

Opponensi vélemény

Zsolnai Attila

„Molekuláris marker vizsgálatok mangalica, racka, merinó, szürkemarha és szarvas állományokon”

című MTA doktori értekezéséről (száma: dc_1676_19)

A téma jelentősége

A haszonállatok genetikai állományának ismerete elengedhetetlen azok genetikai hátterének javításában. A legtöbb haszonállatfaj esetében rendelkezésre állnak egységesen elfogadott mikroszatellit panelek, ezért az ezek alkalmazásával létrehozott adatbázisok összehasonlíthatók, egyesíthetők. A mikroszatellitek használatát azonban egyre inkább háttérbe szorították az SNP chippek, amelyek mára elérhetőek a legtöbb haszonállatfaj esetében. Az SNP chippek használata ugyan magasabb költséggel jár, és megfelelő számítógépes háttér szükséges az adatok elemzéséhez, azonban alkalmazásukkal a meglévő adatok finomítása, pontosabb összehasonlítása válik lehetővé, így a két módszer párhuzamos alkalmazása a legcélravezetőbb.

Zsolnai Attila doktori értekezésben, a Ph.D. fokozata megszerzése óta, eltelt tizennyolc évnyi kutatómunkáját foglalta össze. Munkája eredményét a Ph.D. fokozat megszerzését követően 30 Q1-Q2 kategóriás közleményben publikálta, ami közül 13-ban első, vagy utolsó szerző volt. Publikációira közel 450 független idézést kapott minősített (ISI WoS/Scopus) folyóiratokban. A pályázó publikációinak kumulatív impakt faktor értéke a teljes életműre nézve 82,4. A lektorált folyóiratokban megjelent publikációk mellett szerzője volt két tudományos könyvfejezetnek, valamint két magyar és egy angol nyelvű felsőoktatási jegyzetnek.

Vizsgálataiban többségében hazai állatállományokra fókuszált. Kutató munkája kezdetén ő is mikroszatellit vizsgálatokat végzett, azonban a technológia fejlődésével,

attól kezdve, hogy rendelkezésre állt a teljes genomvizsgálat lehetősége, olyan SNP mintázatokot kerestek, melyek alkalmasak voltak a fajták hatékony megkülönböztetésére.

A dolgozat a jelölt által 2003 és 2015 között, 8 impakt faktoros cikkben publikált eredményekből lett összeállítva. Ezek közül hatban első szerző, kettőben utolsó szerző volt. Sajnos az elmúlt négy évben (2016-2019) megjelent publikációinak eredményeiről, illetve a dolgozatban bemutatott új tudományos eredményeinek gyakorlatban történő hasznosításáról már nem esik szó a doktori dolgozatban.

A dolgozat formai bírálata

Az értekezés összesen 91 oldalas, szerkezete és terjedelme megfelel a doktori disszertációkkal szemben támasztott követelményeknek. Tartalmazza a tudományos munka célkitűzéseit, az alkalmazott módszereket, a legfontosabb eredményeket. A dolgozat a jelölt kutatásainak eredményét nyolc önálló, azonos felépítésű fejezetben foglalta össze. Minden fejezet tartalmaz egy „Összefoglalás”, „Bevezetés”, „Anyag módszer”, „Eredmények és értékelés” részt. Az eredmények ismertetését az „Irodalom” fejezet követi (megjegyzem, szerencsésebb lett volna „Irodalomjegyzéknek” nevezni), majd az „Új tudományos eredmények” felsorolása, nyolc pontba szedve található, a jelölt doktori dolgozathoz kapcsolódó cikkeinek listájával kiegészítve. Külön fejezetben tárgyalta az általa elért eredmények felhasználási lehetőségeit. A dolgozat köszönetnyilvánítással zárul.

A dolgozat szerkezete inkább hasonlít egy könyv felépítéséhez, mint egy hagyományos dolgozathoz. Előszóval indul, majd az egyes kutatási területeket külön fejezetekben ismerteti. Érdekes megoldás, hogy a fejezetek az „Összefoglalás” résszel kezdődnek, utána következik a munka ismertetése. Én ezeket az összefoglalás részeket inkább az adott fejezetek végére tettem volna. Hiányolom, hogy a dolgozat nem tartalmazza a rövidítések jegyzékét, illetve lehetett volna részletesebben írni az alkalmazott kiértékelési és statisztikai módszerekről, s nem csak a módszer nevét és annak leíróját említeni. Ez segítette volna a területen kevésbé jártas olvasók számára a dolgozatban közölt eredmények könnyebb megértését.

