

Ph.D értekezés tézisei

FOTOELEKTROMOS JELENSÉGEK
REAKCIÓCENTRUM FEHÉRJE-NANOHIRID
RENDSZEREKBE

Szabó Tibor

Témavezető: Dr. Nagy László, egyetemi docens

Szegedi Tudományegyetem

Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

Fizika Doktori Iskola

Szeged, 2018

Bevezetés és kutatási háttér

A fotoszintézis az élőlények egyik legalapvetőbb anyagcsere folyamata, ezért már évtizedek óta mind az alap-, mind az alkalmazott kutatások fókuszában van. Igen részletesen ismerjük a fényelnyelést követő energiavándorlás, töltésszétválasztás és -stabilizálódás mechanizmusát, az elektron- és protontranszport folyamatokat. Hasonlóképpen bőséges ismerettel rendelkezünk a kémiai potenciál kialakulásáról és az ehhez kapcsolódó ATP-szintézis folyamatáról, az ezekhez kapcsolódó struktúrákról és szerkezet-funkció kapcsolatokról. Az eddig felhalmozott tudás inherensen hozta magával annak az igényét, de lehetőséget is teremtett arra, hogy az élő rendszerekben lejátszódó folyamatokat mesterséges (ún. biosimilar/-mimiking) rendszerekben lemásoljuk, utánozzuk. A biológiai rendszerek, a jellemző molekuláik (fehérjék, nukleinsavak) az evolúciós folyamatok során képessé váltak adott feladatok nagyon specifikus és nagy hatékonyságú elvégzésére. Adódik tehát a lehetőség, hogy ezeket a jól működő rendszereket, vagy azok részeit általunk alkotott eszközökbe építve alkalmazzuk. Továbbá, a biológiai rendszerek megismerése modellként szolgálhat egyéb rendszerek tervezéséhez és megalkotásához.

Ahhoz, hogy a biológiai anyagok specifikus tulajdonságait általunk alkotott eszközökben kamatoztatni tudjuk, olyan környezetet kell teremteni számukra, ahol aktivitásukat továbbra is megőrzik. Lehetőségként adódik kompozit anyagok létrehozása, melyekben az aktív komponenst a biológiai anyag, a hordozó szerepét pedig egy másik szerves, vagy akár szervetlen anyag képezi.

A nanoanyagok napjainkban szintén a tudomány érdeklődési tárgyát képezik, számos, a tömbi fázistól eltérő előnyös tulajdonságuk miatt. Ilyen széles körben kutatott és napjainkban már számos helyen alkalmazott anyagok például a szén módosulatai, a különböző szén nanocsövek és a grafén, vagy különböző nanométeres tartományba eső fém vagy fém-oxid részecskék. A nanoanyagok előnyös tulajdonságai, úgymint a nagy fajlagos felület, vagy a speciális optikai tulajdonságok kiaknázzhatóak kompozit anyagok készítése során.

Nanoanyagok és biológiai eredetű anyagok kombinálásával úgynevezett bionanokompozit anyagok készíthetők, melyeket a jövő anyagainak is neveznek.

Alkalmazhatóságuk igen széles körű, bionanokompozit anyagokat alkalmaznak a napenergia hasznosításban, fotodetektorként, fototranzisztorként, herbicid szenzorokként, üzemanyag cellákban és egyéb optoelektronikai alkalmazásokban. Külön kiemelendő, hogy az orvostudomány területén is nagy jelentőséggel bírnak, hiszen a különböző rekonstrukciós eljárások esetén nem mindig van lehetőség emberi szövettel pótolni a sérült vagy esetlegesen hiányzó szöveti részeket. Ilyen esetekben mesterséges anyagok használatára kényszerülünk, melyeknek alapvető követelménye, hogy biokompatibilisek legyenek, így a bio- és szervetlen anyagok kapcsolatának a tanulmányozása kiemelt jelentőségű.

A Szegedi Tudományegyetem Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézetében nagy hagyománya van a fotoszintézis kutatásának, azon belül is a bakteriális rendszerek tanulmányozásának. A bakteriális fotoszintézis első lépései a reakciócentrum fehérjében játszódnak le, amely a primer töltésszétválasztásért és töltésstabilizálódásért felelős, ezzel megalapozva a fényenergia átalakítását. A Dr. Nagy László vezette Nano-bionika kutatócsoport fehérjék (főként bíorbaktériumokból preparált fotoszintetikus reakciócentrum fehérje – RC) bionanokompozitokba építésével és tulajdonságaik karakterizálásával foglalkozik. Kutatómunkámat a Nano-bionika csoportban végeztem. Munkám során *Rhodobacter sphaeroides* R26 bíorbaktériumból kinyert bakteriális reakciócentrum fehérjét alkalmaztam mesterségesen előállított bionanorendszerek kialakítására. A RC fehérjén megszerzett tapasztalatainkat más, főképp redox-fehérjét alkalmazó nanorendszerekre is megpróbálhatjuk alkalmazni, ezt a tormaperoxidáz enzim alapú kompozit példáján mutatom be.

