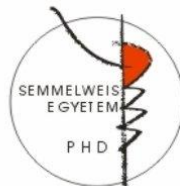


DNS-támadáspontú molekulák kölcsönhatásainak jellemzése

Doktori Tézisek

Dr. Orosz Ádám Péter

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Csík Gabriella, CSc., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Budai Lívია, Ph.D., egyetemi adjunktus

Dr. Uray Katalin, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Zelkó Romána, DSc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Grama László, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Kukor Zoltán, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest

2018

1. Bevezetés

Az onkológiai kemoterápiás kezelések során jelentős részben olyan hatóanyagok kerülnek alkalmazásra, melyek hatásmechanizmusában fontos szerepet játszik az örökítőanyag. Közvetlenül hatást fejthetnek ki a DNS-en vagy pedig közvetett módon, a DNS stabilitását és alkotó elmeinek szintézisét befolyásoló enzimek gátlása vagy reaktív gyökök képzése révén érhetnek el tumorelles hatást. A legtöbb esetben kötődés jön létre a hatóanyag és a DNS-között, mely lehet kovalens és nem kovalens, az utóbbinak gyakorta előforduló módja az interkaláció a bázispárok közé vagy a DNS kis árkába történő külső kötődés. A különféle kemoterápiás eljárások során használt molekulákkal kapcsolatban esetenként több évtizedes tapasztalat áll rendelkezésre, hatékonyságuk növelése azonban mind a mai napig nem kellően megoldott. Mellékhatásaik sokrétűek és esetenként súlyosak, továbbá a kezelést követően maguk is okozhatják másodlagos tumorok kialakulását. A nem kívánatos következményeik legtöbbször is DNS károsító hatásukból és a rákos sejtekre való szelektivitás hiányából eredeztethető. Ebből következik, hogy a hatóanyag kutatás és fejlesztés egyik iránya azokra a molekulákra összpontosít, melyek közvetlenül nem károsítják a DNS-t, illetve specifikusabb módon jutnak be a célsejtekbe. A hatóanyag tervezést és szintézist követően igen lényeges annak megértése, hogy a DNS és különféle új vagy módosított vegyületek között pontosan milyen kölcsönhatás alakul ki, hogy megbecsülhessük élettani és terápiás hatásait. Első lépésben elengedhetetlen az izolált DNS-hez és a szerkezeti fehérjékkel együtt jelenlévő polinukleotidhoz, azaz nukleoprotein komplexhez való kötődés részletes *in vitro* jellemzése, hogy megfelelő alapot teremthessünk a további molekulatervezési lépések számára. Jelen dolgozat a DNS támadáspontú molekulák két fajtájával

foglalkozik, a kationos porfirinekkal és az antraciklinek közé tartozó daunorubicinnel, és ezek módosított származékainak kölcsönhatási profilját kívánja elemezni.

1.1. Kationos porfirinek és konjugátumaik

Évtizedekkel ezelőtt felfigyeltek a kationos porfirinek azon tulajdonságára, hogy nagy affinitással kötődnek DNS-hez. Előnyös, hogy amfifil molekulák, vízben jól oldódnak, és különböző kötődési komplexeket alakítanak ki polinukleotidokkal. A porfirin származékok képesek a környezetükben lévő molekulák fényérzékenyítésére, a képződő reaktív vegyületek pedig módosíthatják a membránalkotókat, a fehérjéket és a nukleinsavakat, megszüntetve ezzel biológiai funkciójukat. Fotodinamikus hatásukat több területen igyekeznek kiaknázni: malignus sejtek károsodására a sejtmembrán, a mitokondrium és a lizoszómák sérülésén keresztül, mely végső soron nekrozishoz vagy apoptózishoz vezet. Az onkológián kívül a mikrobiológia területén is ígéretesnek tűnik alkalmazásuk, a kationos porfirinek képesek a Gram-pozitív és a Gram-negatív baktériumok károsítására egyaránt, de vírusinaktivációra is használhatók.

