

Bírálati vélemény
Csik Gabriella „A porfirinek kölcsönhatásainak néhány biofizikai aspektusa” című
doktori értekezéséről

Az értekezés két évtizednyi munka összefoglalása (az alapjául szolgáló közlemények 1998. és 2017. között jelentek meg), a cím jól fogja keretbe a szerteágazó kísérleti munkát. Talán a határozott névelő elhagyásával még precízebb lenne, hiszen így várhatnánk, hogy általában a porfirinekről szól.

A témaválasztás nagyon időszerű, a porfirinek segítségével megvalósított fototerápiás eljárások elterjedése miatt lényeges, hogy alapkutatási szinten tisztázzuk azokat a körülményeket, kölcsönhatásokat, melyek fontossá válhatnak alkalmazásuk során. A jelölt munkája érdemi hozzájárulás ahhoz a polémiához, mely a fotodinamiás terápia esetleges genotoxicitása kapcsán bontakozott ki.

A kísérleti munkához fűzött megjegyzések, kérdések

5.1. Porfirinek kölcsönhatása modellmembránokkal

A 15. ábrával kapcsolatban több megjegyzésem van. Az A ábra mutatja be a metanolban, illetve vizes pufferoldatban mért fluoreszcencia-spektrumokat. Látjuk, hogy metanolban jóval intenzívebb az emisszió, mint vizes oldatban – de ha a spektrum alakjának megváltozása is érdemi információt hordoz, akkor ez nem jó ábrázolás, a vizes fázisban mért értékek olyan alacsonyak, hogy nem igazán vehető ki a spektrum alakja – ahhoz normált spektrumokat kellene összehasonlítani. Amennyiben csak a fluoreszcencia-intenzitás bemutatása a cél, akkor ezen spektrumok csak illusztrációra használhatóak, de számszerű következtetések levonására az intenzitás-adatok önmagukban nem alkalmasak, hiszen az előző (53.) oldalon olvasható: „A vegyületek moláris abszorbanciája ... érzékenyen változik a molekuláris környezet polaritásával.” Következésképpen még azonos porfirin-koncentrációk mellett sem azonos az elnyelt (gerjesztő) fényintenzitás, amivel a fluoreszcencia-intenzitás egyenesen arányos. Hiába állítja Jelölt a módszer leírásánál (47. oldalon), más szerzőkre hivatkozva, hogy „a fluoreszcencia révén emittált fény intenzitása a koncentrációval arányosnak tekinthető”, ha egyszer ezt az állítását a pár sorral feljebb idézet mondattal önmaga cáfolja. Nemcsak a moláris abszorbanciák változása okozhat gondot – a fluoriméterekben a gerjesztő fényforrás általában nagynyomású xenonlámpa, melynek spektruma a 400-450 nm tartományban, épp a porfirinek Soret sávja környékén meglehetősen strukturált, így a gerjesztési hullámhossz néhány nm-es megváltoztatása érzékelhetően megváltoztathatja a rendelkezésre álló gerjesztő fényintenzitást. A liposzómákhoz történő kötődés egyensúlyi állapotjának meghatározására ezért csak a fluoreszcencia-kvantumhatásfokok használhatóak, a fluoreszcencia-intenzitás adatok legfeljebb kötődési rangsor megállapítására fogadhatóak el.

5.2.1.1. A kötött formák azonosítása és mennyiségi meghatározása

Teljes mértékben megértem Jelöltet, hogy a spektrumok Gauss-görbékre történő felbontása során nagy erőfeszítéseket tesz a görbék számának (vagyis az illesztendő paraméterek számának) csökkentésére – de fennáll a veszély, hogy ezen egyszerűsítések túlmennek a megengedhető mértéken. Jelölt a porfirinek Soret sávját 2 Gauss-görbe összegével közelíti (9-es egyenlet), ennek alátámasztására hivatkozik a 4. ábrára. Én úgy látom a 4. ábrán, hogy a 390-480 nm tartományokban a fő csúcson kívül legalább két váll látható (az ezeknek megfelelő töréspontot 400, illetve 420 nm-re becslem), következésképp legalább 3 Gauss-görbével tartanám indokoltnak a közelítés elvégzését. Nem ismerem az ide vonatkozó irodalmi eredmények részleteit, de nem lennék meglepve, ha ezt a kérdéskört már vizsgálták volna korábban, hiszen a porfirinek spektroszkópiájával kötetnyi közlemény foglalkozik.

