

OPPONENSI VÉLEMÉNY

Dr. Papp Tamás

*„A karotinoid-bioszintézis genetikai háttere és módosításának lehetőségei
járomspórás gombákban” című
MTA doktori értekezéséről*

Dr. Papp Tamás disszertációja, a függelékekkel együtt összesen 136 számozott oldal terjedelmű, de valójában ennél több, mert az idézett irodalmat, közleményeinek jegyzékét és a függelékeket a dolgozattól eltérően kisebb betűmérettel és sorközzel tartalmazza. A dolgozat a megszokott szerkezetű, igényes kivitelű, abban pontatlanságot, elütést találni szinte lehetetlen. Nyelvezete világos és szabatos, okfejtései, magyarázatai logikusak, jól követhetők.

A 34 jól szerkesztett ábra, valamint a 15 táblázat a megfelelően részletes leírással jól segíti és alátámasztja a kísérletek és következtetések, magyarázatok követését.

A dolgozat alapját 21 nemzetközi folyóiratban megjelent közlemény képezi, melyek összesített impakt faktora 49,155, s azokra 215 független hivatkozást kaptak. A dolgozat témájában jelöltnek további 18 közleménye is megjelent, melyek összesített impakt faktora 41,089, s a rájuk kapott független hivatkozások száma 766, azaz a témában megjelent összes publikációja 39, azok impakt faktora 90,244 s azokra összesen 981 hivatkozást kaptak.

Ezen adatokkal kapcsolatban azt emelném ki, hogy bár intenzív nemzetközi kapcsolatokkal rendelkeznek, de a közlemények túlnyomó többsége itthon készült, s a munkacsoport saját ötleteit, gondolatait valósította meg.

A jelölt életműve még ennél is szélesebb körű és gazdagabb, hiszen összes publikációjának impakt faktora 212,5, hivatkozásinak száma 1563, s ezekben jelentős részben első vagy utolsó szerző, jelezvén jelentős hozzájárulását az eredményekhez.

Az itt számokkal bemutatott eredmények akkor is tiszteletet parancsolnak és elismerést érdemelnek, ha tudjuk, hogy jó alapokról indult, hiszen a Szegedi Tudományegyetem Természettudományi Karának Mikrobiológiai Tanszéke az egyik legrangosabb hazai mikrobiológiai kutatóhely, melynek arculatát olyan meghatározó professzorok határozták és határozzák meg, mint Ferenczy Lajos, Kevei Ferenc, Varga János és Vágvölgyi Csaba, s erről a tanszékről került ki több hazai egyetem mikrobiológia professzora is.

A bíráló rendkívül könnyű helyzetben van, hiszen a disszertációban leírt eredmények már megjelentek nemzetközi folyóiratokban, azaz a szakmai megmérettetés és az eredmények elismerése, hitelesítése a szakterülethez nálam jobban értő kutatók részéről megtörtént.

A témaválasztás –a karotinoid bioszintézis genetikai hátterének és lehetséges módosításának vizsgálata – mind tudományos, mind gyakorlati szempontból fontos, hiszen az ebbe a csoportba tartozó vegyületek között sok bír jelentőséggel az

élelmiszer-, kozmetikai- és gyógyszeriparban, illetve az állattenyésztésben táplálék kiegészítőként. Ezek előállítása jelenleg még döntően szintetikus úton történik, holott mikrobiális fermentációval történő előállításuk több előnnyel is járna. Az ebbe az irányba történő elmozdulást segítik elő a dolgozatban leírt eredmények.

Célkitűzésként a β -karotin termelő járomspórás gombák biotechnológiai alkalmazhatóságának fejlesztését fogalmazza meg abból a célból, hogy távlatilag a jelenleginél nagyobb karotinoid termelésre, vagy új karotinoid származékok előállítására nyíljon lehetőség. Kísérleteit a modell organizmusnak számító *Mucor circinelloides f. lusitanicus* törzssel végezte.

Ennek megalapozásához négy területen terveztek, és végeztek alapvető jelentőségű, igen részletes kutatásokat:

1. Létrehoztak egy 445 járomspórás gombából álló, mindenki számára hozzáférhető törzsgyűjteményt. A törzsek azonosítása, taxonómiai besorolása molekuláris bélyegek alapján, mint az ITS régió, LSU, SSU szekvenciák, történt. Vizsgálták továbbá ezen gombák karotinoid termelését és a termelt karotinoidok összetételét, s különböző tenyésztési körülményeknek (szénforrás, tenyésztési hőmérséklet) a karotinoid termelésre kifejtett hatását. Ez a gyűjtemény megfelelő háttérrel kínálja a különböző metabolitok bioszintézisének tanulmányozásához. Ezek „A legfontosabb eredmények összefoglalása” c. fejezet 1-7 pontjaiban vannak összefoglalva.
2. A karotinoid bioszintézis elemzéséhez, és módosításához korábban nem álltak rendelkezésre a járomspórás gombákban a megfelelő transzformációs rendszerek és vektorok, amelyek a bioszintézisben résztvevő saját, vagy akár heterológ gének kifejeztetésére alkalmasak. Munkájuk során ilyen vektorokat (pl. a gliceraldehid-3-foszfát dehidrogenáz gének promóter és terminátor régióinak felhasználásával) konstruáltak, s sikeresen alkalmazták a karotinoid bioszintézis befolyásolására és extracelluláris enzimek heterológ expressziójára járomspórás gombákban. Az autonóm módon replikálódó vektorok mellett a genomba integrálódó vektorokat is létrehoztak és sikerrel alkalmazták. Ezek „A legfontosabb eredmények összefoglalása” c. fejezet 22-23 pontjaiban vannak összefoglalva, de az egyes vektorok konstruálása, azok alkalmazásai s az alkalmazásukkal elért eredmények a 8-21 pontok mindegyikében megtalálhatóak.
3. Az általános mevalonsav útvonal és az izoprén bioszintézis kulcslépéseit katalizáló enzimek (3-hydroxy-3-metilglutaril-koenzim A reduktáz, izopentenil-pirofoszfát-izomeráz, farnesil-pirofoszfát-szintáz és geranilgeranil pirofoszfát szintáz) génjeit izolálták, analizálták, a karotinoid bioszintézisben betöltött szerepüket tanulmányozták, s a törzsfelállításban való használhatóságukat vizsgálták. Ezen kísérleteket „A legfontosabb eredmények összefoglalása” c. fejezet 8-14 pontjaiban összegzi.
4. Igen részletesen tanulmányozták a különböző mikroorganizmusok által β -karotintól keletkező értékes metabolitok, a xantofillok (asztaxantin, kantaxantin, zeaxantin, β -kriptoxantin) bioszintézisében *Paracoccus*ban résztvevő két enzim (β -karotin ketoláz és β -hidroxiláz), illetve a

Xanthophyllomyces dendrorhous β -karotin oxigenáz géneknek heterológ kifejeztetését *M. circinelloides*ben, autonóm replikálódó és integratív vektorokról egyaránt, s analizálták a transzformánsok xantofill termelését. Ezen kísérletek eredményeit „A legfontosabb eredmények összefoglalása” c. fejezet 15-21 pontjaiban olvashatjuk.

A fent röviden összefoglalt négy területen végzett kísérleteinek részletes tárgyalásától terjedelmi okok miatt eltekintek, hiszen nyilvánvalóan a százat meghaladó kísérletről, s azok eredményéről kellene külön-külön részletesen beszámolnom, amit a pályázó nyilván megtesz rövid előadásában. Én itt csak arra szorítkozom, hogy ezek a kísérletek hiánypótlóak, és új tudományos eredményeket eredményeztek, s ezeket én a magam részéről elfogadom.

Kérdésem tulajdonképpen a jövőre vonatkozik: látszik-e esély, vagy van-e a láthatáron a dolgozatban előállított karotin túltermelő, vagy xantofill termelő törzsek biotechnológiai célú felhasználására? Kérdezem ezt különös tekintettel arra is, hogy alapkutatási szinten már a dolgozatban leírt génmanipulációs technikákon való túllépés is megtörtént, amit CRISPR/Cas technológia *Mucor circinelloides*ben történő újszerű adaptációja is bizonyít, mellyel stabil kromoszómális mutációkat hoztak létre, s amely dolgozatuk 2017 decemberében jelent meg a Scientific Reportsban.

A dolgozatban foglalt tudományos eredmények messze meghaladják a doktori mű tudományágban szokásos és elvárható szintjét. A dolgozat minden részlete nemzetközi folyóiratokban volt publikálva, azaz kiállta a szigorú szakmai kontrollt.

Feltétlenül említésre érdemes még a vonatkozó szakirodalom széleskörű ismerete és idézése. Az irodalmi hivatkozások több mint 380 cikket tartalmaznak, s alig fordul elő néhány tipográfiai hiba. Én mindössze egyetlen hiányosságot találtam. Takó és mtsai. 2010-es cikke, melyet a szövegben kétszer is említ, hiányzik a listából.

Fentiek alapján kijelentem, hogy Papp Tamás MTA Doktora pályamunkája mindenben megfelel a követelményeknek, s annak nyilvános vitára bocsátását támogatom.

Debrecen, 2018. március 1.

Dr. Biró Sándor
egyetemi tanár
az MTA Doktora