végül a kész szerkezetben egy Platon nevű program segítségével további szimmetriákat keresve meghatároztuk az aszimmetrikus egységet is. Ezt követően már csak az eredményeink ábrázolása volt hátra.

### Eredmények

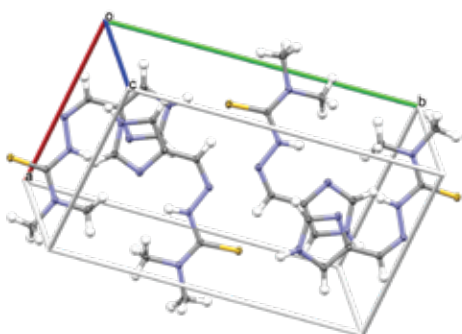
A kristály szerkezete

A kristály szerkezetének feltérképezéséhez az egyik legfontosabb az elemi cella meghatározása. Az imidazol-tioszemikarbazonból tudtunk számunkra alkalmas kristályokat növesztetni. Két mérést készítettünk, melynek során két eltérő oldószert alkalmaztunk. Az elsőnél dietil-étert, ami alacsony forráspontja miatt nagyon gyorsan párolog, így kristályaink is hamar keletkeztek, azonban nem volt elég idejük a molekuláknak nagyon szabályos szerkezetbe rendeződni. Az elemi cellánál látszik, hogy se az oldalak, se a szögek nem egyeznek meg, amit triklin kristályrendszernek nevezünk. (Elemi cella adatai:  $a=9,94\text{Å}$ ;  $b=14,15\text{Å}$ ;  $c=20,99\text{Å}$ ;  $\alpha=106,33^\circ$ ;  $\beta=99,81^\circ$ ;  $\gamma=90,06^\circ$ ) (9. ábra) A cellában találunk egy

inverziós központot. Ezt a tércsoportot  $P-1$ -nek nevezzük. Ennek megfelelően az aszimmetrikus egységben csak 6 molekula van, ami fele az elemi cellában található 12 molekulának. A másik mérésünknél az oldószer a  $\text{CCl}_4$  volt, míg az oldat acetont és vizet is tartalmazott. Ez lassabban kristályosodott, így több ideje volt szabályos kristályrendszert alkotnia. Ezt bizonyítja az előbbinél szabályosabb monoklin kristályrendszer, ahol két szög is  $90^\circ$ . (Elemi cella adatai:  $a=7,36 \text{ \AA}$ ;  $b=14,15 \text{ \AA}$ ;  $c=9,44 \text{ \AA}$ ;  $\alpha=90,0^\circ$ ;  $\beta=108,43^\circ$ ;  $\gamma=90,0^\circ$ ) (10. ábra) Az elemi cellájában is kevesebb, 4 molekula van.

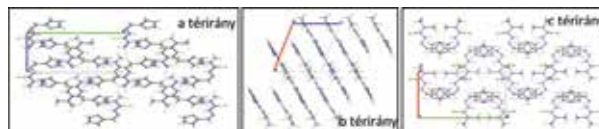


**9. ábra:** Az 1. minta elemi cellája (oldószer: dietil-éter);



**10. ábra:** A 2. minta elemi cellája (oldószer:  $\text{CCl}_4$ /aceton/víz)

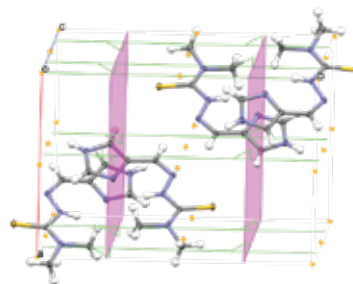
Az elemi cellákat egymás mellé helyezve megkapjuk a kristályt, amit a program segítségével könnyen ábrázolhatunk a tér három irányából. (11. ábra) Az első mintánál két irányból is látszanak a síkok, de a sokkal szabálytalanabb a molekulák elrendeződése, mint a második mintánkban, ahol nagyon szépen látszódik a szabályossága a kristálynak és hogy a 'b' irányból megmaradtak a síkok, míg az elrendeződés a másik két irányban megváltozott.



**11. ábra:** 2. minta kristályszerkezete a tér három irányából

## Szimmetriák az elemi cellán belül

A cellában különböző szimmetriaelemeket is találunk. Ezt egy külön ábrán is szemléltettük. (12. ábra)



**12. ábra:** Az 1. minta elemi cellája (oldószer: dietil-éter);

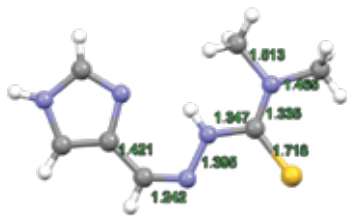
A lila lapok a csúszósíkok, amik mentén a molekulákat tükrözve és eltolva kapjuk meg a szomszédos molekulákat. A zöld vonalak a csavartengelyek, melyek mentén forgatással és eltolással kapjuk a következő szimmetrikus molekulát. Illetve a cella középpontjában, és az oldallapjai középpontjában inverzióközpontok is találhatóak. Ebből következik, hogy a tércsoportja  $P2_1/c$  – ez az elnevezés a  $180^\circ$ -os csavartengelyt és az erre merőleges csúszósíkokat foglalja magába – így az aszimmetrikus egység csak egyetlen molekula.

## Molekulák szerkezete

Az egykristályröntgendiffrakcióval nemcsak a molekulák kristályon belüli elrendeződését tudhatjuk meg, hanem maguknak a molekuláknak a konstitúcióját és konformációját is, amiből tudunk következtetni a molekula kémiai és fizikai tulajdonságaira. Megfigyelhettük, hogy oldószer-től függetlenül mindkét mintánkban azonos lett a konformáció, vagyis mindkét esetben síkszerkezetet vett fel a molekula. Az eltérés ezen molekulák elrendeződésében mutatkozott meg.

Mivel a röntgendiffraktométerrel elektronsűrűséget tudunk mérni, amivel az atomok hely-



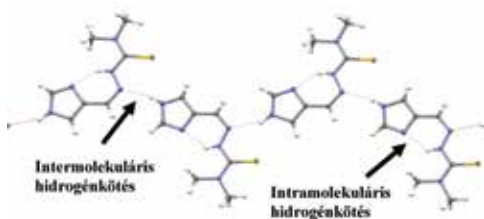


**13. ábra:** Az imidazol-tioszemikarbazon molekulájának kötéstávolságai Å egységben

zetét határozzuk meg, így könnyen tudunk például kötéstávolságot is számolni. (13. ábra) Az ábrán látszik, hogy a kettős kötés helyén kisebb a távolság. Illetve látható, hogy a kén nagyobb elektronfelhője miatt, hiába kétszeres a C=S kötés, mégis ez adja a legnagyobb kötéstávolságot.

### Molekulák közti kölcsönhatások

A konformáción kívül a molekulák közötti kölcsönhatást is érdemes megvizsgálni. Ez esetben a két minta mindkét esetben nagyon hasonló tulajdonságokat mutatott a síkon belül. Mind intramolekuláris (molekulán belüli), mind intermolekuláris (molekulák közötti) hidrogénkötések alakultak ki az imidazolgyűrű nirtogénje és a lánc hidrogénje között. (14. ábra) A molekulán belüli hidrogénkötés biztosítja az összes molekula azonos konformációját, hogy az az egyes kötések mentén nem fordul el.



**14. ábra:** Imidazol-tioszemikarbazon molekulái közti kölcsönhatások

### Összefoglalás

Az egy hetes kutatómunkánk célja az volt, hogy vagy az imidazol-tioszemikarbazon, vagy a drotaverin molekuláját kikristályosítsuk, és a kristály szerkezetét egykristály-röntgen-diffraktométerrel meghatározzuk. Az imidazol-tioszemikarbazon molekulával sikerült

mindez. Két mintát mértünk meg, melyből két különböző szerkezetet kaptunk. Megállapíthatjuk, hogy a lassabban kristályosodó oldószer alkalmasabb volt, mert a kristályoknak több idejük volt szabályosan elrendeződni. Míg a túl gyorsan párolgó oldószer esetén sokkal szabálytalanabb szerkezetet kaptunk, a túl lassan párolgó oldószerből pedig nem lettek megfelelő kristályok melyekkel méréseket végezhetünk volna. A szerkezetet meghatározva és azt elemezve megtudtuk a molekula konformációját, a kristály aszimmetrikus egységét, elemi celláját és a molekulák közötti kölcsönhatásokat is. Ezek segíthetnek következtetéseket levonni a kristály kémiai és fizikai tulajdonságairól is. Ez visszafele tud nagyon hasznos lenni, mikor megvannak a kristály kívánt tulajdonságai, és az egész folyamatot visszafele végrehajtva előre tervezetten jutunk el a megfelelő kristályos anyagig.

