

Opponensi vélemény

Tombácz Dóra

„A virális transzkriptom rejtett komplexitása – Integratív genomikai megközelítések” című,
az MTA Doktora címért benyújtott értekezéséről

Az értekezés nyomtatott változatát nem kaptam meg, ezért az MTA Doktori Tanácsának *Folyamatban lévő eljárások* című honlapján elérhető elektronikus dokumentumot töltöttem le, amelynek olvasását meglehetősen fárasztónak találtam. Az összesen 174 oldalas anyagban a szigorú értelemben vett tudományos értekezés terjedelme 143 oldal, amelyből 24 a **Bevezetés**, majd 27 oldal a **Módszerek**, 61 oldal pedig az **Eredmények** ismertetése. A 460 hivatkozott cikket felsoroló **Irodalomjegyzék** 31 oldalt foglal el. Diszkusszió című fejezet egyáltalán nincs, az újonnan megszerzett tudományos megfigyelések értékelése, összegzése, illetve más kutatók eredményeivel való összehasonlítása az eredmények között olvasható. E fejezetben helyenként, és nem ritkán, anyag és módszer jellegű, kiegészítő magyarázatok is találhatók, amiknek egy része felesleges ismétlés, és inkább nehezíti, mintsem könnyítené az olvasó/ bíráló dolgát.

A mellékletek között a Jelölt felsorolja az értekezés alapjául szolgáló közleményeit. A teljes terjedelműek száma 34. Ezek között az elsőszervező cikkek száma 23 (18 valódi, és 5 csillagozott), 6 pedig utolsó szerzős. A maradék 5 közleményben nincs kiemelt helyen. Megjegyzem, hogy mind a 34 cikkben szerzőtársa Boldogkői Zsolt professzor.

A fenti adatok ismertetésével szerettem volna indokolni azt az általános, első benyomásomat, amit az alapos olvasás egyre inkább megerősített, nevezetesen, hogy a feldolgozott témák megfelelő szelekció utáni szűkítésével logikusabban felépített, jobban áttekinthető disszertáció készülhetett volna. Megértem a Jelölt törekvését, hogy a PhD megszerzése óta végzett kutatásainak minél nagyobb részét igyekezett bemutatni, de ez óhatatlanul a dolgozat minőségének rovására történt. Mivel a kísérleti munka meglehetősen nagy kutatócsoport és számos külső együttműködő segítségével folyt, ahogy azt a folyamatosan többes számban használt igék is jelzik, nyilván további, PhD fokozatért vagy MTA Doktora címért írt értekezések is készültek, illetve fognak készülni. Emiatt is érdemes lett volna a Jelölt munkásságához legszorosabban kapcsolódó, és a következtetések szempontjából a lehető legalaposabban értékelt témákra koncentrálni. Véleményem szerint a túl nagy merítésnek tudható be mind az alábbiakban részletezett, mind számos további, itt említésre nem került, bizonytalan értelmű vagy épp megkérdőjelezhető kijelentés többsége is.

Noha a Jelölt saját bevallása szerint alapvetően virológusnak tartja magát, az értekezés inkább a molekuláris biológia és a genetika rejtelseibe vezet be. Második, illetve harmadik generációs nukleinsav-szekvenálási módszerek segítségével a vírusok szaporodási ciklusa során zajló transzkripciónak olyan rendkívüli komplex természetét sikerült feltárniuk, ami a korábbi genomi analízisek alapján nem volt várható. A virion mérete, az örökítőanyag típusa (DNS vagy RNS), illetve replikációs stratégia szerint legkülönbözőbb vírusok transzkriptomát vizsgálták. A detektált RNS transzkripteknek az adott genomi térképen elfoglalt helyzete mellett pontos méretét és relatív mennyiségét is meg tudták határozni. Számos esetben egyes RNS frakciók termelődésének dinamikáját, kinetikáját is elemezték a vírus fertőzés különböző időpontjaiban. Néhány esetben a vizsgált vírus szaporításához használt, fogékony, oltatlan, kontroll sejteken is végeztek transzkriptomikai elemzést.

Érzésem szerint szerencsésebb lett volna kevesebb vírus, például kizárólag a herpeszvírusok vizsgálatát részletezni, és a más családokba sorolt vírusokkal kapott eredményeiket tömören, csak a megvitatás során ismertetni. Így elkerülhető lett volna a közel tucatnyi víruscsoport, és annál is több vírusszerű bemutatása a Bevezetésben, ami sok szempontból a dolgozat egyik legkevésbé kiegyensúlyozott fejezete. Ismerteti minden vizsgált vírus részletes rendszertani besorolását, ami az utóbbi pár évben történt gyökeres változtatások miatt

meglehetősen bonyolult. Ráadásul kórokozó képességükre, humán vagy állategészségügyi jelentőségükre is túlzott hangsúlyt próbált fektetni, holott az elvégzett kísérletek és azok eredményeinek jobb megértéséhez számottevően nem járul hozzá a rendszertan részleteinek vagy a fertőzés következményeinek alapos ismerete.

