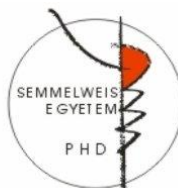


Globuláris és rendezetlen fehérjék, fehérje-membránmimetikum kölcsönhatások szerkezeti és dinamikai jellemzése NMR spektroszkópiával

Doktori értekezés

Dr. Sebák Fanni

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Bodor Andrea, Ph.D. Habil, egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Ambrus Attila, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Tőke Orsolya, Ph.D., laborvezető

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Antal István, Ph.D., egyetemi tanár
Tagok: Dr. Szigeti Krisztián, Ph.D., laborvezető
Dr. Kiss Éva, DSc., egyetemi tanár

Budapest
2021

1. Bevezetés

A modern gyógyszerkutatás során a leggyakoribb gyógyszer-célpontok enzimek, receptorok, ioncsatornák, sztransporterek, ezért a fehérjék 3D szerkezetének és oldatbeli mozgásainak ismerete kulcsfontosságú a fehérje-kismolekula, fehérje-fehérje, illetve fehérje-membrán kölcsönhatások szempontjából.

A Protein Data Bank (PDB) adatbázisban található több, mint 180 000 fehérje/fehérjekomplex, nukleinsav vagy oligoszacharid szerkezet 87,7%-át röntgenkristallográfia, 7,4% NMR spektroszkópia és 4,8% krio-elektronmikroszkópia segítségével határozták meg. Oldatfázisban, atomi szinten egyedül az NMR spektroszkópia ad információt a szerkezetről és az oldatbeli mozgásokról is. Így adatokat szerezhetünk a globuláris fehérjéken kívül olyan rendkívül mozgékony biomolekulákról is mint a rendezetlen fehérjék és fehérjeszakaszok (IDP/IDR, intrinsically disordered proteins/regions), melyeket a PDB adatbázis nem tartalmaz.

A doktori munkám során modern és általunk fejlesztett NMR spektroszkópiai megközelítéseket alkalmaztam különböző biológiai rendszerek vizsgálatához. A választott rendszerek biológiailag releváns fehérjék, melyek átfogó jellemzése hozzájárul egyes betegségek kialakulásának megértéséhez, illetve potenciális hatóanyag hordozó peptidek.

Tanulmányoztam a tumorszupresszor p53 fehérje rendezetlen transzaktivációs doménjét, és az NMR spektrumokon megjelenő minor konformerek vizsgálatára új $^1\text{H}^\alpha$ -detektált méréseket is alkalmaztam. Vizsgáltam továbbá az ERD14 dehidrinből és a humán S100A4 fehérjéből származó peptidek bicella modellmembránokkal való kölcsönhatását és fluoreszcens festékekkel jelölt konjugátumainak szerkezeti és *in vitro* biológiai aktivitását, sejtpenetrációs mechanizmusát. Végül a globuláris, kanonikus szerin proteáz inhibitorok szerkezeti

és dinamikai jellemzését végeztem NMR spektroszkópia segítségével, kiemelve a hurokrégió mutációja következtében kialakuló eltéréseket.

2. Célkitűzés

Munkám fő célkitűzései a következők voltak:

A) A rendezetlen p53 TAD fehérje vizsgálata NMR spektroszkópiával:

1. a prolin *cisz-transz* izomerizáció okozta minor konformerek azonosítása és szerkezeti vizsgálata klasszikus $^1\text{H}^{\text{N}}$ -detektált és $^1\text{H}^{\alpha}$ -detektált mérések segítségével.
2. Két, BASEREX valós idejű homo- és heteronukleáris lecsatoláson alapuló $^1\text{H}^{\alpha}$ -detektált pulzusszekvencia kidolgozása a prolin konformáció meghatározására.
3. A p53 TAD biokémiai folyamatainak szabályozásában szerepet játszó a foszforiláció hatásának követése $^1\text{H}^{\text{N}}$ -detektált és $^1\text{H}^{\alpha}$ -detektált NMR mérésekkel a fő komponensre és a minor konformerek esetén. Hogyan hat a foszforiláció a másodlagos szerkezetre, illetve a *cisz*-prolinok arányára.
4. Irodalmi adatok statisztikai elemzésével vizsgálom, milyen tényezőktől (környező aminosav típusa, hőmérséklet) függ a *cisz*-prolin aránya rendezetlen fehérjékben.

