

BÍRÁLÓI VÉLEMÉNY

Szekeres Miklós „A BRASSZINOSZTEROIDOK BIOSZINTÉZISÉBEN RÉSZTVEVŐ GÉNEK SZEREPÉNEK ÉS SZABÁLYOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA” című akadémiai doktori értekezéséről

Örömmel vállaltam ennek az értekezésnek a bíráló szerepét, nemcsak azért mert egy kiemelkedő munka eredménye, hanem azért is, mert régóta foglalkozom növényi (és rövid ideig gomba) szteroidokkal, és az utóbbi időben a brasszinoszteroidok (BR-ok) abiotikus és biotikus stresszek elleni hatása egyik kutatási témám.

A dolgozat témája, a (BR-ok) hatásspektrumának, és a bioszintézisükben résztvevő egyes géneknek, illetve ezek szerepének és szabályozásának megismerése, fontos elméleti és gyakorlati probléma is. A jelölt elvégzett munkája számos új, nagyon magas szintű ismerettel bővítette a nemzetközi tudományt.

Az értekezés jó stílusban, gyakorlatilag helyesírási hibák nélkül íródott, ugyanakkor szép kiállítású, gazdagon illusztrált, logikus felépítésű és az egyes fejezetek eloszlása arányos. A Bevezetés fejezetben röviden ismerteti az értekezés témájának szükségességét és célját. Az Irodalmi áttekintés fejezet igen részletes, témánként nagyon jól és kritikusan elemzi az eddigi irodalmi adatokat és bizonyítja a jelölt széleskörű irodalmi tájékozottságát. Nekem kicsit furcsa volt, hogy saját, új eredményeire hivatkozik már az irodalmi részben, de a jelölt ezen a területen végzett munkája olyan kiterjedt, hogy ez gyakorlatilag elkerülhetetlen volt. Természetesen nagy érdeklődéssel olvastam ezt a részt, mert számos olyan új információt találtam benne, amely saját munkámban is hasznosítható lesz.

Az elején le kell szögezmem, hogy az értekezésben található munka szinte teljes egészében kiemelkedő nemzetközi tudományos folyóiratokban közlésre került, ami azt jelenti, hogy igen szigorú bírálatokon ment keresztül és kiállta azok próbáját. Ebből adódóan nagyon nehéz bármiféle szakmai hibát találni az értekezésben, de ez nem is volt célom, inkább az engem érdeklő kérdéseket vetem fel. A kísérleti munka során alkalmazott módszerek korszerűek, igen magas színvonalúak, a molekuláris genetikai és a biokémiai módszerek széles spektrumát használják, és a kiválasztott céloknak jól megfelelnek. Az anyagok és módszerek rész részletesen ismerteti az alkalmazott különböző technikákat. Az eredményeket, ahol lehet, statisztikai adatokkal erősíti és annak ellenére, hogy gyakran bonyolult és összetett képet mutatnak, értékelésük korrekt, a levont következtetések helytállóak.

A munkával kapcsolatos kérdéseim és megjegyzéseim a következők:

- Tekintettel arra, hogy a növényi hormonok egymással kölcsönhatásban vannak, a *cpd* és *cbb* mutáns növények más fitohormon tartalmára van-e saját vagy irodalmi adat?
- Nem találtam utalást sem a rövidítésekben sem a szövegben, de gondolom az etilén gátló „AIB” az α aminoisobutyric acid-ot jelent?
- Az a feltevés, hogy a *cbb1* mutáció egy flavin monooxygenáz gént inaktivál, illetve a *cbb2* mutáció a BR receptor génnel kapcsolatos, nyert már megerősítést és általánosan elfogadott?
- A 6. táblázatban a BR tartalom a három növényfajban igen különböző, de feltűnő, hogy a szintézis korai szakaszában a BR-ok mennyisége mind a háromban sokszorososa a végterméknek. Vajon mire való a kezdeti termékek ilyen túlsúlya, van valami külön fiziológiai szerepük?
- A 4.4.3 fejezetben más, a növénykórtanban használatos, elicitor hatását nem tesztelték?
- A 4.4.4 fejezetben nem találtam utalást arra, hogy mennyi volt a szensz és antiszensz *Arabidopsis* növények BR tartalma?
- Megállapították, hogy a BR bioszintézis gének reggeli indukcióját a növényekben erős, tranziens BL felhalmozódás követi. Vajon ezzel az abiotikus és biotikus stresszekkel szembeni ellenállóságuk is ritmikusan változik?
- Végül egy személyesen érdeklő kérdés. Jelenlegi munkánk során a BR-okhoz hasonlóan a progeszteron biotikus stresszel szembeni védő hatását tapasztaltuk. Mivel a progeszteront már növényekben is kimutatták, illetve az *Arabidopsis* szterol kötő membrán fehérjéje (MSBP1) specifikusan kötődik a progeszteronhoz is, véleménye szerint kapcsolatba hozható a progeszteron az értekezés eredményeivel?

