

Doktori (Ph. D.) értekezés tézisei



Fehérjékkel stabilizált arany/ezüst kétfémes nanoklaszterek

Turcsányi Árpád

Témavezető:

Juhászné Dr. Csapó Edit

egyetemi docens

Kémia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem

Természettudományi és Informatikai Kar

Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék

Szeged

2025

1. Bevezetés, előzmények, célkitűzés

A nemesfém nanoklaszterek (NCs) egyfajta határterületet képeznek a molekulák és a klasszikus nemesfém nanorészecskék (NPs) között. Nem nevezhetők már NPs-nek, mert már nem figyelhető meg nagyon kis méretük miatt a plazmonikus sajátságot kialakító lokalizált felületi plazmon rezonancia (LSPR), azaz az elektronok harmonikus mozgása adott energiájú gerjesztés hatására nem történik meg. Ezzel szemben a NCs-nél egyedi, inkább a molekulapályához hasonló energiaszintek alakulnak ki, amihez kapcsolódóan új optikai vagy mágneses sajátságok jelennek meg, ilyen például a fotolumineszcencia (fluoreszcencia vagy foszforeszcencia). E tulajdonságok szabályozhatóak a NCs-et alkotó atomok számával, anyagi minőségével és azok oxidációs állapotával, illetve a NCs felületét stabilizáló ligandumokkal (pontosabban az elektronban gazdag donoratomok minőségével és számával). További változást okozhat, ha nem egy, hanem kétféle fémből építjük fel a NCs-et, amivel olyan termékek állíthatók elő, melyek szerkezeti, optikai vagy katalitikus tulajdonságai különböznek mindkét alkotó elemből létrehozott tiszta nanoklaszter (NC) egyedi sajátságaitól. Az egy- és kétfémes nanostruktúrák alkalmazása orvosi biológiai területen ígéretes lehet, ezért elengedhetetlen biokompatibilis jellegük biztosítása. Ezt legtöbbször a stabilizáló molekulák helyes megválasztásával érhetjük el, amelyek lehetnek például aminosavak vagy fehérjék. Mindezen anyagok kiválasztásakor fontos, hogy olyan funkciós csoportokkal rendelkezzenek, amelyek képesek biztosítani a nemesfém ionok redukcióját, illetve az atomok önszerveződéséből képződő NCs megfelelő stabilizálását. A fehérjék esetén ez legtöbbször teljesül, mivel a bennük található kéntartalmú aminosavak (cisztein és metionin) kén-arany kötések kialakításával koordinálják és stabilizálják a fémionokat, míg az aromás oldalláncú aminosavak (pl.: tirozin) magas pH-érték mellett hatékonyabban képesek redukálni őket.

Kutatócsoportunk már hosszú ideje foglalkozik nemesfém nanostruktúrák, többek között NCs vizes közegű előállításával mind kismolekulák, mind makromolekulák felhasználásával. Doktori munkám megkezdésekor csoportunk döntően egyfémes NCs előállítási folyamatainak a kidolgozásával foglalkozott, melyet Ungor Ditta (2018) és Gombár Gyöngyi (2024) PhD értekezései is bizonyítanak. A PhD munkám kezdetekor egyetlen közlemény született kétfémes NCs-ről, ahol adenozin-monofoszfáttal stabilizált arany/ezüst NCs előállítására dolgoztak ki a csoport munkatársai egy zöldkémiai protokollt, és igazolták e sárgán emittáló, ~1 nm-es NCs analitikai tesztelés területén betöltött ígéretes szerepét.

Kutatómunkám során – ezen új kutatási irányvonalat folytatva – célul tűztük ki új, fehérjével stabilizált kétfémes (Au/Ag) NCs előállításának fejlesztését. Munkám kezdetekor a

szakirodalomban nem voltak fellelhető adatok lizozim (LYZ), gamma-globulin (γ G) és transferrin (Tf) fehérjével előállítható kétfémes NCs kialakítására, így ezen biomakromolekulák alkalmazhatóságának feltérképezése jelentette a dolgozat alapját. Emellett a marha szérum albumin (BSA) esetén új protokollt dolgoztunk ki a kétfémes NCs szobahőmérsékleten (25 °C-on) történő szintézisének megvalósítására. Kiemelt cél volt a nanoszerkezetű anyagok fluoreszcencia intenzitásának növelése (mivel a NCs egyetlen kevésbé előnyös sajátága alacsony kvantumhatásfokuk), amit az előállítási paraméterek szisztematikus változtatásával igyekeztünk szabályozni. Az optimalizálás során változtattuk a fémek molarányát, a fém-fehérje tömegarányt, a hőmérsékletet, a fémkoncentrációt és a szintézisidőt. A tisztított és részletesen jellemzett kétfémes rendszereket (az egyfémes NCs mellett) különböző alkalmazási területeken kíséreltük meg felhasználni. Vizsgáltuk potenciális fluoreszcens jelölőanyagként betöltött szerepüket kolloidális hatóanyag-hordozó részecskék esetén, ill. tanulmányoztuk őket analitikai jelzőanyagokként egy biológiai szempontból fontos vegyületcsalád, a triptofán metabolitok szelektív azonosítása céljából. Az előbbi esetben vizsgáltuk a jelölendő kolloidok és a jelzőanyag alkotta adduktumok optikai és kolloidstabilitását, ill. a felhasználást korlátozó tényezőket is megkíséreltük feltérképezni és értelmezni. A jelzőanyagok esetében vizsgáltuk a kinurenin és dopamin lebomlási útvonalak molekuláit, és a szelektíven azonosítható vegyület esetén részletes vizsgálatokat folytattunk a kimutatási határ (LOD) értékének meghatározása és a kialakuló kölcsönhatás paramétereinek feltérképezése érdekében.

