

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**REDOX FEHÉRJÉK  
BIONANOKOMPOZITOKBAN**

**Magyar Melinda**

*Témavezető: Hernádi Klára, egyetemi tanár*

*Nagy László, egyetemi docens*

Szegedi Tudományegyetem

Tertmészettudományi és Informatikai Kar

Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

Környezettudományi Doktori Iskola

Szeged, 2015

# Bevezetés

Az emberiség számára legbőségesebben rendelkezésre álló energiaforrás a napenergia, amelynek hasznosítását a növények, algák és cianobaktériumok végzik a fotoszintézis során, mégpedig az energia redukált szénként történő raktározásával. Ez a folyamat biztosítja a föld energiaigényeit az élővilág kialakulása óta és azóta is kiszolgálja az egyre növekvő fogyasztást a fosszilis energiahordozókban ősidők óta tárolt energia formájában. Túlzott kitermelése az utóbbi években számos olyan problémát okozott, mint az éghajlatváltozás, a környezet szennyezése, politikai összetűzések és a készlet nem megfelelő felosztása. Ezek megoldása érdekében a kutatók hatalmas figyelmet fordítottak az alternatív energia hasznosítás új útjainak keresésére, melyek lehetővé teszik az energia tárolását és átalakítását. Az egyik legígéretesebb lehetőség ezek közül a napenergia, hiszen bőségesen rendelkezésre áll, mindenhol elérhető (ha nem is egyenletes tér- és időbeli eloszlásban) és biztonságos. A fotoelektromos hatás felfedezése óta a kutatók igyekeznek olyan módszereket kidolgozni, amelyekkel képesek a napfény energiájának hatékony befogására és felhasználható ill. tárolható formába történő átalakítására.

Napjainkban intenzív kutatások folynak a biológiai rendszerek technikai alkalmazásai terén, amelynek fő oka, hogy rendkívül hatékonyan, nagy érzékenységgel és specifitással működnek. Ezek a biológiai anyagok azonban csak természetes környezetükben működnek nagy hatékonysággal, mesterséges körülmények között megfelelő környezetet kell számukra biztosítani. Erre a célra létrehozhatók olyan ún. (bio)kompozit anyagok, melyekben az idegen környezet ellenére is lehetséges olyan jól szabályozott körülményeket biztosítani a vizsgálni kívánt biológiai anyagnak, hogy jól megőrizhesse aktivitását. Ebben a rendszerben előnyös tulajdonságaik megtartásával ún. „újgenerációs” eszközökben való alkalmazhatóságuk különös lehetőségét kínálják (pl. integrált optoelektronikai, képalkotó, bioszenzor, energiaátalakító rendszerekben). Az így kapott bio-nanokompozit hibrideket éppen ezért a jövő anyagainak is szokás nevezni az irodalomban.

Kitüntetett figyelemmel fordulnak a kutatók a fénnel gerjeszthető anyagok, így a fotoszintetikus reakciócentrum fehérje felé is. Habár méretét tekintve a nano

tartományba esik (nagysága kb. 10 nm) és az általa átalakított energia is a nanoskálán mozog, lényegében ez a fehérje biztosítja a bioszféra számára szükséges energiát. A fehérjének több olyan tulajdonsága is van, ami a gyakorlati alkalmazás szempontjából figyelmet érdemelhet: a primer töltésszétválasztás kvantumhatásfoka majdnem 100%-os, karakterisztikus fényelnyelése van a közeli infravörös tartományban, a femtoszekundumtól a perces időtartamokig minden nagyságrendben találunk kinetikai komponenseket és redox kapcsolatban lehet a környezetével. Munkám során a tisztított RC-ot különböző kötési módokkal szén nanocsőhöz és indium-ón-oxid (ITO) vezető réteg felületéhez rögzítettem és annak fotokémiai/-fizikai folyamatait, valamint a komplex stabilitását vizsgáltam. A látható tartományban való átlátszóságának köszönhetően, egyedülálló lehetőséget jelent az ITO bio-hibrid rendszerekben lévő kompozit elektródok részeként történő alkalmazása.

A különböző típusú (funkcionált vagy funkcionálatlan, egyfalú vagy többfalú) szén nanocsövek különleges fizikai és kémiai tulajdonságaiknak köszönhetően változatos felhasználási lehetőséget nyújtanak. Kutatócsoportunk sikerrel bizonyította, hogy a RC-ot fizikailag kötve a szén nanocsövekhez elektronátmenet jön létre a két anyag között.