A másik, számomra indokolatlan közelítés, hogy a szűk hullámhossz-tartomány (390-480 nm) következtében nem végeztek hullámhossz – frekvencia konverziót. A Gauss-görbékkel történő közelítés alap-megfontolása szerint egy abszorpciós sáv azért sáv, mert az adott spektroszkópai átmenet vonala kiszélesedik (a forgási átmenetek és az oldószer-hatás következtében). Ez a kiszélesedés azonban csak a frekvencia-skálán eredményez szimmetrikus görbét. Egyetértek Jelölttel, hogy a szűk intervallum miatt ez numerikusan nem igazán érzékelhető – de tényleg megéri egyetlen osztás-sorozat megtakarítása érdekében túllépni egy elven?

Ehhez a kérdéskörhöz tartozik a kétféle kötött forma vállalhoz rendelhető Gauss-görbe azonosnak vétele. Elfogadom, hogy a numerikus illesztések során a kétféle kötött forma esetében jó közelítéssel azonosnak adódtak ezen két görbe paraméterei – de ez tényleg indokolja ezen két görbe azonosként történő kezelését? Nemcsak numerikus közelítésről van szó – ha tényleg azonos a két sáv, a kétféleképpen kötött porfirinban valami azonos spektroszkópai átmenet kell hozzá tartozzon. A „közös váll” kifejezés először a TMPyP kötődése kapcsán szerepel – de később a BMPCP-nél, illetve TMPCP-nél is előfordul (13. táblázat, 29. ábra). E két utóbbi porfirin-származék kötődésének vizsgálatakor a szövegben nem tesz említést arról, hogy a szabad porfirin („r” érték 0) spektrumának felbontásához már 3 Gauss-görbére volt szükség – de az utóbbi esetében ugyanezzel a 3 Gauss-görbével le lehetett írni mindkét kötött forma spektrumát is. Kezd elveszni az egyes görbék hozzárendelhetősége az egyes komponensekhez? A 29. ábrán nem érthető számomra, milyen „relatív terület” van a függőleges tengelyen, kérem jelöltet mutassa be, milyen normálásról van szó.

Összintén szólva én másképp kezdtem volna hozzá a 20. ábrán bemutatott spektrum-sorozat numerikus kezeléséhez. Ránézve az ábrára első közelítésben elfogadnám izoszbesztikus pontnak a látszólagos izoszbesztikus pontot, és megpróbálnám két spektrum lineáris kombinációjával előállítani ezt a spektrum-sorozatot (a szabad porfirin spektruma ismert, a kötött forma spektrumát és a lineáris kombináció együtthatóit kell csak a legkisebb négyzetek módszerével megbecsülni). Ha ez nem sikerül (tendenciózus, nem véletlenszerű eltérések mutathatók ki), akkor persze neki lehet állni 3 spektrum lineáris kombinációjával elvégezni a közelítést – és ebben az esetben megalapozott lenne az a kijelentés, hogy „Az abszorpciós spektrumok elemzése alapján két kötött forma kialakulása volt kimutatható.” (tézisek 15. oldal közepe). Amíg a csak két spektrummal történő közelítés tarthatatlanságát be nem mutatja Jelölt, addig ez a kijelentés nem fogadható el. Nem azt szeretném ezzel mondani, hogy én „látom”, elég lenne a két komponens. A 3 komponens szükségességét mind az irodalmi adatok, mind a disszertáció más mérés technikával végzett mérései bőségesen alátámasztják – de ettől még pusztán az abszorpciós spektrumok alapján a 3. komponens jelenléte nem triviális, az csak a két komponenssel történő illesztés kudarcával igazolható. Hiányolom annak bemutatását, hogy a 3 komponenssel történő illesztés jól közelíti a 20. ábra szerinti spektrumokat (természetesen nem az összes, csak egy-két kiragadott spektrumon, olyan ábrára gondolok, mint a 42.).