2. Szintézisek és vizsgálati módszerek

2.1 Szintézisek

Fehérjével stabilizált egyfémes Au NCs előállítása: Az újonnan előállított NCs szintéziséhez minden esetben az ún. vizes közegű „templátos” eljárást alkalmaztuk, rendszerenként egyedi módosításokkal. A protokoll során először az adott fehérje megfelelő mennyiségét (15 mg BSA, 20 mg LYZ, 15 mg γ G és 1,5 mg Tf) oldottam fel 5 ml Milli-Q vízben (Tf-nél 920 μ l-ben). A megfelelő oldási idő után 10 mM HAuCl₄ oldatból adott térfogatokat adtam a protein oldatokhoz (80 μ l a Tf és 510 μ l a többi esetén), majd a pH-t 1 M NaOH adagolásával 12,0–12,5 közé növeltem, elősegítve a NCs képződési folyamatát. A teljes reakció 24 órát vett igénybe 40 °C-os termosztálás mellett, ezalatt sikerült elérni a maximális fluoreszcencia emissziót. A mintákat fénytől védve, kevertetés nélkül hagytam állni a NCs zavartalan képződésének biztosítása érdekében. A termékeket két körben, 2–2 órás időintervallumban, 1–1 liter Milli-Q vízben dializáltam, majd a diszperziókat hűtőben (+10 °C) tároltam.

Fehérjével stabilizált kétfémes NCs előállítása: A kétfémes, Au/Ag NCs előállítása számos változtatást igényelt a legnagyobb fluoreszcencia intenzitás elérése érdekében. Az egyfémes NCs-hez képest a mintákhoz emelt mennyiségű fehérjét (45 mg BSA, 45 és 60 mg LYZ, 90 mg γ G és 2,7 mg Tf) oldottam fel 5 ml (Tf-nél 960 μ l) Milli-Q vízben, majd alacsonyabb anyagmennyiségű fém prekuzort (HAuCl_4 és AgNO_3) adtam az oldatokhoz. A fémek egymáshoz viszonyított névleges molaránya 6:1 és 10,5:1 között változott, és az egyfémes NCs-hez képest 0,4–0,5-szörös anyagmennyiségeket alkalmaztam. Egy 5 perces homogenizálást követően a minták pH-ját 12,0–12,5 közé emeltem 1 M NaOH hozzáadásával, majd fénytől elzárva, szobahőmérsékleten (25 °C) hagytam kialakulni a kétfémes NCs-et, gyakorlati megfontolásokból 24 óra reakcióidőt biztosítva. Az így kialakult termékeket az arany NCs-ekkel azonos módon tisztítottam (kivétel a LYZ-tartalmú minták, itt az alacsonyabb kolloidstabilitás miatt csak egy dialízis lépést alkalmaztam). A kész vizes diszperziókat fénytől elzárva, hűtés mellett (+10 °C) tároltam.

Felhasznált pufferek:

- Foszfáttal pufferelt sóoldat (PBS): 0,2 M összesített koncentrációban NaH_2PO_4 és Na_2HPO_4 , továbbá 0,9 m/m% NaCl, pH = 7,4
- Mesterséges gerincevelő folyadék (aCSF): 1,2 mM KH_2PO_4 , 1,0 mM KCl, 127 mM NaCl, 2,4 mM CaCl_2 , 1,3 mM MgCl_2 , 26 mM NaHCO_3 , 10 mM D-glükóz tartalmú oldat

2.2 Műszeres vizsgálati módszerek

Nanoklaszter szintézis, optimalizálás: Jasco FP8500 spektrofluoriméter, normál mintatartó
Horiba Jobin Yvon Fluoromax-4 spektrofluoriméter, normál mintatartó

Fluoreszcencia paraméterek (kvantumhatásfok, élettartam): ABL&E Jasco FP-8500 spektrofluoriméter, ABL&E JASCO ILF-835 integráló gömb (100 mm átmérő) + ESC-842 kalibrált wolframszálas fényforrás (referencia spektrumok készítéséhez)

Horiba DeltaFlex időkorrelált egyedi fotonszámláló készülék (TCSPC), 371 nm-es DeltaDiode impulzusüzemű diódalézer fényforrás

Szilárd minta előkészítés: Christ Alpha 1-2 LDplus és Flexi DryTM (FTS Systems®, Inc.) liofilizáló készülékek

