

SZAKMAI VÉLEMÉNY

MTA doktori értekezésről

Az értekezés címe: Új gombaellenes stratégiák: *Neosartorya (Aspergillus) fischeri*-eredetű antifungális fehérjék és alkalmazási lehetőségeik

Az értekezést benyújtotta: Galgóczi László Norbert (Galgóczy László)

Az értekezés áttekintést nyújt Galgóczy László tudományos munkásságának arról a részéről, amelynek a középpontjában a *Neosartorya fischeri (Aspergillus fischeri)* NRRL 181 gyűjteményi számú izolátuma által termelt két eltérő antifungális fehérje (NFAP és NFAP2) és peptidszármazékaik vizsgálata állt. Az antifungális fehérjék nagy gyakorlati jelentőséggel rendelkezhetnek és hasznosíthatók lehetnek új típusú gombaellenes szerekként, mivel szemben a hagyományos antifungális készítményekkel, kisebb valószínűséggel alakulhat ki rezisztencia a gombákban velük szemben. Azonban ahhoz, hogy hatékony gombaellenes szerként szóba jölessenek, meg kell ismerni a hatásmechanizmusukat, a védendő szervezetekre kifejtett esetleges hatásukat, hatásfokozó módosításaik lehetőségeit és meg kell oldani a költséghatékony és biztonságos termeltetésüket. Ebbe a tendenciába illik bele az értekezés szerzőjének kutatási tevékenysége. Galgóczy László célul tűzte ezen követelmények teljesíthetőségének tisztázását az NFAP, NFAP2 fehérjékkel és származékaikkal kapcsolatban.

Az elért eredmények értékét tükrözi, hogy 18 közlemény született belőlük a szakterület rangos nemzetközi folyóirataiban. Ezekben a közleményekben a jelölt 14 alkalommal volt első vagy utolsó (levelező) szerző, ami bizonyítja a vezető és irányító szerepét a kutatásban. A közlemények összesített impakt faktora: 70,206. A független idézések száma: 272.

Az értekezés a hagyományos szerkezetet követi. A fejezetek jól épülnek egymásra, tartalmuk visszafogottan lényegre törő, a dolgozat logikai vonalvezetése könnyen követhető, a dolgozat nyelvezete érthető. A tézisek nyelvezetéről ez nem mondható el. A tézisekben a mondatok gyakran nagyon összetettek, nehezen megfeythetők és gyakoriak a stílus- és nyelvtani (esetleg csak gépelési?) hibák.

Az „Irodalmi áttekintésben” (4. Fejezet) a Szerző elhelyezi a munkáját az antifungális fehérjék világában és részletesen bemutatja a fonalas-gombák által termelt antifungális fehérjékkel kapcsolatos ismereteket. Amennyire meg tudom ítélni (a mikrobiológia más területén dolgozom), idézi, és megfelelő összefüggésekben idézi a szakterület kulcsfontosságú közleményeit és szerzőit. Azonban a terjedelem csökkentése érdekében az esetek jelentős részében nem az eredeti közleményeket idézi, hanem az azokat összefoglaló review-kat.

Az 5. fejezet a kutatások célkitűzéseit tartalmazza, amelyekből megtudjuk, hogy a Szerző célja két eltérő antifungális fehérje (NFAP és NFAP2) és peptidszármazékaik vizsgálata, amit nyolc feladat formájában fogalmaz meg.

Az „Anyag és módszer” fejezet vázlatosan összefoglalja az értekezésben bemutatott kutatási projekteknél használt mikrobiológiai, fehérje szerkezetvizsgáló, irányított mutagenézisre alkalmas, kórtani, bioinformatikai és molekuláris-biológiai módszereket. Esetenként leírja a módszer elvét, máshol csak felsorolássá egyszerűsödik a bemutatás. Az olvasó a közleményekben találhatja meg a pontosabb kifejtést, vagy helyenként ott is csak irodalmi hivatkozások formájában.

Az eredményeket (7. Fejezet) a Szerző a célkitűzéseknek megfelelő felosztásban mutatja be. Az eredmények rendkívül szerteágazók és nagyon sok érdekes összefüggés, molekuláris szerkezet és biológiai folyamat részleteibe adnak értékes betekintést. A legfontosabb

eredmények összefoglaló áttekintését tartalmazza a 9. fejezet. Közülük az alábbiakat emelem ki.