A különböző kötött formák részarányát mutatja a 25. B ábra. Először egy technikai kérdés: az ábrafelirat egyértelműen megadja a szimbólumok jelentését, de nem szól a kihúzott görbékről. Meglepő, hogy a kis árokban kötött porfirinhez tartozó görbe nem követi a pontok menetét, hanem egy telítési görbének látszik – holott a pontokhoz hibazászlók is tartoznak, és a görbe sok pontnál kívül esik a hibazászlón.

Ezen eredmények diskusszióját véleményem szerint egyszerűbb a nagy „r” értékek tartományánál kezdeni, mert ilyen körülmények között minden bizonnyal érvényesek a kétféle kötődésre vonatkozó kémiai egyensúly feltételei. Megállapíthatjuk tehát, hogy ha bőven van kötőhely, akkor az interkaláció részaránya közel kétharmad, a szabad porfirin részaránya elhanyagolható, vagyis az interkalációval történő kötődés egyensúlyi állandója mintegy kétszerese a kis árokban történő kötődés egyensúlyi állandójának. A kérdés ezután az, hogy további porfirinek kötődése ugyanazon DNS-darabhoz mennyiben más mértékű – a kémiai egyensúlyok nyelvén fogalmazva a kötődés egyensúlyi állandója milyen irányban és milyen mértékben változik a már megkötött porfirinek

hatására. Ebben a témában laikus lévén nekem nem sikerült olyan elvet, megfontolást találnom, amely indokolná bármelyik egyensúlyi állandó növekedését, vagyis azt, hogy a már kötött porfirin elősegítheti a következő porfirin kötődését. Az ellenkezőjére, a következő porfirin kötődésnek gátlására számos triviális elképzelés magyarázatot ad (pl. a kis árokban kötött porfirin sztérikus okokból nehezíti az interkalációt; bármely kötött porfirin pozitív töltései hátráltatják a következő porfirin kötődését). A 25. B. ábra szerint az interkalált porfirinek részaránya valóban mindvégig csökken a kisebb „r” értékek felé; de a kis árokban kötött porfirin részaránya kb. 7-es „r” értékig egyértelműen, a hibahatárt meghaladó mértékben növekvő tendenciát mutat. Kérem jelöltet, ossza meg elképzelését, hogy hogyan segítheti elő a már megkötött porfirin egy további porfirin kötődését, más szóval mi lehet az oka annak, hogy a kis árokban kötődő porfirin látszólagos kötődési egyensúlyi állandója megnő, ha már van kötött porfirin az adott DNS-darabon. Ez a jelenség (a kis árokban kötött porfirin mennyiségének növekedése a kis „r” értékek felé haladva) gyakorlatilag minden ilyen adatot közlő ábrán látható, a leghangsúlyosabb a 28. C ábrán, a kevés A-T párt, sok G-C bázispárt tartalmazó DNS esetében, ahol ez a növekedés a kb. 3-szoros értéket is eléri.

