



Address: Korányi fasor 9. Szeged, Hungary H-6720  
Tel/fax: +36-62-545-077  
e-mail: pmaroti@sol.cc.u-szeged.hu

## OPPONENSI VÉLEMÉNY

dr. Lukács András

Fotoaktív flavoproteinek funkcionális fehérjedinamikájának vizsgálata ultragyors spektroszkópiai módszerekkel

c. doktori disszertációról.

A biológiai rendszerek által elnyelt fény vagy szabadenergia formájában energetikai folyamatokat indít be, és tart fenn (pl. fotoszintézis) vagy a külvilág érzékelését, a sejtek viselkedését, és egyéb fontos életfolyamatait irányítja (pl. látás, cirkadián ritmus, fototaxis stb.). Ezek a hatások pigmentek vagy fényérzékeny fehérjék (pl. flavoproteinek) közvetítésével valósulnak. A flavinok és flavoproteinek tanulmányozása hosszú múltra, egészen 1933-ig nyúlik vissza, amikor Warburg és Christian felfedezte az Old Yellow enzimet, és a kofaktorát 1935-ben Theorell flavin mononukleotide gyanánt (FMN-ként) azonosította. A flavinfüggő fotoreceptorok 1993-as felfedezése újra felkeltette az érdeklődést a flavinok fotofizikája és fotokémiája iránt. A flavinfüggő fényérzékeny fehérjék és enzimek nagyon sokfélék lehetnek: DNS-fotoliázok, a kriptokrómok, a fény-oxigén-feszültség (LOV) fehérjék vagy kékfény-érzékelő FAD (BLUF) domén fehérjék. Széles területen fordulnak elő, és számos kritikus biológiai folyamatban vesznek részt, beleértve a DNS-javítást, a cirkadián ritmusok fotoszabályozását és a génexpressziót is.

A jelölt kutatásai (elsősorban ultragyors spektroszkópia alkalmazásával) ezekre a fotoreceptorokra összpontosítanak, amelyek kritikusak az optogenetikai alkalmazások megértésében is. Ezek a vizsgálatok olyan perspektívával kecsegtetnek, amelyek lehetővé teszik a sejtek viselkedésének fény általi szabályozását. Az elért eredmények mélyebb betekintést nyújtanak abba, hogy a fény molekuláris szinten hogyan befolyásolja a biológiai rendszereket, amely ismeretek hasznosak lehetnek az orvosi és biotechnológiai alkalmazásokra is. Vitán felül áll, hogy a jelölt modern, a tudomány frontvonalába tartozó témát választott.

Európa elismert laboratóriumaiban (Ecole Polytechnique Laboratoire d'Optique et Biosciences, University of East Anglia) kiváló szakemberek mellett dolgozott hosszabb ideig, és nagyon dicséretes, hogy hazajövele után az ott szerzett tapasztalatait itthon is hasznosította. Ez nem csupán a szakmai kapcsolatokra, hanem a mérőberendezések építésére és a fiatal kutatók képzésére is kiterjedt.

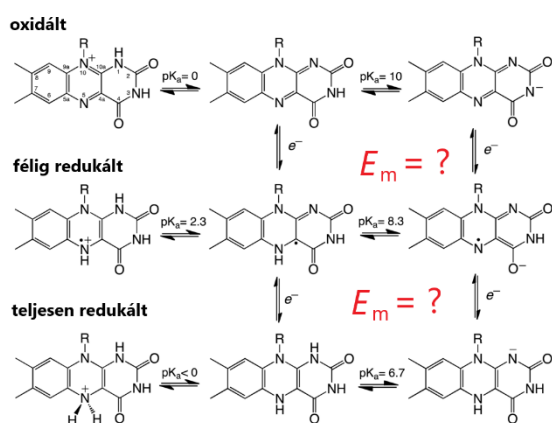
A jelölt eredményei kiváló kísérletes munkát tükröznek, amelyek igen tiszteletre méltóak, hiszen sokrétű, alapos, kitartó és inspiratív munkát igényeltek. Kissé szomorúan kellett megállapítanom azonban, hogy a jelöltnek nem sikerült a kísérleti (elsősorban az elektron- és protontranszferre, valamint azok csatolására vonatkozó) eredmények elméleti (termodinamikai) értelmezésével ehhez megközelítő magasságokba emelkednie. Természetesen lehet, hogy ez csak az én túlzott elvárásom volt a disszertáció kézbe vétele (helyesebben a pdf file feltöltése) előtt.

A jelölt tudományos és oktatói munkásságáról az MTA VIII. Biológiai Tudományok Osztálya 2023. szeptember 5-én kiadott összefoglalása szerint az összesen 56 tudományos és oktatási közleményére (ebből 44 folyóiratcikk, 10 konferenciaközlemény és 1-1 magyar ill. angol nyelvű könyvfejezet) 622 független hivatkozás történt, és a jelölt Hirsch indexe 19 volt. Az eltelt 1 év alatt ezek a tudományometriai jellemzők bizonyára emelkedtek. Mivel a habitus-vizsgálat ezeket az adatokat már elfogadta, így nekem ezen a területen nincs teendőm.

A disszertációban tett megállapítások többsége már megjelent előkelően rangsorolt nemzetközi kiadványokban, de alternatívák, más értelmezések, esetleg felületességek és egyéb észrevételek tapintatos kérdések formájában megjegyzés tárgyát képezhetik. Ezeket jól elkülönítetten lényegi és nem lényegi kategóriákba sorolom. A lényegi kérdések feltételénél igyekeztem a vonatkozó tézispontokra koncentrálni.

## Lényegi kérdések

### 1) A flavinok redox állapotai



A flavinok képesek többszörös redox és protonációs egyensúlyi állapotban létezni. Ellentétben a szintén két elektronnal és két protonnal teljesen redukálható kinonokkal, a FAD vízdékony, ezért a köztes redox állapotait viszonylag könnyű előállítani. Fiziológiai körülmények között általában (így az értekezésben is) 5 redox forma szerepel: oxidált kinon, semleges szemikinin, anionos szemikinin, semleges hidrokinon és anionos hidrokinon.

- Hogyan képes a fehérje termodinamikai szempontból stabilizálni mind a semleges, mind az anionikus formákat?

- Az alapvető protonációs folyamatokhoz tartozó pK<sub>a</sub> értékeket a disszertáció tartalmazza (lásd pl. az 1.2 ábrát), de az elektrontranszfer energetikája szempontjából lényeges redox középponti potenciálokról ( $E_m$ ) nem tesz említést (vagy legalábbis nincs feltűnő helyen). Ezen mennyiségek ismerete is szükséges ahhoz, hogy az egyes redox-állapotok egyensúlyi koncentrációit meghatározhatjuk. Sok esetben fontos lehet például a szemikinin és a hidrokinon formák egymás közti egyensúlyi eloszlásának meghatározása, de ide tartozik az oxidált és teljesen redukált formák közötti („kétlépcsős” vagy látszólagos) középponti potenciál ismerete is, amely a 2 elektronnal és 2 protonnal való teljes redukálás (vagyis a teljes biokémiai folyamat) szempontjából lehet irányadó.

- A teljes séma elméletileg sokkal bonyolultabb lehet, hiszen, ha csak az 1,3 és 5 helyeken szereplő 3 nitrogén protonálhatóságát nézzük, akkor ezekhez összesen 8 állapot tartozhat (1, ha mind protonált, 3, ha közülük 1 protonált, 3, ha közülük 2 protonált és 1, ha mindhárom protonált), azaz a fenti sémában minden sor nem 3 hanem 8 tagból áll. Milyen (véltetően a fiziológiás viszonyoktól eltérő)  $E_m$  és pK<sub>a</sub> értékek választásával lehet az ábrán szereplő fő átmeneteket biztosítani? Vannak-e olyan speciális környezeti hatások (oldószer polaritása, fehérjében való eltemettség/kitettség stb.), amelyek mégis kiemelnek egyes, a fenti sémában nem szereplő redox állapotokat?