### Köszönetnyilvánítás

Végül, de nem utolsó sorban szeretnénk köszönetet mondani témavezetőinknek, May Nórának és Holczbauer Tamásnak, áldozatos munkájukért és türelmükért, ahogy egy héten keresztül vezették és segítették munkánkat. Köszönjük a sok tudást, amit átadtak nekünk, és, hogy bepillantást engedtek munkájukba. Köszönjük a tábor szervezőinek, Nagyné Bereczki Laurának és Keszler Annának a szervezést, és hogy részt vehettünk a táborban, és egy felejthetetlen hetet tölthettünk a TTK-ban.



**15. ábra:** Csoportképünk :)

# Polimer gélek kémiája, kísérletek gumimacival és társaival

**Gönczi Álmos**

ELTE Radnóti Miklós Gyakorló Általános Iskola  
és Gyakorló Gimnázium, Budapest

**Haklits Hadasa Hajnalka**

Eötvös József Gimnázium, Tata

**Hegyí Patrícia**

Révai Miklós Gimnázium, Győr

## **Témavezetők:**

**Dr. Verebélyi Klára** tudományos munkatárs

**Bajcsi Áron** PhD hallgató

## **Kutatócsoport:**

Polimerkémiail Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet



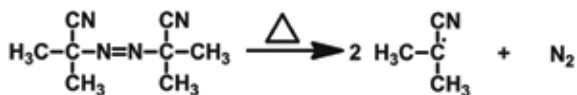
Az AKI Kíváncsi Kémikus Kutatótábor kerekein belül egy hétig dolgozhattunk a Természettudományi Kutatóközpontban a „Polimer gélek kémiája, kísérletek gumimacival és társaival” című témán.

A polimerláncok olyan óriásmolekulák, amelyek egyszerű molekulák, ún. monomerek kovalens kötéssel történő összekapcsolódásával jönnek létre. Ismert példa erre a sztirol polimerizációja. Az így képződő polisztirol (PS) ételhordók és az egyszer használatos poharak alapanyagaként használja a műanyagipar. Másik ismert monomer a metil-metakrilát. Polimerje a poli(metil-metakrilát) (PMMA), a plexi alapanyaga. Hangsúlyozandó, hogy — ellentétben azzal, ahogy a köztudatban elterjedt — a polimerek nem egyenlők a műanyagokkal. A műanyagok előállításához az alapanyagként funkcionáló polimereken kívül különböző adalékokra is szükség van, amelyekkel kedvezőbbé tehetjük az anyagok tulajdonságait a felhasználástól függően.

A polimereket sokféleképpen csoportosíthatjuk. Primer szerkezet szerint lehetnek homopolimerek, amelyek egyféle monomer-

ből épülnek fel, illetve kopolimerek, amelyek többféle monomerből állnak. Térszerkezetüket tekintve lehetnek lineárisak (oldallánc nélküli hosszú molekulák), elágazó láncúak (oldalláncokat tartalmazó molekulák) és térhálósak (gombolyagszerű molekulák, amelyben a láncok keresztkötő molekulákkal vannak összekötve). A polimereket előállíthatjuk poliaddícióval, ahol a monomerek a többszörös kötések addíciós reakciói révén kapcsolódnak össze, valamint polikondenzációval, ahol kis molekulák — általában víz vagy metanol — kilépésével egyesülnek a monomerek. A poliaddíciós reakciók két fajtájával, az ionos (kationos, anionos) és a gyökös polimerizációval kísérleteink, méréseink során behatóbban is foglalkoztunk.

A polimerizáció több lépésből áll, amelyből az első az iniciálás. Az iniciálás során az iniciátor molekulák, amelyek gyököket vagy ionokat biztosítanak a reakció elindulásához, reagálnak a monomerrel. A gyökös iniciálás történhet termikusan és UV-fénnyel is. Termikus iniciátorra példa az azobiszizobutironitril (AIBN), amivel mi is dolgoztunk (1.ábra).



**1. ábra:** Az AIBN termikus bomlása

Az iniciátorból felszabaduló gyökök reagálnak egy-egy monomer kettős kötésével egyre hosszabb gyököket, azaz növekvő polimer láncokat létrehozva. A folyamat utolsó szakasza a lánczáródás. Ennek során lánczáró molekulák kapcsolódnak a láncok végére, ezzel megáll a polimer növekedése.

Az egész heti munkánk fő célja az volt, hogy megismerkedjünk a polimerekkel, illetve tulajdonságaikkal. A kísérletekkor különböző anyagokkal dolgoztunk, melyet témavezetőnk először bemutatott, jellemzett. Szám szerint 16 polimert készítettünk.

Első lépésként megbeszéltük a kísérletek menetét. Miután a megfelelő elméleti tudást elsajátítottuk, kiszámoltuk a bemérési mennyiségeket. A legtöbb esetben különböző arányban alkalmaztuk a különféle monomereket, így nagyon fontos volt, hogy pontosan számoljunk. Mindezek után nekiláttunk a gyakorlati munkának. Mivel a polimerizációt sok minden befolyásolhatja (pl. oxigén, víz, vagy egyéb szennyezők jelenléte), ezért a jobb eredmény érdekében meg kell tisztítani a komponenseket. A tetrahidrofuránt (THF)  $\text{LiAlH}_4$ -ről desztillálva vízmentesítettük, az AIBN-t pedig átkristályosítással tisztítottuk. A monomereket már tisztított formában kaptuk meg. Legtöbb esetben így nézett ki a polimerizáció és annak előkészülete: Miután minden komponenst előkészítettünk, nekiláthattunk a beméréseknek. A reagenseket halmazállapottól függően mértük be a megfelelő mértékegységekben. Többek között használtuk az analitikai mérleget, illetve az automata pipetával is megismerkedhettünk. Felemelő érzés volt 10 milligrammokat bemérni. A szükséges komponenseket egy ismert tömegű 20 mL-es mintartókba mértük, amit ezt követően

$\text{N}_2$  gázzal oxigénmentesítettünk, majd egy megfelelő méretű alumíniumból készült fűtőblokkban melegítettük  $65^\circ\text{C}$ -on. Ezen a hőmérsékleten az alkalmazott iniciátor, az AIBN, elbomlott, ezzel létrehozva molekulánként két gyököt. Pár óra alatt el is készültek a térhálók, amiket össze is tudtunk hasonlítani különféle tulajdonságuk alapján.

Az alábbiakban felsoroljuk, hogy milyen polimerizációs kísérleteket végeztünk:

1. Első körben azt vizsgáltuk meg, hogy mi a különbség a lineáris és a térhálós polisztirol között. Előbbinél csak iniciátort és monomert tartalmazott a reakcióelegy, míg utóbbinál keresztkötőként divinilbenzolt (DVB) is alkalmaztunk.

2. A második kísérletsorozatban azt tanulmányoztuk, hogy milyen tulajdonságú térhálókat kapunk, ha különböző molekulatömegű makromonomert (mPEGMA, olyan makromolekula, amely polimerizációra képes kettős kötéssel rendelkezni) kopolimerizálunk metil-metakriláttal tetrahidrofurán oldószerben. Keresztkötőnek EGDMA-t, iniciátornak pedig AIBN-t alkalmaztunk.

3. A második számú kísérletsorozatot megismételtük oly módon, hogy nem alkalmaztunk oldószert. Ezt azért tehettük meg, mert az iniciátor és a képződő polimer oldódott a monomerben. Ezt nevezzük tömbpolimerizációnak.

