

Bírálat

Bonyár Attila

„Plazmonikus elvű bioérzékelők kutatása”
című MTA doktori értekezéséről

Bonyár Attila a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Villamosmérnöki és Informatikai Kar Elektronikai Technológia Tanszék egyetemi docense. Fő oktatási és kutatási területe 15 éve a bio- és nanoszenzorika, valamint az ezekhez kapcsolódó technológiák. A benyújtott értekezése szintén a nanostruktúrákra épülő bioérzékelést helyezi a középpontba.

A bioérzékelés az elmúlt években, évtizedekben jelentős haladáson ment keresztül elsősorban a humán alkalmazások, a betegségek diagnosztizálása és a genetikai vizsgálatok széleskörű elterjedése miatt. A fejlődés töretlen folytatása várható a személyre szabott diagnosztika és terápia kibontakozása és elterjedése által. A Covid-19 fertőzés diagnosztizálásában, az mRNS alapú vakcinák kifejlesztésében valamint a vakcina tömeggyártásában is ez, a nanotechnológiára alapozott kutató-fejlesztő munka valósult meg.

Bonyár Attila eddigi munkásságának összefoglalója a benyújtott disszertáció, a plazmonikus nanostruktúrák bioérzékelőkben való alkalmazásának elméleti, gyakorlati és technológiai kérdéseivel foglalkozik. Természetesen a bioérzékelésnek számos válfaja ismert, a szerző a munkájában az elektrokémiai és optikai vizsgálatokra fókuszál. Fő kutatási területe így a kvantumkorlátozott struktúrákban kialakuló felületi plazmonrezonancia jelenségének elméleti leírása és alkalmazása az adott felületen lejátszódó molekuláris, kötődési folyamatok nagy érzékenységgel követésére, kimutatására.

Az értekezés világos és rendszerezett áttekintést ad a plazmonikus bioérzékelők jelenlegi állásáról, a jelölt elméleti és gyakorlati munkájáról és az elért eredményeiről. A disszertáció négy érdemi fejezetet tartalmaz, amelyeket a „Bevezetés” és az „Összefoglalás” fejezetek foglalnak keretbe.

A „Bevezetés” fejezetben világosan megadja sok éves kutatómunkájának alap célkitűzését: *„LSPRI-elvű, optikai bioérzékelők fejlesztése, a hordozható diagnosztikai eszközökbe történő egyszerű integrálhatóságra törekedve”*. A dolgozat jól mutatja kutatómunkájával a jelenlegi pillanatig meddig jutott, milyen eredményeket ért el. Először megadja, hogy az érdemi fejezetekben mely kérdésekre koncentrálnak, hogyan épülnek egymásra az elért eredményei.

Az első érdemi rész a második fejezet, a *„Szakirodalmi áttekintés”*. Ebben 25 oldalon nagyszámú irodalom, közel 130 publikáció feldolgozása alapján összefoglalja a plazmonika elméleti hátterét, az azt leíró fizikai modelleket. A felületi plazmonok kollektív viselkedése majd a lokalizált plazmonrezonancia tárgyalásával megalapozza a plazmonikai érzékelőkben lejátszódó fizikai folyamatokat. Az elméleti leírás alapján világosan kirajzolódnak azok a kritikus pontok, amelyek alapvetően meghatározzák a tervezett plazmonikai szenzorok érzékelési tulajdonságait. Kitér a felületerősített Raman-szórásra is, amely lényegesen megnövelt érzékenységgel alkalmas célmolekulák azonosítására.

Plazmonok gerjesztésére olyan részecskerendszereket kell előállítani, amelyben az egyes részecskék jellemző mérete a nanométer nagyságrendjébe esik. A fejezetben röviden, de nagyon informatívan összefoglalja azokat az eljárásokat, amelyekkel részecskék hozhatók létre a kívánt mérettartományban. A különféle fizikai és kémiai eljárások előnyeit és hátrányait megismerve az adott érzékelési feladatnak megfelelő technológia kiválasztható és a szükséges nanorészecske rendszer előállítható. Fontos és a jelölt munkáját iniciáló a következő alfejezet, amelyben összefoglalja a LSPR szenzorelemek irodalmi adatokra alapozott minősítését és összehasonlítását. Világosan bemutatja, hogy a plazmonrezonancia-csúcsetolódás és a célmolekula-koncentrációra vetített csúcsetolódás sem megfelelő minősítés, hiszen nagyon függ a célmolekulák típusától is és a felületre kötött receptormolekulák hatékonyságától. A plazmontér inhomogenitás, gyors lecsengése a nanorészecske környezetében szintén jelentős faktor a szenzorelemek jóságának megbecslésében.

A következő „*Modellezés és szimuláció*” című fejezet a következő célkitűzésre ad választ: „*Kidolgozni egy szimulációs eljárást, amivel tetszőleges nanorészecske-elrendezésre a nanorészecskék közötti csatolt plazmonrezonanciából adódó járulékos érzékenységnövekmény számszerűsíthető, illetve elkülöníthető a részecske alakjának és méretének hatásától*”. Elsőre végigveszi azokat a számítási módszereket, amelyekkel első elvekből meghatározhatók egyedi alakzatok elektromágneses és abszorpciós hatáskeresztmetszetei, majd röviden ismerteti a leginkább alkalmasnak tartott MNPBRM (Metallic NanoParticle Boundary Element Method) megoldó működését.

