

Eötvös Loránd Tudományegyetem
MIKROBIOLÓGIAI TANSZÉK
Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C.
H-1117
E-mail: MIKROBI@ELTE.HU

Válasz Dr. Borbély György bírálatára

Tisztelt Bíráló!

Nagyon köszönöm, hogy elvállalta dolgozatom részletes bírálatát és hogy javaslataival, megjegyzéseivel segíti későbbi munkámat, kritikai észrevételeivel kivétel nélkül egyetértek. Külön köszönöm a pozitív visszajelzéseket az elvégzett kutatómunka mennyiségére és minőségére, valamint a dolgozat stílusára vonatkozóan is.

Dolgozatommal az volt a célom, hogy az elmúlt években történt ökológiai és alkalmazott mikrobiológiai kutatási területeken általunk felfedezett új baktériumtaxonokat, és ezen keresztül a prokarióta taxonómia módszertani fejlődését is bemutassam. Ehhez elengedhetetlen volt, hogy nem részletekbe menően, de leírjam azokat a kutatásokat, amelyekből ezek a tudományra nézve új taxonok származtak. Így a dolgozatban valóban az elmúlt 20 év munkája rajzolódik ki.

Egyetértek bírálóm azon felvetésével, hogy a megértést segítő rövidítések jegyzékét valóban célszerű lett volna a dolgozat elejére tenni. A nagyságrenddel kapcsolatos megjegyzést külön köszönöm, hiszen a magyar és angol nyelvben ez valóban eltérő. A dolgozat olvasmányos stílusa valószínűleg az elmúlt évtizedek oktatási tapasztalataival függ össze, a dolgozatban előforduló elütési hibákért elnézést kérek.

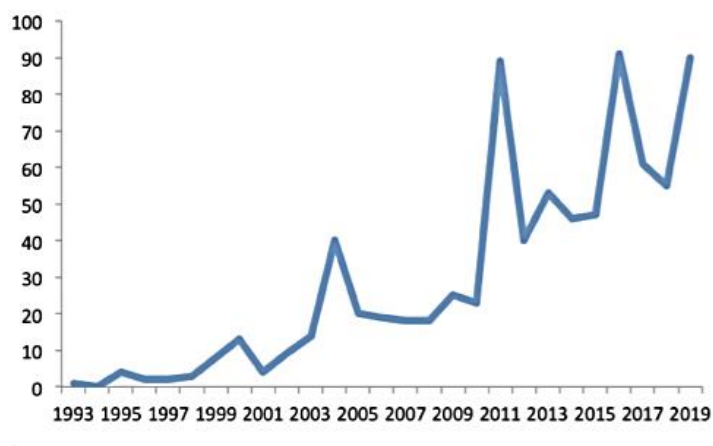
Köszönöm, hogy az Irodalmi áttekintés fejezetet pozitívan értékeli, hogy a kutatások leírását az Anyag és módszer fejezetben megfelelőnek találja, valamint hogy elfogadja a munkán végigvonuló „szükséges és elegendő” koncepció alkalmazását, a taxonómiai megközelítéseknél ez valóban fontos.

Köszönöm, hogy felhívta a figyelmem a Szerkesztők és szerzők kézikönyvére (Gyurgyák, J., 1996), ennek javaslatait a későbbiekben alkalmazni fogom.

A bíráló kérdéseire adott válaszaim:

- 1. Mi a véleménye a javasolt változtatásokról, - a "Candidatus" fajokról (p. 40)? Valószínűen, a dolgozat vésekor, a fenti kérdésben, a döntés is megszületet(hetett) az ICP EB-ben.**

A „Candidatus” kifejezést az 1990-es években vezették be a bakteriális taxonómiába azon baktériumok esetén, amelyek nem tenyésztethetők, de 16S rRNS génszekvenciájuk (esetleg genomjuk), valamint néhány egyéb tulajdonságuk ismert. A típus (genetikai) anyag fogalmát 2020 őszén hosszas vita után (a vitában megszólaltak az egyes törzsgyűjtemények képviselői is) az ICSP az elutasította. Azonban a diskusszió tovább folytatódik a Candidatus-ok körül, hiszen az elmúlt években a metagenom szekvenálások eredményeképpen a nem tenyésztethető prokarióta taxonok felfedezésében drámai növekedés tapasztalható (ld. 1. ábra).



