

MTA doktori értekezés bírálata

„Nem-kódozó” és invazív elemek az eukarióta genomokban: szerepük és orvosi biológiai hasznosításuk

Az értekezés fókuszában két kiemelt kutatási téma áll: a nem-kódozó RNS-ekkel és az RNS-interferenciával kapcsolatos molekuláris mechanizmusok vizsgálata, valamint a DNS transzpozonok működésének, evolúciójának és orvosi biológiai alkalmazhatóságának feltárása. A kutatások időszerűségét alátámasztja a 2023-as Nobel-díj, amelyet Karikó Katalin és Drew Weissman kapott az mRNS-alapú vakcinák fejlesztéséért, valamint a 2024-es Nobel-díj, amelyet Victor Ambros és Gary Ruvkun kaptak a mikroRNS-ek szabályozó szerepének felfedezéséért.

A transzpozonok vizsgálata ugyancsak alapvető fontosságú, hiszen ezek a mobilis genetikai elemek nemcsak parazitaként viselkednek, hanem számos esetben előnyös, domesztikált funkciókat töltenek be a genomokban. A humán genomban ezek az elemek a genetikai állomány ~45%-át alkotják, és kulcsszerepet játszanak a génevolúciós folyamatokban.

Az értekezés 134 oldal terjedelmű, 35 ábrát tartalmaz, és 15 tudományos közleményre alapul. A közlemények közül háromban a Jelölt első szerző, a többi esetben utolsó szerzőként szerepel, amely vezető szerepét tükrözi. Az értekezés logikusan felépített, olvasmányos, és számos jól szerkesztett ábrával segíti az eredmények bemutatását.

Jelölt legfontosabb kutatási eredményeit a következő pontokban lehet összefoglalni:

1. Leírták az siRNS útvonal által kijelölt mRNS molekulák degradációs mechanizmusát. Ezen belül, igazolták, hogy a RISC által katalizált hasítási termékek a sejt endogén lebontó hálózatán keresztül eliminálódnak: az 5' intermediert a Ski-komplex segítségével az exoszóma-komplex bontja le, míg a 3' intermediert degradációját az Xrn1 fehérje végzi el.
2. Leírták egy speciális útvonalon érő miRNS csoport, a mirtronok képződésének molekuláris részleteit.
3. Igazolták, hogy a miRNS érésben fontos szerepe van az 5' vagy a 3' kar karhasználatnak, illetve a diverzitástovábbi fontos szabályozó eleme az ún. izomiR-ek képződése
4. Bizonyították, hogy a humán genomban található piggyBac-eredetű fehérjék (PGBD1-5) nem képesek a transzpozícióra
5. Új PCR alapú módszereket dolgoztak ki, amelyekkel a beépült transzpozonok kópiaszáma, illetve a transzpozíció excíziós lépésének hatékonysága nagyon pontosan kvantitálható
6. Optimalizálták a Sleeping Beauty transzpozon rendszert, amellyel többféle sejt- és állatmodellt hoztak létre orvosi biológiai kutatási célokra.

A dolgozat olvasása közben az alábbi kérdések fogalmazódtak meg bennem:

Kérdés 1: Az RNSi és a NSD (nonstop mediated decay) RNS lebontási rendszerek kapcsolata rendkívül erős növényekben, amelyet viszont nem tudtak kimutatni *Drosophila*-ban és emlősökben. A Jelölt feltételezi, hogy *C. elegans*-ban esetleg ki lehet mutatni a növényekhez hasonló szoros összefüggést a két útvonal között. Mire alapozza ezt a feltételezést? Esetleg *C. elegans*-ban (illetve más fajokban) létezik a növényekre jellemző két speciális RNS függő RNS polimeráz (Pol IV, Pol V), vagy ezek funkcionális homológja, amely szerepet játszhat a fenti folyamatokban?

Kérdés 2: Jelölt vizsgálta a miRNS rendszer nem-kanonikus ún. mirtron útvonalát, ahol emberi sejtekben igazolták, hogy a pre-miRNS a fehérje kódoló gén intronjába ágyazott mirtronból a DROSHA komplex helyett a mRNS splicing hozza létre a pre-miRNS-t, amely ezután bekapcsolódik a kanonikus útvonalba. Nem minden mirtron processzálódik ezen az alternatív útvonalon. Mi lehet ennek az oka és hogyan lehetne ezt megvizsgálni?

Kérdés 3: Kísérletes eredményeik elsőik között mutatták be a miRNS lókuszt alternatív karhasználatát. Milyen *cis* és *transz* faktorok, esetleg epitranszkriptomikai változások (RNS modifikációk) játszhatnak szerepet az alternatív karhasználatban?

Kérdés 4: A hiperaktív piggyBac transzpozáz (hyPB) variáns 7 aminosavban tér el az alap PB-től. Vajon miért mutat sejt típus függő varianciát a hyPB hiperaktivitása?

Kérdés 5: A PB N-terminális rendezetlen szakasza az adataik alapján a transzpozíció excíziós lépését befolyásolja és nincs lényeges szerepe az integrációs lépésben. Milyen kísérlettel lehetne bizonyítani magát a mechanizmust?

Kérdés 6: Miért előnyös a SB rendszer random integrációs profilja a többi - célzott és nem célzott - génbeviteli rendszerrel szemben? Milyen kvantitatív adatok támasztják alá (saját vagy szakirodalmi), hogy a random integráció esetén kisebb a mutagenitás és a genotoxicitás?

Kérdés 7: Általánosságban, egy transzgén bevitelénél és stabil expressziójánál milyen sejtszintű mechanizmusok okozhatják a transzgén csendesítését? Tud erre vonatkozó konkrét példákat?

Kérdés 8: A transzpozáz túltermeléses gátlás vizsgálata kapcsán miért csak az mPB esetén és kizárólag Hela sejtekben detektálták a jelenséget az excíziós hatékonyság csökkenése kapcsán? Az integráció hatékonyságát mennyire befolyásolja a transzpozáz dózis a különféle transzpozon rendszerekben?

Összegzés és javaslat:

A benyújtott értekezés alapján kijelenthető, a Orbán Tamás kutatási eredményei megalapozottak, tudományos újdonságértékük nemzetközi szinten is kiemelkedő. Jelölt többszörösen teljesíti az MTA doktori cím elnyeréséhez szükséges feltételeket. A fentiek alapján teljes mértékben támogatom a Jelölt MTA doktora címének odaítélését.

Dr. Székvölgyi Lóránt

az MTA doktora