

## BÍRÁLAT

**Várallyay Éva: Növényeket fertőző vírusok  
gazdanövényre gyakorolt hatásának vizsgálata, diagnosztikája és felhasználása  
a molekuláris biológiában**

címmel benyújtott MTA doktori értekezéséről

Az értekezés alapját 11 publikáció képezi, összesített impakt faktoruk 34,879, az idegen hivatkozások száma 104. Ehhez további 11 a témában megjelent publikáció kapcsolódik. Feltétlenül megemlítendő, hogy ezeken túl Várallyay Éva PhD-fokozata megszerzése óta további 17 publikáció társszerzője, köztük hatnak első szerzője. Utóbbi közlemények impakt faktora 66,086, az idegen hivatkozások száma 1006. Mindezek alapján Várallyay Éva az MTA doktori követelményeket maximálisan teljesítette.

A dolgozat jól szerkesztett, gondos, logikus felépítésű, a fejezetek beosztása és címadása nagyon áttekinthetően vezeti át az olvasót a bemutatott kutatási területeken. Várallyay Éva mondanivalóját számos, összesen 117 ábrával támasztja alá. Az ábrák szépek, elősegítik a megértést és elmélyedést, bár a kevésbé saszemű bíráló számára egyes ábrák (pl. 43., 65. ábra) betűmérete komoly kihívást jelent. Az általam olvasott példányba sajnos néhány üres vagy elcsúszva nyomtatott oldal is belekerült, de összességében az értekezés nem csak érdekes és logikus, de esztétikusan prezentált is.

Bár nem tartozik szorosan az értekezés témájához, mégis először arra hívnám fel a figyelmet, hogy Várallyay Éva is azok körébe tartozik, akik Burgyán József nagy nemzetközi elismerést kivívott csoportjában váltak érett, önálló témát kifejleszteni képes kutatókká. Burgyán József nagy érdeme, hogy nemcsak magas szintű kutatást végzett, és a jó kutatás gyakorlatába vezette be fiatalabb munkatársait, hanem olyan értelemben is iskolát teremtett, hogy támogatta, hogy tovább lépjenek, önállóvá váljanak. Várallyay Éva értekezése meggyőzően demonstrálja, hogy az RNS-interferencia jelenségéből és módszertanából kiindulva milyen sokféle tudományos probléma megközelítése válik lehetővé.

A Burgyán-iskola a vírus-fertőzésekkel összefüggő géncsendesítés és a vírusok ezzel szembeni védekezésének kutatásában ért el kiemelkedő eredményeket. És ahogy ez a tudományban lenni szokott, a kezdeti egyszerűnek, komplex jelenségeket is megmagyarázni tudónak tűnő felfedezéseket részletesebb, mélyebbre hatoló vizsgálatok követték. Amint azt Várallyay Éva értekezésének első nagy fejezete bemutatja, ezek kapcsán bizonyítani tudták, hogy a különböző vírusok VSR fehérjéinek hatása a virális sRNS-ek kötésén túl más módon is érvényesül, a miR168 indukcióján keresztül ugyanis transzlációsán gátolják a gazda AGO1 aktivitását. Ezt a hatást az sRNS-kötő képességétől megfosztott tobuszvírus p19 VSR fehérje is kiváltja, és a fertőzött növény víruskoncentrációjára és a tünetek súlyosságára is hatással van. Ez az új tudományos eredmény is a vírusok mint információcsomagok szinte meghökkenítő sokoldalúságát demonstrálja.

*Született-e a kísérletek lezárása óta olyan irodalmi adat, amely a megfigyelésekre magyarázatot ad?*

A fertőzés okozta tünetek kialakulásának vagy ki nem alakulásának megértése a víruskutatás Szent Grálja. Várallyay Éva és munkatársai két, nagy áteresztőképességű, előfeltételezést nem igénylő módszerrel, azaz microarray hibridizációval és mRNS-szekvenálással kísérelték meg a génexpressziós változások átfogó azonosítását. A vizsgálatok azt mutatták, hogy (1) az mRNS HTS technika megbízhatóbb eredményeket ad, mint a microarray, (2) a vírusfertőzés a qRT-PCR-nél gyakran viszonyítási alapként használt háztartási gének expresszióját is befolyásolhatja, és (3) míg az akut fertőzés erőteljes változásokat okoz a génexpresszióban, perzisztens fertőzéseknél alig figyelhető meg változás. A génexpresszió akut típusú fertőzéseknél megfigyelt jelentős változásában a szintén érintett AGO4 kulcsszerepét feltételezik. Ezzel a kérdéskomplexummal kapcsolatban több kérdés is felmerül:

*Mit ért Jelölt akut, perzisztens, ill. látens fertőzésen? Melyek a perzisztens fertőzés jellemzői, mi a perzisztáló vírus sorsa? Értekezésében, úgy tűnik, hogy a perzisztens és látens kifejezéseket szinonimaként használja. Ezt helyesen értelmezem?*

