

# OPPONENSI VÉLEMÉNY

**Dr. Gáspár Attila**

***”Elektroforetikus elválasztások  
kapillárisban és mikrocsipben”***

**című MTA doktori értekezéséről.**

Az elmúlt időszakban nagymértékben felértékelődött a különböző analitikai kémiai alap kutatások, fejlesztések és ezek széleskörű alkalmazása, a korszerű gyógyszer, élelmiszer, valamint környezetvédelmi kutatásban. A modern, célirányos gyógyszer, biotechnológiai és fehérje kutatásban, napjainkban egyre több új lehetőséget nyújtanak a különböző típusú bioanalitikában alkalmazott, kapilláris elektroforetikus elválasztások, valamint a mikrocsip technológiák szerepe a biológiailag hatékony vegyületek teljes K+F folyamatában. A csip technológia, amely jelentősen változott, felértékelődött az elmúlt években, ezáltal új széleskörű alternatívát nyújt az analitikai és bioanalitikai gyakorlatban.

Mindez az elmélet és a gyakorlat szempontjából egyaránt jelentős kihívást jelent a fenti területen dolgozó szakember számára. Jelen akadémiai doktori értekezés kiváló példája ennek az egyre erősödő nemzetközi tendenciának. A Jelölt igen masszív analitikai, továbbá analitikai mikrocsip technológiai műszeres mérési alapokra, és ezek kombinált tudására épülő, a legfejlettebb új technikákat és az általa fejlesztett miniaturizált, optimalizált vizsgáló módszereket sorakoztatja fel munkássága kapcsán, amivel összességében jelentős, magas színvonalú gyakorlati és elméleti eredményeket prezentál. Így a disszertáció alapvető fő célkitűzései és azok megvalósításának minősége a legkurrensebb nemzetközileg publikált korszerű témák közé tartozik.

A disszertáció szerzője kiválóan ötvözi, a jelenleg a leghatékonyabb elválasztási technikát, az elektroforetikus elválasztásokat kapillárisban és mikrocsipen, így az elektroforézis különböző módozatai, a kapilláris és a mikrocsip elválasztások, optimalizálások elméleti és

gyakorlati vizsgálata terén végzett több mint másfél évtizedes kutató munkáját foglalta össze az értekezésben.

A benyújtott tézisek egyik pozitívuma, hogy egyesíteni tudja kapillárisban és a számos újdonságot igénylő mikrocshipen történő elválasztásokat, valamint vizsgáló módszereik együttes szellemiségét, komplexitását a különböző területeken végzett új alkalmazásokkal.

Az értekezésen belül az egyes fejezetek terjedelme és aránya optimálisnak mondható. A vizsgálatokhoz alkalmazott módszerek a legkorszerűbbek. A disszertációban összefoglalt vizsgálatok jelentős része alapkutatás, részben alkalmazott kutatás jellegű, amely túlmutat a kapillárisban és a mikrocship elválasztásokon kapott eredményeken, és más biológiai területek vizsgálati gyakorlatában is jól hasznosítható.

A Szerző kutatási eredményeiből készített téziseit 8 fő fejezetben és számos alfejezetben, 147 oldalon foglalja össze. Tudományos eredményeit 84 ábra és 7 táblázat felhasználásával dokumentálja. A disszertáció felépítése logikus, jól nyomon követhető.

Külön kiemelendő az igen részletes 216 db, minden igényt kielégítő irodalmi összefoglaló, valamint 47 db. elkülönülő saját irodalmi hivatkozás gyűjteménye. A Jelölt nemcsak a tudományos publikációival ért el jelentős elismeréseket, hanem szabadalmaival, könyvfejezeteivel is bizonyítja a kísérletes vizsgálati hozzáértésén túl a tudományos oktatói és rendszerbefoglaló képességét is.

A disszertáció formai szempontból megfelel az MTA doktori értekezések követelményeinek, gondos munka, dokumentációja mintaszerű, ortográfiája modern, következetes. Külön kiemelendők az igen szemléletes összefoglaló ábrák, táblázatok és a szerteágazó rövidítések jegyzéke, amelyek jól követhetővé teszik az értekezést.

