

DOKTORI (PH.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Cinkujj fehérjék fémion-, és DNS-kötésének vizsgálata,
módosításuk Ni(II)-indukált peptidhidrolízis segítségével**

Hajdu Bálint

TÉMAVEZETŐ:

Dr. Gyurcsik Béla

egyetemi docens



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi és Informatikai Kar

Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

Kémia Doktori Iskola

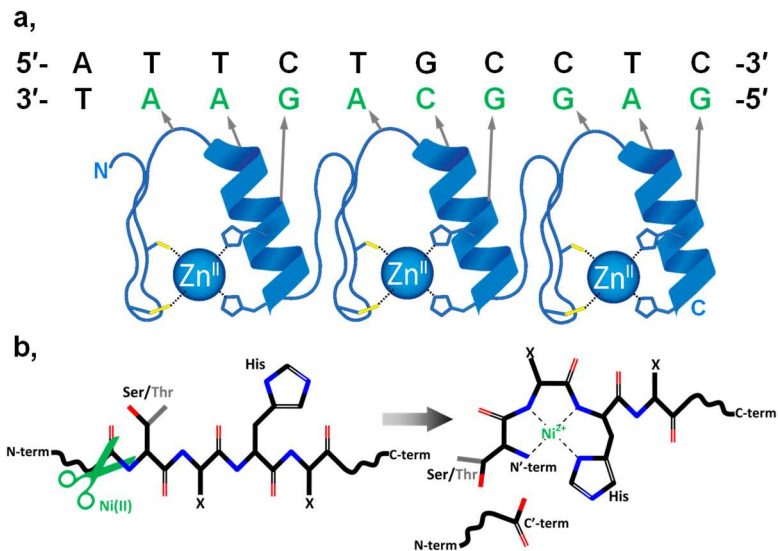
Szeged

2023

I. Bevezetés és célkitűzés

Az élő szervezetek működésében meghatározó szerepet töltenek be a fémionok például a vázképzésben, információátvitelben, enzimátikus folyamatokban, elektrontranszportban. A cink az egyik legnagyobb mennyiségben jelenlévő esszenciális nyomelem. A Zn^{2+} -ion telített d alhéjának köszönhetően változatos koordinációs számú és geometriájú komplexeket képez. Redoxi reakciókban nem vesz részt, továbbá erős Lewis-sav, így több hidrolitikus enzim aktív centrumában is Zn(II)-található. Ugyancsak nagyszámú fehérjében a másodlagos szerkezet stabilizálásában játszik fontos szerepet a Zn(II) cisztein és hisztidin aminosavak oldalláncaihoz koordinálódva általában tetraédes geometriával. Ide sorolhatók a cinkujj fehérjék, amelyek klasszikus Cys_2His_2 típusa képes specifikusan felismerni DNS célszekvenciákat. Biotecnológiai jelentőségüket az adja, hogy egy cinkujj egység három nukleobázist ismer fel, de több egység is összekapcsolható, azaz a specifitás többszörösére növelhető (**1. ábra a**). A cinkujj fehérjék moduláris felépítésüknek köszönhetően könnyen újratevezhetőek, így a felismert DNS szekvencia viszonylag könnyen módosítható. Ebből kifolyólag ezek voltak az első olyan fehérjék, amelyeket DNS felismerő doménként alkalmaztak mesterséges metallounukleázokban. A nukleázok fejlesztése mellett fontos kutatási irány a természetes cinkujj fehérjék kölcsönhatásainak tanulmányozása különböző endogén és exogén fémionokkal, mivel ezek csökkenthetik, megszüntethetik vagy akár módosíthatják a fehérjék eredeti funkcióját, ami jelentősen befolyásolhatja a sejtek életfolyamatait. Különös veszélyt jelentenek, a toxikus soft-karakterű fémionok, mint az Ag(I), Cd(II), Hg(II). A cinkujj fehérjék és ezen fémionok kölcsönhatásával kapcsolatos szakirodalom meglehetősen hiányos. Az előbbieken alapján nem meglepő, hogy habár 1985-ben fedezték fel a fehérjecsalád első tagját, a természetes és mesterséges cinkujj fehérjék a mai napig fontos kutatási területet képeznek.

További fémionok vizsgálata során fedezték fel, hogy a Ni(II), illetve Cu(II) elősegíti a fehérjék szelektív hidrolízisét, amennyiben azok tartalmaznak (S/T)XH motívumokat (**1. ábra b**).



1. ábra: a, Három alegységből felépülő cinkujj fehérje DNS-felismerése sematikusan ábrázolva.

b, Az X(S/T)XH aminosavszekvenca Ni(II)-indukált szelektív hidrolízisének sémája.

