

## **Opponensi vélemény Tóth Szilvia Zita „Az aszkorbát (C-vitamin) bioszintézise és szerepei a fotoszintézisben és a zöldség hidrogéntermelésében” c. MTA Doktori értekezéséről**

Az aszkorbát szerepe mind növényi, mind állati vagy humán szervezeteknél sok esetben régóta kutatott, és jól ismert. Azonban vannak olyan területek, ahol szintén fontos szerepet játszik, azonban ennek leírása, különösen a pontos mechanizmust illetően még nem történt meg. Jelen dolgozatban leírt munka fő célja ezen hiányosságok pótlása volt. A fotoszintetikus elektrontranszportlánc működésének jobb megismerésének fontosságát nem lehet eléggé hangsúlyozni. A fotoszintézis egy rendkívül összetett rendszer működésén alapul. Az összetettségéből adódóan maga a folyamat egy igen érzékeny rendszer, melynek fenntartását több mechanizmus szabályozza. Ezen szabályzó folyamatok jobb megismerése az elméleti ismeretek gyarapításán túl hosszú távon hozzájárulhat ahhoz is, hogy az eredmények felhasználásával hatékonyabban fotoszintetizáló, ezáltal nagyobb biomasszatömeg előállítására képes növényeket hozzunk létre. A dolgozat másik altémája a zöldség által végzett hidrogéntermelés szabályozásának tanulmányozása. A hidrogéntermelés gyakorlati kimenetele az energiaellátás javításában nyilvánulhat meg. Mindezek alapján elmondható, hogy a vizsgált téma mind elméleti, mind gyakorlati szempontból nagy jelentőséggel bír.

### ***Formai értékelés:***

A dolgozat „Rövid értekezés” (tézisek) formában íródott. Az érdemi rész összesen 59 oldal, amit az értekezés alapjául szolgáló 12 darab cikk függelék formájában egészít ki. Az érdemi rész felosztása a hagyományos rendet követi. Az Általános bevezetést a Célkitűzések fejezet követi. A megfogalmazott célok tömörek, jól definiáltak, és már itt utal a hozzájuk tartozó eredmények dolgozatbeli és publikált elérhetőségeire. Az alkalmazott módszerek leírása szintén tömör és vázlatos. Tekintettel arra, hogy sokoldalú módszereket használt (biofizikai, analitikai és molekuláris biológiai módszerek is megjelentek), és hogy ezek a függelékben részletesen megtalálhatók, ez a bemutatási mód elfogadható. Az eredmények leírása és megvitatásuk egy fejezetben történt, ahol minden alfejezet végén egy rövid összefoglalás található, majd az egész dolgozat szakmai részét egy közös Összefoglalás zár le. Az eredmények közül csak a legfontosabb „kulcsábrákat” jeleníti itt meg, a többire szintén a függelékben hivatkozik. A dolgozatban bemutatott ábrák igényesen kidolgozottak, bár jó lett volna, ha az ábrákon a statisztikai elemzések eredményeit is feltünteti, illetve egyes ábrafeliratok lehetnek bőbeszédűebbek is, eleget téve annak az elvárásnak, hogy az ábra a hozzá tartozó szöveggel együtt önmagában is értelmezhető legyen. A review-szerű ábrák kimondottan jól sikerültek, informatívak, de pl. a 14. ábrára nincs is hivatkozás a szövegben, ez itt inkább mint illusztráció jelenik meg. Megjegyzem, hogy a Függelékben ugyanez az ábra tökéletesen informatív. Az eredmények rész egyes alfejezetei különösen szorosan kapcsolódnak egymáshoz, különösen az 1., 2., 3. és 5. rész. Ezek alapján egy összefoglaló ábra jól mutatott volna, és segítette volna a kapott eredmények szintézisét is. A formai értékeléshez kapcsolódóan azt is meg szeretném jegyezni, hogy a dolgozat a hasonló művekhez képest lényegesen kevesebb gépelési vagy nyelvtani hibát tartalmaz.

### ***Tartalmi értékelés***

A dolgozatban bemutatott munka alapjául 12 cikk szolgált. Ezek mindegyike D1-es besorolású, és a területnek valóban a legkiemelkedőbb lapjaiban jelentek meg (Plant Physiology, Plant Journal, Plant Cell and Environment, stb.), és ezek közül a Jelölt 10-ben levelező szerző is volt. Ily módon a bírálónak a dolgozat szakmai megítélésében már könnyű dolga van, hisz azt mások, az említett cikkek bírálói és a folyóirat-szerkesztők már korábban elvégezték. A téma érdekessége miatt néhány cikknek az „utóéletével” is megismerkedtem, több olyan cikket is láttam, ahol a Jelölt által írt cikkekre hivatkoznak, de ezek egyikében sem találkoztam az eredmények cáfolatával, hanem vagy azok megerősítésével, vagy ezek alapján a téma továbbgondolásával, ezekre történő építkezéssel. Bár természetesen nem olvastam végig mind a több, mint 1400 hivatkozást, de mindezek figyelembevételével nincs okom az eredmények minőségében kételkedni, azok elfogadhatóságát megkérdőjelezni. Ami hiányosságként felmerült bennem, az az, hogy szívesen láttam volna több sematikus ábrát, ami az aszkorbát pontos részvételét magyarázza. Jó lenne, ha a védésen néhány ilyen bemutatásra kerülne. Néhány kérdés azonban felmerült bennem:

- Az aszkorbát-bioszintézissel kapcsolatos eredmények tárgyalása során megjegyzi, hogy a mioinozitolhoz kapcsolódó „útvonal élettani jelentősége máig vitatott (Wheeler és mtsai, 2015)”. (21. oldal, „Eredmények 1. bekezdés). Az említett cikk óta eltelt 6 év. Történt-e előrelépés azóta a kérdés tisztázására?
- Az ugyanebben a részben leírt mutánsok és transzgenikus vonal esetében az aszkorbát-tartalmat miért klorofillra, és miért nem friss- vagy száraztömegre vonatkoztatták?
- Az aszkorbátszint fényregulációjával és cirkadián ritmusával kapcsolatban (Függelék, Vidal-Meireles, 2017, 9. ábra) nem volt világos, hogy a fény/sötét ciklust követő folyamatos fényben miért alacsony aszkorbát-tartalmakat kaptak? Miért nem magas szinten maradt a rendszer? Ehhez kapcsolódóan jól mutatna egy modell ábra, ami bemutatja, hogy a fény pontosan milyen lépéseken keresztül szabályozza az aszkorbát szintjét. Mi lehet az elsődleges szignál?
- megállapításaik szerint az aszkorbát véd a donor-oldali fotoinhibícióval szemben. Mennyire aktív védelem ez, vagy mennyire „csak” egy alternatív lehetőség az elektronáramlás fenntartására? És ha ez utóbbi igaz, akkor miért olyan jó ez? Feltételezhető, hogy a donor oldal mellett az akceptor oldal is károsodik. Ilyenkor az elektronáramlás fokozása a rendszer számára inkább ártalmasnak tűnik, mintsem előnyösnek. Mi erről a véleménye?
- Aszkorbát és NPQ kapcsolata: pontosan milyen molekuláris mechanizmus tételezhető fel, ami alapján az aszkorbát az NPQ-ra hat? Zöldalgákban feltételezésük szerint a szabadgyökök kioltása révén elsősorban a fotoinhibíciós kioltás mérséklése a fő mechanizmus, de mi a helyzet a magasabb rendű növényekkel? Az eredmények szerint a violaxantin-deepoxidáz aktivitásának fenntartását végzi, de vajon hogyan? Génexpressziós szinten? Közvetlenül kapcsolódva? Vagy indirekt módon?
- Az NPQ újabb értelmezése szerint két részre bontható: regulált Y(NPQ) és nem-regulált Y(NO)komponensekre. Az aszkorbát melyik mechanizmust szabályozza főként? Van-e erre saját vagy irodalmi adata, vagy ha nincs, elméleti alapon mit gondol ezzel kapcsolatban?
- A hidrogéntermeléshez kapcsolódóan egy általános kérdés: jelenleg hol tart a fotoszintetikus hidrogéntermelés gyakorlatban történő felhasználásának kidolgozása?

A dolgozatban felvázolt új tudományos eredmények mindegyikét elfogadhatónak tartom:

1. Felfedezték, hogy a vízbontó rendszer inaktiválódása esetén az aszkorbát alternatív elektrononorként elektronokat szolgáltat a második fotokémiai rendszer (PS2) számára.
2. Hőstressz esetén az aszkorbát védi a PS2-t a teljes inaktiváldástól.
3. Az aszkorbát fontos szerepet játszik a sötétség által indukált szenescenciában.
4. *Chlamydomonas reinhardtii* zöldalgában az aszkorbát szintézise ugyanolyan útvonalon történik, mint a magasabb rendű növényekben, a szabályozása azonban eltérő.
5. Magasabb rendű növényekben az aszkorbát a violaxantin-deepoxidáz szubsztrátjaként vesz részt az NPQ kialakításában, *Chlamydomonas reinhardtii* zöldalgában viszont az enzim nem igényel aszkorbátot a működéséhez.
6. A hidrogéntermelés indukálásához alkalmazott kénmegvonás során aszkorbátfelhalmozás történik, ami inaktiválja a vízbontó rendszert, hozzájárulva a hipoxiás körülmények fenntartásához és a hidrogéntermelés fenntartásához.

Mindent egybevéve, a dolgozatban bemutatott munkát rendkívül magas színvonalúnak tartom, az apró kritikai megjegyzések egyáltalán nem érintik a munka értékét. A bemutatott eredmények világosak, és jelentősen hozzájárultak a tudományterület fejlődéséhez. A feltett kérdéseim szintén nem a munka kritikai értékeléséből, hanem azok továbbgondolásából erednek. Az elméleti ismeretek bővítése mellett a gyakorlat számára is hasznos ismereteket hordoznak, aminek bizonyítéka, hogy a Jelölt egy európai szabadalom részese is már.

**A dolgozatot fenntartások nélkül javaslom nyilvános vitára bocsátásra, és sikeres védelem esetén támogatom a Jelölt részére az MTA Doktora cím odaítélését.**

Martonvásár, 2021. november 22.

Janda Tibor, DSc. tud. oszt. vez.