

SZAKMAI ZÁRÓJELENTÉS

Kutatási területünket a gyakorlatban használható kémiai és bioszenzorok fejlesztése, illetve az ehhez kapcsolódó alap kutatás, elméleti leírás és módszerfejlesztés képezi. Ezenbelül a biokatalitikus (enzim) aktivitás mérésén alapuló miniatűr kémiai szenzorok fejlesztésére és vizsgálatára nyertem el az F37977 számú ifjúsági OTKA pályázatot.

Publikációs tevékenység összefoglalása:

Nemzetközi SCI folyóiratokban megjelent cikkek: 15

Beküldött és elbírálás alatt álló cikkek: 3

Hazai folyóiratokban megjelent összefoglaló cikkek: 3

Kumulált impakt faktor (a 15 megjelent SCI cikkre): 42,782 (ISI-JCR 2004)

Előadások száma: 33

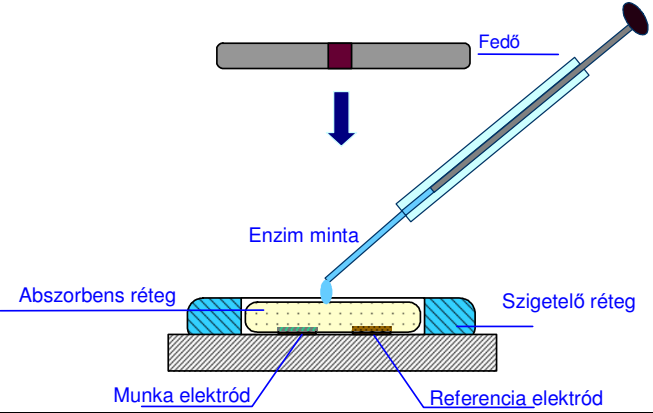


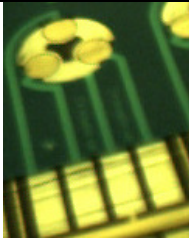
Poszterek száma: 8

(A) Enzimaktivitás meghatározására alkalmas amperometriás mérőcellák kifejlesztése

1. Elektrokémiai szenzorok fejlesztése oxidáz enzimek aktivitásának meghatározására

Az enzimaktivitást leggyakrabban spektrofotometriás módszerrel határozzák meg. Ehhez szükséges, hogy az enzim reakciót egy megfelelő optikai tulajdonsággal rendelkező reagens koncentrációváltozásán keresztül követni lehessen. Ugyanakkor ennek a követelménynek a biztosításához sokszor szintetikus szubsztrátokra, konszekutív reakciókra, vagy akár további biokatalizátorok alkalmazására is szükség van. A bakteriális vaginózis diagnosztikájára korábban kifejlesztett, a prolin-iminopeptidáz enzim detektálásán alapuló szenzorokkal kapcsolatos kutatásunk bizonyította, hogy az elektrokémiai enzimaktivitás mérő szenzorok alkalmazása több esetben előnyös lehet ezért munkánk során az oxidáz és hidroláz enzimek aktivitásának elektrokémiai úton történő meghatározásának lehetőségeit vizsgáltuk. Az oxidáz enzimek működése során keletkező hidrogén-peroxid elektrokémiai úton közvetlenül meghatározható és

miniatürizált mérőcellákkal elvileg mikroliter mennyiségű minták is analizálhatóak. Ezzel szemben a spektrofotometriás módszer további reagenseket és peroxidáz enzim használatát igényli. A gyakorlati megvalósítás lehetőségét szemelőtt tartva tömeggyártásra alkalmas technológiákkal (nagyfelbontású szitanyomtatás és fotólitográfia) készült mérőcellákat fejlesztettünk ki az enzimaktivitás elektrokémiai meghatározására. A legmodernebb mikrofabrikációs technológiák alkalmazására Memphisi Egyetem Orvosbiológus Mérnöki Karával megvalósított együttműködés keretében nyílt lehetőség, amelyre 2003-tól *MTA-OTKA-NSF* támogatást nyertünk el. Az általunk korábban kifejlesztett, kis mintatérfogatokban egyszerre több komponens meghatározására alkalmas, planáris konfigurációjú, kombinált (elektrokémiai és optikai) detektálást is lehetővé tevő fotólitográfiás technológiával készült mérőcellák jelenleg nemzetközi szabadalom beadvány tárgyát képezik. Első lépésben összesen hat különböző geometriájú fotólitográfiás, illetve nagyfelbontású szitanyomtatással készült, 1-10 μl mintatérfogatok analízisére alkalmas egyszeri használatú mérőcellák analitikai teljesítményjellemzőit határoztuk meg és hasonlítottuk össze.

<p>(A)</p> 	<p>1. Ábra (A) Enzimaktivitás meghatározására alkalmas amperometriás mérőcellák felépítése (B) Szitanyomtatással és fotólitográfiás technológiával készült amperometriás mérőcellák (platina munkaelektrod és Ag/AgCl referenciaelektrod)</p>	
		
<p>(B1) Háromelektrodos szitanyomtatással készült amperometriás mérőcella</p>	<p>(B2) Kételektrodos szitanyomtatással készült amperometriás mérőcella</p>	<p>(B3) Négyelektrodos fotólitográfiás technológiával készült amperometriás mérőcella</p>

Optimális eredményt a fotólitográfias technológiával gyártott, 300 db. hexagonális elrendezésben egymástól 100 mikrométerre elhelyezkedő, 10 μm átmérőjű ultramikroelektród-sorokból álló platina munkaelektrodoknál értük el. Ezek a cellák három egyénileg címezhető munkaelektrodot, illetve egy referencia elektrodot tartalmaztak laminálással kiképezett 200 mikrométer mély cella alján. Az ultramikroelektród-sorok geometriájának optimalizálásával az egyéni mikroelektródok előnyös tulajdonságait megőrizve (kedvező jel/zaj viszony, kis ohmikus potenciálesés (iR), kis időállandó (RC) és a hemiszférikus diffúzió következtében megvalósuló nagy sebességű anyagtranszport) az áramerősséget az egyéni mikroelektródok számával arányosan felerősítettük. Ennek megfelelően sikerült biztosítani a stacionárius áramviszonyok kialakulását és a keverés érzékenység kiküszöbölését. Meghatároztuk a különböző gyártási technológiával készült alapelektrodok (vákuumpárologtatás, illetve elektrokémiai leválasztás) amperometriás hidrogén-peroxid érzékenységét majd glükóz-oxidáz (GOx) enzimet használva modell enzimként vizsgáltuk az elektrokémiai, illetve optikai enzimaktivitás meghatározás közötti korrelációt. A kifejlesztett elektrokémiai enzimaktivitás metodikája rendkívül egyszerű. A mérőcellában elhelyezett abszorbens réteget megfelelően pufferolt enzim szubsztráttal módosítottuk. A mérés során a mérőcella munkaelektrodját $+0,7\text{ V}$ -ra polarizáltuk és glükóz-oxidáz hozzáadása után az enzimreakció lefolyását a termékként keletkezett hidrogén-peroxid anódos oxidációjából származó áramerősség alapján követtük. Az áram tranziens kezdeti meredekségéből és a mérőcella hidrogén-peroxid érzékenységének ismeretében a vizsgált glükóz-oxidáz minták aktivitása közvetlenül meghatározható. Az enzim standardokkal végzett kalibráció ílymódon történő kiküszöbölése és az egyszerű mérési eljárás az elektrokémiai metodikát és mérőcellát versenyképesé teszi az általánosan használt fotometriás módszerekkel szemben. Kísérleteink bizonyították, hogy a glükóz-oxidáz enzim esetében az elektrokémiai módszerrel meghatározott kinetikai paraméterek jól korrelálnak a spektrofotometriás referencia módszerrel (pl. Michaelis állandó elektrokémia módszerrel meghatározva 41 mM , spektrofotometriás módszerrel 38 mM). Az alapérzékelő szelektív hidrogén-peroxid válaszanak biztosítására elektrokatalizátorokat, többretegű polielektrolit, illetve elektropolimerizációval készült méretkizárásos filmeket vizsgáltunk. A legjobb szelektivitást az elektropolimerizációval

leválasztott poli(m-feniléndiamin) filmmel értük el amellyel teljesen kiküszöbölhető volt a biológiai mintákban található elektroaktív molekulák zavarása. A rétegzett polielektrolit membránok esetében azonban tanulmányaink során, előzetes irodalmi utalásokkal ellentétben, nem tapasztaltunk kielégítő hidrogén-peroxid szelektivitást. Öt réteg poli(allilamin) és poli(vinilszulfonát) alternálásával az alapérzékelő hidrogén-peroxid szelektivitása aszkorbinsavra nézve mindössze kétszeres míg a paracetamolra hétszeres volt. A témában egyelőre egy közleményünk jelent meg (1)(vezető polimerben immobilizált elektrokatalizátor vizsgálata) a *Synthetic Metals* folyóiratban (*IF:1.278*).