Munkám során az volt a célom, hogy a *Rhodobacter (Rb.) sphaeroides* bíborbaktériumból tisztított fotoszintetikus reakciócentrum fehérjéből (RC) és szerves hordozókból fényel gerjeszthető nanokompozit anyagokat készítsék és azok spektroszópiai tulajdonságait jellemezzem. A reakciócentrummal szerzett tapasztalatokat felhasználva más redox proteinnel, tormaperoxidázzal (horseradish peroxidase - HRP) is folytattam fluoreszcencia és abszorpciós kinetikai, valamint elektrokémiai méréseket. A peroxidáz enzim igen gyakran használt enzim a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detektálására, mivel képes H<sup>+</sup>-atomok és például xenobiotikumok oxidálására a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jelenlétében, illetve régóta tanulmányozott, valamint jól ismert a szerkezete és működése. Kutatásaim során létrehoztam egy olyan, az enzimfehérje aktivitásán alapuló bioszenzort, amely valósidejű érzékelést tesz lehetővé és kimutatási határa a pM-os tartományba esik.

Mindkét fehérje jól ismert, napjainkban nagyon intenzíven kutatott modellrendszer. A róluk szerzett ismeretek jó alapot adhatnak egyéb fehérjék bio-nanotechnológiai felhasználásához.

## **Munkám során célul tűztem ki:**

1. A fizikai szorpcióval létrehozott SWCNT/RC komplexek stabilitását befolyásoló körülmények (hőmérséklet, preparálás során alkalmazott pH, inkubálási idő) jellemzését és optimalizálását.
2. Olyan kémiai kötési módszerek kidolgozását, amelyek kutatócsoportunk laboratóriumi körülményeihez és a reakciócentrum fehérjéhez adaptálhatók.
  - 2.1. A fotoszintetikus reakciócentrum fehérje kémiai rögzítését amino- és karboxilcsoporttal funkcionált többfalú szén nanocső felületén. A létrehozott kompozitok szerkezeti karakterizálását (EM) és fotoaktivitásuknak meghatározását flashfotolízis kísérletekkel.
  - 2.2. A fotoszintetikus reakciócentrum fehérjéből és szén nanocsőből létrehozott komplex kémiai úton való rögzítését ITO felületéhez, a kompozitok szerkezeti meghatározását (SEM) és a RC fotokémiai/-fizikai aktivitásának meghatározását a különböző kötési eljárásokat követően (flashfotolízis kísérletek).
3. Tormaperoxidáz enzimaktivitásának és  $H_2O_2$  kimutatási határának meghatározását gvajakol és amplex red hidrogén donorok hozzáadásával, abszorpciós kinetikai és fluoreszcenciás módszerekkel.
  - 3.1. A tormaperoxidáz enzim kémiai rögzítését amino- és karboxilcsoporttal funkcionált többfalú szén nanocső felületén. A létrehozott komplexek aktivitásának ellenőrzését fluoreszcencia mérésével.
  - 3.2. A tormaperoxidázból és karboxil-funkcionált MWCNT-ből létrehozott kompozit szerkezeti karakterizálását (AFM) és enzimaktivitásának valamint  $H_2O_2$  kimutatási határának meghatározását fluoreszcencia mérésével.
  - 3.3. Enzimelektrod létrehozását a szén nanocső/tormaperoxidáz enzim komplex kémiai rögzítésével ITO felületére. A létrehozott elektród szerkezeti karakterizálását (SEM), enzimaktivitásának valamint  $H_2O_2$  kimutatási határának meghatározását fluoreszcencia mérésével és aktivitásának ellenőrzését ciklikus voltammetriával.

## **Anyagok és módszerek**

### **Mintaelőkészítés, preparatív eljárások**

#### Fotoszintetikus reakciócentrum preparálása

A *Rb. sphaeroides* R-26 sejtek fotoheterotróf körülmények között nevelkedtek. A RC-ok preparálása során 0,45% LDAO (N,N-dimetil-dodecilamin-N-oxid, Fluka) detergenst tartalmazó TRIS-pufferrel oldottuk ki a fehérjéket, amiket aztán ammónium-szulfátos kicsapással, majd DEAE Sephacell (Sigma) anioncserélő oszlopkromatográfiával különítettük el.

#### Peroxidáz enzim oldat készítés

A tormaperoxidáz enzimből (sómentes, aktivitása 350 Unit/mg, Reanal) 1  $\mu$ M-os oldatot készítettem desztillált vízben.

#### Egyfalú szén nanocsövek előállítása

A nagynyomású szénmonoxid prekursorból készült (HiPCO) szén nanocsövek tisztítása nedves oxidációs módszerrel történt. A folyamat során 100 mg nyers HiPCO SWCNT-t oxidáltak 60 ml 30%-os  $H_2O_2$  és 110 ml 22%-os HCl elegyével. Az oldatot keverés mellett 70 °C-on, 9 órán át folyamatos reflux alatt tartották, majd szobahőmérsékletűre hűtötték, leszűrték és desztillált vízzel mosták a 7,0-es pH eléréséig. Ezt követően 120 °C-on, 30 percig szárították.