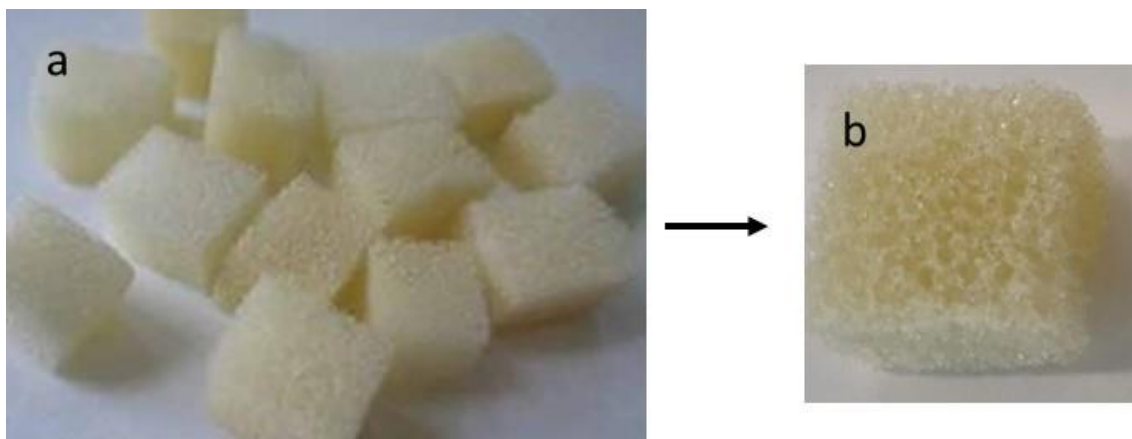
1. ábra. A publikált Candidatus fajnevek mennyiségének alakulása 1993-2019 között (Pallen, 2021).

A jelenlegi nomenklatúra (ICNP: International Code of Nomenclature of Prokaryotes) Candidatus taxonokként már lehetővé teszi olyan szervezetek publikálását, amelyek nem tenyésztethetők. A „Candidatus rendszerből” egyetlen elem hiányzik, a nomenklaturális prioritás (azaz, ha egy Candidatus taxont sikerül tenyésztésbe vonni, akkor az eredeti Candidatus névnek prioritása legyen a fajnév megállapításakor). A Candidatus szervezeteknek ilyen elsőbbség biztosítása a nevezéktanban azonban elkerülhetetlenül gondot okozna, hiszen ahelyett, hogy megkövetelné ezen baktériumok megfelelő izolálását és tenyésztését, ez a javaslat arra ösztönözné a kutatókat, hogy rövidítsék le ezen taxonok megfelelő jellemzését. Jelenleg (2021. december) hosszas értekezés folyik az ICNP módosítása körül. A gyakorlati megvalósítási problémák ellenére a Candidatus státuszt mára több, mint 1000 taxonra alkalmazzák: sok Candidatus név már *de facto* helyet kapott a tudományos irodalomban és az adatbázisokban azáltal, hogy egy lektorált publikációban a genomszekvencia lerakása során a Candidatus taxon is leírásra került. Az ún. Candidatus nevek bevezetése/használata alternatívát jelenthet az esetleges felfordulással szemben, viszont ez egy új, további nevezéktani-kód létrehozásával járhat. Igaz viszont, hogy ez utóbbi megoldást kínálhat arra a sürgető kihívásra, hogy sok ezer újonnan felfedezett, de tenyésztésbe nem vonható baktérium taxont nevezzenek el egy alternatív nevezéktani kód létrehozásával (SeqCode néven tevezik megtenni). A Prokarióták Nemzetközi Nevezéktanának (ICNP) szerkesztőbizottsága az idén összeállította felülvizsgálni kívánt javaslatait (Oren és mtasi., 2021). Az ICNP alapszabályának

13(b)(4) és 4(d) értelmében a dokumentum nyilvános vitája 2021. július 1-jén kezdődött, és 6 hónapig tart (azaz 2021. december 31-ig).

