

## **BÍRÁLAT**

**Biró Emese:**

**„Immobilization of  $\beta$ -D-galactosidase on nanostructured carriers and  
characterization of the obtained biocatalysts”**

**című PhD dolgozatáról**

Az utóbbi években egyre nagyobb érdeklődés tapasztalható az enzimek rögzítése terén is a nanoméretű illetve nanoszerkezetű hordozók alkalmazása iránt. Az enzim hordozó méretének csökkentése általában növeli az immobilizált enzim hatékonyságát. Felületi kötődés esetén a kisebb részecskék nagyobb teret biztosítanak az enzim immobilizálására. Mindezek azt mutatják, hogy a Jelölt témaválasztása nagyon időszerű: a biotechnológia, napjaink egyik leggyorsabban fejlődő iparága területén használja fel egy másik dinamikusan fejlődő tudományterület, a nanotechnológia eredményeit.

Biró Emese 178 oldalas angol nyelvű disszertációja a megszokottakat messze meghaladó terjedelmű munka, ami a bíráló részéről komoly koncentráció képességet igényel. Az értekezés olvasása végén aztán rájön, hogy megérte a fáradozás, mert tartalmas, tudományos igényű, színvonalas munka eredményeit ismerte meg a dolgozatban.

A bevezetést és a rövid célkitűzéseket követően a dolgozat 57 oldalas irodalmi áttekintését 13 oldalon követi az anyagok és módszerek ismertetése. A folytatásban mintegy 70 oldalon az eredmények ismertetése és értékelése következik, amit a 3 oldalas tömör összefoglaló követ. Majd az új tudományos eredmények ismertetése következik angol és magyar nyelven, a felhasznált irodalmak, a saját munkák és az arra kapott idézetek és a köszönetnyilvánítás zárják a dolgozatot.

Abban a szerencsés helyzetben vagyok, hogy egyik bírálója lehettem az értekezés házi védelem benyújtott változatának is. Ennek megfelelően a végleges értekezésben először azt ellenőriztem, hogy pár hónappal korábbi észrevételeim meghallgatásra találtak-e. Azt kellett megállapítanom, hogy a munkahelyi vita nem volt hiábavaló: a jelölt több helyen észrevételeimnek megfelelően

átdolgozta dolgozatát, beépítette a javasolt részeket. Egyedül a rövidítésre tett javaslataim nem találtak meghallgatásra. A dolgozat terjedelme azonban nem ettől, hanem a közlemények címének megadásától és a magyar nyelvű tézispontoktól nőtt meg további 20 oldallal.

A Jelölt az irodalmi összefoglalóban áttekinti az ismert immobilizálási technikákat, számos, a legutóbbi évekből származó irodalommal támasztja alá megállapításait. Tetszik az ismeretek táblázatban történő tömör összefoglalása (1.2-1.4. táblázatok), ezek gyakoribb alkalmazására tettem korábban javaslatot. A bevezetésben ismertetett célkitűzéseket az irodalmi összefoglalás csak alátámasztotta, mert az irodalom áttekintése után lehet a kutatómunka céljait, az elérni kívánt új eredményeket pontosan megfogalmazni. Ezek röviden a következők:

- 1./ Eljárás kidolgozása makro-, mikro- és nanoméretű kitozán hordozók előállítására;
- 2./ A  $\beta$ -D-galaktozidáz modell enzim rögzítése ezekre a hordozókra
  - a) kovelens kötéssel és
  - b) újdonságnak számító, nem hidrolizálható alkil csoportot tartalmazó szol-gél prekursorok alkalmazásával;
- 3./ Az előállított enzimek jellemzése.

Az anyagok és módszerek rész tömören mutatja be az alapanyagokat, az enzim rögzítési módjait, valamint a vizsgálati és számítási módszereket. A kiválasztott vizsgálati eljárások és mérési technikák korszerűek, és messzemenően szolgálták a kitűzött cél elérését. A klasszikus, („egy paramétert-egy időben”) módszer komoly hibája a nagy kísérletszámon túl, hogy bár az alterek maximumát megismerjük, de ezek összessége nem biztosítja a globális optimumot, mert a technológiai paraméterek együttes hatásait nem képes kezelni, ezáltal téves eredményhez vezethet.