A közelmúltban a porfirin-gyűrűhöz különböző funkciójú molekulákat kapcsoltak, célként merült fel a sejtek általi felvétel fokozása, a tumoros sejtek iránti szelektivitás növelése. Konjugátumok szintetizálása annak a lehetőségét is felveti, hogy a porfirinek nukleinsavak iránt tanúsított erős kötődési képessége egyéb molekulák DNS közelébe juttatására használható legyen, például génterápia esetében.

Porfirin-konjugátumok létrehozása polilizin-vázis peptidekkel ígéretes lehetőségnek tűnik PDT-ben való alkalmazás és további, DNS-kötődésen alapuló módszerek számára, ugyanis a polilizin vázas peptidek ígéretes

hordozómolekuláknak bizonyultak a sejtekbe való bejutás fokozására. Azonban a porfirin származékok ezen csoportjának nukleinsavakkal való kölcsönhatása még nem került részletes leírásra, noha a konjugáció jelentős változást okozhat a molekulák tulajdonságaiban, átalakul töltéseloszlás és megnövekszik a molekula mérete is.

1.2. Daunorubicin és konjugátumai

Az antraciklinek közé tartozó vegyületek a legtöbbet kutatott DNS-interkaláló molekulák közé tartoznak. Terápiás alkalmazásuk az emlőrákra, különféle típusú leukémiákra és a Kaposi szarkómára terjed ki. Károsítják a csontvelőt, a bőr és a tápcsatorna gyorsan osztódó sejtjeit és a szívizomsejteket. Kardiomiopátia esetenként súlyos mértékű lehet. Hatásukat azáltal fejtik ki, hogy interkalálnak a DNS bázispárjai közé és gátolják a topoisoméráz II működését.

A daunorubicin mellékhatásainak mérséklése és a tumor-specifitás fokozása céljából kutatócsoportunk többféle célzó-peptidet vizsgál. A konjugátumok szintézise során olyan „spacer” szekvenciát is beépítünk, mely érzékeny a lizoszómák proteázaira. Így a hasítást követően már csak egyetlen aminosav marad a hatóanyagban. Mivel ez az aminosav a DNS-kötődés szempontjából lényeges pozícióban található, kötődési vizsgálatok segítségével kell döntést hozni a legkedvezőbb aminosav kiválasztásáról.

2. Célkitűzés

Munkánk célja kationos porfirinek és peptid konjugátumaik, illetve daunorubicin aminosav konjugátumok kölcsönhatásainak jellemzése. Az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

2.1. Kationos porfirinek és peptid konjugátumok

1. Kötődnek az új származékok izolált DNS-hez és nukleoprotein komplexhez?
2. Mely kötődési formák jellemzőek a kölcsönhatásra?
3. Hogyan befolyásolja a töltések száma, eloszlása illetve a molekula mérete a kötődést?
4. Hogyan változik meg a DNS és a nukleoprotein komplex szerkezete a kölcsönhatás során?
5. Létre jön-e kötődés a szerkezeti fehérjék és a porfirinek közt?
6. Milyen mértékben jutnak be az új származékok a sejtekbe? Töltés és molekulaméret hogyan befolyásolják a felvételt?
7. A sejten belül hol dúsulnak fel a legnagyobb mértékben?

2.2. Daunorubicin aminosav konjugátumok

1. Kötődnek az új származékok izolált DNS-hez és nukleoprotein komplexhez?
2. Hogyan befolyásolja a konjugátum szerkezete a kölcsönhatást?
3. Hogyan változik meg a DNS és a nukleoprotein komplex szerkezete a kölcsönhatás során?
4. Létre jön-e kötődés a szerkezeti fehérjék és a daunorubicin származékok közt?
5. Melyik aminosavat válasszuk a spacer szekvencia kialakításakor?

