Digitális Állampolgárként elektronikusan aláírta: DR. POPPE LÁSZLÓ

BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM
Szerves Kémia és Technológia Tanszék

Prof. Poppe László

BÍRÁLAT

KARANCSINÉ MENHÁRD DÓRA
"Kölcsönhatási hálózatok és dinamikai sajátságok vizsgálata élettani szempontból jelentős fehérjékben"
című MTA Doktori értekezéséről
(ELTE Kémia Intézet, HUN-REN ELTE Kutatócsoport, 2025)

BÍRÁLÓ: DR. POPPE LÁSZLÓ, egyetemi tanár
(MTA doktora, BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék)

KARANCSINÉ DR. MENYHÁRD DÓRA az Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémia Intézet, Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium, valamint a HUN-REN–ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport meghatározó kutatójaként nyújtotta be MTA doktori értekezését. Tudományos munkásságát a számítógépes szerkezeti biológia, a molekulamodellezés, a fehérjedinamika, valamint a kísérletes szerkezetvizsgálati módszerekkel szoros integrációban végzett mechanisztikus biokémiai kutatások területén fejtette. Az értekezés egyik legnagyobb erénye, hogy a szerkezeti bioinformatika, a molekuladinamika, a kvantumkémiai számítások, a röntgenkrisztallográfia, a kriogén elektronmikroszkópia és az NMR-spektroszkópia eredményeit egységes tudományos szemléletben kapcsolja össze.

KARANCSINÉ DR. MENYHÁRD DÓRA munkásságáról egy 122 oldalas doktori értekezésben számol be, amelyet tézisfüzet egészít ki. A 9 oldalas tézisfüzet 21 publikációra (melyek közül 6 esetben jelölt első szerző, 8 esetben levelező szerző) épül, az öt altémához kapcsolódóan jól elkülönített 13 tézispontban foglalja össze az eredményeket.

Az értekezés az egyoldalas *1. Bevezetés* fejezet után a 11 oldalas *2. Alkalmazott módszerek* általános bevezetésével a felhasznált módszerek (*2.1 Molekulamechanika, 2.2 Kvantumkémia és molekulamechanika együttes alkalmazása; 2.3 Röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálat; 2.4 Kriogén elektronmikroszkópia*) bemutatását célozza. Az általános bevezetést követően a *3. Eredmények* rész mutatja be az elért eredményeket öt fő részre osztva (*3.1 Hem fehérjék vizsgálata; 3.2 Betegségokozó mutációk hatása egy pszeudouridináz működésére; 3.3 Onkogén mutációk hatása a K-Ras szerkezetére és dinamikájára; 3.4 A podocin szerepe a vese szűrőrendszerében; 3.5 Multimerizáció és flexibilitás hatása az acil-aminoacil peptidázok* működésére). Itt minden alterület a terület vonatkozó, rövid bevezetőjével kezdődik. Az irodalmi hátteret 167 hivatkozás segítségével mutatja be, amelyek között kiemelve megtalálhatóak a tézisek alapját képező munkák is.

Bíráló egyetért a tematikai szempontok alapján történő öt alfejezetre bontással: 1) hemfehérjék vizsgálata; 2) betegségokozó mutációk hatása egy pszeudouridináz működésére; 3) onkogén mutációk hatása a K-Ras szerkezetére és dinamikájára; 4) a podocin szerepe a vese szűrőrendszerében; valamint 5) a multimerizáció és flexibilitás szerepe acil-aminoacil-peptidázok működésében. A dolgozat kronologikus felépítése abban a vonatkozásban

Postacím:
1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3.
1521 Budapest, Pf. 91.

Tel.: 463-3299
Fax: 463-3648
E-mail: poppe.laszlo@vbk.bme.hu

szerencsés, hogy jól érzékelteti a szerző tudományos fejlődését, melynek során az első, elsősorban elméleti mechanisztikus tanulmányoktól eljut a komplex, multidiszciplináris szerkezeti biológiai projektekig.