Számos humán fehérje tartalmazza a hidrolitikus hasításhoz szükséges szekenciát, többek között cinkujj fehérjék is. Így ezen megfigyelés egyféle magyarázata lehet a Ni(II) toxicitásának. Mindemellett, a szelektív hidrolízis kémiai szempontból is érdekes, mivel fehérjék szekvenca-specifikus hasításához a legtöbb esetben enzimekre van szükség. Ezen szakirodalmi előzmények alapján munkámban az alábbi kérdéseket igyekeztem megválaszolni:

1. Megvalósítható-e a Ni(II)-, és Cu(II)-indukált szelektív peptidhidrolízis egy cinkujj fehérje esetében?

Célom volt tanulmányozni, hogy a két fémmionnal végrehajtott hidrolízis milyen módon megy végbe, és a folyamat milyen hatással van a cinkujj alegységek szerkezetére, a fehérje tulajdonságaira. A reakciót összehasonlítottam egy fehérje alapú proteáz segítségével végrehajtott hidrolízissel, valamint megvizsgáltam, hogy a

reakciótermékekben mennyire lehet elkülöníteni az ATCUN motívum és a cinkujj alegységek komplexképzési sajátosságait.

2. Milyen kapcsolat van egy mesterséges cinkujj fehérje, modellpeptidek és természetes cinkujj fehérjék Zn(II) és DNS-kötése között?

A szakirodalomban számos cinkujj motívum Zn(II)-affinitására található adatok, ám teljes cinkujj fehérjéről csak elvétve. Így az adatok összehasonlítása is nehézkes. Szintén kihívást jelent az egyes természetes fehérjék DNS-kötésének kvantitatív értelmezése. Célul tűztem ki a szakirodalomban elérhető cinkujj motívumok és az általam előállított mesterséges cinkujj fehérje termodinamikai sajátosságainak összehasonlítását. Továbbá annak vizsgálatát, hogy mekkora a három-tagú cinkujj fehérje affinitása és specifitása DNS szekvenciákkal szemben, ez hogyan viszonyul a természetes cinkujj fehérjék DNS-kötő tulajdonságaihoz, illetve milyen összefüggés van a fehérje DNS és Zn(II)-kötése között.

3. Hogyan hat kölcsön egy cinkujj fehérje Ag(I), Cd(II), Hg(II) toxikus fémionokkal?

Számos ellentmondás fedezhető fel a cinkujj fehérjék és toxikus fémionok kompetíciójával kapcsolatos közleményekben. Így célom volt alaposabban tanulmányozni ezeket a kölcsönhatásokat kvalitatív, és kvantitatív szempontból, külön kitérve a DNS célszekvencia hatására.

4. Alkalmazható-e a Ni(II)-indukált szelektív peptidhidrolízis fehérjetisztítási módszerként természetes szekvenciák előállítására?

A fehérjetisztítási folyamatokban gyakran alkalmazott affinitástoldalék eltávolítása sokszor elengedhetetlen, hogy a továbbiakban a pontos szekvenciájú natív fehérje tulajdonságait tanulmányozhassuk. Célom volt megvizsgálni, hogy erre alkalmazható-e a Ni(II) a jóval drágább proteázok helyett, illetve, egy ilyen folyamat megvalósításának optimalizálása oldatban, vagy közvetlenül az affinitásgyantán.

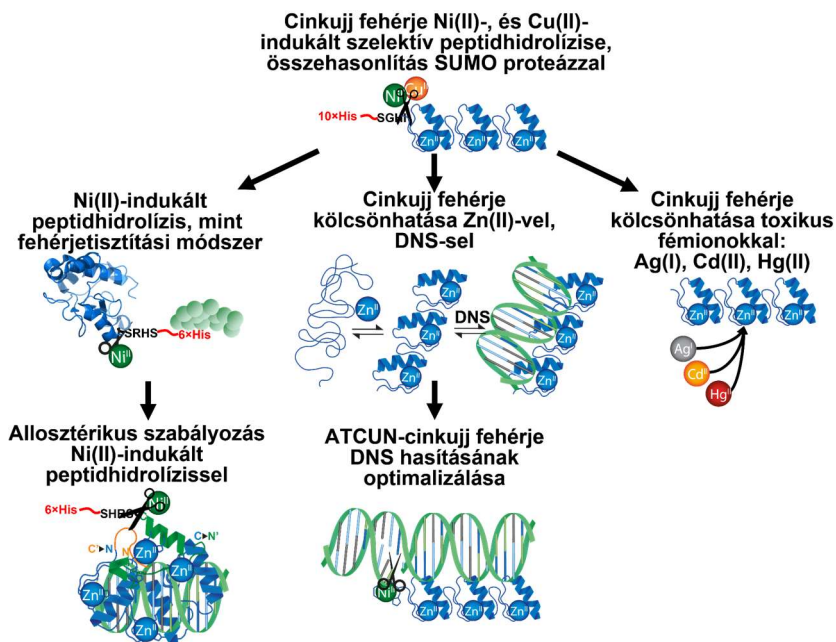
5. Felhasználható-e a Ni(II)-indukált peptidhidrolízis, enzimek allosztérikus szabályozásában?