3. Módszerek

3.1. Kationos porfirinek és peptid konjugátumaik

Méréseinkhez öt vegyületet használtunk: a mezo-tri(4-N-metilpiridil)-mono-(4-karboxifenil)porfirin-t (továbbiakban TMPCP), ennek tetrapeptid konjugátumát (továbbiakban TMPCP-4P) és polipeptid konjugátumát (továbbiakban TMPCP-AK); a mezo-5,10-bisz(4-N-metilpiridil)-15,20-di-(4-karboxifenil)porfirin-t (BMPCP) és tetrapeptid konjugátumát (BMPCP-4P2). A TMPCP három, míg a BMPCP két pozitív töltéssel bír a metil-piridil csoport kvaterner nitrogénjén. A tetrapeptid konjugátumok esetében olyan oligopeptid kapcsolódik az alapvegyületekhez, mely 3 alanint és egy lizint tartalmaz. A konjugáció a karboxil csoporton keresztül valósul meg, így a TMPCP-hez egy, a BMPCP-hez két tetrapeptid kapcsolódik.

A poli[Lys-(DL-Ala)_m], későbbiekben „AK”, elágazó láncú polilizin vázas polipeptidet TMPCP molekulákhoz kapsoltuk, az AK polimerizáció foka közelítőleg 250.

3.2. Daunorubicin aminosav konjugátumok

A daunorubicin három, egy aminosavval kapcsolt konjugátumát hoztuk létre. A kapcsolás a daunoamin molekuláris szinten történt amidkötéssel. A három konjugátum: Daunorubicin-Arginin (Dau-Arg), Daunorubicin-Glicin (Dau-Gly) és Daunorubicin-Leucin (Dau-Leu).

3.3. Spektroszkópia

A vizsgált vegyületek spektrumát szobahőmérsékleten Tris-HCl pufferben (pH=7,4) vettük fel Cary 4E (Varian, Mulgrave, Australia) spektrofotométerrel állandó hatóanyag és változó nukleinsav koncentráció

mellett. Az oldatok összetételét a bázispárok és a porfirin koncentrációjának mólarányával fejeztük ki, az arányszám a következőkben az „r” jelölést kapja. A daunorubicines méréseknél pedig az alábbi aránnyal dolgoztunk: $bp/Dau = ([\text{bázispár}]) / ([\text{daunorubicin}])$.

Abszorpciós spektrumokat porfirinek esetében komponens görbékre bontottuk. A spektrumfelbontást a Microcal Origin program segítségével végeztük el. Alapvető cél volt, hogy a legkevesebb számú görbét használjuk fel az illesztéshez, ezért csak egy viszonylag szűk hullámhossz tartományt ($\lambda = 370\text{-}490$ nm) elemeztünk. Úgy találtuk, hogy az egyetlen paraméter, mely megváltozik az adott porfirin populáció mennyiségének változásával, a görbe alatti terület, a többi paraméter konstansnak vehető.

Az emissziós spektrumokat Fluorolog 4 (Jobin Yvon, France) spektrofluoriméter segítségével mértük ki. A gerjesztést az egyes származékok abszorpciós maximumának megfelelő hullámhosszúságú fényel végeztük. Daunorubicinek kötődési állandóit az emissziós spektrumok alapján számítottuk a „neighbour exclusion model” szerint.

Porfirinek esetében a fluoreszcencia energia transzfer mérése során a gerjesztést $\lambda = 260$ nm-en, a DNS abszorpciós maximumának megfelelő hullámhosszon végeztük növekvő bázispár/porfirin mólarány mellett

A cirkuláris dikroizmus (CD) méréseket Jasco-810 dikrográffal végeztük. A porfirin indukált CD jeleinek mérésekor a spektrumokat $\lambda = 380\text{-}500$ nm között vettük fel. A kölcsönhatás következtében kialakuló DNS és nukleoprotein komplex szerkezet változások követésére a spektrumokat állandó DNS/fág és változó porfirin koncentrációk mellett regisztráltuk 200 és 500 nm között. A koncentrációarányokat porfirin/bázispár (1/r) illetve daunorubicin/bázispár (Dau/bp) mólarányokban fejeztük ki.