2. *Elektrokémiai szenzorok fejlesztése hidroláz enzimek aktivitásának meghatározására* (2)

Mikrofabrikált, miniatűr amperometriás szenzorokat fejlesztettünk ki *alkalikus foszfatáz* (ALP) elektrokémiai úton történő meghatározására is. Az alkalikus foszfatáz az immunanalitikai meghatározásokban talán legáltalánosabban használt jelölő enzim, amelynek érzékeny meghatározása lehetőséget ad az amperometriás mérőcellák immunanalitikai jellegű alkalmazására. Munkánk során eljárást dolgoztunk ki az áram tranziensek linearizálására anyagtranszportot szabályozó rétegek alkalmazásával, illetve vizsgáltuk az ALP-anti-IgG konjugátumok meghatározásának lehetőségét. Az irodalomban általánosan használt, érzékeny elektrokémiai detektálást biztosító de instabil, p-amino-fenol-foszfát helyett aszkorbinsav-foszfátot alkalmaztunk enzimszubsztrátként. Az amperometriás mérőcella teljesítményparamétereit meghatározva az ALP kimutatási határa 3,1 fmol volt, ami jobb mint a klasszikus spektrofotometriás módszerek kimutatási határa, de gyengébb a fluoreszcens és kemilumineszcenciás elven alapuló módszerekénél. Eredményeinket a Royal Society of Chemistry *The Analyst* c. folyóiratába publikáltuk (*IF: 2.783*).

(B) Enzimszubsztrát közvetlen meghatározása amperometriás mérőcellákkal

1. *Mikrofabrikált amperometriás mérőcellák fejlesztése putreszcin meghatározására* (3)

Emelkedett putreszcin koncentrációk orvos diagnosztikában a bakteriális vaginózis és a rákos megbetegedésekre utalnak, élelmiszeranalitikában pedig bizonyos élelmiszerek frissességére lehet következtetni a putreszcin koncentráció alapján. Munkánk során egy olyan szenzort fejlesztettünk ki, amely alkalmas a putreszcin szelektív és közvetlen meghatározására vérmintákból. A fotolitográfias technológiával készült platina alapérzékelő módosításához három réteget alkalmaztunk: poliuretán réteg (külső védőréteg), putreszcin-oxidáz réteg (a putreszcin oxidációját katalizálva hidrogén-peroxidot termel, amelynek keletkezését amperometriásan detektáljuk), méretkizárásos poli(m-feniléndiamin) réteg (a kis molekulatömegű hidrogén-peroxid szelektív áteresztése). Az enzim immobilizására korábban kidolgozott gőzfázisú immobilizációt alkalmazva és a különböző membránrétegek permeabilitásának optimalizálásával $0,05 \mu\text{M}$ kimutatási határt sikerült elérnünk, amely lehetőséget adott a putreszcin meghatározására a diagnosztikai szempontból releváns 1 és $45 \mu\text{M}$ tartományban. A módszer rendkívüli előnye, hogy gyakorlatilag mintaelőkészítés nélkül (borát pufferrel $1:1$ arányban hígított vérminta) is alkalmas a vér illetve plazma minták putreszcin koncentrációjának meghatározására. Eredményeinket *a Journal of Biochemical and Biophysical Methods* c. folyóiratba publikáltuk (*IF: 1.302*).

(C) Felületi enzimaktivitások meghatározása

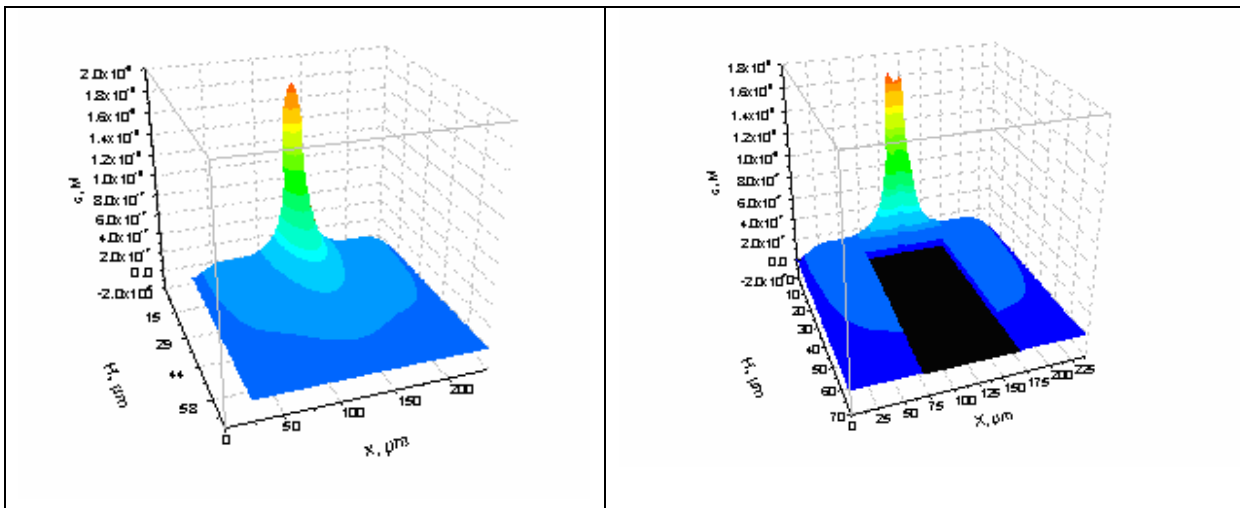
1. Felületi enzimaktivitások kvantitatív meghatározása pásztázó elektrokémiai mikroszkópiával

Enzim-monoréteg mintázatok kialakítása és az immobilizált enzimrétegek felületi aktivitásának meghatározása rendkívül fontos az enzim jelölésen alapuló immun- és DNS chipek kifejlesztéséhez. A felületi enzimaktivitások jelentősen eltérhetnek az oldatban mért aktivitásoktól és ezek pontos kvantifikálását tűztük ki célul. Munkánk során modell rendszerként glükóz-oxidáz enzimet használtunk és a keletkező hidrogén-peroxid lokális koncentrációját Pásztázó Elektrokémiai Mikroszkópiával határoztuk meg. A megfelelő elektrokémiai mikroérzékelő pontos pozicionálása az enzimréteg közvetlen közelében nemcsak az enzimaktivitás rendkívül érzékeny detektálására nyújtott lehetőséget hanem nagy tér- és időbeni felbontású meghatározására is. Különböző immobilizálási

módszereket alkalmaztunk az enzimek felületi rögzítéséhez (kovalens illetve elektrosztatikus immobilizálás, kontrolláltan egy vagy több rétegben).