#### Többfalú szén nanocsövek előállítása

Katalitikus kémiai gőzfázisú leválasztással (CCVD) állították elő forgó csökemence alkalmazásával 720 °C-on. Katalizátorként  $CaCO_3$ -hordozós vas-kobaltot, szénforrásként acetilént használtak nitrogén gázáram alatt. A megmaradt hordozóanyagot és katalizátorszemcséket savas kezelés segítségével távolították el úgy, hogy a szén nanocsöveket egy éjszakán át 2 M-os sósavban kevertették, majd szűrték és ioncserélt vízzel pH-semlegesre mosták.

### **Biokompozitok előállítása**

#### Reakciócentrum rögzítése szén nanocsőhöz fizikai szorpcióval

500  $\mu$ L RC-hoz ( $c \approx 100 \mu$ M) 25  $\mu$ L SWCNT szuszpenziót (0,1 mg/mL) adtam. 3 napig dializáltam a mintát 4 °C-on foszfát pufferben (PBS: 0,1 M; pH 7,0) a detergens eltávolítása érdekében. A nem kötött RC-okat mosási sorozattal (0,1 M;

pH 7,0) és centrifugálással távolítottam el a szuszpenzióból. Az így kapott szuszpenziót üveglapra szárítottam.

#### RC rögzítése szén nanocsőhöz kémiai úton szulfo-SMCC keresztkötőszerezrel

500  $\mu\text{L}$   $\text{NH}_2$ -funkcionált MWCNT-t 2 órán át kevertettem a szulfo-SMCC oldattal (4,5 mM), hogy a funkciós csoportokat aktiváljam, majd 2 órán át dializáltam PBS-ben az aktivált MWCNT-et (0,1 M; pH 7,2; 150 mM NaCl; 0,006% LDAO) és a RC-ot ( $c \approx 65 \mu\text{M}$ )(0,1 M; pH 7,0; 0,006% LDAO). Ezután egy éjszakán át kevertettem őket, majd a nem kötött RC-ot mosási sorozattal (0,1 M; pH 7,2; 0,006% LDAO) és centrifugálással távolítottam el.

#### RC rögzítése szén nanocsőhöz kémiai úton karbodiimid keresztkötőszerezrel

Két esetben alkalmazható: 1. a karboxil-funkcionált MWCNT aktivált funkciós csoportjához kötjük a RC aminocsoportját; 2. a RC aktivált karboxilcsoportját kötjük az amino-MWCNT-höz. 1. eset: 500  $\mu\text{L}$  karboxil-MWCNT-höz (0,14 mg/mL) hozzáadtam 100-100  $\mu\text{L}$  EDC/NHS keresztkötőszerez oldatot (0,125 M), majd 2 órán át kevertettem, hogy aktiváljam a funkciós csoportokat. A feleslegben lévő kötőszereket dializálással távolítottam el (2 óra, PBS: 0,1 M; pH 7,0; 0,006% LDAO). Hozzáadtam 50  $\mu\text{L}$  RC-ot a MWCNT szuszpenzióhoz és egy éjszakán át kevertettem. A nem kötött RC-okat mosási sorozattal (0,1 M; pH 7,0; 0,006% LDAO) és centrifugálással távolítottam el. 2. eset: a keresztkötőszereket a RC-hoz adtam hozzá és ezt kötöttem az  $\text{NH}_2$ -MWCNT-höz (0,14 mg/mL).

#### RC rögzítése szén nanocsőhöz kémiai úton nikkel-komplexen keresztül

Karboxil-MWCNT esetén EDC/NHS, amino-MWCNT esetében GTA kötőszerez alkalmaztam a  $\text{NTA}\cdot\text{Ni}^{2+}$  komplex rögzítésére. 500  $\mu\text{L}$  MWCNT-hez hozzáadtam a keresztkötőszereket (EDC/NHS: 100-100  $\mu\text{L}$ ; 0,125 M; GTA: 100  $\mu\text{L}$ ; 50%) és kevertettem a szuszpenziót (EDC/NHS: 2 óra, GTA: 10 perc). A felesleges kötőszereket dializálással távolítottam el (4 óra, PBS: 0,1 M; pH 8,0; 0,006% LDAO). 1 órán át kevertettem 200  $\mu\text{L}$  NTA-t (5 mM) 200  $\mu\text{L}$   $\text{NiCl}_2$ -vel (10 mM), majd hozzáadtam a MWCNT szuszpenziókhöz és 2 órán át kevertettem őket. A nem kötődött  $\text{NTA}\cdot\text{Ni}^{2+}$  kimosása dializálással történt. Ezután hozzáadtam 50  $\mu\text{L}$  RC-ot a MWCNT szuszpenzióhoz és 1 órán át kevertettem. A nem kötött RC-okat centrifugálással távolítottam el a szuszpenzióból.