4. A negyedik kísérletsorozatban a felhasznált monomerek különböztek, most

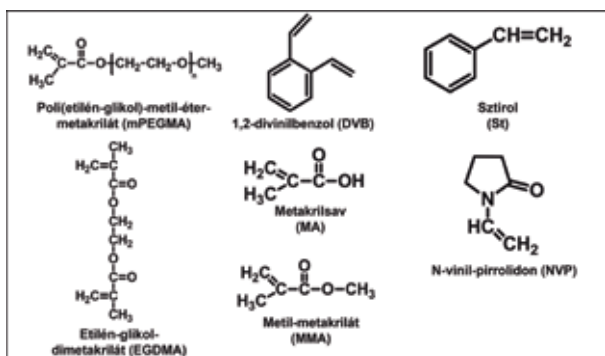
N-vinilpirrolidont (NVP), metakrilsavat (MA) illetve sztírolt (St) polimerizáltunk, a makromonomert, iniciátort és a keresztkötőt nem változtattuk meg. Ezzel azt vizsgáltuk, hogy monomer szerkezetétől függően milyen térhálókat kapunk.

5. Megvizsgáltunk, hogy a makromonomer (mPEGMA) és a monomer (MMA) egymáshoz viszonyított aránya hogyan befolyásolja a térháló szerkezetét. A következő sorozatban az egymáshoz viszonyított arányt is változtattuk.

6. Legvégül pedig megtapasztalhattuk az UV-iniciált polimerizáció sajátosságait.

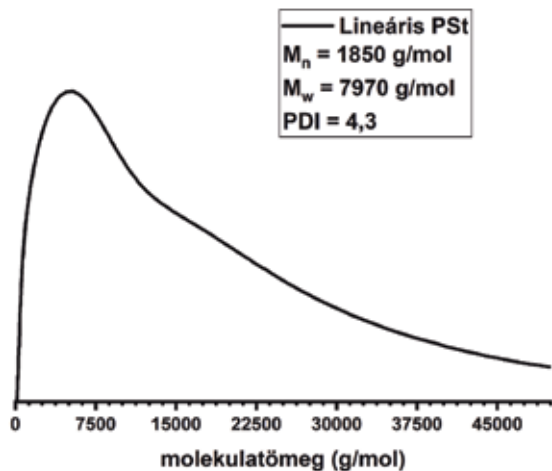


Az általunk felhasznált komponensek szerkezeti ábrái a 2. ábrán láthatóak:



2. ábra: Felhasznált anyagok

A tábor ideje alatt nem csak polimerizáltunk, hanem jellemeztük is a kapott térhálót duzzadásvizsgálattal és gél permeációs kromatográfiával (GPC). Az első sorozatban láthattuk, hogy mi a különbség a lineáris és a térhálós polisztirol között. Azt tapasztaltuk, hogy a lineáris polimer feloldódott THF-ben, míg a térhálós polimer megduzzadt, az eredeti tömegének háromszorosára.



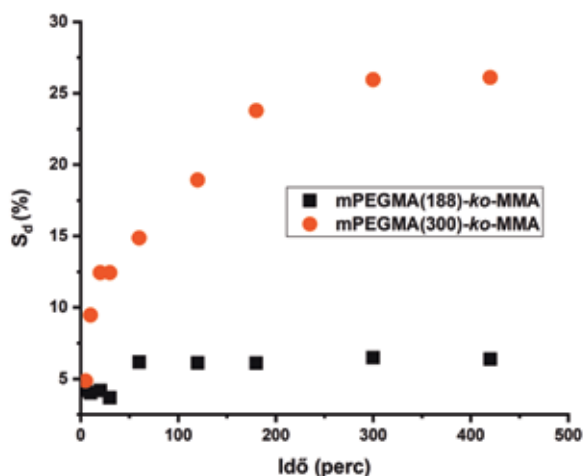
3. ábra: A lineáris polisztirol molekulatömegeloszlása

A lineáris polisztirol molekulatömeg-eloszlását GPC-vel (gélpermeációs kromatográfia) mértük meg (3. ábra). Az elkenődött csúcs mutatja, hogy az előállított polimert alkotó polimerláncok hosszai nagyon eltérőek voltak.

Ezután összehasonlítottuk a különböző lánc hosszúságú mPEGMA-val készült térhálókat. Munkánk során 188 g/mol, 300 g/mol és 500 g/mol-os molekulatömegű mPEGMA-val dolgoztunk. Mivel a nagyobb molekulatömeg hosszabb láncosszót jelent (egyre több etilén-glikol részt tartalmaz), így az mPEGMA lánc hosszának növelésével várhatóan egyre hidrofilebb lesz a végtermék. Ezt a második sorozatban szintetizált polimerek igazolták is. Már szemmel is látható volt a különbség a rugalmasságban. A lánc hossz növekedésével rugalmasabb lett a végtermék. Duzzadásvizsgálattal pedig megállapítottuk, hogy a hidrofil lánc hossz növekedésével a térháló jobban duzzadt vízben. Olyannyira, hogy a leghidrofilebb makromonomer, az 500 g/mol-os mPEGMA-val kopolimerizált térháló már az ötödik percben szétduzzadt, majd szétesett. A másik két térháló duzzadásáról készült grafikonon (4. ábra) az látható, hogy a 300 g/mol molekulatömegű mPEGMA-val kopolimerizált térháló duzzadási foka ötszöröse a 188 g/mol molekulatömegű mPEGMA-val kopolimerizált térháló duzzadási fokának. Valamint az is megállapítható, hogy 300 perc után áll be a duzzadási egyensúly a nagyobb molekulatömegű monomerral kopolimerizált térháló esetében. A duzzadási fokot az alábbi képlet alapján számoltuk ki:

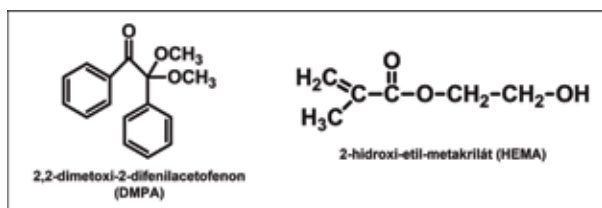
$$S_d = \frac{m_{duzzadt} - m_{szárított}}{m_{duzzadt}}$$

Ahol az  $m_{duzzadt}$  az oldószerben duzzadt térháló tömege, és az  $m_{szárított}$  pedig a száraz térháló tömege.



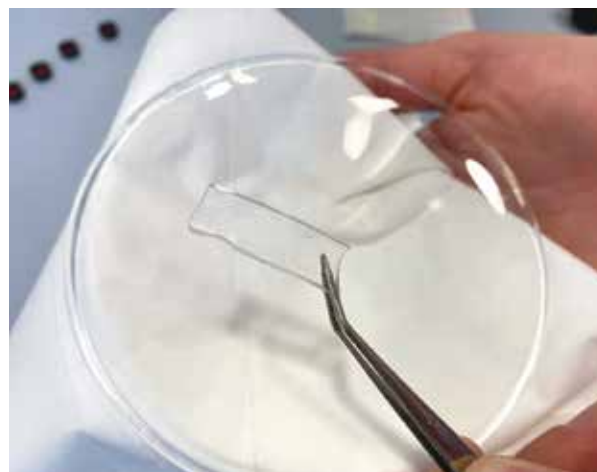
**4. ábra:** A kotérhálók duzzadása vízben

A harmadik sorozatban bemutatott tömbpolimerizáció nagyon sikeres volt, a konverzió mindhármunk esetében 90% felett volt, vagyis a bemért monomer tömegének 90%-a polimerré alakult. Ezesetben is meg tapasztalhattuk, hogy nőtt a rugalmasság a mPEGMA molekulatömeg növelésével. Végül az utolsó előtti napon egy optikailag teljesen tiszta térhálót állítottunk elő 2,2-dimetoxi-2-difenilacetofenon (DMPA) (5. ábra, bal oldali ábra) UV-iniciátorral. A két monomer a 2-hidroxi-etil-metakrilát (HEMA) (5. ábra, jobb oldali ábra) és az általunk már korábban használt EGDMA volt. Ahogy az 6. ábrán is látható, optikailag tiszta és kellően rugalmas lett a térhálónk, aminek nagyon sok felhasználási alkalmazása lehet.



