

Opponensi vélemény Dr. Bíró Sándor

„A *Streptomyces griseus* 45H által termelt extracelluláris, pleiotróp fehérje – a C faktor – szerepének vizsgálata a a streptomycesek differenciálódásában és antibiotikum termelésében”

című akadémiai doktori értekezéséről

A doktori értekezések opponensi felkérésének előfeltétele az értekezés bizottsági értékelése abból a szempontból, hogy azok az MTA illetékes osztálya által megszabott szakmai minősítő és formai feltételeknek megfelelnek-e. Mivel jelen értekezés opponensi feladatainak ellátására felkértek, az szükségszerűen a bizottsági előértékelésen átesett, vagyis az adott tudományterület számszerűen megszabott követelményeinek megfelel. Mindezeket túl legyen szabad az opponensnek is kitérni a jelölt doktori habitusára. A minimumfeltételként megkívánt 50 impakt faktornak és 200 független citációnak a disszertáns több, mint másfélszeresét teljesítette. A tudományos teljesítmény megítélésének szélesebb alapokról történő elbírálásához szükségesnek tartom visszatekinteni azok előzményeire is. Bíró doktor a néhai Szabó Gábor professzor által alapított tudományos műhelyből és iskolából indulva érkezett el a doktori értekezés benyújtásáig terjedő szakmai állomáshoz. Szabó professzor eredeti megfigyeléseit és felismeréseit a modern biológia eszköztárának igénybevételével molekuláris szinten igazolta és fejlesztette tovább saját új megfigyeléseivel, vagy szükség esetén azokat az új módszertani lehetőségek birtokában pontosította. A jelölt az iskolateremtő Szabó professzor nyomdokain haladva tudományos fokozatot szerző tanítványaival az iskolának egy új, molekuláris dimenzióját alakította ki. A tanítómestere iránti tisztelet megnyilvánulását látom abban is, hogy az értekezés alapjául szolgáló mikroorganizmus rendszertani helyének és nevének pontos meghatározása és az annak megfelelő korrekció végrehajtása ellenére munkája során és a disszertáció címében is a régi megjelölést használja.

Ugyanakkor nem tartottam volna kegyeletsértőnek az új megjelölés párhuzamos feltüntetését a címben, mert az szakmai szempontból fontos információt hordoz.

A dolgozat felépítését tekintve két megadott lehetőségnek is eleget tesz. Egyrészt részletes értekezés, másrészt a munka alapját képező összes publikációt tartalmazza nyomtatott formában, elektronikus mellékletekkel kiegészítve. Ez a megoldás az opponens számára egy rendszeren belül teszi lehetővé a tudományos teljesítmény kiértékelésének alapos lehetőségét. A csatolt közlemények döntő többsége magas színvonalú nemzetközi folyóiratokban már megjelent publikáció. Az időrendben első közleményekben a szerző többnyire első, a későbbiekben levelező szerző. Ez tükrözi a szerző szuverén kutatóvá válásának folyamatát, egyben - a szerzők jelentős számát tekintve - iskolateremtő tevékenységét. A csatolt dolgozatok bizonyítják a munka hitelességét, a disszertáns vezető szerepét a kísérletek megtervezésében, elvégzésében és kiértékelésében, valamint azt, hogy az eredmények az előző tudományos fokozat megszerzése után születtek.

A disszertáció fejezetekbe osztása során a jelölt mellőzi az „Anyagok és Módszerek” fejezetet. Az egyes eredmények ismertetéséhez rövid metodikai leírást is ad, valamint az ott alkalmazott módszerek a fejezetek elején megadott illeszkedő közleményekben részletesen is megtalálhatók. A felhasznált baktériumtörzseket és származékokat, valamint plazmidokat tulajdonságaikkal együtt egy helyen bemutató összeállítás tovább könnyítette volna az áttekinthetőséget.

A téziszfüzet jó esszenciáját adja a részletes disszertációnak, összeállítása a kívánalmaknak mindenben megfelel.

Az új eredményeket a szerző 29 pontban foglalja össze. Ezeket új eredményként elfogadom. Egyetlen kérdésem, hogy a 2. és 7. pont nem lenne-e összevonható egy pontba.

A 29. pontból az alábbiakat emelem ki:

1. Molekuláris biológiai módszerek alapján korrigálták a korábban *S. griseus* 45H-ként azonosított törzs taxonomiai besorolását.
2. Meghatározták a C faktor molekulatömegét, aminosav összetételét.

3. Klónozták a C faktor génjét, feltárták expressziós tulajdonságait és biológiai funkcióit.
4. Igazolták a C faktor szerepét az A faktor kifejeződésében.
5. Kimutatták, hogy a C faktor fokozza a törzsek streptomycin termelését.
6. Felmérték a *facC* gén homológok előfordulását más speciesekben, valószínűsítették a gén horizontális terjedését.
7. Szabadalmat dolgoztak ki a C faktor gén kimutatásának, mint diagnosztikai eszköznek az alkalmazására.
8. Valószínűsítették a C faktor szerepét a növénypatológiában.