A DNS-ről a porfirinre történő energia-transzfer fluoreszcenciás eredményét mutatja a 26. ábra. Azt sem nagyon értem, hogy miért szerepel az előző oldalon az az állítás, hogy a „TMPyP emissziója DNS jelenlétében növekvő emissziót mutat”; a 26. A ábrán én nem nagyon látok intenzitás-növekedést a különböző spektrumok között (az ábrafeliratban nem esik szó normálásról), pedig a DNS hozzáadására jelentősen nőnie kellene az elnyelt fényintenzitásnak. A 26. ábra B részéhez tartozó ábrafelirat vélhetően pontatlan; nem az integrált fluoreszcencia-intenzitást, hanem a 14-es egyenlet alapján a kötött forma integrált fluoreszcencia-intenzitása számított értékeit mutatja „r” függvényében. De az A ábrán közölt görbék alatti területek becsült értéke egy nagyságrenddel nagyobb értéket ad, mint amekkora maximális érték a B ábrán szerepel – miért van ez az eltérés?

Az energia-transzfer tényének igazolása a 260 nm-es gerjesztéssel mért porfirin-fluoreszcencia mérésével sem triviális – ezen a hullámhosszon a szabad porfirinnek is van elnyelése, a DNS-hez kötött porfirinnek is van elnyelése (a disszertációban 153-as sorszámmal idézett közlemény szerint), így önmagában az a tény, hogy a 260 nm-en gerjesztett minta porfirin-emissziót mutat, még nem bizonyítja az energiatranszfer létrejöttét. Hangsúlyozni szeretném, hogy valószínűnek érzem az energiatranszfer megvalósulását – pusztán óvatosabban kellene bánni a fluoreszcencia-intenzitás adatokkal, a fluoreszcencia-kvantumhatásfokot kellene használni.

5.4 Porfirin származékok genotoxicitása

Ezeknél a méréseknél a „dózis” (porfirin koncentráció szorozva az inkubálási idővel) függvényében ábrázolták az eredményeket. Számomra nem triviális, hogy ez a szorzat értelmezhető-e ilyen egyszerűen, valóban azonos-e a hatás a kétszer magasabb koncentrációban, de fele annyi ideig inkubált mintáknál? Nem kellett volna ezt kísérletesen igazolni?

Nem értem az 51. ábra szerinti kísérleti körülmények választását. A feltüntetett pontok szerintem alkalmatlanok a „görbe” kezdeti meredekségének meghatározására. A kezdeti meredekség definíció szerint az origóból induló egyenes meredeksége – az ábrán láthatóan nem erről van szó. Miért nem végzett a Jelölt további kísérleteket kisebb dózissal, ha egyszer a kezdeti meredekségre kíváncsi? Ha már tudott volt, hogy a görbe a nagy dózisok tartományában ellaposodik, az nem volt érdekes, hogy a kationos porfirin miért mutat ilyen képet, amikor a semleges, glikozilált porfirinek a dózis függvényében lineáris képet mutatnak?

5.5 Porfirin-peptid konjugátumok kötődése.

Az 54. és 56. ábrákon (mind az A mind a B ábrákon) a görbék kezdeténél ($r = 0$) azt várnám, hogy az illesztésnél használt sávok relatív területe azonos, hiszen itt az adott konjugátum spektrumának

felbontásáról van szó. Ehelyett a közelítésre használt sávok maximumhelyeinek listája sem azonos, és az egyes komponensek relatív súlya is más-más a két ábrán. Hogyan lehetséges ez? Többféleképpen is felbontható ugyan az a spektrum, azonosan jó közelítéssel?

