



PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
Általános Orvostudományi Kar
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet
H-7624 Pécs, Szigeti út 12.
Tel.: 72 / 536 – 279; Fax: 72 / 536 – 277
E-mail: ferenc.gallyas@aok.pte.hu

Bírálat

Dr. Orbán Tamás István

**„Nem-kódoló” és invazív elemek az eukarióta genomokban:
szerepük és orvosbiológiai hasznosításuk
című doktori disszertációjára.**

Dr Orbán Tamás István MTA doktori értekezése esetében nem kérdés, hogy az elvárás, miszerint a doktori értekezésnek a jelölt tudományos teljesítményének megítélésére alkalmas önálló tudományos műnek kell lennie, maradéktalanul teljesült. A jelölt által művelt témák a molekuláris biológia egy dinamikusan fejlődő, és jelenleg kevésbé felderített területéhez tartoznak, így feltétlenül indokolt a doktori értekezésekben szokatlan narratív stílus, illetve az egyéni szerkesztési mód.

Dr Orbán Tamás István értekezése 15 zsűrizett közleményen alapul, amelyek mindegyike eredeti kutatás egy kivétellel, amely összefoglaló jellegű. Nem lehet kérdéses, hogy a közölt eredmények mennyiben tekinthetők a jelölt sajátjaként, hiszen az összefoglaló közlemény monográfia, míg a kísérletes cikkek közül kettőben a jelölt első, a többiben pedig utolsó szerző. További 13 zsűrizett közlemény, amelyekből ötben a jelölt első/utolsó szerző és 3 szabadalmi beadvány kapcsolódik az értekezéshez. A közlemények átlag impakt faktora ugyan nem magas, de az eredmények tudományos fontosságának megítéléséhez figyelembe kell venni, hogy a terület kifejezetten úttörő, és teljes mértékben alapkutatás jellegű, valamint, azt, hogy az értekezés alapjául szolgáló közlemények több mint a fele metodikai cikk.

Az értekezés teljes mértékben eltér a tudományos cikkek hagyományos szerkezeti felépítésétől. Ugyancsak megpróbál szakítani azok meglehetősen száraz nyelvezetével és egyfajta könnyedebb, olvasmányosabb stílusban íródott. Ez kifejezetten szerencsés volt abból a szempontból, hogy a területen járatlan olvasó számára is követhetőbbé

vált az értekezés. Szigorúan vett terjedelme, a rövidítések jegyzékével 100 oldal, amelyet 35 ábra és 1 táblázat tesz szemléletessé. Az irodalmi hivatkozások száma igen nagy, mintegy 27 oldalnyi terjedelmet képvisel, és azok adekvát volta a szerző kiterjedt irodalmi jártasságát igazolja. Az értekezés részét képezi az alapjául szolgáló közlemények másolata is. Témáját tekintve, a disszertáció a génexpresszió RNS alapú szabályozási mechanizmusainak feltárásával és egyes mobilis genetikai elemek viselkedésével, azok genetikai módosításra történő felhasználási lehetőségeivel foglalkozik.

Tekintve az egyedi szerkesztési megoldást, nem szerencsés a szokásos módon, célszerű sokkal inkább egy irodalmi mű mintájára értékelni az értekezést. A mű két, a már említett RNS alapú szabályozási mechanizmusokat, illetve a mobilis genetikai elemek viselkedését tárgyaló fejezetre oszlik. Természetesen a megértéshez szükséges minden információ, nevezetesen az adott téma és előzményeinek ismertetése, elhelyezése a tágabb tudományos környezetben, az adott kísérlet indokának, metodikai kivitelezésének, eredményeinek és azok jelentőségének bemutatása minden esetben megtörténik, csak nem a szokásos, bevezetés, célkitűzések, anyagok és módszerek, eredmények, azok megbeszélése, és konklúzió séma szerint szigorúan elkülönítve, hanem folyamatában kerül bemutatásra. Számomra kifejezetten szimpatikus, hogy evolúciós kitekintéseket és személyes benyomásokat is megenged magának a szerző, amelyek egy tudományos közleményben biztosan nem maradhattak volna benne a publikált verzióban. Véleményem szerint, mindezek a szokatlan megoldások segítenek a területet csak felszínesen ismerő olvasó számára az értekezésben szereplő, kifejezetten nehezen követhető témák megértésében.

Az értekezés végén ugyan vázlatosan ismertetésre került néhány kulcs fontosságú metodika, de a szövegben, az eredmények bemutatásakor az alkalmazott módszerek a megértést biztosító részletességgel kerültek leírásra. Ennek megfelelően látszik, hogy a használt technikák többnyire a tudományterület csúcstechnológiáját képviselik. Számos esetben a szerző és csoportja fejlesztett ki új technikákat egy probléma megoldására, vagy a korábbi módszer hibáinak kiküszöbölésére. Mindezek alapján kijelenthető, hogy metodikai szempontból Dr Orbán Tamás István a terület élvonalába tartozik.