### 2) Kísérleti elrendezés

- Hogyan győződött meg kísérletesen arról, hogy a gerjesztő flash valóban telítési, de mégsem túltelítési?

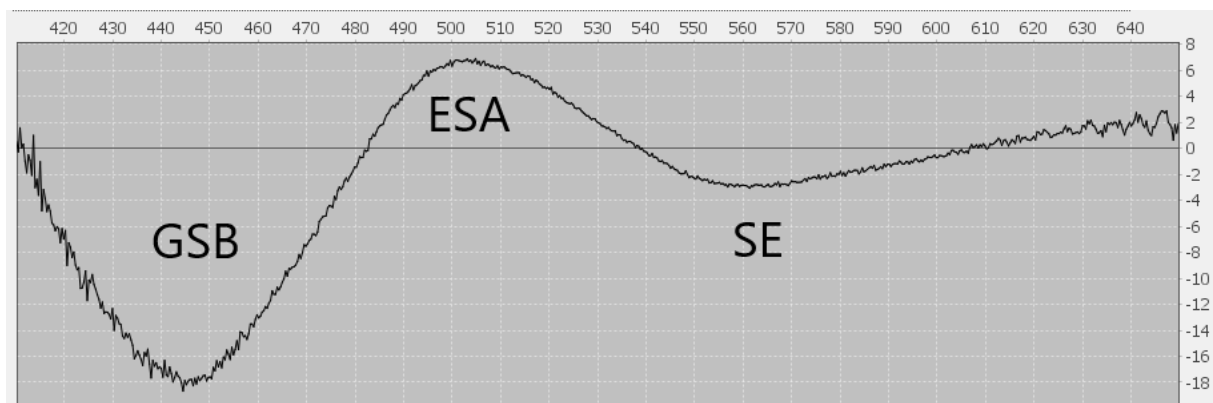
- A fehér fényű mérő-flash nagy előnye, hogy vele azonnal spektrumot lehet felvenni, de esetleges hátránya lehet a minta részleges gerjesztése. Hogyan győződött meg arról, hogy ilyen veszély nem áll fenn?

- Ha jól értettem a leírást, akkor a fehér mérőfény szélesebb területet világított meg a mintából, mint a gerjesztett terület. Hogyan lehet ilyen körülmények között a tényleges abszorpció-változást meghatározni?

### 3) A FAD abszorpció-változás spektruma

- Milyen egységben mérték az abszorpcióváltozást? Feltételezhetően mOD-ben? Hogyan győződtek meg arról, hogy telítési volt az aktinikus flash?

- A 2.7. ábra a FAD tranziens abszorpció-változás spektrumát mutatja. Nagyon jó jel-zaj viszonytal mért, viszonylag strukturálatlan spektrumot látunk. Ennek kialakításáért a jelölt 3 komponenst (GSB -



ground state bleaching, ESA – excited state absorption és SE – stimulated emission) tesz felelőssé, de az ezekre való felbontás a spektrum (többnyire aszimmetrikus) alakja, a komponensek maximum-helyei és a kísérleti körülményekről származó információ szűkössége miatt bennem néhány, a tisztább látás célját szolgáló kérdést vet fel:

- GSB: a FAD két közeli abszorpciós sávja közül az ábra a 450 nm körüli sáv kifakulását mutatja. Lehet-e hasonló kifakulást észlelni a 370 nm-nél található másik abszorpciós sávnál is?

- ESA: általában 500–600 nm között jelenik meg, de kiterjedhet akár a távolabbi vörös régióba is a gerjesztett (szingulett vagy triplett) állapottól függően. Adott esetben kevésbé megalapozottnak érzem ennek az effektusnak az 500 nm körüli tartományra való lokalizálását.

- SE: A FAD emissziója 500-600 nm között széles sávon következik be 525 nm maximummal. A kényszerített emisszióknak is hasonló spektrális tulajdonságai lehetnek. A megfigyelt abszorpció-változás alapján a stimulált emisszió maximumát (525 nm helyett) a jelölt 560 nm-nél feltételezi, míg az 500 nm körüli abszorpciós sávot a gerjesztett állapotú abszorpció tulajdonítja, holott a kényszerített emisszió már itt is részesevé mutathat. Az átlapoló hatások miatt a kvalitatív megállapítások helyett a kvantitatív kiértékelés (komponensekre bontás) meggyőzőbb lenne.

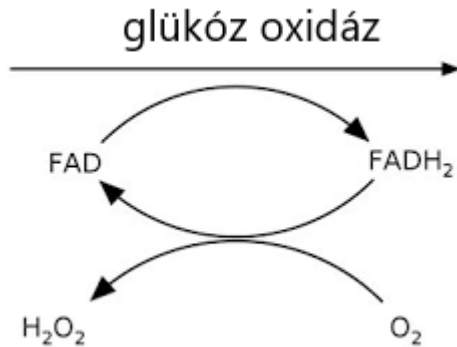
– A viszonylag egyszerű összképet árnyalhatja azonban, hogy a körülményektől függően további komponensek is felléphetnek:

- a rendszerek közötti átmenettel formálódó *triplett állapot*, amely széles (500-700 nm) spektrumtartományt ölel fel,
- *közbülső fototermekek*, amelyeket a fényindukált elektron transzfer vált ki,
- *töltés-transzfer (CT) komplex* állapotok a FAD és a környezete (a fehérje szomszédos aminosavai) között és
- a fény által létrehozott flavin (anion vagy kation) *gyökök*.

- Levonható-e minimálisan az a következtetés, hogy a GSB, ESA és SE effektusokon kívül más (fentebb felsorolt) hatás az adott spektrál- és időtartományban és kísérleti körülmények között nem lép fel?

#### 4) Fényindukált csatolt elektron- és protontranszfer glükóz-oxidázban

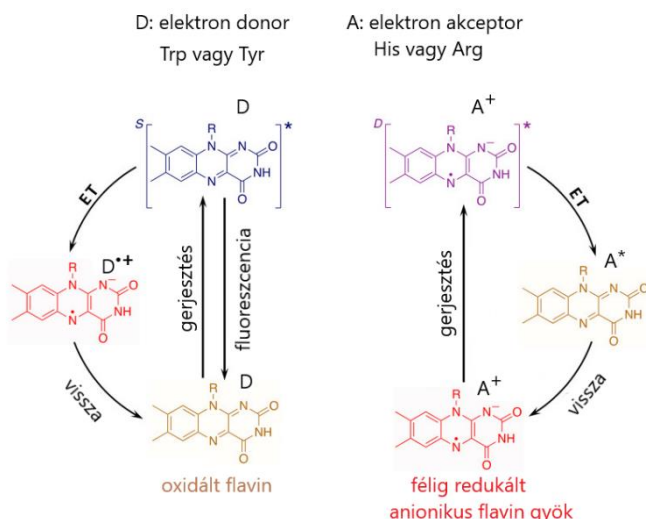
A jelölt meghatározta a FAD vibrációs tulajdonságait a flavin 5 redox állapotában, valamint a tirozin (és a triptofán) gyököket markerként azonosította a kationikus és semleges állapotaiban. Kimutatta, hogy a glükóz oxidázban a tirozinról a gerjesztéssel egyidejűleg előbb elektron kerül a flavinra (FAD<sup>•-</sup>), majd (kis késéssel) a proton is megérkezik semleges gyök állapotot (FADH<sup>•</sup>) létrehozva.



- A FAD a glükóz-oxidázban hatékony, de viszonylag lassú elektronátvitelt biztosít a szubsztrát (glükóz) és az oxigénmolekula között. Az esetünkben még a visszreakció is nagyon gyors, a ns időtartományba esik. Ennek ismeretében naiv kérdésként merül fel, hogy a megfigyelt ultragyors és fényindukált elektron- és protontranszfernek van-e bármiféle fiziológiai jelentősége ill. van-e egyáltalán kezdőlépésként kapcsolata a tényleges biokémiai folyamatokkal? *Ad absurdum*, a megfigyelt ultragyors folyamatok csak a struktúrából speciális kísérleti körülmények mellett kikényszerített, de az enzim valós

funkciójában soha meg nem valósuló lépések? A 3.1 fejezet minden más fehérjéről értekezik, de a glükóz-oxidázt egyetlen zárójeles mondatral elintézi.

