

Opponensi vélemény

Papp István „A Génkifejeződés, szárazságtűrés és vízvesztés egyes mechanizmusai és összefüggései modell- és haszonnövényekben” című MTA doktori dolgozatáról

Papp István kutatói pályája korábbi szakaszaiban az MBK különböző kutatócsoportjaiban, illetve külföldön, nemzetközileg is kiemelkedő laboratóriumokban (Marjori Matzke és Koncz Csaba laborja) dolgozott. Pályafutása elmúlt tíz évében a Budapesti Corvinus Egyetem Növényélettani és Növényi Biokémia Tanszékén kutatott. Dolgozatában a külföldi kutatómunkája egyes eredményeit, illetve a Corvinus Egyetemen elért eredményeit mutatja be. Az értekezés formájában benyújtott pályázat 17 szakcikken (és egy szabadalmi bejelentésen) alapszik, melyek közül a Jelölt kettőben első, 11-ben utolsó szerző. A cikkek egy része a növénybiológia kiemelkedő folyóirataiban (Plant J., Plant Mol. Biol., Plant Phys.), más részük a szakterület nemzetközileg is elismert újságjaiban (pl. Plant Biol, J. Plant Phys.), míg a cikkek egy része speciális vagy hazai angol nyelvű folyóiratokban jelent meg. Figyelemre méltó a közlemények nemzetközi visszhangja, több cikk is egészen kiemelkedő hivatkozás számot ért el. Azaz a közlemények minősége, visszhangja és a szerzői szerep egyaránt kiemelkedő.

(A közlemények magas számával kapcsolatban azonban ellentmondásos érzéseim vannak. A cikkek száma, különösen az elmúlt néhány évben megjelent utolsó szerzős közlemények száma nagyon impresszív ugyan, de véleményem szerint kevesebb, átfogóbb közlemény nagyobb hatást érhetne el. Sajnos az osztály követelményrendszere teljesen más irányba mutat.)

A bemutatott eredmények témájukat tekintve két jól elkülöníthető részre választhatók szét, a növényi géncsendesítéssel (RNS Silencinggel), ezen belül is elsősorban az RNS-függő DNS metilációval (RDM) kapcsolatos, illetve a szárazságtűréssel-kutikula fejlődéssel kapcsolatos részekre. A két témakört a szerző az RNS-alapú szabályozások szerepe kapcsán köti össze, a dolgozathból kiderül, hogy az RNS metabolizmus kulcsgénjei az RDM-ben, a szárazságválaszokban és a kutikula képzés szabályozásában is fontos szerepet játszanak.

Az RDM-mel kapcsolatos program a 90-évek végén, a 2000-es évek elején nemzetközileg is kiemelkedő eredményekkel szolgált, az ott bemutatott eredményeket még ma is gyakran hivatkozzák. Ez egy ennyire gyorsan fejlődő szakterületen egészen kiemelkedő teljesítmény, a minőség legjobb mércéje. A szárazságtűréssel-kutikula szabályozással kapcsolatos eredmények jól mutatják a program felfutását, kiterjedését. A számos érdekes eredményhez, izgalmas megfigyeléshez vezető program kicsit túlságosan is kiterjedt, ennyire sok területen nehéz egyszerre versenyképesnek lenni.

Az (irodalom jegyzék nélkül) 90 oldalas értekezés fő részei az irodalmi áttekintés, célkitűzések, módszerek és az eredmények-megvitatásuk. Az irodalmi áttekintés rész rövid tömör, az adott célkitűzéshez tartozó, a kísérletek idején rendelkezésre álló ismereteket mutatja be, némi kitekintéssel az azóta megjelent eredményekre.

Az eredmények leírása többnyire rövid, világos. Sajnos több helyen olyan eredmények is megemlíthetők, amelyek nincsenek bemutatva. Ez még ott is zavaró, ahol már közölt eredményekről van szó, bár ezeknél elvben megkereshető az eredeti cikkben az ábra (pl. 58.oldalon, a hormonkezelések hatása a CBP20 expresszióra, vagy a 77. oldalon: a mért hozamjellelmzők alátámasztják a feltételezett szárazság tolerancia szinteket). Néhány helyen azonban nem közölt eredményeket is bemutatás nélkül ír le a Jelölt (pl. 63. oldal: CBP20 csendesített paradicsom). Ezt igen szerencsétlen megoldásnak találom, ezeket -a dolgozat eredményeit érdemben nem érintő- adatokat vagy be kellett volna mutatni, vagy ki kellett volna hagyni.

