

## Opponensi Vélemény

**Dr. Csősz Éva: „Kvantitatív proteomikai módszerek fejlesztése és alkalmazása komplex biológiai kérdések tanulmányozására és potenciális biomarkerek azonosítására“ c. MTA doktori értekezéséről**

A modern biológiai tudomány legutóbbi fél évszázadának története a folyamatos módszertani forradalom történeteként írható le, amely a biológiai rendszerek többszintű és átfogó, rendszerszintű tanulmányozását tette lehetővé. A korábban uralkodó genomikai módszerek mellett folyamatosan fejlődtek azok a technológiai megoldások, amelyekkel a proteomikai változások érzékenyen és nagy pontossággal nyomon követhetők.

Dr. Csősz Éva akadémiai doktori értekezésében a kvantitatív proteomikai módszerek kidolgozásában, továbbfejlesztésében és proliferatív vitreoretinopátia, *Candida albicans* és HIV-1 fertőzés és különböző biológiai folyadékok markerkutatásainak alkalmazásaiban elért eredményeit írja le.

A jelölt fontosabb új tudományos eredményei a következők:

1. Módszert dolgozott ki fehérjék célzott tömegspektroszkópiás elemzésére, és kifejlesztett egy hálózatkészítő és elemző rendszert, amely kvalitatív és kvantitatív információt szolgáltat.
2. *Candida albicans* specifikus CaPpz1 foszfatáz szubsztrátokat azonosított és a foszfatáz hiányában bekövetkező proteom/foszfoproteom változásokat, amely a biofilm képződés jobb megértéséhez vezetett.
3. A proliferatív vitreoretinopátia patomechanizmusához kapcsolódóan krisztallinok változásait írták le.
4. Több lehetséges biomarkert azonosítottak könnyben és nyálban, melyek további validálás után potenciális eszközök lehetnek az Alzheimer-kór, a trabekulektómia komplikációk és szájüregi laphámrák diagnosztikájában.

A jelölt az értekezésben összefoglalt eredményeit 11 nemzetközi dolgozatban közölte, amelyek közül 7 első és 3 utolsó szerzős munka. Az eredmények közül egyik sem kiemelten magas impaktú folyóiratban ( $IF > 8$ ) került közlésre.

A dolgozat nyelvezete kiváló, kevés, hibát, elütést tartalmaz, azonban néhány helyen előfordul magyartalan szó, amelynek van használatos magyar megfelelője: pld: depozitum, interakciós, totál, expresszió, chaperon, knock-out, stb.

Bár a magyar nyelvben most honosodnak meg azok a szakszavak, amelyek csak néhány évtizede jelentek meg a nemzetközi irodalomban is, fontosnak tartom ezek korai egységesítését, ahol lehet a magyar szakszó használatát. Ezért jegyzem meg az általam furcsának vélt "transzkriptum" vagy több helyen hosszú ó-val „proteóm” kifejezést korrigálni. Ez a már elterjedt genom szakszóval egyenrangúan proteomként használatosak a rendszerbiológiában.

Az ábrák, táblázatok jó minőségűek, az ábrafeliratok jól olvashatóak.

Az Irodalmi bevezetés alaposan sorolja fel az egyes proteomikai módszereket, a tömegspektrométer felépítését és működését, biomarkerek azonosítását és fontosságát. A dolgozat terjedelme megengedte volna, hogy ezt a fejezetet színesebbé, jobban élvezhetővé tegye több ábra beépítésével.

Ezek az észrevételek és kritikai megjegyzések természetesen nem érintik a dolgozat és a pályázó tudományos kvalitásait.

Kérdéseim elsősorban a jelölt eredményeinek diagnosztikai alkalmazhatóságával kapcsolatosak.

- Nem derült ki a bíráló számára, hogy az Alzheimer-kór diagnosztikájára tervezett könny fehérje tartalmának vizsgálata pontosan mire irányult. Bár a Célkitűzés fejezetben diagnosztikus és prognosztikus biomarkerek azonosítása volt megjelölve, ez az Eredmények részben nem lett kifejtve, a kis mintaszámból valószínűsíthető, hogy már diagnosztizált betegek elemzése zajlott egy időben.

Ellentmondások a könnymintákkal végzett előkísérleti és a további gélelektroforézis során kapott fehérje koncentrációra kapott eredmények. Amíg a termelődött könny koncentrációja szignifikánsan magasabb volt a betegek esetében, addig az SDS-PAGE kísérletben pontosan az ellenkezője látszik, és pontosan az ellenkezőjét is interpretálják: „két sáv kivételével a betegektől származó mintákban a fehérje sávok statisztikailag

szignifikáns módon csökken ...” - 21. ábra. Mindezekből az a gyanú támad, hogy valamilyen technikai hibáról van szó (ránézésre minden fehérjéből arányosan kevesebb látszik, és ahogyan várható egy eltérő mintafelvitelnél a nagyobb koncentrációban jelenlévő fehérjéknél kisebb a különbség a telítődés számítása miatt), és nem valós különbségeket detektáltak. Ezek egyike sem specifikus változás.