Célkitűzések

1. ITO-ból és RC-ből kompozit anyag létrehozását és ennek spektroszkópai és elektromos tulajdonságainak karakterizálását száraz körülménye között.
2. Fénnyel gerjeszhető vezető polimer rétegstruktúra (PEDOT:PSS, P3HT) létrehozását ITO és ezüst elektródok alkalmazásával, továbbá a kialakított struktúra RC-vel való érzékenyítését, valamint a minta spektroszkópai és fotoelektromos tulajdonságainak karakterizálását, a fehérje érzékenyítő tulajdonságának kimutatását.

3. Egy háromelektrodos elektrokémiai cella kialakítását, melynek munkaelektrodját ITO/MWCNT/RC kompozit, ellen és referencia elektrodját pedig platina és Ag/AgCl alkotja. A rendszerrel fotoáram generálását, továbbá a donor és akceptor típusú mediátor fotoáramra gyakorolt hatásának kimutatását.
4. Az előbbi pontban már ismertetett elektrokémiai cella létrehozását és karakterizálását, melyben a munkaelektrodra az RC rögzítését PTAA vezető polimer biztosítja.
5. A hordozóként használt heteroatómmal dópolt és dópolatlan többfalú szén nanocsövek izotóp összetételének meghatározását továbbá a dopolás szerkezetre gyakorolt hatásának bemutatását.
6. MWCNT/RC kompozit fehérje/hordozó arányának meghatározását gyorsítós tömegspektrometria alkalmazásával.
7. MWCNT/HRP kompozit fehérje/hordozó arányának meghatározását gyorsítós tömegspektrometria alkalmazásával.

Alkalmazott módszerek

Reakciócentrum preparálása

A méréseimhez használt reakciócentrum fehérjét *Rhodobacter (Rb.) sphaeroides* R-26 bíborbaktériumból preparáltuk. A baktériumok anaerob környezetben, megvilágítás mellett, fotoheterotróf módon növekedtek. A megvilágítás előtt a sejteket 5-8 órán keresztül sötétben tartottuk, hogy a tápoldatban oldott oxigén a sejtlélegzés során felhasználódjon. A RC szolubilizálása a fotoszintetikus membránból N,N-Dimetil-dodecil-amin-N-oxid (LDAO) detergens segítségével történt. A fehérje tisztításához frakcionált ammónium szulfátos kicsapást, majd DEAE Sephacel anioncserélő oszlopkromatográfiát alkalmaztunk. A preparálást követően a Q_B oldal helyreállítása ubikinon-10 (UQ-10, 2,3-dimetoxi-5-metil-6-dekaizoprenol-p-benzokinon, Sigma) segítségével történt. A fehérje koncentrációját a tároláshoz centrifugával

történő ultraszűrés segítségével 80-100 μM -ra állítottuk be. A fehérjét felhasználásig rutinszerűen $-20\text{ }^\circ\text{C}$ -os mélyhűtőben tároltuk.

ITO/RC kompozit előállítása

Az indium ón oxiddal (ITO) bevont üveglapot (specifikus ellenállás $20\pm 6\ \Omega/\text{cm}^2$, boroszilikát üveg felületén) kereskedelmi forgalomból szereztük be (Prazisions Glass & Optik GmbH, Iserlohn, Németország, Cat No: CEC020B). A gyártás során az ITO felvitele porlasztásos eljárással (sputter-coating) készült. Az ITO/RC kompozitot rászárításos eljárással állítottam elő. A minta előkészítése során a detergenst dialízis segítségével távolítottam el a mintából, majd megfelelő hígítást követően (1 pM-0,1 μM) nitrogénáram segítségével szárítottam a felszínre.

Szén nanocsövek előállítása

A szén nanocsövek előállítása CCVD (Catalytic Chemical Vapor Deposition – kémiai gázfázisú leválasztás) módszerrel zajlott. A folyamat során katalizátorként Fe(III)–Co(II)/kálcium-karbonátot vagy nikkell(II)-oxidot alkalmaztunk. A katalizátor 5 m/m % vasat és 5 m/m % kobaltot tartalmazott, melyet impregnációval vittünk fel a hordozó felületére. A számított mennyiségű Co(II)-acetilacetát, Fe(III)-acetilacetát és CaCO_3 összemérése és feloldása után az elegyet ultrahang segítségével homogenizáltuk az aggregációk elkerülése érdekében. Az oldat pH-ját ammónia hozzáadásával állítottuk be 9,0-ra. A diszperziót $70\text{ }^\circ\text{C}$ -on intenzív mágneses kevertetés mellett hevítettük addig, amíg az oldószer elpárolgott. Az oldószer elpárologtatását követően a katalizátort további 24 órán keresztül $100\text{ }^\circ\text{C}$ -on szárítottuk. Nikkell(II)-oxid esetén a NiO-ot acetonban szuszpendáltuk, majd ezt követően cseppentettük fel a szilícium hordozóra.