2. Az autoklávozás nem változtat a "kocka" szerkezetén, vagy a sterilitás elérésére más módszert alkalmaznak?

A purhab leírás szerint két fő összetevőből, izocianátból és polioltól áll, melyekhez különféle habképző- és kiegészítő anyagokat kevernek. Az egymással és a levegővel történő érintkezésükkor jön létre az a reakció, amely végül a habképződéshez vezet - és ez levegőn nagyon gyorsan megszilárdul. Kísérleteink során ugyanazt a hab anyagot használtuk (<https://www.obi.hu/purhabok/purhab-300-ml/p/3186608>), amelyet építkezéseknél alkalmaznak, a termékismertető alapján „-200 és +135 °C-ok közötti hőmérsékleten alkalmazható”. Így a 121°C-on történő autoklávozás annak szerkezetét nem módosítja. A kísérletek során először próbaként autoklávoztuk az általunk elkészített és méretre vágott kockadarabokat és azt tapasztaltuk, hogy az állagában a számunkra fontos „lyukacsos” szerkezet (amely a tápagar és a mikrobák számára a megtelepedéshez nagy fajlagos felületet biztosít) megmaradt a magas hőmérsékletű hőkezelés ellenére. A sterilizált poliuretán blokkokat ezután merítettük a dúsítós kísérletekhez megfelelően összeállított, szintén steril agart és/vagy gelrite-ot is tartalmazó tápközegbe. Annak szilárdulása után helyeztük a blokkokat a dúsító közegekbe. Az 2. ábrán a sterilizálás előtti, majd az autoklávozás utáni kockákról készített fotók láthatóak.



2. ábra. Poliuretán hab - kockák a). sterilizálás előtt b). autoklávozást követően.

3. Mi a véleménye a mikrobiális taxonómiában felvetődő *flagellum*, kontra *cilium(a)* vitáról, ami a prokaryota és az eukaryota taxonok megkülönböztetésére szolgál(hat) (p. 51., 1. sor).

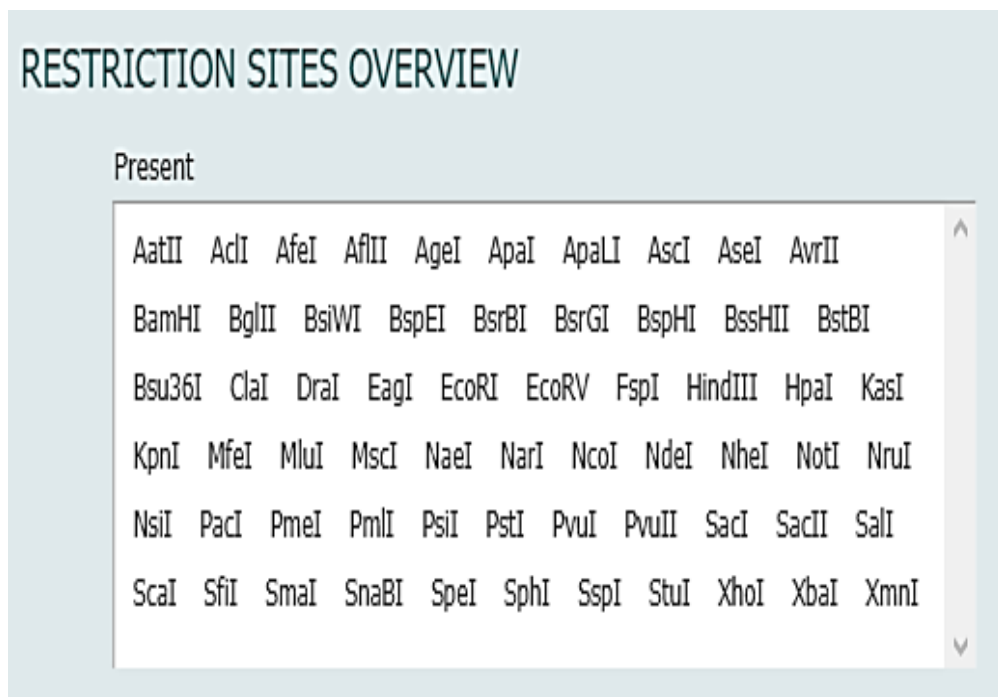
Az eukarióta sejtek esetén csillókat és ostorokat lehet elkülöníteni, mindkettő a sejtek aktív mozgásáért felelős sejtalkotó. Ezen sejtszervecskék felépítése hasonló, de számukban és hosszukban, valamint a mozgás módjában és annak szabályozásában különbség van: a csillók rövidebbek (általában 5-10 μm), számuk nagy (akár több száz is lehet), mozgásuk általában gyors lecsapásból, rotációs jellegű mozgásból áll, melyet egy lassabb visszatérés követ. Ostora