B) Fluoreszcens festék hatásának vizsgálata a gyógyszerhordozó-jelölt, az ERD14 dehidirin lizin gazdag szegmenseiből és az S100 C-terminális régiójából származó peptidok szerkezeti hajlamaira és *in vitro* biológiai aktivitására

1. A kereskedelmi forgalomban izomerkeverékként kapható, de munkám során külön vizsgálom az 5 – és 6-karboxifluorescein (Cf) festékkel jelölt peptidkonjugátumokat. A Cf szerkezetének és fluoreszcenciájának változását a pH függvényében fluorimetriával és NMR spektroszkópiával követem.
2. 5- és 6-Cf-peptid konjugátumok *in vitro* sejtpenetráció jellemzése, sejtbjutási mechanizmus és intracelluláris lokalizáció vizsgálata MonoMac6 monocita és A431 laphámrák sejtvonalakon
3. Az ERD és S100 peptidok és 5-, ill. 6-Cf konjugátumaik szerkezeti hajlamainak vizsgálata NMR spektroszkópiával

4. Az ERD és S100 peptidek membránkötődésének vizsgálata PC bicellák jelenlétében

C) SGPI-2 és SPINK1 kanonikus szerin proteáz inhibitorok vázszerkezetének szerepe a kimotripszin-inhibitor kölcsönhatásban

1. a hurokrégió mutációjának hatása a kimotripszinhez való affinitásra
2. az SGPI-2 és SPINK1 kimotripszinhez optimált, illetve hurokcsereált variánsok szerkezeti és dinamikai jellemzése

3. Módszerek

Minta előállítás

A dolgozatomban vizsgált fehérjéket előállítása bakteriális expresszióval, a peptideket szilárd fázisú peptidszintézissel történt.

NMR mérések

A peptidek, fehérjék és bicellákat oldatfázisú NMR mérésekkel vizsgáltam, a spektrumokat (^1H , ^{15}N , ^{13}C) egy 16,4 T (^1H : 700,05 MHz) Bruker Avance III 5 mm-es szobahőmérsékletű, z-gradienssel ellátott TXI mérőfejjel, illetve egy 5 mm-es Prodigy hűtött TCI H&F-C/N-D z-gradienssel ellátott mérőfejjel rendelkező készüléken vettem fel.

A jelöletlen peptidekről és fehérjékről 2D ^1H , ^1H -TOCSY, ^1H , ^1H NOESY, ^1H , ^{13}C -HSQC és ^1H , ^{15}N -SOFAST-HMQC spektrumok, a ^{15}N -jelölt fehérjék esetében 2D ^1H , ^{15}N -HSQC, 3D ^1H , ^{15}N -HSQC-TOCSY és ^1H , ^{15}N -HSQC-NOESY mérések készültek. A $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -jelölt fehérjék jelazonosítására ^1H , ^{15}N -HSQC, BEST típusú 3D HNCA, HNCOCA, HNCACB, HNCOCACB, HNCO, HNCACO, illetve klasszikus CCONH és 3D HNHA spektrumokat vettem fel. A p53 TAD fehérjében prolinokat és a minor konformereket ^{13}C - és $^1\text{H}^\alpha$ -detektált mérésekkel (2D CON, 2D CACO, 3D HCANCAO, 3D HACANCOCAH, illetve 2D SHACA-HSQC, 3D HCAN, 3D HCACON, 3D HCANCO) vizsgáltam. A prolin konformáció azonosítását 3D Pro-(HCA)NCACBHA és a 3D Pro-(H)CGCBCAHA spektrumok segítségével végeztem.

A gerincdinamikai vizsgálatokat T_1 , T_2 relaxációs mérésekkel és heteronukleáris NOE (HETNOE) mérésekkel végeztem. Az adatokat a Lipari-Szabó modellfüggetlen analízis segítségével értékeltem.

A peptidek és a bicella membránmimetikumok translációs diffúziós együtthatóit PFG-NMR mérések alapján a Stejskal-Tanner-egyenlet szerint határoztam meg.

Fluorimetria

A Cf-peptid konjugátumok fluoreszcencia intenzitást Varian Cary Eclipse spektrofluorométeren (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) mértük.

***In vitro* sejtpenetráció**

Az ERD és S100 peptidek *in vitro* sejtpenetrációját MonoMac6 és A431 sejtvonalakon vizsgáltuk. A Cf-peptidekkel kezelt sejteket BD LSR II áramlási citométerrel vizsgáltuk.