3.4. Áramlási citometria

Az in vitro sejtfelvételi vizsgálatokat áramlási citométer (BD LSR II, BD Biosciences, USA) segítségével végeztük HL-60-as sejtekkel. A sejteket 2,5-20 μM koncentráció tartományban kezeltük a hatóanyagokkal, az inkubációs idők fél órától 5 óráig terjedtek.

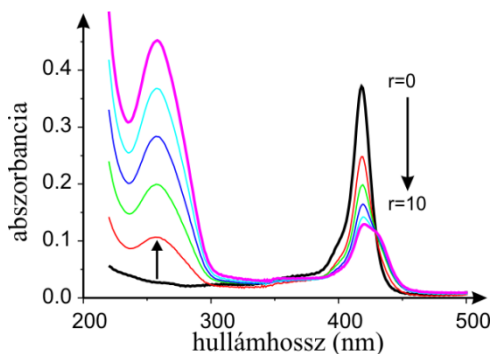
3.5. Konfokális mikroszkópia

A porfirin származékok sejten belüli elhelyezkedését konfokális mikroszkóppal (Zeiss LSM-710, Carl Zeiss Microscopy, Jena, Németország) vizsgáltuk HT-29 sejteken. A felvételek elkészítése előtt a sejteket 3 órán keresztül inkubáltuk a porfirinszármazékokat $c=20 \mu\text{M}$ koncentrációban tartalmazó RPMI médiummal. A DNS megjelölésére SYBR Green I-et alkalmaztuk lizoszómákat a Lyso Tracker Green DND-26-tal festettük, míg a mitokondriumokat MitoTracker Deep Red FM használatával különítettük el.

4. Eredmények

4.1. Kationos porfirinek kötődése izolált DNS-hez és nukleoprotein komplexhez

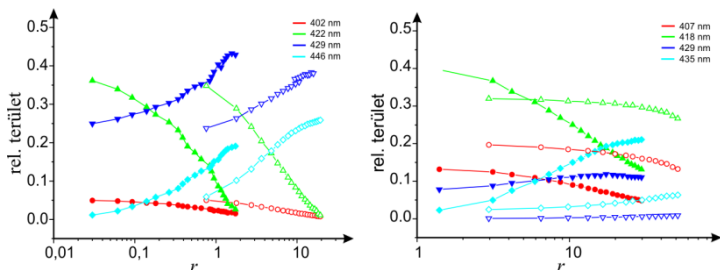
Nukleinsav jelenlétében a kationos porfirinek abszorpciós spektrumának Soret sávjának batokróm és hipokróm eltolódása tapasztalható. Ezek az átalakulások a kötődés létrejöttéről tanúskodnak. A kötődési folyamat egy bizonyos DNS koncentrációnál megáll, tehát telítési érték érhető el.



1. *Ábra* BMPCP-4P₂ abszorpciós spektruma $r=0-10$ bázispár/porfirin arányoknál.

Részletesebb információ nyerhető az abszorpciós spektrumok Soret-sávjának komponensekre történő felbontásával. Az alapvegyületek és tetrapeptid konjugátumaik Soret-sávjait 3 míg a polipeptid konjugátumét 4 görbével illesztettük meg, a nukleinsav jelenlétében felvett spektrum esetén a komponensek száma kettővel bővült, kivétel ez alól a polipeptid konjugátum, ahol csak egy új komponens jelent meg. A komponens görbék alatti relatív területet ábrázolva a bázispár/porfirin arány függvényében szemléletes képet kaphatunk a változásokról. A 2. ábrán izolált DNS és

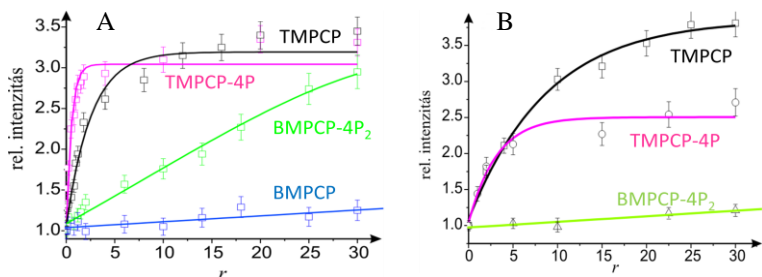
TMPCP-4P, TMPCP, BMPCP-4P₂ és BMPCP esetében követhetjük a változásokat.