5.6. Porfirin származékok *in vitro* sejt felvétele és sejten belüli lokalizációja.

A peptid-konjugátumok sejten belüli lokalizációjának vizsgálatával foglalkozik a 109. oldal felső része. Az utolsó bekezdésben egy szikár állítás olvasható („a ko-lokalizáció sokkal kiterjedtebb a lizoszómák esetében”) – örültem volna, ha ezt valamilyen számszerűsíthető módon is alátámasztja Jelölt. A 64. ábra D és G részeinek összehasonlításakor a sárga szín nem meggyőzően intenzívebb a D (jelölt lizoszómák) részben, mint a G (jelölt mitokondriumok) részben, bár azt még az én gyakorlatlan szemem is észreveszi, hogy a G részben több piros folt maradt, ami azt jelenti, hogy nemcsak mitokondriumban lokalizálódik a porfirin-származék – de azért távolról sem annyi, mint amennyi lizoszóma látszik a D részben. Előfordulhat, hogy az eléggé váratlan gerjesztési/detektálási hullámhossz-választás okozza ezt? Nem áll rendelkezésemre az itt használt porfirin-származékok abszorpciós és emissziós színeképe, csak a 9-es ábrán közölt abszorpciós és a 38. ábrán közölt emissziós színekép alapján látok problémát. A porfirin kimutatására 488 nm-es gerjesztést és 650-750 nm közötti detektálási hullámhosszat választottak – a gerjesztési hullámhosszon minimális a porfirin elnyelése. A MitoTracker kimutatására 510 nm-es gerjesztést és 665 nm-es detektálást használtak. Miután 510 nm-en a porfirin legalább annyira elnyel, mint 488 nm-en, ezért a porfirin emisszió egészen biztosan „bevilágít” a MitoTracker-nek tulajdonított jelbe. Látszólag egyetlen mintán történt a kétféle ko-lokalizációs vizsgálat (a B és E képek vizuális összehasonlítás alapján azonosnak tűnnek), miért nem maradt meg a mitokondriumokba jutott porfirin-származékok pirosas nyoma a D képen?

5.7.1. A fotodinamikus reakció hatékonysága és mechanizmusa

A szingulett oxigén keletkezése relatív kvantumhatásfokának mérése során nem értem, hogy Jelölt miért állított be ilyen extrém mérési paramétereket. A trijodid ion felhalmozódásának kezdeti sebességét kellene meghatározni, mi értelme van ezt olyan konverzióig vinni, amikor egyes esetekben a 2-t is meghaladó optikai sűrűséget kell mérni? Pusztán az abszorbancia-mérés hibája sem indokolná ezt (ez 0,4 körül minimális, 0,1 és 1 között célszerű tartani), de Jelölt is észleli, hogy a nagy konverziók miatt már jelentős a porfirin-származékok degradációja. Méri is ezt, de ezek a mérések a degradáció tényének rögzítésén túl több kérdést vetnek fel, mint amennyi választ adnak (pl. mi lehet az oka a degradáció lassulásának, lényegében véve leállásának kb. 50%-os degradáció után?). A nagy konverziók miatt nagyon kevés mérési pont jut a kezdeti szakaszra, emiatt a görbék kezdeti meredekségének meghatározása nagyon nagy hibával terhelt. Hiányolom a kezdeti meredekséget számszerűsítő táblázatot – amennyiben Jelölt ezt fontosnak érezte volna, ő is másként végezte volna a méréseket.

A fotodinamikus reakció mechanizmusának vizsgálata érdekében szingulett oxigén akceptort, vagy kioltót, és gyökfogót alkalmaztak. A DPBF ilyen koncentrációban (67. ábra) nem alkalmas vizes közegben a szingulett oxigén szerepének tisztázására. Egyrészt vizes környezetben nagyon rövid a szingulett oxigén élettartama (~4 μ s), még ha diffúzió-kontrollált reakcióban is fogja meg a DPBF a szingulett oxigént, akkor is csak egy töredékét tudja megfogni; másrészt minden ilyen megfogás fogyasztja a DPBF-et. A jódképződés sebességén alapuló durva becslés szerint a 67. A ábra szerinti körülmények között 1 kJ/cm² beeső dózis esetén a keletkezett szingulett oxigén mennyisége egy nagyságrendben van az alkalmazott DPBF koncentrációval, tehát a nagyobb konverziók esetében az adalék jelentős része már elfogyott. A nátriumazid adalék sokkal inkább alkalmazható, az legalább nem fogy, amikor kioltja a szingulett oxigént.