Mivel az Alzheimer-kór komplex betegség, több alcsoportra is osztható, valamint a kórlefolyás nagy nemi és korbeli különbségeket mutat, ezért az alkalmazott beteg és kontrollszám nagyon alacsony, statisztikai elemzésre nem alkalmas. Egy, a későbbiekben is használható potenciális biomarker azonosításkor rendkívül fontos az eredmények validálása (lehetőleg kettős-vak kísérleti tervezéssel) nagyobb számú betegek/kontrollokon, más centrumokból származó mintákon, más embercsoportokon. Mindaddig félrevezető és véleményem szerint nincs értelme ROC analízist és biomarker kombinációk eredményeit kalkulálni. A kezdeti kérdéses eredmények ellenére a problémafelvetés és a könnyű, mint potenciális biomarker forrás a központi idegrendszeri megbetegedésekben izgalmas kutatási irány.

- A normál verejtek tömegspektrometriás elemzésekor összekeverték az egyes emberek mintáit, hogy megfelelő mennyiséget kapjanak. Diagnosztikai célú alkalmazáskor természetesen egyedi mintákat fognak használni. Sikerült-e a módszert olyan érzékennyé tenni, hogy az egyedi emberek mintáit is lehessen használni? Tervezik-e ezt a Debreceni Egyetemen adaptálni ezt a módszert? Lehet-e tudni, hogy milyen egyedi szórások vannak és hogy a kor és a nem hogyan befolyásolja az egyes fehérjék szintjét?

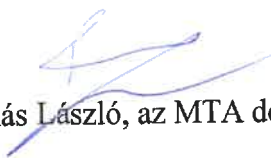
A jelölt munkájából kiemelendő, hogy nem csupán már jól bejáratott módszereket adaptált, hanem a kvantitatív proteomikai módszerekhez jelentősen hozzájárult mind technológiai, mind adatfeldolgozás tekintetében. Ezek közül jelentősek a trabekulektómia utáni sebgyógyulás során bekövetkező fehérje profil változásainak hálózati elemzése, mennyiségek hő térkép ábrázolása és fehérje-fehérje kölcsönhatás vizsgálata, a szájüregi laphámrák kísérletekben kapott fehérje mennyiségek alapján elkészített hierarchikus klaszter analízis, hálózati, GO funkciók alapján történő bioinformatikai elemzések.

Kiemelendő a jelölt komplex, rendszerszintű hálózatelemzési módszerek kidolgozása és alkalmazása HIV-1 hatására a gazdasajtban létrejövő proteomikai változások tanulmányozására.

A technikai fejlesztések, a sikeres alkalmazások, és az új tudományos problémák felvetése alapján elmondhatjuk, hogy a dolgozat magas tudományos értéket képvisel, és tartalmi szempontból is megfelel a doktori követelményeknek. Természetesen a dolgozat célja a különböző kvantitatív proteomikai módszerek pozitív oldalainak és eredményeinek bemutatása. A bíráló viszont kíváncsi lenne a technológia alkalmazásainak korlátaira és esetleges bizonytalanságaira is. Ezért kérdezném meg, hogy a jelölt hogyan értékeli az irodalomban megtalálható számos biomarker adat megbízhatóságát (reprodukálhatóság és érzékenység szempontjából) és összehasonlíthatóságát. Milyen stratégiákat, módszereket, kísérleti tervezést tart előnyösnek a hibák minimalizálására és a megbízhatóság növelésére. Az utóbbi kérdések nem érinti a dolgozat tudományos értékét, de a bíráló ezt különösen fontosnak tartja az új biomarkerek diagnosztikai alkalmazására irányuló kutatásokban, validálásokban és végül azok klinikai használhatóságában.

Bírálatomat összefoglalva megállapítom, hogy Dr. Csósz Éva doktori disszertációja mind formai, mind tartalmi szempontból teljes mértékben kielégíti, az MTA doktori cím megítéléséhez szükséges kritériumokat. Értekezésében bemutatott munka számos izgalmas és fontos technológiai újítást tartalmaz, és egy olyan kutatási sorozatot ír le, amelynek szerteágazóan eredményes szeletei kiválóan bizonyítják a jelölt munkásságának széleskörű alkalmazhatóságát, és számos eredeti és tudományos eredményhez vezető eredményességét. Ezek alapján javaslom a nyilvános vita kitűzését, és a sikeres védést követően az MTA doktori cím megadását.

Szeged, 2021. február 22.

  
Dr. Puskás László, az MTA doktora