- A FAD elektrokémiai sokfélesége („Janus arca”) számomra igen elgondolkodtató (3.1 ábra): elektron



donorként és akceptorként is működhet attól függően, hogy melyik redox állapotban éri a fénygerjesztés (Zhuang és mks. PNAS 2022). Ha oxidált állapotban volt, akkor redukálódik (ezzel a jelenséggel foglalkozik a jelölt), ha azonban részben (félig) redukált volt a gerjesztés pillanatában, akkor viszont oxidálódik. Ez két teljesen ellentétes folyamat, amelyekben teljesen más aminosavak (a flavin gyűrűkhöz képest) teljesen más elhelyezkedéssel vesznek részt (esetleg a fehérje konformációja is különböző), mégis a fotoredukció ill. a fotooxidáció hasonló

gyorsasággal (<100 fs alatt) megy végbe. Miért ennyire végletesen érzékeny a rendszer? Van ennek esetlegesen fiziológiai magyarázata? Hálás lennék, ha a jelölt a folyamatok energetikai (és esetleg fehérje-konformációs) hátterét meg tudná világítani. Mennyiben lehet a kiinduló (sötét) állapot kritikus elektrokémiai viszonyait egy vékony küvettában (esetleg többszörös megvilágítás alatt) megbízhatóan beállítani?

- A FAD két-elektron kémiát „csinál”, azaz két elektronnal és két protonnal tud teljesen redukálódni. Ezek a reakciók egymásra épülnek. Oxidált flavinból kiindulva az első flash után félig redukált anionikus flavin gyök keletkezik, amely (a visszreakció bekövetkezéséig) várja a második flash-t. A fenti séma alapján azonban a második flash hatására visszakerül az oxidált állapotába, ahelyett, hogy teljesen redukálódott volna. Ez annak a direkt következménye, hogy a flavin az első flashnél elektron akceptorként, a másodiknál pedig elektron donorként funkcionál. Így a két fotoreakció (tandembe kapcsolva) nemhogy egymásra épül, hanem egymást egyenesen kioltja. Hogyan tudná a jelölt ezt az ellentmondást feloldani?

- IR ujjlenyomat: a FAD anionos gyökét ( $FAD^{\cdot-}$ ) glükóz oxidázban nátrium szulfáttal való titrálás segítségével hozták létre, és vibrációs markerként  $1517\text{ cm}^{-1}$  hullámszámmal azonosították. Milyen vibrációs módusnak feleltethető meg? Kapcsolódik-e ehhez a rezgéshez polarizációban vagy szimmetriában bekövetkező változás, azaz hasonló ujjlenyomat jelenik-e meg a Raman spektrumban? Nem zavaró-e a markerként való azonosításban az, hogy a környezet dinamikájában különbség áll elő, hiszen a  $FAD^{\cdot-}$  állapotot ezekben a kísérletekben lassú kémiai egyensúly kialakításával állították elő, míg fotoreakcióval ultragyorsan keletkezik? Szükségét érzi-e, hogy ezeknek az IR sávoknak (vonalaknak) markerként való megjelöléséhez a rezgési módusban résztvevő kritikus (nem csak H-) atomoknak izotóppal való helyettesítését végezzék el?

- Játszik-e szerepet, és ha igen, akkor milyen esetleges következményei vannak a fotoindukált elektron transzfer folyamatában az elektron- és a magmozgások között megnyilvánuló nem-adiabatikus csatolásnak? Modellezte-e esetleg ezt a kölcsönhatást?

- Mivel a vibrációs markerek szerint a tirozin mellett a triptofánok is részt vehetnek a FAD felé irányuló ultragyors elektrontranszferben, kérdésként merül fel a közöttük fennálló csatolás természete. Vannak-e superkicserélődésre (superexchange-re) utaló jelek?

- A primer fotoreakció során a gerjesztett állapotú flavinból az anionos FAD és tirozin kation gyök pár jön létre:  $FAD^* \leftrightarrow FAD^{\cdot-} + TyrOH^{\cdot+}$ . Hálás lennék, ha ennek az alapreakciónak a legfontosabb termodinamikai jellemzőit meg tudná adni: mennyi (és milyen előjelű) a (Gibbs-féle) szabadenergia-változás ( $\Delta G^\circ$ ), a reakció mennyiben entalpiikus jellegű ( $\Delta H^\circ$ ), és ehhez hogyan viszonyul az entrópia növekedés ( $T \cdot \Delta S^\circ$ )?

- A megfigyelt nagy ( $>10^{13}\text{ s}^{-1}$ ) sebességű elektron transzfer csak nagyon közeli partnerek között alakulhat ki. Ha a Dutton-szabályt alkalmazzuk, akkor még aktiváció-mentesnek tételezett folyamat esetén is  $3,3\text{ \AA}$  távolság számítható, amely tovább csökken, ha ezzel a feltételezéssel nem élhetünk. Ha a fehérje szerkezetére tekintünk (3.2 ábra), akkor ilyen kis távolságban sem triptofánok (lásd Zewail munkáit), sem tirozinok (lásd a disszertációt) nem találhatóak. A jelölt által donorként feltételezett Y68  $4,3\text{ \AA}$  távolságban található. Mennyiben hozható összhangba a kísérlet, a szerkezet és az elektron transzfer (valamelyik) elmélete?

- Hasonló (vagy még fokozott) fenntartásaim vannak az ultragyors proton transzferre. Ennek szigorú energetikai és strukturális feltételei vannak. A protonmozgató erő a  $FAD^{\cdot-}$  és a Tyr68 kation gyök ( $TyrOH^{\cdot+}$ ) pK értékeinek különbségével arányos. Az előbbi értékre nincs adat a disszertációban, az utóbbi értékre (hivatkozás nélkül) adott becslés  $-2$ . Mekkora lehet a protonmotoros erő?

A szerkezet alapján (3.10 ábra) nem nyilvánvaló a proton mozgás útvonala sem, hiszen a távolság nagyon nagy ( $5,5\text{ \AA}$ ), de sem szerkezeti víz, sem H-kötés-hálózat nem segíti a proton transzfer. Milyen módja lehet mégis az ultragyors protonátadásnak?

- A szekvenciális elektron- és protontanszfer mellett/helyett felmerülhet-e egyéb kombináció, mint együttes transzfer vagy megfordított szekvenciális sorrend, azaz a proton transzfer megelőzi az elektron transzfer?

- Mekkora a flash-indukált elektron transzfer határfoka a vizsgált flavoproteinekben? Vélelmezem, hogy a jelölt méréseiből erre következtetni lehet, sőt, annak számos környezeti tényezőtől (aktuális redox-potenciáltól (az oxigéntartalomtól), pH-tól, hőmérséklettől stb.) való függését is meg lehet állapítani. A kérdésre adandó választ azért is tartom lényegesnek, mert a hatékonyságban (és sebességben) megfigyelhető változékonyság általában megnehezíti az elektron transzfer tulajdonságainak előrejelzését a biológiai rendszerekben.