Bizarnak találtam például, hogy az alábbi, általános érvényű, bár meglehetősen ügyetlenül fogalmazott mondat, mintegy véletlenszerűen, a vírus felsorolás második felében szereplő Zika vírus kapcsán jelenik meg a 25. oldalon: „A szerkezeti fehérjék felelősek a vírus partikulumok kialakulásáért, míg az NS fehérjék fontos funkciókat töltenek be a genom replikációjában, a poliprotein feldolgozásában és a gazda válaszreakcióban ²²⁹.” Meg kell jegyezni, hogy az ehhez megadott hivatkozás nem tekinthető szerencsés választásnak.

Egy másik, nehezen követhető gondolatot megfogalmazó mondat található a 63. oldalon: „Betekintést nyújtok a különféle vírusok, gazdasejtek expressziójára gyakorolt hatásával kapcsolatos eredményeinkről, valamint az általunk leírt legfontosabb vírusszalád, a replikáció asszociált (ra)RNS-ek típusairól a herpeszvírusok közt, illetve potenciális funkciójukról.”

A doktori mű olvasását lassítja és nehezíti a sok rövidítés is. Gyakran olyan szavak jelennek meg betűszóként, amelyek az egész dolgozatban tíznél kevesebbszer fordulnak elő. Van továbbá pár rövidítés a szövegben, amely a jegyzékből kimaradt, de jelentése kis keresgéléssel kikövetkeztethető. Azonban a legkomolyabb gondot az RNP okozta, ami a jegyzékben egyszerűen RNS polimerázként van megadva, de a szövegben többször is a ribonukleoprotein rövidítéseként szerepel. Az RNS polimerázok szerkezetéről és típusairól viszont egyáltalán nem esik szó.

A Bevezetésben célszerű lett volna rövid történeti áttekintést adni az RNS transzkriptek jelentőségének és szerepének fokozatos felismeréséről az eukarióta sejtek, illetve vírusok transzkripció és replikáció folyamataiban. Jelen formájában a leírás kissé csapongó és töredezett, ismétlésekkel tarkított, így elég nehezen követhető. A gazdag irodalomjegyzékből hiányolom az első megfigyelések említését. Szerintem érdemes lett volna idézni pl. Plachter és mtsai 1988-as dolgozatát (PMID: 2842435), vagy Carninci és mtsai 2005-ben publikált Science cikkét (PMID: 16141072), és esetleg egy frissebb áttekintést (pl. Mattick és mtsai; PMID: 36596869).

A viszonylag kevés helyesírási vagy gépelési hiba csak helyenként akasztja meg az olvasót néhány percre. Kiemelésre méltónak ítélem, hogy a Jelölt általában sikeresen törekedett magyar szakkifejezések használatára a lehetőségek szerint. Viszont a „ripít” szó megjelenése szokatlan, és valójában feleslegesnek is tűnik, mivel az „ismétlődés” viszonylag rövid és pontos alternatíva. Ha már itt tartunk, akkor én inkább a „read” helyett a „ríd” bevezetését fontoltam volna meg. A dolgozatban gyakran szerepel bázispár vagy kbp egyszálú nukleinsavak méretének jelölésekor, de ettől eltekintve a dolgozatban általában szakszerű és szabatos a szóhasználat. Azért előfordul néhány kirívó, mondhatnám hajmeresztő megoldás is, mint például a „vonalkóddal láttuk el” helyett a „barcodeoltuk” a 40. és 47. oldalon. Egy másik, nekem nem túl rokonszenves szó a szerintem nem létező „fragmens”, ami valamivel gyakrabban fordul elő, mint az elfogadható változatok „fragment” vagy „fragmentum”. A 25. oldalon olvasható „zoonózisos betegség” redundáns, elegendő lett volna egyszerűen csak „zoonózist” írni.

Az **Aktuális projektjeink, jövőbeni terveink** című fejezet, bár érdekes, szerintem nem illik egy MTA doktori műbe. Az ebben található „értekezésünk” kitétel pedig szinte meghatározhatóságra utal. Nyilvánvaló, hogy a Jelölt mind tudományos eredmények, mind publikációk tekintetében rendkívül sikeres és termékeny csoport tagja, és az egyes projekteken nagylétszámú kutatócsoport dolgozik. Sőt, kiemelkedő teljesítményük eléréséhez neves külföldi kutatókkal való hosszútávú együttműködéseik is hozzájárulnak. A közösen elért eredményekből azonban a Jelölt saját értekezést írt, és feltehetőleg nem megosztott vagy épp kollektív címet szeretne kapni.

