

Opponensi vélemény

Silhavy Dániel „A növényi génexpresszió RNS-szintű minőségbiztosítási rendszereinek molekuláris biológiája” című MTA doktori értekezéséről

Silhavy Dániel munkássága szinte pályája kezdetétől fogva a gödöllői Mezőgazdasági Biológiai Központhoz (MBK) kötődik, ahol a növényi RNS silencing és a nonsense-mediated mRNA decay (NMD) témájában végzett/végez vizsgálatokat. Ez utóbbi mechanizmusnak a növények körében való vizsgálata viszonylag szűz terület, ahol a pályázó az elsők között ért el figyelemre méltó eredményeket. A jelölt pályázatát értekezés formában nyújtotta be, amely 10, rangos nemzetközi folyóiratokban – EMBO J, Trends Plant Sci, NAR, J Virol, Plant Mol Biol – közölt publikáción alapul. Ezek többségében – nyolc cikk – levelező szerző a pályázó, míg a további két cikkben első illetve megosztott első szerző. A választott témakörrel kapcsolatos munka – amelyben a jelölt meghatározó szerepet játszott - jelentős, és nemzetközi érdeklődésre is számot tarthat.

A 145 oldalas dolgozat szerkezetileg jól átgondolt. Az alapos irodalmi bevezető jól segíti a területen a szerzőhöz képest kevésbé járatos olvasó tájékozódását, bár nyelvezetét tekintve kissé nehézkes. Az egyik problémát a rengeteg rövidítés okozza. Bosszantóbb ennél az - a jelen dolgozaton túlmutató, és a magyar természettudományos nyelv kérdését általában is érintő – jelenség, amely egyfajta magyar-angol keveréknyelv használatát jelenti. Érthető az a szándék, hogy az angol *terminus technicusok* is szerepeljenek – legalább egyszer – az egyértelmű azonosítás miatt, azonban, ha van megfelelő magyar kifejezés, akkor szerencsésebb azt használni. Pl. a dolgozat egyik kulcsfogalma, az „RNS silencing”, ami helyett jobb lenne az RNS csendesítés, ami használatos is a magyar nyelvű irodalomban, amint azt a pályázó egyik kollégájának téziseiben is olvashattam. Ráadásul a jelölt maga is használja a „géncsendesítés” kifejezést. Feleslegesnek tartom a „quality control” angol nyelvű használatát is. Különösen zavaró, amikor egy szón belül keveredik az angol és a magyar nyelv: polyadeniláció (helyesen poliadeniláció a polimerizáció mintájára), vagy P-bodiek, P-bodyk. Mennyivel egyszerűbb lenne a P-testek kifejezés.

Formai szempontból kiemelő, hogy a 28, javarészt színes ábra nagymértékben segítette a bíráló munkáját. Az egyetlen kivételt a szekvenciaillesztések jelentik; ezeket jobb lett volna vízszintesen elhelyezni, mert a jelen formában nehezen olvashatóak. Gondos az irodalomjegyzék összeállítása is.

A használt módszereket – amelyek a molekuláris növénybiológia széles tárházát ölelik fel - éppen csak felvillantja a jelölt, és az eredeti közleményekre utal. Ezek ugyan nincsenek az értekezéshez mellékelve, de ez nem is szükséges, mivel az eredmények ismertetésénél a

bírálatához elegendő részletességű a kísérletek leírása. Az Eredmények fejezet a fentebb már említett két nagy témakörhöz kapcsolódva két részre oszlik. Ennek a résznek a stílusa – az irodalmi résztől eltérően - gördülékeny. Az eredmények ismertetése során azok folyamatos értékelése is megtörténik, figyelembe véve az eredeti közlemény megjelenése óta felmerült újabb adatokat is, majd az értekezés végén a jelölt 17 pontban összefoglalja a disszertációban leírt eredményeket.

A bíráló - némiképp talán szubjektíven - az alábbiakat tartja a pályázó legfontosabb olyan új eredményeinek, amelyekhez a jelölt saját hozzájárulása meghatározó volt:

Elsőként tárta fel a silencing szuppresszió egyik alaptípusának, a dsRNS-kötésen alapulónak a molekuláris alapjait. Igazolta, hogy ez a stratégia többször egymástól függetlenül is evolválódhatott, és bemutatta, hogyan alakulhatott ki a méretszelektív dsRNS-kötésen alapuló gátlás.

Alapvető ismeretekkel gazdagította a növényi NMD-re vonatkozó tudásunkat, java részt saját fejlesztésű kísérleti rendszereket alkalmazva. Nevezetesen:

Igazolta, hogy növényekben a „hosszú 3’UTR alapú” és az intron alapú NMD egyaránt fontos szerepet játszik.

