

Doktori értekezés tézisei



**Kapcsolt analitikai rendszerek alkalmazása különböző növények
szelén módosulat-analitikai vizsgálatára**

NÉMETH ANIKÓ

Témavezető

Mihály Dernovics, PhD

Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar
Alkalmazott Kémia Tanszék

Budapest, 2015

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Felföldi József, PhD
tanszékvezető egyetemi tanár, PhD
Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar,
Fizika és Automatizálás Tanszék

Témavezető: Dr. Dernovics Mihály
egyetemi docens, PhD
Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar,
Alkalmazott Kémia Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

BEVEZETÉS

Az élő szervezetek nagy része – többek között az emberi szervezet – számára is létfontosságú a megfelelő szelén ellátottság. A szelén szelenocisztein (a 21. aminosav) formájában beépülve kulcsszerepet játszik számos antioxidáns hatású szelenoenzim működésében (Papp et al. 2010). Nélkülözhetetlen a redox homeosztázis fenntartásában, közvetve pedig olyan krónikus betegségek kemoprevenációjában, mint a krónikus gyulladás, a rák vagy a szív- és érrendszeri megbetegedések (Hatfield et al. 2014). Számos kutatás bizonyítja, hogy a megfelelő szelén ellátottság hatásos lehet a modern életforma egyes negatív hatásainak ellensúlyozásában (Rayman 2012).

Mivel hazánkban a napi szelénbevitel nem éri el az emberi szervezet számára optimális szintet (Szabó et al. 1991), a hiányzó mennyiséget ajánlott szelénben gazdag vagy szelénrel dúsított élelmiszerek, illetve szelén tartalmú étrend-kiegészítők formájában pótolni. Az elfogyasztott szelén mennyiségén kívül annak minősége is alapvető fontosságú, mivel a különböző szelén módosulatoknak eltérő a biológiai hozzáférhetősége és toxicitása. Ez a megfigyelés tette elengedhetlenné a módosulat-analitikai vizsgálatokat a szelén kutatásban. A szerves tömegspektrometriai eszközök és módszerek ugrásszerű fejlődése és elterjedése a módosulat-analitikai kutatások fejlődését is felgyorsította. Ezekkel a módszerekkel ismeretlen vegyületek meghatározása is lehetővé vált, amely elengedhetetlen a biokémiai és élettani folyamatok nyomelem analitikai tanulmányozásához.

Táplálkozástudományi szempontból kiemelt jelentőségű a növények szelén módosulat-analitikai vizsgálata, hiszen az élelmi szelén nagy részét növényi eredetű élelmiszerekkel vesszük magunkhoz. A növények szelén anyagcseréje alapvetően eltér az állatokétól, mivel a növények számára a szelén nem létfontosságú. A növények többsége nem rendelkezik szelén specifikus anyagcsere útvonalakkal, hanem a kén analójként veszik fel és építik be a szelént. A legtöbb növény nem él meg szelénben gazdag talajokon, mivel nagy mennyiségű szelén felvétele oxidatív stresszt vált ki, a szelénnek a fehérjékbe történő nem specifikus beépülése pedig toxikus hatású (Van Hoewyk 2013).

Néhány növény azonban a szelén toxikus hatásait ellensúlyozó, speciális anyagcsere útvonalak kialakításával alkalmazkodott a magas szelén tartalmú talajokhoz. Az úgynevezett szelén akkumulátor fajok pedig nemcsak tolerálják, hanem célzottan képesek felvenni és tárolni a szelént, hogy védekezési mechanizmusaikban hasznosítsák azt (Freeman et al. 2006). Munkám során ilyen szelén akkumulátor növények módosulat-analitikai vizsgálatát végeztem el nagyfelbontású tömegspektrometriai módszerek alkalmazásával. A brazil dió (*Bertholletia excelsa*) és a majomcsésze dió (*Lecythis minor*) táplálkozástani jelentőségét az adja, hogy a természetes eredetű

szelén tartalmuk miatt jól alkalmazhatóak élelmi szelén forrásként (*B. excelsa*), illetve takarmány adalékanyagként (*L. minor*).