Fém tartalom, oxidációs állapot meghatározása: Agilent 7700X induktívan csatolt plazma - kvadrupólus tömegspektrométer (ICP-MS), Agilent I-AS típusú automatizált mintavevővel, MicroMist mikroáramú koncentrikus pneumatikus porlasztóval és Peltier-hűtésű, Scott-féle spray-kamrával ellátva

SPECS Röntgen fotoelektron spektroszkóp (XPS) PHOIBOS 150 MCD 9 félgömb analízátorral, Al-K_α röntgenforrás (200 W)

Hitachi S-4700 téremissziós elektronmikroszkóp Röntec XFlash röntgensugárzás-detektorral felszerelve (SEM-EDX)

Fehérje másodlagos szerkezet meghatározása: BIO-RAD Digilab Division FTS-65 A/896 spektrométer, ATR egyszeri reflexiós feltétellel (Harrick's Meridian® SplitPea)

ABL&E Jasco FT/IR-4700 Fourier-transzformációs infravörös spektroszkóp (FT-IR), ATR PRO ONE egyszeri reflexiós feltétellel

ABL&E Jasco J-1100 spektrométer (CD)

Méret és felületi potenciál: Fei-Tecni G2 20 X-Twin nagyfelbontású transzmissziós elektronmikroszkóp (HR-TEM)

Horiba SZ-100 NanoParticle Analyzer (DLS és zéta-potenciál), 532 nm Nd:YAG lézer fényforrás

Malvern Zetasizer NanoZS Zen 4003 (DLS), 633 nm-es He-Ne lézer fényforrással

Műtek PCD 04 áramlási potenciál mérésén alapuló részecske töltés titrátor (áramlási potenciál)

Fluoreszcens jelölés: Leica DM IL LED inverz konfokális fluoreszcens mikroszkóp

Analitikai érzékelés: Metrohm DropSense µStat 400 Bipotenciosztát/Galvanosztát, Metrohm gyártmányú, szitanyomással készített szénelektrod (SPCE), a munka- és ellenelektrod szén filmelektrod, a referencia elektrod AgCl borítású Ag másodfajú elektrod

VP-ITC mikrokaloriméter (MicroCal Inc., Northampton, MA, USA)

Biológiai vizsgálatok: Antibakteriális aktivitás tesztek Gram-pozitív (*Staphylococcus aureus*, meticillin-érzékeny és -rezisztens törzsek) és Gram-negatív (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) baktériumtörzseken

Citotoxicitás vizsgálata MTT-próbával doxorubicin-érzékeny Colo205 sejtvonalon és CCD-19Lu emberi normál fibroblaszt (kötőszöveti) sejtvonalon

Mérési adatok kiértékeléséhez használt szoftverek: Microsoft Office programcsomag

OriginPro 8.5 program

ImageJ szoftver

Jasco SpectraManager 2.0 szoftver + Secondary Structure Estimation program

Horiba EZTime program

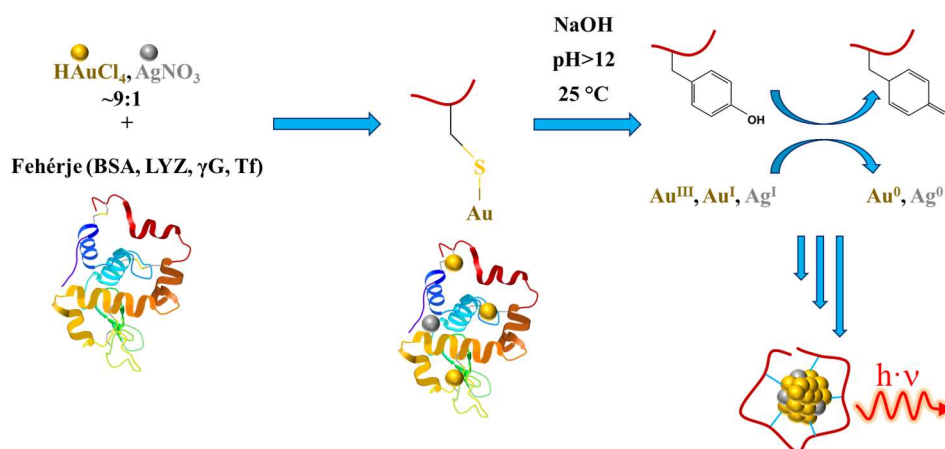
CasaXPS szoftver

Agilent Mass Hunter program

3. Új tudományos eredmények

(T1) Marha szérum albumin és lizozim fehérjék alkalmazásával megvalósítható Au/Ag kétfémes nanoklaszterek zöldkémiai úton történő előállítása, ahol a 3–10 m/m% ezüsttartalom kialakítása révén – a fehérje anyagi minőségétől függően – 1,5 %-ról ~2,5–7,5 %-ra növelhető a belső kvantumhatásfok értéke [1].

