

Bírálat

Salánki Katalin

A Cucumovírusok kórtani változékonysága c. Akadémiai Doktori értekezéséről

1976-ban jelent meg először Richard Dawkins: Az önző gén (The Selfish Gene) c. munkája, ami szakmai berkekben nagy visszhangra talált. A szerző teleologikus megközelítéssel nem kevesebbet állított, mint azt, hogy a DNS egyetlen „célja” önmaga reprodukálása minden áron, evvel halhatatlanná téve önmagát (és unokáink, révén önmagunkat is).

Miért ne tételizzük fel ugyanezt a szándékot egy RNS-ről, egy vírus nukleinsavról is, „aki” élő szervezetet parazitálva igyekszik fennmaradni, és sokszorozítani önmagát? Ennek természetes feltétele, hogy az RNS sikeres legyen a maga gazda-parazita kapcsolataiban.

Hogyan legyünk eredményes patogének? Hogyan lett az uborka mozaik vírus (*Cucumber mosaic virus*, CMV) az eddigi egyik legpatogénebb, legváltozatosabb növénypatogén vírus? Ezekre a kérdésekre ad választ Salánki Katalin ragyogó összeállítású akadémiai doktori értekezése.

I. Általános észrevételek

Formai szempontok. A disszertáció logikus felépítésű, arányos szerkezetű, fegyelmezett terjedelmű munka, ami minden szempontból megfelel az Akadémiai elvárásoknak. Kivitelezése ízléses, pontos, hibátlan (mindössze egyetlen betűhibát sikerült találnom (!) és a bekötött példányban a 24. oldal kétszer szerepel). Az ábrák rendkívül szemléletesek, a gélfotók élesek. Szép magyarsággal írták, a Szerző kerülte az idegen kifejezéseket, körmondatokat. Élvezet olvasni, de kényszerű tömörsége nagy figyelmet igényel.

Tartalmi szempontok: A Jelölt a CMV és más Cucumovírusok molekuláris összehasonlító vizsgálatával számos olyan kérdést tisztázott, melyek azok patogenitását, illetve a fertőzőképesség elmaradását magyarázta. Számot adott az egyes vírusok és izolátumaik közötti patológiai különbségek okairól, a törpülés feltételeiről, a vírusok növényen belüli mozgásának feltételeiről. Magyarázatot adott a CMV fertőzés során a nekrotikus reakciók kialakulásának lehetőségéről. Új PSV csoport jelenlétét bizonyította. Mindezekkel a kísérletekkel a Szerző a címben kifejezett célját maradéktalanul teljesítette, új tudományos eredményeivel jelentősen gazdagította a vírus-gazdanövény kapcsolatokról és a vírusok változékonyságáról alkotott ismereteinket.

II. Részletes ismertetés

A **bevezetés** fejezet sorra veszi a CMV ismert, génszerkezetéből adódó sajátosságait, a genom osztatóságából adódó rekombinációs lehetőségeket, a kódolt fehérjék

tulajdonságait, azok patológiai szerepét, nevezetesen a vírusok sejtről-sejtre való- és hosszú távú terjedésében, a növények védekezési reakcióiban (szisztémikus szerzett rezisztencia elmaradása, poszt-transzkripció gécscsökkentés feloldása, a mikro RNS-ek szabályozása terén betöltött szerepükre, a gazdanövénykör szabályozására. Mindez a mintegy húsz oldal terjedelmű, összefoglaló munka önálló szemle cikként is megállná a helyét. (Kár, hogy nem az.)

Az anyag és módszer fejezetről nincs mit szólni. Sürgőnystílusban írt fejezet, minden benne van, ami kell, de egyetlen felesleges mondat sincs. Részletes leírások nincsenek, csak utalások a forrásmunkákra. Dicséretes koncentráció, amire a szerzőt a terjedelmi megszorítások kényszerítették.

Az eredmények fejezet meggyőző módon, logikus kísérletek megoldásával lépésről lépésre vezeti be az olvasót arra, a címben megfogalmazott célkitűzésre, hogy a CMV és tágabb értelemben a Cucumovírusok változékonyságának, milyen kórtani vonzatai vannak. A Trk7- és R-CMV izolátumok reasszortáns változataival kimutatta, hogy a törpülés tüneteért az RNS3 köpenyfehérjét kódoló szakasza a döntő. A tüneteiben eltérést mutató két törzs CP régiójában irányított mutagenézissel az eltérést okozó aminosavat megváltoztatva igazolta, hogy a tünet kialakításáért a 193. aminosav felelős (aszparagin - törpülés, lizin - szisztémikus mozaikfoltosság).

A vírusok felhalmozódásának vizsgálatát a levél lenyomatok (Western press blott) készítésével vizsgálva megállapította, hogy a törpülést okozó izolátum nagyobb koncentrációban halmozódott fel, mint a törpülést nem okozó törzs esetében.

A Trk7-es CMV és az RCMV izolátum köpenyfehérje (CP) gének szekvencia modelljeinek összehasonlítása során feltételezhető volt, hogy a tünetek kialakulásáért a 193-as aminosav előtti foszforilációs állapotok változása játszik szerepet.