A kísérleti rész elején Biró Emese az „egy paramétert-egy időben” módszert alkalmazva vizsgálja a makro-, mikro- és nanoméretű kitozán hordozók előállítási módszereit és az azokat befolyásoló legfontosabb paramétereket. Kiválasztotta azt a négy legfontosabb változót (keverési sebesség, Tween 80 koncentráció, kitozán koncentráció, glutáraldehid koncentráció), amelyek legerősebben befolyásolják a keletkezett mikrogömbök átlagos átmérőjét, és 43 beállítást tartalmazó, négyfaktoros, három szintű kísérlettervezési módszerrel vizsgálta azok hatását a célfüggvényre, a gömbök átlagos átmérőjére, amit további finomítások követtek. A kísérletek eredményeként olyan, viszonylag egyszerű egyenletet alkotott, amivel az előállított gömbök átlagos mérete előre becsülhető. Az előállított mikro- és nanogömbökre rögzítette a  $\beta$ -D-

galaktozidáz enzimet. Megállapította, hogy az aggregálódás miatt a nanogömbökkel nem érhető el kielégítő eredmény, ezért a részletes vizsgálatokat a mikrogömbökkel végezte, így mintegy folytatta a kísérlettervezéssel megkezdett vonalat. Ezt követte a kész immobilizált enzimek jellemzése, a pH, hőmérséklet, működési és tárolási stabilitás meghatározása, majd a kinetikai vizsgálatok.

Komoly változások történtek a dolgozatban a tézispontokat illetően: A 6 tézispontban összefoglalt tudományos eredmények újszerűségét a házi védelem során sem vitattam, mostani formájukban, ahol tömören, az új megállapításokra koncentrálnak, emelik ki a legfontosabb megállapításokat, a formai követelményeknek is messzemenően megfelelnek.

A dolgozatban csekély számban vannak elírások, nyelvtani és betűhibák, de a gondolatok megértését érdemben a hibák egyike sem befolyásolta. Ezek közé tartozik a 93. oldal első sorában található elírás:  $p$  értéke nem 0.5, hanem 0.05. Ábrái, táblázatai jól szerkesztettek, áttekinthetők, és ügyesen bántak a színekkel: ahol a megértést elősegíti a különböző színek használata, él a lehetőséggel, de öncélúan nem használja azokat. Egyes helyeken az angol nyelven egyértelműnek tűnő tézispontok magyar változata pontatlan megfogalmazású. Mivel a dolgozat nyelve is angol, ezt a változatot fogadtam el mérvadónak.

A Jelölt témával kapcsolatos publikációs tevékenysége dicséretes, két, már megjelent angol nyelvű, nemzetközileg elismert impakt faktoros folyóiratban (2,0 körüli impakt faktorokkal) közölte eredményeit, ezek mindegyikében első szerző. Hatékonyságukat mutatja, hogy a két közleményre eddig már 28 hivatkozást kapott, ami a házi védelemhez képest is gyarapodás. Ezeket egészíti ki még számos konferencia előadás és poszter, melyek legtöbbszörben is első szerző a Jelölt.

Tekintettel arra, hogy az eltelt néhány hónapban nem találkoztam olyan új kutatási eredménnyel, ami más megvilágításba helyezné a dolgozat megítélését, ezért új, „látszat” kritikai észrevételek megfogalmazásától eltekintek. Mindez persze nem akadályoz meg abban, hogy kérdéseket tegyek föl a Jelöltnek a dolgozattal illetve annak távlati hatásaival kapcsolatban. Ezek a következők:

1. Tapasztalatai alapján milyen más, gyakorlati szempontból fontos enzim rögzítésére ajánlaná a kidolgozott módszert?

2. Az irodalmi adatok azt mutatják, hogy a rögzítés következtében az enzimek aktivitási értéke megváltozik, általában csökken. Érvényes-e ez a megállapítás az előállított heterogén biokatalizátorokra, és ha igen, van-e az anyagátadásnak szerepe ebben az aktivitási érték változásban, valamint a szol-gélbe rögzített és a kovalensen kötött enzimek aktivitása között észlelt különbségben?

Összefoglalva megállapítom, hogy Biró Emese bemutatott kísérleti és elméleti munkája rendkívül eredményes volt, s ezek alapján értékes dolgozatot állított össze. Célját, a  $\beta$ -D-galaktozidáz enzim hatékony immobilizálását elérte. Eredményeivel nemcsak az Intézetben folyó kutatómunkához járult hozzá hasznosan, hanem a gyakorlati megvalósítás számára is fontos kísérleti és számítási adatokkal szolgált. A tézisekben megfogalmazott eredményeket a Jelölt új tudományos eredményeinek ismerem el, melyek magas szintű tudományos tevékenységet tükröznek. Javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását és sikeres védelem esetén a PhD fokozat odaítélését.

Veszprém, 2012. október 18.



Dr. Gubicza László

egyetemi tanár

Pannon Egyetem

Mérnöki Kar

Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutató Intézet