- a) aranyfelület / ciszteamin önrendeződő monoréteg / glutáraldehid (keresztalkotó ágens) / glükóz-oxidáz
- b) Aranyfelület/hexadekántiol- első generációs poli(amidoamin) dendrimer vegyesréteg / glutáraldehid / glükóz-oxidáz (4)
- c) többrétegű polielektrolit film (pozitív töltésű poliallilamin és negatív töltésű glükóz-oxidáz rétegek ($\text{pH} > \text{pI}$) kontrollált alternálásával)

Az enzim mintázatok kialakítására fotolitográfias technológiával gyártott 10 és 20 μm átmérőjű illetve oldalhosszú arany ultramikroelektród-sorokat használtunk. A felületi módosítások során nyert borítottságot kvarckristály mikromérleggel határoztuk meg (ciszteamin $1.8 \times 10^{-9} \text{ mol/cm}^2$, glutáraldehid $1.7 \times 10^{-9} \text{ mol/cm}^2$, glükóz-oxidáz ($1.6 \times 10^{-13} \text{ mol/cm}^2$)).

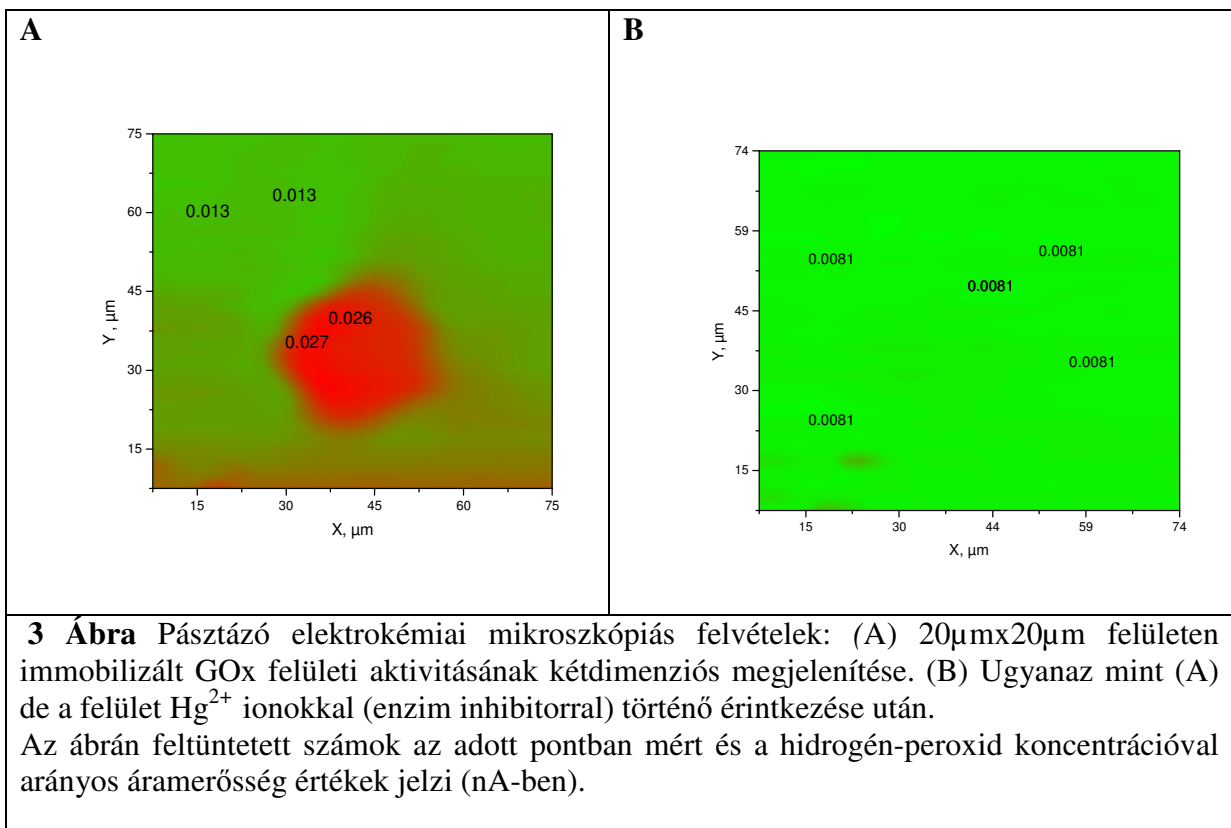


2 Ábra (A) Tíz μm átmérőjű arany ultramikroelektródra immobilizált GOx réteg által generált hidrogén-peroxid koncentrációprofilok digitális szimulációja. (B) Ugyanaz mint (A) de figyelembe véve a felülettől 5 μm -re helyezett 10 μm átmérőjű platina ultramikroelektród által okozott perturbációt.

A mért lokális hidrogén-peroxid koncentráció-profilok kvantitatív értelmezéséhez három-dimenziós digitális szimulációs szoftvert fejlesztettünk ki, amely figyelembe veszi a reakciókinetikai paramétereket, mérőcella geometriáját, és biokémiai rendszer komponenseinek anyagtranszportját (5). A mikroszenzorok jelentős perturbációt okoznak

a lokális hidrogén-peroxid koncentrációprofilokban, amelyet az általunk kifejlesztett három-dimenziós szimulációs szoftver teljes mértékben figyelembe vesz (2 Ábra).

A kísérleti koncentráció-profilokat korrelálva (3. Ábra) a szimulációs eredményekkel meghatároztuk a felületi enzimaktivitásokat. A módszert később kiterjesztettük hidroláz enzimek (acetil-kolinészteráz) aktivitásának meghatározására is az enzimatis reakció okozta pH változás mérésén keresztül. Ebben az esetben az pH profilok kísérleti feltérképezését potenciometriás üzemmódba, antimon/antimon-oxid mikroelektróddal végeztük. Eredményeinket összefoglaló két publikáció a Bioelectrochemistry c. folyóiratban közöltük (IF: 2.261).



2. Enzimjelölésen alapuló DNS mikrochipek fejlesztése

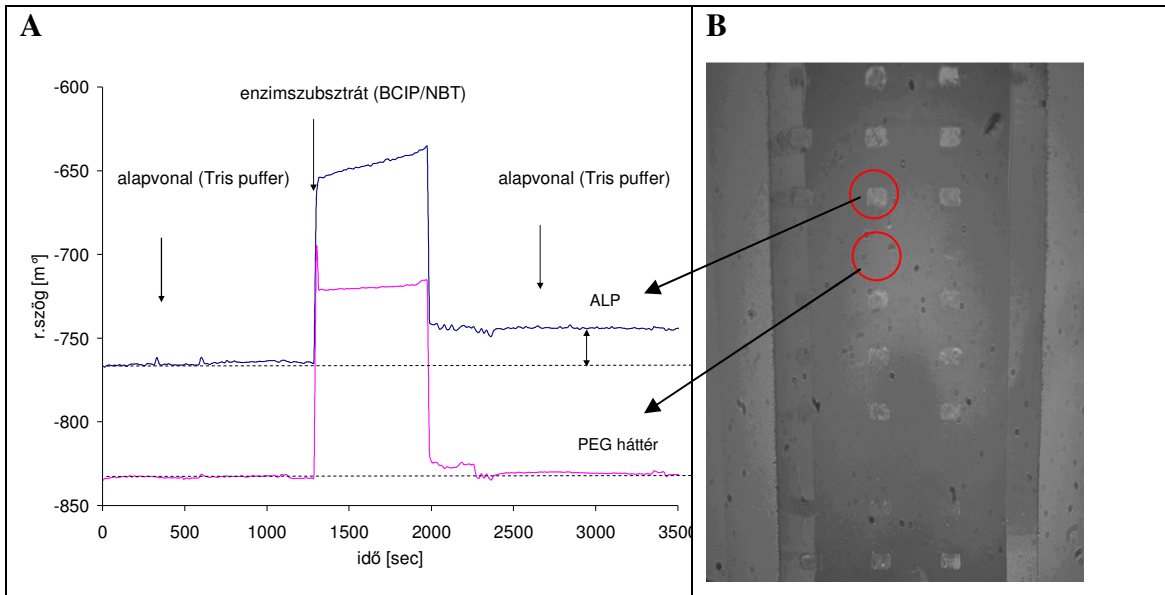
A bioanalitikai mikrorendszerek fejlesztése során az enzimaktivitás mérést, DNS szálak hibridizációjának vizsgálatára is felhasználtuk. Ezek a kísérletek a DNS chipek fejlesztésére irányuló erőfeszítéseink első stádiumát képezik. Munkánk során fotólitográfiás technológiával készült összesen 900 darab 10 μm átmérőjű arany ultramikroelektrodot tartalmazó „chipet” alkalmaztunk. A molekuláris felismeréshez tiol-

