



MISKOLCI EGYETEM ANYAG- ÉS VEGYÉSZMÉRNÖKI KAR

OPPONENSI VÉLEMÉNY

Doktori munka címe: Analitikai módszerfejlesztés az N-glikánok kapilláris elektroforézissel történő elválasztásához

Szerző: Szigeti Márton Géza, Biomérnök B.Sc.; Környezetmérnök M.Sc.

Témavezetők: Dr. Guttman András, D.Sc.

Általános értékelés

A doktori értekezés elbírálását megelőzően a munkahelyi vitát kapcsán lehetőségem nyílt tanulmányozni és véleményezni Szigeti Márton Géza doktori értekezését. A benyújtott disszertáció kapcsán a jelölt az észrevételeimet, tanácsaimat megfogadta a műhelyvitán elhangzottakkal összhangban.

Szigeti Márton Géza doktori értekezése „Analitikai módszerfejlesztés az N-glikánok kapilláris elektroforézissel történő elválasztásához” címmel a glikán analitika aktuális és kiemelt jelentőségű eredményeit mutatja be. A dolgozat szervesen illeszkedik a gyógyszeriparban zajló analitikai fejlesztések nemzetközi trendjéhez, ahol az N-glikoziláció pontos és megbízható meghatározása a biológiai gyógyszerek minőségbiztosításának egyik kritikus tényezője. A kutatási téma relevanciája különösen hangsúlyos abban a tekintetben, hogy az egyre növekvő számú biológiai terápiás készítmény esetén elengedhetlenné vált a glikán profil gyors és automatizálható módon történő meghatározása.

A dolgozat terjedelme (összesen 98 oldal, ebből 68 oldal a főszöveg, 7 oldal az irodalomjegyzék, 4 oldal a melléklet) megfelelő hosszúságú, kellően átfogó. A dolgozat jól strukturált, világosan tagolt, a fejezetek logikusan követik egymást az irodalmi áttekintéstől a célkitűzéseken és módszereken át az eredmények bemutatásáig és összegzéséig. A tartalomjegyzék jól áttekinthető, a fejezetek és alfejezetek arányosan oszlanak meg. Az egyes fejezetek belső szerkezete is koherens, a téma kibontása lépésről lépésre, jól követhető módon történik.

A bevezetés és az irodalmi áttekintés (1. fejezet) részletes és naprakész. A szerző a glikomika, glikoziláció és az N-glikánok szerkezetének és biológiai szerepének bemutatását követően kitér a különféle analitikai lehetőségekre és azok kihívásaira. Kiemelten tárgyalja a kapilláris elektroforézis módszertani hátterét, fizikai alapjait, történeti fejlődését és az elválasztás

hatékonyságát befolyásoló tényezőket. A fejezet végén külön érdeme a szerzőnek, hogy a glikán analitika három fő szintjét (felszabadított glikán, glikopeptid, intakt glikoprotein) összehasonlító elemzéssel mutatja be. A célkitűzések fejezete (2. fejezet) a kutatás gyakorlati motivációjából indul ki, pontosan fogalmazza meg azokat az analitikai kihívásokat, amelyek a doktori kutatás fókuszában álltak. A szerző helyesen hangsúlyozza, hogy az analízis gyorsasága, megbízhatósága, automatizálhatósága és a mintaelőkészítési lépések kölcsönös kompatibilitása kritikus szempontként jelenik meg az ipari alkalmazásban, azonban a célkitűzések mérhető kimenetek formájában történő kifejtése még világosabbá tehetné a módszertani fejezet értelmezését. A módszertani rész (3. fejezet) kiemelkedően részletes. A teljes mintaelőkészítési protokoll minden lépését pontos hőmérsékleti, időbeli és koncentrációs adatokkal megfelelően dokumentálja. A 4. fejezetben bemutatott eredmények és azok értelmezése kellően részletes, számszerűsített és tudományosan megalapozott. A fejezet jól szerkesztett, követi az analitikai fejlesztés logikáját, 1) a vizsgált terápiás fehérjék kiválasztása, 2) a mintaelőkészítés optimalizálása, 3) a megbízhatóság és validálás, és 4) a szekvenálási lépések gyorsítása és automatizálása. A linearitás, szelektivitás és reprodukálhatóság tesztelése szintén alátámasztja a módszertani újdonságok robusztusságát.

A dolgozat végén közölt tézispontok tömörek, világosan megfogalmazottak, kellő mértékben tükrözik a disszertáció során elért újdonságokat. A szerző egy komplex analitikai módszert dolgozott ki, amely nemcsak tudományos szempontból értékes, hanem a biotechnológiai gyakorlatban is alkalmazható.

A dolgozat nyelvezete magas színvonalú, a szakmai szókinccs alkalmazása pontos, idegen nyelvi terminusok korrekt módon szerepelnek. A dolgozat vizuális megjelenése (diagrammok, táblázatok, folyamatábrák) jól támogatja a szöveges részt. A szerző tudományos aktivitásáról tanúskodik a publikációs jegyzék: a dolgozathoz közvetlenül kapcsolódóan három első szerzős Q1-es folyóiratcikk és több konferencia előadás született.

Szakmai kérdések a doktori értekezéshez

- 1) A hőmérsékletgradiens alapú denaturációs protokollnál mely paraméter volt a legkritikusabb a precipitáció elkerülésében?
- 2) A Humira fehérje alkalmazása mellett végzett validálási kísérleteknél milyen jellegű glikán struktúráknál mutatkozott a legnagyobb mérési szórás? Az elvégzett kísérletek alapján mely szerkezet típusok a módszer legkritikusabb pontjai?
- 3) A gyorsított exoglikozidáz szekvenálási lépésnél milyen kompromisszumot kellett kötni a reakcióidő és az enzim specifitása között, a módszer jelen formájában milyen paraméterek mellett már nem alkalmazható torzítás nélkül?

A dolgozat a PhD követelményeinek minden szempontból megfelel. Az értekezésben bemutatott kísérleti munkát és az eredményeket, valamint az ezekből származó következtetéseket, illetve a tudományos téziseket, mint új tudományos eredményeket elfogadom.

Sikeres védelem esetén Szigeti Márton Géza részére a PhD cím adományozását javaslom.

Miskolc, 2025. november 09.



Prof. Dr. Mizsey Péter
MTA doktora
Miskolci Egyetem, Kémiai Intézet