



**DEBRECENI
EGYETEM**

DEBRECENI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG-, ÉLELMISZERTUDOMÁNYI
ÉS KÖRNYEZETGAZDÁLKODÁSI KAR
KERÉSZETTUDOMÁNYI INTÉZET
H-4032 Debrecen, Böszörményi út 138.
Tel/fax: 52/508-444 email: holb@agr.unideb.hu

Opponensi vélemény **Papp Tamás A karotinoid-bioszintézis genetikai háttere és módosításának lehetőségei járomspórás gombákban** című MTA doktora cím elnyerése érdekében benyújtott disszertációjáról

Papp Tamás több mint két évtizede foglalkozik a járomspórás gombák biológiájával. E tématerületen belül, nemzetközi indíttatásra a karotinoid-bioszintézis kutatás vált meghatározó irányvonallá számára. Munkatársaival együtt végzett kutatásaiban több részterületen is jelentős nemzetközi eredményeket tudhat magáénak. E részterületek között említhető a járomspórás gombák, mint karotinoidtermelő szervezetek jellemzése, a terpén-bioszintézis genetikai hátterének tanulmányozása, a karotinoid-bioszintézis genetikai módosítása, a genetikai transzformációs rendszerek kidolgozása és a heterológ génexpresszió megvalósítása járomspórás gombákban. Mindez egy olyan általános célkitűzés megvalósítása érdekében történt, hogy megvizsgálják a karotinoidtermelő járomspórás gombák biotechnológiai alkalmazásának biológiai feltételeit és alap- és alkalmazott kutatásban felhasználható gombatörzseket hozzanak létre. Papp Tamás az előbbieket eredményeit – egy egymásra épülő logikai láncolatra fűzve – mutatja be MTA doktori értekezésében.

Megtisztelő számomra, hogy a Magyar Tudományos Akadémia gréniuma rám is gondolt e disszertáció potenciális opponenseinek kijelölése kapcsán, és e felkérésnek örömmel teszek eleget. Bár e mikrobiológiai jellegű téma picit távolabb helyezkedik el a saját mezőgazdasági kutatási/érdeklődési szakterületemtől, ugyanis a járomspórás gombák növénykórtani jellegzetességein túlmenően a karotinoid-bioszintézis rejtelvei nem érintik eddigi kutatási irányvonalaimat.

A **disszertáció kvantitatív jellemzői** röviden összefoglalva a következő. A tanulmány teljes terjedelme 136 oldal, melyből 104 oldal a disszertáció tartalmi része, 14 oldal az Idézett irodalom lapszáma, a fennmaradó rész a Közlemények jegyzéke és a Függelék. Az értekezés alapját 21 tudományos publikáció képezi (a szerző által 'A' jelölésű publikációk), melyek közül 19 impakt faktoral rendelkező nemzetközi folyóiratban jelent meg, közel 50-es összesített impakt faktor értékkel és 200 fölötti hivatkozással. E 19 impakt faktoros közleményben az értekezés benyújtója 13 esetben első vagy utolsó szerző. Ehhez kapcsolódik még 13 egyéb impakt faktoros, nemzetközi tudományos közlemény is, 4 első vagy utolsó szerzőségi pozícióval, amelyek az értekezés témájához kapcsolódó 'B' jelölésű publikációk besorolásba kerültek.

A **Bevezetés és irodalmi háttér** fejezet első oldalán megismerhetjük a szerző főbb kutatási, életpálya lépéseit és ehhez kapcsoltan a fő kutatási irányokat, amelyek egyben az értekezés részcélkitűzési feladatai is. Az irodalmi háttér általános körvonalat ad az értekezés célkitűzéseinek logikus vonalvezetésében. Ennek keretében olyan fontos háttér információkat kapunk, amelyek a későbbi eredmény fejezetek felépítő alapkövei lesznek és egyben alá is támasztják Papp Tamás munkatársaival

elért új eredményeit. Ennek keretében elsőként képet kapunk a járomspórás gombák általános jellemzőiről és a terpén-bioszintézis gombákhoz kapcsolható kutatási irányairól, a mikrobiális karotintermelés jelentőségéről. Majd az előbbiek járomspórás gombákhoz fűzhető kapcsolatáról és lehetőségeiről olvashatunk. Ezt követi a bioszintézis útvonalak egyes lépéseinek bemutatása és az egyes útvonalak enzimikus és genetikai hátterének jellemzése. A fejezet azzal záródik, hogy a genetikai manipuláció (pl. genetikai transzformációs lehetőségek, génkifejeződés) kutatási irányai hol tartanak a járomspórás gombáknál. Mindez azzal a céllal történik, hogy a jelölt az eredmények fejezetben majd új eredményekkel szövi tovább az itt megkezdett tudományos vonalat.

