

Opponensi vélemény Dr Szűts Dávid „A mutagenesis mechanizmusai” című MTA
doktori értekezéséről

Készítette: Dr. Boros Imre Miklós

Dr Szűts Dávid doktori disszertációjában az utóbbi évtizedben, Magyarországon végzett tudományos munkája eredményeit foglalja össze. Az eredményeket 13, a dolgozat alapját képező, már megjelent közlemény foglalja össze, amelyekben 3 kivétellel ő a senior szerző. Kiemelendőnek tartom, hogy egy közlemény kivételével valamennyi teljesen itthon végzett munka eredménye, hazai szerzőgárdával. Szintén egy kivétellel a közlemények mindegyike a tudományterületen megjelent munkák felső decimálisába tartozó szakfolyóiratban jelent meg (D1), ami meggyőzően tükrözi e munkák magas színvonalát.

A disszertáció tárgya mutációk létrejöttének mechanizmusa, mutációs mintázatok kimutatása és felismerése és a kialakuló mintázatok mögötti okok azonosítása, illetve a mintázatok felhasználása a mögöttes okra történő következtetésre és ennek megfelelő terápiás beavatkozás javaslására.

A mutációk kialakulásához vezető okok megismerése, az egyes mutáció mechanizmusok jellegzetességei, a kiváltó okokat, közreműködő fehérjéket és létrejövő mutáció mintázatokot tekintve egyaránt, több okból fontos, érdekes és igen intenzíven kutatott terület. Nyilvánvalóak e kutatások hajtóerejeként a genom stabilitás és változékonyság okainak és ezzel az evolúcióra vonatkozó ismeretek bővítésének szándéka és hasonlóan, a törekvés tumorok kialakulásában meghatározó szerepű mutációk létrejöttének okait feltárni és a mutációs mintázatok jellegzetességei alapján a terápiát javítani. Ennek megfelelően a disszertáció tárgyát képező kutatási eredmények modern, igen intenzíven kutatott és elméleti kérdéseket tekintve, valami gyógyászati alkalmazást tekintve is fontos területet érintenek. A vizsgálatokhoz alkalmazott módszerek hasonlóan, az igen dinamikus fejlődő tudományterület legmodernebb eszköztárát képviselik, a vizsgált kérdéseknek megfelelően megválasztott, számos tekintetben újszerű megközelítést jelentenek.

Dr Szűts Dávid disszertációjában összefoglalt munkája spontán mutációk kialakulásának vizsgálatára alkalmas modell sejtvonalak genomi jellemzésével, az

erre alkalmazható bioinformatikai eszközök megteremtésével indul, és rákterápiában alkalmazott citosztatikumok mutagén hatásának és a terápiára jellemző mutációs mintázat tumor progresszió követésre alkalmazhatóságának leírásán át halad a specifikus DNS javító mechanizmusok, illetve azok hiányával és helyettesítésével megjelenő mutációs mintázatok jellemzőinek leírásán át, az ilyen kérdések megközelítésére alkalmas, kísérletesen létrehozott sejtvonalakon nyert eredményeit ismertetéséig. A kísérletes megközelítések kiterjednek a homológ rekombinációban szerepet játszó (BRCA1/2, RAD51 paralógok, PALB2, RAD42, RAD53) és ellenőrző pontokon ható fehérjék (ATM, CHK2) hiánya okozta változások vizsgálatára a mutációs spektrumra és a terápiás érzékenységre. Az MMR (mismatch repair)-ben szerepet játszó MSH2 és MSH6 génkiütések hatásának elemzésére. A transzlációs DNS szintézis mutációt generáló szerepének vizsgálatára DNS adduktok okozta replikációs blokkok esetén, valamint a PCNA poszttranszlációs módosításának szerepét és annak szükségességére a replikációs blokk megoldásakor használt templát váltásban.