CÉLKITŰZÉS

A szelén módosulat-analitika viszonylag régóta létező, jól megalapozott, de folyamatosan fejlődő tudományág. Módszereit számos kutatási területen hasznosítják, például a táplálkozástudományi és takarmányozási, kemoprevenziós vagy növényélettani kutatásokban. A legújabb vizsgálatok főleg nagyfelbontású tömegspektrometriai módszereken alapulnak, melyek nagyszámú ismeretlen komponens azonosítását teszik lehetővé.

A doktori munkám során a brazil dió és a majomcsésze dió széleskörű szelén speciációs jellemzésére törekedtem. A főbb célkitűzéseim a következők voltak:

A *B. excelsa* és a *L. minor* terméseinek kis molekulatömegű, vízoldható szelénvegyületeinek vizsgálata során:

- ICP-MS által nyomon követett, többdimenziós kromatográfiai eljárás megtervezése a szelén tartalmú frakciók tisztításához,
- adatbázis létrehozása ismert szelén anyagcsere termékek felhasználásával a *B. excelsa* és a *L. minor* szelén tartalmú vegyületeinek azonosításához,
- új szelén vegyületek azonosítása a pontos tömegük, kromatográfias viselkedésük és MS/MS fragmentációs viselkedésük alapján,
- a főbb új szelén anyagcsere termékek azonosításának szintézissel történő megerősítése,
- a két növény szelén anyagcseréjének összehasonlítása.

A majomcsésze dió proteomikai vizsgálatához:

- HPLC-ESI-Q-TOF-MS alapú „shotgun” proteomikai vizsgálat megtervezése,
- fehérje adatbázis létrehozása az adatbázis alapú fehérje azonosításhoz, valamint a fehérjék azonosítása és az eredmények validálása,
- ismeretlen szelenopeptidek manuális *de novo* szekvenálása.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A kísérletekhez kereskedelmi forgalomban kapható, a gyártó által (Dr Winfried Behr, Bonn, Németország) részlegesen zsírtalanított majomcsésze dió mintát használtunk, a héjas brazil dió mintát pedig Münchenben vásároltuk. A mintákat Bodó és munkatársai által leírt módon tisztítottuk, zsírtalanítottuk és homogenizáltuk (2003).

A célkomponensek kivonásához vizes extrakciót alkalmaztunk, mivel az általunk vizsgálni kívánt kis molekulatömegű anyagcseretermékek vízben oldhatók, valamint ennél a kíméletes extrakciós eljárásnál a szelén módosulatok átalakulásának kockázata is alacsony. Az extrakció hatékonyságát ultrahangos kezeléssel javítottuk, amely elősegítette a mintamátrix hatékonyabb feltárását.

Szelén módosulatok azonosítása

Összetett – ortogonális kromatográfias – minta-előkészítési eljárás kidolgozásával biztosítottuk, hogy az LC-ESI-Q-TOF-MS vizsgálatok elvégzéséhez a tisztított frakciók zavaró mátrixkomponensektől mentesek és megfelelően koncentráltak legyenek. Első lépésként ICP-MS-hez kapcsolt méretkizárásos kromatográfias elválasztást alkalmaztunk, amely jól használható a szelén tartalmú frakciók elsődleges kiválasztására. Ezután ioncserés, majd ionpárképzős kromatográfiai elválasztás következett, amelyek során frakciószedéssel gyűjtöttük a szelén tartalmú frakciókat. Végül fordított fázisú kromatográfiai eljárással biztosítottuk, hogy az LC-ESI-Q-TOF-MS kísérletek során minél kedvezőbb legyen a jel/zaj arány.