**5. ábra:** AZ UV iniciált polimerizációhoz használt komponensek

Összeségében elmondhatjuk, hogy nagyon sokat tanultunk a tábor ideje alatt, meg tapasztalhattuk, hogy mi mindenre kell figyelnie egy kutatónak. Köszönjük szépen a téma-



**6. ábra:** Az UV-indukált polimerizáció során kapott áttetsző, rugalmas polimer

vezetőinknek, Klárinak és Áronnak mindazt, amit abban az egy hétben kaptunk tőlük. Valamint szeretnénk köszönetet mondani a tábor szervezőinek, hogy ilyen fantasztikus egy hetet tölthettünk együtt.



# Sejtmembrán-mimetikumok hatása antimikrobiális peptidek konformációjára

**Bakonyi Bálint**

ELTE Apáczai Csere János Gyakorlógimnázium és Kollégium

**Bercsi Laura**

Újpesti Könyves Kálmán Gimnázium

## Témavezetők:

**Dr. Szigyártó Imola Csilla** tudományos munkatárs

**Ujvári Kamilla** BSc hallgató

**Dr. Beke-Somfai Tamás** kutatócsoport vezető

## Kutatócsoport:

Biomolekuláris Önrendeződés Kutatócsoport, Anyag- és Környezetkémiai Intézet



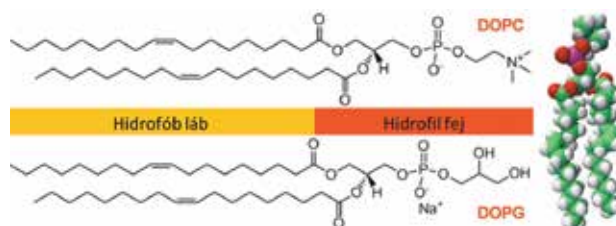
## Bevezetés

Ezen a nyáron abban a szerencsés helyzetben voltunk, hogy kipróbálhattuk milyen igazi fehérköpenyes kutatónak lenni, az Eötvös Loránd Kutatási Hálózat Természettudományi Kutatóközpont „AKI Kíváncsi Kémikus” nyári kutatótáborában. Köszönjük elsősorban témavezetőinknek és a Biomolekuláris Önrendeződés Kutatócsoportnak a lehetőséget és a boldog pillanatokat, valamint Wacha Andrásnak és Németh Csabának a SAXS és az IR mérési módszerek ismertetését, valamint Gaál Anikónak a liposzómagyártásról szóló ábrával való hozzájárulását.

A tábor egy hete alatt célunk az antimikrobiális peptidek és az általunk előállított sejtmembrán-mimetikumok kölcsönhatásának vizsgálata volt. A mi esetünkben ezek a mimetikumok liposzómák voltak, amelyek felépítése hasonló a sejtmembránhoz, és az összetételük változtatásával a bakteriális vagy emlős sejtmembránt modellezhetjük.

A liposzómák foszfolipidekből épülnek föl. Ezekben az „óriásmolekulákban” a zsírokhoz hasonlóan található egy glicerinnel, de azokkal ellentétben a három zsírsav molekula helyett

két zsírsav és egy foszfát csoport kapcsolódik a glicerinnel. A két zsírsav hidrofób, azaz vízutasító, míg a foszfát csoport hidrophil, víz-szerető. A felépítésüknek köszönhetően tehát kialakul két régió, a hosszú zsírsavláncok által alkotott hidrofób „láb”, és a foszforsavat tartalmazó hidrophil „fej” (1. ábra). Ezt a tulajdonságot nevezzük amfipatikusságnak.

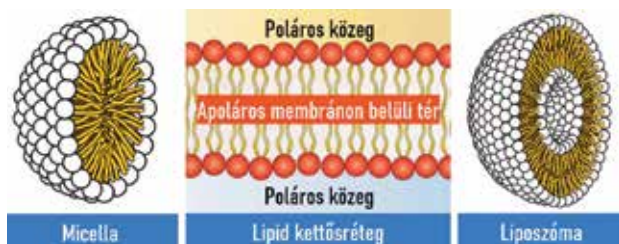


**1. ábra:** Foszfolipidek felépítése

A lipidek szerkezetüktől függően vizes oldatban különböző aggregátumokat alakítanak ki annak érdekében, hogy az adott oldószer taszító rész minél kisebb felületen érintkezzen vele. A legegyszerűbb aggregátum a micella amelynek belsejét a hidrofób lábak, külsejét pedig a hidrophil fejek alkotják (2. ábra). Kialakulhat továbbá kettős réteg, ha az apoláris rész átmérője közel azonos a poláris



fej átmérőjével, és ha ez a kettős réteg spontán egy gömb felületét alkotja, liposzómáról beszélünk (2. ábra). Míg a micella központját csak hidrofil lábak alkotják, és emiatt elég limitált a mérete, a liposzóma lényegében egy „gömbre felfektetett kettős réteg”, aminek belsejében egy vízzel (pufferrel) teli üreg van. A liposzómák a spontán önszerveződés következtében többrétegűek és változatos méretűek. Az élő sejtek sejtthártyája is egy lipid kettősréteg.



**2. ábra:** Lipidek rendeződése vizes közegben

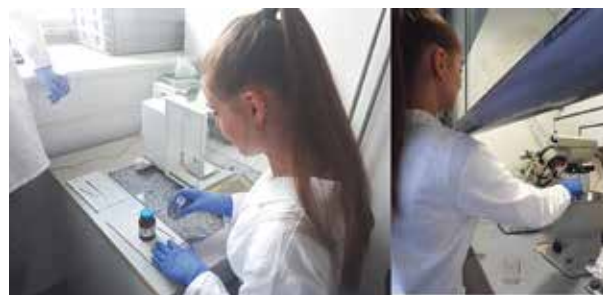
A különféle lipid-aggregátumok felhasználása változatos, pl. a micellákról sokat lehet hallani szépségipari reklámokban, a liposzómákat többek közt gyógyszerek célbajuttatására használják.

### A munkafolyamat

A sejtmembrán-mimetikumok kölcsönhatás vizsgálatához először elő kellett állítanunk a liposzómáinkat. Két mintát készítettünk DOPC (1,2-dioleoil-foszfátidilkolin) semleges töltésű és DOPG (1,2-dioleoil-foszfátidil-glicerin) negatív töltésű lipidekből a peptidekkel való interakcióik különbségeinek megfigyelésére (1. ábra). A két mintánkból az egyik 100% DOPC-t tartalmazott, ez legjobban az emlős sejtthártyájára jellemző, míg a másik 80% DOPC-t, és 20% DOPG-t tartalmazott, ez pedig a bakteriális sejtmembránokra jellemző.

A lipideket leggyakrabban liofilizálva, azaz fagyasztva szárítva szállítják az ellátócégek. Ennek egy hátránya, hogy idővel felszívják a levegő nedvességtartalmát és összetapadnak, elfolyósodnak nehezítve a pontos bemérést.

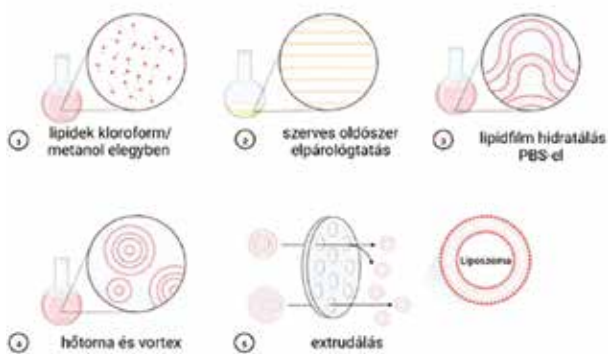
Először a foszfolipideket kimértük analitikai mérleg használatával (3A. ábra). Ez a mérleg olyan érzékeny, hogy a laborajtó nyitogatása is befolyásolja a mérés pontosságát. Az anyag higroszkóposága miatt fontos volt, hogy minél kevesebb ideig maradjanak nyitva a liofilizált lipideket tartalmazó üvegek, valamint alapszabály volt, hogy a már kivett anyagot soha nem tesszük vissza. Ezután a por állagú, kimért lipideket feloldottuk szerves oldószer: kloroform:metanol keverékében homogenizálásuk céljából. Ezt követően rotációs vákuumbepárlón elpárolgattuk az oldószert (3B. ábra). Annak érdekében, hogy biztosan elpárolgjon az összes oldószer, éjszakára beraktuk egy vákuum szárítószekrénybe. Így másnapra az edény alján kialakult egy lipidfilm.



