

Dr. Székvölgyi Lóránt „Új dimenziók a genomszerkezet kutatásban”  
című akadémiai doktori értekezésének bírálata

**A téma jelentősége:**

Székvölgyi Lóránt kutatásaiban a kromatin változásait és ezek sejtfunkcióra gyakorolt hatásait vizsgálja. Ismert, hogy a genomszerkezet dinamikusan változik, pl. a szöveti differenciáció, az öregedés és számos patológiás folyamat során is, azonban a kromatin 3D szerkezetének mélyebb megismerésére – elsősorban a vizsgálati módszerek kiforratlansága miatt – a közelmúltig nem volt lehetőség. A kromatinszerkezet témakörén belül Székvölgyi Lóránt doktori értekezésében két különösen izgalmas területre koncentrált. Az egyik az ivarsejtek képződéséhez vezető meiotikus rekombináció epigenetikai szabályozása, a másik az R-hurkok, azaz az RNS-DNS hibridekből álló háromszálú nukleinsavstruktúrák szerepe.

A jelölt kutatásai kezdetén még megoldatlan kulcskérdés volt, hogy a rekombinációs forrópontok, melyek legtöbbször a kromatinhurkokon helyezkednek el, hogyan kerülnek fizikai közelségbe a folyamatot iniciáló kettős szálú DNS-töréseket generáló enzimekkel, melyek viszont a kromatin tengelyéhez lokalizáltak. Az R-hurkok funkcionális jelentőségét is bizonytalanság övezte; ezekre sokáig mint transzkripció melléktermékekre tekintettek, és csak az utóbbi időkben kezdtek gyűlni a bizonyítékok számos olyan, szabályozási folyamatokban betöltött szerepükre, mint pl. a transzkripció regulációja vagy az immunoglobulinok érése. Székvölgyi Lóránt kutatásai kezdetén nemcsak az R-hurkok kromoszómális térképezésének megbízható vizsgálati módszerei nem álltak rendelkezésre, de az R-hurok regulátor fehérjékről is csak kezdeti ismeretekkel rendelkezünk. A jelöltnek módszertani fejlesztéseivel és vizsgálati megközelítéseivel sikerült új utakat nyitni az R-hurkok és az R-hurok specifikus fehérjék vizsgálatához és klinikai kiaknázásuk irányába is.

A fentiek alapján vitathatatlan az értekezésben tárgyalt téma jelentősége és időszerűsége, melyhez Székvölgyi Lórántnak sikerült mind a genomszerkezet és homológ rekombináció reláció kérdéskör, mind az R-hurkok kromoszómális térképezése és az R-hurok regulátorok szerepének feltárása terén jelentős kutatási eredményekkel hozzájárulni.



### **A kísérleti megközelítések időszerűsége:**

Székvölgyi Lóránt kutatásainak egyik nagy erénye, hogy kérdésfeltevésai és az alkalmazott vizsgálati módszertana folyamatosan lépést tudott tartani az időközben jelentős fejlődést mutató kísérleti technikákkal; különösen az újgenerációs szekvenálásra épülő módszerek, mint pl. a ChIP-seq, a DRIP-seq és az *in situ* Hi-C módszerek magasfokú alkalmazását emelném ki. További pozitívum, hogy a jelölt kutatásai során mindig kereste azt a kísérleti rendszert, amely a feltett tudományos kérdés megválaszolásához leginkább alkalmas lehet, így nem riadt vissza, ha modellélőlény-váltásra volt szükség. A kezdeti élesztő modellről, mely különösen alkalmasnak bizonyult a meiotikus rekombináció tanulmányozására, a további genomszerkezeti kutatásaihoz látszólag könnyedén ugrott az *Arabidopsis* modellre, illetve az R-hurok regulátorok klinikai jelentőségének kiaknázásához elengedhetetlen humán sejt kultúrákra. Impresszív a jelölt kutatásaihoz használt, a dolgozatban igen pontosan dokumentált módszertani arzenál is, kezdve az élesztő és *Arabidopsis* genetikai és molekuláris technikáktól, a rekombináns fehérjeexpressziókon, a humán sejt kultúrák és különböző mikroszkópos módszereken át a modern c-ChIP, DRIP, Hi-C NGS- és QPCR-alapú genomszerkezettérképezési technikákig.