T1.1 Új tudományos eredményként bemutattuk, hogy a vizes közegű „templátos” eljárással (1. ábra) – és annak reakciókörülményeit szisztematikusan változtatva – megnövelt (a fémtartalomra vonatkozóan 5–7-szer nagyobb) fluoreszcencia intenzitású Au/Ag kétfémes NCs állíthatóak elő a BSA és LYZ fehérjék felhasználásával. Az arany 3–10 m/m%-ának ezüstre történő cseréje által a marha szérum albuminnal stabilizált Au NCs (BSA-Au NCs) fluoreszcencia maximuma $\lambda_{em} = 660$ nm-ről 620 nm-re hangolható (BSA-Au/Ag NCs), míg az antibakteriális hatású LYZ felhasználásakor $\lambda_{em} = 570$ és 600 nm fluoreszcencia maximummal rendelkező kétfémes NCs (LYZ-Au/Ag NCs) szintetizálhatóak. A szakirodalomban elsőként mutattuk be a LYZ alkalmasságát az Au/Ag kétfémes NCs „templátos” eljárással történő előállítására, illetve rámutattunk ezen fehérjék esetén a 25 °C-on történő szintézis lehetőségére.



1. ábra: Fehérjével stabilizált kétfémes Au/Ag NCs általános előállítási sémája.

T1.2 Az előállított és tisztított kétfémes NCs optikai és szerkezeti sajátságainak értelmezése során igazoltuk, hogy valamennyi termék μs -os átlagos élettartammal rendelkezik (három komponens illesztése alapján), és az ezüst beépülése révén kialakuló szinergisztikus hatás miatt a belső kvantumhatásfok a tiszta Au NCs-re jellemző 1,5 %-ról akár 7,5 %-ra növelhető. Az XPS mérések egyértelműen rámutattak az arany fémes karakterére, míg a CD és FT-IR mérésekkel együttesen bizonyítottuk a NC-képződés hatását a stabilizáló fehérjék másodlagos szerkezetére. A BSA-Au/Ag NCs-re vonatkozóan antibakteriális aktivitás és citotoxicitás próbákkal igazoltuk, hogy azok nem rendelkeznek biológiai aktivitással ($\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{M}$).

(T2) Poliszacharidokból felépülő összetett, hatóanyag-hordozóként funkcionáló kolloid részecskék fluoreszcens jelölése megvalósítható narancs/vörös emisszióval rendelkező, BSA-nal és LYZ-mal stabilizált egy- és kétfémes NCs alkalmazásával. Bizonyítható, hogy a fluoreszcens NC-kolloid részecske adduktumok vizes közegbeli stabilitását és a NCs-ekel történő fluoreszcens jelölés hatékonyságát a klasztermag összetétele, a NCs-et stabilizáló fehérje minősége és mennyisége, továbbá a hordozó részecskék összetétele, szerkezete és felületi töltése együttesen határozza meg [1, 2].

T2.1 A fluoreszcens NC-poliszacharid részecske méretbeli sajátosságait értelmezve megállapítottuk, hogy a megfelelő stabilitást biztosító fehérje anyagi minősége nem meghatározó, hiszen mindkét egyfémű NC kitozán/hialuronsav alkotta részecskékké váló kölcsönhatása során elég alacsony $m_{NC}:m_{kolloid}$ aránynál ($< 0,15$) már aggregáció figyelhető meg. A kétfémes NCs-ekel lényegesen stabilabb „komplex” részecskék jelenléte detektálható egészen $m_{NC}:m_{kolloid} \sim 1,5$ arányig, amit a kétfémes rendszerben jelenlévő nagyobb mennyiségű stabilizáló fehérje jelenléte biztosíthat. Rámutattunk arra is, hogy a BSA-nal stabilizált NCs felhasználásakor azonosíthatunk nagyobb mértékű aggregációt ugyanazon tömegarány beállítása mellett. A jelölés kivitelezési körülményei között ($pH = 4,0$) ezt okozhatja az, hogy a BSA közel semleges bruttó töltéssel rendelkezik, hiszen izoelektromos pontja (i.e.p) $\sim 4,0-4,5$, míg a LYZ bruttó pozitív töltésű (i.e.p $\sim 10,5-11,3$).

T2.2 A fluoreszcencia intenzitás változása vonatkozásában megállapítottuk, hogy a BSA-nal stabilizált NCs – akár egy- vagy kétféműek – fluoreszcencia intenzitás értékei nem változnak meg dominánsan a hordozó részecskék jelenlétében, míg a LYZ-mal felületmódosított Au NCs vonatkozásában lényeges erősítést figyelhetünk meg (1,4-szeres), ami az aggregáció-indukált fluoreszcencia erősítés (AIE) jelenségének tulajdonítható. A hordozó részecskék típusát összevetve kijelenthetjük, hogy a mag-héj szerkezetű részecskék felületi rétegében jelenlévő nagyobb mennyiségű negatív töltésű hialuronsav jobban hozzáférhető volt a LYZ-mal stabilizált NCs-ek. A poliszacharid molekulák képesek voltak valamilyen módon gátolni a NCs-et stabilizáló LYZ molekulák szabad mozgását, ezzel csökkentve az emisszió nélküli legerjesztődés valószínűségét és így erősítve azok fluoreszcenciáját.