### RC és MWCNT kémiai kötése ITO felületéhez

Az ITO felületét etanolos és acetonos mosással tisztítottuk, majd szilanizálással funkcionizáltuk, amino-MWCNT esetében (3-Mercaptopropil)trimetoxiszilánt (10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , toluolban, SH-csoport), karboxil-MWCNT esetében (3-Aminopropil) trietoxiszilánt (10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , toluolban,  $\text{NH}_2$ -csoport) használtam. A funkciós csoportokhoz szulfo-SMCC, valamint EDC/NHS segítségével kötöttem a funkcionált MWCNT-et, majd a RC-ot ugyanígy EDC/NHS kötőszerezrel rögzítettem. Az elektród felszínét intenzív mosásnak vettem alá desztillált vízzel és foszfát pufferrel (0,1 M; pH 7,0; 0,006% LDAO).

### RC és MWCNT kémiai kötése ITO felületéhez vezető polimeren keresztül

A PTAA oldathoz (poli(3-tiofén ecetsav): 1 mg/mL; PBS: 0,1 M; pH 8,0) hozzáadtam az amino-MWCNT-et (0,14 mg/mL), majd 2 órán át kevertetem a szuszpenziót. A komplexet centrifugálással távolítottam el a PTAA oldattól, majd foszfát pufferrel (0,1 M; pH 8,0) mostam. Hozzáadtam a RC-ot (65  $\mu\text{M}$ ) és 2 órán át kevertetem 4 °C-on, majd kidializáltam a detergenst. A PTAA/MWCNT/RC komplexet centrifugálással választottam el a RC oldattól. Az ITO felületét etanollal és acetonnal mostam. 5 percre foszfát pufferbe (0,1 M; pH 8,0), majd 10 percre PDDA (Poli(diallildimetilammónium klorid): 1,9 mM; pH 1,0 HCl) oldatba helyeztem. Az elektródot ezután 15 percre a PTAA/MWCNT/RC oldatba merítettem, amely során létrejött az elektrosztatikai kötés.

### MWCNT/HRP komplex előállítás

500  $\mu\text{L}$  karboxil-MWCNT-höz hozzáadtam 100-100  $\mu\text{L}$  EDC/NHS oldatot (0,125 M) és 2 órán át kevertetem. A feleslegben lévő kötőszereket dializálással távolítottam el (2 óra, PBS: 0,1 M; pH 6,0; 0,006% LDAO). A szuszpenzióhoz hozzáadtam a HRP oldatot (1 mg/mL) és egy éjszakán át kevertetem. A nem kötött HRP-t mosási sorozattal (0,1 M; pH 7,5) és centrifugálással távolítottam el a szuszpenzióból.

### MWCNT/HRP komplex-szel borított ITO elektród előkészítése

Az ITO felületét etanolos és acetonos mosással tisztítottuk, majd szilanizáltuk ((3-Aminopropil)triethoxiszilán). A karboxil-MWCNT-et (0,14 mg/mL) EDC/NHS kereszt-kötőszerek hozzáadásával aktiváltam és kötöttem az ITO felületéhez. Ezt követően az elektród felszínét intenzív mosásnak vettem alá desztillált vízzel és foszfát pufferrel (0,1 M; pH 7,0). A rögzített MWCNT-et ismét aktiváltam

EDC/NHS alkalmazásával. Felcseppentettem a HRP-t, majd 2 óra után ismételtelen mostam az elektród felületét desztillált vízzel és foszfát pufferrel (0,1 M; pH 7,0).

## Új eredmények

Tudományos eredményeim alapján a következő megállapításokat teszem:

1. *Rhodobacter sphaeroides* bíbor baktérium törzsből izolált és tisztított fotoszintetikus reakciócentrum fehérjét (RC) rögzítettem funkcionálatlan egyfalú szén nanocső (SWCNT) felületére fizikai szorpció segítségével, majd üveglapra való szárítását követően vizsgáltam a létrehozott komplex stabilitását befolyásoló környezeti tényezők hatásait. [**Magyar és mtsai., Phys. Status Solidi B, 2011**]

Megállapítottam, hogy

- 1.1 a flashfotolízis kísérletek alapján az immobilizált RC-ok a kötést követően is megtartják fotoaktivitásukat több hónapon keresztül;
  - 1.2 a tisztított RC fehérje fényindukált abszorpcióváltozása lassú komponensének részaránya és időállandója gyorsabb csökkenést mutat az inkubációs idő függvényében, mint a SWCNT/RC komplexek esetében;
  - 1.3 a 4 °C-on tárolt SWCNT/RC komplex fényindukált abszorpcióváltozása lassú komponensének részaránya és időállandója is stabilabb a szobahőmérsékleten tárolt kompozitéhoz képest.
2. A fotoszintetikus reakciócentrum fehérje funkcionált szén nanocsőhöz kémiai úton történő rögzítésére alkalmas különböző kötési stratégiákat adaptáltam a mi laboratóriumi körülményeinkhez.