**3. ábra:** Lipidfilm előállítása. Lipidek kimérése (A), szerves oldószer elpárolgtatása (B)

Másnap a lipidek hidratálása PBS (foszfát) pufferoldattal történt, de előtte a PBS-t átszűrtük egy steril fecskendőszűrőn (0.22  $\mu\text{m}$ ), megszabadulva az esetleges szennyezőktől (kivált sókristályok). A lipidek a vizes közegben jellemzően nagy kettős rétegeket hoznak létre.

A következő lépések a kettős rétegek felbontása, átrendezése és a liposzómák kialakítása volt. Ehhez a mintáinkat egy mágneses keverőn 41.5°C-os vízfürdőben kevertettük, majd vortex-el is homogenizáltuk, ezután folyékony nitrogénben lefagyasztottuk (4. ábra). A hőtornáztatást, azaz felmelegítést-lehűtést tízszer végeztük el, melynek során nagyméretű, többrétegű liposzómák jöttek létre.

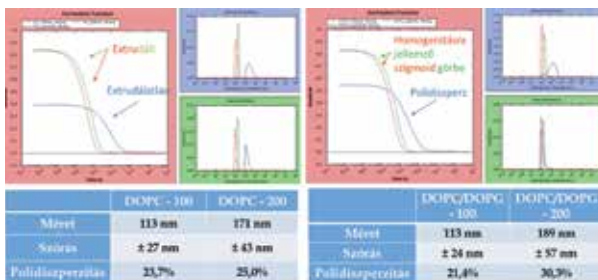


4. ábra: Liposzóma készítés fő lépései

Mi viszont egyrétegű, ún. unilamellás, kisebb méretű liposzómákat szerettünk volna előállítani a méréseinkhez. Ezért a következő lépésünk a minták extrudálása volt (4. ábra). Ilyekor sűrített nitrogén használatával egyre kisebb pórusméretű szűrőkön nyomtuk át a mintákat. Ennél a folyamatnál lehetnek a legnagyobbak a veszteségek, mivel a nitrogénáram erőssége a minta átnyomása után könnyen kifújja a mintát az edényből. Először 400, majd 200 és legvégül 100 nanométeres szűrőket használtunk. A szűrőmembránok olyan vékonyak voltak, hogy behelyezésüknél vigyázni kellett, hogy ne szakadjanak el. Az extrudálást mindenik minta esetében tízszer kellett ismételni, hogy a leghomogénebb eloszlású mintát kapjuk. Összesen négy mintát készítettünk, DOPC és DOPC/DOPG összetétellel, 200, illetve 100 nanométeres méretben.

## Mérési módszerek, eredmények Dinamikus fényszórás (DLS)

Első mérésünk a DLS, azaz dinamikus fényszórás mérés volt. Ez a technika a liposzómákról visszaverődő fény változó intenzitását méri. A liposzómák méretének változásával a fény visszaverődési mintázatai is változnak. A mérést elvégeztük mind a négy extrudált mintával, valamint az extrudátlan DOPC-vel és DOPC/DOPG-vel is (5. ábra).

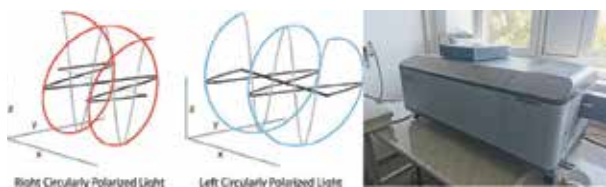


5. ábra: Liposzómák méreteloszlása

Az 5. ábrán az extrudátlan és extrudált minták közti méreteloszlási különbségek láthatók. Az extrudátlan mintáknak sokkal nagyobb a polidiszperzitásuk (kék görbe), mivel még sok többrétegű, nem azonos méretű liposzóma található az oldatban. A zöld és piros görbék a különböző pórusátmérőn extrudált minták méretét és méreteloszlást mutatják. Megállapíthatjuk, hogy az extrudálás sikeres volt, és az elvárásnak megfelelő liposzóma méreteket tudtunk előállítani.

## Cirkuláris dikroizmus spektroszkópia

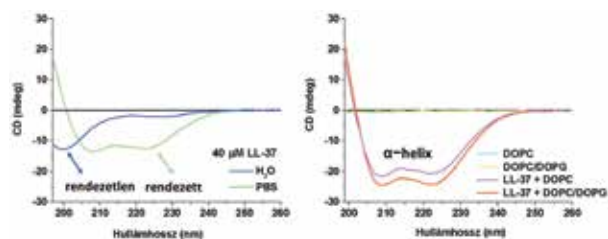
A cirkuláris dikroizmus spektroszkópia különböző polarizációjú fénysugarak elnyelődésének különbségét vizsgálja egy optikailag aktív anyagban. A fény polarizációja lehet lineáris vagy cirkuláris. Itt két cirkuláris, de ellenkező (balra és jobbra) polaritású fénysugárral vizsgáljuk a mintát (6. ábra). A biológiailag releváns molekulák döntő többsége optikailag aktív, ami azt jelenti, hogy az oldatukon keresztül bocsátott két polarizált fénysugár különböző mértékben nyelődik el. Optikailag aktívnak tekinthetünk egy molekulát, ha tartalmaz aszimmetrikus szénatomot.



**6. ábra:** Cirkuláris dikroizmus spektroszkópia

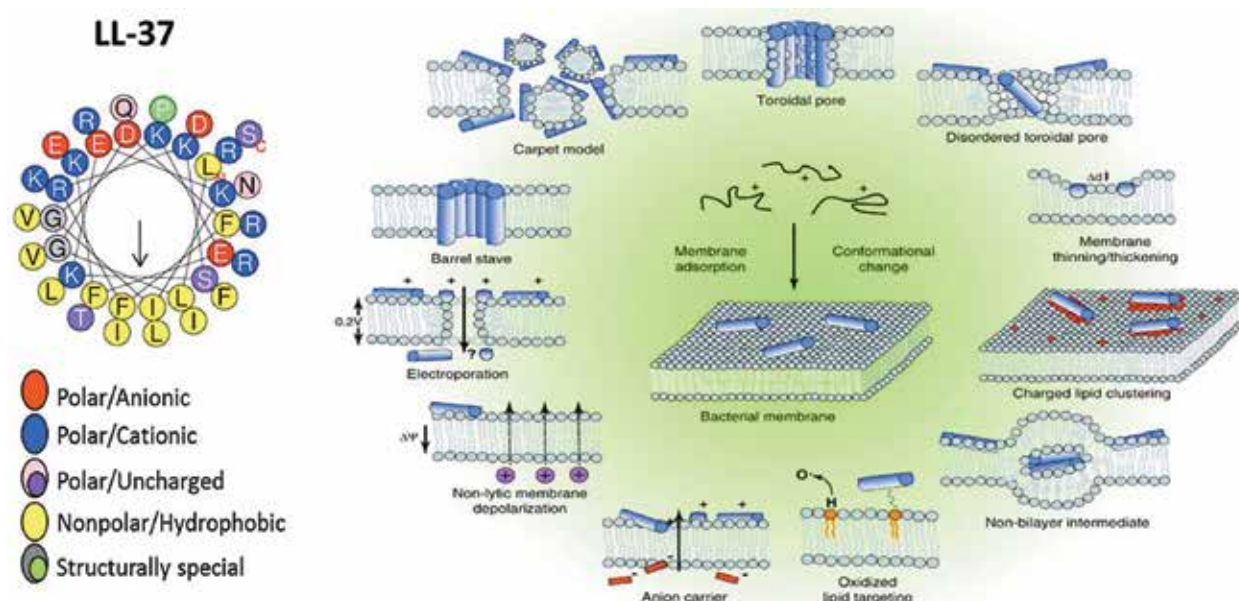
A kutatótábor során az LL-37 antimikrobiális peptid kölcsönhatását vizsgáltuk a különböző összetételű liposzómákkal. Az antimikrobiális peptid általában rövid, 15-20 aminosavból állnak, pozitív töltésűek, és az élő szervezetek a kórokozók elleni védekezés céljából használják. Az LL-37 egy 37 aminosav hosszú, +6 pozitív töltéssel rendelkező antimikrobiális peptid (7. ábra), mely epithelialis sejtekben, monocitákban, T-sejtekben található. Antimikrobiális hatásán kívül, ismeretes antivirális (a herpes simplex vírus ellen) tulajdonsága, valamint szerepe van a sebgyógyulásban és gátolja a biofilmek (baktériumok által képzett, immunsejteknek nehezen elérhető struktúrák) kialakulását. Az antimikrobiális peptidok különböző mechanizmus szerint képesek kölcsönhatni a sejtmembránnal (7. ábra), melynek során gyakran szerkezeti változást szenvednek.