A megvitatás az eredményekkel lényegében együtt szerepel. Tulajdonképpen az eredmények értelmezésénél a közvetlen értékelésen túl az azóta megjelent eredmények fényében is értelmezi az adataikat. Ez véleményem szerint jó megoldás, segíti a megértést. Azonban az RDM-mel kapcsolatos eredményeket érdemes lett volna világosabban beilleszteni a ma elfogadott modellekbe, pl. a 19. ábra bemutatja ugyan az RDM egyszerűsített, aktuális modelljét, de ehhez nincs érdemi szöveges magyarázat, így nem könnyű az ábra tükrében értelmezni a bemutatott eredményeket. Az előadás során érdemes volna bemutatni az aktuális, természetesen egyszerűsített silencing és RDM modelleket, és abba belehelyezni a saját eredményeket.

Az RNS silencinggel kapcsolatos program legfontosabb eredményei:

-Egy igen komplex transzkripcionális géncsendesítési rendszer (TGS) elemzésével feltárták a DNS metiláció szerepét az örökíthető TGS-ben.

-Egy virális silencing szupresszor ötletes használatával kimutatták, hogy a miRNS érés fontos lépései a sejtmagban történnek

-Kimutatták, hogy a DCL1 döntően sejtmagban lokalizált.

A szárazságtűréssel-kutikula fejlődéssel kapcsolatos fő eredményei:

-Pleiotróp mutáns fenotípusból kiindulva azonosítottak egy szárazságtűrő, ABA hiperszenzitív, megváltozott bőrszövettel, kutikula szerkezettel jellemezhető Arabidopsis mutánst, és igazolták, hogy a fenotípusért az mRNS-ek cap struktúráját kötő CBC komplex CBP20 tagjának null mutációja a felelős.

-Kimutatták, hogy a CBP20 (és Era1) csökkentett párologtatással jellemezhető szárazságtűrő mutánsok elvesztik szárazságtűrő képességüket, ha vegyes vetésben, vad növényekkel versenyeznek.

-Azonosították az alma kutikula szintézisében szerepet játszó gének nagy részét, és elemezték ezen gének mRNS-einek akkumulációját a gyümölcsérés során.

-Homológia alapján azonosították búzában a kutin szintézis szabályozásának egyik kulcsfaktorát, és heterológ expressziós kísérletekkel megerősítették biológiai funkcióját.

-Két szárazságtűrő és két érzékeny búzafajta összehasonlító elemzése alapján valószínűsítették, hogy a GK Élet gyenge szárazságtűrésének hátterében a csökkent ABA érzékenység, még a Capelle Desprez vonal esetén a vékony kutikula állhat.

A dolgozattal kapcsolatban a következő kérdéseim fogalmazódtak meg:

1, A H2 TGS lókuszt igen komplex, több hibás beépülés eredménye. A szövegben utal rá, hogy a 271-es lókuszt helyzete, nem szerkezete révén válhat ki TGS-t. A jelenlegi ismeretünk szerint miként történhet a siRNS képzés a két lókuszon?

2, A P19C vonalakban a si- és miRNS-ek szintje nőtt, míg a p19N vonalakban erősen csökkent. Ugyanakkora kétféle vonal fenotípusa azonos volt. Hogyan magyarázható ez?

3, A CBP20 mutánsok szárazságtűrők és ABA hiperérzékenyek csírázáskor. Vizsgálták-e a sztómák ABA szenzitivitását?

4, A CBP20 mutánsok bőrszövege, kutikulája módosult. Hogyan hat a CBP20 mutáció a kutikula szintézisben részt vevő gének expressziójára, alternatív splicing mintázatára?