A dolgozatban szereplő táblázatok, ábrák jól szerkesztettek, szemléletesen mutatják be a dolgozatban közölt eredményeket, bár a legtöbb ábrafelirat szűkszavú, így vissza-vissza kellett lapozni a dolgozatban, hogy egyértelműen azonosíthatók legyenek az pl. az ábrázolt csoportok (*pl.: V.1 ábra*). A dolgozatban csak kevés elütést találtam, ezek közül a legtöbb az irodalmi hivatkozásoknál jelent meg (pl. WING-YOUNG (77.oldalon), YUZHASIAN (65., 66.oldalon), illetve HUNTER (71.oldalon)

neve a szövegben el lett írva, más esetben a szövegben szerepel a hivatkozás, de nem található az irodalomjegyzékben (Propoková (2002), de Vires (2004)(74. oldal), Zsolnai és mtsai. 2003a (20. oldal), illetve Bossera (1997), Slate és mtsai (1998, 2000) cikkek csak az irodalomjegyzékben találtam meg, Veress és mtsai. estében a szövegben 2020 lett megadva (34. oldal), 2002 a helyes dátum. Néhány elütést a szövegben is találtam pl.: a 14. oldalon – „az legvalószínűbb”, 18. oldal – „vizsgálak”, 26. oldal „lettek gyűjtöttük”, 41. oldalon „genoanalízis”.

A dolgozat részletes tartalmi bírálata, kérdések

A jelölt munkája első részében arra keresett választ mikroszatellit markereket alkalmazva, hogy a mangalicák esetében korábban színváltozatoknak tartott szőke, fecskehasú és vörös mangalicák külön fajtának tekinthetők-e. Az analízis alapján a mangalicák három külön klaszterbe lettek besorolva, a színváltozatoknak megfelelően. **Érdekes, hogy néhány állat nem sorolódott be a saját csoportjába.**

További vizsgálataik során kiderült mi lehetett ennek az oka?

A mangalica mikroszatellit vizsgálatokat megismételve SNP markerekkel, olyan alternatív SNP-eket keresett, melyek alkalmazásával lehetőségessé vált a három mangalica fajta hatékonyan megkülönböztetése. Az általa kiválasztott SNP markerek alkalmazásával lehetőségessé vált egy hatékonyan, a mikroszatellit vizsgálatoknál olcsóbb módszer alkalmazása. Ezt követően olyan egyszerűen alkalmazható módszert dolgozott ki, mely alkalmas az élelmiszerek mangalica alkotójának azonosítására. Több lépésben mutatta be hogyan validálta a tesztet. ***A III.1 ábrán (28. oldal) a használt tesztcsík próbája látható, nem találtam meg az ábrafeliraton, hogy ebben az esetben milyen mintát teszteltek.*** Egy nagyon egyszerű mintaelőkészítési eljárást kidolgozva, széles körben alkalmazható tesztet fejlesztett ki. A teszt specificitását többféle sertésfajta, egyéb állatfajok, növények, kolbász, májkrém mintán is vizsgálta. Csak azokban az esetekben kapott pozitív jelet, amikor mangalica alkotót is tartalmazott a minta. ***Kérdésem az lenne ehhez kapcsolódóan, hogy ezt az eljárást a gyakorlatban alkalmazásra került-e az élelmiszerek mangalica tartalmának kimutatására?***

Racka esetében a genetikai különbözőség mértékét határozta meg a fekete és fehér színt képviselő csoportok egyedei között. Felveti, hogy a kapott adatok ellenőrzésére nagyobb állomány tesztelésére lenne szükség, illetve egy kereskedelmileg hozzáférhető, a teljes genomot mintázó markerkészletre is szükség lenne. ***Azt kérdezném, hogy ezen a területen történt-e előrelépés az elmúlt években, vagyis elérhető-e egy ilyen markerkészlet, történtek-e újabb vizsgálatok?***

Magyar szürkemarha tenyészetek vizsgálatával a tenyészetek egymáshoz viszonyított genetikai helyzetét, az állomány genetikai struktúráját térképezte fel. Vizsgálatai során azonosított olyan szürkemarha tenyészeteket, melyek az egész fajta genetikai sokszínűségének a fenntartásában fontosak.