A jelölt specifikus vizsgálati módszereket is fejlesztett, melyek közül kiemelendő, hogy már a CRISPR-korszak előtt is sikerült élesztőkromoszómák előre meghatározott pontjain, célzottan elhelyeznie hisztonmódosításokat, majd ugyanitt DNS-töréseket detektálni. Továbbá, módszertani fejlesztéseivel sikerült az időközben bevezetett DRIP-módszer inkonzisztenciáit és torzításait nagymértékben kiküszöbölnie, és segítségével egy univerzálisabb R-hurok genomikai térképezési módszert bevezetni.

A fentiek alapján kijelenthető, hogy Székvölgyi Lóránt a kérdésfeltevések, a különböző modellélőlények alkalmazása és a legújabb kísérletes technikák bevonása tekintetében sem félt a kockázatvállalástól, és jelen értekezése az egyik ékes bizonyítéka annak, hogy erőfeszítéseit siker koronázta.

### **A dolgozat formai értékelése:**

Az értekezés 112 oldal, ebből a szakmai érdemi rész 89 oldal. A disszertáció hagyományos felépítésű, 27 oldal bevezetés, két oldal célkitűzések, 15 oldal módszerek, 40 oldal eredmények és megvitatásuk,

összesen 3 oldal az új megállapítások és kitekintés fejezetek. A dolgozat 53 ábrát mutat be, melyek nemcsak az eredményeket dokumentálják, hanem a témában valamennyire jártas olvasó számára szemléletesek, és a szöveg elolvasása nélkül is értelmezhetőek. A kutatómunka részletesebb megértését megkönnyítik a jelölt dolgozat végére csatolt releváns publikációi. A disszertáció jó logikával íródott igényes munka, és pontatlanságokban sem igen akad meg az olvasó szeme.

### Új tudományos eredmények:

Az értekezésben részletezett kutatások új, fő tudományos eredményeinek a következőket tartom:

1. A meiotikus homológ rekombinációval kapcsolatban megmutatta, hogy a Set1C hiszton metiláz komplex által katalizált H3K4me3 okozati szerepet játszik a DNS-duplaszál-törések kialakulásában. Az Spp1-Mer2-Spo11 kölcsönhatások alapján világította meg a meiotikus DNS-törések kapcsolatát a H3K4me3 módosítással, mellyel egy új modellt vezetett be, kiterjesztve és immár molekulárisan is támogatva a régebbi, ún. hurok-tengely modellt.
2. Bizonyította, hogy a H3 lizin 56 acetiláció (H3K56ac) fiziológiás szintre állítja be a meiotikus törések mennyiségét, és ezzel finomhangolja a rekombinációs forrópontok működését. Ezzel bemutatta a Set1C mellett egyéb epigenetikai modifikációk szerepét is a meiotikus rekombináció során.
3. Kidolgozott egy nagy pontosságú analitikai eljárást, amely az R-hurok azonosítására és genomi térképezésére alkalmas bármely modellorganizmusban. Ennek segítségével R-hurok-térképezést végzett többek között *Arabidopsis thaliana*-ban, mely hozzájárult a Nodulin homeobox működésének molekuláris szintű feltáráshoz.
4. Humánspecifikus R-hurok regulátor fehérjéssel végzett farmakogenomikai vizsgálatokat kezdett, melyekkel rámutatott, hogy az R-hurok regulátorok expressziós szintje kapcsolatba hozható a betegek túlélési esélyével és a rákos sejtek kemoterápiás kezelésekkal szembeni érzékenységével és jelezte ezek potenciális diagnosztikai és kemoterápiás kiaknázhatóságát is.