2. *Ábra* A komponens görbék alatt terület a bázispár/porfirin arány függvényében (izolált DNS).

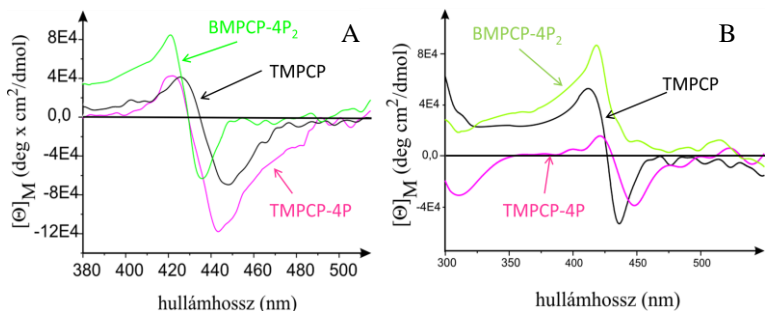
Bakteriofág esetében a kötődés spektrumfelbontás segítségével bizonyítható, viszont a kapott eredmények kevésbé egyértelműek, csak egy komponens görbe területe növekszik a bázispár/porfirin arány emelésével. Ez feltételezhetően a kötődés domináns formájához köthető, azonban nem zárható ki a másik mód jelenléte sem TMPCP és TMPCP-4P esetében. BMPCP és TMPCP-AK nem mutat spektrális változást bakteriofág jelenlétében.

A kötési formák tisztázása érdekében megvizsgáltuk a fluoreszcencia energiáttranszfert. A DNS bázisaival közeli kontaktusba lépő porfirinek a fluoreszcencia kvantumhatásfok növekedése jellemző a DNS abszorpciós maximumán, 260 nm-en történő gerjesztésnél. Ez akkor lehetséges, ha az energia átadódik a nukleinsavak bázisairól a porfirinre. Ehhez szoros kapcsolódás szükséges, ezért a jelenség az interkalációt igazolja. A különböző DNS és nukleoprotein komplex koncentrációk mellett felvett emissziós intenzitást a bázispár/porfirin mólarány függvényében értékeltük, hiszen így jól összehasonlíthatóak a különböző származékok eredményei.



3. Ábra A fluoreszcencia intenzitás változása 260 nm-es gerjesztésnél izolált DNS (A) és bakteriofág (B) jelenlétében növekvő bázispár/porfirin arányoknál.

Az alapvegyületeket és tetrapeptid konjugátumaik nem királis molekulák de a királis DNS kettős hélixhez való kötődésük következtében indukált CD jelet mutatnak a Soret-sávban. A pozitív sáv jelenléte a külső kötődéshez, míg a negatív sáv az interkalációhoz köthető, így képet kaphatunk az egyes formák egymáshoz viszonyított arányáról. Az 5. ábrán látható három származék esetén az indukált CD spektrum izolált DNS és bakteriofág jelenlétében.



