



Bírálat

Tombácz Dóra

*“A virális transzkriptom rejtett komplexitása
- Integratív genomikai megközelítések -”*

c. MTA doktori értekezéséről

Végzős gimnazistaként került kezembe 1980-ban Duda Ernő frissen megjelent „Állati Vírusok” című könyve. A könyv legfőbb tanulsága az volt, hogy a vírusok egy kicsit trükkösebb formában, de nagyon jól demonstrálják sejtfolyamatokat. Ennek a gondolatnak a posztgenomikus érában értelmezhető továbbvitele Boldogkői Zsolt tudományos műhelyének és azon belül is Tombácz Dóra munkássága. A tárgyalt dolgozat bebizonyítja, hogy a legújabb genomikai megközelítéseket használva, a vírusok számos új meglepetést tartogatnak, és továbbra is kitűnő modelljei a sejtműködés jobb megértésének.

Tombácz Dóra fiatal kora ellenére is már jelentős eredményeket ért el. Tudományos közleményeinek összesített impakt faktora 324, ebből az első és/vagy utolsó szerzős cikkeké 182. A Hirsch indexe 21. Bár az utolsó szerzős cikkek és a hivatkozások száma viszonylag alacsony, a 39 darab első szerzős cikk kiemelkedő eredménynek számít. Mindezek alapján megállapítható, hogy a jelölt megfelel a Tudományos Osztály által állított követelményeknek. A dolgozat 172 oldal terjedelmű, hagyományos formájú. A 22 oldalas Bevezető nagyon jól összefoglalja a terület jelenlegi állását, két területre, a vizsgált vírusokra és az alkalmazott harmadik generációs szekvenálási módszerek leírására koncentrálva. A 25 oldalas Módszerek fejezet részletesen és reprodukálhatóan bemutatja az alkalmazott módszereket. A 60 oldalas Eredmények fejezet szisztematikusan és érthetően bemutatja az elvégzett munkákat. Az elért eredmények konklúzióit végül a hét oldalas „Legfontosabb eredményein összegzése” fejezetben vonja le. A dolgozat egy könnyedén olvasható (főleg ha ismerjük a rövidítéseket), rendkívül igényesen megírt mű, amit az is bizonyít, hogy 460 hivatkozás szerepel benne. Az írást 60 magyar nyelvű könnyen áttekinthető ábra támogatja. A dolgozatban mindössze öt elgépelést találtam (36. oldal „szevenálási”, és „léterhozása”, 79. oldal „átferdések”, 82. oldal „többed” és 111. oldal „dRNS-Seq-kell”. Nagyon becsülendő, hogy amit lehetett a jelölt magyarosított. Ebben persze nincs tökéletes megoldás, én például a „repeat”-et a fonetikus „ripít”-ként nem írnám, inkább az „ismétlődés” szót használnám. Nagy kérdés, hogy a szekvencia „read” fogalmát hogy használjuk. Én az „olvasat” szót javasolnám. A jelölt ebben, ugyanúgy mint a „repeat” esetében nem konzekvens, használja a „leolvasás” és az angol „read” szavakat is. Néha az is előfordul, hogy a magyarosítás miatt a szóhasználat nem konzekvens. Például a „rövid-read RNS szekvenálás” helyett vagy a „short-read RNS szekvenálás”-t vagy a „rövid leolvasású RNS szekvenálást” javasolnám. Hasonlóan a „barcodeolásra” helyett lehetne magyarul írni, hogy „bárkódolás”. Az angol „script” szót a

számítástechnikában már régóta írják fonetikusán „szkript”-nek. A téma jellegénél fogva nagyon sok rövidítés szerepel a dolgozatban, amiket néha a jobb olvashatóság érdekében érdemes lett volna kiírni. Természetesen elkerülhetetlen ilyenkor, hogy néhány rövidítés (MHV-6, NP, NS, ACE-2) kimarad a jegyzékből.