Megállapításaim:

- 2.1 A fotoszintetikus reakciócentrum fehérjét kémiai úton, EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid) és NHS (N-hidroxiszukcinimid) keresztkötőszer alkalmazásával aminocsoporttal funkcionált többfalú szén nanocső (MWCNT) felületéhez kötöttem. [**Hajdu és mtsai., Phys. Status Solidi B, 2011**]



- a) A szerkezeti vizsgálat (TEM) azt mutatja, hogy a RC több rétegben kötődik a szén nanocsőhöz.
- b) Az egyensúlyi abszorpciós spektrum alapján azt mondhatjuk, hogy a kötést követően megváltozik a donor környezete a fehérjén belül.
- c) A donor környezetének megváltozása magyarázható a bakterioklorofill monomer és dimer környékén zajló elektrosztatikus kölcsönhatások jellegének megváltozásával a fehérje MWCNT-höz való kötését követően.
- d) A flashfotolízis kísérletek alapján az immobilizált RC-ok a kötést követően is megtartják fotoaktivitásukat, azonban a töltésrekombináció lassú komponenséhez tartozó időállandó ( $\tau_{\text{lassú}} = 368 \text{ ms}$ ) jelentős csökkenését mutatja az oldatbeli RC-éhoz ( $\tau_{\text{lassú}} = 1200 \text{ ms}$ ) viszonyítva.

2.2 Készítettem bio-nanokompozitokat a fotoszintetikus reakciócentrum fehérje amino- és karboxil-funkcionált többfalú szén nanocső felületére történő rögzítése révén különböző keresztkötőszerek alkalmazásával (EDC, NHS, szulfo-SMCC). A flashfotolízis kísérletek alapján megállapítottam, hogy az immobilizált RC-ok a kötést követően is megtartják fotoaktivitásukat. [Nagy és mtsai., **Current Protein and Peptide Science, 2014**]

2.3 Létrehoztam szén nanocső/reakciócentrum kompozitot nikkell komplexen keresztül, melynek során amino- és karboxilcsoporttal funkcionált többfalú szén nanocső felületén is kialakítottam nikkell és nitrilotriecetsav komplexét ( $\text{NTA} \cdot \text{Ni}^{2+}$ ), majd ehhez rögzítettem a donor oldalán polihisztidinnel jelölt RC-ot. [Nagy és mtsai., **Current Protein and Peptide Science, 2014**]

3 A fotoszintetikus reakciócentrum fehérje és szén nanocső komplex ITO hordozó felületére való rögzítésével elektródokat hoztam létre, amelyek elektrokémiai cellákban alkalmazhatók.

3.1 A fotoszintetikus reakciócentrum fehérjét kémiai úton, az ITO felületének szilanizálását követően, az arra szulfo-SMCC keresztkötőszere

alkalmazásával rögzített amino-funcionált többfalú szén nanocsőhöz kötöttem EDC és NHS keresztkötőszerek használatával. [**Szabó és mtsai., Phys. Status Solidi B, 2015**]

a) Megállapítottam, hogy elektrokémiai cellákban az ITO/MWCNT elektród felületére immobilizált RC-ok a kötést követően is megtartják redoxaktivitásukat.

3.2 A RC-ot aminocsoporttal funkcionált többfalú szén nanocsőhöz kötöttem PTAA vezető polimeren keresztül, majd az így kapott komplexet PDDA elektrolitoldattal kezelt ITO felületére rögzítettem elektrosztatikai kötésen keresztül. [**Szabó és mtsai., Phys. Status Solidi B, 2012**]

Megállapításaim:

a) A flashfotolízis kísérletek eredményei szerint az ITO felületére a vezető polimeren keresztül immobilizált RC-ok a kötést követően is megtartják fotoaktivitásukat.

b) A reakciócentrum kötődésének hatékonyságát befolyásolja a kompozit preparálása során alkalmazott detergens koncentráció. Hiánya a RC homogén, míg jelenléte a fehérje heterogén kötődését jelzi.

b) A minta fény hatására elektrokémiai cellában fotoáramot termel.