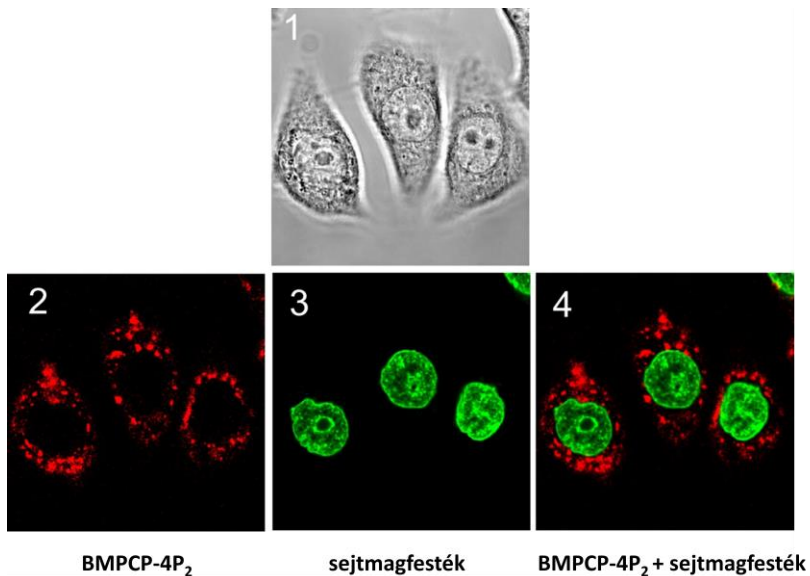
4. Ábra Indukált CD spektrum a Soret-sávban izolált DNS (A) és bakteriofág (B) esetében.

Abszorpciós és CD olvadási görbékkel utánaértettük a kapszidfehérjékkel való esetleges kölcsönhatásoknak is. Az abszorpciós

melting görbék alapján erre utaló változás nem figyelhető meg, azonban a fehérje denaturációját szelektíven mutató CD jelek megváltoznak porfirinek jelenlétében.

4.2. Kationos porfirinek sejtek által történő felvétele és intracelluláris lokalizáció

Az áramlási citometriás mérések alapján a vizsgált öt származék bejutása HL-60 sejtekben koncentráció és időfüggő. A BMPCP és BMPCP-4P₂ jut a legnagyobb mértékben a sejtekbe. Konfokális mikroszkópiás mérésekkel kimutattuk, hogy a sejtbe történő bejutást követően az új származékok a lizoszómákban és a mitokondriumokban dúsulnak fel. A TMPCP-AK némileg eltérő képet mutatott, a lizoszómákban kevésbé, inkább a mitokondriumokban és egyéb vezikulumokban volt megtalálható a citoplazmában.

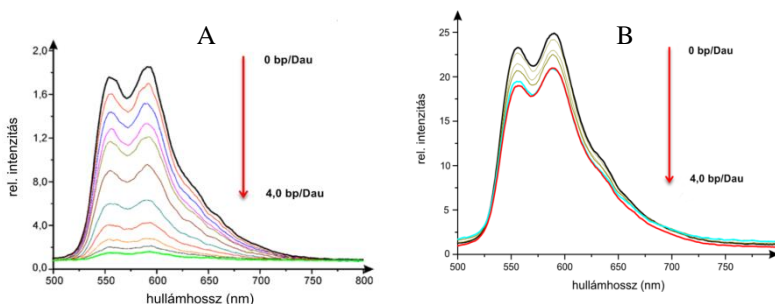


5. *Ábra* BMPCP-4P₂ intracelluláris lokalizációja.

4.3. Daunorubicin aminosav konjugátumok kötődése izolált DNS-hez és nukleoprotein komplexhez

Növekvő bázispár/daunorubicin mólarány mellett batokróm és hipokróm változás tapasztalható a daunorubicin aminosav konjugátumok $\lambda=400-600$ nm tartományban jelentkező abszorpciós sávjában. Ez a kötődés létrejöttét mutatja. Mindhárom új származék elnyelési színe hasonló módon viselkedett, azonban az egyes származékok közt némi különbség mutatkozott az eltolódások mértékében. Bakteriofág jelenlétében a spektrális eltolódások kisebb mértékűek.

A három aminosav konjugátum emissziós spektrumának intenzitása izolált DNS jelenlétében drasztikusan lecsökkent, míg bakteriofág jelenlétében a változás enyhébb volt.



6. *Ábra* Dau-Arg fluoreszcencia emissziós spektruma izolált DNS (A) és bakteriofág (B) jelenlétében.

