

Bírálat

Salánki Katalin: A cucumovírusok kórtani változékonysága c.

MTA doktori értekezéséről

Salánki Katalin értekezésében a növényi virológia komplex, mindmáig kevésbé felderített területét, nevezetesen a vírusszimptómák és a vírusgenom ill. fehérjeszerkezet összefüggéseit analizálja. Ahogy az Salánki Katalin értekezéséből is szépen kiviláglik, azonos tüneteket több, jelen tudásunk szerint egymástól független szerkezeti változások is okozhatnak. Ez adja a téma nehézségét és egyben varázsát. Jelölt értekezésében a legváltozatosabb gazdakörű és számos jól jellemzett izolátummal rendelkező uborka mozaik vírushoz (CMV) és annak rokon vírusaihoz, a paradicsom magtalanság vírusához (TAV) és a földimogyoró satnyulás vírusához kapcsolódó munkáit foglalja össze. A szerző a PhD fokozat megszerzése után a témából 12 publikációt (9 nemzetközi, 3 magyar folyóiratban) jelentetett meg folyóiratban, melyek közül 5 idegen nyelvű és két hazai publikációnak első vagy utolsó szerzője. Ezen kívül 30 további folyóiratcikk és könyvfejezet (19 idegen nyelvű, 11 magyar) társszerzője, közülük 5 magyar nyelvűnek utolsó szerzője. Salánki Katalin a cucumovírusokról megjelent számos publikációja okán hazai és nemzetközi virológiai körökben mint a terület szakértője ismert és elismert.

Értekezése a téma 142 oldalon történő logikus, jól áttekinthető és könnyen követhető összefoglalása, tekintélyes irodalomjegyzékkel. A formai követelményeknek minden szempontból megfelel, fejezeteinek aránya, felosztása korrekt, a mű élvezetes magyarsággal íródott. Az ábraanyag színes és informatív. Formai vonatkozásban az egyetlen érdemleges kifogásom az Eredmények bemutatása c. fejezet bekezdéseinek hosszára vonatkozik. Ebben a fejezetben Jelölt biztosan nem követi az „egy bekezdés – egy nagy gondolat” elvet, mert több két oldalas bekezdés is előfordul, ami nemcsak szükségtelen, de az olvasó számára a szép, kerek mondatok és logikus érvelés ellenére is kifejezetten megnehezíti az érvelés követését.

Az eredmények három nagy téma körül csoportosulnak. Az első kísérletsorozat a CMV által indukált *törpülés* szerkezeti okait vizsgálja. Fertőzőképes vírusklónokat felhasználva bizonyították, hogy az R-CMV izolátum által okozott törpülésért az RNA3, azon belül is a CP 193. aminosava felelős. Amennyiben ebben a pozícióban aszparagin található, a törpülés a többi genomi különbségtől függetlenül kialakul, míg ha az Asn-t Lys helyettesíti, mozaik tünetek mutatkoznak. Homológiamodelleket generálva azt valószínűsítették, hogy a 193-as pozíció közvetlenül egy kazein kináz II foszforilációs hely közelében, a felszínen elhelyezkedve a kinázzal való kölcsönhatást befolyásolhatja. Kár, hogy nem került sor az érdekes és meggyőző hipotézis kísérletes bizonyítására. Egyébként már ezen a ponton jól látható, mennyire komplex a vírus-növény kölcsönhatás, éspedig különösen a tünetek vonatkozásában: Irodalmi adatok

szerint akkor is kialakul törpülés *N. glutinosa*-n, ha a CP 193Lys-t tartalmaz, de a 2b génben lép fel változás. Az értekezésben leírt eredmények alapján új tudományos eredményként elfogadom a 7. fejezet 1. pontjában leírtakat, az utolsó mondatától eltekintve, amelyben óvatosabb megfogalmazást, minimálisan a feltételes mód használatát javaslom.