4 Meghatároztam a tormaperoxidáz enzim (HRP) enzimaktivitását és  $H_2O_2$  kimutatási határát abszorpciós kinetikai és fluoreszcencia méréseket követően gvajakol hidrogén donor alkalmazásával. [**Magyar és mtsai., Phys. Status Solidi B, 2013**]

A következő megállapításokat tettem:

4.1 Az azonos enzimkoncentrációkhoz tartozó abszorpciós kinetikai és fluoreszcencia mérésekből készített kalibrációk alapján a tormaperoxidáz hidrogén-peroxid kimutatási határa gvajakol alkalmazásával a mi mérési körülményeink között  $124 \text{ nM } H_2O_2 \text{ s}^{-1}$ .

4.2 Az azonos enzimkoncentrációkhoz tartozó abszorpciós kinetikai és fluoreszcencia mérésekből készített kalibrációk alapján a tormaperoxidáz

enzimaktivitása gvajakol alkalmazásával a mi mérési körülményeink között  $7 \text{ M} [\text{H}_2\text{O}_2]/(\text{M} [\text{HRP}] \cdot \text{sec})$ .

- 5 A tormaperoxidáz enzimet kémiai úton, EDC és NHS keresztkötőszerek alkalmazásával többfalú karboxilcsoporttal funkcionált szén nanocső felületéhez kötöttem. [**Magyar és mtsai., Phys. Status Solidi B, 2013**]

Megállapítottam, hogy

- 5.1 a gvajakol hozzáadásával végzett fluoreszcencia mérések alapján az immobilizált tormaperoxidáz enzim a kötést követően is megtartja enzimaktivitását és aktív centruma hozzáférhető marad a szubsztrát számára;
  - 5.2 az oldatbeli tormaperoxidáz esetén végzett kalibrációk felhasználásával a MWCNT/HRP komplex hidrogén-peroxid kimutatási határa  $9,6 \text{ pM H}_2\text{O}_2 \text{ s}^{-1}$ , amely 6 nagyságrenddel jobb a HRP oldatéhoz képest.
- 6 A tormaperoxidáz enzimet kémiai úton, az ITO felületének szilanizálását követően, az arra EDC és NHS keresztkötőszerek alkalmazásával rögzített karboxil-funkcionált többfalú szén nanocsőhöz kötöttem ugyanezen keresztkötőszerek használatával. [**Magyar és mtsai., Phys. Status Solidi B, 2013**]
  - 6.1 Megállapítottam, hogy a létrehozott komplex elektrokémiai cellában végzett ciklikus voltammetria mérés során katalitikus átmenetet mutat  $-350 \text{ mV}$  körül, amely a  $\text{H}_2\text{O}_2$  bomlás katalizálására való képességet jelzi. Az elektrontranszfer megvalósul az enzim aktív oldala és az elektród között, azaz a HRP megtartja enzimaktivitását.

# Közlemények

## a, A disszertáció alapjául szolgáló közlemények

1. **M. Magyar**, K. Hajdu, T. Szabó, K. Hernádi, A. Dombi, E. Horvath, L. Forró, L. Nagy (2011) Long term stabilization of reaction center protein photochemistry by carbon nanotubes, *Phys. Status Solidi B*, 248, No.11, 2454–2457.

**IF= 1,316**

2. K. Hajdu, T. Szabó, **M. Magyar**, G. Bencsik, Z. Németh, K. Nagy, A. Magrez, L. Forró, Gy. Váró, K. Hernádi, L. Nagy (2011) Photosynthetic reaction center protein in nanostructures, *Phys. Status Solidi B*, 249, No.12, 2700–2703.

**IF= 1,316**

3. T. Szabó, **M. Magyar**, Z. Németh, K. Hernádi, B. Endrődi, G. Bencsik, Cs. Visy, E. Horváth, A. Magrez, L. Forró, L. Nagy (2012) Charge stabilization by reaction center protein immobilized to carbon nanotubes functionalized by amine groups and poly(3-thiophene acetic acid) conducting polymer, *Phys. Status Solidi B*, 248, No.10, 2386–2389.

**IF= 1,489**

4. **M. Magyar**, K. Hajdu, T. Szabó, B. Endrődi, K. Hernádi, E. Horváth, A. Magrez, L. Forró, Cs. Visy, L. Nagy (2013) Sensing hydrogen peroxide by carbon nanotube/horse radish peroxidase bio-nanocomposite, *Phys. Status Solidi B*, 250, No.12, 2559–2563.

**IF= 1,605**

5. L. Nagy, **M. Magyar**, T. Szabó, K. Hajdu, M. Dorogi, L. Giotta, F. Milano (2014) Photosynthetic Machineries in Nano-Systems, Special Issue: “Sensors and transducers in the landscape of photosynthesis”, *Current Protein & Peptide Science*, 15, No. 4, 363-373.