- Az *első alfejezetben* a szerző hemfehérjék működésének mechanisztikus hátterét vizsgálja. Különösen figyelemreméltóak a nitrogén-monoxid-szintáz elektronszállítási folyamataira, a nitroforinok pH-függő működésére, valamint a H-NOX fehérjék gázérzékelésére vonatkozó eredmények. A kvantumkémiai és molekuladinamikai modellek nem egyszerűen reprodukálják a kísérleti adatokat, hanem új mechanisztikus magyarázatokat szolgáltatnak. Kiemelendő a konformációs szelekció szerepének felismerése a gázligandumok felismerésében és megkötésében.
- A *második alfejezet* a box H/ACA pszeudouridináz komplex működését és egy új, humán genetikai rendellenesség molekuláris alapjait tárja fel. A szerző nem csupán a komplex homológiamodelljét készítette el, hanem képes volt összefüggést találni a molekuláris szintű szerkezeti változások és a klinikai fenotípusok között is. Különösen értékesnek tartom annak bizonyítását, hogy a katalitikus centrumtól távoli mutációk hosszú hatótávolságú kölcsönhatási hálózatokon keresztül képesek a katalitikus aktivitást módosítani. Ez a munka kiváló példája annak, hogy a szerkezeti biológia miként járulhat hozzá emberi betegségek kiváltó okainak molekuláris szintű mechanisztikus megértéséhez.
- A *harmadik alfejezetben* bemutatott, K-Ras onkoprotein szerkezeti és dinamikai vizsgálatok szintén jelentős tudományos eredményeket hoztak. Jelölt rámutatott arra, hogy az onkogén mutációk hatásainak jelentős része nem statikus szerkezeti eltérésekben, hanem a fehérje konformációs sokaságának módosulásában jelenik meg. A Tyr32 szerepére, a GTP-hidrolízis mechanizmusára és a Mg^{2+}-mentes állapot funkcionális jelentőségére vonatkozó eredmények nemzetközi szinten is figyelemre méltó hozzájárulást jelentenek. A munkák egyben jól demonstrálják, hogy a modern gyógyszerkutatásban a fehérjedinamika figyelembevétele sok esetben fontosabb lehet, mint egyetlen statikus szerkezet vizsgálata.
- A *negyedik alfejezetben* bemutatott podocin-kutatások különösen nagy hatással voltak a klinikai genetikai értelmezésre. A szerző sikeresen épített fel egy olyan szerkezeti modellt, amely magyarázatot adott az NPHS2 gén bizonyos mutációinak sajátos öröklésmenetére és patogenitására. A vizsgálatok eredményei közvetlenül hasznosíthatók genetikai tanácsadásban, ami ritka és különösen értékes példája az alapkutatás és a transzlációs alkalmazás összekapcsolásának.
- Az *ötödik alfejezet* a dolgozat terjedelmében is legjelentősebb részeként az acil-aminoacil-peptidázok szerkezetével és működésével foglalkozik. A szerző itt már aktívan részt vett röntgenkrisztallográfiai és krio-EM szerkezetmeghatározásokban is. Különösen jelentősnek tartom a sertés eredetű acil-peptidáz krio-EM szerkezetének meghatározását, az aktív hely konformációs heterogenitásának felismerését, valamint a meropenem-antibiotikummal kialakított komplex szerkezeti értelmezését. A multimerizáció és a szubsztrátszelekció közötti kapcsolat részletes elemzése kimagasló tudományos teljesítmény.

Az alfejezetek megfelelnek a jelölt közleményiben vizsgált kérdésköröknek és fedik a tézisfüzetben felsorolt 13 tézist. Megállapítható volt, hogy a vizsgált, igen aktuális területeken felmerülő, jól kiválasztott témákat igényes, sokoldalú megközelítésen alapuló módszerekkel vizsgálta és a vizsgálatok alapján érdemi és előremutató következtetéseket vont le. Összességében a dolgozattal kapcsolatban különösebb formai kifogásom sincs, csupán a bírálat

végén megfogalmazott észrevételek / kérdések merültek fel bennem.

A dolgozat egyik meghatározó erénye a tudományos megközelítés következetessége. A szerző minden tématerületen arra törekedett, hogy a szerkezeti megfigyelésekből mechanisztikus magyarázatokat vezessen le. Munkáiban a molekulamodellezés nem öncélú, hanem a biológiai működés mélyebb megértésének eszköze. Ez az egységes szemlélet teszi az egyébként igen változatos témákat koherens tudományos életművé.