Az LC-MS mérések során gyűjtött adathalmaz feldolgozásához összetett adatfeldolgozási stratégia kidolgozására volt szükség. A kromatogramok szűrésére szolgáló stratégiánk három fő részből állt: (i) adatbázisos kereséssel mutattuk ki a szakirodalomból már ismert szelén módosulatokat, (ii) jellemző ionforrás fragmensek alapján kerestünk további szelén tartalmú vegyületeket, a többi ismeretlen szelén módosulatot pedig (iii) manuálisan detektáltuk az izotópmintázatuk alapján.

Proteomikai vizsgálat

A majomcsésze dióból kinyert összetett fehérje frakció jellemzésére “shotgun” proteomikai vizsgálatot hajtottunk végre. Ez az alulról felfelé haladó, peptid-alapú shotgun proteomikai eljárás a leggyakrabban alkalmazott proteomikai eljárás (Cravatt et al. 2007, Cox and Mann 2011), amely hatékonyan használja ki a nagyfelbontású tömegspektrometriai módszerek által kínált lehetőséget összetett fehérje keverék széleskörű jellemzésére. Az egyszerű minta-előkészítési eljárás során kapott fehérje frakciót tripszines bontás után HPLC elválasztáshoz kapcsolt nagyfelbontású tömegspektrometriai módszerekkel vizsgáljuk. A fehérjék azonosításához bioinformatikai eszközöket alkalmazunk.

Minden adatbázis-alapú fehérje azonosításhoz egyedi adatbázist állítunk össze, amely ideális esetben a vizsgált élőlényhez tartozó, az UniProtKB által nyilvántartott és ellenőrzött fehérjéket tartalmazza. Egy ilyen adatbázis összeállítása azonban elég nehézkes lehet, ha nem modell szervezetekről, hanem kevésbé kutatott élőlényekről, mint például fás szárú növényekről van szó (Neale and Kremer 2011). A *Lecythidaceae* családba tartozó fás szárú növények fehérjéi közül például mindössze 441 ismert, melyek közül csak öt ellenőrzött. Mivel az volt a célom, hogy minél több fehérje azonosításával bővítsem a jelenleg rendelkezésre álló irodalmi adatokat az általam vizsgált *L. minor* esetében, a fehérjeazonosításhoz végül bővebb adatbázist állítottam össze, amely az *Ericales* (Hangavirágúak) rendjébe tartozó növényekből azonosított, UniProtKB által nyilvántartott fehérjéket tartalmazta (15114 fehérje, melyek közül 104 ellenőrzött, 2014.08.01.).

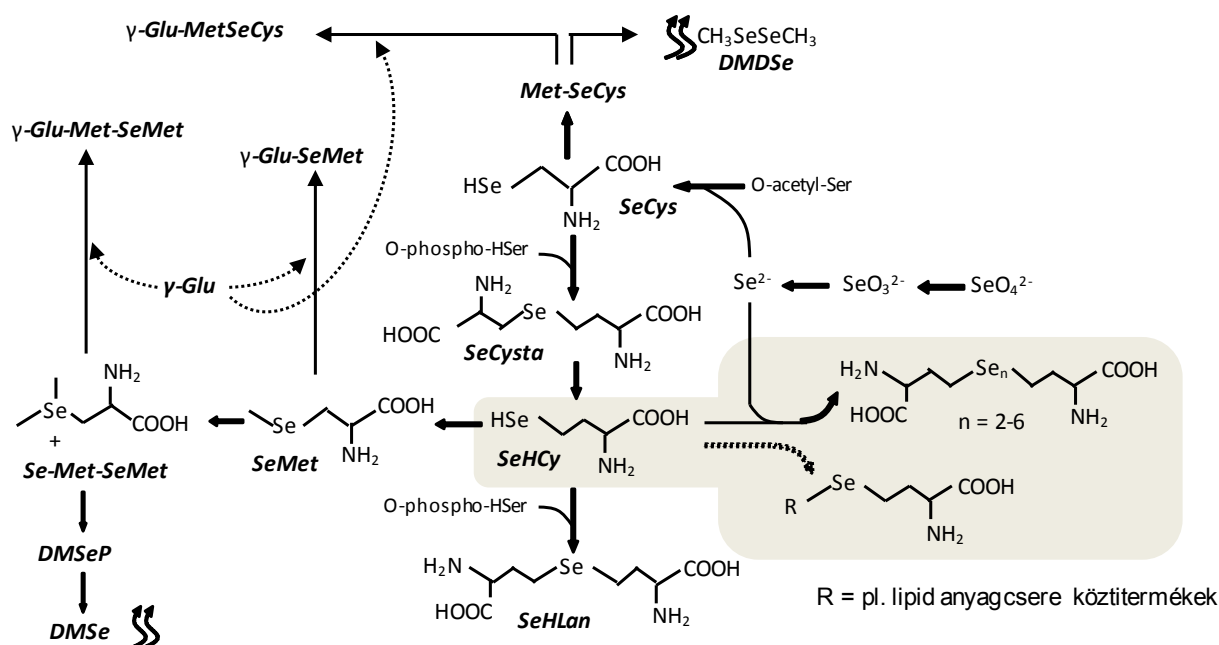
További szelén tartalmú peptidok kimutatására pontos tömeg adatbázist állítottam össze, amely korábban kimutatott szelenopeptideket és kén tartalmú peptidok lehetséges szelén analógjait tartalmazta. A tandem MS spektrumok manuális átvizsgálását is elvégeztem, hogy a jellegzetes izotóp mintázatuk alapján kiszűrjem a korábban ismeretlen szelenopeptideket is. Ezeknek a szelén tartalmú peptidoknak a kén analógjait is megkerestem és fragmentáltam. Az így kapott adatok nagyon hasznosnak bizonyultak a szelenopeptidek *de novo* szekvenálásánál.