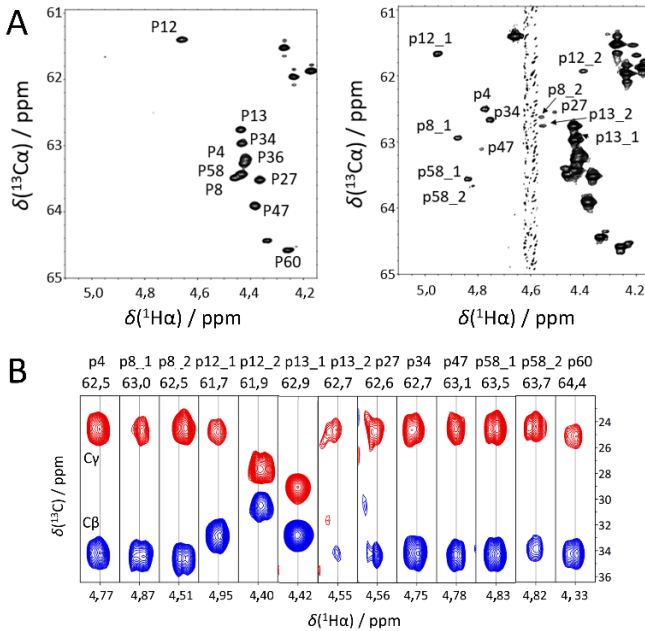
Intracelluláris lokalizáció

A konfokális lézer-pásztázó mikroszkópos vizsgálatokat egy Zeiss LSM 710 készülékkel végeztük.

4. Eredmények

A) A doktori munkám első részében a rendezetlen p53 TAD fehérje szerkezeti hajlamait vizsgáltam. Az irodalomban először mutattam ki és azonosítottam a prolin *cisz-transz* izoméria következtében kialakuló minor konformereket ebben a rendezetlen fehérjeszakaszban (1/A.ábra). A minor formák detektálására $^1\text{H}^{\text{N}}$ és $^1\text{H}^{\alpha}$ -detektált NMR méréseket használtam.

A prolin izomerek azonosítására 2 új, BASEREX valós idejű homo- és heteronukleáris lecsatoláson alapuló $^1\text{H}^{\alpha}$ -detektált pulzusszekvenciát dolgoztuk ki (3D Pro-(HCA)NCACBHA és a 3D Pro-(H)CGCBCAHA), melyek a fő komponens mellett a kis koncentrációban jelen lévő minor konformerek esetén is alkalmazhatók. A detektált 13 minor prolin közül 11 *cisz*-, 2 esetén *transz* térállás jellemző (1/B.ábra).

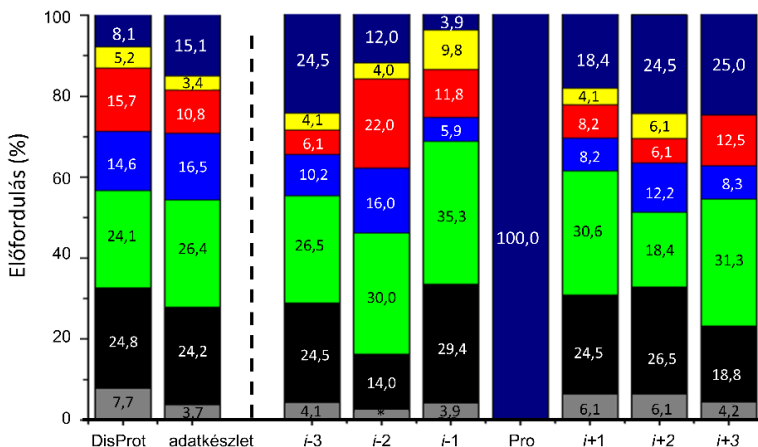


1. ábra Prolin régió a SHACA-HSQC spektrumon (A) a fő komponens (balra) és a minorok esetén. Az azonosított minor prolinok 3D Pro-(H)CGCBCAHA spektrumrészletei (B).

A p53 TAD minor konformerei esetén igazoltam, hogy tipikus NMR mérési hőmérsékleteken, 278 és 328 K között az egyes prolinok esetén *cisz*-izomer aránya a detektálás és integrálás hibáján belül nem változik.

