

PhD ÉRTEKEZÉS OPPONENSI VÉLEMÉNY- Válaszok

Opponens: Prof. Dr. Mizsey Péter

A doktori munka címe: Új analitikai megközelítések terápiás fehérjék elválasztásában és fluoreszcens jelölésében nátrium dodecil szulfát kapilláris gélelektroforézis során

Szerző: Auer Felícia, okleveles biológus

Témavezető: Dr. Guttman András, egyetemi tanár

Tisztelettel szeretném megköszönni a Bírálónak, hogy idejét és energiáját dolgozatom elolvasására és értékelésére fordította, valamint köszönöm a műhelyvita előtti hasznos észrevételeket is. Az alábbiakban részletesen válaszolok a Bíráló által felvetett szakmai kérdésekre.

Szakmai kérdések:

1. A Szerző említi, hogy a mintában jelenlevő monoszacharidok gátolhatják a PNGaseF enzim működését. Milyen módon történhet ez?

Egyes monoszacharidok, különösen azok, amelyek a PNGaseF által használt szubsztrátumhoz hasonló struktúrával rendelkeznek, képesek lehetnek versenyezni a célmolekulával (szubsztráttal) az enzim aktív helyéért. Ez a kompetitív inhibíció csökkentheti az enzim hatékonyságát, mivel a monoszacharidok gátolják a szubsztrátum kötődését. (Tadashi Suzuki, Ken Kitajima, Yasuo Inoue, Sadako Inoue, Carbohydrate-binding Property of Peptide:N-Glycanase from Mouse Fibroblast L-929 Cells as Evaluated by Inhibition and Binding Experiments Using Various Oligosaccharides Journal of Biological Chemistry, Volume 270, Issue 25, 1995)


2. A Szerző az ultrahíg dextrán tartalmú gélt alkalmazó mérések során 10 kDa belső standardet használt, míg a propidium-jodid tartalmú gélek esetében lizozimet használt belső standardként. Mi volt az oka a cserének?

A mérések során az ultrahíg dextrans tartalmú gélek esetében 10 kDa molekulatömegű belső standardet alkalmaztunk. Ezzel szemben a propidium-jodid tartalmú gélek elemzése során lizozim (14,4 kDa) került felhasználásra belső standardként. A belső standardek cseréjére a 10 kDa molekulatömegű standard kimerülése miatt volt szükség. A standard hiánya, valamint annak magas költsége indokolta, hogy alternatív, gazdaságosabb fehérjét, melynek a molekulamérete is hasonló, válasszunk a mérési eljárásokhoz.

3. A dolgozat a PI mérések során említi az elválasztó hőmérséklet változtatásának hatását az elektroforetikus mobilitásra. Érdekes lehet a továbbiakban vizsgálni az elválasztási paraméterek változtatásának hatását a SDS-fehérje-PI komplexek elektromigrációjára. Tervezi a Szerző a későbbiekben ennek a vizsgálatát?

Köszönjük a javaslatot, mindenképp tervezzük a hőmérséklet, gélkoncentráció és feszültség hatásának vizsgálatát publikálni a PI mérések esetében, a publikáció időközben már beküldésre került, várjuk a bírálatokat.

Veszprém, 2024. szeptember 12.



.....

Auer Felícia