EREDMÉNYEK

Szelenometabolomika

Az általunk választott kísérleti terv és a korszerű kapcsolt analitikai rendszerek alkalmazása lehetővé tette, hogy számos olyan szelén módosulatot azonosítsunk, melyek korábban rejtve maradtak. Számos szelenohomocisztein és szelenometionin származékot azonosítottunk, melyek közül a legjelentősebbek a két szelenohomocisztein oldallánc között 2-4 szelén atomot tartalmazó poliszelelenidek. Az általunk kimutatott nagyszámú szelenohomocisztein származék alapján feltételezhetjük, hogy korábban alábecsülték ennek a szelén módosulatnak a szelén anyagcserében betöltött szerepét. Azt találtuk, hogy a szelenohomocisztein $-SeH$ csoportja reakcióba léphet (valószínűleg nem enzimés módon) szelén tartalmú aminosavakkal és származékaikkal, illetve különböző másodlagos anyagcseretermékkel.

Ezen kívül a különféle analitikai információk - mint például a pontos tömeg, az izotóp mintázat, illetve a retenciós idő - együttes figyelembe vételével a lipid anyagcseréhez köthető szelén módosulatokat is sikerült azonosítanunk (melyek fordított fázisú kromatográfiás körülmények között hidrofób karakterűek). Ezen eredmények alapján a jelenleg elfogadott növényi szelén anyagcsere útvonalakhoz két új anyagcsere útvonal hozzáadását javasoljuk (1. ábra).



1. ábra: A jelenleg ismert növényi szelén anyagcsere útvonalak (Ogra and Anan 2012) az általunk javasolt új útvonalakkal kiegészítve (kiemelés).

Az újonnan azonosított szelén módosulatok közül a legérdekesebbek talán azok a poliszelenidek, melyek a szelén kiválasztásának és tárolásának a majomcsésze dióra jellemző, alapvetően új formáját képviselik. Más magasabbrendű növényekből kimutattak már hasonló szerkezetű - főként illékony - diszelenideket, szelenotriszulfidokat és diszeleno-triszulfidokat (Meija et al. 2002, Kubachka et al. 2007). Ezen kívül nemrégiben egy bakteriális eredetű triszelenidet is azonosítottak (Swearingen Jr. et al. 2006). Ez az első eset, hogy háromnál több szelén atomot tartalmazó poliszelenideket sikerült *in vivo* azonosítani.