egy sejtnek leggyakrabban egy van, ennek hossza elérheti a 150-200 μm -t, mozgására a szinusz hullámok (unduláló mozgás) jellemzőek.

A prokarióták csillói szintén az aktív mozgásért felelős sejt felszíni képződmények, de számuktól és elhelyezkedésüktől függetlenül csillónak nevezzük őket: igen vékonyak (15-20 nm átmérőjűek, tehát a fénymikroszkóp optikai felbontása alá esnek), viszont a sejt hosszát akár többszörösen is meghaladó hosszúságúak lehetnek. Felépítésük szerint különböznek az eukarióta csillótól és ostortól is, hiszen a prokarióta csillókat nem mikrotubulusok alkotják, hanem a citoplazma membránhoz közvetlenül kapcsolódó alapi test, a kampó (rugalmas fehérje), és a sejt felszínéről a környezetbe nyúló, filamentum. A mozgás azonban a prokarióták esetén is rotációs jellegű (az alapi testből kiinduló forgó mozgás a kampó segítségével továbbítódik a filamentumhoz, amely óramutató járásával megegyezően vagy ellentétesen körkörös mozgást végez). Ily módon a csilló elnevezést a prokarióták esetén megfelelőnek tartom.

4. A dolgozatban teljes genomszekvenciák analízisét is látjuk. Az érdeklődés szintjén felvetődik a kérdés: találtak-e a megvizsgált genomokban, restriktív enzimekre utaló szekvenciákat?

A dolgozat a 2020-ban leírt *Phragmitibacter flavus* teljes genomjának információit tartalmazza. A 3. ábra mutatja ezen baktérium genomjában talált restriktív hasítóhelyeket.



3. ábra. *Phragmitibacter flavus* restriktív hasítóhelyei ("Restriction Analyzer" online tool; <https://molbiotools.com/restrictionanalyzer.html>).

A *P. flavus* genomjában összesen 62 különböző restriktív hasító helyet találtunk (3. ábra), legtöbb hasító hely több alkalommal előfordult. Erre hadd említsek néhány példát: a *Phragmitibacter flavus* teljes genomjában a HindIII 1015, MfeI 1018, NarI 1154, FagI 1294,

EcoRI 1767 és a BscBI 4498 alkalommal fordult elő, tehát némely hasító helyet hihetetlen gyakorisággal találtunk meg, ami azonban nem meglepő egy teljes genom szekvencia esetén.

Felhasznált irodalom:

Gyurgyák János: Szerkesztők és szerzők kézikönyve, Osiris Kiadó, 1996.

Pallen, MJ. (2021). The status Candidatus for uncultured taxa of Bacteria and Archaea: SWOT analysis). Int J Syst Evol Microbiol 71(9):005000.

Oren, A., Arahall, DR., Rosello-Mora, R., Sutcliffe, IC., Moore, ERB. (2021). Public discussion on a proposed revision of the International Code of Nomenclature of Prokaryotes. Int J Syst Evol Microbiol 71:004598.

Mégegyszer köszönöm bírálóm munkáját és építő észrevételeit.

Budapest, 2021. 12. 15.



Dr. Tóth Erika