

A bírálóbizottság értékelése

Gyémánt Gyöngyi az értekezésében leírt kutatómunkát magas színvonalon, a kitűzött céloknak megfelelően és következetesen hajtotta végre, az új tudományos eredményeket nívós nemzetközi folyóiratokban közölt publikációkban részletesen bizonyította. A bíráló bizottság kiemelte, hogy az értekezés témája, a szénhidrátokon aktív enzimek szerkezete, aktivitása és gátlása, napjainkban kiemelkedő jelentőséggel bír mind a biotechnológiai, mind a gyógyászati alkalmazások terén.

A bizottság értékelése szerint a jelölt által vizsgált enzimvariánsok szerkezeti és funkcionális vizsgálatai precíz és innovatív módszerekkel valósultak meg, és a létrehozott mutációk hatásának tanulmányozása jelentősen hozzájárult a szénhidrátokon aktív enzimek működésének mélyebb megértéséhez. Az enzimatis transzglykizációs folyamatok vizsgálata új lehetőségeket tárt fel a szénhidrátok biotechnológiai alkalmazásában. A bizottság kiemelten fontosnak ítélte a jelölt által kidolgozott új aktivitásmérési módszereket, különösen az izotermikus titrálási kalorimetrián (ITC) alapuló eljárásokat, amelyek jelentős előrelépést jelentenek az enzimműködés természetes szubsztrátokkal történő vizsgálatában.

A bíráló bizottság a jelölt valamennyi tézispontját elfogadta, és a jelölt legfontosabb új tudományos eredményeinek ismeri el a következőket:

1. Kimutatta egyes aminosavak meghatározó szerepét a szubsztrátok megkötésében és hidrolízisben poliszacharid hidrolázokban, az árpa AMY1 α -amiláz-izoenzimében. Mutációs eljárásokkal létrehozott enzimvariánsokkal, az alhely-térképek segítségével kimutatta a glikon kötőhelyek specifitása változását. Kimutatta, hogy célzott mutációval létrehozott enzimekkel a tetramer szubsztrátok hidrolízise nagyobb sebességgel történik, mint a heptamereké.
2. Árpa α -amiláz-izoenzimek esetében kimutatta, hogy a másodlagos kötőhely aminosavainak cseréje hatással lehet a termékarányokra, és az aktív és másodlagos kötőhelyen is mutációt hordozó enzimvariánsok esetében az aktív hely mutáció módosító hatása érvényesül.
3. Megállapította, hogy a burgonyabogár szénhidrát-emésztésében létfontosságú α -amiláz-enzim (LdAmy) az emlős és a *Tenebrio molitor* rovaramiláz szerkezetéhez hasonló.
4. Az exo hatásmódú édesburgonya β -amiláz-enzim esetében kimutatta a láncvégi maltóz hasítást és transzfert, valamint leírta a maltóz transzferét inverziós glikozidáz esetén.
5. A biofilmeket bontó DispersinB-enzim működése során igazolta az aktív hely aromás aminosavainak a hidrolízisben betöltött szerepét.
6. Összefüggést talált a szekvencia eltérései és a transzferaktivitás mértéke között a burgonyabogár α -amiláz transzglykizációs aktivitása esetén.
7. Kidolgozta és sikeresen alkalmazta az izotermikus titrálási kalorimetriát (ITC) α -amiláz-enzimek aktivitásmérésére. Az egyszeres és többszörös titrálás előnyeit kombináló módszerben a hőmennyiség-változás arányos a reakciósebességgel, és így alkalmas az enzimaktivitás mérésére. A módszer alkalmas az amilázok természetes szubsztrátján történő gátlás vizsgálatára akkor is, ha az inhibitor színe nem teszi lehetővé a spektrofotometriás mérést.
8. Az ITC-alapú aktivitásmérés módszerét alkalmazta megfordítható reakciókat is biztosító glikogén foszforiláz-enzim esetében a szintézis és a foszforolízis irányában

is. A módszer alkalmazásával gátlási vizsgálatokat végzett kompetitív és allosztérikus gátlószerek jelenlétében

9. Egy általa kidolgozott HPLC elválasztási módszerrel a nyál α -amiláz-aktivitásának mérését és gátlásának vizsgálatát alkalmazta hidrolízis termékek koncentráció-változásának követésére.
10. Többirányú és fontos vizsgálatokat folytatott többféle α -amiláz-aktivitásának gátlására alkalmas vegyületek azonosítására, és a gátló hatás igazolására. In vitro vizsgálatokkal igazolta nem cukor-alapú inhibitorokként használható, úgynevezett „drug-like” molekulák α -amiláz-gátló hatását. Több célponton is ható specifikus és aggregáció-alapú inhibitorokat azonosított.