Kidolgozott egy hatékony depléciós/komplementációs rendszert, a VIGS-NMD kísérleti rendszert. Ennek segítségével azonosította a növényi NMD transz faktorait. Megmutatta, hogy az egyes NMD-utakban ezek közül melyek játszanak szerepet.

Valószínűsítette, hogy a növényi NMD-ben az EJC-komplex hasonló szerepet játszik mint emlősökben.

Az NMD új evolúciós modelljét alapozta meg.

Summázva elmondható, hogy a bírálóban igen jó vélemény alakult ki a disszertációról és a mögötte lévő munkáról, s különösen fontosnak tartja azt a szemléletmódot, amelynek eredményeként a jelölt nemcsak mélységében, hanem összefüggéseiben is képes a vizsgált anyag értelmezésére és bemutatására, beleértve az evolúciós vonatkozásokat is.

Tekintettel arra, hogy az eredmények túlnyomó többsége nemzetközi szintén már megmértetett – és súlyosnak találtatott -, így az opponensnek nem sok tere marad a bírálatra. Így két lehetőség között választhat: vagy a kákán is csomót keres – ettől inkább igyekezett eltekinteni -, vagy saját érdeklődésének és kíváncsiságának megfelelően tesz

megjegyzéseket és tesz fel kérdéseket; rögtön hozzátéve, hogy azok a disszertáció értékeit és fentebb összefoglalt lényegi eredményeit nem érintik.

Kérdések, megjegyzések:

A 7. ábrán, amely az Aureusvírus és a Tombusvírus MP fehérjéinek összehasonlítását mutatja, miért vannak egy másik fehérje, a P19 másodlagos szerkezeti elemei feltüntetve? Az igaz, hogy a két gén egymásba ágyazódik, és az eltérő leolvasási keret miatt kódolódik két különböző fehérje, de a P19-re vonatkozó szerkezeti elemeket elegendő lenne a 8. ábrán feltüntetni.

Ide kapcsolódik az a kérdés, hogy az MP fehérjékben találhatóak-e szerkezeti elemek. Az ilyen esetekben, amikor egy génszakaszból két fehérje is kódolódik, az egyik, nem meglepő módon általában eredendően rendezetlen fehérje. Így van ez itt is? Ha nem, akkor ez igen érdekes és viszonylag ritka eset. Ha igen, akkor azzal a meglepő esettel állunk szemben, hogy a szerző meggyőző érvelése szerint evolúciósan korábbi, az ORF4 által kódolt MP fehérje volt eredendően rendezetlen, és az átfedő génszakasz alapján később evolválódott P19 pedig jól rendezett struktúrával bír.

A 60. oldalon arról ír a jelölt, hogy a P14 és a TCV CP fehérjék dsRNS kötésének erősségét eddig mások még nem tanulmányozták. Nem gondolt-e arra, hogy maga végezzen ilyen kísérleteket?

A 15. ábrán a 3'UTR-be beépített intron milyen hosszú? Mennyivel növeli meg a hatást a hossz alapján várható „hosszú 3'UTR alapú” NMD-hez képest?

A 16. B és C ábrán jól látható, és erre a jelölt is föl hívja a figyelmet, hogy az U1DN ko-infiltráció az 5'U2-G mRNS-szintet emeli, de a főgén transzlációját ez kevésbé módosítja. Mi lehet ennek az oka?

A 22. ábrán a 4A3 növényekben a G-L konstrukció expressziója nem a negatív, hanem a pozitív kontrollhoz hasonló. Mivel az RNS blott nincs mutatva, így el kell hinnünk, hogy a 4A3 a hosszú 3'UTR-alapú NMD-hez is szükséges.

A 26.A ábra aláírása félrevezető.

A jelölt az NMD evolúció új, meggyőző modelljét állította fel. Az irodalmi adatok között hivatkozik a *Giardia lamblia*, az egyik legegyszerűbb eukarióta NMD rendszerére, azonban a modellbe ezt nem építette be. Mennyire illenek a modellbe a protozoára vonatkozó irodalmi adatok?

Mint hangsúlyoztam, a fenti kérdések az értekezés lényegi kérdéseit nem érintik. A disszertáció hiteles tudományos eredményeken alapul, amelyek alapján megállapítható, hogy a pályázó korábbi tudományos fokozatának megszerzése óta jelentős eredeti tudományos eredményekkel gyarapította a biológiát. Ennek alapján az értekezés nyilvános vitára bocsátását és az MTA doktora cím odaítélését melegen támogatom. A bírálónak volt alkalma a pályázó munkásságának általános megismerésére is, s bár ez nem feladata, de megjegyzi, hogy nemcsak az itt ismertetett tudományos teljesítménye révén, hanem teljes kutatói habitusát illetően is alkalmasnak tartja a jelöltet az MTA doktora cím elnyerésére.

Budapest, 2011. december 12.

Dr. Orosz Ferenc
az MTA doktora