CCVD eljárás segítségével heteroatommal dópolt szén nanocső is előállítható. A szintézis során nitrogén- és hidrogéngáz elegye áramlik át a reaktoron annak érdekében, hogy megfelelő inert környezetet biztosítsunk a magas hőmérsékleten bekövetkező oxidáció elkerülése érdekében. Az általunk alkalmazott körülmények között a nitrogéngáz nem vesz részt a MWCNT dópolásában, ezért a szintézis során acetiléngáz, tiofén és tripropil-amin (TPA) szolgál szén, kén

és nitrogénforrásként. Az acetilén- és a nitrogéngáz egy Y szelep segítségével kerül összekeverésre, míg a folyadékfázisú TPA és a tiofén buborékoltatás segítségével kerül a reaktorba. Intenzívebb TPA bejuttatás egy syringe pumpa segítségével oldható meg (5. ábra) [Szekeres és mtsai., 2015].

RC rögzítése szén nanocső felületén

Az RC fehérjét karboxilcsoporttal funkcionált szén nanocső felületére rögzítettem. A folyamat során EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid) és NHS (N-hidroxiszukcinimid) aktiválószeret alkalmaztam. Az EDC aktiválja az MWCNT karboxil funkciós csoportjait, így azok képesek az aminokkal reagálni. Az NHS jelentősége a folyamat közttermékének stabilizálása, ezáltal a keresztkötés nagyobb valószínűséggel való kialakításának az elősegítése.

A preparálás során a karboxilcsoporttal funkcionált szén nanocsövet (500 μL , 0,14 mg/mL) foszfát pufferben (PBS) dializáltam (0,1 M; pH 7,0; 0,006% LDAO), ezt követően 1 órán keresztül ultrahanggal homogenizáltam (ELMA Transsonic 310; 35 kHz; 70 W; folyamatos üzemmód). A szén nanocsöveket az EDC és NHS oldattal (100 μL , 0,125 M) két órán keresztül keverttem, ezt követően dializálással távolítottam el a felesleges aktiválószeret (PBS 0,1 M; pH 7,0; 0,006% LDAO). A reakciócentrumot hozzáadva (50 μL , $c \approx 65 \mu\text{M}$) egy éjszakán át keverttem a mintát. A nem kötődött reakciócentrumot ultracentrifugálással távolítottam el a keletkezett komplextől (4 °C, 15 perc, $135000 \times g$). A kialakított komplex felépítésének sematikus rajza a 6. ábrán látható.

A módszer nem csak oldatfázisban, hanem hasonló módon, felületen is elvégezhető. Ebben az esetben a dializációs lépések egyszerű pufferrel, majd desztillált vízzel történő mosásra egyszerűsödnek.

RC rögzítése vezető polimeren keresztül

Vezető polimeren keresztüli kötéshez PTAA (poli(3-tiofén ecetsav)) vezető polimert használtam, mint kötőszert és mint az elektronok vezetését segítő vezető anyagot egyaránt. Mivel ebben az esetben a PTAA rendelkezik a kötés kialakításához szükséges karboxilcsoporttal, a szén nanocsövek aminocsoporttal való funkcionálizálása szükséges. A kötés kialakításához 1 mg/mL PTAA (0,1 M PBS, pH 8,0) és 0,14 mg/mL aminocsoporttal funkcionizált MWCNT oldatot összekevertem, majd 2 órán keresztül kevertetem szobahőmérsékleten. A kialakult komplexet a feleslegben lévő polimertől ultracentrifugálással távolítottam el (20 perc, 130000 g), melyet PBS-ben szuszpendáltam vissza. Ehhez a szuszpenzióhoz adtam hozzá az RC-ot (65 μ M törzsoldatból), majd a mintát újra kevertetem két órán keresztül a RC degradálódásának minimalizálása érdekében, 4 °C-on. Végül a MWCNT/PTAA/RC komplex elválasztása a nem kötött RC-tól szintén ultracentrifugálással történt (20 perc, 130000 g).

