

Doktori értekezés bírálatára adott válaszaim

Dr. Bánvölgyi Szilvia opponens részére

Ezúton szeretném megköszönni Dr. Bánvölgyi Szilvia opponensnek az alapos bírálói munkáját, a kérdései és javaslatai jelentősen hozzájárultak a dolgozat szakmai színvonalának emeléséhez.

Bár az eredmények bemutatásánál törekedtem rá, hogy az ábrák önmagukban is értelmezhetőek legyenek, az említett esetekben – 5.14., 5.15. és 6.1. ábra – az ábrához kapcsolódó leírás valóban tartalmaz olyan pontosításokat, melyek szükségesek a helyes értelmezéshez. Az irodalomjegyzékben előforduló eltérő folyóirat-megjelölések a hivatkozáskezelő szoftverben hiányosan megadott adatokból származhatnak. Ezek a pontatlanságok, valamint az alfa kifejezés használata a pontos megnevezés helyett az ellenőrzés során sajnálatos módon elkerülték a figyelmemet.

Az Anyagok és Módszerek fejezetre vonatkozó kérdésekre adott válaszaim az alábbiak:

1. *Mi alapján módosította a törzsfenntartáshoz szükséges tápközeg (SCM) összetételét? (39.o.)*

A tápközegben két módosítást végeztem a gél stabilitásának növelése érdekében, az agar mennyiségét növeltem, a kalcium-karbonátét pedig csökkentettem. A megfelelő koncentrációk meghatározásában a mikrobiológiai gyakorlatban jártas kollégám segített más mikroorganizmusoknál jól bevált tápközeg-összetételekből kiindulva.

2. *Miért légköri nyomással, és nem a valós nyomáskülönbséggel számolt a szűrési kísérletek kiértékelésénél, ha ismerte a vákuum értékét? (46. o.)*

A dolgozat 46. oldalán az alkalmazott kétfokozatú vákuumszivattyúval általánosan elérhető vákuum értéket (3-4 mmHg) tüntettem fel. Szűrés közben a pontos nyomáskülönbséget nem mértem, ezért számoltam egységesen a légköri nyomással. Mivel az ebből lehetségesen adódó hiba jóval elmarad a szűrlet térfogatmérésének pontatlanságától, nem tartottam indokoltnak nyomásmérő műszer alkalmazását.

3. *Mi alapján vette fel a szűrőlepleny fajlagos ellenállásának (α), a lag-fázis időtartamának (λ) és a maximális területi növekedés relatív sebességének (k) a véletlenszerűen választott értékét? Hány iterációs lépésre volt szükség a számolásnál?*

A baktériumtelep területét az idő függvényében ábrázolva, a lag-fázis időtartamát és a maximális területi növekedés relatív sebességét a diagram alapján hozzávetőlegesen meg tudtam becsülni, a szűrőlepleny fajlagos ellenállásánál pedig irodalmi adatokból kiindulva adtam meg a kezdeti értéket. Bár utóbbi esetben $10^{13} - 10^{16}$ nagyságrendben mozogtak az eredmények, így

a véletlenszerűen választott kezdeti értéktől több nagyságrenddel is eltérhetett a végeredmény, a számításhoz használt függvénynek nincs több lokális szélsőértéke, tehát a modell illesztésének eredményeként mindenképpen a globális optimumot kaptam meg. Az Excel program Solver bővítményében az iteráció maximális lépésszámát ötvenezerre állítottam be, az egyes számítások során ennél kevesebb lépésre volt szükség, de pontos számot nem tudok mondani.

4. *Egyedi mérés vagy szakirodalmi adat alapján határozta meg az aktinorodin moláris extinkciós koefficiensét? (57. o.)*

A számításoknál használt moláris extinkciós koefficiens értéke szakirodalmi adat, forrása megegyezik a teljes mérési eljárásnál hivatkozott forrással (ennek ismételt feltüntetése valóban egyértelműbb lett volna).