Mint korábban említettem, a téma a virológia és molekuláris genetika határmezsgyéjén mozog, de azért megkíséreltem tömören összefoglalni azokat a megállapításokat, amelyeket a Jelölt által elért, nemzetközileg is jelentős, új, tudományos eredménynek tartok. Ennek alapján, sikeres védés után az MTA Doktora cím véleményem szerint odaítélhető.

- 1- Laboratóriumukban meghonosított olyan, új típusú nukleinsav-szekvenálási technikákat, amelyekkel a hagyományos eljárásokhoz képest sokkal hosszabb, egybefüggő nukleotid-sorrend szakaszok nyerhetők. Ezeket a technikákat először alkalmazta különféle vírusok által termelt RNS molekulák szekvenálására. Az eredmények feldolgozására alkalmas számítógépes program fejlesztésében vett részt.
- 2- Az újonnan bevezetett módszerekkel elsősorban humán vagy állategészségügyi szempontból jelentős herpeszvírus fajokhoz tartozó vírustörzsek RNS transzkriptjeit szekvenálta. Hasonló vizsgálatoknak alávetett további nagy, majd kisebb DNS vírusokat, és több RNS vírust is. Megállapította, hogy a legtöbb vírus replikációja során a transzkripció jelentősen többféle méretű RNS molekulát eredményez, mint amennyinek képződése a vírus genomi adatok elemzése alapján előre jelezhető. Megerősítette azt a korábbi megfigyelést, hogy a prokarióta sejtekben megismert, szigorúan szabályozott génkifejeződési folyamattal szemben az eukarióta sejtekben, az azokat parazitáló vírusokat is beleértve, a transzkripció kevésbé kötött módon zajlik, és számos alternatív promóter (vagy promóterként működő motívum) is szerepelhet a transzkripció iniciálásában. Hasonlóképpen a termináció is többféle motívumtól függhet.
- 3- Megfigyeléseik alapján, miszerint a virális DNS replikáció és transzkripció együttes aktivitása interferenciát generál, hipotézist állítottak fel egy olyan beépített, belső szabályozó rendszer létezésére, amely a két folyamat kölcsönhatásán alapul, és különféle utakon eredményesen oldja fel versengésüket.

Kérdések:

1. Az Aujeszky-betegség vírusának különféle szekvenálási módszerekkel kimutatott, a tudomány számára „új” (változatos messenger, illetve, nem-kódoló RNS) transzkriptjeinek detektálásáról legalább hat cikket publikáltak. Kérdésem, hogy az ezekben a dolgozatokban tárgyalt RNS szettek hogyan változtak. Az eltérő szekvenálási technikák és/vagy számítógép programok alkalmazásával folyamatosan újabb és újabb izoformákat, alternatív molekulákat találtak? Van becslésük az egyes adathalmazok megbízhatóságának, megismételhetőségének mértékére?
2. Van-e konkrét indoka annak, hogy a különféle vírusok transzkripciós kinetikájának vizsgálatokor eltérő mintavételi időpontokat használtak. Egy-egy vírus esetében hány párhuzamos elemzésre volt alkalom, és ezek eredménye között meggyőző egyöntetűséget lehetett-e látni?
3. Az értekezés érdemi részének zárómondatában („*E potenciális kölcsönhatásokra és funkcionális jelentőségükre fókuszáló további vizsgálatok új utat nyithatnak a herpeszvírus-fertőzések kezelésére irányuló innovatív terápiás megközelítések felé.*”) azt írja, hogy a munka folytatásából várható eredmények a vírusfertőzések vagy a betegségek megelőzésében hasznosak lehetnek. Konkrétan milyen típusú védekezési módszereket tud elképzelni?
4. A támogatások között találtam a 2020-ban elnyert, rendkívül izgalmas témájú, MTA Lendület pályázatát. Kérdésem, hogy az abban említett HHV-6-on kívül ismer-e más olyan vírust, amelyet (emberi) elhízással kapcsolatba hoztak.

Az értekezéshez gratulálok, és nyilatkozom, hogy véleményem szerint az abban leírt eredményei megfelelőek és elegendőek az MTA Doktora cím odaítéléséhez. A disszertáció nyilvános vitára bocsátását javaslom.

Budapest, 2025. február 28.

Benkő Mária