Háziállatoknál már bevált DNS alapú származásellenőrzési eljárást dolgozott ki gímszarvas esetében. Dámszarvas esetében azonban a származás ellenőrzés nem működött ilyen sikeresen, azt írja, hogy több mikroszatellit lókuszra lenne szükség a pontos meghatározáshoz. ***Meg tudná mondani melyik szarvas faj esetében létezik jelenleg jól alkalmazható mikroszatellit-, esetleg SNP alapú rendszer, amit származásellenőrzésre lehet alkalmazni?***

A juhok surlókor rezisztenciájával kapcsolt prion protein genotípusok meghatározását követően, a rendelkezésre álló tenyésztői adatbázis felhasználásával, magyar és német merinó kos állományon belül azt vizsgálta, hogy a surlókorral szemben rezisztens genotípusra való szelekciónak van-e negatív hatása a termelési tulajdonságokra, csak a német merinó állományon belül tudott kimutatni ilyen hatást. ***A dolgozatban említette, hogy 2002-ben és 2003-ban a Magyarjuhtenyésztők szövetségével együttműködve elkezdődött a magyar juhállomány tesztelése. Tud arról, hogy mi lett ennek a vizsgálatnak az eredménye?***

Összeségében elmondható, hogy egy értékes dolgozatról van szó, amiből kiderül, hogy Dr. Zsolnai Attila, az elmúlt csaknem húsz évben végzett munkája során számos molekuláris marker vizsgálati módszer hazai alkalmazásában úttörő szerepet játszott, a szakterület elismert kutatója.

Új tudományos eredmények

Az értekezésben közölt eredmények közül az alábbiakat tartom a jelölt új tudományos eredményeinek:

1.: Mikroszatellit markerek segítségével igazolta, hogy a mangalica sertések genetikai hátterük alapján három csoportba sorolhatók. A három csoport megfelel a szőke, vörös és fecskehasú fajtáknak.

2.: Mangalicák teljes genom vizsgálatával hat olyan SNP lókuszt talált, mely alkalmas volt a három mangalica fajta megkülönböztetésére.

3.: Gyors, megbízható diagnosztikai tesztet fejlesztett ki élelmiszerek mangalica alkotójának azonosítására rekombinázt polimeráz amifikációt alkalmazva.

4.: Mikroszatellit vizsgálatokkal igazolta, hogy a fekete és fehér rackacsoportok genetikailag differenciálódottnak tekinthetők.

5.: A magyar szürkemarha állomány tenyészetekre lebontott genetikai struktúráját felmérve, olyan tenyészeteket azonosított, melyek különleges figyelmet érdemelnek a diverzitás, génfenntartás szempontjából.

6.: Gímszarvas származásellenőrzéshez egy olyan PCR csomagot hozott létre, mely egy 8 primerpárt tartalmazó egyetlen reakciót alkalmazva lehetséges. Ebben a reakcióban két, eddig erre a célra nem használt mikroszatellit is alkalmazott.

7.: Új vizsgálati eljárást dolgozott ki a surlókór rezisztenciával kapcsolt prion protein gén változatainak meghatározására.

8.: Német merinó kos állományban igazolta a surlókór rezisztens genotípusra való szelekció negatív hatását a termelési paraméterekre.

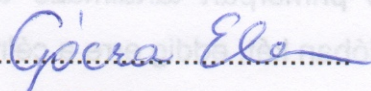
Kérdésem:

1.: Azt írja, hogy Magyarországon 1964-ben dokumentálták a sűrűlőkor megjelenését utoljára. Ön szerint még ma is van létjogosultsága a prion fertőzéssel szembeni rezisztenciaért felelős allélváltozatok alapján történő szelekcióra a juhok esetében? Ha még ma is történik ilyen szelekció, erre milyen módszert alkalmaznak? Ismer olyan más fertőzéssel szembeni rezisztencia kialakításában szerepet játszó genotípust amire történik szűrés hazánkban, illetve tudna javasolni olyan szűrést, amit érdemes lenne bevezetni?

Összefoglalva véleményem: Dr. Zsolnai Attila MTA Doktori Értekezése több emlős fajban, fajtában végzett nagyszámú minta genetikai analízisének eredményeit mutatja be. A módszerek kiválasztása megfelelő. Az értekezés, a tézisek és a kapcsolódó publikációk alapján megállapítható, hogy a dolgozatban közölt eredmények a jelölt saját eredményei. Ezen eredmények megfelelő színvonalú kutatási teljesítményt mutatnak be a Ph.D. fokozat megszerzése óta eltelt időszakban. Az értekezés számos olyan új kutatási eredményt tartalmaz, melyek alapjául szolgálhatnak alkalmazott kutatásoknak.

A fentiek alapján Dr. Zsolnai Attila értekezését és az abban leírt kutatások eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez és a nyilvános vita kitűzését javaslom.

Gödöllő, 2020. október 22.


Dr. Góczy Elen

MTA doktora