



Vélemény Dr. Mészáros Tamás „Diagnosztikai felhasználásra alkalmas aptamerek fejlesztése és vizsgálata” című MTA doktor értekezéséről

Dr. Mészáros Tamás doktori műve olyan oligonukleotid szerkezetek előállításáról és vizsgálatáról szól, amelyek kisméretű és fehérjeméretű molekulák felismerésére alkalmasak akár bonyolult mátrixok esetében is.

A disszertáció 16, peer review-n átesett közleményre épül, amelyek közül 11 esetben a Jelölt az utolsó szerző, illetve a Jelölt 10 kapcsolódó cikket közöl a függelékben. A közlemények hazai laboratóriumokban készültek széles nemzetközi együttműködés keretében. Szeretném kiemelni, mint a dolgozat legfontosabb értékét, hogy az eredmények szinte kivétel nélkül gyakorlati alkalmazásra felhasználhatóak.

A Bevezetés fejezet részletesen tárgyalja az *in vitro* fehérje expressziós rendszerek előnyeit és hátrányait. Majd az aptamerek típusait, a szűrési eljárásokat, illetve az alkalmazásokat ismerteti. Számomra hosszadalmas a diagnosztikai példák részletes bemutatása és nem is ad hozzá a dolgozat üzenetéhez és tartalmi részéhez. Ezeket talán a diszkusszióba lett volna érdemes elhelyezni rövidítetten, ami a fájóan rövid diszkussziót megnyújthatta volna.

Az Anyagok és módszerek fejezet elegánsan rövid és a lényeges, kevésbé közismert technikákat írja le.

Az Eredmények és értékelésük fejezet tartalmát tekintve informatív, azonban hasonlóan a bevezetéshez több információt tartalmaz, mint ami a megértéshez szükséges. Az egyes alfejezetek bevezetése nem feltétlenül szükséges a megértéshez.

Néhány nyelvhasználati problémára szeretnék kitérni az alábbiakban.

1. A dolgozatban szerepel a „plazmai koncentráció” szóösszetétel. Helyesebb plazmakoncentrációról beszélni.
2. A 32. oldalon szerepel az „átfordulási idő” fogalom. Ha jól gondolom a Jelölt a TAT időre gondolt ebben az esetben, arra az időre, ami alatt a feladott vizsgálatból a megrendelő felé közölt eredmény születik. Ez a turnaround time, amit inkább átfutási



időnek lehetne fordítani. A magyar irodalomban gyakran nem fordítják le a fogalmat, TAT időként használják.

3. A dolgozatban sokszor szerepel az úm. rövidítés, ami, ha jól gondolom az „úgymint” rövidítése. Szerintem nem volt szükséges a rövidítés használata és talán nem is szükséges, egy egyszerű felsorolással helyettesíthető lett volna.
4. A 88. oldalon szerepel a „szefaróz” szó. Legjobb tudomásom szerint ez egy márkanév (Sepharose), amit nem szükséges magyarosítani.
5. A Jelölt az *in vitro* kölcsönhatási assay-k *in vivo* megerősítését javasolja (61. oldal). Mit jelent ebben az esetben az *in vivo*? Számomra az *in vivo* (élőben) élő állatot jelent, a tenyésztett sejteket nem javasolt így hívni, inkább sejtekben végzett kísérletekre érdemes utalni, latinosan *in cellulo*.

Hiányoltam, hogy a Jelölt nem listázta a tudományos eredményeit, ezeket megpróbáltam összegyűjteni alább.

1. Kifejlesztettek olyan plazmid rendszereket, amelyek *in vitro* transzlációs rendszerekben különböző affinitáscimkével ellátott fehérjék kifejezésére. Ezen rendszerekben kifejezett fehérjék megfelelő biológiai aktivitással rendelkeznek.
2. Az ssDNS előállításához kifejlesztettek egy asszimmetrikus PCR eljárást.
3. Olyan módosított nukleotidokat azonosítottak, amelyek javítják az aptamer könyvtárak szűrésekor az amplifikáció során a könyvtárak szekvenciahűségét.
4. Több diagnosztikai potenciállal rendelkező aptamert és spiegelmert fejlesztettek ki és ezekből multiplex diagnosztikai assay-t fejlesztettek ki.

A disszertációval kapcsolatban az alábbi kérdésekre szeretném, ha a Jelölt reflektálna.

1. Kérem a Jelöltet, hogy szedje össze és listázza a legfontosabb eredményeit.



2. A 13. oldalon a zárványtestből történő fehérjetisztításról ír a Jelölt. Ellentmondást érzek a fejezetben. Egyrészt leírja, hogy rekombináns fehérjetermelés esetében a szolubilis frakcióban való dúsulás a szerencsésebb, a zárványtestekben történő dúsulással szemben. Majd ennek az ellenkezőjét is leírja. A legjobb tudásom (és tapasztalatom) szerint tisztítási szempontból a zárványtestek előnyösebbek, mert könnyen tiszta formában nyerhető ki a célfehérje. Tulajdonképpen a renaturálást inkább járulékos rosszként fogadjuk el.
3. 23. oldal „A WHO által javasolt enzimek döntő része napjainkra teljes mértékben kiszorult az AMI diagnosztikából”. Ez így biztosan nem igaz, ma is végeznek kémiai vizsgálatokat, ahogy a Jelölt lejjebb részletezi is. Valószínűleg az eredetileg javasoltakra céloz a Jelölt.
4. A sikeres aptamer szelekcióhoz az oligonukleotid több nagyságrendnyi feleslege szükséges (42. oldal). Miért? Számomra egy egyensúlyban gondolkozva ez gyenge kötődést sugall.
5. A búzacsíra *in vitro* expressziós rendszer a Jelölt saját fejlesztése? Amennyiben igen, kérem, ismertesse a rendszert. Amennyiben nem, akkor kérem, tisztázza a rendszer származását.
6. Szintén a búzacsíra kivonat transzlációs rendszerrel kapcsolatban szeretném megkérdezni, hogy miért jobb ez a rendszer az ismert pl. retikulocita alapú rendszereknél? Nem lehetnek gondok a poszttranszlációs módosítások esetében növény vs. emlős rendszerek különbségei miatt? Később a poszttranszlációs módosítások jelentőségéről hosszabban ír a Jelölt.
7. A 78. oldal alján az aptamer könyvtárak és az amplifikáló PCR reakciók torzulásáról ír a Jelölt. Arra kérem, hogy magyarázza meg részletesebben, hogyan jutott arra, hogy a szekvenálási adatok alapján a PBA-PCR nincs hatással a könyvtár komplexitására. A jelenlegi leírás alapján egy önmagával magyarázott vagy hiányos magyarázatú a következtetés.
8. A 4.45 ábrán az (a) és a (b) oszlopok mit jelentenek?



**DEBRECENI
EGYETEM**

ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
ORVOSI VEGYTANI INTÉZET
H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1.
Tel: 52/412-345, email: medchem@med.unideb.hu

Összegezve, Dr. Mészáros Tamás jelentős tudományos eredményekkel járult a terület tudásanyagának bővítéséhez. MTA doktori értekezése mind tartalmi, mind formai szempontból megfelel az elvárásoknak, ezért javaslom értekezésének nyilvános vitára bocsátását, és sikeres védés esetén számára az MTA Doktora cím megadását.

Debrecen, 2022. 03. 30.

Dr. Bay Péter
egyetemi tanár