A vizsgálatok tervezése és precíz kivitelezése, meggyőzi a bírálót, a Jelölt experimentális vizsgálatokban való jártasságáról is. Eredményeit a kapillárisban és miniaturizált csipben „lab-on-a chip” történő elektroforetikus elválasztások, mint központi vizsgáló-rendszer köré csoportosította:

- „Kis vezetőképességű minták érzékeny CE elemzéseit lehetővé tevő elektrokinetikus injektálás alkalmazása esetén olyan kiértékelő eljárások kidolgozása, amellyel az ionos komponensek kvantitatív meghatározásainak hibái csökkenthetőek.
- A mikrocshipben végrehajtandó elektroforetikus elválasztásokhoz nanoliternél is kisebb térfogatú minták reprodukálható, injektálási hibáktól mentes bejuttatására egyszerű hidrodinamikus injektálási eljárás kidolgozása.

- Olyan kapilláris elektroforetikus módszerek kidolgozása, amelyek ezzel a módszerrel eddig nem vizsgált szervesetlen komponensek vagy gyógyszervegyületek elválasztására vagy speciális mintatípusokból történő közvetlen elemzésére irányulnak.
- Miniaturizált kapilláris rendszerek kifejlesztése elektroforetikus elválasztásokhoz.
- Új detektálási lehetőségek alkalmazhatóságának tanulmányozása.
- Kromatográfiás töltetek kialakítása mikrocshippekben, és azok alkalmazása folyadékkromatográfiás és elektrochromatográfiás elválasztásokhoz.”

### **Részletes megjegyzések**

A bíráló feladata a mű méltatásán kívül kritikai megjegyzések ismertetése. A bíráló zavarban van, mert az elkészített disszertáció gondosan kivitelezett munka, olvasása közben csak elvétve merülnek fel szakmai bíráló megjegyzések, ezek is javarészt kérdések.

1. Több fejezet foglalkozik gyógyszermolekulák (pl. kefalosporinok, temozolomid) bioanalitikai módszereinek fejlesztésével. Kár, hogy az igen nagyszámú irodalmi hivatkozásból kimaradt az egészségügyi hatóságok által előírt guide-line-ok hivatkozásai.
2. Számos bemutatott elektroferogram esetén az UV detektálást használták. Alkalmaztak-e "Z cellát", amelynél magasabb érzékenységet lehet elérni?
3. Mivel magyarázható, hogy a 2. táblázatban a feltüntetett anionok valós és számított koncentrációja érdemleges eltérést nem mutat, kivéve a klorid, a nitrit és a foszfát magasabb eltérő értékei?
4. A megadott igen szép számú 216 idegen publikációból az elmúlt 10 évben megjelent 11,1 %, míg az elmúlt 5 évben csak 5,1%. Ugyan akkor az értekezés 132. oldalán egyértelműen a mikrofluidikai csippek fejlesztésének jövőbeli széleskörű lehetőségeit a „lab-on-a-chip”-et említi. Ez a két ellentétes tendencia jelentheti, hogy a műszergyártó cégek jelentős fejlesztési eredményeit inkább szabadalmaztatják, és nem publikálják? Ez jelenti egyben a Jelölt nemzetközileg is kiemelkedő eredményeit ezen a kutatási területen.

### **Az értekezés tudományos eredményei**

A Jelölt az alap kutatás jellegű elméleti és gyakorlati eredményeit 2 fő csoportban foglalja össze, 14 fejezetben és több alfejezetben részletezve. Az Opponens ezeket új jelentős tudományos eredményeknek fogadja el. Az eredményeket javarészt neves külföldi

folyóiratokban publikálták, valamint szabadalmaztatták. A Kutatócsoport és az Intézet iskolateremtő tevékenysége vitathatatlan. A számos új eredményből csak néhányat emelnék ki rövidítve:

1. Az indirekt UV spektrometriás detektálással kapott jelek nagysága és az elektrokinetikus injeztált különböző vezetőképességű minták koncentrációja közötti kapcsolatot CE kapillárisban tanulmányozták, amelyhez új korrekciós lehetőséget szolgáltatnak.
2. Elektrokinetikus injeztálást és indirekt UV detektálást alkalmazó mennyiségi meghatározásokhoz egy új *belső univerzális kalibrációs eljárást* dolgoztak ki.
3. Fémek (arzenvegyületek, króm, higany, valamint gadolínium tartalmú kontrasztanyagok) különböző meghatározására új kapilláris zónaelektroforetikus (CZE) és micelláris elektrokinetikus kromatográfiás (MEKC) módszereket fejlesztettek ki.
4. Különböző típusú klinikai minták CE analíziséhez új minimális mintaelőkészítési, vagy mintaelőkészítés nélküli módszereket fejlesztettek ki. Hat *kefalosporin* meghatározására szellemes CZE módszert, amellyel a  $pK_s$  értékek is meghatározhatók, míg a gyorsan bomló *temozolomid* hatóanyag és bomlástermékeinek elválasztására új rapid MEKC módszert dolgoztak ki.
5. Igazolták, hogy a folyadékmegoszlás elvén alapuló, nyomással történő injeztálás alkalmazható zónaelektroforetikus elválasztások esetében a PDMS-ből készült mikroszipekben.
6. Felületi plazmon rezonancia (SPR) spektroszkópiát elsőként alkalmazták PDMS mikroszipekben jelentkező elektroosmotikus áramlás változásainak vizsgálatára.
7. Megoldották a CE kapcsolódását SPR spektroszkópiához két PDMS-ből készült mikrofluidikai platform segítségével, ezáltal a mikroszipben 1 nanoliternél kisebb volt az átfolyócella térfogata.
8. Kifejlesztettek és szabadalmaztatták egy mikrofluidikai csipekben alkalmazható speciális mágnes szelepet, amely számos előnnyel alkalmazható.
9. Szilikagél részecskékből először alakítottak ki kromatográfiás töltetet mikroszipben, amelyben a megfelelő helyen szűkület is létrehozható. Olyan 3, 10 vagy 12 kromatográfiás töltetet tartalmazó mikroszipeket fejlesztettek ki, amelyeknél lehetőség nyílik egyidejűleg injeztált több különböző minta párhuzamos elemzésére is.

10. Igazolták, hogy a mikrocsipben az általuk kialakított kromatográfiás töltetek alkalmasak festékek és kefalosporinok gyors és hatékony elválasztására, dúsítására, mátrixkomponensek eltávolítására.

**Összefoglalásképpen** ismételten ki kell emelni **Dr. Gáspár Attila** hiteles adatokon nyugvó igen értékes, széleskörű elméleti és gyakorlati munkásságát, amely hozzájárult a tudományterület jelentős fejlődéséhez. Az értekezés kimagasló szintű kísérleti adatai és új mikrofluidikai, csiptechnológiai vizsgáló módszereinek eredményei bizonyították a Jelölt rátermettségét és precíz kísérlettervezését. Új módszertani bázist teremtett szervetlen és szerves komponensek elektroforetikus elválasztásához biológiai mintákban, amely a CE új kapilláris és mikrocsip elválasztások gyakorlatának bevezetésével, más vegyületek esetében is széleskörűen is alkalmazható.

Megjegyzéseim az értekezéshez, a több mint másfél évtizedes kimagasló kutatási tevékenység egészét nézve, nem érdemiek.

Mindezek alapján **Dr. Gáspár Attila** disszertációját komoly gyakorlati hasznú, értékes munkának tartom, amely messze megfelel az MTA doktora fokozat szakmai és formai követelményeinek.

**Ezért, messzemenőleg javaslom az értekezés nyilvános vitára való bocsátását és sikeres védelem esetén az MTA doktora fokozat odaítélését.**

Budapest, 2015. augusztus 10.



Dr. Klebovich Imre  
az MTA doktora  
egyetemi tanár