

Válasz Dr. Bánfalvi Zsófia opponensi véleményére

Nagyon köszönöm, hogy opponensem vállalta doktori értekezésem bírálását, és hogy időt fordított annak alapos és szakszerű értékelésére. Kérdéseire az alábbiakban válaszolok.

Kérdés: A doktori értekezés olvasmányos, jó stílusban íródott, szóhasználata szakzsargontól mentes, a molekuláris biológia tudományos szaknyelvének megfelelő, kivéve néha egy-egy szót, mint pl. az általánosan használt nukleotid helyett a nukleotida. Mi a magyarázata ennek a szokatlan szóhasználatnak?

Még kandidátusi értekezésem előzetes bírálata során hívta fel figyelmem akkori opponensem Sain Béla, hogy a nukleinsavak ezen építőköveit helyesebb a hasonló latin elnevezések magyar nyelvi átvételekor szokásos latinos nukleotida, semmint a laboratóriumi gyakorlatban már akkor is általánosabban használt angolos nukleotid formában használni. Ebben kétségtelenül igaza volt, bár a nyelvészeti elfogadottságot végül mindig a tényleges használat alakíthatja ki. Mindenesetre a magyar nyelvű szakirodalom alapján én a nukleotida kifejezést teljesen elfogadottnak éreztem.

Kérdés: „A brasszinoszteroidok (BR-ok) iránti érdeklődést elsősorban markáns növekedés-serkentő tulajdonságuk inspirálta.” - írja a jelölt az „Irodalmi áttekintés”-ben. Ezért én azt vártam, hogy a BR kezelés növekedés-serkentő hatással lesz nemcsak bizonyos mutánsokra, de a vad típusú *Arabidopsis* csíranövényekre is. Ez azonban a 14. ábra alapján nincs így. Miért?

Valóban, az ábrán a vad típusú növény esetében nem, vagy csak alig látható megnyúlás az alkalmazott BR kezelés hatására. Ennek oka részben az, hogy fiziológias körülmények között a vad típusú *Arabidopsis* csíranövények BR ellátottsága közel optimálisnak tekinthető. Ilyen esetben külsőleg alkalmazott BL kezeléssel a hipokotil hosszának csak 10-20%-os megnyújtása érhető el, szemben a hormon-deficiens mutánsoknál megfigyelhető 100%-nál is nagyobb elongációs hatással. Ez arányaiban hasonló az auxin és gibberellin kezeléssel elérhető válaszhoz vad típusú, ill. hormonhiányos vonalak esetében. Az ábrán bemutatott növényeknél a megnyúlás elmaradásának az is oka, hogy a BR-deficiens növények vizsgálatához ideális 100 nM-os 24-epikasztaszeron és 24-epibrassinolid a vad típusnál már az optimális koncentráció fölé van. Ez a szöveti szerkezet torzulásához vezet, és 1 μ M-os értéknél már a hipokotilnak a kezeletlen kontrollhoz viszonyított rövidülését eredményezi.

Kérdés: A jelölt az 52. oldalon azt írja, hogy „Erőteljes (>80%-os) elongációs hatás nyilvánult meg több tesztelt fotomorfogenikus mutáns (*cop1-16*, *dim1*) esetében is.” A 14. ábrán a *cop1-16* nem ezt mutatja. Miért?

Vizsgálatainkban a megnyúlás mértékét a hipokotil hosszának változásával jellemeztük. A 14. ábrán az említett *cop1-16* növényeknél a BR kezelés a hipokotilt a kezeletlen kontrollhoz képest mintegy háromszorosára nyújtotta, amit így kb. 200%-os elongációs hatásnak tekintettünk.

Kérdés: A jelölt meggyőző módon bemutatja, hogy a BR szintézisben szerepet játszó *CPD* génnek diurnális kifejeződése van és ez a cirkadián szabályozás még állandó fényviszonyok, azaz állandó megvilágítás vagy sötét mellett is megmarad. Ugyanakkor nincs meg ez a periodicitás kék fény/sötét fotoperiódusban nevelt csíranövényeknél. Miért?