5) Fotoaktiváció az *E. coli* fotoliázban

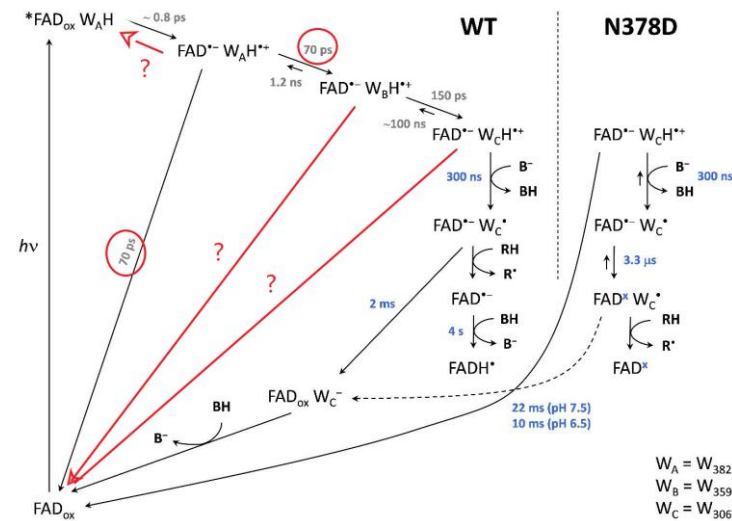
Az idetartozó tézispont: „**Polarizációs** tranzien্স abszorpciós kísérletek segítségével megállapítottam, hogy vad típusú fotoliázban a ~30 ps-os fázis után a pozitív töltés a W306-os triptofánon helyezkedik el. Így a FADH– W●+ töltéspár **stabilizálódása** a W306-ról a W359-en keresztül a W382-re történő elektron transzfer révén kevesebb mint 30 ps alatt történik.”

- Az *E. coli* fotoliáz fehérje szerkezetében mintegy 471 aminosav található, amelyek közül 7 triptofán. Ezek mindegyike hozzájárul a mért abszorpciós spektrumhoz, nem csupán az a „drótot” alkotó 3 triptofán, amelyeknek egymáshoz viszonyított helyzetét vizsgálják a polarizációs kísérletekben. Hogyan befolyásolják a kísérletek eredményeinek kiértékelését a fehérjéhez rögzített, így a fotoszelekcióban résztvevő egyéb aminosavak?

- Az elvégzett polarizációs fotoszelekciós kísérletek alapja az volt, hogy a W306-os triptofán dipólusa nagyobb szöget zár be a FAD elektromos dipólusával, mint a W382 vagy a W359-es triptofán. A jelölt ezeket a szögeket W306 mutáns felhasználásával meg is határozta azzal a (ki nem mondott) feltételezéssel, hogy a mutánsban is a vad típusúval teljesen megegyező a molekulászerkezet. Rendelkezésre állt-e a mutáns kristályszerkezete ennek a feltételezésnek az alátámasztására?

- Nem látom át teljesen világosan a mért anizotrópia ( $r$ ) és az átmeneti dipólusok iránya között felhasznált összefüggést (55. old.). A jelölt a dipólusok irányát egyetlen paraméterrel ( $\beta$ ) jellemzi, holott az abszorpcióban legalább két (mutáns) ill. három (vad típus) triptofán vesz részt. Az anizotrópia és az átmeneti dipólusok által bezárt szög közti egyszerű összefüggés felhasználását tovább árnyalhatja az a lehetőség, hogy a dipólusok térben nem rögzítettek, hanem a fehérjeszerkezet által meghatározott (kötött, pl. megadott nyílásszögben egy kúppalást mentén) mozgást végezhetnek. Ennek mértékére a szerkezet és a dinamika együttes ismerete adhat választ. Mennyiben módosíthatja ennek a szabadsági foknak a bevezetése a kísérleti eredmények kiértékelését?

- A 4.14. ábrára vonatkozó megjegyzéseim:



- 1) Mennyiben jelent (gondolom energetikai) stabilizálást az elektronnak a „triptofán dróton” való végig futása, azaz az elektron hiányának (a pozitív töltésnek) W382-ről W359-en keresztül W306-ra történő eltolódása? Ennek mértékére a 4.14 ábra utalhat, de itt sincs a szabadenergia-változás feltüntetve.
- 2) A fent idézett tézispontban az átfutás idejére <30 ps szerepel, ám ezt a 4.14 ábrában megjelölt értékek nem támasztják alá, mert ott az első töltéspár sokkal gyorsabban, a többiek pedig sokkal lassabban

jönnek létre. Talán más biológiai rendszerről van szó?

3) A véleményem szerint, az „igazi” stabilizálódást (a szabadenergiában gyakorlatilag irreverzibilis változást) a kapcsolt protonációs folyamatok, elsősorban W306-nak az oldatba való protonleadása jelenthetik. A triptofánok ultragyors szekvenciális redox-változásai csak csekély, reverzibilisnek tekinthető szabadenergia-változást okoznak.

4) Mind a vad típusban, mind az N378D mutánsban ugyanakkorának tűnik a terminális FAD•- WC•H•+ gyökpár képződésének kvantumhatásfoka, holott a jelölt ezeket 65% ill. 50% értéknek feleltette meg.

A két minta kinetikai sémájában a különbség (elágazás) csak egy kései fázisban, a terminális triptofán deprotonációját követő eseményekben van.

5) Szerintem a megadott kvantumhatásfok értéke még ennél is kisebb lehet, mert már az első gyökpár esetén a vissz- és előrehaladó sebességek megegyeznek  $(70 \text{ ps})^{-1}$ , ami eleve 50%-ban limitálja a hatásfokot, és még az ezt követő lépésekről, valamint a primer pár rekombinációjáról (nincs feltüntetve) nem is beszéltünk.

6) Próbáljuk meg a terminális triptofán gyök ( $W_cH^{\bullet+}$ ) deprotonálódásához tartozó disszociációs állandót a mérési adatokból kiszámítani! A mért disszociációs sebességállandó  $k_{\text{off}} = (300 \text{ ns})^{-1} \approx 3 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ . A bekötési sebességállandót a diffúzió határolt bimolekuláris ütközés alakítja ki:  $k_{\text{on}} = k_{\text{diff}} \cdot [H]$ , ahol  $k_{\text{diff}} \approx 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  és  $[H]$  a bulk fázis  $H^+$ -ion koncentrációja. Ha  $\text{pH} = 7$  reális értéket veszünk, akkor  $k_{\text{on}} \approx 10^3 \text{ s}^{-1}$  érték adódik. Ezekből a disszociációs egyensúlyi állandó  $K = k_{\text{off}}/k_{\text{on}} \approx 3 \cdot 10^3$ , ennek negatív logaritmus  $\text{p}K \approx -3,5$ . Ezzel szemben a  $\text{TrpH}^{\bullet+}$   $\text{p}K_a$  értékére  $\sim +4$  becslés szerepel az irodalomban (Posener, M. L., Adams, G. E., Wardman, P. & Cundall, R. B. Mechanism of tryptophan oxidation by some inorganic radical anions: A pulse radiolysis study. J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1. 72, 2231–2239 (1976)). Hogyan lehet ezt az ellenmondást feloldani?

Releváns tézispont: *„Tranziens abszorpciós mérésekkel sikerült feltárni, hogy a flavin N5 atomjához közeli aszparagin aminosav aszpartátra való cseréje nem elegendő ahhoz, hogy a fotoliáz növényi kriptokrómként viselkedjen.”*

- A negatív megállapítás a tézispont erősségét csökkenti. Arra mindenesetre alkalmas, hogy az olvasó tovább vigye a gondolatot: ha a N378D mutáció hatástalan, akkor valójában mi szükséges ahhoz, hogy a fotoliáz növényi kriptokrómként viselkedjen?

- A hatékony fotoaktivációt szolgálja az elektron transzport lánc megnyújtása, a fény indukálta gyökök stabilizálása, beleértve a  $FAD^{\bullet-}$  gyors ( $\sim \mu\text{s}$ ) protonfelvételt (különlegesen gyors a növényi kriptokrómok esetében), vagy az ET-lánc utolsó tagjának gyors (sub-ns, ns) deprotonációját. Ez utóbbi lehetőség proton akceptorok jelenlétével érhető el. Megfigyelhető-e az ET lánc terminális tagja mellett deprotonált aminosav (pl. deprotonált aszparaginsav vagy glutaminsav) vagy egy, a környező pufferrel kommunikáló strukturált vízmolekulák klasztere?

- Általános kérdésként merül fel bennem, hogy a szerteágazó protonációs folyamatok sztöchiometriai vagy kinetikai vizsgálatára miért nem alkalmazott sehol sem rutin fiziko-kémiai módszereket, mint pl. pH-titrálást (egy helyen azonban láttam: 5.22 B ábra) vagy (abszorbeáló esetleg fluoreszkáló) pH-indikátorokat. IR indikátorokkal (markerekkel) lépten-nyomon, pH-indikátorokkal sehol sem találkoztam a disszertációban.