Az emissziós intenzitás csökkenése alapján a McGhee - von Hippel modell segítségével kötődési állandók számíthatók. Ezeket láthatjuk az 1. táblázatban a három konjugátum és az alapvegyület esetében

1. Táblázat Konjugálatlan daunorubicin és Dau-Arg, Dau-Leu, Dau-Gly egyensúlyi kötődési állandója (K_a) izolált DNS és T7 fág esetében.

Vegyület	Izolált DNS K_a (M^{-1})	T7 fág K_a (M^{-1})
Dau	$1,2 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5$
Dau-Arg	$6,1 \times 10^5$	$7,4 \times 10^4$
Dau-Leu	$3,6 \times 10^5$	$5,8 \times 10^4$
Dau-Gly	$3,2 \times 10^5$	$4,4 \times 10^4$

T7 fágpartikulummal való kölcsönhatás során felvettük az abszorpciós olvadási görbéket. A daunorubicin konjugátumok jelenlétében megnövekszik a T7 bakteriofág DNS-ének denaturációs hőmérséklete, a kapszidburok ellenére is létrejön a kötődés az új származékok és a fág DNS-e közt. A kapszid fellazulásának hőmérséklete is a nagyobb értéke felé tolódik, mely a hatóanyag fehérjékhez való kötődését jelzi.

5. Következtetések

Jelen munka során két vegyületsoporttal foglalkoztunk. A bemutatott új tudományos eredmények a következőekben foglalhatók össze:

5.1. Kationos porfirinek és peptid konjugátumaik

1. Kettő (BMPCP) illetve három (TMPCP) pozitív töltéssel rendelkező porfirinek tetrapeptid konjugátumait hoztuk létre, továbbá a TMPCP-t egy elágazó láncú polilizinvázis polipeptidhez is konjugáltuk. Kimutattuk, hogy az új molekulák kötődnek izolált T7 DNS-hez. A teljes bakteriofág esetében azonban csak a TMPCP, a TMPCP-4P és a BMPCP-4P2 kötődését sikerült igazolnunk.

2. TMPCP, TMPCP-4P és BMPCP-4P2 interkalációval és külső kötődési móddal egyaránt kölcsönhatásba lép izolált DNS-sel, míg a TMPCP-AK kizárólag külső kötődéssel kapcsolódik. A gyenge affinitással rendelkező BMPCP interkalálódik a bázispárok közé. Teljes bakteriofág esetében a két tetrapeptiddel kapcsolt BMPCP-4P2 csak külső kötődéssel kapcsolódik a fehérjeburokban lévő DNS-hez, interkalációra csak hőkezelt fág esetében képes. A TMPCP-re és TMPCP-4P-re mindkét kötési forma jellemző nukleoprotein komplex jelenlétében is, magasabb koncentrációknál az interkaláció válik dominánssá.

3. Az alapmolekulák és tetrapeptid konjugátumaik közül a három pozitív töltésű vegyületek nagyobb affinitással kötődnek izolált polinukleotidhoz a kétszeresen pozitív származékokhoz képest. Tetrapeptid kapcsolása növeli a kötődési képességet, ugyanis ez negatív töltések eltűnésével jár. Nagyobb méretű polipeptid kapcsolása gátló tényező, a TMPCP-AK kötődési

affinitása elmarad a TMPCP-től és tetrapeptid konjugátumától, sőt BMPCP-4P2-től is. A konjugátatlan BMPCP a leggyengébben kötődő származék. DNS környezetében lévő szerkezeti fehérjék hatását is vizsgáltuk nukleoprotein komplexhez való kötődés során. TMPCP, TMPCP-4P és BMPCP-4P2 kötődését nem akadályozza meg a kapszidburok, de a kötődési affinitás lecsökken izolált DNS-hez képest. Több pozitív töltés előnyös a kötődés szempontjából, a tetrapeptid jelenléte viszont hátránnyá válik, így a TMPCP nagyobb affinitást mutat tetrapeptid konjugátumánál. Nem mutatható ki kölcsönhatás BMPCP illetve TMPCP-AK és nukleoprotein komplex között.