Tanulmányoztam, hogy olyan fehérjék esetében, ahol csak a natív szekvenciájú enzim működőképes, alkalmazható-e egy Ni(II)-vel hidrolizálható affinitástoldalék a

fehérje inhibíciójára/szabályozására. Amennyiben igen, ez a szabályozási mechanizmus tisztán allostérikus jellegű, vagy koordinatív sajátosságok is szerepet játszhatnak a folyamatban.

6. Alkalmazható-e a cinkujj fehérjék Ni(II)-, vagy Cu(II)- komplexe, mint mesterséges specifikus DNS-hasító enzim?

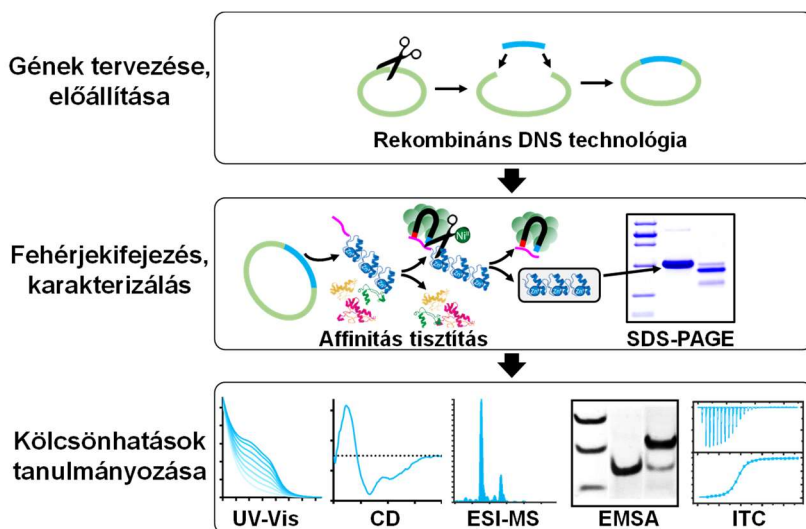
Céljaim között szerepelt, hogy megvizsgáljam a szakirodalomban bemutatott ATCUN-cinkujj fehérje DNS-hasító enzim működése reprodukálható-e amennyiben Ni(II)-vel vagy Cu(II)-vel hidrolizált cinkujj fehérjét alkalmazunk. Továbbá, hogy, mekkora egy ilyen enzim aktivitása, specifitása, és milyen mértékben befolyásolja ezeket az ATCUN motívum és a cinkujj alegységek közötti összekötő aminosavszekvencia.



2. ábra: Doktori dolgozatomban érintett területek, és azok egymásra épülésének sematikus vázlatja.

II. Kísérleti módszerek

A kísérletek során felhasznált bakteriális DNS hordozókat és a fehérjék génjeit rekombináns DNS technológia segítségével állítottuk elő. A fehérjéket *E. coli* baktériumtörzsekben fejeztük ki, és tisztításukhoz Ni(II)-affinitás alapú szakaszos (batch) és HPLC tisztítási módszereket alkalmaztunk. A tisztítás lépéseit, illetve a fehérjék hidrolízisét nátrium-dodecil-szulfát poliakrilamid gélelektroforézis (SDS-PAGE) segítségével követtük nyomon. A reakciótermékek épségét cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópiával és elektropray ionizációs tömegspektrometriával (ESI-MS) határoztuk meg. A fehérjék fémkötését UV-Vis abszorbancia, CD, és fluoreszcencia spektroszkópia valamint izotermális titrálásos kalorimetria (ITC) segítségével vizsgáltuk, továbbá ebből a célból is hajtottunk végre ESI-MS méréseket. A fehérjék DNS-felismerését rövid DNS molekulákkal gélelektroforézis sáveltolódás (EMSA), CD és fluoreszcencia anizotrópia spektroszkópia segítségével tanulmányoztuk. A fehérjék DNS hasítását agaróz gélelektroforézis felhasználásával követtük nyomon.



3. ábra: Doktori dolgozatomban alkalmazott kísérleti módszerek sematikus bemutatása.