A **Célkitűzések** világosak és logikusan felépítettek. Tulajdonképpen a Bevezetés és irodalmi háttér fejezetben 4 sorban bemutatott kutatási irányok ismétlődnek meg részletesebben kibontva a 3. oldalas Célkitűzések fejezetben. A szerző röviden levezeti pl. az egyes járomspórás gombákban végzett karotinoid-bioszintézis kutatásaik kiindulási egységeit, a megvizsgálandó részfolyamatokat és a modellorganizmus kiválasztásának szempontjait. A kutatás olyan tudományos alapokra épít, melynek célja a biotechnológiai alkalmazás feltételeinek megteremtése is. Majd mindezeket figyelembe véve a szerző 4 fő feladat – illetve ez egyúttal 4 konkrét rész-célkitűzés – megvalósítását határozza meg a disszertációban. Az első feladat a karotinoidtermelő törzsgyűjtemény létrehozása és jellemzése, a második a célirányos bioszintézis kulcslépésekhez kapcsolódó enzimek és géneiknek jellemzése, a harmadik a specifikus karotin-bioszintézis módosítás vizsgálata és a végezetül, a negyedik a hatékony transzformációs rendszerek kidolgozása.

A feladatok világosak, ok-okozati összefüggésben vannak és célirányosan épülnek egymásra. Mindössze az első feladattal kapcsolatban osztanám meg egy észrevételemet. A Célkitűzések fejezet első pontjában a karotinoidtermelő törzsgyűjtemény létrehozása és jellemzése fogalmazódik meg, míg a Bevezetés és irodalmi háttér fejezetben a kutatási irányok első pontjában nem jelenik meg a törzsgyűjtemény létrehozása csak annak jellemzése; ezzel egyetértésben az értekezés címe is egyértelműen a 2-4. feladatpontokat célozza meg. Ez bizonyos értelemben összevág azzal a véleményemmel, hogy a törzsgyűjtemény létrehozása egy olyan kiindulási alap, ami feltétele a komoly tudományos célkitűzések/hipotézisek, majd az ehhez igazított feladatok végrehajtásának; emiatt a legtöbb esetben egy törzsgyűjtemény létrehozása kevésbé értelmezhető valós tudományos célkitűzésként ill., az ehhez kapcsolódó célkitűzési feladatként. Jelen disszertációban a törzsgyűjtemény létrehozása abban az értelemben mégis célkitűzésként értelmezhető, hogy a vizsgált járomspórás gombacsoporton belül, új gombagyűjteményi tagok azonosítása, filogenetikai viszonyainak feltárása is megjelenik a törzsgyűjtemény létrehozásával összefüggésben, így az újonnan azonosított gombák törzsgyűjteményi része képes új tudományos eredményeként realizálódni. Természetesen az első feladatpontban megjelenő törzsgyűjteményi jellemzés célkitűzési jellegét ez nem érinti, mert mind az új, mind a kevésbé vizsgált fajok/törzsek jellemzése, gyakran rendkívül hasznos/értékes tulajdonságok feltárását, azaz új tudományos ismeretek megszületését eredményezik, mint jelen értekezésben is tapasztalhatjuk.

Az **Anyag és módszer** fejezet tömören, 6 oldalon és 13 alfejezetben mutatja be a munka módszertani jellemzőit. Szerkezete igyekszik hűen követni a célkitűzésben megfogalmazott 4 fő feladat logikai rendszerét. A 6 oldal terjedelemben nyilvánvalóan nem lehet (és talán az MTA doktori értekezés keretén belül nem is cél) minden részletre kiterjedő módszertani leírást adni. A módszerek további részleteire viszont a hivatkozott irodalmak választ adnak, köztük azokra is, amelyek az értekezés módszertani fejezetének első olvasatakor kérdésként merülhetnek fel az olvasóban.