Az eredmények jól illusztráltak, az ábraalírások elég informatívak, azok alapján a kísérletet rekonstruálhatóak. A hivatkozások, amint azt korábban is említettem,

megfelelőek, viszont a terület úttörő jellegéből adódóan, sokszor az eredmények nem feltétlenül szükségszerűen, inkább analógiák és az irodalmi beágyazottság függvényében vezetnek a következtetésekhez. Továbbá az ismertett tudományos problémák lezárására sem került még sor, sokkal inkább azok kibontakozásának, folyamatának lehetünk tanúi.

Ettől függetlenül Dr Orbán Tamás István számos, a nevéhez köthető értékes, új tudományos felfedezést tett, amelyeket az alábbiak szerint foglaltam össze:

1/ Az siRNS útvonal által kijelölt mRNS molekulák degradációs folyamatában igazolták, hogy a RISC által kiváltott endonukleolitikus hasítást követően a keletkező termékek a sejt endogén lebontó hálózatán keresztül eliminálódnak. Azonosították, hogy az 5' intermediert a Ski-komplex segítségével az exoszóma-komplex, míg a 3' intermediert az Xrn1 fehérje bontja.

2/ Igazolták, hogy a mirtronok érésének kezdeti lépéseit nem a Mikroprocesszor-komplex, hanem a splicing apparátus végzi, és ezek a folyamatok végbemennek emlős rendszerekben is.

3/ Kimutatták, hogy a korábbi elképzelésekkel ellentétben a miRNS gének nem egy diszkrét RNS molekula, hanem egy komplex kisRNS populáció. Azonosították az érési folyamatokban fontos tényezőket.

4/ Részletesen vizsgálták a DNS transzpozonok működését és evolúcióját. Ennek során bebizonyították, hogy a humán genomban található *piggyBac*-eredetű fehérjék (PGBD1-5) endogén funkciókra domesztikálódtak és nem képesek transzpozícióra.

5/ A rovar *piggyBac* és a feltámasztott *Sleeping Beauty* transzpozonokra kidolgoztak real-time PCR alapú módszereket, amelyekkel a beépült transzpozonok kópiaszáma, illetve a transzpozíció excíziós lépésének hatékonysága nagyon pontosan kvantitálható.

6/ Az általuk optimalizált *Sleeping Beauty* transzpozonos rendszerrel sokféle sejt- és állatmodellt hoztak létre, amelyek közül kiemelkedik a GCaMP2 kalcium szenzorfehérjét kifejező transzgenikus patkányvonal, amely kifejezetten alkalmas szívizom-, illetve vesesejtek élettani és farmakológiai vizsgálatára.

7/ Azonosítottak egy kettős tulajdonságú CAG promóter variánst, amely konstitutív promóterként a génbevitel indikátoraként használható. Ugyanakkor, szívizomsejtek más sejtektől való elkülönítésére is alkalmas.

Az értekezéssel kapcsolatos észrevételeim, illetve kérdéseim:

1/ Az alkalmazott sejtvonalak mind humán eredetűek. Nem lett volna értelme egy egersejtvonal használatának is, tekintve, hogy az egerben a kódoló gének száma jelentősen nagyobb, mint az emberben.

2/ Továbbra is a sejtvonalaknál maradva, a HEK-293 embrionális eredetű normál, míg a másik kettő felnőtt nőkből származó rákos eredetű sejt. Az ennyire eltérő tulajdonságú sejtekkel végzett vizsgálatok alapján mennyire tűnt univerzálisnak az siRNS útvonal által kijelölt mRNS molekulák degradációs mechanizmusa?

3/ Mandel és Kazazian, 2008 hivatkozás alapján az emberi genomban található nagyjából 2000 db piggyBac-eredetű szekvencia található, amelyekről Önök bebizonyították, hogy domesztikálódtak és transzponálásra nem képesek. Ugyanakkor a génterápia szempontjából ezek a szekvenciák kockázatot jelentenek. Lehetséges olyan kísérleti rendszert összeállítani, amelyben ki lehetne váltani a transzpozon aktivitás felébredését? Elegendő bizonyítékot jelent, ha a kifejlesztett konstrukciókkal (*piggyBac* és feltámasztott *Sleeping Beauty*) végrehajtott transzfekció során nem ébrednek fel a domesztikálódott transzpozonok? Meddig kell elmenni a biztonsági vizsgálatokkal?

4/ A korábban használt adeno-asszociált vírus konstrukciókkal szemben miben látja a transzpozon alapú konstrukciók előnyeit génterápiás alkalmazás szempontjából?

Összegezve, Dr Orbán Tamás István jelentős tudományos eredményekkel járult egy egyenlőre kevésbé felderített terület tudásanyagának bővítéséhez. MTA doktori értekezése tartalmi és terjedelmi szempontból megfelel az elvárásoknak, ezért javaslom értekezésének nyilvános vitára bocsátását, és sikeres védelem esetén számára az MTA Doktora cím megadását.

Pécs, 2025. 02. 07.



ifj. Dr. Gallyas Ferenc