

Bírálói vélemény Havelda Zoltán „Vírus-gazdanövény kölcsönhatás kompatibilis kapcsolatokban: támadás, védekezés, tünetek kialakulása” című MTA Doktori értekezéséről

Havelda Zoltán Doktori értekezését a növényi vírusok és az általuk fertőzött gazdanövényben kialakuló összetett molekuláris kölcsönhatások jellemzéséről készítette. A növény és vírus kapcsolat komplex és sokoldalú. Az RNS genomot tartalmazó vírus sejtbe jutása megváltoztatja a növényi génműködést és kóros tüneteket vált ki. A növényben a fertőzés vírus szaporodást gátló védekező mechanizmusokat indít el, ezek kivédésére a vírusok evolúciója ellenható molekulákat hozott létre. A folyamat fő komponensei kis RNS molekulák és azokkal kölcsönható fehérjék. Pontos működésük és kölcsönhatásaik megértése érdeklődésre számot tartó gyakorlati okokból; a vírusok okozta gazdasági károk csökkentésére irányuló lehetséges eljárások feltárása miatt, és alapvetési vonatkozásai miatt is; a mind állati, mind növényi rendszerekben előforduló és egyre nagyobb figyelmet kapó kis RNS-ek közreműködésével megvalósuló génműködés szabályozás mechanizmusának megismerése tekintetében.

A dolgozatban ismertetett munka eredményeit a szerző 13 db folyóiratban és 4 db könyvfejezetként megjelent, munkatársaival készített dolgozatban közölte. E közlemények az 1998-2010 közötti időszakban készültek. Négy folyóirat cikk és három könyvfejezet metodikai újítást tárgyal, módosított oligonukleotidok alkalmazhatóságát kis RNS-ek kimutatására és használatuk előnyeit. A további közlemények a dolgozatban ismertetett eredményeket – a vírus fertőzés hatására bekövetkező génműködés változásokat, a defektív vírus RNS-ek és a vírus kódolt RNS csendesítés szupresszor fehérje (p19), valamint egy növényi mikroRNS (miR168) és az azzal komplex kapcsolatban lévő Argonaute fehérje működését és kapcsolatait - tárgyalják. A 13 folyóiratban megjelent közleménynek egy kivételével Havelda Zoltán első, vagy utolsó szerzője. A cikkek összesített impact faktor érték kerekítve 75. Számuk, a szerző meghatározó szerepe elkészítésükben és a közlő folyóiratok magas színvonala egyértelműen jelzi, hogy Havelda Zoltán disszertációjában nemzetközileg jelentős eredményeit tárgyalja.

Felépítését tekintve a dolgozat a disszertációk megszokott tagolását részben követi. Az irodalmi áttekintés rész (14 oldal) a témakör legfontosabb kérdéseinek általános tárgyalását (növényi

vírusok általános jellemzői, RNS csendesítés, mikro RNS-ek) tartalmazza. Az eredményekben tárgyalt részhez kapcsolódó specifikus háttérismeretek az eredmények fejezetek bevezetőiben kerülnek ismertetésre. Összekapcsolt az eredmények rész és azok megvitatása is. Bár ez teljesen rendben van és közleményekben is alkalmazott tárgyalásmód, véleményem szerint egy általánosabb összefoglaló és különösen az eredmények jobb elhelyezése és összevetése a szakirodalom kapcsolódó ismeretei között, ill. azokkal, a pontokba szedett ismertetés helyett, szerencsésebb lett volna.