(T3) Fiziológias közegben kiemelkedő kinetikai stabilitással rendelkező, fluoreszcens sajátosságot mutató Au/Ag nanoklaszterek már szobahőmérsékleten is előállíthatóak gamma-globulin immunfehérje alkalmazásával a vizes közegű „templátos” eljárással [3].

T3.1 Új tudományos eredményként mutattuk be, hogy gamma-globulin immunfehérjével stabilizált Au NCs (γG -Au NCs) optikai paraméterei szisztematikusan hangolhatóak, egyrészt

az arany atomok 10 százalékának ezüst atomokra történő cseréjével, másrészt a szintézis egyéb paramétereinek (fehérje koncentráció, hőmérséklet, fémtartalom, szintézisidő) változtatásával. Az új, μ s-os átlagos élettartammal rendelkező kétfémes NCs (γ G-Au/Ag NCs) fluoreszcencia maximuma közel azonos a kiindulási egyfémes származékkal (637 nm a 635 nm helyett), viszont a fluoreszcencia intenzitása közel 2,5-szeresre emelhető, ami javíthatja a képalkotásban és az analitikai célú felhasználásban betöltött szerepét.

T3.2 A tisztított γ G-Au/Ag NCs szerkezeti jellemzése során rámutattunk arra, hogy a fémionok redukciója teljes mértékben megvalósul a kidolgozott szintézis során, amit a klasztermag nominális és ICP-MS mérésekkel meghatározott valós összetételének közel azonos mértéke igazol. HR-TEM felvételekkel bizonyítottuk, hogy a klasztermagok $d = 1,61 \pm 0,54$ nm átlagos átmérővel rendelkeznek, míg DLS mérésekkel a fehérjével stabilizált, vizes közegben szolvatált NCs hidrodinamikai átmérőjére $d_H = 6,82 \pm 0,97$ nm értéket határoztunk meg. Az ötvözet klasztermag kialakulása elektrokémiai mérések eredményei alapján is valószínűsíthető. Biológiai aktivitást mérő próbákkal megállapítottuk, hogy a NCs még 50 μ M koncentráció felett sem rendelkeznek antibakteriális vagy citotoxikus hatással.

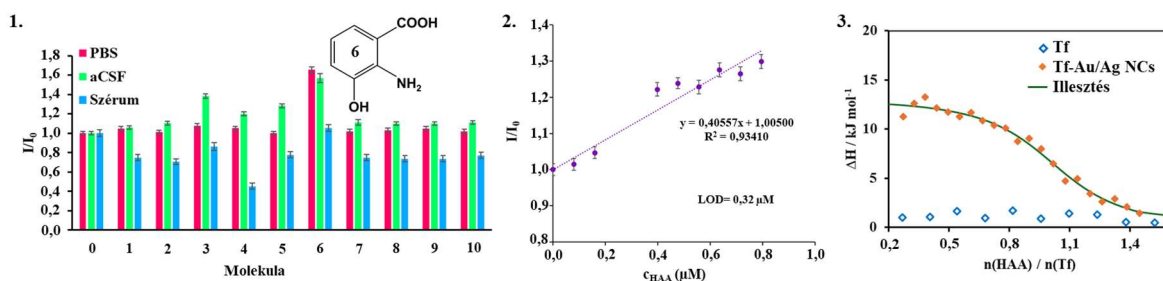
(T4) A transferrin mint transzportfehérje alkalmas vizes közegben a $[\text{AuCl}_4]^-$ és Ag^+ ionok egyidejű redukcióján át μ s-os átlagos élettartamú, a tiszta arany származékhoz képest közel négyszeres fluoreszcencia intenzitással rendelkező, $d \sim 2,0$ nm-es átlagos átmérőjű arany-ezüst kétfémes nanoklaszterek (Tf-Au₈₅/Ag₁₅ NCs) kialakítására [4].

T4.1 Új tudományos eredményként bemutattuk, hogy a szakirodalomban található Tf-Au NCs tulajdonságai jelentősen javíthatóak ezüst atomok klasztermagba történő beépítésével, ezáltal kétfémes Tf-Au/Ag NCs-et létrehozva. A kétfémes származék szintézise révén a fluoreszcencia intenzitás közel négyszeresére növelhető, míg az emissziós maximum $\lambda_{em} = 626$ nm-ről 610 nm-re módosítható. CD és FT-IR mérések révén igazolást nyert, hogy a fehérje szerkezetét erősen módosítja a NCs kialakulása, jelentősen csökkentve a rendezett másodlagos szerkezeti elemek (különösen az α -hélix) arányát. TEM mérésekkel a fémmagok méretére $2,0 \pm 0,3$ nm-t, míg DLS mérésekkel a fehérjével stabilizált nanoszerkezet hidrodinamikai átmérőjére $7,2 \pm 0,6$ nm értéket határoztunk meg. Fluorimetria, élettartammérések, valamint a jodidionnal történő kioltási reakciók vizsgálatával azonosítottuk a kétfémes termék fluoreszcenciájához hozzájáruló egyedi folyamatokat. Igazoltuk, hogy a NCs emisszióját döntően két folyamat szolgáltatja: az egyik a fémmagból származó átmenet, amit 583 nm-es emissziós hullámhossz és 250 ns élettartam jellemez, míg a legnagyobb részt a 670 nm emissziós hullámhosszú, 1,56 μ s élettartamú ligandum-fém átmenet adja.