RC vezető polimer rétegstruktúrában

A fehérje és a szerves hordozó közötti elektromos kapcsolat jellegének jobb megértése érdekében egy kételektrodos rendszert dolgoztam ki. A méréseket jelen esetben is leszártított mintákon végeztem. Elektrodként ITO-t és ezüstöt alkalmaztam, melyek közé két vezető polimer réteget vittem fel. Az egyik réteget PEDOT:PSS (poli(3,4-etiléndietoxitiofén):polisztrén-szulfonát), a másikat P3HT (poli-3-hexiltiofén) alkotta. A RC kompozit érzékenyítőként került a rendszerbe. A PEDOT:PSS réteget elektrokémiai polimerizációval vittem fel az ITO felületére. A leválasztás vizes közegben zajlott (EDOT 9,8 mM; PSS 165 μ M). A ciklikus voltammetria mérések során a kezdő és végpotenciál (-0,5 V és 1,1V) között 50 mV/perc pásztázási sebességet alkalmaztam (8. ábra). A rétegvastagságot a ciklusok számával állítottam be (kb. 200 nm). A P3HT-ből szálas struktúrát alakítottam ki az MWCNT felületén. Ehhez a már előzetesen kémiaailag polimerizált P3HT-t kloroform/anizol 9:1 arányú elegyében oldottam fel, majd ehhez az oldathoz adtam hozzá az MWCNT-t. A szén nanocsövek diszpergálása 70 °C-os ultrahangfürdőben történt 30 percen keresztül folyamatos ultrahangozással (35 kHz, 70 W), majd az ultrahangozott szuszpenziót jeges fürdőben hűtöttem le. Ezen gyors lehülési folyamat során

alakult ki a megfelelő szális szerkezet [Liu és mtsai., 2009]. Ezt követően porlasztásos eljárással vittem fel a már kialakított PEDOT:PSS rétegre, melyre záró réteggént egy ezüst katód került.

Példa egyéb fehérje alkalmazására: Tormaperoxidáz enzim

A bemutatott preparatív és az általam használt karakterizálási eljárások egyéb fehérjékre is alkalmazhatóak. Jelen esetben ezt egy tormaperoxidáz enzim (HRP) példáján mutatom be, melyet EDC/NHS módszerrel rögzítettem MWCNT felületére, az alábbi protokoll szerint.

A preparálás során a karboxilcsoporttal funkcionált szén nanocsövet (500 μ L, 0,14 mg/mL) foszfát pufferben dializáltam (0,1 M; pH 7,0; 0,006% LDAO), melyet ezt követően 1 órán keresztül ultrahanggal homogenizáltam (ELMA Transsonic 310; 35 kHz; 70 W; folyamatos üzemmód). A szén nanocsöveket az EDC és NHS oldattal (100 μ L; 0,125 M) két órán keresztül kevertetem, ezt követően dializálással távolítottam el a felesleges aktiválószeret (PBS 0,1 M; pH 7,0; 0,006% LDAO). A HRP enzimet hozzáadva (1 mg/mL, Sigma Aldrich) egy éjszakán át kevertetem. A nem kötődött tormaperoxidáz enzimet ultracentrifugálással távolítottam el a keletkezett komplextől (4 °C, 15 perc, 135000 \times g).

Vizsgálati módszerek

Atomi erő mikroszkópia

Az elkészített kompozitok szerkezetének vizsgálatára különböző képalkotási módszereket alkalmaztam, melyek közül egyik az atomi erő mikroszkópia. A felvételekhez egy Molecular Force Probe 3D (Asylum Research, Santa Barbara, CA, USA) AFM készüléket használtam, amely egy Asylum MFP-3D fej segítségével működött. A felvételek tapogató módban Olympus AC160 AFM tú alkalmazásával száraz körülmények között készültek.

Transzmissziós elektronmikroszkópia

A minták szerkezetét transzmissziós elektronmikroszkópiával (TEM) is vizsgáltam. A mérésekhez egy FEI Technai G2 20 X-TWIN típusú készüléket használtam. A TEM vizsgálatok információval szolgálnak az MWCNT szerkezetéről is, így a dópolás szerkezetre gyakorolt hatása is tanulmányozható. A méréshez a mintát abszolút etanolban diszpergáltam ultrahang segítségével (Transsonic T570/H, 35 kHz, 320 W), ezt követően csöppentettem fel egy szénbevonatos Cu TEM gridre (200 Mesh).

Spektroszkópai

A RC fehérje jellemző abszorpciós spektrummal bír a látható és a közeli infravörös tartományban, így egyensúlyi spektroszkópai mérésekkel a reakciócentrum jelenléte és koncentrációja is meghatározható. Az egyensúlyi spektroszkópai mérésekhez egy UNICAM UV4 típusú kétsugaras készüléket használtam. A fényszórás minimalizálásának érdekében közeli mintatartó helyzetet alkalmaztam.