A 8A. ábrán az LL-37 peptid vízben és foszfát pufferben felvett CD görbéje látható. A peptid vízben rendezetlen szerkezete a fosz-



**8. ábra:** LL-37 peptid CD spektrumai vizes közegben (A) és modellmembránok (B) jelenlétében

fát-ionok jelenlétében helikális szerkezetet vesz fel. A mérések után a megfelelő oldószer spektrumát mindig kivontuk a mintánk spektrumából. A jobb oldali ábrán (8B. ábra) láthatjuk, hogy a tiszta DOPC és DOPG liposzómák nem adnak jellegzetes jelet, gyakorlatilag a foszfát puffer jelével egyeznek meg. Az intenzívebb jelet akkor kapjuk, amikor a pozitív töltésű LL-37 peptidet a negatív töltésű lipidkomponenssel rendelkező DOPC/DOPG liposzómákhoz adjuk, ugyanis az ellenkező töltések vonzása egyben növeli a peptid rendezettségét. Amikor a semleges töltésű DOPC tartalmú liposzómákhoz keverjük a peptidet, úgyszintén megfigyelhető a rendeződés, csak kisebb mértékben. Tehát az LL-37 antimikrobiális peptid a semleges töltésű emlős sejtmembránt utánzó liposzómákhoz gyengébben kötődik, mint a bakteriális sejtmembránt modellező negatív töltésű lipidkomponenst is tartalmazó liposzómákhoz.



**7. ábra:** LL-37 peptid szerkezete és az antimikrobiális peptidok lehetséges membrán-asszociációs mechanizmusai

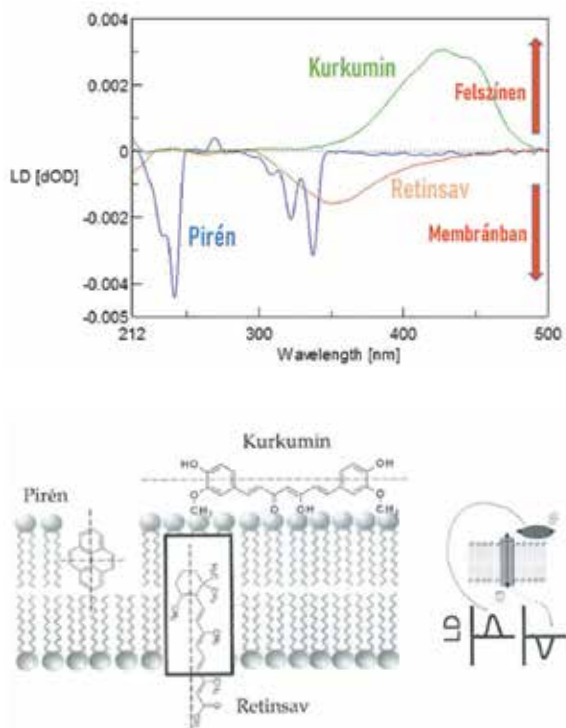


## Lineáris dikroizmus spektroszkópia

A lineáris dikroizmus spektroszkópia során a mintára két, egymásra merőleges síkban polarizált fénykomponenst bocsátanak és ezek elnyelése közti különbséget méri. A mintát egy kvarc Couette cellába helyezük, majd ebbe egy keverőmotorhoz kapcsolt kvarcrudat helyezünk. A mérés során a rudat néhány ezer percenkénti fordulatszámmal pörgetjük, ezáltal a részecskék orientálódnak és így a különböző vizsgált molekuláknak a membránhoz való elhelyezkedését tudjuk mérni. Ha a molekula a membrán tetején helyezkedik el, pozitív jelet ad, míg a membránba beleülő vegyületek negatív LD jelet eredményeznek. Három vegyületet vizsgáltunk, melyeket LD próbamolekuláknak (referencia molekuláknak) is neveznek, ugyanis gyakran használják őket a membránhoz kötött, vagy a felszínen elhelyezkedő egyéb komponensek orientációjának meghatározására. Megállapítottuk, hogy a kurkumin (zöld spektrum) a felszínen helyezkedik el, a retinsav (rózsaszín spektrum) a membránban, míg a pirén (kék spektrum) adott szögben, szintén a membránban helyezkedik el (8. ábra).

## Összefoglalás

A kutatótábor során első lépésben különböző összetételű liposzómákat állítottunk elő, majd vizsgáltuk az LL-37 antimikrobiális peptid, valamint három kismolekula kötődését a liposzómákhoz. Munkánk során megismerkedhettünk számos technikával, mint például a cirkuláris és lineáris dikroizmus spektroszkópiával, a dinamikus fényszórással, továbbá az infravörös spektroszkópiával és a kisszögű röntgenszórással.



**8. ábra:** Kurkumin, retinsav és pirén molekulák LD spektrumai DOPC/DOPG liposzómák jelenlétében (felső ábra); a vizsgált molekulák képlete és sematikus orientációjuk a membránhoz viszonyítva (alsó ábrák)



**9. ábra:** Csoportkép

# Extracelluláris vezikulák vizsgálata

**Bodnár Mária**

Soproni Széchenyi István Gimnázium

**Tóth Diána**

Eötvös József Gimnázium, Budapest

## Témavezetők:

**Dr. Gaál Anikó** tudományos munkatárs

**Ilyés Kinga** PhD hallgató

**Bebesi Tímea** PhD hallgató

**Dr. Varga Zoltán** kutatócsoport vezető

## Kutatócsoport:

Biológiai Nanokémia kutatócsoport Anyag- és Környezetkémiai Intézet

## Célkitűzés

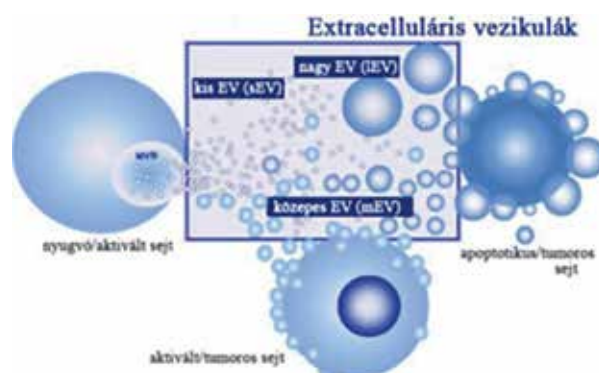
Kísérletünk során vörösvérsejt eredetű extracelluláris vezikulákat izoláltunk vérmin-tákból. Méréseinkben ezeket a mintákat jellemeltük részecske-koncentráció, méreteloszlás, fehérje mennyiség és hemoglobin tartalom alapján. A vizsgálatok kapcsán arra voltunk kíváncsiak, hogy a vezikulaképződést segítő kalcium-ionofóros indukálás időtartama hogyan befolyásolja a keletkező extracelluláris vezikulák mennyiségét és minőségét?