csoporttal módosított 18 bázis hosszú egyszálú oligonukleotidokból (HS-5'-GGTGAAGCTCTG CTGACG-3') alakítottunk ki önrendeződő monoréteget a mikroelektródok felületén. A komplementer szál amino-csoporttal módosított volt. A hibridizáció detektálására az amino-csoporthoz glutáraldehid segítségével glükóz-oxidáz enzimet kötöttünk. A felületi enzimaktivitás a hibridizáció bekövetkezését jelzi. Ennek meghatározására glükóz oldatban, pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás mérés technikát használtunk, amellyel a korábban említett módon feltérképezhető az enzimmel jelölt mikroszkópiás méretű helyek aktivitása. A pásztázó elektrokémiai mikroszkópiát világszinten először alkalmaztuk sikeresen DNS szálak hibridizálódásának enzimaktivitás mérésen alapuló detektálására. Közleményünk 2005 második felében felkerült a *Bioelectrochemistry* folyóirat 25-ös toplistájában (8-ik helyen) (5).

3. Felületi enzimaktivitások nagyérzékenységű monitorálása képalkotó felületi plazmon rezonanciás mérőrendszerrel (iSPR)

Az Oktatási Minisztérium (MU-00011) támogatásával elnyert iSPR mérőrendszer további lehetőségeket nyújtott számunkra biomolekuláris kölcsönhatások tanulmányozására. Az SPR technológiával egy adott felülettel (chip) érintkező dielektrikum réteg törésmutató változását detektáljuk pár száz nanométeres mélységben. Megfelelő receptorokkal (pl. antitest) módosítva a felületet lehetőség nyílik a komplementer komponensek (pl. antigén) szelektív, jelölésmentes detektálására. Nemzetközi együttműködés keretében foglalkoztunk a TBC kórokozójának sejtfalában található lipopoliszacharid (lipoarabinomannan) immunanalitikai meghatározásával ugyanis ez lehetőséget nyújthat a TBC korai diagnosztikájára. A kimutatási határ azonban a diagnosztikai szempontból releváns koncentráció szintnél magasabb volt. Jelenleg egy új jelerősítéssel eljárásról dolgozunk, amely alkalikus foszfátáz enzimmel történő jelölésen alapul. A méréseink során olyan szubsztrátot (BCIP/NBT) használunk, amely az enzim katalizált átalakulása során egy oldhatatlan csapadékot képez és leválva a felületre rendkívül nagy törésmutató változást okoz. Munkánk során anti-alkalikus foszfátáz mintázatot alakítottunk ki egy arany chip felületén és vizsgáltuk az ALP bekötődését. Előkísérleteink bizonyítják, hogy az általunk javasolt amplifikációs eljárással 1 attomolnál kisebb mennyiségű alkalikus

foszfatáz (ALP) is meghatározható (4. Ábra). Ugyanakkor ennél nagyságrendekkel nagyobb ALP mennyiségek sem detektálhatóak közvetlenül (jelerősítés nélkül) SPR-el.



4. Ábra SPR jelerősítés enzimatis csapadékleválasztással. (A) A rezonanciaszög változása az enzimműködés hatására. Az anti-ALP-vel módosított felület az enzimszubsztrát hozzáadása előtt 1,6 fM koncentrációjú ALP oldattal érintkezett. Nemspecifikus protein adszorpciónak ellenálló poli(etilén-glikol) származékkal bevont felület szolgáltatta a háttérjelet. (B) Áramló oldatos mikrocellába behelyezett arany chip felületének plazmon rezonanciás képe 10 perces inkubáció után az enzimszubsztrát oldatában. A világosabb pontok az anti-ALP-vel módosított felületekhez bekötődött ALP aktivitását jelzik, a sötétebb felület pedig a PEG háttért.

Ez a kutatási irányzat rendkívül perspektivikus hiszen lehetővé teszi az SPR technológia kimondottan analitikai célú alkalmazását gyakorlatilag minden alkalikus foszfatáz jelölést alkalmazó immunanalitikai eljáráshoz. A chip formátumú nagy áteresztőképességű meghatározások mellett a javasolt módszer valószínűleg miniaturizált SPR készülék alkalmazásával diagnosztikai szenzorok kifejlesztésére is alkalmas lehet.

(D) Kis kimutatási határú ionszelektív elektródok fejlesztése

A kutatási tervben szenzorok fejlesztését javasoltuk enzim inhibitorok (pl. nehézfémek) meghatározására. A nagyérzékenységű méréshez enzim tartalmú, nanométer vastagságú többrétegű polielektrolit filmek alkalmazását terveztük, azonban a rétegek időbeni stabilitása nem volt kielégítő és nem láttunk lehetőséget a nehézfémek szelektív

meghatározására enzim inhibíció alapján. Ugyanakkor az ionszelektív potenciometria területén történő legújabb fejlesztések bebizonyították, hogy akár pM-os kimutatási határ is elérhető megfelelő ún. anyagtranszport kontrollált ionszelektív elektródok alkalmazásával. Ebben, az elektroanalitika homlokterében levő, nagy nemzetközi érdeklődést kiváltó kutatásba kapcsolódtunk be. A munka ezirányban való folytatását tovább motiválta, hogy 2002-be OTKA műszerpályázat (M041969) keretében egy hiperspektrális képalkotó rendszer beszerzésére nyílt lehetőségünk, amely műszer többek között kiválóan alkalmas a membránon belüli iontranszport nagy térfelbontású tanulmányozására is. Az ionszelektív elektródok kimutatási határa a membránnal érintkező mintaoldatot elszennyező ionfluxusok meggátolásával/szabályozásával javítható. Ezen a téren korábban csoportunk szolgáltatva világviszonylatban az első független bizonyítékot a korábban feltételezett mechanizmusokra (6). A membránon keresztüli ionfluxusok beállítása érdekében azonosítottuk a kimutatási határt befolyásoló tényezőket és új vizsgálati módszereket dolgoztunk ki kationszelektív membránok jellemzésére. Ezek között említhető a lágyított polimer alapú membránok alkotóiban általában fellelhető, kis mennyiségű ionos szennyezők meghatározására kifejlesztett spektroszkópiai módszer (7), és a kis kimutatási határú ionszelektív elektródok gyártására használt ionoforok gyors alkalmassági szűrésére kidolgozott eljárás (8). A hiperspektrális képalkotó rendszer alkalmazásával kifejlesztettünk egy új módszert (mikrospektroelektrokémiai mikroszkópia), amellyel megfelelő spektrális tulajdonsággal rendelkező kromoionoforok és lipofil adalékanyagok, elektromos tér, illetve koncentrációgradiens indukált transzportja valós időben nyomonkövethető (9,10). Az elektródok miniatürizálása érdekében elektromosan vezető, polimer alapú szilárd belső elvezetések fejlesztését (11) és ezek fizikai kémiai tulajdonságának vizsgálatát végeztük el elektrokémiai kvarckristály mikromérleg és pásztázó elektrokémiai mikroszkópia segítségével (1). Az ionoforok mozgékonyságának csökkentésével robusztusabb ionszenzorok készíthetők és ezen a területen elsőként szintetizáltunk PVC-hez kovalensen kötött ionoforokat, vinil-klorid és megfelelő ionofor származékok kopolimerizációjával (12). Az ionszelektív elektródok kimutatási határának csökkentésére több olyan módszert is kidolgoztunk, amellyel lehetőség nyílt a kalcium-

illetve ólomionok nanomólos vagy kisebb koncentrációban történő meghatározására. Ezek rövid összefoglalását az 1-es táblázat tartalmazza.