A mutációk kialakulásához vezető okok vizsgálata és egyes mutációs mintázatok jellegzetességeinek feltárása rendkívüli módon felgyorsult az utóbbi másfél évtizedben a nagyléptékű genom analízist lehetővé tevő új generációs szekvencia meghatározási módszerek megteremtette lehetőségek és a daganatos megbetegedések elleni küzdelem eredményeként. A témában négy kontinensre kiterjedő, több száz csoportot összefogó konzorciumi munkák eredményei jelennek meg, daganatok ezreire vonatkozó analízisekkel. Érthető módon új adatokat letenni ebben a tudományos környezetben nagyon komoly kihívást jelent. Ennek ellenére meggyőződésem, hogy Dr Szűts Dávid munkája sikeres e tekintetben. Munkája közleményekben megjelent, disszertációjában 8 pontban összefoglalt eredményeit jelentős hozzájárulásnak tekintem a tudományterületen, azokat értékes, a Doktori cím elnyerésére elegendő új tudományos eredményeknek vélem. Saját összegzésem szerint legfontosabb új tudományos eredményeinek tekintem, hogy

1. Modell sejtvonalat használva analizálta és leírta a spontán mutációs események eredményeként kialakuló mutációs mintázatot és olyan bioinformatikai módszert fejlesztett ki, ami lehetőséget teremt a genomszekvenálás alkalmazására egy mutagenézist mérő és jellemző esszéként.

2. Kihasználva a modell sejtvonal és a legmodernebb genom szerkesztési módszerek lehetőségeit, hibajavító útvonalak komponenseinek hiányában kialakuló mutagenikus folyamatokat jellemzőit írta. Specifikusan, homológ rekombinációban résztvevő fehérjék és az MMR-be szerepet játszó egyes gének kiütésének hatását írta le a mutáció spektrum változására.
3. Kísérleti rendszerét alkalmazva új adatokkal szolgált homológ rekombinációban közreműködő BRCA fehérjék és a PCNA poszttranszlációs módosításainak szerepéről a DNS sérülések és DNS replikáció akadályai esetén aktiválódó hibaelkerülő útvonalakban.
4. Létrehozott kísérleti rendszerével és bioinformatikai eszközeivel kísérleti adatai alapján új ismereteket szolgáltat egyes citosztatikumok mutációs spektrumáról és egyes terápiás beavatkozások, valamint génhiányok okozta mutációs mintázat jellegzetességeiről, aminek ismerete tumor progresszió megértésében és terápiás beavatkozás választása miatt nyerhet fontos szerepet és alkalmazást.

A disszertáció formailag megfelel a kívánalmaknak. Véleményem szerint Szűts Dávid az előbbieken csak részben ismertetett eredményeivel messzemenően bizonyította munkája nemzetközi szinten figyelmet érdemlő tudományos értékét. Ennek megfelelően a disszertáció vitára bocsátását és a cím odaítélését feltétel nélkül javaslom.

Kérdéseim a jelölthöz:

1. A spontán mutációk kialakulásának analízisére létrehozott program szükségességét a tumorgenomok analízisére általánosan használt rendelkezésre álló programok hiányosságaival indokolta. Mi az a különbség, a daganat minták és sejt klónok összehasonlítása esetén, ami az utóbbi esetben a hibás adatokat okozza a korábbi programok használatakor. A disszertációban említi a korábbi és az Önök által kifejlesztett program hatékonyságát gépi időt tekintve. Készült direkt összehasonlítás a két program között azonos minták feldolgozásával az eredményt tekintve is. Ha igen, akkor ennek ismerete befolyásolja-e valamilyen tekintetben a korábbi – általánosan használt - programmal nyert adatok validitását?

2. Adataiban nem tér ki, illetve csak érintőlegesen a mutációk spektrumára genom topologia, kromatin környezet, transzkripció aktivitás, replikációs idő és hasonló szerkezeti, funkcionális jellemzőket tekintve. Készült erre vonatkozó elemzés pl. a citosztatikumokkal indukált mutációs spektrumok tekintetében? Ha igen, vannak megfigyelhető jellegzetességek?
3. Számomra ismételten nehézséget okoz a megfigyelt mutációs frekvencia - amit kísérletei alapján is irodalmi adatokkal összhangban 10 a mínusz tizediken per bp /sejtosztódás értékűnek talált - és daganatokban megjelenő egyes driver mutációk gyakorisága közötti összefüggés közvetlen megteremtése. Tudna segíteni annak a tapasztalati ténynek a molekuláris értelmezésében, hogy léteznek tumorokra jellemző gyakori driver mutációk?

Szeged, 2021. február 24.

Dr. Boros Imre Miklós
egyetemi tanár