Fényerjesztést követően a reakciócentrumban lezajló folyamatok szintén követhetők kinetikai spektroszkópai módszerekkel, így a folyamatok dinamikája is tanulmányozható. Méréseimhez egy saját építésű kinetikai spektrofotométert használtam, melynek a sematikus rajza a 10. ábrán szerepel. Ezzel a mórserrel a P/P^+ primer elektrondonor bakterioklorofill dimer (P) redoxváltóása (860 nm), valamint a bakteriofeofitin (Bfeo) elektrokromikus eltolódása (771 nm) is követhető, mely a $Q_A^-Q_B$ és $Q_AQ_B^-$ állapotok közötti elektronátmenetet jellemzi.

Ellenállásmérés

A minták ellenállás változásának mérését egy Keithley 2400s típusú multiméterrel 7 digit feloldással végeztem, 4 pontos elrendezésben. A készüléket számítógép segítségével USB porton keresztül vezéreltem, egy erre a célra általam készített LabVIEW program segítségével. A mérés

során a fényvel való gerjesztést egy 250W teljesítményű wolframszálas izzólámpa fénye szolgáltatta, melyből egy 400 nm levágási frekvenciájú aluláteresztő szűrő segítségével választottam ki megfelelő gerjesztő fényt.

Elektrokémiai mérések

A RC aktivitását az előállított kompozitokban spektroszkópiai mérések mellett elektrokémiai mérésekkel is igazoltam. A mérések háromelektrodos elrendezésben történtek. Munkaelektrodként ITO-val borított üvegelektrodot használtam. Ennek előnye, hogy a látható tartományban igen jó transzmisszióval rendelkezik, így a fényvel való gerjesztés könnyen megoldható, emellett a vezetési tulajdonságai is megfelelőek maradnak elektrodként való alkalmazásra. Az elkészített kompozitokat minden esetben kémiai kötással rögzítettem a munkaelektrod felületére kizárva annak a lehetőségét, hogy a kompozit vizes környezetben leoldódjon az elektródfelületről. A rendszerben ellenelektrodként platinát, míg referenciaként Ag/AgCl elektrodot használtam. Az elektrokémiai mérések során a munkaelektrod felülete minden esetben 1 cm^2 volt.

Szénizotóp-tartalom meghatározása

C14 izotóp méréséhez először a minta széntartalmának feltárására volt szükség, amelyet egy zárt csöves égetéssel értünk el. A mintát és az oxidálószerként használt MnO_2 -ot egy kvarccsőbe mértem. Amennyiben a minta vizet is tartalmazott azt fagyasztva szárítással távolítottam el. A minta tömegét ebben az esetben a kvarccső és a fagyasztva szárítást követő tömeg különbségeként határoztam meg. A bemérést követően a csőben lévő nyomást $<5 \cdot 10^{-3}$ mbar-ra csökkentettem, majd leforrasztottam. A mintát a leforrasztott csőben, egy kemencében $550 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 48 órán keresztül égettem el. A keletkezett CO_2 -ot az esetlegesen képződött egyéb gázoktól egy kriotechnikai csapda segítségével választottam el. A CO_2 mennyiségét jól definiált térfogaton egy precíziós nyomásszenzor segítségével határoztam meg [Janovics 2016]. A szén kitermelésének hatásfoka a keletkezett CO_2 mennyiségének segítségével számítható. A kinyert tisztított CO_2 grafittá alakítása cink felhasználásával szintén zárt csöves eljárással zajlott [Rinyu

és mtsai. 2013, Orsovszki és Rinyu 2015]. Kevesebb mint 100 µg szén esetén mikro gafitizációs eljárás szükséges [Rinyu és mtsai.. 2015].

A szénizotóp mérésekhez egy MICADAS típusú tömegspektrométert alkalmaztunk [Synal és mtsai. 2004, Synal és mtsai. 2007, Molnár és mtsai. 2013]. A méréseket az MTA Atommagkutató intézetében Debrecenben végeztem. Az előkezelés és égetés során a legnagyobb körültekintés mellett is lehetőség van arra, hogy a mintába radioaktív szén izotóp kerüljön a jelenkori légkörben előforduló szénforrásból. Ennek követése érdekében jól definiált szénizotóp tartalmú standardokon (IAEA C7 and C8, [Le Clercq és mtsai. 1998]) is végrehajtottuk a kezeléseket és a mérés során ezeket referenciaként alkalmaztuk. A kiértékelés során a BATS AMS szoftvert használtuk [Wacker és mtsai. 2010].