A poliszelenidek esetén a szelén atomok a molekula közepén helyezkednek el, ami valószínűleg a növény szempontjából a szelén hatékony detoxifikációját eredményezi, míg a védekezési folyamatokban továbbra is felhasználható a poliszelenidekben tárolt szelén. A szerkezetükből ítélve ezek a vegyületek valószínűleg kifejezetten mérgezőek, mivel lebontásuk akár a glutation-készlet kimerüléséhez is vezethet (a szelenocisztin szelenodiglutationon keresztül történő lebontásához hasonlóan). Azonban további toxikológiai vizsgálatok lennének szükségesek ahhoz, hogy megállapíthassuk, hogy a majomcsésze dió valójában biztonságos takarmány kiegészítőnek tekinthető-e.

A szelenometabolomikai vizsgálat alapján megállapíthatjuk, hogy a két növény szelén anyagcseréje jelentősen különbözik egymástól. Az általam azonosított 26 vegyület közül csak három volt jelen mindkét növényben, ezek a szelenometionin, a γ -glutamil-szelenometionin és a γ -glutamil-metil-szelenometionin voltak. Számos korábbi kutatás igazolta, hogy a brazil dió szelén tartalma 96 %-ban fehérjékben kötött szelenometionin formájában van jelen (Vonderheide et al. 2002, Dumont et al. 2006). Az eredményeink megerősítik, hogy a brazil dió szelén anyagcseréjében központi szerepet játszik a szelenometionin, míg a majomcsésze dió szelén anyagcseréjében sokkal változatosabb anyagcsere útvonalak is szerepet kapnak.

Szelenoproteomika

A majomcsésze dió “shotgun” proteomikai vizsgálatának eredményeként öt különböző fehérjét sikerült azonosítanom, melyek a 11S globulin, három, kénben gazdag tároló fehérje és egy 11S globulinhoz hasonló fehérje voltak. A proteomikai vizsgálat eredményei fehérje szinten is bizonyítják a majomcsésze dió és a brazil dió közeli rokonságát, hiszen a majomcsésze dió vizsgálata során jelenleg azonosított fehérjék közül majdnem mindegyiket a brazil dióban azonosították először.

Az azonosított fehérjék közös jellemzője, hogy metioninban igen gazdagok, amely elméleti lehetőséget biztosít arra, hogy a metionin szelenometioninnal való helyettesítése révén számos szelén tartalmú peptidet észleljünk. A majomcsésze dió esetén a brazil dióhoz képest két nagyságrenddel magasabb szelén koncentráció sokkal nagyobb mértékű metionin/szelenometionin szubsztitúciót eredményezett, amely lehetővé tette, hogy korábban ismeretlen szelenopeptidek is kimutathatóak legyenek. Ennek eredményként összesen 13 különböző szelenopeptidet azonosítottam adatbázisos kereséssel és további kilenc szelén tartalmú peptid szekvenciáját határoztam meg manuális *de novo* szekvenálással.

A majomcsésze dió szelén tartalmú peptidjeinek vizsgálatával a két növény közötti különbségekre is sikerült rávilágítani. A vizsgálat egyik legjelentősebb eredményeként sikerült kimutatnom olyan szelenopeptideket, melyek akár három vagy négy szelenometionin oldalláncot is tartalmaznak. Ezeknek a peptideknek az analógjait már kimutatták brazil dióból is, de azok legfeljebb egy vagy két szelenometionint tartalmaztak.

A szelenometionin nem specifikus módon, a metionil transzfer RNS-hez kötődve (metionil-tRNS^{Met}) képes beépülni a fehérjékbe. Ennek a folyamatnak a szabályozása pontosan nem ismert, de széles körben elfogadott az az álláspont, hogy a folyamat mértéke az adott szövetre jellemző metionin/szelenometionin aránytól függ. A majomcsésze dió esetén tapasztalt nagymértékű szelenometionin/metionin helyettesítés lehetőséget nyújtott ennek a folyamatnak az *in vivo* tanulmányozására. Meghatároztuk a majomcsésze dió metionin/szelenometionin arányát és összehasonlítottuk a várható szelenopeptid arányokat a tapasztalati értékekkel. A tapasztalati értékek jól követték az várható arányokat, amely megerősíti, hogy a szelenometionin beépülésének mértéke nagymértékben függ az adott szövetre jellemző metionin/szelenometionin aránytól.