1. Kimutatták, hogy a *Neosartorya (Aspergillus) fischeri* NRRL 181 izolátum három, különböző Eurotiomycetes-eredetű antifungális protein csoportba sorolható fehérjét termelhet. Közülük kettőt (NFAP és NFAP2) sikerült a folyadéktenyészet felülúszójából kis mennyiségben izolálniuk.
2. Közülük az egyiket (NFAP) és változatait sikerült egy élesztős expressziós rendszerben nagy mennyiségben termeltetniük
3. Mindkettő termeltetésére alkalmas rendszert dolgoztak ki *Penicillium*-ban
4. Kimutatták, hogy a NFAP főleg fonalas gombák, a NFAP2 viszont inkább *Candida albicans* gátlására alkalmas.
5. Kidolgoztak egy modellt a NFAP hatásmechanizmusára, amelyben egy ciklikus adenosin-monofoszfát/protein-kináz A szignalizációs útvonal indukálása játszik központi szerepet.
6. Kimutatták, hogy a NFAP2 elsősorban a sejtmembrán roncsolásán keresztül fejti ki hatását.
7. NMR szerkezetvizsgálatokkal meghatározták mindkettő harmadlagos szerkezetét, és mutáns változataik vizsgálatával kiderítették, hogy mely szerkezeti elemek fontosak az antifungális hatás szempontjából.
8. Olyan szintetikus lineáris peptideket terveztek, amelyek hosszan tartó tárolás és többszöri kiolvasztás-fagyasztás után is megőrizték hatékonyságukat.
9. Kimutatták, hogy a NFAP és antifungálisan hatékony γ -core peptid-származékai nem károsították a tesztelésre használt növényeket de visszaszorították a tesztelésbe bevont növénypatogének általi kórokozást.
10. Humán keratinocitákon, dermális fibroblasztsejteken és háromdimenziós bőrmoddellen elvégzett toxicitásvizsgálatok segítségével kimutatták hogy a NFAP2 alkalmas lehet *Candida* fertőzések kezelésére a gazdaszervezet szöveteinek károsítása nélkül.

A felsoroltakon kívül számos további fontos adattal és felismeréssel gazdagította a szakterületet a Szerző kutatómunkája.

Külön kiemelendő a metodikai sokoldalúság.

A jelölt szakmai sokoldalúságát és együttműködési készségét mutatja a nagyszámú társszerzőség olyan cikkekben, amelyek témája nem kapcsolódik az értekezésben bemutatott kutatásokhoz. Az eredményes együttműködéseknek is köszönhetően kimagaslóan magas az összesített impakt faktora: 196,564.

Kérdések:

1. A biokontrol fejezet meglehetősen szűkkeblűen tekinti át a hatalmas szakirodalmat. Talán nem is indokolt több figyelmet szentelni ennek a területnek ebben az értekezésben, mivel a vizsgált NRRL 181 izolátum nem tűnik ígéretes biokontrol ágensnek. Pontosabban fogalmazva, ez az alkalmazási lehetőség kevés figyelmet kapott az értekezésben. Lát a szerző lehetőséget az izolátum sejtjeinek vagy konídiumainak felhasználására a növényvédelemben?
2. Számos élesztőgomba termel olyan peptideket, amelyek más élesztőket, esetenként fonalas gombákat és baktériumokat is tudnak gátolni. Közöttük vannak olyanok, a killer-faktorok (zymocinek), amelyek sokban emlékeztetnek az értekezés Irodalmi áttekintésében felsoroltakra (pl. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2024.03.003>). Miért nem tekinthetők AFP-knek?

3. Az AFP-k, beleértve az értekezésben bemutatottakat is, más gombákat tudnak gátolni. Minek köszönhető, hogy saját magukat nem károsítják? Úgy tűnik, hogy arra az élesztőre (*Pichia pastoris*) és arra a fonalgombára (*Penicillium chrysogenum*) sem hatnak hátrányosan, amelyeknek az expressziós rendszerét használták a termeltetésükre. Egy másik élesztőre a *Candida albicans*-ra, viszont hatnak. Lehet sejteni a különbség okát?

4. A Szerző az AFP-k egyik előnyének tartja, hogy velük szemben „minimális eséllyel alakul ki rezisztencia”. Például azért, mert „egyszerre több gombaszpecifikus célpontot is támadhatnak eltérő mechanizmussal.” Az állítás alátámasztására számos review cikket idéz, de nem mutat be példát ilyen több-támadáspontú hatást kifejtő AFP-re. Milyen példák ismertek, és azok mennyire fehérje-specifikusak, illetve mennyire általánosíthatók?

Összességében kijelenthető, hogy Galgóczi László Norbert és munkatársainak kutatási eredményei két AFP sokoldalú vizsgálatával jelentős mértékben hozzájárultak az antifungális hatású fehérjék természetének és hatásmechanizmusának jobb megértéséhez. Az eredmények nemzetközi visszhangja nagyon pozitív.

A fentiek alapján megállapítható, hogy a doktori munka tudományos eredményei elegendők az MTA doktori cím megszerzéséhez, számos vonatkozásban meg is haladják az elvárásokat.

Javaslom a nyilvános vita kitűzését.

Debrecen, 2025 június 5.



Sipiczki Máttyás