1. Táblázat Kis kimutatási határú ionszelektív elektródok fejlesztése

Fejlesztés	Ion	Kimutatási határ	Megjegyzések	Hiv.
Mikroméretű lipofil részecskékkel adalékolt ionszelektív membránok	Ca ²⁺	10 ⁻¹⁰ M	Az adalékkal az ionfluxusok mértékének csökkentését és ezáltal az elektródválasz robusztusságát értük el.	(13)
Excentrikus elhelyezésű forgókorong ionszelektív elektródok	Ca ²⁺	10 ⁻¹⁰ M	A kis kimutatási határ mellett a válaszidő látványos csökkentését is elértük.	(14)
Elektromosan vezető polimereken alapuló szilárd belső elvezetésű ionszelektív elektródok	Pb ²⁺	10 ⁻⁹ M	Az első nanomólos kimutatási határú szilárd belső elvezetésű ionszenzor. Az Analytical and Bioanalytical Chemistry folyóirat „Forefront” közleményként közölte.	(15)

Eredményeinket a következő folyóiratokba publikáltuk: *Analytical Chemistry* (3 közlemény, IF 5,450), *Talanta* (1 közlemény, IF 2,532), *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (1 közlemény, IF 2,098), *The Analyst* (1 közlemény, IF 2,783), *Electroanalysis* (2 közlemény, IF 2,038).

A kis kimutatási határú szenzorok fejlesztésére más tematikus pályázatból anyagi támogatás nem állt rendelkezésünkre és más OTKA pályázat témavezetője sem voltam. Ugyanakkor hozzáteszem, hogy résztvevőként szerepelek egy vezető polimer alapú szenzorok fejlesztésére elnyert ifjúsági OTKA pályázatban (F034431, 2001-2005), amely ezen a tématerületen megjelent 8 közleményből 3-nál átfedést okoz. Ugyanakkor 2005-től szintetikus receptorok fejlesztését célul kitűző OTKA-ban (T46403) is résztvevőként szerepelek.

(E) A kémiaailag módosított arany nanocsöveken alapuló bioszenzorok fejlesztése

A nanotechnológia alkalmazása nano-bioszenzorok és a “lab-on-chip” rendszerek kialakítására rendkívüli fontossággal bír elsősorban a DNS analízis és protein chipek területén. Munkánk során olyan bioérzékelési elvet dolgoztunk ki, amely a nanométeres szinten jelentkező speciális molekuláris kölcsönhatásokon alapszik, de kis anyagi befektetéssel is megvalósítható és általánosan alkalmazható biológiai eredetű makromolekulák meghatározására. Lényege, hogy nanocsövek belső falához kovalens

kötéssel *szelektív molekuláris felismerésre* alkalmas biomolekulát rögzítünk. Az immobilizált biomolekula szelektív kölcsönhatásba lép a vizsgált minta egy komponensével. A keletkezett antigén-antitest komplex, vagy a DNS szálak esetében kialakult kettős csavar *megváltoztatja a nanocső átmérőjét vagy/és a belső felület elektromos töltését*. A fellépő változás befolyásolja a nanocső átjárhatóságát különböző ionok számára és ezáltal kvalitatív és kvantitatív információt szolgáltat a vizsgált komponensről. A gyakorlati megvalósítás során a nanocsövek egy transzport cella két oldatterét választják el egymástól. Az immobilizált biomolekula szelektív kölcsönhatásba lép a vizsgált minta egy komponensével, és az így keletkezett komplex *megváltoztatja a nanocső átmérőjét vagy/és a belső felület elektromos töltését*. A fellépő változás befolyásolja a nanocső átjárhatóságát különböző ionok számára, és ezért ezek ionszenzorokkal való meghatározása kvalitatív, illetve kvantitatív információt szolgáltat a vizsgált komponensről. Az új típusú bioszenzor működési elvének bemutatására biotinnal módosított nanocsöveket állítottunk elő, amelyek alkalmasnak bizonyultak az avidin meghatározására (16). Ennek érdekében biotin molekulákból monomolekuláris réteget alakítottunk ki az arany nanocső belső falán. Az avidin-biotin komplex kialakulását a nanocsőn keresztüli, potenciometriásan detektált kalciumion fluxus csökkenéséből határoztuk meg. A továbbiakban az arany nanocsövek előállítására egy vákuumpárologtatásos módszert is kidolgoztunk, és megvalósítottuk a nanocsövek belső falának peptid-nukleinsavakkal (PNS) történő szelektív módosítását. A peptid-nukleinsavak legfontosabb tulajdonsága, hogy semleges töltésűek, ugyanis a nukleotidok egy peptid láncon helyezkednek el és a DNS-ekkel gyakorlatilag azonos módon hibridizálódnak a szekvenciájukkal komplementer DNS szálakkal. Használatuk sok szempontból előnyös. Így pl. esetükben nem jelentkezik a negatív elektromos töltésű DNS-ek hibridizációjánál tapasztalt elektrosztatikus taszítás. Ez a gyakorlatban azt jelenti, hogy a PNS és DNS közötti kölcsönhatás már jóval rövidebb (akár 10 bázisú) PNS láncok esetében is megfelelően stabil. A nanopóruson keresztül beállított kalciumionok fluxusának változása alapján sikerült kimutatni a nanopórusban immobilizált PNS és a minta DNS hibridizációját (a kézirat megírása folyamatban van). *A továbbiakban tervezzük az SPR detektálásnál alkalmazott csapadék leválasztásához*

vezető enzimamplifikációs eljárások vizsgálatát. Eredményeinket a *Chemical Communications* folyóiratba közöltük (IF 3,997).

Irodalomjegyzék (kizárólag a támogatott kutatással kapcsolatos közlemények)

1. Syritski V, Gyurcsányi RE, Öpik A, Tóth K. Synthesis and characterization of inherently conducting polymers by using Scanning Electrochemical Microscopy and Electrochemical Quartz Crystal Microbalance. *Synthetic Metals* 2005;152(1-3):133.
2. Gyurcsányi RE, Bereczki A, Nagy G, Neuman MR, Lindner E. Amperometric microcells for alkaline phosphatase assay. *Analyst* 2002;127(2):235-240.
3. Nagy L, Nagy G, Gyurcsányi RE, Neuman MR, Lindner E. Development and study of an amperometric biosensor for the in vitro measurement of low concentration of putrescine in blood. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 2002;53(1-3):165-175.
4. Svobodova L, Snejdarkova M, Tóth K, Gyurcsányi RE, Hianik T. Properties of mixed alkanethiol-dendrimer layers and their applications in biosensing. *Bioelectrochemistry* 2004;63(1-2):285-289.
5. Gyurcsányi RE, Jágerszki G, Kiss G, Tóth K. Chemical imaging of biological systems with the scanning electrochemical microscope. *Bioelectrochemistry* 2004;63(1-2):207-215.
6. Gyurcsányi RE, Pergel E, Nagy R, Kapui I, Lan BTT, Tóth K, Bitter I, Lindner E. Direct evidence of ionic fluxes across ion selective membranes: A scanning electrochemical microscopic and potentiometric study. *Analytical Chemistry* 2001;73(9):2104-2111.
7. Gyurcsányi RE, Lindner E. Spectroscopic method for the determination of the ionic site concentration in solvent polymeric membranes and membrane plasticizers. *Analytical Chemistry* 2002;74(16):4060-4068.
8. Bereczki R, Takács B, Langmaier J, Neely M, R.E. G, Tóth K, Nagy G, Lindner E. How to Assess the Limits of Ion-Selective Electrodes: Simple Method for the Determination of the Unbiased Span, Response Range and Selectivity Coefficients of Neutral Carrier-Based Cation Selective Electrodes. *Anal. Chem.* 2006;78(3):942-950.
9. Gyurcsányi RE, Lindner E. Spectroelectrochemical Microscopy: Spatially Resolved Spectroelectrochemistry of Carrier-Based Ion-Selective Membranes. *Analytical Chemistry* 2005;77(7):2132-2139.
10. Gyurcsányi RE, Lindner E. Multi-Spectral Imaging of Ion Transport in Neutral Carrier-Based Cation-Selective Membranes. *Cytometry* 2006;accepted.
11. Gyurcsányi RE, Rangisetty N, Clifton S, Pendley BD, Lindner E. Microfabricated ISEs: critical comparison of inherently conducting polymer and hydrogel based inner contacts. *Talanta* 2004;63(1):89-99.
12. Bereczki R, Gyurcsányi ER, Ágai B, Tóth K. Synthesis and characterization of covalently immobilized bis-crown ether based potassium ionophore. *The Analyst* 2005;130(1):63-70.
13. Vigassy T, Gyurcsányi RE, Pretsch E. Influence of incorporated lipophilic particles on ion fluxes through polymeric ion-selective membranes. *Electroanalysis* 2003;15(5-6):375-382.
14. Vigassy T, Gyurcsányi RE, Pretsch E. Rotating ion-selective membrane electrodes for trace-level measurements. *Electroanalysis* 2003;15(15-16):1270-1275.
15. Sutter J, Lindner E, Gyurcsányi RE, Pretsch E. A polypyrrole-based solid-contact Pb^{2+} -selective PVC-membrane electrode with a nanomolar detection limit. *Analytical And Bioanalytical Chemistry* 2004;380(1):7-14.
16. Gyurcsányi RE, Vigassy T, Pretsch E. Biorecognition-modulated ion fluxes through functionalized gold nanotubules as a novel label-free biosensing approach. *Chemical Communications* 2003(20):2560-2561.