## Extracelluláris vezikulák

Az extracelluláris vezikulák (EV-k) lipid ket-tősréteggel határolt nanorészecskék. A szervezet legtöbb sejtje bocsát ki vezikulákat, amelyek a sejtmembrán lefűződésével vagy exocitózissal kerülnek az extracelluláris térbe. Számos funkciót láthatnak el. Többek között a sejtek közötti kommunikációban vesznek részt, emellett a káros/felesleges anyagoktól való megszabadulás egyik lehetséges módját is képviselik. A különböző testfolyadékokból, pl. vérből, elválasztható (izolálható) extracelluláris vezikulák mennyisége és összetétele fiziológiás és patológiás állapotban különbözik, így betegségek kimutatására is mód nyílik. Emellett az extracelluláris vezikulákat nem

csak az orvosi diagnosztikában, hanem mint biokompatibilis gyógyszerhordozók, kezelésekben is lehetne hasznosítani.

A vezikulákat méretük, illetve keletkezésük alapján szokták osztályozni kis-, közepes-, illetve nagyméretű extracelluláris vezikulákra (1. ábra). Az exoszómák általában kisméretű EV-k (<100-200 nm) a multivezikuláris test exocitóziséval jutnak ki az őket termelő sejtéből. A közepes méretű (200-1000 nm) vezikulák (mikrovezikulák, mikropartikulumok) általában a plazma membrán lefűződésével keletkeznek.



**1. ábra:** Az extracelluláris vezikulák (forrás: Wernerné dr. Sódar Barbara, Doktori értekezés, Semmelweis Egyetem, 2018)





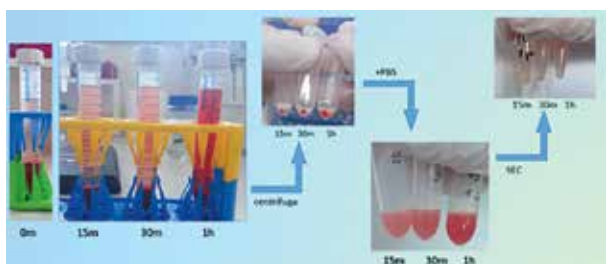


A23187 (Ca-ionofór) tömény oldatát 5µM-osra hígítottuk a kísérleti rendszerben, majd hozzáadtuk a CaCl<sub>2</sub> oldatot (100mM), hogy a végkoncentráció 1mM legyen. Ezután következett az inkubáció 37 °C-on.

1. cső: 1 óra inkubáció
2. cső: 30 perc inkubáció
3. cső: 15 perc inkubáció

Az inkubációs idő letelte után 5mM végkoncentrációban EDTA komplexálószerrel adtuk a csövekhez, ezzel leállítva a transzportot. Majd centrifugálással (200 x g, 10 perc) ülepítettük a vörösvérsejteket és a sejtörmelékeket. A felülúszót 15ml-es Eppendorf-csövekbe átpipetázva újra centrifugáltuk (2500 x g, 15 perc). Ezt követően minden minta felülúszóját 4 db 2 ml-es Eppendorf csőbe szétosztottuk, majd újból centrifugáltuk (16000 x g, 30 perc) ezzel kiülepítve a vezikulákat (pirosas pellet formájában az Eppendorf csövek alján). Ezután a felülúszót leszívtuk, a pelletet pedig 500 µl PBS pufferben felszuszpendáltuk.

Az extracelluláris vezikulákat (REV) méretkizárásos kromatográfiával (SEC) megtisztítottuk a vezikuláknál kisebb méretű szennyezőktől (pl. oldott fehérjék). A kereszt-kötéses agaróz (CL-2B) töltettel rendelkező gravitációs oszlopot PBS pufferrel 3x mostuk, majd 200 µl mintát és 800 µl PBS puffert pipetáztunk az oszlop tetejére. Ezt követően 1 ml PBS pufferrel eluáltuk egy 1,5 ml-es Eppendorf csőbe. A minták között 15 ml PBS pufferrel mostuk az oszlopot.

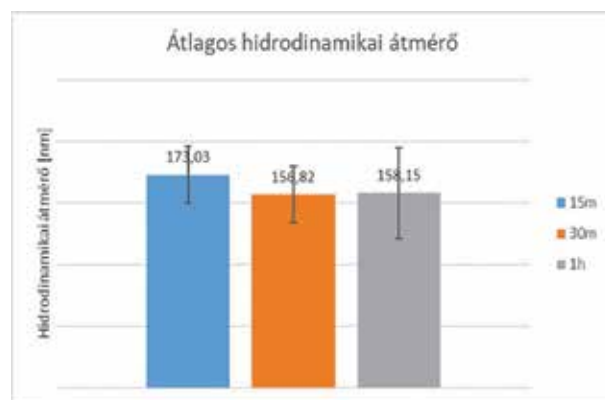
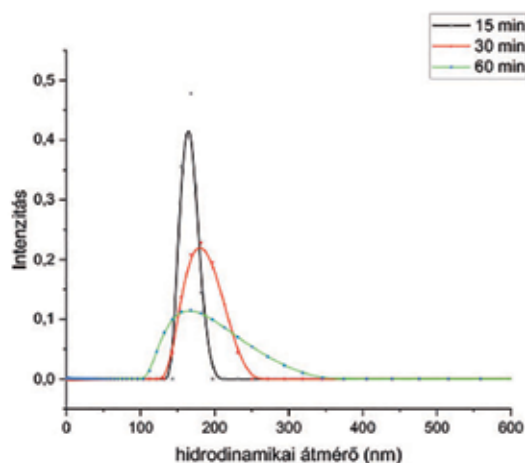


**4. ábra:** A vörösvérsejt eredetű vezikulák termeltetésének és izolálásának lépései

## Az extracelluláris vezikulák jellemzése

### Dinamikus fényszórás mérés

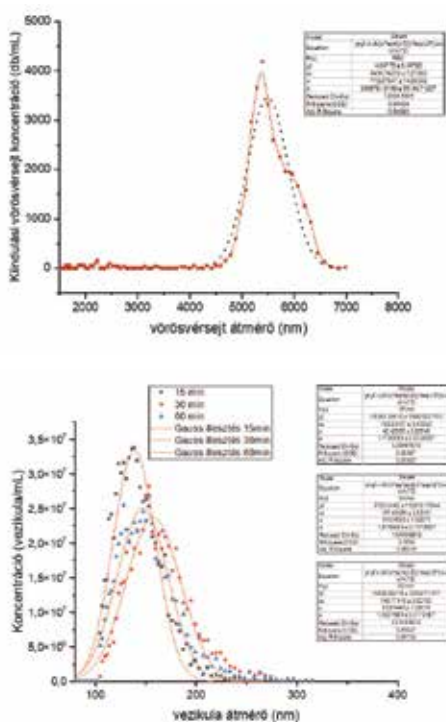
A dinamikus fényszórás mérés a nanométeres mérettartományba eső részecskék méretének és méreteloszlásának elemzésre alkalmas technika, ami a részecskék diffúzió alapuló mozgását méri egy lézerefény segítségével. A méréseink elsődleges célja az volt, hogy ellenőrizzük, sikerült-e az alkalmazott protokoll alapján vörösvérsejtekből extracelluláris vezikulákat termeltetnünk és elválasztanunk. A mérésekhez a mintáinkat PBS puffer oldattal 10x-es térfogatra hígítottuk. A rövid indukálás során kapott mintánkban az átlagos vezikulaméret 170-175 nm-esnek adódott, míg hosszabb indukálás átlagosan kisebb méretű (150-160 nm) vezikulákat eredményezett (5. ábra).