A dolgozat alapját 34 tudományos közlemény képezi. Ebből 23-ban első, vagy megosztott első, valamint négyben levelező szerző a jelölt. A dolgozat az utóbbi évek nagyszabású munkáit foglalja össze. Ezeket a munkákat az köti össze, hogy állati vírusok genomját, genom replikációját, transzkriptomját és a transzkriptom szabályozását vizsgálják elsősorban harmadik generációs szekvenálási módszerekkel. A dolgozatban tudományos eredménynek a következőket fogadom el:

1. A harmadik generációs szekvenálási módszerek használatának bevezetését a molekuláris virológiába.
2. Hét vírus, illetve vírus törzs genomjának a megszekvenálása és annotálása.
3. Hús vírus, illetve vírus törzs transzkriptomjának a szekvenálása harmadik generációs módszerekkel. Ezeknek a transzkriptomoknak a teljes annotálása, és a statikus komplexitásuk teljes feltárása és elemzése. Ezekben belül öt vírusban és három deléciós mutánsban a dinamikus transzkriptóm teljes elemzése.
4. A replikációs origók közeli Replikáció asszociált RNS-ek feltérképezése egyes vírusoknál. Az ezzel kapcsolatos lehetséges funkcionális összefüggések felvetése.
5. A Bovine alphaherpesvirus 1 (BoHV-1) és a Vaccinia vírus (VACV) esetében a vírusnak a gazdasejt transzkriptomjára kifejtett hatásának a bemutatása

A dolgozattal kapcsolatban a következő kérdéseim, észrevételeim vannak:

1. A 18. oldalon azt írja, hogy 120 herpesz vírus faj ismert. Ezek közül értelemszerűen a legtöbb embert és háziállatot fertőz. Mennyire valószínű, hogy ha intenzívebben vizsgálnánk más emlős fajokat, akkor még sokkal többet találnánk? A házasítás hogyan hathatott ezeknek a vírusoknak az evolúciójára?
2. Emberben és egérben, többek közt a dolgozatban is leírt CAGE technológiával feltérképezték a transzkripció kezdőpontok (TSS-ek) eloszlását. Amellett, hogy nagyon sok alternatív promótert találtak, kiderült, hogy a legtöbb TSS előtt nincs TATA box, valamint a tankönyvi „single peak” típus mellett nagyon sok az elszórt, szélesebb régióban található „broad peak”. Ráadásul ez utóbbiak sokszor CpG szigeteken vannak. Mennyire hasonló a vírusoknál a TSS-ek eloszlása?
3. A 71. oldal 15-16. ábráján a read méretek eloszlása van feltüntetve különböző könyvtárkészítési és szekvenálási technológiáknál. Ez így a véleményem szerint nem különösen informatív, mivel az eltérő transzkript hosszak és gyakoriságok jelentősen torzíthatják az eredményt. Nem lett volna érdekesebb a readok hosszát az egyes transzkriptok teljes hosszának a százalékában ábrázolni?
4. Mind a PacBio, mind a NanoPore technológia képes akár nagyon hosszú readokat is szekvenálni. Mi indokolta, hogy ha jól értettem a könyvtárkészítésnél általában egy alacsony tartományú méretszelekciót alkalmaztak? Próbáltak esetleg genomot szekvenálni a NanoPore Ultra-Long technológiával?

5. Az expressziós hőtérképeken a három kinetikai klaszteren belül nincsenek klaszterezve a gének. Így úgy tűnik, hogy az egyes gének egymástól teljesen eltérően szabályozódnak. Ennek van valami általános oka?
6. A dolgozatban az eRNS-t az „embedded” RNS értelemben használja, ugyanakkor máshol már elterjedt az enhenszer RNS jelentés. Lehetséges, hogy ezeknél a vírusoknál is nagy mennyiségben detektálnak ilyen enhenszer és „megakadt” (paused) RNS polimeráz transzkripteket?
7. A humán és egér GRO-seq kísérletek bizonyították, hogy az RNS polimeráz II legtöbbször nem áll meg a poliadenilációs szignálnál, hanem akár 10 kb nagyságrendben is tovább megy. Nem lehet, hogy a detektált read-through RNS-ek is hasonló okból keletkeznek és akár azt is jelezhetik, hogy az adott transzkriptet a gazdasejt polimeráza írta át?

Összefoglalva, ez egy rendkívüli alapossággal megírt dolgozat, ami mögött rengeteg munka áll. Habár a legtöbb eredmény leíró jellegű, ezeknek az új módszereknek az alkalmazása és a feltárt vírus transzkriptom komplexitás jelentős, nemzetközileg is elismert előrelépést jelent a molekuláris virológiában.

Mindezek alapján a disszertációban bemutatott tudományos eredmények megfelelnek az MTA doktori cím megszerzésének feltételeinek, ezért messzemenően támogatom a nyilvános védelem kitűzését és sikeres védelem esetén az MTA doktora cím odaítélését.

Gödöllő, 2025. január 1.

.....
Barta Endre PhD.
egyetemi docens