(T5) Közel azonos méretű (1,5–2,0 nm) és fémösszetételű (10–15 % Ag tartalom), narancs/vörös emisszióval (610–630 nm) rendelkező Au/Ag NCs esetén kizárólag a stabilizáló γ G fehérje Tf-re történő cseréjével megváltoztatható azok érzékenysége a kinurenin útvonal molekuláinak érzékelésében [4].

T5.1 A triptofán lebomlási útvonalhoz, a kinurenin körhöz tartozó molekulák detektálhatósága során korábban igazolták a csoport munkatársai, hogy a γ G-nal stabilizált Au és Au/Ag NCs felhasználásával szelektíven azonosítható az *L*-kinurenin és a kinurénsav (megfelelő sorrendben) a NCs fluoreszcenciájának kioltása révén. Rámutattunk arra, hogy a γ G Tf-re történő cseréjével erősítési reakcióban (2. ábra) mutatható ki egy harmadik vegyület, a 3-hidroxiantranilsav. Koncentrációfüggést vizsgáló kísérletekkel meghatároztuk a LOD értékét, melyre foszfát-pufferelt fiziológiás sóoldatban (PBS) 0,55 μ M, míg mesterséges gerincvelő folyadékban (aCSF) 0,32 μ M érték adódott, ami jelentősen alacsonyabb hasonló analitikai alkalmazásokhoz képest (γ G-Au NCs/*L*-kinurenin: 15–22 μ M, γ G-Au/Ag NCs/kinurénsav: 60–80 μ M PBS és aCSF közegekben). Vizsgálatainkat hígított emberi vészsérum közegben is elvégeztük, igazolva a NCs biológiai közegben történő alkalmazásának megvalósíthatóságát.

T5.2 A 3-hidroxiantranilsav, a Tf és a Tf-Au/Ag NCs közötti kölcsönhatás ITC mérésekkel történő vizsgálata során bizonyítottuk, hogy a Tf-nel nincs kimérhető kölcsönhatás, míg a NCs esetében az egyértelműen kimutatható (2. ábra), ami alátámasztja alkalmazhatóságukat analitikai tesztekben. A reakció termodinamikai paramétereinek értelmezése során igazoltuk, hogy a reakció termodinamikailag kedvezményezett ($\Delta G^0 = -36,0$ kJ/mol), endoterm ($\Delta H^0 = +13,1$ kJ/mol), entrópia vezérelt ($\Delta S^0 = 165$ J/mol K). Az alkalmazott modell alapján egy kötőhelyet feltételezhetünk ($N = 1,03$) a NCs-et stabilizáló fehérje felületén, $K_a = 2,17 \times 10^6$ M⁻¹ kötési állandóval.



2. ábra: (1) A NCs fluoreszcencia intenzitás értékeinek a változása a kinurenin útvonal molekuláival (1–10) való kölcsönhatás révén eltérő közegekben; (2) a kimutatási határ megállapítása aCSF közegben a (6) ligandum esetén; (3) a Tf és a Tf-Au/Ag NCs (6)-os ligandummal való kölcsönhatásának vizsgálata során regisztrált entalpogramok.

4. Az eredmények várható hasznosítása

Doktori munkámat Juhászné Dr. Csapó Edit kutatócsoportjában kezdtem meg. A csoport az országban egyedülálló a fluoreszcens fém nanoklaszterek kutatásában, a több évre visszamenő kutatások és megszerzett tudás jól hasznosítható további, hangolható fotolumineszcens tulajdonságokkal rendelkező anyagok előállítása és alkalmazása során. Ezek az anyagok számos olyan sajátossággal rendelkeznek, melyek potenciális hasznosulást ígérnek a különböző orvosi biológiai területeken (pl. nagyobb fotostabilitás, megfelelő biokompatibilitás). A létrehozott anyagok új alkalmazási területet adtak a fluoreszcens jelölés, képalkotás területén, mivel az eddigiektől eltérően nemcsak sejtek és szövetek, hanem hatóanyag-hordozó rendszerek jelölése is megvalósításra került. Ilyen célú alkalmazásuk lehetővé teszi a hordozó részecske szervezeten belüli útjának, felhalmozódási helyeinek illetve a hatóanyag kioldódásának követését, továbbá segíti a gyógyszerhordozók fejlesztését is. Az analitikai érzékelés területén újabb jelzőanyagokat sikerült előállítani, melyek a kinurenin útvonal molekuláinak szelektív érzékelését teszik lehetővé, ezzel megalapozva egy, a triptofán bomlási útvonal molekuláit célzó jelzőanyag készlet létrehozását. Egy ilyen készlet fejlesztése gyors, egyszerű és megbízható érzékelést tesz lehetővé olyan anyagok kimutatására, amik az emberi szervezetben jelentős szereppel bírnak, kiemelve a neurodegeneratív betegségeket, ahol bizonyos vegyületek koncentrációjának megváltozása jelezheti egy adott kórkép kialakulását. Ilyen esetekben a változás követését lehetővé tevő rendszerek (pl. egyszerű papír alapú próbák) fontos eszközökké válhatnak a betegségek gyors felismerésében és a minél korábbi terápia elkezdésében.