- Milyen munkahipotézis alapján volt várható, hogy a flavin N5 atomjához közeli aszparagin (N, nem protonálható) aminosavnak aszpartát (D, protonálható) aminosavra való cseréje (N378D) felgyorsítja a  $FAD^{\bullet-}$  protonfelvételt? Vélelmezhetően, D (oldatbeli  $\text{p}K$ -val számolva) semleges pH-n már eleve deprotonált, és a távolság (3,3 Å), valamint az útvonal sem ideális a gyors D  $\rightarrow$  FAD protontranszferre. Továbbá, 1) a saját mérések szerint a  $W_cH^{\bullet+}$  deprotonálódásának kinetikáját sem befolyásolta az N378D mutáció, 2) készült-e szerkezeti kép az N378D mutánsról, amely D-nek a FAD-hoz való elhelyezkedését mutatná?

A mutáció olyan kevésbé átlátható beavatkozást jelentett, amelyek értelmezésére adott modell (élén a misztikus  $FAD^x$  redox állapot bevezetésével) számomra túlzottan bonyolultnak tűnik.



## 6) BLUF domén fehérjék

- A BLUF domének az egyik leggyorsabb fényvezérelt kapcsolók a természetben, és a stimuláció után másodpercekig vagy akár percekig is aktívak maradnak. Tengernyi részletet sikerült már felderíteni (ehhez a jelölt munkássága is jelentékenyen hozzájárult), de átfogó és koherens képpel (a nem hozzáértők számára is feldolgozható formában) még nem találkoztam. Számomra (alap)kérdésként merül fel, hogy a metastabil imidinsav-tautomer specifikus hidrogénkötéseivel hogyan váltja ki a konformációs kapcsolót, és hogyan stabilizálódik megfelelően ahhoz, hogy fenntartsa a hosszú élettartamú jelátviteli állapotot, amely képes különféle fiziológiai válaszok elindítására.

- Tekinthető-e a BLUF fotoaktivációjánál az abszorpciós spektrumban megfigyelhető vörös-eltolódás úgy, mint a foton energiájának részleges átalakulása a flavinkötő zsebben kialakuló hidrogénkötések számának növekedésére? Ha igen, végzett-e kvantitatív vizsgálatokat az energetikai részletek felderítésére?

Tézispont: *„Az AppA fotoaktivációja a flavin N5 atomjához közeli glutamin (Q63) tautomerizációjával valósul meg”.*

- A glutamin tautomerizáció energiagátja szignifikánsan kisebb a BLUF fehérjében, mint az izolált glutaminban, mivel a BLUF tautomerizációját az elektrontranszfer és a radikális rekombináció segíti (Nemukhin 2013). Ez esetben pedig a tautomerizáció nem önállóan, nem az elektron transzfertől függetlenül, hanem azzal szorosan összekapcsolva következik be.

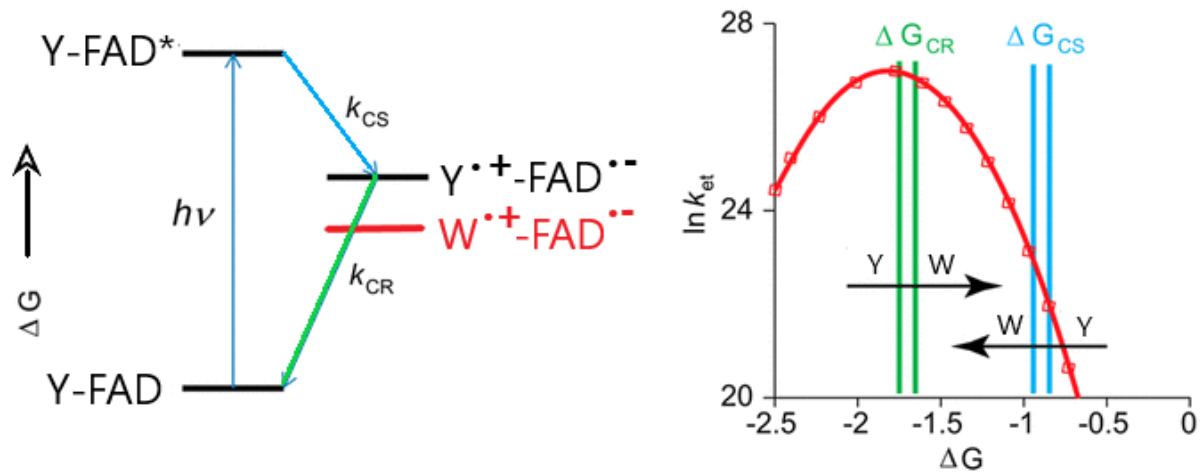
- Van-e arra esély, hogy nagyfelbontású röntgen kristallográfia láthatóvá tudja tenni a konformációs heterogenitást, különbséget tudjon tenni a Q63-as glutamin keto és enol állapotai között, annak ellenére, hogy a Gln O $\epsilon$ 1 and N $\epsilon$ 2 atomok hasonló elektron-sűrűséget mutatnak?

- A jelölt őszintén és tiszteletreméltóan bevallja, hogy a tudomány jelen állása szerint ellentmondásos a fotoaktiváció primer mechanizmusáról alkotott képünk. Ezt felfogom, de megérteni nehezen tudom. Hogyan lehet egyrésztől tautomerizációról (jelen disszertáció), másrésztől összehangolt proton és elektron transzferről (Zhou és mksai Nature Communications 2024) szinte kizárólagos jelleggel beszélni, miközben a csoportok a saját módszereikben (vakon) bíznak, és a kísérleti adatok a külső szemlélő számára megdönthetetlennek tűnnek?

Tézispont: *„az AppA fotoaktivációja során nem jelennek meg flavin gyökök”*

- Az egyik lehetséges magyarázat a flavin gyökök hiányára, hogy a töltésszétválasztás (CS) sebessége kicsi, a töltés-rekombinációé (CR) pedig nagy, így nem épülhetnek fel gyökök számottevő mennyiségben. A jelölt a kérdés megválaszolására az Y21W AppA mutánszt választotta azzal az elvárással, hogy az elektron transzfer folyamat hatékonysága felerősödik a FAD-hoz közeli tirozinnak (Y21) triptofánra való cseréjével. A triptofán esetében ugyanis a töltésszétválasztás folyamatának szabad entalpia változása kisebb (negatívabb), mint a tirozin esetében. Ha a Marcus parabola nem invertált tartományában vagyunk, akkor a töltésszétválasztás sebessége növekszik, a rekombinációé pedig csökken. Ha azonban a rekombináció az invertált tartományba esik, akkor ez már nem lesz igaz, mert a rekombináció sebessége is növekedni fog a mutációval. A probléma tisztázására a reorganizációs energia ismeretére lenne szükségünk. Van-e erre vonatkozóan akár kísérleti, akár elméleti adat?

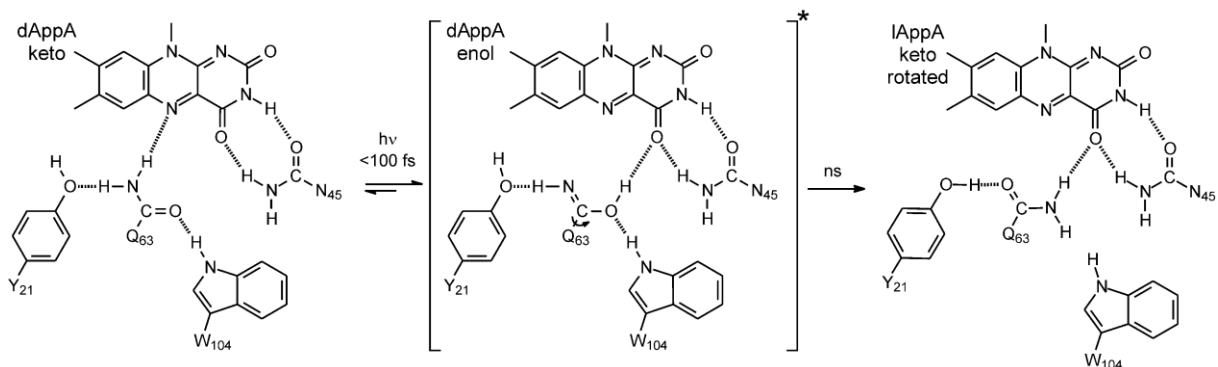




- Kevésbé értem a tézispontban foglalt megállapítást, mert a fenti ábra alapján a fotoaktiváció töltés-átviteléssel, és így flavin gyök keletkezésével jár. Feltételezem, hogy valamit félreértettem.