Bevezeti a tömbi törésmutató-érzékenység erősítési tényezőt, amely számszerűsíti a nanorészecskék között fellépő plazmonikus csatolásból származó tömbi törésmutató-változásból származó erősítést, majd igazolja nanogömbökből, illetve nanokocka dimerekből álló részecskerendszerek esetében. A törésmutató-érzékenység, mint a nanorendszert jellemző mennyiség nagy segítséget ad a plazmonikai szenzorelemek tervezésében és az előállítási technológia optimalizálásában.

Hasonló módon a mag-héj részecskék felületi rétegének hatását molekuláris érzékenység erősítési tényezővel jellemzi. Többféle egyrészecske és részecskepár elrendezésre határozza meg a tömbi törésmutató érzékenység és a molekuláris érzékenység értéket a hullámhossz függvényében. Ezek a szimulációk nagy segítséget jelentenek valós nanorészecskéket tartalmazó plazmonikai szenzorok tervezésében.

A továbbiakban üveg hordozón előállított valós nanosziget rendszerek modellezését oldja meg a MNPBEM algoritmus saját modullal való továbbfejlesztésével. A valós mintáról AFM képet készítve, a bemenő részecskehalmoz már a valóságosnak megfelelő méreteloszlással és egymás közötti távolságokkal rendelkezik.

Kérdéseim a fejezettel kapcsolatban:

- *Kísérletileg igazolta-e a kidolgozott szimulációs eljárások helyességét? Készített reprodukálható tesztstruktúrákat a validációhoz?*
- *Végzett-e kísérleti munkát valóságos struktúrák törésmutató érzékenységének meghatározására abból a célból, hogy összehasonlítsa a modellezett és valóságos*

struktúrák törésmutató érzékenységét, verifikálja a számításokból kapott eredmények helyességét?

- *Milyen volt az AFM-mel vizsgált nanosziget rendszereknél a méret- és távolságeloszlás?*
- *Vizsgált-e olyan nanosziget rendszereket, ahol az egyes részecskék alakja nagyban eltér a köralaktól vagy ellipszoidtól (pálca alakú részecskék, stb.)? Milyen kioltási spektrumok illetve érzékenység növekedés várhatók ilyen filmek esetében?*

A következő fejezetben részletesen beszámol a plazmonikus nanokompozitok kutatás-fejlesztéséről SERS és LSPR alapú bioszenzorikai alkalmazásokhoz. A munkát széles nemzetközi együttműködésben valósítják meg. A részecske rendszereket különböző módon előállított templétek alkalmazásával jól szabályozható mérettartományban és elrendezésben lehet létrehozni. Szellemes és célravezető módszer az epoxiba ágyazott nanorészecske rendszer megvalósítása. A részecskék közötti epoxi-réteg eltávolításával a rezonancia-csúcs eltolódását és ezzel együtt a törésmutató érzékenység növelését figyelte meg.

Kérdéseim:

- *Milyen méreteloszlással sikerült az Au nanorészecskéket előállítani ezzel a módszerrel?*
- *Mag-héj szerkezetek kialakíthatók az epoxi felületére kötött Au nanorészecskéken?*
- *Megállapítja, hogy utólagos oxigén plazmás kezeléssel eltávolítható a nanorészecskék felületén a tárolás alatt kialakuló szennyező réteg. Miből áll ez a szennyező réteg? A plazmás kezelés nem érinti károsan a hordozó epoxi szerkezetet?*

Folytatásként a kísérletileg előállított Au nanorészecske elrendezésre alkalmazza az előző fejezetben kidolgozott szimulációs módszert. A valóságos struktúrákon végzett LSPR és SERS szimulációk eredményeit azután összeveti SERS mérésekkel. DNS molekulát kötve a nanorészecskék felületére sikeresen detektálja a bázisok karakterisztikus csúcsait. A kiértékelés nehézségekbe ütközik, mert nagyszámú csúcs fordulhat elő a több bázis jelenléte miatt, a jelölésmentes DNS-hibridizáció számszerűsítése nem lehetséges. Epoxi alapú, a felületen arany nanorészecskéket tartalmazó szenzorelemet hozott létre, jelentős eredményeket ért el DNS molekulák kimutatásában. A pufferoldat ionsűrűségének optimalizálására végzett kísérleteket. Az Au nanoszemcsék alatti epoxi tartórészek nagysága erősen befolyásolja a részecskék közötti csatolás kialakulását. A technológia optimalizálásával sikerült az elméleti számításokból kapott törésmutató-változás érzékenység értékét kísérletileg megközelítenie.