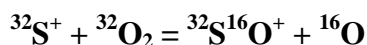
Stabilizotóp-mérések

A stabilizotóp meghatározásokhoz egy Thermo Finnigan Delta^{Plus}XP típusú izotóparányt mérő spektrofotométert alkalmaztam, mely egy Fisons NA1500 NCS elemanalizátorhoz csatlakozott. Ez az eljárás a minta gyors elégetésén alapul, mely során mind a szerves, mind a szervetlen komponensek égéstermékeké alakulnak. A keletkezett gázok elválasztása egy kromatográfias oszlop segítségével történik, a detektálást egy tömegspektrométer végzi [Major és mtsai. 2017]. Az eredményeket az alábbi formalizmussal adjuk meg δ (‰) = $(R_{\text{minta}} / R_{\text{referencia}} - 1) * 1000$, ahol R $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, vagy a $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ arányt jelöli a minta és a referenciaként alkalmazott standard esetén. A mérés bizonytalansága 0.2‰ $\delta^{13}\text{C}$ és $\pm 0.3\%$ $\delta^{15}\text{N}$ esetén.

Kéntartalom-mérése

A kéntartalom méréséhez a szén nanocső minták feltárása egy Mars 5 típusú mikrohullámú feltáró segítségével történt. A feltárás során a minta 50 mg-ját 2 ml 67%-os salétromsavval egy teflonbombába helyezük, melyet mikrohullám alkalmazásával (800W) 200 °C-ra hevítünk. A folyamat 20 percet vesz igénybe, majd további 30 percig tartjuk a megadott hőmérsékleten a rendszert. Ezt követően a mintát ultratiszta víz segítségével 50 ml-re hígítjuk.

A kéntartalom meghatározását egy Agilent 8800 ICP-QQQ-MS tömegspektrométerrel elemeztük MS/MS módban. A kéntartalom meghatározása 48 tömeg/töltés hányadosú elem tömegeltolódás mérésén alapszik, az alábbi egyenlet szerint:



Eredmények és tézispontok

1. Indium ón oxid felületén rászárítással rögzítettem *Rhodobacter sphaeroides* bíborbaktériumból preparált fotoszintetikus reakciócentrum fehérjét (RC). Spektroszkópiai mérések segítségével megállapítottam, hogy a fehérje ezen környezetben akár száraz körülmények között is aktív marad. Fénnyel való gerjesztés esetén az ITO/RC komplex ellenállása lecsökken, melyet a két anyag közti elektrontranszferrel magyaráztam. A mérés érzékenysége igen jónak mondható, néhány pM RC is mérhető ellenállás változást eredményez. [Szabó és mtsai., **Materials Science and Engineering C, 2012**]
2. ITO és ezüst elektródok közé helyezett poli-3-hexiltiofénből (P3HT) és poli(3,4-etiléndietoxitiofén):poliszitirén-szulfonátból (PEDOT:PSS) készített optoelektronikai eszköz reakciócentrum fehérjével érzékenyíthető, mely száraz körülmények között fénygerjesztés hatására megnövekedett fotoáramot mutat. Szelektív (a fehérjére jellemző) fénnel való gerjesztéssel igazoltam, hogy a növekmény a reakciócentrum érzékenyítő hatásából származik. [Szabó és mtsai., **Phys. Status Solidi B, 2015**]
3. ITO felületre többfalú szén-nanocsöveken keresztül rögzített reakciócentrumfehérje elektrokémiai cellában fotoáramot termel, mely elérheti az 1 μA nagyságot is. A rendszerhez adott akceptor típusú mediátor (UQ-0) háromszorosára növeli a keletkező fotoáram nagyságát. A cellában alkalmazott pufferoldatban a só jelenléte lassítja a

fotoáram felfutását, továbbá az ionerősség befolyásolja a donoroldal redoxmediátorokkal való hozzáférhetőségét. [Szabó és mtsai., *Phys. Status Solidi B*, 2015]

4. Reakciócentrum fehérje sikeresen rögzíthető többfalú szénnanocsövek felületére politiofén ecetsav (PTAA) vezető polimer segítségével. Megállapítottam, hogy a MWCNT/PTAA/RC komplexet ITO elektród felületére helyezve elektrokémiai cellában fénygerjesztés hatására a rendszer fotoáramot termel, melyet a hozzáadott mediátor jelentős mértékben befolyásol. A keletkező fotoáram közel egy nagyságrenddel nagyobb ($7 \mu\text{A}$), mint a különböző nem vezető kötőszerek alkalmazásával kapott áram, mivel a PTAA a rendszerben nem csak a kötőszere szerepét látja el, hanem elősegíti az elektronok elektródhoz jutását is. [Szabó és mtsai., *Phys. Status Solidi B*, 2012; Szabó és mtsai., *Nanoscale Research Letters*, 2015]