Tézispont: „az AppA fotoaktivációja során a W104 triptofán a flavinhoz közeli pozícióba mozdul és hidrogén kötést alkot a FAD-dal.”

- Az AppA-ban a fotoaktiváció korábban leírt modellje szerint (5.10 ábra) a 104-es triptofán nincs közvetlen H-kötésben a FAD-dal sem a sötét, sem a világos állapotokban. A sötét állapotban, és közvetlenül a gerjesztés után Q63-mal van H-kötésben, amely meg is szűnik a tautomerizáció után.



- Az ábra alapján a W104 elhelyezkedésére vonatkozó kijelentések megalapozottságát sem látom világosan. A jelölt szerint „sötét állapotban a triptofán a FAD-tól távoli pozícióban van, ahol szabadon mozog, világos állapotban pedig a flavinhoz közelebb helyezkedik el és valószínűleg hidrogén kötésben van a flavinnal.” Ha csak a H-kötéseket nézzük, akkor éppen fordított megállapításra lehet jutni: sötétben a H-kötés miatt inkább kötött a mozgása, mint világosban, ahol ez a H-kötés felszakadt.

- Ha a két (sötét és világos) állapotban a triptofán elhelyezkedése, és a szabad mozgásában (forgásában) való korlátozottság is ennyire különbözőnek bizonyult (ill. ilyen következtetésre jutott a jelölt), akkor az átmeneti dipólusok irányultságát ill. azok eloszlását mindenképpen figyelembe kellett volna venni a FRET ill. az anizotrópia kiszámítására felhasznált összefüggésekben.

- A tirozinoknak és a triptofánoknak fenilalaninnal való többszörös helyettesítése (Y21F/Y56F/W64F/W104F) felveti a szerkezeti kép erőteljes megváltozásának lehetőségét, amelyet a mutánsokról felvett röntgenkristallográfiai képekkel kellene kizárni.

- Mekkora vette a Förster-rádiust ( $R_0$ ), amellyel a FRET hatékonyságából a tényleges távolságot kiszámolta? Ha a 95. oldalon megadott értékekkel visszafelé számolunk, akkor a sötét állapotban ez az érték  $R_0 = 16,7 \text{ \AA}$ , míg világos állapotban csak  $R_0 = 8,83 \text{ \AA}$ . A két érték nem lehet különböző, hiszen ez a donor-akceptor párt jellemző mennyiség (az a karakterisztikus távolság, amely mellett a donor gerjesztési energiájának fele az akceptorra irányuló elektron gerjesztési energia-átadás).

- A világos állapotban a donor és akceptor partnerek között mért  $6,7 \text{ \AA}$  távolság annyira csekély, hogy a dipólus-dipólus kölcsönhatásnak még a feltételezése, és így a FRET-re alkalmazott alapösszefüggés alkalmazhatósága is megkérdőjelezhető.

- A Dutton-szabály alkalmazásakor mivel tudja indokolni, hogy az elektron transzfer meghajtó szabadenergia-változás ( $-\Delta G^\circ$ ) éppen a reorganizációs energiával ( $\lambda$ ) egyezik meg?

- Az 5.22b ábra a W64F/W104A AppABLUF mutáns tirozinát valamint az oldatban levő L-tirozin 295 nm-en mért abszorpciójának pH-függését mutatja. Megállapítja, hogy „a szigmoid görbét Boltzman egyenlettel illesztve  $pK = 8,0$ -t kapunk az AppABLUF-ban jelen levő tirozinra, valamint  $pK = 10,5$ -t az oldatban levő L-tirozinra”.

Megjegyzéseim: 1) A görbéket nem a Boltzmann-egyenlettel, hanem a Henderson-Hasselbalch egyenlettel kellene illeszteni. 2) A pH titrálás vagy túl meredek (AppA), vagy túl elnyújtott (tirozin oldatban), mert egyetlen protonálható csoport esetén a  $pH = pK \pm 1$  értékeknél 10% ill. 90% értékeket kellene mérni. Az ettől való eltérést indokolni kellene. 3) Melyik tirozinról van szó az AppA fehérjében, és mivel (milyen kölcsönhatással) magyarázható a  $pK$  értékének az oldatbeli értéktől való jelentős és szokatlan irányú ( $-2,5$  pH egység) eltolódása?

## 7) OaPAC

Tézispont: „Az OaPAC fotoaktivációja proton kapcsolt elektron transzfer segítségével valósul meg, és a proton transzfer kiiktatása az enzim funkcióvesztéséhez vezet.”

- A jelölt mérései azt bizonyítják, hogy az Y6 tirozin nemcsak elektron, hanem a proton donor is. Milyen szintű és főképp milyen mechanizmus szerinti az elektron- és protontranszfer kapcsolódása? Szekvenciális vagy együttes (parallel)? Az elektrontranszfer segíti a protontranszferet vagy fordítva? Ezen kérdések megválaszolására a fluorotirozin analógok bevezetése a helyes irányba mutató lépés volt, de a két transzfer hajtóerői (az  $E_m$  és a  $pK$  értékekben megmutatkozó különbségek) ebben a rendszerben együttesen lépnek fel, ami a kiértékelést megnehezíti. Célszerű lett volna szétválasztani ezeket, és a hatásukat külön-külön nézni. Ekkor ugyanis a megfelelő elektron- és protontranszfer elméleteket közvetlenül alkalmazni lehetett volna.

- Feltérképezhető-e az oldatból az Y6 felé mutató proton-útvonal a belső (Y6-tól a FAD-ra irányuló) proton-mozgás kiegészítésére vagy esetleg ez „integrált” módon (nem egy jól meghatározott útvonalon) következik be? Vannak-e „proton-kapuk” a fehérjében?

- Ha ennyire kihegyezett az elektron- és protontranszfer az Y6 tirozinra, akkor hogyan értelmezhető a flavin körüli aminosavak szerepe, hiszen ismert (és ki is mutatta), hogy az elektron transzfer folyamat hatékonyságában a D67 és R63 aminosavak is jelentős szerepet játszanak? Hogyan valósul meg ennek figyelembevételével az összekapcsolt(nak gondolt) elektron- és protontranszfer?

Tézispont: „Az elektron transzfer felgyorsítása OaPAC-ben az enzimaktivitás növekedéséhez vezet.”

- Noha a D67N mutáns felgyorsítja a fotoindukált elektron transzfert folyamatot (beleértve a flavin oxidációját is), a cAMP konverzió növekedését mégsem ennek, hanem a mutáns szerkezetének megváltozására vezeti vissza. A tézispontban mégsem ezt, hanem az elektron transzfer szerepét emelte ki. Mi volt ennek az indoka?

- Kalorimetrikus vizsgálatokkal is igazolta, hogy a D67N mutánsban az OaPAC megnövekedett aktivitását a rugalmasabb szerkezet okozza. Ha ez így van, akkor a vad típustól számottevően eltérő entrópia-változással kell számolnunk. Alá tudja ezt támasztani a mérési adatokkal?