Az értekezés eredményeihez (6. Megbeszélés) fűzött megjegyzések.

A porfirinek modellmembránokhoz történő kötődését nagyon sok aspektusból vizsgálták, kifejezetten sok szempontból tisztázták az alkalmazott (mások által nem, vagy kevésbé vizsgált) profirin-származékok kötődési hajlamosságát. Eredményeik lényegében véve a hasonló származékokra vonatkozó más vizsgálatokkal egyező, azokkal teljes összhangban levő értékeket, tendenciákat mutattak, így azon porfirinek és modellmembrán/porfirin kombinációk esetében, melyeket ők vizsgáltak először, mások által is jól felhasználható adatokkal bővítették tudásunkat.

A porfirinszármazékok DNS-hez, illetve nukleoprotein komplexekhez történő kötődése témakörében részletesen, sok egymást kiegészítő módszer segítségével vizsgálták a különböző kötődési formák erősségét. A más-más módszerrel kapott eredmények szép összhangban mutatták meg az ionos porfirinszármazékok nettó töltése fontosságát a kötődési hajlandóság befolyásolásában. A 129. oldalról a 130. oldalra áthúzó bekezdésben a kísérleti eredményekből leszűrt ténymegállapításokat olvashatunk – itt, a megbeszélés részben az lenne érdekes, hogy ezekből milyen következtetések vonhatók le.

A genotoxicitással foglalkozó részben a 134. oldal utolsó mondatát sajnos nem értem: „... a fáginaktiváció mértéke nő, kinetikája pedig egytalálatos jellegű a telítési koncentráció eléréséig.” Történt kinetikai mérés ebben a témakörben? Az „egytalálatos” alatt mit értsünk?

A porfirinek fototoxikus hatásának vizsgálata során történt ugyan néhány kísérlet mind szingulett oxigén kioltó, vagy elfogó, mind gyökfogó jelenlétében, de véleményem szerint ezen kísérletek száma, alaposága nem teszi lehetővé határozott kijelentések megfogalmazását a fototoxikus hatás mechanizmusával kapcsolatban. Teljes mértékben egyetértek Jelölttel abban, hogy ezen kísérleti eredmények abba az irányba mutatnak, amit ő határozottan kijelent, csak ezen következtetések egyértelműsége, határozottsága szempontjából vannak fenntartásaim.

Egy kis hiányérzetem maradt azzal kapcsolatban, hogy a disszertáció nem mutatta meg Jelölt véleményét a PDT esetleges mellékhatásait illetően. Negyed századdal ezelőtt a PDT egyik legfontosabb erényének tartották, hogy szemben a többi daganat-terápiás eljárással káros mellékhatása nem volt ismeretes. Ezután elkezdtek megjelenni azok a közlemények, melyek felvetették a genotoxikus mellékhatás lehetőségét (elsősorban a porfirinek DNS interkalációja miatt). Bár ez a polémia nem zárható le egy egyszerű igen/nem válasszal, adódott volna a lehetőség, hogy kifejtse véleményét, látásmódját ebben a fontos kérdésben.

A bírálat elkészítésére felkérő levél szerint a bíráló „... tételesen nyilatkozik arról, hogy a mű mely téziseit fogadja el új tudományos eredményként, és melyeket nem.” Sajnos a Tézisfüzet ezt nem teszi lehetővé, mert bár jó, tömör összefoglalását adja az egész munkának, téziseknek tekinthető megállapításokat nem tartalmaz.

Az értekezés legfőbb erényének a sokféle, egymást jól kiegészítő mérési módszer következetes alkalmazását tartom. Az értekezésben tárgyalt eredményeket összességében elfogadom új tudományos eredményeknek, ezért véleményem szerint az értekezés megfelelő alapot ad arra, hogy a Doktori Tanács védésre kitűzze, és sikeres védés esetén az MTA doktora címet megítélje.