*Nagyon sok vizsgálat foglalkozik az irodalomban a tünetek kialakulásáért felelős virális komponensek és folyamatok azonosításával, és ennek itthon is szép hagyományai vannak. Ezeket és a modern molekuláris biológia eszköztárát ismerve, milyen megközelítést tartana különösen ígéretesnek?*

Vírusokból kialakított VIGS vektorok segítségével befolyásolható a gazda géncsendesítése és információt nyerhetünk a kiválasztott gén szerepéről. Jelölt az értekezés következő nagy fejezetében bemutatja, hogy SHMV tobamovírusból sikeresen előállítottak egy VIGS vektort, amely *M. truncatula* és *N. benthamiana* növények génjeinek csendesítésére képes, és jellemezték ennek alkalmazhatóságát. BSMV VIGS vektort használva búza Mlo gén csendesítésére lisztharmat ellenállóságot tudtak előidézni. Mindkét eredményt új tudományos eredményként fogadom el, de egyben utalok rá, hogy az értekezés 110. oldalán az új tudományos eredmények felsorolásánál az 5. pontban elírás történt, mert nem SHMV, hanem BSMV VIGS vektorral végezték a kísérletet. Az elírás javítását kérem. A VIGS vektorok alkalmazása szempontjából fontos megállapítása a dolgozatnak, hogy különböző üres vagy az adott endogén génszakaszt nem célzó, általánosan használt VIGS vektorok nem-cél gének, így háztartási gének expressziójában is előidézhetnek változást. Ezzel kapcsolatban különböző növényeknél vizsgálták, hogy melyik lehetséges VIGS-vektor alkalmazható ideálisan. Kapcsolódó kérdésem:

**S. lycopersicum* és más gazdanövényeken PVX-, TMV- és TRV-VIGS vektorok hatását vizsgálták. Milyen kísérleti megközelítéssel lehetne a jelenség, a nem-cél gének expressziójának megváltozását eredményező folyamat megértéséhez közelebb kerülni?*

A dolgozat záró fejezete a gyakorlat és a molekuláris biológiai ismeretek és módszerek szép összekapcsolása, amelyben az sRNS HTS technikát általános víruskimutatási módszerként alkalmazzák fás szárú növények (szőlő és kajszi) és ültetvényeik vírusfertőzöttségének kimutatására. A fás szárú ültetvények szaporítóanyagánál és a törzsültetvényeknél a vírusmentesség ellenőrzésének különös jelentősége van, és mára kezd általánosan elfogadottá válni, hogy szükség van arra, hogy az adott növényfajban, annak közvetlen környezetében előforduló vírusoknak lehetőleg az összességét átlássuk, ne csak a nagy gazdasági károkat okozókat. Így e vizsgálatok felvállalását és eredményes véghezvitelét csak üdvözölni tudom. Nem véletlen, hogy a vizsgálatok eredményeképp hazánkban először írták le szőlőben három

(GPGV, GSyV-1 és GVS), csonthéjasokban két (CVA és LChV1) vírus jelenlétét, és bizonyították, hogy a korábban leírt GLPV vírus valóban létezik.

A fejezethez kapcsolódó kérdéseim:

*A 93. oldalon a szöveg és a 96. ábra között ellentmondást érzek (11. minta), ill. feltételezem, hogy a szövegben a 12. számú mintáknál elírás történetett (valójában 15, 16?).*

*Milyen standardizálásokat ill. bioinformatikai változtatásokat javasolna az sRNS HTS rutin diagnosztikai bevezetésének elősegítésére? A fertőzöttség kimutatásánál alsó határként megadja, hogy egy 8-10 növény kivonatából kevert mintában legalább egy fertőzött növénynek kell lennie a kimutathatósági határ eléréséhez. Tudható-e, hogy ebben a növényben alacsony ill. magas multiplicitásban jelenlévő vírusok esetén van-e eltérés?*

*Megállapítja, hogy a fertőzések eredete valószínűleg a szaporítóanyagban keresendő. Lágyszárú növényeknél megfigyelték, hogy a szigorúan patogénmentes környezetben tartott növények szabadföldi körülmények közé kerülve viszonylag gyorsan vírusokat fognak be. Hogyan alakul ez fás szárúak ültetvényeiben, figyelembe véve azok hosszú élettartamát? Származhat-e a 6.4.2.10. fejezetben leírt GRVFFV izolátumok egy ültetvényen belül megfigyelt variabilitása utólagos fertőzésből?*

Összefoglalóan szeretném megjegyezni, hogy örömmel olvastam Várallyay Éva értekezését, örömmel láttam, hogy az RNS interferencia oldaláról közelítve milyen sokféle elméleti és gyakorlati kérdésre kereshetünk és találhatunk választ. A dolgozatban megjelölt eredményeket (7. fejezet, 110. oldal) új tudományos eredményként elfogadom. Ebbe az 5. pontot is beleértem, ahol azonban az elírás javítandó.

A benyújtott értekezésben foglalt tudományos eredmények és Várallyay Éva tudományos munkássága alapján minden fenntartás nélkül javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását, és sikeres védés esetén az MTA Doktora cím odaítélését.

Szirák, 2021.02.15.

Dr. Lukács Noémi