5. Szén nanocsövekből és reakciócentrum fehérjéből készített komplexek összetételét vizsgáltam izotópanalitikai módszerek segítségével. Megállapítottam, hogy a módszer segítségével pontos kvantitatív információ nyerhető az összetételről. EDC-NHS aktiválószerrel kialakított kompozit esetén a RC/MWCNT aránya 53 m/m%-nak adódott. [Szabó és mtsai., *Radiocarbon*, 2018]

6. Tormaperoxidáz enzimből (HRP) és szén nanocsövekből előállított kompozit összetétele ^{14}C izotópmérés segítségével meghatározható, melynek segítségével az enzim specifikus enzimaktivitása megadható. A HRP/MWCNT arány 72 m/m%-nak adódott. [Magyar és mtsai., *Journal of Nanomaterials*, 2016]

Irodalomjegyzék

A dolgozat alapjáú l szolgáló eredeti közlemények nemzetközi, referált folyóiratban

- 1) **Szabó T**, Magyar M, Nemeth Z, Hernadi K, Endrodi B, Bencsik G, Visy C, Horvath E, Magrez A, Forro L, Nagy L, 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, 2012, 249(12):2386-2389. IF: 1,49
- 2) **Szabó T**, Bencsik G, Magyar M, Visy C, Gingl Z, Nagy K, Váró G, Hajdu K, Kozák G, Nagy L, Photosynthetic reaction centers/ITO hybrid nanostructure, Materials Science and Engineering:C, 2013, 33:769-773. IF: 2,74
- 3) **Szabó T**, Magyar M, Hajdu K, Dorogi M, Nyerki E, Tóth T, Lingvay M, Garab G, Hernádi K, Nagy L, Structural and functional hierarchy in photosynthetic energy conversion - from molecules to nanostructures, Nanoscale Research Letters ,2015, 10(1):458. IF: 2,58
- 4) **Szabó T**, Nyerki E, Tóth T, Csekő R, Magyar M, Horváth E, Hernádi K, Endródi B, Visy C, Forró L, Nagy L, Generating photocurrent by nanocomposites based on photosynthetic reaction centre protein, Phys. Status Solidi B, 2015, 252:2614–2619. IF: 1,52
- 5) Magyar M, Rinyu L, Janovics R, Berki P, Hernádi K, Hajdu K, **Szabó T**, Nagy L, Real-Time Sensing of Hydrogen Peroxide by ITO/MWCNT/Horseradish Peroxidase Enzyme Electrode, Journal of Nanomaterials, 2016, Article ID 2437873, 11 pages. IF: 1,87
- 6) **Szabó T**, Janovics R, Túri M, Futó I, Papp I, Braun M, Németh K, Szekeres PG, Kinka A, Szabó A, Hernádi K, Hajdu K, Nagy L, Rinyu L, Isotope analytical characterization of carbon based nanocomposites, Radiocarbon, 2018, 60(4):1101-1114. IF: 1,81 (2017)

Egyéb eredeti közlemények nemzetközi, referált folyóiratban

- 1) Hajdu K, **Szabó T**, Magyar M, Bencsik G, Németh Z, Nagy K, Forró L, Váró G, Hernádi K, Nagy L, Photosynthetic reaction center protein in nano structures, Phys. Status Solidi B, 2011, 248(11):2700-2703. IF: 1,32
- 2) Magyar M, Hajdu K, **Szabo T**, Hernadi K, Dombi A, Horvath E, Forro L, Nagy L, Long term stabilization of reaction center protein photochemistry by carbon nanotubes, Phys. Status Solidi B, 2011, 248(11):2454-2457. IF: 1,32

