

OPPONENSI VÉLEMÉNY

PAPP ISTVÁN

A GÉNKIFEJEZŐDÉS, SZÁRAZSÁGTŰRÉS ÉS VÍZVESZTÉS EGYES MECHANIZMUSAI ÉS ÖSSZEFÜGGÉSEI MODELL- ÉS HASZONNÖVÉNYEKBEN

CÍMŰ DOKTORI ÉRTEKEZÉSÉRŐL

Papp István doktori disszertációja közel 20 év tudományos kutatómunka eredményét foglalja össze. Ahogy a Jelölt életútja is több szakaszból állt, a dolgozat is több témakört foglal magába:

1. Transzkripciós géncsendesítés
2. A *cbp20* szerepének vizsgálata
3. Kutikula képződéssel kapcsolatos gének izolálása és jellemzése.

A Jelölt mindhárom témakörben jelentős, nemzetközileg is elismert, új eredményeket ért el, először külföldi laboratóriumokban, mint tudományos munkatárs, majd itthon, mint témavezető, ahogy azt az értekezés alapjául szolgáló közlemények is bizonyítják, melyeknek szinte kivétel nélkül Papp István az első-, vagy utolsó, azaz felelős szerzője.

A doktori mű tudományos eredményeinek részletes értékelése

1. Transzkripciós géncsendesítéssel kapcsolatos eredmények értékelése

A transzkripciós géncsendesítés vizsgálata korunk „sláger” témája. A Jelölt a Dr. Majori Matzke és Antonius Matzke által vezetett munkacsoportban a transzkripciós géncsendesítés felfedezésének korai szakaszában végzett úttörő munkát és kapott a promóter metilációval és egy kisRNS éréssel kapcsolatosan jelentős, máig meghatározó érvényű eredményeket. Ezeket a Jelölt a dolgozatban, mint új tudományos eredményeket, három pontban (89. oldal, 1-3. pont) foglalta össze. A pontokban megfogalmazott eredményeket, új tudományos eredményekként, elfogadom. Ugyanakkor a disszertáció olvasása közben a 11. ábra alapján felmerült bennem az a kérdés, hogy vajon miért nem mutattak hygromicin rezisztenciát azok a vonalak (1*, 8* és 10*), melyekben northern hibridizációval ki lehetett mutatni a HptII mRNS jelenlétét? Igaz ugyan, hogy ezekben a vonalakban a HptII transzkriptum mennyisége kisebb volt, mint a kontrollban, de véleményem szerint – főleg, ami a 8* és 10* vonalakat illeti – ennek elegendőnek kellett volna lenni a rezisztencia megnyilvánulásához. Nem lehet, hogy a transzkripciós géncsendesítés valahogy átmehet poszttranszkripciós csendesítésbe?

2. A *cbp20* szerepének vizsgálatával kapcsolatos eredmények értékelése

A *cbp20 Arabidopsis* mutánsokkal kapcsolatos eredményeket a Jelölt négy pontban foglalta össze (89. oldal, 4-7. pont). Ezeket, mint új tudományos eredményeket, elfogadom. Ezeknek az eredményeknek a legnagyobb, illetve tudományos szempontból a legjelentősebb része, a Max Planck Intézet Dr. Koncz Csaba által vezetett kölni laboratóriumában született. Az eredményeknek - véleményem szerint - különös jelentőséget az ad, hogy egy, az eukariótákban általánosan előforduló, az mRNS-ek védelmével, éréssel és mozgásával kapcsolatba hozható, két alegységből álló fehérje komplex egyik alegységének növényekben