A p53 TAD biokémiai folyamatainak szabályozásában poszttranszlációs módosítások játszanak főszerepet. A CK2 kináz általi foszforilációt vizsgálva azonosítottam a foszforilációs helyeket (T55, S46, S6). A TAD2 régióba tartozó T55 12 óra alatt 100%-ban foszforilálódott, a CK2 kináz számára kevésbé ideális, prolinhoz közeli aminosavak (S46, S6) esetén 36 óra elteltével sem ment végbe 100%-ban a folyamat (85%, ill. 45%). A foszforiláció csak a lokális, elektrosztatikus változásokat okozott T55 és S46 fő komponensében, jelentős szerkezeti változás nem következett be. Az S46 aminosavat követő P47 esetén a foszforiláció következtében a *cisz-transz* egyensúly eltolódott: a nem foszforilált mintában 4,5%-ban jelenlévő *cisz*-prolint nem lehetett detektálni. A foszforiláció helyétől távolodva a bevitt foszfátcsoport nem volt hatással a prolin *cisz-transz* egyensúlyra.

A foszforiláció hatása mellett vizsgáltam a prolin környezetében lévő aminosavak hatását a *cisz*-prolin arányára. A rendezetlen fehérjékben jelenlévő *cisz*-prolin aránya 5-20 %, 10 % feletti *cisz*-prolin izomert aromás aminosavak (főleg triptofán) környezetében detektáltak. A p53 TAD fehérjeszakaszban több prolin esetében is >10 % a *cisz*-prolin aránya, de a környezetükben nem található aromás aminosav, ezért irodalmi adatok statisztikai elemzését végeztem. Megállapítottam, hogy a prolin környezetében, $i-3$ és $i+3$ közötti pozíciókban milyen típusú oldalláncú aminosavak vannak hatással a *cisz*-prolin arányra. A >10% *cisz*-prolin tartalmazó szekvenciák esetén az aromás ($i-1$ és $i+1$ pozíciókban) és negatív töltésű oldalláncok ($i-2$, $i-1$, $i+3$ pozíciókban) előfordulási gyakorisága szignifikánsan nagyobb, továbbá a *cisz*-konformer kialakulását gátolják a pozitív töltésű lizin és arginin aminosavak (2.ábra).

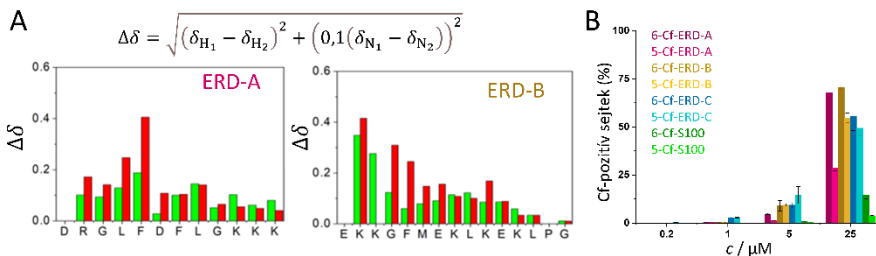


2. ábra Az oldallánc típusa szerinti aminosavcsoportok előfordulási gyakorisága rendezetlen fehérjékben: a DisProt adatbázisban, a létrehozott adatbázisban és a >10 % *cis*-minort tartalmazó prolin környezetekben.

B) A dolgozatom második részében a gyógyszerhordozó-jelölt ERD14 és S100 peptidok NMR spektroszkópiai és *in vitro* sejtpenetrációs vizsgálata során megállapítottam, hogy a vizsgált koncentrációtartományban mind a négy peptid képes átjutni az A431 és MonoMac6 sejtek membránján, továbbá nem toxikusak a vizsgált sejtvonalakra nézve. Az inhibitorokkal végzett kísérletek alapján a bejutás energiafüggő, endocitózissal és makropinocitózissal valósul meg. A bejutást követve az ERD-A citoplazma, ERD-B és S100 citoplazma és lizoszóma, ERD-C főleg lizoszomális lokalizációt mutat. Az intracelluláris fluoreszcencia intenzitás ERD-B > ERD-A > ERD-C > S100 sorrendben csökken. *In vitro* sejtpenetrációs profil alapján az ERD-A, B és C jó hordozójelöltek lehetnek célzott hatóanyag-szállításhoz.