A fenti kérdések és megjegyzések nem változtatják meg az értekezésről alkotott nagyon jó véleményemet, elsősorban a kíváncsiságomat elégítik ki.

Az Új tudományos eredmények és következtetések fejezetben, illetve a doktori értekezés téziseiben felsorolt eredményeket és következtetéseket elfogadom az alábbiak szerint.

(1) Azonosították a törpeséget okozó *cpd* mutáció által inaktivált gént, és meghatározták, hogy az általa kódolt CYP90A1 citokróm P450-típusú monooxygenáz a BR bioszintézis esszenciális enzime. Kibővítették a BR-ok hatásspektrumára vonatkozó ismereteket,

kimutatva szerepüket a sejtmegnyúlás, fotomorfogenezis, xilém differenciáció, fertilitás és stressz-rezisztencia szabályozásában.

(2) Meghatározták a *CPD* gén aktivitásának szervspecifikus mintázatát, megállapítva, hogy kifejeződése elsősorban a differenciálódó levelekre lokalizálható. Kimutatták, hogy a *CPD* expresszióját a biológiailag aktív BR-ok koncentrációtól függően, egy transzkripció szintű negatív visszacsatolási mechanizmus révén szabályozzák.

(3) Expressziós vizsgálataik alapján megállapítható volt, hogy a BR bioszintézisben résztvevő valamennyi P450 enzim génje a *CPD*-hez hasonló végtermékgátlásos szabályozás alatt áll. Az egyes gének hormonválaszának megegyező kinetikája és mértéke összehangolt, azonos működésen alapuló regulációra utalt.

(4) A biológiailag aktív hormon létrehozásáért felelős CYP85 enzimek génjeinek működésével kapcsolatban tisztázták, hogy *Arabidopsis*-ban a *CYP85A1* és *CYP85A2* közül a csírázást követően csak az utóbbi aktív. Feltérképezték a két *CYP85* gén működésének szervenkénti és szöveti eloszlását. Paradicsomban a *Dwarf* gén kifejeződésének vizsgálatakor az *Arabidopsis CYP85* génekéhez nagyon hasonló fejlődési és szervspecifikus mintázatot találtunk. Nagymértékű *Dwarf* indukciót, és erőteljes átmeneti brasszinolid felhalmozódást észleltek a termésfejlődés során.

(5) *Arabidopsis*-ban kimutatták, hogy a BR bioszintézis kulcsenzimeit kódoló *CPD* és *CYP85A2* gének működése napszakosan változik, és hogy ezt a *CPD* esetében bizonyíthatóan a belső cirkadián ritmus és a fényszabályozás együttesen biztosítja. Meghatározták, hogy a fény hatása elsődlegesen a fitokrómoktól függő jelátviteli rendszerek révén érvényesül. Megállapították, hogy a bioszintetikus gének reggeli indukcióját a növényekben erős, tranziens brasszinolid felhalmozódás követi és, hogy a fényviszonyok erősen befolyásolják a gén BR represszálhatóságát.

(6) Genetikai és biokémiai módszerekkel kimutatták, hogy az *Arabidopsis CYP90C1* és *CYP90D1* enzimek redundáns szerepű szteroid C-23 hidroxilázok. A *CYP90C1* és *CYP90D1* szubsztrát preferenciái, valamint addig ismeretlen bioszintetikus intermedierek észlelése alapján egy olyan új, enzimológiai adatokra alapozott bioszintetikus sémát vezettek le,

amelyben C-23 hidroxilációs söntök révén a BL a korábbi modellben feltételezettnél kevesebb lépésben és hatékonyabb reakciók során jöhet létre.

(7) DD RT-PCR szűréssel azonosították a BR hatásra korai válaszként represszáldó, kitin által indukálható *BRH1* gént, amely egy ismeretlen funkciójú RING-H2 proteint kódol. Mivel több hasonló szerkezetű RING-H2 E3 ubikvitin-ligáz komplexek alegysége, feltételezték, hogy a BRH1 a BR és patogén-függő szignálutak kapcsolatát biztosító ubikvitinációs szabályozásban vehet részt.

Végezetül a fentiek alapján kijelentem, hogy Szekeres Miklós értekezését kiemelkedően értékes munkának tartom, amely a korábbi tudományos fokozat megszerzését követően igen jelentős eredeti tudományos eredményekkel gyarapította a tudomány szakot, és javaslom a nyilvános vita kitűzését és a mű elfogadását.

Budapest, 2011. március 29.

Dr. Barna Balázs
MTA doktora