III. Új tudományos eredmények

T1. A Ni(II)-indukált szelektív peptidhidrolízis megvalósítható egy cinkujj fehérje esetében anélkül, hogy a cinkujj alegységek szerkezete és funkciója módosulna, míg Cu(II)-vel a reakció nem eredményez ép, funkcionális cinkujj fehérjét.

T1.1 SDS-PAGE vizsgálatok segítségével megállapítottuk, hogy az (S/T)XH szekvenciát tartalmazó, több alegységből álló cinkujj fehérjék Ni(II)-indukált peptidhidrolízis révén szelektíven és kvantitatíven elhasíthatók az (S/T) aminosavat megelőző peptidkötés mentén 3 nap alatt 50 °C-on (pH 8,2).

T1.2 Amennyiben az (S/T)XH aminosavszekvencia nem a cinkujj fehérjék szekvenciáján belül helyezkedik el, a folyamat végén a cinkujj alegységek sértetlenek maradnak, továbbra is Zn(II)-t kötnek, és a fehérje másodlagos szerkezete és funkciója is változatlan.

T1.3 A Ni(II)-indukált hidrolízis azonos végterméket eredményez, mint a fehérjetisztítások során alkalmazott ULP1 proteáz.

T1.4 A fehérje egy további Ni(II)-t is megköt az új N-terminális végén kialakult ATCUN motívumban. Az N-terminális ATCUN motívum Ni(II)-komplexe kinetikai inertségének köszönhetően a legtöbb oldatkémiai vizsgálat során nem befolyásolja a cinkujj alegységek tanulmányozását, továbbá a Ni(II) 10 × feleslegben sem képes versengeni a Zn(II)-vel a cinkujj kötőhelyekért.

T1.5 Kimutattuk, hogy Cu(II)-vel nem hajtható végre a hidrolízis, mivel Cu(II)-jelenlétében a cinkujj alegységek másodlagos szerkezete összeomlik CD spektroszkópiás vizsgálatok alapján, majd a fehérje kicsapódik.

T1.6 Bizonyítottuk, hogy amennyiben a fehérje N-terminális végén az ATCUN motívum szabadon volt miközben, a cinkujj alegységek telítettek voltak Zn(II)-vel, a Cu(II) elsőként az ATCUN motívumhoz koordinálódott, és csak Cu(II) felesleg alkalmazása esetében kezdődött meg a fehérje szerkezetének fokozatos összeomlása.

T2. Bemutattuk, hogy az 1MEY# mesterséges cinkujj fehérjében az egyes alegységek termodinamikai tulajdonságai nagy hasonlóságot mutatnak a CP1 modellpeptiddel, azonban a Zn(II)-kötés tovább stabilizálódik a fehérje DNS célszekvenciájának jelenlétében.

T2.1 Kompetíciós ITC és CD titrálások alapján megállapítottuk, hogy az 1MEY# cinkujj fehérje cinkujj alegységeinek Zn(II)-stabilitása ($\lg\beta' = 12,2$) és a Zn(II)-kötésre jellemző entalpiája ($\Delta H_{\text{kötőhely}} = -23,5$) hasonló a fehérje alapjául szolgáló CP1 modellpeptid értékeihez. Ez azt sugallta, hogy a kötőhelyek összekapcsolása nem befolyásolta jelentősen a viselkedésüket, azok egymástól függetlennek tekinthetők.

T2.2 Gélelektroforézis sáveltolódás és fluoreszcencia anizotrópia vizsgálatok alapján kimutattuk, hogy az 1MEY# cinkujj fehérje felismeri DNS célszekvenciáját és a kölcsönhatásra jellemző asszociációs állandó 10^9 nagyságrendbe esik. Két nagyságrend különbség volt a specifikus és nonspecifikus, de guaninban gazdag szekvenciák felismerésére vonatkozó fehérje–DNS affinitásban.

T2.3 Igazoltuk, hogy a fehérje DNS-kötése termodinamikailag stabilizálja a Zn(II)-kötést. A DNS célszekvencia jelenlétében a fehérje látszólagos Zn(II)-affinitása 3,4 nagyságrenddel növekedett.

T3. Igazoltuk, hogy az Ag(I) képes meggátolni egy cinkujj fehérje DNS-felismerését, és Cys₂His₂ cinkujj fehérjék esetében 2 Ag(I) szorít ki egy Zn(II)-t egy cinkujj kötőhelyről. Emellett kimutattuk, hogy további Ag(I) is koordinálódik a fehérjéhez, ám ezen klaszterek pontos szerkezete nehezen határozható meg.