Az áramlási citometria és mikroszkópos vizsgálatok szükséges 5- és 6-karboxifluorescein jelentős különbségeket okoz az ERD-A, ERD-B és S100 peptidok internalizációjában: a 6-Cf peptidok nagyobb arányban jutottak be a sejtekbe. Az 5- és 6-Cf-peptid-konjugátumok szerkezetét NMR spektroszkópiai mérésekkel vizsgáltam. Megállapítottam, hogy a fluorofór hatására a rendezetlen

peptidek szerkezetében nem következik be jelentős változás, azonban az aromás aminosavak és a prolin szerepe kimutatható. A NOE keresztcsúcsok alapján a 6-Cf-peptid konjugátumok esetén az 5. pozícióban lévő fenilalanin oldallánc protonok térben közelebb vannak Cf aromás protonjaihoz, mint az 5-Cf variánsok esetén. Ennek következtében a 6-Cf-konjugátumok esetén a F5 oldallánca „eltemetettebb”. az eltérő hidrofilitás hozzájárul az eltérő sejtpenetrációs tulajdonságokhoz.



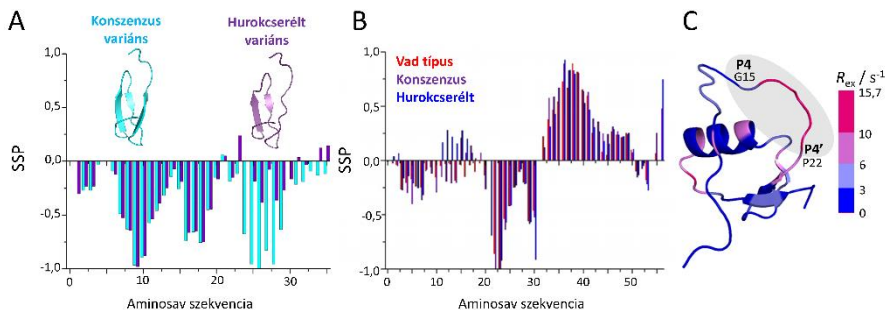
3. ábra 5- (zöld) és 6-Cf (piros) hatása a peptidek amid N és H környezetére (A) és a Cf-pozitív sejtek aránya A431 sejt vonal esetén (B)

Az ERD és S100 peptidek-membrán kölcsönhatásának vizsgálata során megállapítottam, hogy a peptidek képesek PC bicellákhoz kötődni, melyre a peptidek transzlációs diffúziós együtthatójának megváltozása, illetve a lipid fejcsoportban ³¹P atom jelszélesedése utal.

C) A mutáció szerkezeti hatását, illetve a vázfüggetlenség-modell érvényességét vizsgáltam SGPI-2 és SPINK1 vázú szerin proteáz inhibitorok esetén. A fágbemutatással létrehozott, kimotripszin kötődésre képes variánsok DNS szekvenálásával megállapított konszenzus hurokszekvencia a két váz esetén eltérő. A konszenzus szekvencia áthelyezése a másik vázra jelentősen csökkenti az inhibitor affinitását a kimotripszinhez. Ez arra utal, hogy a váz befolyásolja az inhibitor specificitását, az enzimmötődésben a Laskowski-moddal ellentétben aktív szerepet játszik.

A hurokcsere okozta változásokat NMR spektroszkópiai mérésekkel követtem, a szerkezetvizsgálat során 5 inhibitor esetén a ^1H , ^{13}C , és ^{15}N környezetekre a jelazonosítást elvégeztem. Az SGPI-2 konszenzus és hurokserélt variáns között különbség detektálható a másodlagos szerkezetben (4/A. ábra). A kevésbé stabil SGPI-2 váz esetén a hurokcsere hatására a 3. β -szál rendezetlenné válik, ami előnytelen az enzimmötődés kialakulásához. A stabilabb SPINK1 váz esetén hurokcsere nem okoz szerkezeti változást (4/B. ábra).

A konszenzus szekvenciát tartalmazó variáns esetén vizsgáltam az inhibitor gerincdinamikai paramétereit. A Lipari-Szabó modellfüggetlen analízis és MD szimulációk alapján a hurokra és az α -hélix terminális régióira lassú konformációs mozgások jellemzők (R_{ex} , S^2) (4/C. ábra), melyek a hurokcsere hatására felerősödnek. Továbbá a molekuladinamikai szimulációk alapján a hurokrégió torzul, a P1 pozíció térben a P1' helyére kerül, amely az enzimmötődésnél jelentős affinitásvesztést okoz.



