

Dr. Silhavy Dániel

“A növényi génexpresszió RNS-szintű minőségbiztosítási rendszereinek molekuláris biológiája”

című doktori értekezésének bírálata

Az értekezés szerzője a növényi génexpresszió két különböző minőségbiztosítási rendszerét, a kettős szálú RNS-indukálta hírvivő RNS (mRNS) csendesítést (RNA silencing) és a korai stop kodon-indukálta mRNS degradációt (nonsense-mediated mRNA decay, NMD), választotta munkája témájaként. Az általános vélekedés szerint a növényi molekuláris biológia az élesztő és humán rendszerek eredményeit próbálja reprodukálni mind időben, és technikai megközelítésben lemaradva. Ez a vélemény talán érvényes bizonyos mértékig az NMD kutatásokra, de feltétlenül hamis a növényi RNA csendesítési kísérletekre, mivel a vírusok által kiváltott növényi RNS silencing korai vizsgálata rakta le az alapjait a jelenlegi regulációs mikro RNS (miRNS) kutatásoknak, melyek mindent kétséget kizáróan a modern molekuláris biológia egyik legizgalmasabb, legdinamikusabban fejlődő területét képviselik. Így a disszertáció témaválasztását szerencsésnek és időszerűnek tartom.

A szerző és munkatársai sikeresen vizsgálták a molekuláris hátterét annak a már jól ismert jelenségnek, hogy a növényi RNS vírusok képesek megkerülni/elnyomni a fertőzött gazdanövények egyébként nagyon hatékony RNS csendesítési (RNA silencing) védekező rendszerét. Ezen munka során azonosították a *Cymbidium ringspot virus* (CymRSV) silencing szupresszor faktorát, amely képes hatékonyan elnyomni az vizsgált modell gazdanövény (*Nicotiana benthamiana*) antivirális RNS silencing mechanizmusát. Bizonyították, hogy az újonnan azonosított virális silencing szupresszor, a CymRSV P19 protein specifikusan köti a kettős szálú siRNS-ekre emékeztető, 21 nukleotid hosszúságú RNS-eket, melyek két 3'-végi túlnyúló nukleotidot hordoznak. Mivel számos növényi vírus genomja hordoz kettős szálú RNS-kötő fehérje gént, javasolták, hogy az expresszált RNS-kötő fehérjék általános növényi RNS silencing faktorként működnek, oly módon, hogy megakadályozzák a Dicer endoribonukleáz által generált kettős szálú siRNS-ek beépítését aktív siRNP komplexekbe.

A dolgozat második felében a szerző összefoglalja a növényi nonsense-mediated mRNA decay (NMD) mRNS minőségvizsgálati rendszer megismerését célzó munkájukat. A korai stop kodont tartalmazó mRNS-ek felismerése és eliminálása az eukarióta mRNS minőségvizsgálat egy nagyon fontos eleme, mivel a mutáns mRNS-ről szintetizált, karboxil végükön csonka fehérjék gyakran végzetes domináns negatív hatással bírnak. A szerző és munkatársai egy agroinfiltrációs rendszer alkalmazásával vizsgálták a bab phytohemagglutinin (PHA) mRNS korai stop kodont (PTC-t) tartalmazó változatainak tranziens akkumulációját. Ezek a kísérletek igazolták, hogy a mutáns növényi mRNS-ek PTC utánni, hosszú 3'-végi nem-transzlálódó régiója (3'-UTR), továbbá a 3'-UTR szakaszokban lokalizált (pontosabban ezekből eltávolított) intronok szolgálnak szignálként a növényi NMD

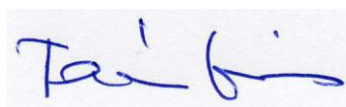
számára. Továbbá bizonyították, hogy a mRNS-ek 5'-UTR régióiban található 30 aminosavnál hosszabb leolvasási keretek (ORF-ek) szintént NMD-t indukálnak.

A növényi NMD transz faktorainak azonosítása és jellemzése érdekében, a szerző szisztematikusan vizsgálta, hogy az állatok és gombák NMD reakcióiban bizonyítottan résztvevő fehérjék növényi (*Arabidopsis*) ortológjai szerepet játszanak-e a növényi NMD-ben is. Ezekben a kísérletekben már nyilvánvalóan tetten érhető a növényi molekuláris biológia követő jellege. A szerzők kimutatták, hogy a növényi SMG7 és UPF1-2 faktorok fontos szerepet játszanak mind a hosszú 3'-UTR-vezérelte, mind az intron-tartalmú 3'-UTR-indukálta NMD reakciókban. Ezzel szemben a növényi UPF3 specifikusan köthető a hosszú 3'-UTR-alapú NMD-hez, míg a Barents, Y14, Mago és 4A3 faktorok az intron-vezérelte NMD reakcióban játszanak szerepet.

A szerző tudományos eredményeit még nemzetközi mércével mérve is jó – de hazai viszonyok között egyenesen kiváló - folyóiratokban közölte (The EMBO Journal, Journal of Virology, Plant Molecular Biology, Nucleic Acids Research stb). Mindez bizonyítja, hogy a szerző munkái kiállták a szűkebb szakterület - a disszertáció bírálójánál nyilvánvalóan szakavatottabb - művelőinek kritikáit is. Sajnos a dolgozat nyelvezetéről nem tudok maradéktalan elragadtatással nyilatkozni. Ugyan többnyire logikusan felépített, könnyen követhető, sajnos a szöveg több helyen magyartalan az angolos szenvedő szerkezetek miatt.

Összefoglalásképpen elmondhatom, hogy a munka tudományos színvonala, az elért eredmények újdonsága és a szakterület fejlődésére gyakorolt hatása, továbbá a publikációk minősége minden kétséget kizáróan bizonyítják a Jelölt alkalmasságát az MTA doktora cím elnyerésére.

Toulouse, 2012. január 9.



Kiss Tamás

MTA doktora