Kutatásban résztvevők

Az egyetemi környezet sajátosságainak megfelelően az OTKA pályázat által finanszírozott kutatásban elsősorban diplomázó hallgatókat, tudományos diákköri hallgatókat és doktoranduszokat vontam be. Ennek megfelelően folyamatos változás volt a négy év alatt a kutatásban résztvevők személyében amit értelemszerűen nem lehetett előretervezni. A 2001-2005 időszakban az OTKA támogatás a tudományos közlemények és előadások mellett lehetővé tette 6 diplomamunka (Kiss Gergely, Jágerszki Gyula, Ritvay Dorottya, Aradi Tamás, Höfler Lajos és Szűcs Júlia) és 1 TDK dolgozat (Höfler Lajos) elkészítését. 2003-tól "kiegészítő" MTA-OTKA-NSF pályázatot nyertünk el amelynek keretén belül I-Jane Chen és Justin Zook közvetlen témavezetésem mellett szintén résztvettek a kutatásban. Finn-magyar és észt –magyar TÉT együttműködés keretén belül is dolgoztak vendégkutatók az OTKA által támogatott témában, illetve nem formális együttműködések során is születtek eredmények.

Betervezett költségvetéstől való eltérés

Egyedül a befektetett eszközök rovatban tértünk el a tervezett eszközök beszerzésétől, amely tényt az éves részjelentésekben részletesen indokoltuk és a szakmai zsűri ezeket elfogadta. Röviden összefoglalva, 2002-ben OTKA műszerpályázaton 10 000 eFt nyertünk el egy hiperspektrális optikai képalkotó rendszer beszerzésére amelyre viszont 14 600 eFt-ot kértünk. Rendkívüli kedvezmény elérésével és az első év befektetett eszköz rovatából 600 eFt-al kiegészítve a rendelkezésre álló összeget (más forrásunk nem lévén) sikerült csak egy funkcionális konfigurációt beszerezni amely alkalmazásával már négy színvonalas folyóiratba megjelent közlemény született. Ílymódon a tervezett multipotenciosztát ebből a forrásból történő beszerzése már nem volt lehetséges, de más források felhasználásával ez megtörtént és jelenleg két Autolab bipotenciosztát is rendelkezésünkre áll. A további beszerzett eszközök a hiperspektrális optikai képalkotó rendszer bővítését és az enzimaktivitás száloptikás méréséhez szükséges mikroszonda üzembe helyezését szolgálták.

Az OTKA támogatásával készült tudományos munkával kapcsolatos díjak és elismerések:

Dr. Gyurcsányi Ervin Róbert:

- *Bolyai Plakett, MTA, 2005 Bolyai János Kutatási ösztöndíj, 2005-2008*
- “kiemelkedő” minősítés a 2001-2004 időszakra, *Bolyai János Kutatási ösztöndíj*
- *Bolyai János Kutatási ösztöndíj, 2001-2004*

Díjnyertes TDK dolgozatok:

Höfler Lajos: Kémiailag módosított arany nanocsövek fejlesztése molekuláris felismerés céljából; I. helyezés és rektori különdíj 2004 BME TDK; I. helyezés és a Magyar Gyógyszerészetért Alapítvány különdíja 2005 OTDK XXVII. Kémiai és Vegyipari Szekció, Analitikai kémia tagozat

Díjnyertes diplomamunkák:

Kiss Gergely: DNS-chipek megvalósításának egyes kérdései, DNS immobilizáció vizsgálata; Pro Progressio Alapítvány diplomatervezési díj, 2002

Höfler Lajos: Kémiailag módosított arany nanocsövek fejlesztése molekuláris felismerés céljából; MKE nívódíjas diplomamunka, 2005

Diplomamunkák:

Jágerszki Gyula: Pásztázó elektrokémiai mikroszkópiás mérőrendszer fejlesztése és alkalmazása felületi enzimrétegek aktivitásának meghatározására

Ritvay Dorottya: Mikrofabrikált amperometriás mérőcella fejlesztése glükóz-oxidáz enzim aktivitásának meghatározására

Aradi Tamás: Arany nanocsöveken keresztüli iontranszport folyamatok vizsgálata

Szűcs Júlia: Felületi plazmonrezonanciás mérőrendszer alkalmazása lipoarabinomannan meghatározására

PUBLIKÁCIÓS TEVÉKENYSÉG

SCI folyóiratokban megjelent illetve elfogadott közlemények:

1. **Gyurcsányi RE**, Lindner E. Multi-Spectral Imaging of Ion Transport in Neutral Carrier-Based Cation-Selective Membranes. *Cytometry* 2006; accepted. (*IF*: 1.061)
2. Róbert Bereczki, Boglárka Takács, Jan Langmaier, Matthew Neely, **Róbert E. Gyurcsányi**, Klára Tóth, Géza Nagy, Ernő Lindner: How to Assess the Limits of Ion-Selective Electrodes: Simple Method for the Determination of the Unbiased Span, Response Range and Selectivity Coefficients of Neutral Carrier-Based Cation Selective Electrodes. *Analytical Chemistry*, 2006; 78(3), 942-950.
3. Syritski V, **Gyurcsányi RE**, Öpik A, Tóth K: Synthesis and characterization of inherently conducting polymers by using Scanning Electrochemical Microscopy and Electrochemical Quartz Crystal Microbalance. *Synthetic Metals* 2005; 152(1-3):133. (*IF*:1.278)
4. **Gyurcsányi RE**, Lindner E: Spectroelectrochemical Microscopy: Spatially Resolved Spectroelectrochemistry of Carrier-Based Ion-Selective Membranes. *Analytical Chemistry* 2005; 77, 2132-2139. (*IF*: 5.450).
5. Bereczki R, **Gyurcsányi RE**, Ágai B, and Tóth K: Synthesis and characterization of covalently immobilized bis-crown ether based potassium ionophore. *The Analyst* 2005, 130, 63-70. (*IF*: 2.783)
6. Sutter J, Lindner E, **Gyurcsányi RE**, Pretsch E: A polypyrrole-based solid-contact Pb^{2+} -selective PVC-membrane electrode with a nanomolar detection limit. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, 380, 7-14. (*IF*: 2.098)
7. **Gyurcsányi RE**, Rangisetty N, Clifton S, Pendley BD, Lindner E: Microfabricated ISEs: critical comparison of inherently conducting polymer and hydrogel based inner contacts. *Talanta* 2004, 63, 89–99. (*IF*: 2.532)
8. Svobodová L, Šnejdárková M, Tóth K, **Gyurcsányi RE**, Hianik T: Properties of mixed alkanethiol-dendrimer layers and their applications in biosensing. *Bioelectrochemistry* 2004, 63, 285– 289. (*IF*: 2.261)
9. **Gyurcsányi RE**, Jágerszki G, Kiss G, Tóth K: Chemical Imaging of Biological Systems with the Scanning Electrochemical Microscope, *Bioelectrochemistry*, 2004, 63, 207– 215. (*IF*: 2.261)
10. Vigassy T, **Gyurcsányi RE**, Pretsch E: Rotating ion-selective membrane electrodes for trace-level measurements. *Electroanalysis* 2003; 15: 1270-1275 (*IF*:2.038)
11. Vigassy T, **Gyurcsányi RE**, Pretsch E: Influence of incorporated lipophilic particles on ion fluxes through polymeric ion-selective membranes. *Electroanalysis* 2003; 15: 375-382 (*IF*: 2.038)