T4. Egyértelműen igazoltuk, hogy nagy Zn(II)-affinitású cinkujj fehérjékben a Cd(II) a Zn(II)-hez hasonlóan koordinálódik a Cys₂His₂ kötőhelyekhez 1-2 nagyságrenddel kisebb affinitással. A kialakult komplex szerkezete nagyban hasonlít a Zn(II) komplexéhez, és a fehérje DNS célszekvenciáját is felismeri, de $\sim 0,6$ nagyságrenddel csökkent affinitással.

T5. A Hg(II) kloridion-mentes közegben legalább 4 nagyságrenddel erősebben koordinálódik a Cys₂His₂ cinkujj alegységekhez mint Zn(II), rendezetlen fehérjeszerkezetet kialakítva. Így a fehérje a továbbiakban nem volt képes DNS célszekvenciájához kötődni. Az IMEY# fehérje több mint 12 Hg(II) megkötésére is képes Hg(II)-felesleg jelenlétében. A fémionok pontos koordinációja nem ismert, de fluorimetriás mérésel követett kompetíciós mérések alapján mindegyik fémion koordinációja legalább 10⁹ nagyságrendbe eső stabilitási állandóval jellemezhető.

T6. Bemutattuk, hogy a Ni(II)-indukált szelektív peptidhidrolízis alkalmazható, mint fehérjetisztítási módszer. Egy célfehérjét C-terminális hisztidintoldalékkal kifejezve, tisztítást követően ez a toldalék maradék aminosavak nélkül eltávolítható Ni(II)-indukált szelektív peptidhidrolízis révén mind oldatban, mind Ni-NTA gyantán. CD spektroszkópiás és ESI-MS mérések alapján a hidrolitikus reakció N-terminális fragmense maga a natív fehérje, így bizonyítottuk, hogy drága és körülményes proteázok helyett Ni(II)-ionokat alkalmazva is megvalósítható egy natív szekvenciájú fehérje előállítás és tisztítása.

T7. Az NColE7 nukleáz és módosított változatainak tanulmányozása során kimutattuk, hogy ezeknek a baktériumsejtekre rendkívül toxikus enzimeknek az előállítása az általunk kifejlesztett fehérjeelőállítási és tisztítási módszerrel lehetségessé vált, holott a toldalék hiányában a fehérje génjét bejuttatva egy sejtbe az minimális mennyiségű fehérje képződése miatt elpusztul.

T7.1 A gátolt aktivitású enzim Ni(II)-indukált szelektív hidrolízis révén újra aktiválható, ami a nukleázok szabályozását teszi lehetővé.

T7.2 Nukleáz-aktivitás és CD spektroszkópiás mérésekkel igazoltuk, hogy az effektusért nem teljes mértékben allosztérikus hatások felelősek. A hisztidintoldalék az enzim aktív centrumában lévő Zn(II) szabad koordinációs

helyéhez köt, ami akadályozza a szubsztrát megkötését. Ez imidazoltartalmú kis molekulatömegű modellvegyületekkel is igazolható volt.

T8. Kimutattuk, hogy az 1MEY# cinkujj fehérje Ni(II) és Cu(II) komplexét felhasználva hasítható DNS. A reakciót befolyásolta az ATCUN motívum és a cinkujj alegységek közötti linkerszakasz hossza.

- T8.1 Előállítottunk olyan 1MEY# cinkujj-ATCUN fúziós fehérjéket, melyek Ni(II) és Cu(II) komplexei képesek voltak DNS hasítást előidézni körkörös DNS hordozókban. A fehérjekomplexek aktivitása és specifikusa azonban mérsékelt volt.
- T8.2 Olyan új DNS hordozókat terveztünk, amelyekben több fehérje felismerési hely is található, ezzel elősegítettük a specifikus hasítások megjelenését a vizsgálatok során.
- T8.3 Sikeresen előállítottunk 9 módosított 1MEY# fehérjét, amelyekben a cinkujj alegységeket és az ATCUN motívumot összekötő linkerszakasz hosszát és aminosav összetételét változtattuk meg. A fehérjék szerkezete, mérete és fém tartalma SDS-PAGE, ESI-MS és CD mérések alapján a vártak megfelelő volt, így igazoltuk, hogy a linker hossza nincs hatással a cinkujj alegységekre.
- T8.4 Az újratervezett 1MEY# fehérjeváltozatok segítségével bemutattuk, hogy a DNS hasítás fokozható, amennyiben a linkerszakasz rövidebb, illetve több, pozitív töltéssel rendelkező aminosavat tartalmaz.