Apróbb formai észrevételek az értekezéssel kapcsolatban:

- A Bevezetésben jelölt ~200 000 makromolekuláris szerkezetről tesz említést. Itt informatív adat lehetett volna az, hogy a nem redundáns szerkezetek száma azonban csak mintegy ~130 000.
- A formailag bevezetésnek tekinthető fejezet a „*2. Alkalmazott módszerek*" fejezet. A munka címe „***Kölcsönhatási hálózatok és dinamikai sajátságok vizsgálata élettani szempontból jelentős fehérjékben***". A bevezetésnek tekinthető fejezet bemutatja a vizsgálatokban alkalmazott számításos és kísérleti technikákat, viszont nem tartalmaz általános bevezetést a címben szereplő kölcsönhatási hálózatokkal és dinamikai sajátságokkal kapcsolatban.
- A tematikus fejezetek bevezetései igen rövidre sikerültek. A K-Ras fehérje vizsgálatáról szóló alfejezetbe úgy kezd bele, hogy az olvasó arról sem jut információhoz, hogy a A **K-Ras** (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) fehérje egy **molekuláris „be/ki" kapcsolóként** működő GTPáz enzim, amely alapvető szerepet játszik a sejtek növekedésének, osztódásának és túlélésének szabályozásában, és a Ras rövidítés sincs feloldva.
- Az értekezés terjedelméhez képest általánosságban is a rövidítések száma igen nagy; egy részük első előforduláskor történő következetes feloldása javíthatta volna az olvashatóságot.
- Jobb kifejtést érdemelt volna annak bemutatása, hogyan történt a nitrogén-monoxid-szintáz kiinduló szerkezet validálása. A nitrogén-monoxid-szintáz (PDB: *1nod*) szerkezete például két nem egyenértékű aktív centrumot tartalmaz. Érdemes lett volna egy elemzés az A és B lánc aktív helyéről a közeli analóg *3nod* és *1dwv* szerkezetekkel. Melyik, lánc aktív helye és miért képezte a számítások alapját? Az, hogy egy kofaktort és szubsztrátumot együtt tartalmazó szerkezet stabilan létezik, azt feltételezi, hogy ez valahol nem a reaktív szerkezet. Hol van az eltérés a reaktív állapottól? (A későbbi munkákban ez az aspektus lényegesen részletesebben ki van fejtve.)
- Az ábrák többsége jó minőségű és informatív, azonban néhány összetett szerkezeti ábra nehezen követhető nyomtatott/PDF formában. Az atomi szintű változások követésére szolgáló számításokat például nem igazán jól támasztja alá a csupán nehézatomok helyzetét bemutató ábra (pl. 1. ábra), illetve ahol a pontos szerkezeti részletek ábra-szerű táblázatokban találhatóak (pl. 2a. / 2b. ábra; 4. ábra), ott a rossz felbontás miatt bizonytalanul követhető az atomok/töltések/gyök centrumok holléte.
- Az ábrákkal kapcsolatban több helyen (pl. a 7. vagy a 17. ábrán) is zavaró, hogy a poláris hidrogének és a szenek gyakorlatilag megkülönböztethetetlenek (jobb lett volna a H-atomok „stick" modelljeibe a poláris H-atomok vékonyabb megjelentetésén túl más színű, pl. megszokott módon fehér, megjelenítése). Az elemek szerinti színezéssel több más helyen is probléma volt, pl. a 17. ábra bal alsó paneljében a D125 oxigének szürkék a megszokott piros helyett.
- A szisztematikus fajnevek dőlten írandóak, az első tag nagybetűvel, a második kisbetűvel

kezdődik (ez pl. a 71. oldalon hibás: a „*Pyrococcus Horikoshii*” esetében).

- Amikor kísérleti szerkezeteket tárgyal, jó lett volna mindig utalni a PDB kódokra (pl. 71-74. oldal, 54.-57. ábra). Különösen jó lett volna az acil-aminoacil peptidázok fejezetben bemutatott a saját szerkezetek tárgyalása során, nem csak a fejezet legvégén (pl. 83. ábra kapcsán).

Felmerült észrevételek és kérdések:

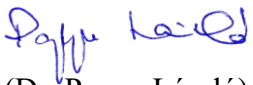
1. Mennyire releváns a CHARMM27 alapú MD vizsgálat a H-NOX rendszerek hem központi fémionjához kötődő/nem kötődő víz vizsgálatára (8. ábra)? Mennyire igazolták vissza a 8. ábra szerinti szerkezeteket a későbbi hibrid MM / QM MD vizsgálatok?
2. Az uridin ⇔ pszeudouridin átalakulás során a H-kötés mintázat változásán túl milyen szerepe van annak, hogy az uridinbázis gyakorlatilag planáris, míg a pszeudouridin hattagú gyűrűjében a C5 tautoméria̋val sp^3-szerű állapotba kerülhet (v.ö. 12 ábra termék analogonja)? Mennyire közelít a C5 fluór analogon szerkezetéhez a termék megfelelő tautomerje (C5-H) és milyen az energetikája? Vizsgálták-e a lehetséges tautomert a 19. ábrán feltüntetett gyűrűtorzulás szempontjából?
3. Végeztek-e olyan összehasonlító MD futtatásokat, melyek eltérő erőterekkel (pl. CHARMM27 / AMBER99 / OPLS3) történik ugyanazon a rendszeren?
4. A pszeudouridináz rendszer QM/MM számításai során a 24. ábrán a c) panel 2. és 3. szerkezete között a lehasadt bázisnak egy 180° körüli elfordulást kell végeznie az N3-C6 tengely körül, miközben az elfordulást követő tautomerizáció kapcsán megjegyzi, hogy „Ez ***a térben korlátozott kötőzsebnek tulajdonítható***, ahol a vízmolekulákkal kialakított és a bázis C5 és N1 atomjai közötti protonátvitelhez szükséges proton-továbbítási láncolat nem tud könnyen összerendeződni.” Végeztek magára az átfordulásra is számításokat, hogy ez milyen tér-/energiaigényű?
5. Mit jelent az R_1/R_2 a 29. ábra két felső panel Y tengelyén?
6. Mi a különbség a 30. ábra b) panel alsó kettő ($K\text{-}Ras^{G12C}$) és középső kettő ($K\text{-}Ras^{G12C}$) szerkezetei között? Erről sem az ábraleirat, sem a szöveg nem ad felvilágosítást.
7. Milyen módszerrel lehet az NMR vizsgálatok során követni a K-Ras fehérje stabilitását a többnapos mérések alatt? Lehet-e különbséget tenni konformációváltozás és esetleges degradációs változás között?
8. A K-Ras rendszerek esetében vizsgált konformációs egyensúlyok mennyiben változnának explicit membránkörnyezet figyelembevételével?
9. Mennyire érzékeny a K-Ras rendszer Mg^{2+}-tól eltérő fémionok jelenlétére? Vizsgálták-e a rendszert más fémionokkal?
10. A podocin rendszerek vizsgálata során különböző fluorogén jelöléseket alkalmaztak (pl. C-terminális GFP jelölés). Mivel a GFP egy viszonylag nagyméretű fehérje, és más, a további jelölő funkciók is összemérhető nagyságúak vagy nagyobbak, mint egy oldallánc mutáció változás, felmerül a kérdés, hogy végeztek-e arra vonatkozó számításokat, hogy maga a jelölés mennyire változtatja meg az asszociációs és dinamikai sajátságokat?
11. A podocin-nefrin komplexre kidolgozott modell kísérleti validálására milyen további krio-EM vagy *in situ* szerkezetbiológiai lehetőségeket lát a jelölt?

12. A pszeudouridináz rendszer kapcsán felvetett programozható RNS-szerkesztési koncepció gyakorlati megvalósításának ma melyik lépése jelenti a legnagyobb akadályt?
13. Az acil-aminoacil-peptidáz esetében a megfigyelt aktívhelyi konformációs sokféleség és az inhibeált szerkezetek finomszerkezeti vizsgálatai kihasználhatók-e szelektív inhibitortervezési stratégiák kidolgozására?

Összegzés

Az értekezés alapján egy rendkívül széles látókörű, ugyanakkor módszertanilag következetes és magas színvonalon dolgozó kutató képe alakul ki. A bemutatott eredmények jelentős része nemzetközi szinten is újdonságértékű, és több esetben új mechanisztikus elképzelések megfogalmazásához járult hozzá. A dolgozat alapját képező publikációk száma, minősége, idézettsége és tudományos hatása alapján a jelölt teljesítménye egyértelműen megfelel az MTA doktora cím követelményeinek. A frissen lekért és adatok szerint ***Karancsiné Dr. Menyhárd Dóra*** PhD fokozatának megszerzése óta 65 közleményt jelentetett meg (61 SCI közlemény, ebből 13 esetben levelező szerző, 3 esetben egyedüli szerző). Önhivatkozások nélküli idézettsége 749, az öt legmagasabb idézettségű munkájára önhivatkozások nélkül 284 hivatkozást kapott, összidézettség alapján számított H-indexe 18. Ezek az adatok messze meghaladják a Szerves és biomolekuláris kémia terület minimumkövetelményeit (SCI publikációk és szabadalmak száma >35; IF >80; független SCI idézetek >200), tehát az értekezés tudományos tartalmának mennyisége megkérdőjelezhetetlen. Az értekezést tudományos tartalmát tekintve igen értékesnek és magas színvonalú, önálló kutatói teljesítménynek tartom. Az MTA doktori értekezés nyilvános vitára bocsátását, valamint sikeres védést követően az MTA doktora cím odaítélését melegen javaslom.

Budapest, 2026. október 28.



(Dr. Poppe László)