Érdemes megjegyezni, hogy annak ellenére, hogy a majomcsésze dió szelén tartalma kiemelkedően magas és számos szelenopeptidet sikerült azonosítatunk, egyetlen egy szelenocisztein tartalmú peptidet sem sikerült kimutatnunk. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy a növény rendkívül hatékony detoxikációs mechanizmusokkal rendelkezik, melyek megakadályozzák a szelenocisztein nem specifikus beépülését. Ezek közé a védekezési mechanizmusok közé tartozik a szelenocisztein továbbalakítása nem fehérje jellegű aminosavakká és származékaikká, valamint a majomcsésze dió esetén a szelenocisztein szelenocisztationon keresztül szelenometioninná történő alakítása is fontos szerepet játszhat. Mind a metabolomikai, mind a proteomikai eredményeink alátámasztják ezeknek a detoxikációs útvonalaknak a létezését, melyek hatékonyan védik a növényt a nagy mennyiségben jelenlévő szelén káros hatásaitól.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Hét ismert és 19 korábban ismeretlen alacsony molekulatömegű szelén módosulat azonosításával bővíttem a brazil dió (*B. excelsa*) és a majomcsésze dió (*L. minor*) korábban ismert szelén speciációs profilját. Eredményeimmel igazoltam, hogy a másodlagos szelén akkumulátor brazil dió és a hiperakkumulátor majomcsésze dió szelén anyagsere termékei jelentősen eltérnek egymástól. Az általam azonosított 26 vegyület közül csak három volt jelen mindkét növényben: a szelenometionin, a γ -glutamil-szelenometionin és a γ -glutamil-metil-szelenometionin.
2. Azonosítottam poliszelenidek egy homológ sorát, melyek két szelenohomocisztein oldallánc között 2-6 szelén atomot tartalmaznak. A fragmentáción alapuló komponens-azonosítást a poliszelenidek Se-S analógjainak szintézisével és tömegspektrometriai vizsgálatával is megerősítettem. Ezzel elsőként mutattam ki, hogy a szelén hosszú poliszelenid láncokba történő *in vivo* beépítése lehetséges.
3. Négy szelén tartalmú fehérje és 13 szelenopeptid adatbázis alapján történő azonosításával megalapoztam a *Lecythis minor* szelenoproteomikai jellemzését. További kilenc szelenopeptid szekvenciáját határoztam meg manuális *de novo* szekvenálással.
4. A majomcsésze dió szelenoproteomikai vizsgálatának eredményeként kimutattam a metionin/szelenometionin helyettesítés kiemelkedően magas szintjét. Korábban nem volt ismert, hogy akár négy metionin oldallánc szelenometioninnal történő *in vivo* helyettesítése is lehetséges. Ez a folyamat valószínűleg fontos része a *L. minor* szelén toleranciájáért felelős detoxikációs folyamatoknak.
5. Igazoltam a szelenocisztein oldalláncok teljes hiányát a majomcsésze dió fehérje frakciójában. Ez az eredmény azt bizonyítja, hogy a szelén hiperakkumulátor majomcsésze dióban a szelenocisztein fehérjékből történő kizárása rendkívül hatékonyan működik. Ez a folyamat kulcsfontosságú a növények Se toleranciája szempontjából.