### **Kérdéseim:**

1, A rekombinációs projekt kapcsán van-e arra bizonyíték, hogy a Mer2 az egyetlen kapcsolódási pont a hiszton metilációt közvetítő Spp1 és a kettős szálú törést katalizáló Spo1 között? Létezhetnek-e más kapcsoló mechanizmusok is a hurok forrópontok és a kromatintengely között? Ennek kapcsán meglepő, hogy az Spp1 fizikai interakciós partnereinek az azonosítására kivitelezett élesztő kettős hibrid szűrés csak két szignifikáns találatot adott, a Set1-et (amely nem volt váratlan, hiszen az Spp1 a Set1-komplex része) és a Mer2 DSB fehérjét. Egyrészt váratlan, hogy a Set1 komplex többi tagja nem került azonosításra, másrészt ez felveti annak a lehetőségét, hogy a Mer2-n kívül esetleg más, kettős hibrid megközelítéssel nem azonosítható tengelyfehérje is szerepet játszhat.

2, Az Spp1 kromatinkötődési dinamikájának vizsgálata azt mutatta, hogy az Spp1 nem minden esetben a Set1C hiszton metiláz komplex részeként fejt ki hatását, hanem – különösen a rekombináció során – a Set1C-ről leválva, attól függetlenül működik. Kérdésként merül fel, hogy az Spp1 Set1C-függő (általános) biológiai funkciója mennyiben különbözik a rekombinációban betöltött szerepétől –, esetleg az általános funkciója során is szereppel bír a különböző DNS-hurkok dinamikájának változtatásában, és ha igen, akkor milyen mechanizmust tart a jelölt elképzelhetőnek erre vonatkozólag?

3, Technikai kérdés, hogy az R-hurkok azonosítása során lehet-e különbséget tenni a regulációs funkcióval bíró R-hurkok és az éppen transzkriptálódó DNS-en jelen lévő háromszálú RNS-DNS-struktúrák között. Esetleg az R-hurok genomi régiók mennyiségi összehasonlító elemzésével lehet-e korrelációt találni egyes régiók, gének transzkripciós aktivitására?

4, Az R-hurok regulátor fehérjék farmakogenomikai vizsgálataihoz olyan regulátor gének kerültek kiválasztásra, amelyek a szakirodalom szerint valamilyen R-hurok asszociációval rendelkeztek. A kiválasztott fehérjék a potenciális R-hurok regulátor funkciójuk mellett bizonyítottan szerepet játszanak a rák más aspektusában is, mint pl. a DNS-hibajavítás, a splicing vagy a hisztonmodifikáció. Hogyan lehetne azt bizonyítani, hogy ezen gének génexpressziós értékei és a ráktúlélési adatok között talált korrelációk valóban az R-hurok regulátor funkcióknak tulajdoníthatók? Hasonló kérdés merül fel az R-hurok regulátorok gyógyszerkölsönhatás-vizsgálatai során is – mennyire lehetnek R-hurok-specifikus hatásúak ezek az inhibitorok?



**Összegzés:**

Székvölgyi Lóránt egy jelentős, eredeti megközelítéseken alapuló és rangos nemzetközi folyóiratokban közölt, hiteles eredményeken nyugvó, nagy műgonddal elkészített akadémiai doktori értekezést nyújtott be. Különösen jelentősnek gondolom, hogy kutatómunkája rávilágít a genomszerkezet számos sejtfunkció regulációjában betöltött szerepére. Külön kiemelendő, hogy eredményei új molekuláris magyarázattal szolgálnak a meiotikus rekombináció ún. hurok-tengely modelljére. A jelölt ezenfelül az R-hurkok tanulmányozásának módszertani fejlesztésével és potenciális diagnosztikai markerként, illetve terápiás célpontként történő felhasználásukra irányuló eredményeivel további jövőbemutató kutatási irányokat is megalapozott. A doktori művel kapcsolatban nyilatkozom, hogy hiteles kutatási eredményeken és adatokon alapul, melyek alapján javaslom a nyilvános vita kitűzését és Székvölgyi Lóránt MTA doktori értekezésének elfogadását.

Szeged, 2023. augusztus 21.

A handwritten signature in blue ink, which appears to read 'Haracska Lajos'.

Dr. Haracska Lajos  
az MTA doktora