12. **Gyurcsányi RE**, Vigassy T, Pretsch E: Biorecognition-modulated ion fluxes through functionalized gold nanotubules as a novel label-free biosensing approach. *Chemical Communications* (Cambridge, United Kingdom) 2003; 2560-2561 (*IF*: 3.997)

13. Nagy L, Nagy G, **Gyurcsányi RE**, Neuman MR, Lindner E: Development and study of an amperometric biosensor for the in vitro measurement of low concentration of putrescine in blood. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 2002; 53: 165-175 (*IF*: 1.302)

14. **Gyurcsányi RE**, Lindner E: Spectroscopic Method for the Determination of the Ionic Site Concentration in Solvent Polymeric Membranes and Membrane Plasticizers. *Analytical Chemistry* 2002; 74: 4060-4068 (*IF*: 5.450)

15. **Gyurcsányi RE**, Bereczki A, Nagy G, Neuman MR, Lindner E: Amperometric microcells for alkaline phosphatase assay. *Analyst* (Cambridge, United Kingdom) 2002; 127: 235-240 (*IF*: 2.783)

Hazai folyóiratokban megjelent közlemények:

16. **Gyurcsányi RE**: Trends in the detection of biomolecular interactions. *Magyar Kémiai Folyóirat* 2005; 111(2): 133-142. (*IF*: -)

17. Tóth K, **Gyurcsányi ER**: Sensors in analytical chemistry, *Magyar Tudomány*, 2002, pp 1614-1623 (*IF*: -)

18. **Gyurcsányi RE**: Modern trends in Electroanalytical Chemistry, *Magyar Kémikusok Lapja*, 2002; pp 56-64 (*IF*: -)

Beküldött és elbírálás alatt álló közlemények:

19. Róbert Bereczki, Boglárka Takács, **Róbert E. Gyurcsányi**, Klára Tóth, Géza Nagy, Jan Langmaier, Ernő Lindner: Span measurement for screening novel ionophore candidates in cation selective electrodes. *Electroanalysis*, *Electroanalysis*, submitted January 11, 2006

20. Fredrik Sundfors, Róbert Bereczki, Johan Bobacka Klára Tóth, Ari Ivaska, **Róbert E. Gyurcsányi**: Microcavity Based Solid-Contact Ion-Selective Microelectrodes, *Electroanalysis*, submitted January 14, 2006

21. Ildikó Móczár, **Róbert E. Gyurcsányi**, Péter Huszthy, Gyula Jágerszki, Klára Tóth, Ernő Lindner: Synthesis and Characterization of a Novel, Colored Lipophilic Anion for Spectral Imaging the Transport in Ionophore Based Ion-Selective Membranes” *Electroanalysis*, submitted January 23, 2006

Tudományos előadások:

1. **Róbert E. Gyurcsányi**: “Trends in electroanalysis” 2002, January 31, Analitikai Ankét, Budapest, Hungary.
2. Ernő Lindner, **Róbert E. Gyurcsányi**: “Effect of Small and Large Current Polarization on Solvent Polymeric Ion-Selective Membranes: Real Time, Multi- Wavelength Imaging of Membrane Transport”, Pittcon 2002, March 17-22, New Orleans, USA.
3. **Róbert E. Gyurcsányi**, Ernő Lindner: “Simple Spectroscopic Method for Determining the Concentration of Anionic Impurities in Solvent Polymeric Membranes and Membrane Plasticizers” Pittcon 2002, March 17-22, New Orleans, USA.
4. Ernő Pretsch, Alan Ceresa, **Róbert E. Gyurcsányi**, Konstantin Mikhelson, Liya Muslinkina, Jolanda Sutter, Zsófia Szigeti, and Tamás Vigassy: “Pitfalls Encountered During Potentiometric Submicromolar Activity Measurements”, International Conference on Electrochemical Sensors, October 13-18, 2002, Mátrafüred, Hungary.
5. **Róbert E. Gyurcsányi**, Tamás Vigassy, Ernő Pretsch: “Design of Novel Biosensing Interfaces for Ion-Selective Electrodes” International Conference on Electrochemical Sensors, October 13-18, 2002, Mátrafüred, Hungary.
6. E. Lindner, **R.E. Gyurcsányi**, B.D. Pendley, R.P. Buck: “Membrane Spectro-Electrochemistry. Real Time Imaging of Membrane Processes During Electrochemical Measurements” International Conference on Electrochemical Sensors, October 13-18, 2002, Mátrafüred, Hungary.
7. Gyula Jágerszki, **Róbert E. Gyurcsányi**, Ernő Lindner, Klára Tóth: “Assesing the activity of surface confined enzymes with Scanning Electrochemical Microscopy and 3D digital simulation”, 2002, Kémiai Előadói Napok, Szeged.
8. **Róbert E. Gyurcsányi**:” Imaging, control and application of ion transport in membrane based ion-selective membranes”, CEAC seminar, ETH Zürich, November 14, 2002, Zürich, Switzerland.
9. **Gyurcsányi E. Róbert**, Vigassy Tamás, Pretsch Ernő: "Kémiailag módosított arany nanocsöveken alapuló bioszenzorok fejlesztése", Analitikai Napok, January 29-30, 2003, Budapest, Hungary.
10. Vigassy Tamás, **Róbert E. Gyurcsányi**, Pretsch Ernő: “Rotating ion selective membrane electrodes for trace level measurements”, CEAC seminar, ETH Zürich, January 31, 2003, Zürich, Switzerland.
11. Ernő Lindner, **Róbert E. Gyurcsányi**: “Dynamic Imaging of Membrane Processes”, Pittcon 2003, March 9-14, 2003, Orlando, FL, USA.
12. Ernő Pretsch, **Róbert E. Gyurcsányi**, Liya Muslinkina, Jolanda Sutter, Zsófia Szigeti, and Tamás Vigassy: “Optimizing Ion-selective Membranes for Low Detection Limits and for New Kinds of Sensing”, Pittcon 2003, March 9-14, 2003, Orlando, FL, USA.
13. **Róbert E. Gyurcsányi**, Tamás Vigassy, Ernő Pretsch: “Design of Ion-Selective Electrodes

with Novel Interfaces for Biosensing”, Pittcon 2003, March 9-14, 2003, Orlando, FL, USA.