Apróságok, melyek nem érintik a disszertáció lényegét, mondanivalóját.

A disszertáció gördülékeny, jól olvasható, elütéseket csak minimális számban tartalmaz (pl. 34. oldal közepén „folyamatr.”; „floureszcencia” a 44. oldal alsó harmadában, illetve 47. oldal 3. sorában; „r” betű nélküli „anizotrópia” az 57. oldal utolsó előtti bekezdésének végén; „lizoszama” a

109. oldalon; felesleges „a” betű a „kooperativitását” szóban a 123. oldalon; „meg” helyett „mag” a 140. oldalon) – de hát az ilyenek nem rontják a disszertáció érthetőségét, csak az opponensnek adnak alkalmat arra, hogy a figyelmes elolvasást bizonyíthassa. A fényérzékenyítő; fotoszenzibilizátor; PS megjelöléseket szinonimaként használja Jelölt – valóban azok is, de a váltakozó megnevezés egy tudományos munka olvasásakor arra sarkallja az olvasót, hogy keresse az árnyalatnyi különbséget a más-más megnevezésben; ezért inkább a monotonitással együtt járó azonos elnevezést tartom célravezetőnek.

A disszertáció szerkezete következetes, precíz, de nem segíti a megértést, követést az a tény, hogy a kísérleti eredmények és a „Megbeszélés” egymástól el van választva. Miután nem egy ültő helyemben szoktam elolvasni az ilyen terjedelmű műveket, a kísérleti eredményeknél hiányoltam azok értékelését, majd később, a Megbeszélés fejezetben sokszor kellett visszalapoznom a kísérleti eredményekhez.

A 9. oldalon található Jablonski diagrammal kapcsolatban két megjegyzésem van. Egy Jablonski diagramban – hagyománytiszteletből, de általánosan elfogadott módon – a nyilaknak rögzített jelentése van: a hullámos nyíl foton közreműködésével lejátszódó folyamatot jelöl (abszorpció, emissziók), míg az egyenes nyíl foton közreműködése nélküli folyamatot jelöl (spinváltó átmenet, belső konverzió, vibrációs relaxáció); a pontozott vonalas nyilat nem használjuk. Természetesen mindenki joga, hogy ne igazodjon ezen kód-rendszerhez; de akkor az eltérésre hívja fel a figyelmet, írja oda az ábrafeliratba, hogy milyen nyíl mit jelent. A 3. ábrán belső konverzióknak nevezett folyamat nem belső konverziót mutat, hanem rezgési relaxációt, ami kondenzált fázisban lejátszódó belső konverziót követően szükségszerűen megtörténik. A belső konverziót ilyen típusú Jablonski diagramon (ahol egyetlen gerjesztett szingulett és triplett állapot van feltüntetve) nem lehet ábrázolni.

A 22. oldal 3. bekezdésében említésre kerül a TMPyP planaritása, megtoldva azzal a téves megjegyzéssel, hogy a „mezo-szubsztituensek ko-planáris helyzete pedig tovább növeli a tetrapirrol aromás jellegét.” A porfirin gyűrű mezo-szubsztituensei általában nem lehetnek ko-planáris helyzetűek a tetrapirrol gyűrűvel, mert a pirrolokön levő hidrogénatomok, illetve a mezo-szubsztituens piridinjeinek a kapcsolódáshoz képest orto helyzetű hidrogénjei ütköznek egymással. A hivatkozott (145) közlemény röntgenkristallográfiával épp azt mutatta ki, hogy a piridin-gyűrűk 66-72 fokos szöget zárnak be a porfirin gyűrű síkjával. A 9. ábrán más mezo-szubsztituált porfirin származék térszerkezete már helyesen van ábrázolva, de itt a „gömbszimmetrikus” megnevezést túlzónak érzem (egy gömbszimmetrikus idomnak végtelenül sok szimmetria-síkja van), pontosabb lenne a gömb-alakú megnevezés.