Kérdésem:

- *A törésmutató érzékenység többek között függ a nanorészecskék alatti epoxi alakjától és mennyiségétől. A kitekintés részben írja, hogy újabb kutatásaiban SiO₂ köztes réteget alkalmaz az Au nanorészecskék alatt. Kérem röviden vázolja, hogy milyen előnyökkel jár a köztes réteg alkalmazása.*

Az utolsó „*In-situ jelerősítési eljárás vizsgálata*” című érdemi fejezetben tömören tárgyalja az in-situ jelerősítés lehetőségeit és vizsgálja, hogy a DNS-molekulák hibridizációs láncreakciós folyamata javítja-e a plazmonikus érzékelés detektálási küszöbét. A kísérleti munka a BME ETT saját fejlesztésű SPRi berendezésén és mikrofluidikai rendszerén történt. Sikeresen bizonyítja

kísérletileg az in-situ jelerősítés folyamatát a cél-DNS bekötődése során. A BME ETT saját és a Biacore X100-as SPR-berendezésével végzett hasonló mérésekkel hasonló négy-hétszeres jelerősítést mutatott ki.

Igazolta multi-bioérzékelők esetén, hogy egy csatorna jelének szelektív kiemelésére alkalmas a DNS-molekulák hibridizációs láncreakciós folyamata. A kísérletet három egymással komplementer receptor- és cél-DNS-párból álló multi-bioérzékelő rendszer vizsgálta és bizonyította, hogy a szelektív jelkiemelés megvalósul.

Kérdéseim:

- *A hibridizációs láncreakció folyamatok vizsgálatánál milyen plazmonikai felületeket használt (milyen hordozón, milyen eljárással és milyen méreteloszlással, stb.)?*
- *Kérem ismertesse kicsit részletesebben a kísérletekben használt mikrofluidikai rendszereket. Hogyan valósította meg a multi-bioérzékelős mikrofluidikai méréseket?*
- *A jelnövekmény következtében a legkisebb detektálható DNS koncentráció csökkent. Kérem kommentálja, hogy a bioérzékelés gyakorlatában mit jelent ez a detektálhatósági küszöb csökkenés.*

A disszertáció utolsó összefoglaló fejezetében tézisekben fogalmazza meg az elért eredményeit.

A hat tézisben megfogalmazott állítások megalapozottak, azok doktori műben részletesen ismertetett elméleti és kísérleti munka eredményei és következtetései. A tézisek a jelölt 24 tudományos publikációján alapulnak. A bemutatott munka széles hazai és külföldi kooperációban, esetenként pályázati keretek között valósult meg. A jelölt saját munkája nagyon jól elkülöníthető és felismerhető. Ezt bizonyítja az is, hogy a tézisekhez kapcsolódó 24 publikáció közül 14-ben a jelölt a publikáció első szerzője.

Általános kérdéseim a bemutatott munkával kapcsolatban:

- *A plazmonika alapproblémája, hogy nanorészecske rendszerek szükségesek az optikai mérésekhez. Mi a véleménye, gyakorlati alkalmazás szempontjából, nagy sorozatban létre lehet-e hozni reprodukálható módon, mindig ugyanolyan nanorészecske rendszereket? Milyen technológiai eljárások és módszerek lehetnek alkalmasak egy felületen azonos méretű és eloszlású nanorészecske rendszerek előállításra?*
- *A disszertációban bemutatott kísérletek (ha jól értettem) párologtatott vékony arany film hőkezelésével előállított nanorészecskék felhasználásával készültek. Vajon más technológiával előállított nanorészecskékkel megismételve a kísérleteket, ugyanezeket az eredményeket kapnánk?*
- *Hogy választotta ki a kísérletekben használt DNS molekulákat?*
- *Hogy látja a plazmonikai bioérzékelők orvos-biológiai, személyreszabott diagnosztikai technológiáinak és alkalmazásának jelenét és lehetséges jövőjét?*

Az értekezés szép külalakú, olvasmányos, elütés gyakorlatilag nem fordul elő benne. A felsorolt hivatkozások -206 tétel - mutatják a jelölt mély jártasságát a kutatott témákban. Az ábrák és táblázatok információgazdagok, jól olvashatók. Nagyon dicséretes, hogy a

dolgozatban a terület angol szakkifejezései helyett – ahol lehet – a magyar szakszavakat használja.

Meg kell jegyezni, hogy az egész disszertáció tankönyvi minőségben vezeti be az olvasót a plazmonikai bioérzékelők világába. A világos elméleti alapokat, technológiai ismereteket és az érzékelők tulajdonságait leíró tömör, de igen informatív rész, a plazmonikus nanokompozitok tárgyalása valamint a SPR és LSPR alapú bioérzékelés leírása kiválóan alkalmazható az oktatásban, de még a témával foglalkozó szakemberek számára is élvezetes olvasmány.

A bemutatott téziseket elfogadom, a jelölt saját és új tudományos eredményének ismerem el. Az eredmények nemzetközi tudományos folyóiratokban jól publikáltak, a jelölt a legtöbb cikken első vagy utolsó szerző.

A bemutatott eredmények alapján az értekezést a nyilvános vitára alkalmasnak tartom és sikeres védelem esetén javaslom a jelöltnek az MTA doktora cím megítélését.

Budapest, 2023. május 07.

Battistig Gábor
az MTA doktora