14. Klára Tóth, **Róbert E. Gyurcsányi**, Gyula Jággerszki, Gergely Kis: “Chemical Imaging of Biological Systems with the Scanning Electrochemical Microscope”, XVIIth International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, June 19-24, 2003, Florence, Italy.
15. Tamás Vigassy, **Róbert E. Gyurcsányi**, Ernő Pretsch: “Rotierende ionenselektive Elektroden für Spurenanalytik” ELACH-6, September 14- 17, 2003, Wien, Österreich.
16. **Róbert E. Gyurcsányi**, Vigassy Tamás, Pretsch Ernő: “Biorecognition-modulated ion fluxes through functionalized gold nanotubules as a novel label-free biosensing approach”, 2003 Október 30, MTA ünnepi ülés, Budapest, Hungary.
17. Jággerszki Gyula, **Gyurcsányi E. Róbert**, Lindner Ernő, Tóth Klára: “Assesing the activity of surface confined glucose oxidase enzyme with Scanning Electrochemical Microscopy and 3D digital simulation”, 9th International Conference of Chemistry, November 14-16, 2003, Cluj, Romania.
18. Bereczki Róbert, **Gyurcsányi E. Róbert**, Ágai Béla, Tóth Klára: “Synthesis and characterization of novel PVC-linked potassium ionophores”, 9th International Conference of Chemistry, November 14-16, 2003, Cluj, Romania.
19. **Róbert E. Gyurcsányi** : “Chemical and Biosensors: Fundamental research and Applications” Seminar series, 11th of December, 2003, University of Florence, Florence, Italy.
20. Ying Liu, **Róbert E. Gyurcsányi**, John DeNuzzio, Ernő Lindner: “Microfabricated Amperometric Cells for Enzyme Assays and Multi-component Analysis“, Pittcon 2004, March 7-12, Chicago, IL, USA.
21. F. Sundfors, **R.E. Gyurcsányi**, J. Bobacka, A. Ivaska and K. Tóth “Microcavity based solid-contact ion-selective microelectrodes”, 10th International Conference on Electroanalysis, ESEAC (European Society for ElectroAnalytical Chemistry) 6-10 June, 2004, Galway, Ireland.
22. Bereczki Róbert, **Gyurcsányi E. Róbert**, Ágai Béla, Tóth Klára: ”Új irány a kálium ion-szelektív elektródkutatás területén”, Vegyészkonferencia, June 30 –July 2, 2004, Balatonföldvár, Hungary.
23. Jággerszki Gyula, **Gyurcsányi E. Róbert**, Tóth Klára: ”Immobilizált glükóz-oxidáz monorétegek enzimaktivitásának meghatározása pásztázó elektrokémiai mikroszkópiával”, Vegyészkonferencia, June 30 –July 2, 2004, Balatonföldvár, Hungary.
24. V. Syritski, **R.E. Gyurcsányi**, A. Öpik, K. Tóth: “Synthesis and characterization of inherently conducting polymers by using Scanning Electrochemical Microscopy and Electrochemical Quartz Crystal Microbalance”, The International Conference on Synthetic Metals (ICSM), June 28- July 2, 2004, Wollongong, Australia.
25. V. Syritski, A. Öpik, **R.E. Gyurcsányi**: “Ion transport in PEDOT studied by scanning electrochemical microscopy, electrochemical quartz crystal microbalance and surface

plasmon resonance imaging”, 55th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, September 19-24, Thessaloniki, Greece.

26. E. Lindner, **R.E. Gyurcsányi**, J. Langmaier, B.D. Pendley: “Spectroelectrochemical microscopy: ion-selective electrode optimization based on imaging the concentration profiles in the sensing membrane”, 2004 Southeastern Regional Meeting of the American Chemical Society, Research Triangle Park, NC, USA.
27. **R.E. Gyurcsányi**: “Mass transport controlled ion-selective electrodes” A Tudomány Ünnepe alkalmából, MTA Támogatott Kutatóhelyek tudományos ülészsaka 2004 november 2, MTA székház, Budapest, Hungary.
28. E. Pretsch, T. Vigassy, **R.E. Gyurcsányi**, C.G. Huber: ”Potentiometric detection limit in the attomol range” Pittcon 2005, February 27 – March 4, 2005, Orlando, FL, USA.
29. **R.E. Gyurcsányi**, T. Vigassy, E. Pretsch: “Biorecognition-modulated ion fluxes through functionalized gold nanotubules as a novel label-free biosensing approach” Pittcon 2005, 27 February- 4 March, 2005, Orlando, FL, USA.
30. K. Tóth, **R.E. Gyurcsányi**, Róbert Bereczki, István Bitter: “Synthesis and Characterization of Novel Types of Ionophores” Pittcon 2005, February 27- March 4, 2005, Orlando, FL, USA.
31. **R.E. Gyurcsányi**: “Trends in the detection of biomolecular interactions”, MTA Kémiai Osztályának tudományos ülése Analitikai Kémia: Kutatás-Fejlesztési Irányok és Társadalmi Kihívások, May 4, 2005, Budapest, Hungary.
32. Ernő Lindner, Róbert Bereczki, Boglárka Takács, Jan Langmaier, **Róbert Gyurcsányi**, Klára Tóth, Géza Nagy: “How to Assess the Limits of Ion-Selective Electrodes: Simple Method for the Determination of the Unbiased Span, Response Range and Selectivity Coefficients of Neutral Carrier-Based Cation Selective Electrodes” International Conference on Electrochemical Sensors, November 13-18, 2005, Mátrafüred, Hungary.
33. **Róbert E. Gyurcsányi**, Gyula Jágerszki, Lajos Höfler, Tamás Vigassy, Ernő Pretsch: “Hybridization Modulated Ion Fluxes through Peptide Nucleic Acid Functionalized Nanotubules. A New Approach for Label-Free DNA Analysis” International Conference on Electrochemical Sensors, November 13-18, 2005, Mátrafüred, Hungary.

Posztterek:

1. Ernő Lindner, Ying Liu, **Róbert E. Gyurcsányi**, Michael R. Neuman and John DeNuzzio: “Microfabricated amperometric cells for enzyme assays and multi component analysis”. Becon 2002: Sensors for Biological Research and Medicine, June 24-25, 2002 #42 Washington, USA.
2. Tamás Vigassy, **Róbert E. Gyurcsányi**, Ernő Pretsch: “Rotating Electrode Potentiometry. Lowering the Detection Limit of Ion Selective Electrodes” International Conference on Electrochemical Sensors, October 13-18, 2002, Mátrafüred, Hungary.

3. **Róbert E. Gyurcsányi**, Nagy G., Lindner E., Neuman M.R.: "Amperometric Microcells For Enzyme Assay" International Conference on Electrochemical Sensors, October 13-18, 2002, Mátrafüred, Hungary.
4. Gyula Jágerszki, Ying Liu, **Róbert E. Gyurcsányi**, Klára Tóth, John D. DeNuzzio, Ernő Lindner: "Digital Simulation of Diffusion in an Arbitrary Three Dimensional Space and its Application to SECM Imaging of Surface Confined Enzymes" International Conference on Electrochemical Sensors, October 13-18, 2002, Mátrafüred, Hungary.
5. **Róbert E. Gyurcsányi**, Nagy G., Lindner E., Neuman M.R.: "Amperometric Microcells For Enzyme Assay" 7th International Symposium on Instrumental Analysis", September 21-24, 2003, Pécs, Hungary.
6. Róbert Bereczki, Boglárka Takács, Jan Langmaier, Matthew Neely, **Róbert E. Gyurcsányi**, Klára Tóth, Géza Nagy, Ernő Lindner: "How to assess the limits of ion-selective electrodes: simple method for the determination of the unbiased span, response range and selectivity coefficients of neutral carrier-based cation selective electrodes" 8th International Symposium on Instrumental Analysis", September 25-28, 2005, Graz, Austria.
7. Sándor Bodor, Ernő Lindner, **Róbert E. Gyurcsányi**, Klára Tóth: "The Determination of Diffusion Coefficients in Plasticized Polymeric Membranes International Conference on Electrochemical Sensors", November 13-18, 2005, Mátrafüred, Hungary.
8. Fredrik Sundfors, Róbert Bereczki, **Róbert E. Gyurcsányi**, Johan Bobacka, Ari Ivaska, Klára Tóth: "Microcavity-Based Solid-Contact Ion-Selective Microelectrodes" International Conference on Electrochemical Sensors, November 13-18, 2005, Mátrafüred, Hungary.