Az **Eredmények és megvitatásuk** fejezet 68 oldal terjedelemben jól illeszkedik a célkitűzés 4 fő feladatához, és ennek megfelelően 4 fő eredményfejezetre tagozódik, majd végeredményben összesen további 8 alfejezetre bővül. A fő fejezetek:

1. karotintermelő gombák törzsgyűjteményének létrehozása és jellemzése (8 közleményre alapozottan);
2. az általános mevalonsav út kulcslépéseit meghatározó gének jellemzése és az útvonal módosítása járomspórás gombákban (7 közleményre alapozottan);
3. a specifikus karotinoid-bioszintézis vizsgálata (4 közleményre alapozottan);
4. a járomspórás gombák genetikai manipulációjához szükséges transzformációs rendszerek kidolgozása (8 közleményre alapozottan).

Egyes közlemények eredményeinek bemutatása (pl. Papp et al., 2006, 2013; Vastag et al., 2004; Takó et al., 2010; Csernetics et al., 2011) több fejezetben is szerepel, de természetesen az éppen odavágó cikk részletek bemutatásával.

Jellegetesen, egyes eredmény fejezetek előtt kapunk egy-egy hosszabb-rövidebb specifikus bevezetőt/átvezetőt és emellett egyfajta útmutatást is, hogy mi is az adott fejezetben az elérendő cél, elvégzendő feladat vagy megválaszolendő kérdés az adott résztémáról (pl. az 5.1.1. fejezetben vagy az 5.2.1.1. fejezetben). Ezek a szakaszok a Bevezetés és irodalmi háttér valamint a Célkitűzések fejezet idevonatkozó irodalmi háttérére nagyon erőteljesen és szervesen építkeznek, de ezek még nem a szerző saját eredményei, azonban itt szerepelnek az Eredmények és megvitatásuk fejezetben. Ezek a részek egyes esetekben hasonlíthatók a folyóiratcikkekben általános 'Introduction' fejezet rövidített változatához, amelyek előinformációkat adnak az adott fejezet specifikus eredményeihez. Valóban, komoly dilemma, hogy e részek a Bevezetés és irodalmi háttér fejezetbe kerüljenek-e akár több 10 oldallal megelőzve az adott eredményt, vagy közvetlen az adott eredmények előtt kapjuk meg azok olvasásához e előzetes tudományos impulzusokat. Bár ezek a részek nem szerző közvetlen eredményei, de jómagam hasznosnak tartom az Eredmények és megvitatásuk fejezetben, mert nagyon jól elősegítik az eredmények egymáshoz kapcsolódásának mind előzményi mind továbbviteli láncolatának megértését. Ugyanakkor érezhető, hogy az új eredmények diszkussziója az értekezésben kisebb hangsúlyt kap, mint az eredmények kibontása.

A karotinoidtermelés biotechnológiai alkalmazásának biológiai lehetőségei a járomspórás gombákban valamint a felhasználható törzsek bemutatása számos vonatkozásban kellően részletezettek az értekezésben. Ebből adódik az értekezés körében született eredmények hasznosulási, gyakorlati alkalmazási lehetősége is. Nevezetesen, hogy az értekezés körében értékesnek ítélt új törzsek esetében, eddig milyen ipari biotechnológiai alkalmazási, gyakorlati hasznosulási lehetőségek születtek ill., milyen stádiumban vannak a jövőbeni ipari hasznosulási lehetőségek? Mennyiben hasonlíthatók ezek össze az adott témában elért ipari alkalmazási lehetőségekkel?

Eredmények összefoglalása fejezet 23 pontban mutatja be az értekezés legfontosabb eredményeit. Számomra szokatlanul jelentős ez a 23-as szám, noha nem a tudományos tartalom tekintetében, hanem inkább abban a vonatkozásban, hogy az egyes pontok szakaszoltabb formában szerepelhettek volna e fejezetben, a 4 fő célkitűzési feladatpontnak megfelelő csoportosításban pl. az 1-7. pontok a törzsgyűjtemény létrehozása és tulajdonságainak jellemzése csoportba kerül és így tovább. Ezen belül talán egy-egy jelenlegi eredménypont (pl. 1-2. pontok) logikai összevonása is lehetséges, melyre a jelöltnek lehetősége adódhat az új eredmények összefoglalásának bemutatáskor az értekezés nyilvános vitáján.