Referenciák

- Bodó, E.T., Stefánka, Z., Ipolyi, I., Sörös, C., Dernovics, M., and Fodor, P. 2003. Preparation, homogeneity and stability studies of a candidate LRM for Se speciation. *Anal. Bioanal. Chem.* **377**(1): 32–38. doi: 10.1007/s00216-003-1941-y.
- Cox, J., and Mann, M. 2011. Quantitative, High-Resolution Proteomics for Data-Driven Systems Biology. *Annu. Rev. Biochem.* **80**(1): 273–299. doi: 10.1146/annurev-biochem-061308-093216.
- Cravatt, B.F., Simon, G.M., and Yates, J.R. 2007. The biological impact of mass-spectrometry-based proteomics. *Nature* **450**(7172): 991–1000. doi: 10.1038/nature06525.
- Dumont, E., De Pauw, L., Vanhaecke, F., and Cornelis, R. 2006. Speciation of Se in *Bertholletia excelsa* (Brazil nut): A hard nut to crack? *Food Chem.* **95**(4): 684–692. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.04.004.
- Freeman, J.L., Zhang, L.H., Marcus, M.A., Fakra, S., McGrath, S.P., and Pilon-Smits, E.A.H. 2006. Spatial imaging, speciation, and quantification of selenium in the hyperaccumulator plants *Astragalus bisulcatus* and *Stanleya pinnata*. *Plant Physiol.* **142**(1): 124–134. doi: 10.1104/pp.106.081158.
- Hatfield, D.L., Tsuji, P.A., Carlson, B.A., and Gladyshev, V.N. 2014. Selenium and selenocysteine: roles in cancer, health, and development. *Trends Biochem. Sci.* **39**(3): 112–120. doi: 10.1016/j.tibs.2013.12.007.
- Kubachka, K.M., Meija, J., Leduc, D.L., Terry, N., and Caruso, J.A. 2007. Selenium volatiles as proxy to the metabolic pathways of selenium in genetically modified *Brassica juncea*. *Environ. Sci. Technol.* **41**(6): 1863–1869. doi: 10.1021/es0613714.
- Meija, J., Montes-Bayón, M., Le Duc, D.L., Terry, N., and Caruso, J.A. 2002. Simultaneous monitoring of volatile selenium and sulfur species from se accumulating plants (wild type and genetically modified) by GC/MS and GC/ICPMS using solid-phase microextraction for sample introduction. *Anal. Chem.* **74**(22): 5837–5844. doi: 10.1021/ac020285t.
- Neale, D.B., and Kremer, A. 2011. Forest tree genomics: growing resources and applications. *Nat. Rev. Genet.* **12**(2): 111–122. doi: 10.1038/nrg2931.
- Ogra, Y., and Anan, Y. 2012. Selenometabolomics explored by speciation. *Biol. Pharm. Bull.* **35**(11): 1863–1869. doi: 10.1248/bpb.b212016.
- Papp, L.V., Holmgren, A., and Khanna, K.K. 2010. Selenium and selenoproteins in health and disease. *Antioxid. Redox Signal.* **12**(7): 793–795. doi: 10.1089/ars.2009.2973.
- Rayman, M.P. 2012. Selenium and human health. *The Lancet* **379**(9822): 1256–1268. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61452-9.
- Swearingen Jr., J.W., Frankel, D.P., Fuentes, D.E., Saavedra, C.P., Vásquez, C.C., and Chasteen, T.G. 2006. Identification of biogenic dimethyl selenodisulfide in the headspace gases above genetically modified *Escherichia coli*. *Anal. Biochem.* **348**(1): 115–122. doi: 10.1016/j.ab.2005.10.007.
- Szabó, G., Bálint, S., Nyeste, E., Medgyesi, I., Tamáskovics, A., and Podmaniczky, G. 1991. Trace element deficiency in healthy subjects based on multi-element analysis of serum and plasma. *Orv. Hetil.* **132**(8): 395–400.
- Van Hoewyk, D. 2013. A tale of two toxicities: Malformed selenoproteins and oxidative stress both contribute to selenium stress in plants. *Ann. Bot.* **112**(6): 965–972. doi: 10.1093/aob/mct163.
- Vonderheide, A.P., Wrobel, K., Kannamkumarath, S.S., B'Hymer, C., Montes-Bayón, M., De León, C.P., and Caruso, J.A. 2002. Characterization of selenium species in Brazil nuts by HPLC-ICP-MS and ES-MS. *J. Agric. Food Chem.* **50**(20): 5722–5728. doi: 10.1021/jf0256541.