**IF= 2,328**

6. T. Szabó, E. Nyerki, T. Tóth, R. Csekő, **M. Magyar**, E. Horváth, K. Hernádi, B. Endrődi, Cs. Visy, L. Forró, L. Nagy (2015) Generating photocurrent by nanocomposites based on photosynthetic reaction centre protein, *Phys. Status Solidi B* (accepted)

**IF= 1,61**

## **b, Egyéb közlemények**

1. T. Szabó, G. Bencsik, **M. Magyar**, Cs. Visy, Z. Gingl, K. Nagy, Gy. Váró, K. Hajdu, G. Kozák, L. Nagy (2013) Photosynthetic reaction centre/ITO hybrid nanostructure, *Materials Science and Engineering C*, 33, 769-774.

**IF= 2,736**

2. P. Boldog, K. Hajdu, **M. Magyar**, É. Hideg, K. Hernádi, E. Horváth, A. Magrez, K. Nagy, Gy. Váró, L. Forró, L. Nagy (2013) Carbon nanotubes quench singlet oxygen generated by photosynthetic reaction centers, *Phys. Status Solidi B*, 250, No.12, 2539–2543.

**IF= 1,605**

3. L. Nagy, K. Hajdu, Sz. Torma, S. Csikós, T. Szabó, **M. Magyar**, D. Fejes, K. Hernádi, M. Kellermayer, E. Horváth, A. Magrez, L. Forró (2014) Photosynthetic reaction centre/carbon nanotube bundle composites, *Phys. Status Solidi B*, 251, No.12, 2366–2371.

**IF= 1,605**

4. I. Husu, **M. Magyar**, T. Szabó, B. Fiser, E. Gómez-Bengoa, L. Nagy (2015) Structure and binding efficiency relations of QB site inhibitors of photosynthetic reaction centres, *Gen. Physiol. Biophys.* 34, 119–133.

**IF=0,88**

5. L. Nagy, V. Kiss, V. Brumfeld, K. Osvay, Á. Börzsönyi, **M. Magyar**, T. Szabó, M. Dorogi, S. Malkin (2015) Thermal effects and structural changes of photosynthetic reaction centres characterized by wide frequency band hydrophone: Effect of carotenoids and terbutryne, *Photochemistry and Photobiology* (in press)

**IF=2,68**

6. G.P. Szekeres, K. Németh, A. Kinka, **M. Magyar**, B. Réti, E. Varga, Zs. Szegletes, A. Erdőhelyi, L. Nagy, K. Hernádi (2015) Controlled nitrogen doping and carboxyl functionalization of multi-walled carbon nanotubes, *Phys. Status Solidi B* (in press)

**IF=1,61**

7. T. Szabó, **M. Magyar**, K. Hajdu, M. Dorogi, E. Nyerki, T. Tóth, M. Lingvay, Gy. Garab, K. Hernádi, L. Nagy (2015) Structural and functional hierarchy in

photosynthetic energy conversion - from molecules to nanostructures,  
Nanoscale Research Letters (accepted)

**IF=2,48**

#### **c, Referált újságban megjelent konferencia absztraktok**

1. **M. Magyar**, K. Hajdu, K. Hernádi, E. Horváth, A. Magrez, K. Nagy, Gy. Váró, L. Forró, L. Nagy (2011) Photosynthetic reaction center/carbon nanotube hybrid nanostructures, 2011 Eur Biophys J., 40 (1):35–241, 526.

**IF=2,139**

2. K. Hajdu, T. Szabó, D. Fejes, **M. Magyar**, Zs. Szegletes, Gy. Váró, E. Horváth, A. Magrez, K. Hernádi, L. Forró, L. Nagy (2013) Carbon nanotube as functional matrix for bacterial photosynthetic reaction centers, Eur. Biophys J., 42 (1):S1-236, 408.

**IF= 2,474**

3. **M. Magyar**, T. Szabó, B. Endrődi, K. Hajdu, Cs. Visy, Zs. Szegletes, Gy. Váró, E. Horváth, A. Magrez, K. Hernádi, L. Forró, L. Nagy (2013) Photocurrent generated by photosynthetic reaction centers/carbon nanotube/ITO bio-nanocomposite, Eur. Biophys J., 42. (1):S1-236, 411.

**IF= 2,474**

#### **d, Meghívott előadások**

1. **Magyar Melinda** - “Photosynthetic reaction center/carbon nanotube hybrid nanostructures”

Swiss Contribution 7/2, Annual Progress Report, SZAB Székház, Szeged, Magyarország, 2011. szeptember 28.

2. **Magyar Melinda** - “Strategies to bind photosynthetic reaction centers to nano-systems”

PHOTOTECH: Photosynthetic proteins for technological applications: biosensors and biochips – First Plenary Workshop COST Action TD1102, Antwerpen, Belgium, 2012. június 10-12.