A 25. oldal tetején a Förster-féle rezonancia energiatranszfer kapcsán levonható következtetésekről esik szó. Ezek nem pontos állítások, a Förster típusú energiatranszfer dipól-dipól kölcsönhatás, melynek létrejöttéhez nem szükséges a két résztvevő molekula közvetlen érintkezése (bár ezen energiatranszfer valószínűsége a résztvevők távolságának hatodik hatványának reciprokával arányos, tehát viszonylagos közelséget követel meg). Más mechanizmus, az elektronszerével lejátszódó Dexter típusú energiatranszfer az, ami valóban megkívánja a két résztvevő molekula kvázi érintkezését.

A hőmérsékletfüggő abszorbancia-méréshez használt termosztálás során (45. oldal) keverték-e az egyes küveták tartalmát? Mit tapasztaltak, mekkora volt a beállított és a mért hőmérséklet közötti különbség a felfűtés alatt?

A 46. oldalon a 13. ábra mutatja az ESR mérések kiértékelése során használt paraméterek meghatározását. Nem értem a h_{-1} jelű mennyiség meghatározását, az azt jelölő nyíl kezdete nincs összefüggésben a mért jellel.

A 47. oldalon a 3-as és 4-es egyenletekben [P] úgy-e a bemért porfirin koncentrációt jelöli?

A 49. oldalon a 14. ábra A részében közölt spektrum nem tűnik egy hőmérsékleti sugárzó (pl. egy W lámpa) emissziós spektrumának, annál sokkal tagoltabb (inkább egy fém-halogenid lámpa spektrumára emlékeztet), elüt a B ábra szerinti halogén lámpa spektrumától, amely egy tipikus hőmérsékleti sugárzó.

A disszertációban többször előfordul fluoreszcencia-élettartam mérés ábrája, mutatva a mérési eredményeket és az illeszkedés jóságát. Ez utóbbiakat több helyen nem értem; pl. 24., 34. ábrákon az illeszkedés jóságát mutató részben +/- 4 beütésen belül van a teljes görbe (a szélső értéket szinte sosem éri el) – maga a mérési ábra ennél lényegesen nagyon eltéréseket is tartalmaz.

A 20. és a 32. ábra TMPyP kötődésének abszorpciós spektrumait mutatja DNS-hez, illetve NP-hez – de a maximális abszorbancia jelentősen eltér egymástól. Más-más TMPyP koncentrációk mellett történetek a mérések?

A 77. oldal első sorában utalás olvasható a „poláros oldószerben látott felhasadásra”. Az analóg ábra (66. oldal) esetében a felhasadt sávok jelenlétét „legalább részben apoláros környezet”-tel magyarázta.

A 79. oldalon található 37. ábra 20 °C-ra vonatkozó relatív koncentráció-értékeknek meg kellene egyeznie az A ábra esetében a 33. B ábra, illetve a B ábra esetében a 25. B ábra $r=5$ értéknél látható relatív koncentráció-értékeivel. Ez egyik esetben sem áll fenn – miért?

A 60. ábrán nem világos, hogy mi van a függőleges tengelyen. Korábbi ábrákon (46., 48.) a függőleges tengely jelölése szerint a 260 nm-en mért abszorbancia hőmérséklet szerinti deriváltja látható, mindenütt 0,1 abszorbancia egység/°C nagyságrendű adatokkal; itt pedig 1 abszorbancia egység/°C nagyságrendűek a maximumok. Ha normálás történt, akkor erre miért volt szükség? A 60. ábrához fűzött kommentár szerint (105. oldal teteje) „A NP első, a kapszid fellazulásához köthető fázisátalakulási hőmérsékletet ... a konjugátum nem befolyásolja.” Ezek szerint a 60. C ábrán az 55 – 60 °C között látható eltérések a mérés reprodukálhatóságát mutatják?

Budapest, 2020. október 30.

Vidóczy Tamás