5. Publikációs lista

A Magyar Tudományos Művek Tára (MTMT) azonosító: **10067812**

A doktori munkához kapcsolódó tudományos közlemények:

[1] **Á. Turcsányi**, D. Ungor, E. Csapó; Fluorescent Labeling of Hyaluronic Acid-Chitosan Nanocarriers by Protein-Stabilized Gold Nanoclusters; Crystals; 10(12) (2020) 1113.

<https://doi.org/10.3390/cryst10121113>

Q2, IF = 2,589

[2] **Á. Turcsányi**, D. Ungor, M. Wojnicki, E. Csapó; Protein-stabilized bimetallic Au/Ag nanoclusters as fluorescent reporters: Synthesis, characterization and their interactions with biocolloids; Journal of Molecular Liquids, 370 (2023) 121002.

<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.121002>

Q1, IF = 5,3

[3] D. Ungor, **Á. Turcsányi**, B. Torma, E. Csapó; Gold/silver bimetallic nanoclusters stabilized by immunoprotein: Tuning the selectivity for identification of kynurenine pathway metabolites; Journal of Molecular Liquids, 402 (2024) 124756.

<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.124756>

Q1, IF = 5,2

[4] **Á. Turcsányi**, Á. Juhász, E. Csapó; Transferrin-stabilized bimetallic nanoclusters: Design of a new fluorescent biosensor to identify tryptophan metabolites; Materials Today Chemistry, 47 (2025) 102835.

Q1, IF = 6,7

ΣIF = 19,789

Egyéb tudományos közlemények:

[5] L. Janovák, **Á. Turcsányi**, É. Bozó, Á. Deák, L. Mérai, D. Sebők, Á. Juhász, E. Csapó, M. M. Abdelghafour, E. Farkas, I. Dékány, F. Bari; Preparation of novel tissue acidosis-responsive chitosan drug nanoparticles: Characterization and in vitro release properties of Ca²⁺ channel blocker nimodipine drug molecules; European Journal of Pharmaceutical Sciences, 123 (2018) 79–88.

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.07.031>

Q1, IF = 3,532

[6] K. Majrik, **Á. Turcsányi**, Z. Pászti, T. Szabó, A. Domján, J. Mihály, A. Tompos, I. Dékány, E. Tálas; Graphite Oxide-TiO₂ Nanocomposite Type Photocatalyst for Methanol Photocatalytic Reforming Reaction; Topics in Catalysis, 61 (2018) 1323–1334.

<https://doi.org/10.1007/s11244-018-0989-z>

Q1, IF = 2,226

[7] N. Varga, **Á. Turcsányi**, V. Hornok, E. Csapó; Vitamin E-Loaded PLA- and PLGA-Based Core-Shell Nanoparticles: Synthesis, Structure Optimization and Controlled Drug Release; *Pharmaceutics*, 11(7) (2019) 357.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11070357>

Q1, IF = 4,421

[8] **Á. Turcsányi**, N. Varga, E. Csapó; Chitosan-modified hyaluronic acid-based nanosized drug carriers; *International Journal of Biological Macromolecules*, 148 (2020) 218–225.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.118>

Q1, IF = 6,953

[9] N. Varga, L. Seres, N. A. Kovács, **Á. Turcsányi**, Á. Juhász, E. Csapó; Serum albumin/hyaluronic acid nanoconjugate: Evaluation of concentration-dependent structural changes to form an efficient drug carrier particle; *International Journal of Biological Macromolecules*, 220 (2022) 1523–1531.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.125>

Q1, IF = 8,2

[10] K. W. K. Amin, Á. Deák, M. Csanády, Jr., N. Szemerédi, D. Szabó, **Á. Turcsányi**, D. Ungor, G. Spengler, L. Rovó, L. Janovák; pH-Triggered Hydrogel Nanoparticles for Efficient Anticancer Drug Delivery and Bioimaging Applications; *Pharmaceutics*, 16 (2024) 931.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16070931>

Q1, IF = 5,5

$\Sigma IF = 30,823$; $\Sigma \Sigma IF = 50,621$

Konferencia részvételek (poszter, előadás) a PhD munka témájában:

1. **Turcsányi Á.**; Kitozán/Hialuronsav típusú hatóanyag-hordozó rendszerek szintézise és jelölése fluoreszcens arany nanoklaszterekkel; XXIV. Tavaszi Szél Konferencia, 2021. május 28–30, Miskolc, Magyarország (magyar nyelvű előadás)

2. **Á. Turcsányi**, E. Csapó; Synthesis of chitosan/hyaluronan type drug carriers and their fluorescent labeling with protein/gold nanoclusters; 13th International Conference on nanomaterials – Research and Application, 20–22 October, 2021, Brno, Czech Republic (poszter)