A dolgozat gondos összeállításáról mutatja, hogy abban megfogalmazási vagy betűhibát alig lehet találni. Számomra az értelmezéshez többszöri elolvasást igénylő részt csak a 77. oldal 2./ pontjának első mondatában találtam.

A disszertációval kapcsolatos észrevételeim nem annyira kritikai szempontból, mint inkább a bélbaktériumok kutatásával foglalkozó és a klinikai mikrobiológiában elkötelezett személy érdeklődéséből fakadnak. A kérdéseket és megjegyzéseket az alábbiakban foglaltam össze:

1. Bár a mortalitás kifejezést a vezető szakirodalomban (pl. *Infection and Immunity*) is használják az adott megbetegedésben meghaltak arányának kifejezésére, szorosabb értelmezésben a letalitás kifejezést tartanám pontosabbnak.
2. A táblázatokban a genus és species nevek nem mindig a szokásos dőlt betűs szedésben jelennek meg..
3. A 12. oldalon a *S. griseus* 52-1 és *S. griseus* 45H még mint vad törzs és annak mutánsa szerepelnek, az utóbbi végleges azonosításáról és valódi besorolásáról itt még nem esik szó. A bemutatás ilyen módja esetén helyesebbnek tartanám az adott relációban törzs helyett

származéknak nevezni, majd függetlenségének felderítése után az előbbitől független törzsként aposztrofálni.

4. Az A faktor hatásának eléréséhez szükséges koncentrációt csak a szaporodás bizonyos szakaszában éri el. A szerző a Gram negatív baktériumoknál megfigyelt analóg jelenség alapján „mikrobiális hormon”-ként jellemzi a faktort. Negatív mutánsok tenyésztéséhez hozzáadva a hiányzó funkciók helyreállnak. Ez alapján felvetődik a kérdés, hogy valójában itt is egy feromon-szerű molekula hatására beinduló quorum sensing jelenségről van-e szó.

5. Az A faktor 74 transzkripciós egység 152 génjének expresszióját fokozta. A bélbaktériumok esetében a globális regulátorok, mint például az RfaH számos funkció aktiválása mellett mások működésére repressziós hatást gyakorolnak. Ismert-e olyan gén, amelynek regulációjában az A faktor szuppressziós regulátort aktivál? Ez a lehetőség annál is inkább valószínű, mert az A faktor mutáns származék számos stressz-válaszban résztvevő fehérjéket termel, vagy túltermel.

6. A C faktor fokozza a *Sterptomyces griseus* streptomycin termelését. Ismert-e a C faktor hasonló szerepe más antibiotikum vagy egyéb bioaktív szekunder metabolit termelésében?

7. *Aspergillus fumigatus* törzsekben kimutatták a *facA* gén homológjainak jelenlétét. Jelen van-e ilyen homológ a species eddig vizsgált minden képviselőjében és milyen fokú közöttük a szekvencia azonosság?

8. Van-e olyan, a szabadalmaztatási eljárás titkosságával nem ütköző újabb eredmény, amely a *facC* gén kimutatásán alapuló diagnosztikai eljárás gyakorlati alkalmazhatóságára vonatkozik? Elindult-e már a fajlagosság és érzékenység klinikai körülmények között történő felmérése?

9. Feltehetően a szabadalmaztatási eljárás miatt nem szerepelnek a Függelék táblázatai között az *Aspergillus* fajok C faktor homológjai. Adható-e ezekről információ a nyilvános vita időpontjában?

10. Az analógiák alapján úgy tűnik, hogy a C faktor gén horizontális géntranszfer során kromoszómális, vagy amennyiben a virulenciában betöltött szerepe igazolható, patogénitási

sziget részeként épült be a genomba. A bélbaktériumoknál ezen szigetek beépülési helye típusosan transzfer RNS régiókban van. Van-e hasonló megfigyelés a *Streptomyces* és *Aspergillus* fajok esetében is? Ha igen, hol történik a beépülés, és milyen locus/locusokat érint? Valószínűsíthető-e a szekvencia és a G+C hányados alapján egy feltételezhető *facC* archetípus?

11. A tűzelhalás megelőzésére biokontroll eszközként alkalmaznak *Pseudomonas fluorescens* törzseket alma és körte ültetvényeken. Elképzelhetőnek tartja-e a jelölt C faktor negatív *Streptomyces* törzs vagy származék felhasználását a burgonya varasodásának megelőzésében?

Összefoglalva a fentieket megállapítom, hogy egy igen magas színvonalú, gondosan összeállított disszertációt volt alkalmam bírálni. A dolgozat mindenben megfelel a tudományok doktora fokozat odaítéléséhez előírt feltételeknek. A disszertáció nyilvános vitára kitűzését és a Tudományok Doktora fokozat megadását a legmelegebben ajánlom.

Pécs, 2011. március 16.

Dr. Emődy Levente
az MTA doktora