Publikációk listája

1. *Folyóirat cikkek*

Angol nyelvű, impact faktoros cikkek

1. Németh Anikó – Dernovics Mihály (2015): Effective selenium detoxification in the seed proteins of a hyperaccumulator plant: The analysis of selenium-containing proteins of monkeypot nut (*Lecythis minor*) seeds. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 20 (1) pp 23-33.
 2. Németh Anikó - Juan F. García-Reyes - Kosáry Judit - Dernovics Mihály (2013): The relationship of selenium tolerance and speciation in *Lecythidaceae* species. *Metallomics* 5 (12) pp 1663-1673.
 3. Dernovics Mihály - Vass Andrea - Németh Anikó - Magyar Anna (2012): Synthesis and application of a Sec2-containing oligopeptide for method evaluation purposes in selenium speciation. *Talanta* 99., pp 186-193
 4. Egressy-Molnár Orsolya - Vass Andrea - Németh Anikó - Juan F. García-Reyes - Dernovics Mihály (2011): Effect of sample preparation methods on the D,L-enantiomer ratio of extracted selenomethionine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 401 (1) pp 373–380.
- Kummulált impakt faktor: 13,792
 - 8 független hivatkozás

1. *Konferencia kiadványok*

Nemzetközi konferencia (összefoglaló):

1. Németh Anikó – Dernovics Mihály: Identification of polyselenides in monkeypot nut: Integrated use of different mass spectrometric techniques and chemical synthesis to characterize previously unknown selenium species. 32nd Informal Meeting on Mass Spectrometry, 2014. május 11-14., Balatonszárszó, Legjobb poszter díj.
2. Németh Anikó – Juan F. García-Reyes – Kosáry Judit – Dernovics Mihály: Natural reactions to naturally high selenium availability: complexity of Se-metabolites in *Lecythidaceae* nuts. European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, 2013. február 10-15., Krakkó, Lengyelország.

3. Németh Anikó - Vass Andrea - Dernovics Mihály (2010): Effect of sample preparation methods on the D,L-enantiomer ratio of extracted selenomethionine. 6th International Franco-Spanish Workshop on Bio-inorganic Analytical Chemistry. 2010 Szeptember 23-25., Pau, Franciaország.

Magyar nyelvű konferencia (összefoglaló):

1. Németh Anikó – Kosáry Judit – Dernovics Mihály - Nagyfelbontású szerves tömegspektrometriai módszerek alkalmazási lehetőségei a szelén módosulatanalitikában. Hungalimentaria Konferencia, 2015. április 22-23., Budapest.
2. Németh Anikó – Juan F. García-Reyes – Kosáry Judit – Dernovics Mihály: Egy szokatlan környezeti stresszhez való alkalmazkodás eredményei: hiperakkumulátor növények különleges szelén módosulatai. II. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, 2013. május 15-17., Pécs.
3. Németh Anikó - Egressy-Molnár Orsolya - Winfried Behr - Juan F. García-Reyes - Dernovics Mihály (2011): Növényi kén- és szelénanyagcsere folyamatok analóg intermedierjeinek azonosítása ortogonális és kapcsolt tömegspektrometriai módszerekkel. MKE 1. Nemzeti Konferencia/. 2011. május 22-25., Sopron. EYCN poszter díj.
4. Németh Anikó - Dernovics Mihály (2009): HPLC-ICP-MS csatolt rendszer kialakítása CRM célokra szánt referenciaanyagok arzén-módosulatanalitikai vizsgálatára. Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak. 2009. október 28-30.

2. Szakmai elismerések, szakmai díjak

Európai Fiatal Kémikusok Hálózata által adományozott poszter díj (2011)

A 32nd Informal Meeting on Mass Spectrometry találkozó legjobb poszter díja (2014)