3. **Magyar Melinda** - “Strategies to bind redox proteins to nanosystem”

SNSF Swiss National Science Foundation Valorization Meeting, Szeged, Magyarország, 2013. június 5-8.

4. **Magyar Melinda** - “Photocurrent generated by photosynthetic reaction centers/carbon nanotube/ITO bio-nanocomposite”  
Bionanotechnology - Recent Advances, Satellite meeting to the 9th European Biophysics Congress EBSA2013, Sesimbra, Portugália, 2013. július 10-13.
5. **Magyar Melinda** - “Strategies to bind photosynthetic reaction centres to carbon nanotubes” (Hungarian)  
XXIV. Congress of the Hungarian Biophysical Society, Veszprém, Magyarország, 2013. augusztus 27-30.
6. **Magyar Melinda** - “Redox proteins in carbon nanosystems”  
Swiss Contribution 7/2, Final Report, Lausanne, Svájc, 2015. március 29. – március 1.
7. **Magyar Melinda** - “Photosynthetic reaction center protein optoelectronics in nano-hybrid systems” (Hungarian)  
Hungarian Chemical Society 2. National conference, Hajdúszoboszló, Magyarország, 2015. augusztus 31. – szeptember 2.

## Társszerzői nyilatkozat

Alulírott nyilatkozom, hogy Magyar Melinda „Redox fehérjék bionanokompozitokban” című doktori értekezésének 2.1 tézispontjában szereplő, az alábbi cikkben közösen publikált eredmények elérésében a jelölt szerepe meghatározó volt. Ezeket az eredményeket korábban nem használtam tudományos fokozat megszerzéséhez, és ezt a jövőben sem teszem.

K. Hajdu, T. Szabó, **M. Magyar**, G. Bencsik, Z. Németh, K. Nagy, A. Magrez, L. Forró, Gy. Váró, K. Hernádi, L. Nagy (2011) Photosynthetic reaction center protein in nanostructures, *Phys. Status Solidi B*, 249, No.12, 2700–2703.

Szeged, 2015. Szeptember 16.

Dr. Nagy László  
Egyetemi docens



## Társszerzői nyilatkozat

Alulírott nyilatkozom, hogy Magyar Melinda „Redox fehérjék bionanokompozitokban” című doktori értekezésének 3.2 tézispontjában szereplő, az alábbi cikkben közösen publikált eredmények elérésében a jelölt szerepe meghatározó volt. Ezeket az eredményeket korábban nem használtam tudományos fokozat megszerzéséhez, és ezt a jövőben sem teszem.

T. Szabó, **M. Magyar**, Z. Németh, K. Hernádi, B. Endrődi, G. Bencsik, Cs. Visy, E. Horváth, A. Magrez, L. Forró, L. Nagy (2012) Charge stabilization by reaction center protein immobilized to carbon nanotubes functionalized by amine groups and poly(3-thiophene acetic acid) conducting polymer, Phys. Status Solidi B, 248, No.10, 2386–2389.

Szeged, 2015. Szeptember 16.

Dr. Nagy László  
Egyetemi docens

## Társszerzői nyilatkozat

Alulírott nyilatkozom, hogy Magyar Melinda „Redox fehérjék bionanokompozitokban” című doktori értekezésének 2.2 és 2.3 tézispontjaiban szereplő, az alábbi cikkben közösen publikált eredmények elérésében a jelölt szerepe meghatározó volt. Ezeket az eredményeket korábban nem használtam tudományos fokozat megszerzéséhez, és ezt a jövőben sem teszem.

L. Nagy, **M. Magyar**, T. Szabó, K. Hajdu, M. Dorogi, L.Giotta, F. Milano (2014) Photosynthetic Machinerics in Nano-Systems, Special Issue: “Sensors and transducers in the landscape of photosynthesis”, Current Protein & Peptide Science, 15, No. 4, 363-373.

Szeged, 2015. Szeptember 16.

Dr. Nagy László  
Egyetemi docens

## Társszerzői nyilatkozat

Alulírott nyilatkozom, hogy Magyar Melinda „Redox fehérjék bionanokompozitokban” című doktori értekezésének 3.1 tézispontjában szereplő, az alábbi cikkben közösen publikált eredmények elérésében a jelölt szerepe meghatározó volt. Ezeket az eredményeket korábban nem használtam tudományos fokozat megszerzéséhez, és ezt a jövőben sem teszem.

T. Szabó, E. Nyerki, T. Tóth, R. Csekő, **M. Magyar**, E. Horváth, K. Hernádi, B. Endródi, Cs. Visy, L. Forró, L. Nagy (2015) Generating photocurrent by nanocomposites based on photosynthetic reaction centre protein, Phys. Status Solidi B (accepted)

Szeged, 2015. Szeptember 16.

Szabó Tibor  
Ph.D. hallgató