**5. ábra:** Vörösvérsejt eredetű extracelluláris vezikulák átlagos hidrodinamikai átmérőjének meghatározása dinamikus fényszórásméréssel

## Mikrofluidikus ellenállás-impulzus mérés (MRPS)

A mikrofluidikus ellenállás-impulzus mérés nanorészecskék átlagos átmérőjének (méreteloszlásának) és koncentrációjának (db/ml) meghatározására alkalmas. Mérésünk során PBS-BSA oldatot készítettünk, majd egy 100 kDa-os szűrőn átszűrtük. Ezzel a módosított pufferoldattal hígítottuk a mintáinkat, majd ismételen átszűrtük egy 0,45 µm-es fecskendőszűrőn. Ez utóbbira azért volt szükség, hogy elkerüljük a mérés során a mikrofluidikai csatornák eltömődését. Az előkészített mintákból 5 µl-t pipettáztunk egy mikrofluidikai mintatartóra (C400-as cartridge). Méréseket végeztünk mind a vörösvérsejtek, mind a vörösvérsejt eredetű extracelluláris vezikulák méreteloszlásával és koncentrációjára vonatkozóan. Az mért adatok a 6. ábrán láthatóak. A koncentrációra és a méreteloszlásra kapott értékeket az 1. táblázatban foglaltuk össze.



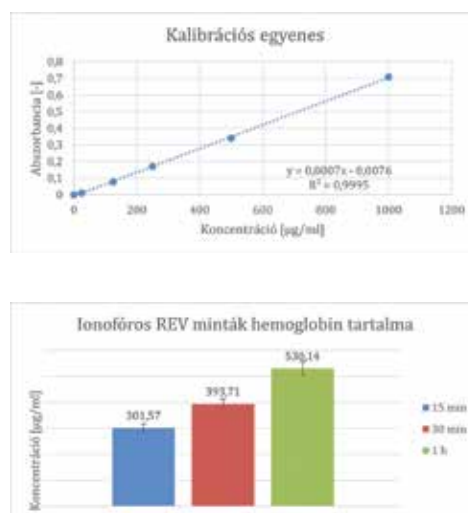
**6. ábra:** A kiindulási vörösvérsejtek és az indukálás hatására képződött vörösvérsejt eredetű extracelluláris vezikulák mérése mikrofluidikus ellenállás-impulzus méréssel. A mérés eredményeképpen átlagos sejt- ill. vezikula-átmérő és koncentráció is meghatározható egyidejűleg. A felső ábrán a vörösvérsejtekről az alsó ábrán az izolált vezikulákról mért adatok láthatóak.

	Koncentráció [részecske/ml]	Átlagos átmérő [nm]
RBC	7,88E+08	5496
15 min	2,06E+10	131,4
30 min	1,77E+10	147,9
60 min	2,09E+10	150,8

**1 Táblázat:** MRPS méréssel mért adatok összefoglalása

## Hemoglobin tartalom mérése

A vörösvérsejt eredetű vezikulák tartalmaznak hemoglobint, erre utal a minták piros színe. A pontos hemoglobin koncentráció meghatározásához UV-látható (UV-Vis) spektroszkópiát használtunk. Az ultraibolya (10-350 nm) illetve a látható fény (350-780 nm) hatására elektronok gerjesztése következhet be a mintában. Az abszorpciós spektrumban az oldat fényelnyelését (abszorbanciáját) ábrázoljuk a besugárzó fény energiájának (hullámhosszának) függvényében. A módszer mennyiségi meghatározásra kalibráló egyenes használatával alkalmazható: liofilizált hemoglobinnal készült kalibrációs oldatsorozatot készítettünk, majd 300 és 700 nm között felvettük az abszorpciós spektrumokat. A spektrumok alapján meghatároztuk a maximális hemoglobin elnyelését (414 nm), majd az abszorbancia értékeket a koncentráció függvényében ábrázoltuk. A kalibráló egyenes segítségével meghatároztuk a minták hemoglobin tartalmát (7. ábra).

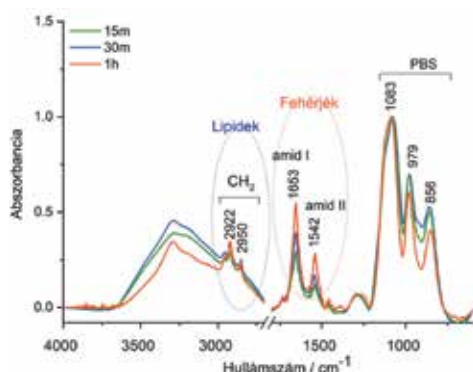


**7. ábra:** Vörösvérsejt eredetű extracelluláris vezikulák hemoglobin tartalmának mérése spektrofotometriás módszerrel. A felső ábrán a méréshez alkalmazott kalibráló egyenes, az alsó ábrán az egyes mintákra kapott hemoglobin értékek láthatóak

## Infravörös spektroszkópia (IR)

Az infravörös (IR) spektroszkópia alapja az elektromágneses sugárzás (infravörös fény) és az anyag kölcsönhatása. Az infravörös fényvel (a legkevésbé invazív sugárzás, az élő sejtekre és szövetekre semmilyen káros hatást nem fejt ki) a molekulákban található kötések és atomcsoportok rezgési átmenetei gerjeszthetők; az egyes atomcsoportok, illetve funkciós csoportok rezgési sávjai jól meghatározott spektrális tartományban jelentkeznek. A molekulákról készült színeképeket és annak egyedi- és molekulaspecifikus sávszerkezetét a molekulák ujjlenyomatának tekinthetjük. Biomolekuláris szinten a legkisebb molekulaszerkezeti változások is detektálhatók megfelelően érzékeny IR spektroszkópai technikával.

Mérésünk lényege a vezikulák lipid, illetve fehérje komponenseihez tartozó sávok azonosítása volt.  $\text{3}\mu\text{l}$  mintát felcseppentettünk egy gyémánt mintatartóra, majd az oldószer elpárolgása után (száradás) felvettük a spektrumokat. Mindhárom minta esetében megjelennek a PBS puffer szeretlen foszfát sávjai, főként a lipidekre jellemző C-H rezgési sávok (a lipidek zsírsavláncaiban lévő  $-\text{CH}_2$  csoportok), és a fehérjék peptid-kötéseire jellemző amid I és amid II sávok (9. ábra).



**8. ábra:** Infravörös (IR) spektrumok (zöld: 15 perces indukálás, kék: 30 perces indukálás, piros: 1 órás indukálás)

A Lambert-Beer törvény alapján a sávintenzitás arányos a mennyiséggel. Ha a fehérjékre, illetve lipidekre jellemző sávok intenzitását elosztjuk, egy olyan számot kapunk, amely a fehérje-lipid arány változására utal a különböző mintákban (2. táblázat).

Extracelluláris vezikula	Lipid	Fehérje	Fehérje/Lipid
15 perces indukálás	0,59	0,38	1,15
30 perces indukálás	0,67	0,70	1,045
1 órás indukálás	1,35	1,21	0,90

**2 Táblázat:** Számolt spektroszkópai fehérje-lipid arányok az egyes mintákra vonatkozóan

## Összefoglalás

Vörösvéresjt eredetű extracelluláris vezikulákat izoláltunk vérmintából Ca(II) ionofór indukálással, majd ezeket részletesen jellemeztük. Sokféle módszert, műszert megismertünk, betekintést nyertünk a valós laboratóriumi munkába (10-11 ábrák). A különböző mérési módszerekkel kapott eredményeket összeítve elmondható, hogy az indukálás időtartamától függően különböző mennyiségű és tulajdonságú vezikulák termelődtek. Az indukálás idejével arányosan nőtt a keletkezett vezikulák száma. Minőségi változást is tapasztaltunk: rövid indukálás után nagyobb átlagos átmérőjű vezikulákat detektáltunk. Kémiai összetételük is változott: az indukálás időtartamának növelésével a vezikulák relatív lipid-tartalma is nőtt.

Köszönettel tartozunk témavezetőinknek, Gaál Anikónak, Ilyés Kingának, Bebesi Tímeának, Mihály Judithnak és Varga Zoltánnak (12. ábra), illetve a tábor szervezőinek, Nagyné Bereczki Laurának és Keszler Anna Máriának.













ARG  
188



**AKI**

**Kíváncsi Kémikus  
kutatótábor  
2022**



Természettudományi kutatóközpont  
1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

[www.ttk.hu/aki/kutatotabor](http://www.ttk.hu/aki/kutatotabor)  
[www.facebook.com/akitabor](https://www.facebook.com/akitabor)