Az eredmények ismertetését a primer kísérleti adatokat és néhány esetben a feltételezett mechanizmust szemléltető modellt összefoglaló ábrák jól követhetővé teszik. Az ábrák és a következtetések egymással – néhány kivételtől eltekintve talán – jól összhangban állnak. Kivételnek találok pl. azt a néhány esetet amikor mennyiségi megállapítást tesz hisztokémiai festés fotóján, vagy gélről készült képen alapulva, anélkül, hogy ezek kvantitálása ill. a használt módszer kvantitatív használhatóságának határai említésre kerülnének. Több kifogásolandó hibát találtam a szöveges részben. A megfogalmazásokban helyenként előfordulnak betűhibák, laborzsargon, indokolatlan idegen szóhasználat (rendszeresen pont a fejezet címek után, csendesítés, interferál, ko-frakcionálódott). Ettől fontosabb, hogy számos esetben megfogalmazási pontatlanság is előfordul. Részletezés nélkül, pl. az irodalmi áttekintés három egymást követő mondata (8. o.): „Az eukarióta sejt fehérjeszintetizáló rendszere monocisztronos. Ez azt jelenti, hogy a translációt irányító mRNS egyetlen fehérje genetikai kódját (nyitott leolvasási keret, ORF) tartalmazza az 5' nem kódoló szakasz után. A vírus RNS-en kódolt gének száma azonban egynél több.” Nem a fehérje szintetizáló rendszer mono-, vagy policisztronos, a monocisztronos jelleg nem *egy fehérje*, hanem *egy polipeptid* lánc kódolását jelenti, és a vírus RNS nem *kódol* géneket. Máshol RNS kötésről írva „méret és erősség specifitás”-említ, vagy azt mondja, hogy „további vizsgálatok szükségesek a különböző mechanizmusok minőségének, súlyának és eltejeledtségének megértéséhez” (20. o). Ezek a stiláris hibák és pontatlanságok persze nem teszik érthetlenné a mondandót, de szebb lenne ha nem fordulnának elő.

A dolgozatban ismertetett munka általam legfontosabbnak vélt tudományos eredményei: Specifikusan módosított oligonukleotidok hatékony alkalmazhatóságának bizonyítása kis RNS molekulák kimutatására többféle kísérleti elrendezésben.

A vírusfertőzés hatására létrejövő génműködés változások jellemzése a fertőzéssel közvetlenül érintett és az un. szisztemikus leveleken több vírus-növény kapcsolatban.

A szubgenonikus defektív interferáló (DI) vírus RNS-ek és a vírus eredetű siRNS szupressziót gátló fehérje kölcsönhatásának jellemzése és a DI RNS kiváltotta védő hatás molekuláris magyarázata.

A vírus eredetű siRNS szupresszor fehérje és a gazda eredetű miR168 mikroRNS és AGO1 fehérje komplex szabályozási kapcsolatának leírása.

Kérdéseim:

1. A dolgozat első részében ismerteti a kis RNS molekulák kimutatására alkalmas hatékony módszert, aminek alapja LNA-módosított oligonukleotid próbák használata. Az ismertetés rövid és nem tér ki arra honnan származik a próbák alkalmazásának ötlete, nincs ábra a módosított nukleotidok szerkezetének bemutatására és nem említi a módosított oligonukleotidokat tartalmazó próbák előállításának lehetőségeit. Kérem adjon röviden információt ezekről!
2. A DI RNS-ek hatása elvileg alapja lehet a vírus fertőzés károsító hatásának kivédésére szolgáló módszerek. Van ilyen próbálkozás?
3. A shut-off jelenség vizsgálatakor viszonylag kis számú gén működésváltozását vizsgálta. Miért ezeket választotta? Történt mások által, vagy saját laboratóriumában teljes transzkriptom analízisre kiterjedő vizsgálat?
4. Van miR168 mutáns növény, és ha igen milyen annak a fenotípusa a vírusokkal szembeni ellenállóképesség és általában a növény fejlődése tekintetében ?

Összegezve véleményem úgy vélem, hogy Havelda Zoltán fontos új ismereteket szolgáltató, nemzetközi vonatkozásban is figyelmet érdemlő és figyelmet kapott munkája eredményeit összegezte doktori disszertációjában. A dolgozat vitára bocsátását javaslom.

Szeged, 2011 szeptember 21.

Dr. Boros Imre Miklós