- Egy kis értelmezésre szorul az 5.3 táblázatban megadott adatok értelmezése: „*a konverzió maximális sebessége ~ 1,5-szer nagyobb volt a mutánsban... de ami még fontosabb, a katalitikus állandó ( $k_{cat}$ ) ~ 1,5-szer magasabb a D67N-ben, mint a WT OaPAC-ban.*” Mivel a jelölt az adatokat a klasszikus Michaelis-Menten egyenlet szerint értékelte ki, azért egyáltalán nem meglepő, hogy ha a maximális sebességre 1,5-ször nagyobb értéket kapott a mutánsban, akkor a katalitikus sebesség növekedésére is ugyanezt fogja kapni, hiszen  $v_{max} = k_{cat} \cdot [E_0]$ .

- Mivel alapos indokok merültek fel, hogy a mutáns szerkezetében lényeges változások lépnek fel a vad típuséhoz képest, ezért a katalitikus sebesség megfigyelt növekedése részben (vagy egészben) a kötőhelyek számának növekedésével is magyarázható lenne. Ekkor természetesen a klasszikus Michaelis-Menten leírás kinetikai egyenleteit módosítani kellene.

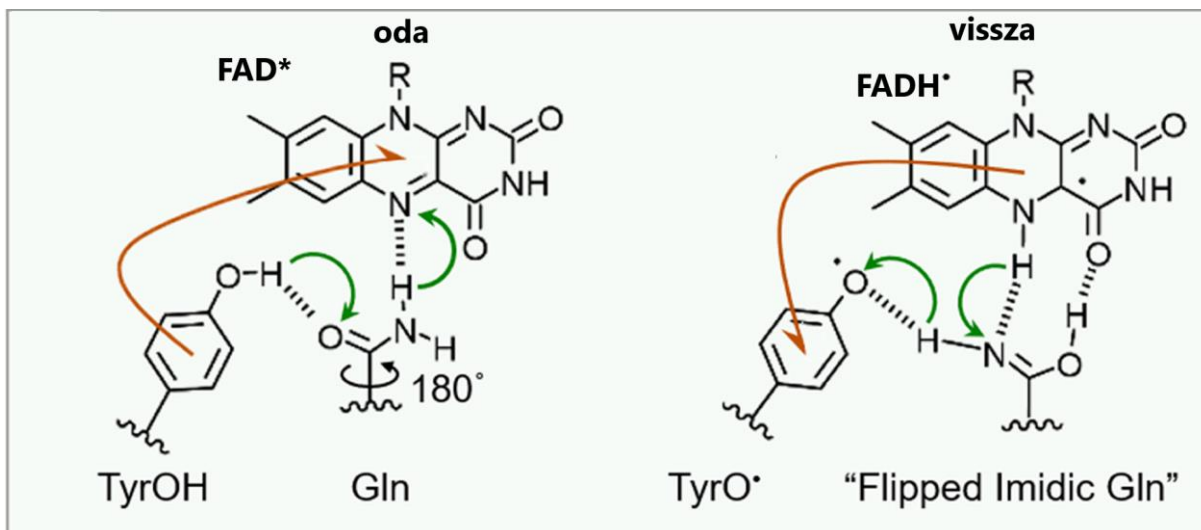
Tézispont: „*OaPAC-ben a flavin N5 atomjához közeli glutamin glutamátra való cseréje az enzimet folyamatosan bekapcsolt állapotban tartja.*”

- Megértési problémáim vannak az 5.52 ábrával kapcsolatban, ahol jól látható (és be is jelölt) a vöröseltolódás a Q48E mutáns esetén. Mégis a szövegben ezt olvasom: „*A Q63E AppABLUF-hoz hasonlóan a Q48E OaPAC mutáns sem mutat vörös eltolódást (5.52 ábra) kék fény besugárzásakor, ami arra utal, hogy a mutáns a várakozásoknak megfelelően fotoaktív.*” Valami lényeges dolgot figyelmen kívül hagytam?

- A jelölt szerint a Q48E OaPAC mutánsban a gerjesztést követően a tirozin egy elektront ad a FAD-nak, illetve egy protont a glutaminsavnak, amely ezzel egy időben egy protont ad a FAD-nak, és a protontranszfer Grotthus-mechanizmus szerint történik.

Megjegyzéseim: 1) A több, mint 200 éves Grotthus-mechanizmusra általában hosszabb H-kötés láncon való protontranszfer formális leírása kapcsán hivatkoznak. Itt nem egy nagy távolságú protontranszferről, hanem egy jól definiált protondonor-akceptor párról van szó.

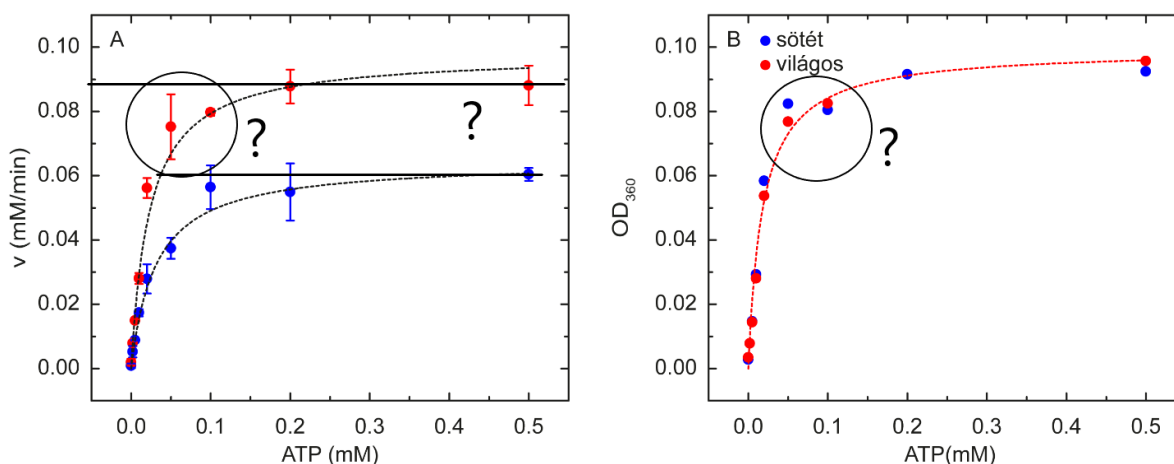
2) Feltételezem, hogy ha a kísérleteket H<sub>2</sub>O-ban és D<sub>2</sub>O-ban is elvégzik, akkor jelentékeny kinetikai izotóp effektust kapnak. Ha vannak ilyen mérései, akkor ezeket, ha nincsenek, akkor a becsült értéket fogadnám köszönettel.



3) Hogyan érintheti a Q48E (és hasonló) mutáció a vad típus fotociklusát, amely finom oldalláncmozgásokat és/vagy a Q48 180° forgását foglalja magában? Ennek elemzésére a disszertáció nem tért ki, pedig ezek a mozgások a visszreakció sebességére, a proton-csatolt elektron transzfer (soros vagy párhuzamos) mechanizmusára, így a fotociklusra is jelentékeny hatást fejthetnek ki (Zhou és mksai PNAS 2022).

4) A kísérleti adatok értelmezésére rendre az izoalloxazin körüli H-híd hálózat megváltozásának módjai kerülnek előtérbe. Noha a FAD-H híd-Tyr rendszerben (az N5 atom 5 Å távolságában) nincs szerkezeti vízmolekula, ellenben az izoalloxazin gyűrű 10 Å távolságában kb. 60 vízmolekula található a gyűrű és az  $\alpha$  hélixek közé ágyazódva. Ez arra utal, hogy a H-híd hálózat dinamikai heterogeneitása mellett a hidratáció közeli helyei is szerephez juthatnak (pl. polarizációs effektusok révén). Mi a véleménye erről, és milyen jelentőséget tulajdonít ennek (ha egyáltalán említésre méltónak találja)?

- Elnézve az 5.56 ábrát, a mérési hibákkal és az illesztéssel szemben vannak fenntartásaim (hasonló problémát fogalmazhattam volna meg a korábbi adatoknak a Michaelis-Menten egyenlet alapján történő illesztésével kapcsolatban is).