IV. Tudományos publikációk

Magyar Tudományos Művek Tára (MTMT) azonosító: 10054660

A dolgozat alapját képező közlemények:

1. A. Belczyk-Ciesielska, B. Csipak, **B. Hajdu**, A. Sparavier, M.N. Asaka, K. Nagata, B. Gyurcsik, W. Bal: Nickel (II)-promoted specific hydrolysis of zinc finger proteins, *Metallomics*, DOI: 10.1039/C8MT00098K IF = 3,571
 2. H.A.H. Abd Elhameed, **B. Hajdu**, R. K Balogh, E. Hermann, É. Hunyadi-Gulyás, B. Gyurcsik: Purification of proteins with native terminal sequences using a Ni (II)-cleavable C-terminal hexahistidine affinity tag, *Protein Expr. Purif.*, DOI: 10.1016/j.pep.2019.03.009 IF = 1,513
 3. H.A.H. Abd Elhameed, **B. Hajdu**, A. Jancsó, A. Kéri, G. Galbács, É. Hunyadi-Gulyás, B. Gyurcsik: Modulation of the catalytic activity of a metallonuclease by tagging with oligohistidine, *J. Inorg. Biochem.*, DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2020.111013 IF = 4,155
 4. K. Kluska, G. Veronesi, A. Deniaud, **B. Hajdu**, B. Gyurcsik, W. Bal, A. Krezel: Structures of silver fingers and a pathway to their genotoxicity, *Angew. Chem. Int. Ed.*, DOI: 10.1002/anie.202116621 IF = 16,823 (2021)
 5. **B. Hajdu**, É. Hunyadi-Gulyás, B. Gyurcsik: Interactions of an artificial zinc finger protein with Cd(II) and Hg(II): Competition and metal and DNA binding, *Inorganics*, DOI: 10.3390/inorganics11020064 IF = 3,149 (2021)
 6. **B. Hajdu**, É. Hunyadi-Gulyás, K. Kato, A. Kawaguchi, K. Nagata, B. Gyurcsik: Zinc binding of a Cys2His2-type zinc finger protein is enhanced by the interaction with DNA, *J. Biol. Inorg. Chem.*, DOI:10.1007/s00775-023-01988-1 IF = 3,862 (2021)
- ΣIF = 33,073

Az értekezés témaköréhez nem kapcsolódó közlemények:

1. **B. Hajdu**, G. Czakó: Benchmark ab initio characterization of the complex potential energy surfaces of the $X^- + \text{NH}_2\text{Y}$ [X,Y = F, Cl, Br, I] reactions, *J. Phys. Chem. A*, DOI: 10.1021/acs.jpca.7b11927 IF = 2,641
 2. N. Ivošević DeNardis, J. Pečar Ilić, I. Ružić, N. Novosel, T. Mišić Radić, A. Weber, D. Kasum, Z. Pavlinska, R.K. Balogh, **B. Hajdu**, A. Marček Chorvátová, B. Gyurcsik: Algal cell response to laboratory-induced cadmium stress: a multimethod approach, *Eur. Biophys J.*, DOI: 10.1007/s00249-019-01347-6 IF = 2,094
 3. V. Pósa, **B. Hajdu**, G. Tóth, O. Dömötör, C. R. Kowol, B. K. Keppler, G. Spengler, B. Gyurcsik, Éva A. Enyedy: The coordination modes of (thio)semicarbazone copper(II) complexes strongly modulate the solution chemical properties and mechanism of anticancer activity, *J. Inorg. Biochem.*, DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2022.111786 IF = 4,336 (2021)
 4. T.V. Petrasheuskaya, F. Kovács, N. Igaz, A. Rónavári, **B. Hajdu**, L. Bereczki, N.V. May, G. Spengler, B. Gyurcsik, M. Kiricsi, É. Frank, É.A. Enyedy: Estradiol-based salicylaldehyde (thio)semicarbazones and their copper complexes with anticancer, antibacterial and antioxidant activities, *Molecules*, DOI 10.3390/molecules28010054 IF = 4,927 (2021)
- $\Sigma \text{IF} = 13,998$
 $\Sigma\Sigma \text{IF} = 47,071$

Az értekezés anyagához kapcsolódó saját előadások, poszterek:

1. **Hajdu B.**, Kiricsi M., Moncol J. Gyurcsik B. (magyar nyelvű előadás)
Kismolekulák és fehérjék kölcsönhatása DNS-sel fémionok jelenlétében
52. Komplex Kémiai Kollokvium, 2018.05.22-24 Balatonvilágos, Magyarország
2. **Hajdu B.**, Kato K., Kyosuke N., Gyurcsik B. (magyar nyelvű előadás)
Fémtartalmú fehérje alapú nukleázok DNS specifitása
53. Komplex Kémiai Kollokvium, 2019.05.21-23 Velence, Magyarország
3. **B. Hajdu**, H. Abd Elhameed, E. Hermann, É. Hunyadi-Gulyás, K. Kato, N. Kyosuke, W. Bal, B. Gyurcsik (angol nyelvű poszter)
Applications of Ni(II)-Induced Peptide Bond Cleavage
19. ICBIC, 2019.08.11-16 Interlaken, Svájc
4. **B. Hajdu**, R. Csáki, K. Kato, N. Kyosuke, B. Gyurcsik (Angol nyelvű előadás)
Novel zinc finger-based artificial nucleases
ARBRE-MOBIEU, 2020.02.24-26 Prága, Csehország
5. **Hajdu B.**, Gyurcsik B. (magyar nyelvű előadás)
Hogyan szerkeszthetünk DNS-t?
XV. PSAK, 2020.10.08-10 online
6. **Hajdu B.**, Gyurcsik B. (magyar nyelvű előadás)
Cinkujj fehérjék kölcsönhatása fémionokkal
54. Komplex Kémiai Kollokvium, 2021.05.26-27 online
7. **B. Hajdu**, B. Gyurcsik (angol nyelvű poszter)
Metal binding of a potential zinc finger nuclease
35th Anniversary Protein Science Symposium, 2021.07.07-14 online
Protein Sci. 2021, 30, 69.
8. **B. Hajdu**, B. Gyurcsik (angol nyelvű poszter)
Interaction of an artificial zinc finger protein with toxic metal ions.
Workshop on Structural Biophysics, 2021.12.06-10 Bordeaux, Franciaország
9. **B. Hajdu**, B. Gyurcsik (angol nyelvű poszter)
Interaction of an artificial zinc finger protein with toxic metal ions
1st MOSBRI scientific conference, 2022.06.20-22 Párizs, Franciaország
10. **B. Hajdu**, É. Hunyadi-Gulyás, B. Gyurcsik (angol nyelvű poszter)
Interaction of a Cys2His2 zinc finger protein with toxic metal ions
16th EuroBIC, 2022.07.17-21 Grenoble, Franciaország
11. **Hajdu B.**, Gyurcsik B. (magyar nyelvű előadás)
Mesterséges cinkujj fehérje kölcsönhatása toxikus fémionokkal
XVI. PSAK, 2022.10.13-15 Szeged

Az értekezés anyagához kapcsolódó előadások, poszterek társszerzőként:

1. Z. Fábíán, **B. Hajdu**, E. Hermann, H. Abd Elhameed, W. Bal, B. Gyurcsik (angol nyelvű poszter)
Affinity protein purification resulting in protein sequence without remaining amino acid residues.
ISMEC2018, International Symposium on Metal Complexes, 2018.06.03-07 Firenze, Olaszország
2. E. Németh, Z. Fábíán, **B. Hajdu**, E. Hermann, R.K. Balogh, C. Oostenbrink, K. Nagata, B. Gyurcsik (angol nyelvű előadás)
Design and investigation of novel zinc finger–NCoIE7-based artificial nucleases.
ISMEC2018, International Symposium on Metal Complexes, 2018.06.03-07 Firenze, Olaszország
3. B. Gyurcsik, Z. Fábíán, E. Hermann, E. Németh, **B. Hajdu**, R.K. Balogh, H.A. Hosiny, C. Oostenbrink, K. Nagata (angol nyelvű előadás)
Development of novel zinc finger-based artificial nucleases.
43rd International Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018), 2018.07.30-08.04 Sendai, Japán
4. B. Gyurcsik, **B. Hajdu**, Z. Fábíán, E. Hermann, E. Németh, R.K. Balogh, H. Hosiny, C. Oostenbrink, K. Nagata (angol nyelvű poszter)
Multiple allosteric control in novel zinc finger-based artificial nucleases.
14th European Biological Inorganic Chemistry Conference (EuroBIC 14), 2018.08.26-30 Birmingham, Egyesült Királyság
5. Gyurcsik B., **Hajdu B.**, H.A.H. Abd Elhameed, Balogh R.K., Hermann E., Németh E. (magyar nyelvű előadás)
Szabályozott fehérjealapú mesterséges enzimek fejlesztése
Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottság és a Koordinációs Kémiai Munkabizottság Munkabizottsági ülése, 2018.11.8-9 Veszprém
6. B. Gyurcsik, **B. Hajdu**, E. Hermann, R.K. Balogh, H.A.H. Abd Elhameed (angol nyelvű előadás)
Intramolecular allosteric control of NCoIE7 metallonuclease based on the specific protease action of nickel(II) ions.
Molecular Biophysics: ABC of the puzzle of Life, ARBRE-MOBIEU Plenary Meeting, 2019.03.18-20 Zágráb, Horvátország
7. Gyurcsik B., **Hajdu B.**, H.A.H. Abd Elhameed, W. Bal, K. Nagata (magyar nyelvű előadás)
Fémionok által szabályozott mesterséges nukleázok.
53. Komplexkémiai Kollokvium és az MTA Koordinációs Kémiai Munkabizottság ülése, 2019.05.21-23 Velence
8. Hermann E., H.A.H. Abd Elhameed, Németh E., Csáki R., **Hajdu B.**, C. Oostenbrink, Gyurcsik B (magyar nyelvű előadás)