4. ábra Hurokcsere hatása SGPI-2 (A) és SPINK1 (B) variánsok másodlagos szerkezetére. A Lipari-Szabó modell független analízis során meghatározott R_{ex} értékek: SPINK1 variánsok esetén a hurokrégióban lassú konformációs mozgások jellemzők.

5. Következtetések

A) A rendezetlen p53 TAD fehérje esetén az irodalomban először mutattam ki és azonosítottam a prolin *cisz-transz* izoméria következtében kialakuló minor konformereket. A minor formák detektálására $^1\text{H}^\alpha$ -detektált méréseket használtam, illetve kidolgoztunk 2 új, BASEREX valós idejű homo- és heteronukleáris lecsatoláson alapuló $^1\text{H}^\alpha$ -detektált pulzusszekvenciát (3D Pro-(HCA)NCACBHA és a 3D Pro-(H)CGCBCAHA). Ezek a mérések kiváló felbontás mellett lehetővé teszik a rendezetlen fehérjék fiziológiai hőmérsékleten és pH-n való vizsgálatát, továbbá rövid mérési idő alatt kis koncentrációban jelen lévő (40-150 μM) konformerek kimutatását is.

A p53 TAD CK2 kináz általi foszforilációt $^1\text{H}^{\text{N}}$ és $^1\text{H}^\alpha$ -detektált NMR mérésekkel követve azonosítottam a foszforilációs helyeket (T55, S46, S6). A foszforiláció a fő komponens másodlagos szerkezetében nem okozott jelentős változást, csak a lokális eltéréseket detektáltam T55 és S46 környezetében. Kimutattam, hogy a foszforiláció hatással lehet a foszforilált aminosav környezetében lévő prolinok *cisz-transz* egyensúlyára: S46 aminosavat követő P47 esetén az egyensúly a *transz*-izomer irányába tolódott el.

Irodalmi adatok statisztikai elemzésével megállapítottam, hogy a prolin ± 3 környezetében milyen típusú aminosavak befolyásolják a *cisz*-prolin arányát. Megnövekedett (10% feletti) *cisz*-prolin tartalmazó szekvenciák esetén az aromás és negatív töltésű oldalláncok előfordulási gyakorisága szignifikánsan nagyobb. Ezenfelül a *cisz*-konformer esetén kedvezőtlen a pozitív töltésű lizin és arginin aminosavak jelenléte. Eredményeim alapján a *cisz*-prolin aránya pontmutációval tervezhetővé válik, nem szükséges szubsztituált prolin-analógokat szintetikusán beépíteni a fehérjébe.

Az új mérések lehetővé teszik a kis koncentrációban jelen lévő, de releváns biokémiai folyamatokat szabályozó *cisz*-prolin vizsgálatát, ezáltal hozzájárulhatnak rendezetlen fehérjék működésének megértéséhez.

B) A dolgozatomban második részében a gyógyszerhordozó-jelölt ERD14 és S100 peptidok NMR spektroszkópiái és *in vitro* sejtpenetrációs vizsgálatait végeztem. Megállapítottam, hogy a vizsgált koncentrációtartományban egyik peptid sem toxikus az A431 és MonoMac6 sejtvonalakra nézve, továbbá képesek átjutni a sejtmembránokon. Az inhibitorokkal végzett kísérletek alapján a bejutás energiafüggő, endocitózissal és makropinocitózissal valósul meg. A bejutást követve az ERD-A citoplazma, ERD-B és S100 citoplazma és lizoszóma, ERD-C főleg lizoszomális lokalizációt mutat.

Az *in vitro* sejtpenetrációs vizsgálatok során külön vizsgáltam az 5- és 6-karboxifluorescein jelölt peptidokat, és azt tapasztaltam, hogy az ERD-A, ERD-B és S100 peptidok esetén a 6-Cf peptidok nagyobb arányban jutottak be a sejtekbe. NMR spektroszkópiái vizsgálatok során megállapítottam, hogy a fluorofór hatására a rendezetlen peptidok szerkezetében nem következik be jelentős változás, azonban az aromás aminosavak oldalláncai térközelbe kerülnek, ezáltal π - π kölcsönhatásba léphetnek a Cf aromás gyűrűivel. Ez a kölcsönhatás jelentősebb a 6-Cf-peptid konjugátumok esetén, a hidrofilitási különbség hozzájárul az eltérő sejtpenetrációs tulajdonságokhoz.