betöltött szerepére utal. A *cbp20* mutáció hatása pleiotróp, ami a fehérje alapvető életfunkciókkal való összefüggésében egyáltalán nem meglepő. Az egyetlen meglepő dolog talán az, hogy a mutáció növeli az *Arabidopsis* szárazságtűrő képességét. De miben áll ez a szárazságtűrés? A Jelölt kimutatja, hogy a *cbp20* mutáns sztóma konduktanciája szignifikánsan alacsonyabb, mint a vad típusé, abszcizinsavra - ami irodalmi adatok alapján összefüggésbe hozható a sztómák működésével - érzékenyebb és kutikulája vastagabb. Ezek mind valóban olyan tulajdonságok, melyek összefüggésbe hozhatók a szárazság-stresszre adott növényi válaszokkal. Ugyanakkor a Jelölt azt is kimutatja, hogy a *cbp20* mutáns növény kisebb, mint a vad típus. Nyilvánvaló, hogy egy kisebb növénynek kevesebb vízre van szüksége, mint egy nagyobbak, azaz azonos méretű cserépben vízmegvonás esetén tovább marad nedves a talaj a kis növény, mint a nagy növény alatt. Nem csoda tehát, hogy 7 napos vízhiányt követően a *cbp20 Arabidopsis* növények kevésbé voltak hervadtak, mint a vad típus (24. ábra). A Jelölt megállapítja azt is, hogy a *cbp20* szárazságtűrő fenotípusa a vad növényekkel együtt ültetve nem jelenik meg. Nem lehet ennek az az egyszerű magyarázata, hogy a nagy növények felveszik a vizet a talajból, így az kiszárad, vagyis, hogy a *cbp20* mutáns nem szárazságtűrő, hanem egyszerűen csak kicsi? Igaz ugyan, hogy a Jelölt azt állítja, hogy a sötét adaptált 4 hetes „*cbp20* mutáns növények a vad típusnál szignifikánsan lassabban vesztették a vizet” (64. oldal), de a leírás alapján nem világos számomra, hogy ez a kísérlet levett levelekre vagy cserepes növények leveleire vonatkozik. Bár az is igaz, hogy a 32. ábra alapján, ami 100 perces intervallumban mutatja a vad típusú és *cbp20* mutáns *Arabidopsis* rozetták relatív víztartalmának változásait, valószínűsíthető, hogy itt levett levelekről van szó. De mivel a levett levél kísérlet alapvető fontosságú annak eldöntésére, hogy a *cbp20* mutáns valóban szárazságtűrő-e, a transpirációs kísérlet leírásának szerintem nagyobb hangsúlyt kellett volna kapnia a dolgozatban.

3. Kutikula képződéssel kapcsolatos gének izolálásával és jellemzésével kapcsolatos eredmények értékelése

A *cbp20 Arabidopsis* mutáns megvastagodott kutikulájával kapcsolatos eredmények logikusan vezettek a kutikula kialakulásában szerepet játszó gének izolálásához és jellemzéséhez. Ezeket a kísérleteket a Jelölt már itthon, jelenlegi munkahelyén, a Budapesti Corvinus Egyetem Kertészeti Karán, illetve az MTA martonvásári kutatóközpontjával együttműködve végezte. Valószínűleg ez az oka annak, hogy a Jelölt a modell növény *Arabidopsis*-ről az alma és búza, mint gazdaságilag fontos növényfajok vizsgálatára váltott. A kutikula kialakulásával és vastagságával kapcsolatos eredményeket a Jelölt három pontban foglalta össze (89-90. oldal, 8-10. pont), melyeket, mint új eredményeket, szintén elfogadok. Ezek közül is kiemelném a búza *TaeSHN1* génjének izolálását, melyből kiindulva további kísérletek tervezhetők a búza levél kutikula kialakulásának megismerésére.