Egy másik kísérletsorozat is arra utal, hogy a köpenyfehérje a szimptómák kialakulásában kulcsszerepet játszhat. Az Ns-CMV izolátum különleges patotípust képvisel, mert a legtöbb CMV törzzsel szemben szisztémikusan fogékony növényfajokon csak lokális léziókat okoz. A 4.6. fejezetben leírt eredmények szép rendszerességgel, gondos alapossággal bizonyítják, hogy e jelenségért az 1a fehérje (CP) 461 pozíciójában lévő cisztein a felelős. Ha az Rs-CMV ebben a pozícióban található argininjét ciszteinre cserélték, ez a törzs is az Ns-CMV-re jellemző tüneteket mutatta. Az ezt követő elegáns, a fehérjeszerkezetre alapozott helyspecifikus mutagenézis alapján, kissé leegyszerűsítve, elmondható, hogy a C461E, C461P és C461N cseréket tartalmazó vírus nem replikálódott, míg a kis aminosavakra (A vagy S) történő csere léziókat eredményezett, bár gazdanövénytől függően szisztémizálódás és a tünetek vírusdózistól való függése is megfigyelhető volt. A C461R és C461K mutánsok az Rs-CMV törzsre jellemző tüneteket mutatták.

Kérdések a témához:

Mit ért azon, hogy az „N193 negatív polaritású” (47. oldal)?

*Kísérletei alapján kizárható-e, hogy a vírusakkumuláció szerepet játszik a *N. glutinosa*-nál megfigyelt törpülés előidézésében?*

Mivel magyarázza, hogy a 461P bevitele ilyen nagy szerkezeti változást okozott, míg a 459P szerkezeti hatása csekély?

A második kérdéskör a cucumovírusok hosszú távú mozgásáért felelős CP és MP régiók vizsgálatával foglalkozik. A gyakorlat szempontjából ennek a kérdésnek óriási a jelentősége, de a vírusrekombináció és evolúció vonatkozásában is izgalmas a téma. A folyamatban szerepet játszó régiók azonosítását Jelölt és munkatársai az uborkában szisztémásan terjedő R-CMV és az ott csak lokális tüneteket okozó P-TAV köpenyfehérjéinek összehasonlításával, majd a CMV CP hurkainak és egyes aminosavainak a P-TAV megfelelő szerkezeteire való lecserélésével érték el, és meggyőzően bizonyították a CP 78-80 aminosavainak kulcsszerepét. A hosszú távú mozgásnak a CP és MP kompatibilitása is feltétele, ennek szerkezeti alapjait Salánki Katalin és munkatársai a CMV-TAV rendszerben rekombináns vírusokkal részletekbe menően tisztázták. Kimutatták továbbá, hogy a CMV mozgási fehérjéjének a *Cymbidium* gyűrűsfoltosság vírus MP-jével való kicserélése a CMV terjedését támogatja, de egyben – gazdanövénytől függően – a vírustüneteket is befolyásolja.

Kérdések a témához:

Az irodalomban Thompson *et al.* (2006) alanin pásztázó mutagenézissel vizsgálták az egyes régiók szerepét a hosszú távú mozgásban. Kísérleteikben több esetben az eredeti nukleotidsorrend mutáció útján történő visszaállását figyelték meg, míg Salánki Katalin és munkatársai nem találtak erre utaló jeleket. *A kísérleti felépítés milyen eltéréseire vezethető vissza véleménye szerint a különbség? Felállíthatók-e szabályok, s ha igen, milyenek, annak biztosítására, hogy a bevitt virális nukleotidsorrend a kísérleti növényben megőrződjön?*

Thompson *et al.* (2006) kísérleteiben az érintett aminosav triád tagjainak alaninra történő kicserélése nem okozott érdemi változást a szisztémás terjedés vonatkozásában. *Lehetséges-e, hogy az arginin nem a molekulafelszín elektrosztatikus töltéseloszlásának megváltoztatásával, hanem egyszerűen nagyobb mérete okán gyakorolt erőteljes befolyást a vírus terjedésére? Vannak-e erre utaló saját vagy irodalmi adataik?*

Léteznek-e saját vagy irodalmi adatok arra vonatkozólag, hogy a CP 62. és 65. aminosavának alaninra történő kicserélése hogyan befolyásolja az MP-CP kompatibilitást, azaz a hosszú távú terjedést?