Eredményeim alapján az ERD-peptidok alkalmasak lehetnek kismolekulás hatóanyagok sejtbe juttatására, továbbá megállapítható, hogy a fluorofór-peptid kölcsönhatás befolyásolhatja a sejtpenetrációt.

Az ERD és S100 peptidok-membrán kölcsönhatásának vizsgálata során megállapítottam, hogy a peptidok képesek PC bicellákhoz kötődni, melyre a peptidok transzlációs diffúziós együtthatójának megváltozása, a kötődő aminosavak amid és oldallánc ^1H jeleinek, illetve a lipid fejcsoportban ^{31}P atomok jeleinek szélesedése utal.

C) SGPI-2 és SPINK1 vázú kanonikus szerin proteáz inhibitorok esetén a megállapított konszenzus hurokszekvencia eltér, amely arra utal, hogy a váz is aktív szereppel bír az enzimmötődésben. Az eltérő vázon evolválta hurok ezenfelül

jelentősen csökkenti az enzimaffinitást. Ezáltal Laskowski és munkatársai által létrehozott modell nem érvényesül.

A hurokszekvencia mutációja az SGPI-2 eltérést okoz a másodlagos szerkezetben. A kevésbé stabil SGPI-2 váz esetén a hurokcseré hatására a 3. β -szál rendezetlenné válik, ami előnytelen az enzimmötődés kialakulásához. A stabil SPINK1 váz esetén hurokcseré esetén okoz szerkezeti változást. A Lipari-Szabó modellfüggetlen analízis és MD szimulációk alapján a hurokra és az α -hélixre lassú konformációs mozgások jellemzők (R_{ex} , S^2), melyek a hurokcseré hatására felerősödnek. Továbbá a hurokrégió torzul, ami jelentős affinitásvesztéssel jár.

6. Saját publikációk

Az értekezés alapját képező közlemények:

1. **Sebák F**, Ecsédi P, Bermel W, Luy B, Nyitray L, Bodor A. (2021) Selective, sensitive $^1\text{H}^\alpha$ NMR methods to reveal functionally relevant proline *cis/trans* isomers in IDPs: characterization of minor forms, effects of phosphorylation and occurrence in proteome. *Angew Chem Int Ed*, IF: 15,336
2. Dudás EF, Pálffy Gy, Menyhárd DK, **Sebák F**, Ecsédi P, Nyitray L, Bodor A. (2020) Tumor-Suppressor p53TAD(1-60) Forms a Fuzzy Complex with Metastasis-Associated S100A4: Structural Insights and Dynamics by an NMR/MD Approach. *Chembiochem*, 21: 3087-3095. IF: 3,164
3. Boros E, **Sebák F**, Héja D, Szakács D, Zboray K, Schlosser G, Micsonai A, Kardos J, Bodor A, Pál G. (2019) Directed Evolution of Canonical Loops and Their Swapping between Unrelated Serine Proteinase Inhibitors Disprove the Interscaffolding Additivity Model. *J Mol Biol*, 431: 557-575. IF: 4,760

Az értekezés témájában elfogadott kézirat

1. **Sebák F**, Horváth LB, Kovács D, Szolomájer J, Tóth GK, Babiczky Á, Bősze, Sz, Bodor A. (2021) Novel, lysine-rich delivery peptides of plant origin ERD and human S100: the effect of carboxyfluorescein conjugation, influence of aromatic and proline residues, cellular internalization and penetration ability. *ACS Omega*, IF: 3,512

Disszertációhoz nem kötődő publikációk

1. Ricci M, Horváti K, Juhász T, Szigyártó I, Török G, **Sebák F**, Bodor A, Homolya L, Henczkó J, Pályi B, Mlinkó T, Mihály J, Nizami B, Yang ZHY, Lin FM, Lu XL, Romanschki L, Bóta A, Varga Z, Bősze Sz, Zsila F, Beke-Somfai T. (2020) Anionic food color tartrazine enhances antibacterial efficacy of histatin-derived peptide DHVAR4 by fine-tuning its membrane activity. *Q Rev Biophys* 53: 1-11. IF:5,318