Az eredmények összefoglalása 5. pontjával kapcsolatban észrevételelem a következő. A 38. oldalon a 7. ábrán az autentikus törzsek száma/a leírt fajok száma és a MOTU-k száma látható. Az ehhez kapcsolható lineáris függvények pedig a szövegben kerülnek bemutatásra. Az 'A' ábrán nem jelenik meg a lineáris

függvény és így a MOTU 100 % és az autentikus törzsek száma közötti 170-es érték metszéspontja sem érzékelhető, ugyanígy a 'B' ábrán a 100 % és 126-os érték esetében sem. E nélkül az ábrák a trendszerűséget valóban csak sugallják, ahogy azt a szerző $y=0,54x$ függvény esetében le is írja. A 7A ábrára vonatkozó függvényből $0,54 * 170 = 91,8$ -as MOTU érték kapható, vagy fordítva 100 % MOTU értékhez ($0,54 * x = 100$) 185,2-es, azaz ~ 185 autentikus törzsszám tartozik (a szerző által megadott 170-nel szemben), ami az mutatja, hogy a megadott lineáris függvény nem illeszkedik kellően. Ezt az is igazolja, hogy a szerző szerint is telítődési görbe jelleg várható, amihez viszont nem lineáris függvényillesztés tud megfelelő választ adni az autentikus törzsek számának becslésékor. Emellett, mivel becslésről van szó, egy tartományi értéket, nem pedig egy konkrét számot várhatnánk az autentikus törzsek számának meghatározásakor. Ugyanez érvényes a 7B ábra esetében is a leírt fajok számának becslésékor.

Egyéb periférikus megjegyzések:

6. oldal: gombák vonatkoztatva nem szerencsés a 'kártevő' illetve a 'raktári kártevő' kifejezés használata. Gombákra vonatkozóan a 'növénykórokozó gomba' illetve 'raktári növénykórokozó gomba' kifejezés javasolható. A 'kártevő' kifejezés sokkal inkább az 'állati kártevők' vonatkozásában a helytálló.
8. oldal: az ergoszterin és annak bioszintézise nemcsak a klinikai gyakorlatban, de a mezőgazdaságban, a növényvédelemben is erőteljesen kutatott terület. EBI fungicidok néven ismert, igen jelentős gombaölő szer csoport, noha nem a járomspórás gombák, hanem egyéb növénykórokozó gomba csoportok elleni védekezésben töltenek be jelentős szerepet.
9. oldal: 'RJ' törlendő lenne a 'COGDELL' után, a helyes 'FRAK és COGDELL 1996'.
- 12., 47., 63. és 65. oldal: *Mucor circinelloides* név kiírására lett volna szükség, mivel a faj nevével kezdődik a mondat.
13. oldal: Ugyancsak mondatkezdő a *S. cerevisiae*.
35. oldal: A 6. ábra esetében mindössze a 6 F, G, P, Q, és O részakra hivatkozásokat találtam meg a szövegben, a 6 A-tól 6 R-ig terjedelmű részabrákból.
38. oldal: $y = 0,54x$ és $y = 0,721x$, az $y = 0.540x$ és $y = 0.721x$ helyett.
54. oldal: 5. táblázatnál '... $p < 0,05$ ':.
44. és 72. oldal: A görög betű (β) hol normál, hol dőlt (β) jelöléssel szerepel.
73. oldal: A 'Papp és mtsai.' formázása a szövegben (nem a címben) 'PAPP és mtsai.' formában a megfelelő.
- 89. oldal: *M. circinelloides* a megfelelő a *M circinelloides* helyett.
- Ábrák és táblázatok jelölése: 7. oldal: nagyon helyesen az 1. ábrán a gomba teljes névvel szerepel első említéskor, mivel a táblázatok/ábrák a szövegtől függetlenül önállóan kell, hogy értelmezhetőek legyenek. Ugyanakkor egyes további ábrák/táblázatok címeinél a fajnév első említése is rövidítéssel szerepel (pl. 8., 13. ábrák; 4., 5. táblázatok) vagy csak a törzs kódolt neve jelenik meg (pl. 9-11. ábrák). A 12. ábráról lemaradt az 'A' jelölés. Mindezek a példák több esetben előfordulnak különböző kombinációkban az ábrakon/táblázatokon.

A fentiek alapján megállapítom, hogy a benyújtott disszertáció eredeti adatok alapján készült. Kijelentem, hogy a doktori disszertációban foglalt kutatási munka és a jelölt tudományos tevékenysége alapján Papp Tamás tudományos eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktora cím megszerzéséhez, és egyben javaslom az ezzel kapcsolatos nyilvános vita kitűzését és a disszertáció alapján az MTA doktora cím adományozását.

Debrecen, 2018. március 1.

Tisztelettel:

Holb Imre

intézetvezető, egyetemi tanár