A 45. ábrán bemutatott kísérlet szerint a fehér fény/sötét napi fotoperiódusokkal kondicionált csíranövényeket kék fény/sötét ciklusok közt tovább nevelve azokban a *CPD* gén kifejeződési szintje és diurnális szabályozottsága nagymértékben lecsökken. Ezt úgy értelmeztük, hogy a *CPD* napszakos szabályozásában a kék fotoreceptoroktól függő szignálutak érdemben nem vesznek részt, azaz a gén diurnális regulációs rendszere a kék fényt nem látja. Ez megfelel annak, hogy ha a csíranövényeket nem kék fény/sötét ciklusokba, hanem folyamatos sötétbe helyezzük át, a *CPD* expresszió hasonlóan csökken, és két nap elteltével már cirkadián oszcillációja is eltűnik (44.B ábra). Mindez arra utal, hogy a gén fényszabályozásában a kék hullámhossz-tartománynak és a hatását közvetítő szignalizációs utaknak nincs érdemi szerepük.

Kérdés: A vörös fénynek a *CPD* diurnális szabályozásában játszott kitüntetett szerepéből a jelölt arra következtetett, hogy a fényválasz kialakításában a fitokrómoknak meghatározó jelentősége van. Ennek bizonyítására vizsgálatokat végzett a fitokróm A- és B-deficiens kettős mutáns háttérben. Miért a kettős mutánst választotta a jelölt? Nem lett volna célszerűbb mindkét mutánst külön-külön vizsgálni?

Az egyes fitokróm mutánsok segítségével valóban több információt nyerhettünk volna a fitokróm A és B szerepéről a *CPD* gén szabályozásában. A bemutatott vizsgálat során viszont a fitokróm-függő szignálutak minél nagyobb mértékű inaktiválását kívántuk elérni, amire a két legabundánsabb fitokróm formától mentes kettős mutáns adott jobb lehetőséget.

Kérdés: A 46.B és 48.C ábrák normalizált értékeket tartalmaznak. Mihez lettek ezek az értékek normalizálva?

A 46.B és 48.C ábrák grafikonjain az expressziós tulajdonságokat olyan genetika hátterekben, illetve kifejeződési körülmények közt hasonlítottuk össze, amelyek a napszakos profil befolyásolásán túl jelentősen eltérő kifejeződési szintet is eredményeztek. Azért, hogy ábráinkon a diurnális ciklusok lefutása különböző expressziós szintek mellett is jól összehasonlítható legyen, a mért abszolút aktivitásokat minden mintánál az adott mérési sorozatban kapott értékek átlagára normalizáltuk.

Kérdés: A dolgozat 121. oldalán a jelölt leírja, hogy Kim és mtsai (1998, 2005) *CYP90C1*, *CYP90D1* és mindkét génben hibás, kettős mutánsokat izoláltak és fenotipizáltak. Miért izolált ugyanilyen mutánsokat a jelölt is?

Bár a *CYP90C1* gént inaktiváló *rot3* mutánst már 1998-ban karakterizálták, Kim és mtsai úgy vélték, hogy a *CYP90C1* enzimnek nincs szerepe a BR-ok szintézisében. Saját adataink viszont egyértelműen erre utaltak, és feltételeztük, hogy a *rot3* nullmutáns gyenge fenotípusának oka a *CYP90C1*, és az akkor még szintén ismeretlen szerepű *CYP90D1* gének átfedő funkciója lehet. A T-DNS inszerciós mutánsok izolálására ideális lehetőséget biztosított együttműködésünk a Koncz Csaba vezette laboratóriummal (Max Planck Intézet, Köln), amely jelentős mutánsparkkal rendelkezett. Amikor 2005-ben a Kim csoport az általuk azonosított *cyp90c1*, *cyp90d1* és kettős *cyp90c1,cyp90d1* mutánsokról beszámolt, saját izolálású mutáns vonalaink már részletesen jellemzettek voltak.

Még egyszer nagyon köszönöm opponensemnek disszertációm bírálatát és hasznos kérdéseit.

Szeged, 2011. május 30.

Szekeres Miklós