A virionok (növényen belüli) hosszú távú mozgásában részvevő kulcsfontosságú köpenyfehérje régiót azonosított rekombináns vírusokkal. Az R-CMV és a P-TAV (Paradicsom magtalanság vírus, *Tomato aspermy virus*, TAV) olyan rekombinánsait állította elő, amik csak a CP hosszú távú mozgásért felelős régióban különböztek az eredeti CMV törzstől. Az öt rekombináns klónjait létrehozva azok CP kódoló régióinak nukleotid sorrendjét meghatározta, majd a rekombinánsokkal uborkát fertőztek. Mindössze egy mutáns esetében tapasztaltak eltérő (gyengébb, nem szisztémizáló) tüneteket, ami a virionok terjedésének gátlására utalt. E törzs CP β B- β C hurok (loop) szakaszán öt aminosav eltérést talált. Pontmutánsokkal ezek tüneti hatásait vizsgálva sikerült pontosítani azt a két aminosavat, amelyek a hosszú távú mozgás gátlásáért felelős volt.

Reasszortáns vírusok létrehozásával megállapította, hogy az RNS3 rekombinánsok hogyan replikálódnak, és a mozgásfehérje (MP) eredete a tüneteiben meghatározó. Azonosította a CP felszínén olyan „zseb” jelenlétét, amely minden CMV virion felületén jelen van, és amelyek elektrosztatikus töltése a két fehérje kapcsolatában meghatározó.

A CMV RNS3-ból a MP-t kódoló szakaszt eltávolítva és helyére a *Cymbidium ringspot virus* (CymRV) MP szakaszát építette be. A klónból készített

transzkriptummal eredményesen fertőztek több növényfajt, bizonyítva a konstrukció stabilitását, valamint azt, hogy a tüneteket a heterológ mozgásfehérje befolyásolta.

A Pannon régió földimogyoró satnyulás vírus (*Peanut stunt virus*, PSV) Rp izolátuma teljes nukleotid szekvenciáját meghatározták, majd összehasonlították annak rokonsági viszonyait más PSV izolátumokkal. Eredményeik alapján az Rp izolátum, a vele majdnem azonos pannóniai izolátumokkal a PSV fajon belül önálló alcsoportot (PSV-IV) képvisel. A rekombinációs vizsgálatok szerint a PSV evolúciója során az RNS3 változott leginkább, a változások elsősorban a nem kódoló szakaszokon fordultak elő.

Egy különleges CMV patotípus, a *Nicotiana clevelandii*-n nekrotikus (majd szisztémizálódó) tüneteket mutató Ns-CMV fertőzőképes klónját előállítva megállapította, hogy a nekrotikus tüneteket az RNS1 jelenléte határozza meg. A nekrozisért felelős genetikai determináns a Ns-CMV1a fehérje 450-477 aminosav szakasza volt. Pont-mutációval leszűkítette, hogy ezen a szakaszon belül a 461. helyen levő arginin cseréje szabta meg a tünetek kialakulását. E fehérjeszakasz megváltozása a replikációs készség elvesztését eredményezte.

Következtetések

A dolgozat megállapításait a Szerző a nemzetközi eredmények tükrében tárgyalja, magas szinten. Ez a fejezet rész is önálló dolgozatként megállná helyét akár egy nemzetközi folyóirat szemleciikként. Salánki Katalin következtetései világosak, jól szemléltetve a CMV fertőző stratégiáját, hogyan lehetséges, hogy a mindössze három nukleinsav láncból és öt fehérjéből álló komplex összehangolt és finom, molekuláris szintű részleteken múló működése sikeres fertőzést és vírusreplikációt eredményez. Mint ahogy a Szerző is megjegyzi, „...az egész növény megbetegítéséhez a különböző vírusfehérjék összehangolt működése szükséges”. Ez azonban a gazda-parazita kapcsolatok megismerésének csak egyik fele. További ismeretek szükségesek ahhoz, hogy megértsük, milyen kapcsolódó molekuláris változások zajlanak le a növényekben, hogyan érvényesül Flor „gén-génnel szemben” elmélete?

Kérdések

1. Eredményei tükrében a CMV-MP helyettesíthető e más Cucumovírus MP génjével úgy, hogy az a rekombináns fertőzőképességét megtartva csak lokális tüneteket fejlesszen ki a paprika és esetleg az uborka növényeken? Alkalmas lehet-e a biológiai védekezésre egy ilyen konstrukció?
2. Kikerülhető e kis interferáló RNS-ek használatával a CMV elleni védekezés, megvalósul-e ez esetben a poszt transzkripció gécscsökkentés (PTGS)?

Összefoglalás

Salánki Katalin új tudományos eredményeit a dolgozatban 11 pontban foglalja össze. A tézisek 6., 7. és 8. pontját összetartozónak tekintem. A többi tézissel együtt ezeket is változatlan formában elfogadom és a Disszertáns saját eredményeinek ismerem el. A 10. és 11. tézispontok a vizsgált vírusokra vonatkoznak, de más gazda-vírus kapcsolatokban már ismertek.

Hangsúlyozni szeretném, hogy az értekezés több évtizedes kiváló kutatómunka összefoglalása, amelynek részletei már neves, magas impaktú és alaposan bírált nemzetközi folyóiratokban megjelent. Nem csoda, hogy a jelen értekezés magas színvonalú, hibátlan munka, ami méltán érdemli ki a szakma elismerését. Javaslom a dolgozatot akadémiai doktori értekezésként elfogadni, a nyilvános vita időpontját kitűzni. Védés után az MTA Doktora cím megítélését javaslom és magam is kérem.

Budapest, 2012. december 28.

Gáborjányi Richard
DSc., professor emeritus