- A C45-ZF-N85 összetett cinkujj-nukleáz és mutánsainak előállítására és vizsgálata.*
MKE Vegyészkonferencia, 2019.06.24-26 Eger
9. H.A. Abd Elhameed, **B. Hajdu**, E. Hermann, M.K. Goppisetty, M. Kiricsi, D.A. Ungor, E. Csapó, W. Bal, B. Gyurcsik (angol nyelvű előadás)
Metal ions as regulatory elements of artificial nucleases.
ISMEC2019, International Symposium on Metal Complexes, 2019.06.11-14 Debrecen
 10. H.A.H. Abd Elhameed, **B. Hajdu**, B. Gyurcsik (angol nyelvű poszter)
Modulation of catalytic activity of the NCoIE7 metallonuclease.
ISMEC2019, International Symposium on Metal Complexes, 2019.06.11-14 Debrecen
 11. B. Gyurcsik, **B. Hajdu**, H.A. Abd Elhameed, W. Bal, K. Nagata (angol nyelvű előadás)
Metal ions as regulatory elements of artificial DNA cleaving enzymes.
15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC15), 2019.06.02-05 Nara, Japán
 12. E. Hermann, H.A. Abd Elhameed, E. Németh, R. Csáki, **B. Hajdu**, B. Gyurcsik (angol nyelvű előadás)
Purification and characterization of the C45-ZF-N85 artificial zinc-finger nuclease and its mutants.
XXVII. International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry (XXVII. ICCBIC), 2019.06.02-07 Smolenice, Szlovákia
 13. B. Gyurcsik, **B. Hajdu**, H.A.H Abd Elhameed, W. Bal, K. Nagata (angol nyelvű poszter)
Metal ions as regulatory elements of artificial DNA cleaving enzymes.
Serbian Biochemical Society, Ninth Conference with international participation, University of Belgrade, 2019.11.14-16 Belgrád, Szerbia
 14. H.A.H. Abd Elhameed, **B. Hajdu**, N. Igaz, M.K. Goppisetty, M. Kiricsi, D. Ungor, E. Csapó, B. Gyurcsik (angol nyelvű poszter)
6×His tag modulates the catalytic activity of NCoIE7 nuclease.
Living Molecules: Towards Integrative Biophysics of the Cell, ARBRE-MOBIEU Plenary Meeting, 2020.02.24-26 Prága, Csehország
 15. B. Gyurcsik, **B. Hajdu**, H.A. Abd Elhameed, K. Nagata (angol nyelvű előadás)
Metal ions as regulators of hydrolytic enzymes.
XXVIII. International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry (XXVIII. ICCBIC), 2022.06.05-10 Smolenice, Szlovákia
 16. B. Gyurcsik, **B. Hajdu**, H.A. Abd Elhameed, A. Jancsó, É. Hunyadi-Gulyás (angol nyelvű előadás)
Interplay of multiple metal ion binding sites regulates the catalytic activity of metalloenzymes

EuroBIC-16, 16th European Biological Inorganic Chemistry Conference,
2022.07.17-21 Grenoble, Franciaország

Az értekezés anyagához nem kapcsolódó előadások és poszterek:

1. **Hajdu B.**, Kis M.L., Ivayla P., Gyurcsik B. (magyar nyelvű előadás)
Monensin A – egy ionofór antibiotikum fémkomplexei kétértékű fémionokkal
54. Komplex Kémiai Kollokvium, 2021.05.26-27 online
2. **Hajdu B.**, Kis M.L., Ivayla P., Gyurcsik B. (magyar nyelvű előadás)
Monenzin A kölcsönhatása kétértékű fémionokkal
XLIV. Kémiai Előadói Napok, 2021.10.26-27 Szeged
3. V. Pósa, **B. Hajdu**, G. Tóth, O. Dömötör, C.R. Kowol, B.K. Keppler, G. Spengler, B. Gyurcsik, É.A. Enyedy (angol nyelvű poszter)
Effects of variations in coordination modes of copper(II) complexes of (thio)semicarbazones on solution chemical and biological properties
COST NECTAR 4th Annual Conference, 2021.09.06-08 Ljubljana