A harmadik témakör a Pannon ökorégióban előforduló földimogyoró törpülés vírus (PSV) izolátumok filogenetikai, rekombinációs és tünetani elemzésével foglalkozik, közülük is kiemelten a PSV akácban előforduló izolátumaival. A részletes és gondos molekuláris biológiai jellemzés alapján Jelölt megállapítja, hogy a PSV ökorégiókban előforduló izolátumai egységes, jól elkülöníthető alcsoportot (IV. alcsoport) képeznek, és kialakulásuk a II-es és III-as PSV alcsoport közötti rekombinációval hozható összefüggésbe. A munkának ez a része azért is értékes, mert a cucumovírusokon belül a PSV izolátumok változékonysága és rokonsági viszonyai még kevésbé ismertek.

Általános jellegű kérdések:

Mi az oka annak, hogy a vizsgált esetekben általában a fehérje töltéseloszlásában bekövetkező változás tűnik felelősnek a hatásért?

Véleménye szerint a virális RNS-ek, a fehérjék vagy a virális komponensek mennyiségi viszonyai játszik a nagyobb szerepet a vírustünetek kialakulásában?

Összességében, Salánki Katalin MTA doktori értekezése egy nehéz, de rendkívül érdekes tématerülettel, a tünetek kialakulásának fehérjeszerkezeti okaival foglalkozik. A munka kiemelkedő értékét a téma aktualitásán kívül a megközelítés alapossága és a módszerek kombinációja adja. Mindhárom kérdéskör feldolgozására jellemző, hogy Jelölt és munkatársai biológiai megfigyelésekből kiindulva, a molekuláris virológia eszköztárát biztonsággal kiaknázva a tünetek szerkezeti hátterét kutatják, és molekula modellezés segítségével keresnek magyarázatot a megfigyelt jelenségek okára. A módszerek kombinációjából adódó lehetőségeket véleményem szerint a legmeggyőzőbben az Ns-CMV 461. pozíciójában előidézett aminosavcserék és ezek tünetani vizsgálata esetében tudták kihasználni. Néhány más esetben, ahogy erre az

általam feltett kérdések is utalnak, a bevitt mutációk száma (sokfélesége) véleményem szerint nem volt elég nagy ahhoz, hogy a modell alapján felállított hipotézist bizonyítottnak tekinthessük.

Megállapítható, hogy eredeti és színvonalas kutatáson alapulnak a disszertáció megállapításai. Formai szempontból az értekezés megfelelő. A scientometriai adatok megfelelnek az MTA doktori cím elnyeréséhez szükséges követelményeknek. A Jelölt saját kísérleti eredményeiből levont következtetései mértéktartóak, nemzetközileg is elfogadottak. Magas szintű tájékozottságot, természettudományos, logikus értékítéletet, tiszta látásmódot bizonyítanak.

Salánki Katalin 11 pontban foglalja össze új tudományos eredményeit. A bírálatom 1. oldalán tett korlátozástól eltekintve ezeket maradéktalanul elfogadom. A munka természetesen csapatmunkában készült, amelyben Jelöltnek a molekuláris biológiai és virológiai kísérletek mindegyikében meghatározó szerepe volt. Mindezek alapján Salánki Katalin dolgozatát értékes, alapos és sokoldalú szaktudást tükröző munkának tartom. Az általa elért tudományos eredményeket a cucumovírusok jellemzése és a vírusok tünettana szempontjából jelentősnek ítélem meg.

Fentiek alapján alkalmasnak tartom az értekezést a nyilvános vitára bocsátásra, és sikeres védelem esetén támogatom jelöltnek az MTA doktori cím adományozását.

Dr. Lukács Noémi
MTA Doktora

Budapest, 2013.05.10.