- 3) Magyar M, Hajdu K, **Szabo T**, Endrodi B, Hernadi K, Horvath E, Magrez A, Forro L, Visy C, Nagy L, Sensing hydrogen peroxide by carbon nanotube/horse radish peroxidase bionanocomposite, *Phys. Status Solidi B*, 2013, 250(12):2559-2563. IF: 1,65
- 4) Nagy L, Hajdu K, Torma S, Csikós S, **Szabó T**, Magyar M, Fejes D, Hernádi K, Kellermayer M, Horváth E, Magrez A, Forró L, Photosynthetic reaction centre/carbon nanotube bundle composites, *Phys. Status Solidi B*, 2014, 251(12): 2366-2371. IF: 1,47
- 5) Nagy L, Magyar M, **Szabó T**, Hajdu K, Giotta L, Milano F, Photosynthetic Machineries in Nano-Systems, Special Issue: “Sensors and transducers in the landscape of photosynthesis”, *Current Protein & Peptide Science*, 2014, 15(4): 363-373. IF: 3,15
- 6) Husu I, Magyar M, **Szabó T**, Fiser B, Gómez-Bengoa E, Nagy L, Structure and binding efficiency relations of QB site inhibitors of photosynthetic reaction centres, *Gen. Physiol. Biophys.*, 2015, 34(2):119-33. IF: 0,89
- 7) Nagy L, Kiss V, Brumfeld V, Osvay K, Börzsönyi A, Magyar M, **Szabó T**, Dorogi M, Malkin S, Thermal effects and structural changes of photosynthetic reaction centres characterized by wide frequency band hydrophone: Effect of carotenoids and terbutryne, *Photochemistry and Photobiology*, 2015, 91:1368-1375. IF: 2,01
- 8) Kinka A, Hajdu K, Magyar M, Mucsi L, **Szabó T**, Hernádi K, Horváth E, Magrez A, Forró L, Nagy L, Equilibrium concentration of singlet oxygen in photoreaction of reaction center/carbon nanotube bionanocomposites, *Phys. Status Solidi B*, 2015, 252(11) 2479-2484. IF: 1,52
- 9) Sarrai AE, Hanini S, Kasbadji MN, Tassalit D, **Szabó T**, Hernádi K, Nagy L, Using central composite experimental design to optimize the degradation of Tylosin from aqueous solution by photo-Fenton reaction, *Materials*, 2016, 9(6):428. IF: 2,65
- 10) **Szabó T**, Csekő R, Hajdu K, Nagy K, Sipos O, Galajda P, Nagy L, Sensing photosynthetic herbicides in electrochemical flow cell, *Photosynthesis Research*, 2016, 132(2):127-134. IF: 3,86
- 11) Hajdu K, **Szabó T**, Sarrai AE, Rinyu L, Nagy L, Functional Nanohybrid Materials from Photosynthetic Reaction Center Proteins, *International Journal of Photoenergy*, 2017, Article ID 9128291, 14 pages IF: 1,55

Irodalmi utalások

Janovics R. Development of radiocarbon-based measuring methods and their application for nuclear environmental monitoring (PhD thesis, in Hungarian). 2016. University of Debrecen and Hungarian Academy of Sciences Institute for Nuclear Research.

Le Clercq M, Van Der Plicht J, Gröning M, New ¹⁴C reference materials with activities of 15 and 50 pMC, Radiocarbon, 1998, 40:295-297.

Liu J, Zou J, Zhai L, Bottom-up Assembly of Poly(3-hexylthiophene) on Carbon Nanotubes: 2D Building Blocks for Nanoscale Circuits, Macromol Rapid Commun., 2009, 30:1387-1391.

Molnár M, Rinyu L, Veres M, Seiler M, Wacker L, Synal HA, EnvironMICADAS: A mini ¹⁴C AMS with enhanced gas ion source interface in the Hertelendi Laboratory on Environmental Studies (HEKAL). Radiocarbon, 2013, 55(2):338-44.

Major I, Gyökös B, Turi M, Futó I, Filep Á, Hoffer A, Furu E, Jull AJT, Molnár M, Evaluation of an automated EA-IRMS method for total carbon analysis of atmospheric aerosol at HEKAL. Journal of Atmospheric Chemistry, 2017, 75(1):85-96.

Orsovszki G, Rinyu L, Flame-sealed tube graphitization using zinc as the sole reduction agent: Precision improvement of EnvironMICADAS ¹⁴C measurements on graphite targets, Radiocarbon, 2015, 57:979-990.

Rinyu L, Molnár M, Major I, Nagy T, Veres M, Kimák Á, Wacker L, Synal HA, Optimization of sealed tube graphitization method for environmental C-14 studies using MICADAS, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 2013, 294:270-275.

Rinyu L, Orsovszki G, Futó I, Veres M, Molnár M, Application of zinc sealed tube graphitization on sub-milligram samples using EnvironMICADAS. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B., 2015, 361:406-413.

Synal HA, Döbeli M, Jacob S, Stocker M, Suter M, Radiocarbon AMS towards its lower-energy limits, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B., 2004, 223-224:339-345.

Synal HA, Stocker M, Suter M, MICADAS: A new compact radiocarbon AMS system, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B., 2007, 259:7-13.

Szekeres GP, Nemeth K, Kinka A, Magyar M, Reti B, Controlled nitrogen doping and carboxyl functionalization of multi-walled carbon nanotubes. *Phys. Status Solidi B.*, 2015, 252:2472-2478.

Wacker L, Christl M, Synal HA, Bats: A new tool for AMS data reduction, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 2010, 268:976-979.