4. Interkaláció következtében az izolált DNS konformációja megváltozik, a stacking kölcsönhatások felbomlanak és a helicitás lecsökken. T7 bakteriofágban a kötődés hatására a fehérjeburok szerkezete és a polinukleotid helicitása is változik.

5. A kapszidfehérjék és a porfirinek közt feltételezhetően kölcsönhatás alakul ki.

6. A sejtekbe történő felvétel tekintetében a BMPCP-4P2 bír a legelőnyösebb tulajdonságokkal. A két pozitív töltésű származékok nagyobb asszociációs állandóval rendelkeznek semleges foszfolipideket tartalmazó modellmembránokhoz, és fokozottabb mértékben kerültek a sejtekbe, mint a háromszorosan pozitív porfirinek. A több TMPCP molekulát – és ezért több pozitív töltést – tartalmazó TMPCP-AK sejtfelvételének mértéke lényegesen alacsonyabb a többi vegyülethez képest.

7. Egyik konjugátum sem jut be számottevően a sejtmagba, hanem a lizozómákban és kisebb mértékben a mitokondriumokban dúsulnak fel. A TMPCP-AK némileg eltér ettől, a mitokondriumokban és a citoplazmában található vezikulumokba jut.

5.2. Daunorubicin aminosav konjugátumok

1. Daunorubicin három aminosav konjugátumát állítottuk elő; glicint, leucint illetve arginint kapsoltunk amidkötéssel az alapvegyülethez. A konjugátumok kötődnek izolált DNS-hez és nukleoprotein komplexhez, és a spektroszkópiai elemzés alapján az interkalációs kötődési forma azonosítható.

2. A nukleoprotein komplex esetében számított kötődési állandók egy nagyságrenddel kisebbek, mint amelyet izolált DNS-nél kaptunk. A konjugátumok mindkét esetben egy nagyságrenddel kisebb kötődési állandóval rendelkeznek, mint a konjugátatlan daunorubicin.

3. A konjugátumok kötődése megváltoztatja a DNS helikális szerkezetét, míg a kétszálú struktúra megmarad. A T7 fág szerkezetében kötődés hatására bekövetkező jelentős változást nem tudtunk kimutatni.

4. Az új származékok kötődnek a kapszidfehérjékhez.

5. A daunorubicin argininnel képzett konjugátuma rendelkezik a legnagyobb affinitással a polinukleotid iránt, így ezt a származékot javasoljuk további molekulatervezési lépések során.

6. Publikációk

I. Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények:

1. **Orosz Á**, Mező G, Herényi L, Habdas J, Majer ZS, Mysliwa-Kurziel B, Tóth K, Csík G. Binding of new cationic porphyrin–tetrapeptide conjugates to nucleoprotein complexes. *BIOPHYSICAL CHEMISTRY* 177-178: pp. 14-23. (2013), IF: 2,319
2. **Orosz Á**, Bősze Sz, Mező G, Szabó I, Herényi L, Csík G. Oligo- and polypeptide conjugates of cationic porphyrins: binding, cellular uptake, and cellular localization. *AMINO ACIDS* 49:(7) pp. 1263-1276. (2017), IF: 2,906
3. **Orosz Á**, Csík G. Peptide/protein conjugates of photosensitizers. In: Maxim Ryadnov, Ferenc Hudecz (szerk.) *Amino Acids, Peptides and Proteins*. Cambridge: Royal Society of Chemistry Publishing, 2016. pp. 100-145. (40.) (ISBN:978-1-78262-059-4)

II. Egyéb – nem az értekezés témájában megjelent – eredeti közlemények:

1. Szabó R, Sebestyén M, Kóczán G, Orosz Á, Mező G, Hudecz F. Cellular Uptake Mechanism of Cationic Branched Polypeptides with Poly[1-Lys] Backbone. *ACS COMBINATORIAL SCIENCE* 19:(4) pp. 246-254. (2017), IF: 3,5