3. **Á. Turcsányi**, D. Ungor, E. Csapó; Fluorescent labeling of drug carriers with gold nanoclusters and bimetallic silver-gold nanoclusters; 11th International Colloids Conference, 12–15 June, 2022, Lisbon, Portugal (poszter)

4. **Á. Turcsányi**, D. Ungor, E. Csapó; Utilization of gold nanoclusters and bimetallic silver-gold nanoclusters as fluorescent reporters; 18th European Student Colloid Conference, 26–30, June, 2022, Szeged, Hungary (angol nyelvű előadás)

5. **Á. Turcsányi**; Utilization of protein-stabilized bimetallic nanoclusters for the detection of kynurenine pathway molecules; 16th International Conference on Nanomaterials – Research & Application, 17–19 October, 2024, Brno, Czech Republic (angol nyelvű előadás)

6. **Á. Turcsányi**, G. Spengler, E. Csapó; Bimetallic nanoclusters: Synthesis optimization and biological studies, Chemistry Physics and Biology of Colloids and Interfaces, 15–19 June, 2025, Eger, Hungary (angol nyelvű előadás)

Egyéb konferencia szereplések (poszter, előadás):

7. **Á. Turcsányi**, E. Tálas, G. Szijjártó, Á. Veres, I. Dékány, A. Tompos, T. Szabó; Synthesis and Characterization of Titanium Dioxide Based Ternary Nanocomposites for Photocatalytic Hydrogen Production, 22nd International Symposium on Analytical and Environmental Problems, 10 October, 2016, Szeged, Hungary (poszter)

8. **Á. Turcsányi**, L. Janovák, T. Szabó; Chitosan Nanoparticle/Graphite Oxide Nanocomposites for Controlled Drug Release; 11th Conference on Colloid Chemistry, 28–30 May, 2018, Eger, Hungary (poszter)

9. T. Szabó, **Á. Turcsányi**, L. Janovák; Controllable release of ketoprofen from chitosan nanoparticles deposited on graphene oxide platelets; 32nd Conference of the European Colloid and Interface Society, 2–7 September 2018, Ljubljana, Slovenia (poszter társszerző)

10. Majrik K., **Turcsányi Á.**, Vass Á., Szabó T., Pászti Z., G. Bonura, Tompos A., Tálas E.; AgO_x/TiO₂ katalizátorok viselkedése glicerinnel fotokatalitikus reformálási reakciójában: a katalizátorok hatása; XLI. Kémiai Előadói Napok, 2018. október 15–17, Szeged, Magyarország (előadás társszerző)

11. Á. Juhász, N. Varga, **Á. Turcsányi**, E. Csapó; Relation between rheological, structural and dissolution properties of covalently and ionically modified hyaluronic acid-based drug carriers; 10th Anniversary International Conference on Nanomaterials – Research & Application, 17–19 October, 2018, Brno, Czech Republic (előadás társszerző)

12. **Á. Turcsányi**, N. Varga, V. Hornok, Á. Juhász, E. Csapó; Synthesis, structure and encapsulation efficiency of chitosan, hyaluronan and chitosan/hyaluronan composite nanoparticles; 9th International Colloids Conference, 16–19 June 2019, Sitges, Barcelona, Spain (poszter)

13. N. Varga, A. N. Kovács, **Á. Turcsányi**, V. Hornok, E. Csapó; Design of poly(lactide-co-glycolide) particles: synthesis optimization and controlled drug release; SMS / EGF / Sensors / NanoMed 2022 Joint International Conferences, 26–28 October 2022, Athens, Greece (előadás társszerző)

14. E. Csapó, D. Ungor, Gy. Gombár, R. Béltéki, **Árpád Turcsányi**, Loretta Kuklis; Fluorescent noble metal nanoclusters with tunable optical features: synthesis, characterization, and biomedical applications, SMS/EGF/Nanomed/Sensors, 26–28 October, 2022, Athens, Greece (poszter társszerző)

15. **Á. Turcsányi**, D. Ungor, Gy. Gombár, E. Csapó; Production of bimetallic noble metal nanoclusters by etching with biologically active vitamin B derivatives; 12th International Colloids Conference, 11–14 June, 2023, Palma, Mallorca, Spain (poszter)

Nyilatkozat

Aluírott Juhászné Dr. Csapó Edit, mint témavezető, ezúton nyilatkozom, hogy a PhD disszertáció alapján képező [3] Ditta Ungor, Árpád Turcsányi, Bianka Torma, Edit Csapó; *Gold/silver bimetallic nanoclusters stabilized by immunoprotein: Tuning the selectivity for identification of kynurenine pathway metabolites*; *Journal of Molecular Liquids*, Volume 402, 2024, 124756, <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.124756>, Q1, IF 5,2 közleményben Turcsányi Árpád végezte a nanoklaszterek előállítási folyamatának kidolgozását és a klaszterek jellemzését, melyből a T3. tézispontját fogalmazta meg. Az említett közleményben a szenzorikai vizsgálatokat Torma Bianka végezte, így azon eredményekből tézispontot nem fogalmazunk meg jelen doktori értekezésben.

Szeged, 2025. 09. 15.

.....

Juhászné Dr. Csapó Edit

témavezető