Mi lehet annak az oka, hogy a közeli mérési adatoknak ennyire különböző a hibája? (Feltételezhetően a középérték közepes hibájáról beszélünk.) A baloldali ábrán a bekarikázott két mérési adat közül az egyiknek igen nagy, a másiknak gyakorlatilag nincs hibája. Hogyan keletkezhetett ez a hiba, ha az eredeti mérési pontoknak (lásd a jobb oldali ábrát) gyakorlatilag nem is volt hibájuk? Olyan érzésem támad (de ezt megpróbálom elhessegetni), hogy a mérési hiba-nagyságok éppen úgy alakultak, hogy azok még az illesztési görbére kerüljenek.

Az illesztés jóságáról mond indirekt kritikát az a megfigyelés, hogy a mérési pontok már réges-régen azonos szintre kerültek (azaz telítődtek), amikor az illesztett görbe még vígan emelkedik. Lásd például a bal oldali ábra kék pontjait. Elegánsabban kellett volna ezt a kiértékelést elvégezni.

#### Kevéssé lényeges meglátások

- Hasznos lett volna az alkalmazott és felhasznált kémiai és biológiai anyagokról, pH- és redox pufferekről, fizikai-kémiai módszerekről (nem csak a fizikai/optikai berendezésekről) külön fejezetben ismertetést adni. Az olvasó számára fekete lyuknak számítanak a nagy számban használt mutánsok is, amelyek előállításáról, krisztallográfiai szerkezetükről, génszekvencián alapuló ellenőrzésükről, tulajdonságaikról, másodlagos szerkezeti és funkcionális hatásukról sem tudunk meg sokat a disszertációból.

- 31. old. „*A fotoindukált elektron transzfer jól ismert folyamat a fotokémiában, amelynek során, ha egy molekulát fénnel gerjesztünk, az a környezetéből egy elektront von el.*” Ez nincs így szükségszerűen, mert pl. a fotoszintézis primer fotoreakciója során a gerjesztett (B)Chl dimér önmagától, és nem a környezetétől von el elektront.

- A jó gazda gondossága megkívánta volna az elírások, félreütések számának lényeges csökkentését. Noha ezek óhatatlanul mindig előfordulnak, ezek jó részét akár egyszeri figyelmes átolvasással (vagy akár szemrevételezéssel – orvosi szóhasználattal „obszervációval”) el lehetett volna kerülni. Ezek felsorolásától eltekintek, mert felesleges, hiszen a mű ilyen formában marad fenn, javított kiadás nem lesz.

- A jelölt nyilvánvalóan a bőség zavarával küzdött a disszertáció összeállításánál. A témákat az időrendbe állított cikkei köré csoportosította. Habár láthatóan igyekezett, de nem tudta ezeket egységes egészbe olvasztani, ill. kellően magasról áttekintve koherens képpé formálni. Ennek bizonyítéka a disszertáció sajátos szerkezete, amennyiben az igen testes, 168 oldal terjedelmű íráshoz viszonylag rövid (gyakorlatilag 1 oldalba sűrített) összefoglalás társul. Ezt tekintem tézisgyűjteménynek. Az olvasó reménységére azonban ott van az összefogottabbnak gondolt „tézisek” nevet viselő összeállítás, de ilyen formájában vajmi kevés (többség) segítséget adhat neki a könnyebb tájékozódásban: ez a rész is szükségtelenül hosszúvá nyúlt (habkönnyű 63 oldal), és tartalmában inkább a disszertációra emlékeztet (annak egyes részeit ismétli meg), mintsem az összefoglalásban szereplő tézispontokra és azok (esetlegesen más oldalú) megismertetésére fókuszálna. Az „*aki mindent hangsúlyoz, az semmit sem emel ki*” esetével állunk szemben. Felmerül bennem a kérdés, hogy ilyen formában szükség volt-e az ilyen nevet viselő tézisek gyűjteményére.

- A DFT mindenütt rövidítésként szerepel, sehol sincs megnevezve (még az erre a célra létrehozott rövidítések jegyzékében sem), hogy mit jelent.

- 17. old. A dr. Gerard Mourouról szóló bekezdés a disszertáció tárgyilagos stílusától nagyon eltérő módon, igen sajátos stílusban fogalmazódott meg. A feltétlen áhítat kisugárzását szeretném egy kissé (le)árnyékolni az alábbi 3 megjegyzés megtételével. 1) Nem tudom eldönteni, hogy ez egy memoir (visszaemlékezés, élménybeszámoló) vagy egy szigorú szakmai leírás, hiszen az elemek keverednek. 2) Gerard Mourou-val Szegeden is lehet találkozni, hiszen az egyetem tanára (részben miatta is lehet az SZTE-t (nem kis fellengzőséggel) a "Nobel díjasok egyetemének" nevezni). 3) Az alábbi idézet szerény reakciót vált ki bennem: „*Mourounak melleleg különleges érzéke van a marketinghez.*” Lehet, hogy így van, ezt nem tudom eldönteni, de szabadjon itt egy másik (áldásos vagy átkos, döntse el mindenki a maga szemszögéből) lobbitevékenységéről is említést tenni: ő beszélt rá a

szegedieket a lézer-alapú neutronforrások kutatására, ami ugyan perspektivikus eszköz/eljárás lehet a radioaktív hulladékoknak transzmutációs eljárásokkal való semlegesítéséhez, de már most látszik, hogy a lézerfény keltette nagy fluxusú neutronforrás megvalósításához vezető út nagyon göröngyösnek ígérkezik mind a szakma, mind a társadalmi szempontú megtérülés (gazdaságosság) szempontjaiból.

- 19. old. „Donna Strickland – Mourou posztdokja volt és osztozott a Nobel-díjban – **érdemeit kiemeli, hogy míg jelenleg az impulzusok megnyújtása és összenyomása egy optikai rács segítségével történik (lásd 2.2 ábra), a nyolcvanas évek elején Donna Strickland ehhez egy km hosszúságú optikai kábelt használt.**” Mennyire emeli ki ez az érdemeit, hiszen optikai ráccsal csak könnyebb és elegánsabb lett volna az impulzusokat megnyújtani, majd összenyomni?

- 20. old. „... az (5) összefüggés által leírt fázisnak lesz egy nemlineáris tagja is.” Ez a rész kakukktojás, valahonnan értelmetlenül lett bemásolva, mert (5) összefüggés a közelben sincs. Egyébként sajnálatos módon a disszertációban előforduló egyenletek nincsenek számozva.

- 71. old. Megjegyzés nélkül: „A nehezebb szénatom ilyen módon **lassabb** vibrációs **frekvenciát** eredményezett”

- 72. old. Megjegyzés nélkül: „...a gerjesztést követő bekövetkezett változásról”.

A fent leírt megjegyzések és kérdések nem kérdőjelezik meg a dolgozatban összefoglalt eredmények kiemelkedő tudományos értékét. A disszertáció rendkívüli anyag-erősségű, amelyre a jelölt méltán lehet büszke.

A jelölt tudományos tevékenysége, eredményei és a flavinok kutatásához való hozzájárulása nemzetközi szinten is kiemelkedő. Ezen a területen kiváló kutatás-vezetőkkel dolgozott együtt, modern, jól felszerelt laboratóriumokban dolgozott, és az így szerzett gazdag tapasztalatait hazahozta, és itthon is értékesítette, és teszi manapság is. A publikációi színvonalas folyóiratokban jelentek meg. A cikkekben és így a dolgozatban is bemutatott eredmények magas színvonalúak, eredetinek és valódinak tekintem. A jelen értékelés nagy részben arról szól, hogy a (rejtett) tézispontokban megfogalmazott állítások diszkusszió tárgyát képezik, és nagy érdeklődéssel várom a feltett kérdésekre a jelölt megtisztelő válaszait.

Meggyőződésem, hogy dr. Lukács András tudományos munkássága megfelel a Magyar Tudományos Akadémia doktori címe követelményeinek. A disszertációban bemutatott eredményeket nyílt vitára alkalmasnak tartom, és ha sikeres a védés, akkor (*per definitionem*) javaslom, hogy a Bizottság ítélje oda az Akadémia doktora fokozatot.

Szeged, 2024. október 8.



Maróti Péter  
kiérdemesült egyetemi tanár