Vélemény az eredmények hasznosíthatóságáról

Az eredmények kertészeti biotechnológiai alkalmazását illetően a Jelölt mintegy másfél oldalban (87-88. oldal) fogalmazta meg véleményét. Véleményét/következtetéseit túlzottan optimistának, pontosabban nem kellőképpen megalapozottnak tartom, főleg, ami a *cbp20* mutáns kapcsolatos eredmények hasznosíthatóságát illeti. Maga a Jelölt is megpróbált antiszensz gátlással csökkentett mennyiségű Cbp20 fehérjét termelő paradicsom vonalakat előállítani az 'Ailsa Craig' fajtából, melyek azonban, idézem: „csak vízháztartásuk marginális megváltozását mutatták” (63. oldal). Erre a kísérletre vonatkozóan azonban a dolgozat nagyon

szükszavú, nincs bemutatott bizonyíték arra nézve, hogy ezek a vonalak valóban transzgenikusak voltak, illetve, ha igen, milyen mértékű volt bennük az antiszensz gátlás. A Jelölt hivatkozik Pieczynski és munkatársai (2013) közleményére is, akik a CBP komplex másik alegységének génjét, a *CBP80*-at gátolták burgonyában, s így sikerült növelniük a burgonya szárazságtűrését. Ebben a cikkben megállapítást nyer, hogy a *CBP80* gátlása emeli a sztómák ABA-szenzitív záródását, a sztómák és levélszőrök gyakoriságát, kompaktabbá teszi a kutikula szerkezetét, csökkenti a miR159 szintjét, miáltal megnöveli a MYB33 és MYB101 transzkripciós faktorok mennyiségét. Nincs azonban szó arról, hogy milyen volt ezeknek a növényeknek a gumóhozama és milyen volt a gumók beltartalmi értéke. Ezek a tulajdonságok pedig az alkalmazhatóságot illetően alapvetően fontosak. Tekintettel a *cbp20* mutáció *Arabidopsis*-ban is tapasztalt pleiotróp hatására, nem hiszem, hogy érdemes lenne „haszonnövények mutagenizált populációjából pl TILLING eljárással, célzottan, nem transzgenikus növényeket kiválasztani, ami az esetleges GMO mentes mezőgazdaság lehetőségét is nyitva hagyja”, mint ahogy azt a disszertáció 87. oldalán olvashatjuk.

A kutikulára vonatkozó eredményeket illetően igazat adok abban a Jelöltnek, hogy a „kutikula, illetve viasz képződésben fontos gének meghatározása a bélyegekhez kapcsolódó genetikai markerek kifejlesztésére ad lehetőséget” (87. oldal). Ahhoz azonban, hogy ezeket a markereket a szárazságtűrés javítására használjuk a nemesítési programokban, a dolgozatban szereplő kísérleteknél sokkal több bizonyítékra lenne szükség a kutikula szerkezetének a szárazságtűréssel való összefüggésére, mint ahogy ez egy alma és egy búzafajta példáján bemutatásra kerül a dolgozatban. Ami viszont számomra is egyértelmű hasznosítási lehetőség az a kutikula és a növényvédő szerek, lombtrágyák és kondicionáló készítmények felszívódásának összefüggése és ennek kiaknázása a gyakorlat számára.

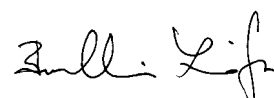
Összefoglalva véleményem:

Papp István dolgozatát és a benne foglalt eredményeket a Jelölt saját, nemzetközileg is elismert, új eredményének tartom, melynek alapján az MTA doktori cím odaítélését javaslom és támogatom.

Ezek az eredmények lényegüket tekintve a következők:

1. Transzkripciós géncsendesítési rendszerben kimutatta a csendesített promóter metilációját és bizonyította, hogy a miR159 processzálása, legalább is részben, a sejtmagban zajlik.
2. Azonosította a *cbp20* mutációt és annak pleiotróp hatásait *Arabidopsis*-ban.
3. *Arabidopsis* modell rendszer alapján a kutikula képződéshez feltételezhetően kapcsolódó alma és búza géneket izolált és jellemzett.

Gödöllő, 2015. május 16.



Bánfalvi Zsófia
az MTA doktora