A bíráló további kérdéseire adott válaszaim a következők:

1. *A fényképek háttérének egységesítésére láthatóan figyelt, ugyanakkor a felvételi sík és a kamera beállításai nem minden esetben egységesek. Mennyiben befolyásolja ez a képek összehasonlíthatóságát, és mit változtatna a dokumentációs módszeren egy jövőbeli munka során?*

Egyetértek a kérdésben és a bírálatban külön is megfogalmazott észrevétellel, miszerint az eredmények megbízhatóságát csökkenti, hogy a képek nem teljesen párhuzamos síkban készültek. Mivel a borítottság százalékos értékének meghatározása nem egzakt méréssel, hanem a több oldalról készült képek szubjektív elemzésével történt, ennek eredményét a fényképezési eljárás hibája nem befolyásolja. A vastagság meghatározása során egy biofilm-mentes részen megmértem a membrán átmérőjét – vagy ha erre nem volt lehetőség, az injekciós tű átmérőjét –, a fényképen mért értéket pedig összehasonlítottam a valós értékkel, így túl nagy eltérés esetén ki tudtam szelektálni a nem használható képeket. A kapott eredmény pontossága ennek ellenére valóban nem kielégítő, de az egyes beállítások összehasonlítására alkalmasnak tartom.

A jövőbeli munka során a precizitás növelése érdekében összeállítanék egy fix – és sterilizálható – vázrendszert, melyben a skálázott háttérnek, a fényképezéshez használt eszköznek és a membránnak is rögzített helye van. Így a fényképezéshez csak ki kellene venni a membránt a kémcsőből és vattadugónál fogva befogatni az állványba, a képek pedig mindig azonos szögű és távolságból készülnének.

2. *Milyen kísérlettervet készítené a biofilm öregedésének vizsgálatához?*

Az egyedi kapilláris membránszálakból nagy számú párhuzamos rendszert állítanék össze, ezeket egyszerre inokulálnám, majd rendszeres időközönként néhányat leállítanék és vizsgálnám a membránról eltávolított biofilmet. Egyrészt érdemes lenne a biofilm keresztmetszetéről mikroszkópos felvételeket készíteni, bár ehhez egyelőre nem áll rendelkezésemre megfelelő

eszköz. Emellett meg lehetne határozni az eltávolított biofilmben az élő sejtek arányát valamilyen, a metabolikus aktivitás mérésére alapuló eljárással, például TTC (trifenil-tetrazólium-klorid) teszttel.

3. *Melyik eredményét tartja leginkább továbbfejleszhetőnek ipari irányba?*

Ipari szempontból a SevenBore rendszerrel elért eredményemet tartom a legfontosabbnak. Bár a membrán gradosztát reaktor alapját jelentő gradiens kialakulása megkérdőjelezhető, membrán bioreaktorként ígéretesnek tartom a rendszert. Már az első kísérleteknél is egységes, aktívan termelő biofilmet sikerült létrehozni, melyet a három hetes üzemeltetés során könnyen le lehetett választani a membránról, ami mind a biofilm feldolgozását, mind a membrán újbóli felhasználását illetően fontos tényező egy esetleges ipari fejlesztés során.

4. *A módszer mennyire általánosítható más *Streptomyces* fajokra vagy más mikroorganizmusokra?*

A membrán gradosztát reaktor elvi működéséből kiindulva, a potenciális termelő mikroorganizmussal szemben mindössze két elvárás fogalmazódik meg: a törzsnek alkalmasnak kell lennie biofilm kialakítására, a célterméket jelentő szekunder metabolitot pedig extracellulárisan kell termelnie. Ez alapján a szóba jöhető mikroorganizmusok köre meglehetősen széles, bár a publikációk korlátozott számából adódóan – tudomásom szerint – eddig mindössze négy fajt (*Phanerochaete*, *Neurospora*, *Aspergillus* és *Streptomyces* nemzetség tagjait) vizsgáltak, melyek mindegyike fonalas mikroba. A kutatócsoportunkban azonban felmerült a kérdés, hogy egyáltalán kialakulhatnak-e az elkülönülő rétegek ezekben a biofilmekben, hiszen a fonalas szerveződésű telepekben jellemzően kialakulnak olyan belső csatornák, melyek révén a tápanyag eljut a limitáltabb mikrokörnyezetben lévő sejtekhez is. Egyes publikációkban beszámolnak elkülöníthető rétegekről, a saját kutatásomban nem tudtam sem igazolni, sem cáfolni ezek meglétét, tehát a kérdés egyelőre tisztázatlan.

A bírálónak a IV. tézispont kiegészítésére tett javaslatát elfogadom, a tézis az előadás során már a javított formában került bemutatásra.

Még egyszer köszönöm a részletes és pozitív hangvétellű bírálatot, ami megerősítést jelent a munka folytatásában és segít kijelölni a további kutatások irányvonalát.

Kelt: Veszprém, 2026.01.26.

Lajtai - Szabó Piroska

Lajtai-Szabó Piroska