5, A CBP20 és a SERRATE mutánsok fenotípusa hasonló, de a SERRATE nem szárazságtűrő. Mi lehet ennek az oka? A SERRATE mutáció menti a LACERATA kutikula szintézis gén hiányában megjelenő fenotípusos jelleg jelentős részét. Ismert-e, hogy a CBP20/LACERATA dupla mutáns hogyan viselkedik?

6, A CBP20 csendesített paradicsom nem volt szárazságtűrő. Mi igazolja, hogy a csendesített vonalban biológiailag releváns szinten csökkent a CBP20 szint?

7, A CER7 exosoma komponens hiánya a CER3 viasz bioszintézis kulcsgén expressziójának esését és a viasz felhalmozódás csökkenését idézi elő. A CER7 mutáns menthető az RDR és SGS3 mutációval, ami azt sugallja, hogy a CER7 a ta-si RNS silencing útvonal antagonistája, illetve azt, hogy a ta-si útvonal gátolja a CER3 expressziót. A CBP20 milyen szerepet játszik a ta-si útvonalban, illetve ismert-e a CBP20/CER7 dupla mutáns fenotípusa?

8, A dolgozat egyik legérdekesebb megfigyelése, hogy CBP20 és ERA1 csökkent párologtatással jellemezhető szárazságtűrő mutánsok elvesztik szárazságtűrő képességüket, ha vad növényekkel versenyeznek. Bár a megfigyelés nagyon érdekes, hiszen rámutat, hogy a szárazságtűrőként szelektált vonalak más nevelési körülmények között könnyen elveszíthetik a szárazságtűrő jellegüket, ennek lehetséges okairól a konkrét kísérlettel kapcsolatban nem sokat mond a dolgozat. Vegyes ültetési helyzetben a CBP20 mutáns fenotípus vonások közül melyek alakulnak ki és melyek nem? (pl. a megváltozott bőrszöveti struktúrája sem alakul ki, vagy a morfológia különbségek megvannak, de a sztóma konduktancia és perisztómális párologtatási különbségek eltűnnek stb.).

Ezzel kapcsolatban felmerül, mennyire tekinthető egy tényleges szántóföldi versenyhelyzetnek ez a kísérlet?

9, Az alma kutikula vizsgálatokkal kapcsolat rész kapcsán számos apró megjegyzésem, kérdésem lenne. Az alma genom, ha nem is jó minőségben, de elérhető. Fontos lett volna egy az alma és Arabidopsis megfeleltetések kapcsán írni valami a kópiaszámokról, illetve hasznos lett volna az összehasonlító ábra mellett a funkciók felsorolása. A szövegben Gegesi-Zöld szerepel, az ábrán Prima és Florina fajták: miért? A 40. ábra qRT-PCR kísérletei melyik év mintáiból származnak, csak ennek ismeretében lehet összehasonlítani a szemi-kvantitatív és kvantitatív PCR eredményeket. Miért a Lacerata gént választották, és mik a heterológ expresszió eredményei? Azt írja, hogy a C29 alkán jelen van a Florina viaszai között. A Primából hiányzik vagy nem vizsgálták?

10, Vízhiány hatására az Arabidopsis kutikulája megvastagodik, míg a búzáé nem. Mit lehet tudni más fajok esetén a vízstressz-kutikula termelődés kapcsolatáról? Az elérhető transzkriptóm eredmények mennyiben magyarázzák ezt a különbséget,

A heterológ SHN1 expressziós kísérlet is megerősíti azt a mások által is megfogalmazott tételt, hogy nem a kutikula vastagság a döntő a párologtatás szempontjából. Lehetséges-e, hogy szárazság hatására a toleráns és szárazság érzékeny búzafajták esetén a kutikula szerkezet-összetétel másként változik?

11, Hogyan szabályozhatja az SHN1 a sztóma sűrűséget? Más kutikula szabályozók túlermelése is sztóma szám változásokkal jár?

Véleményem szerint az eredmények újdonság értéke, a publikációk száma és minősége, azok tudományos hatása, illetve az értekezés színvonala igazolják a Jelölt alkalmasságát az MTA doktora címre.

Gödöllő, 2015-06-05

Silhavy Dániel

Az MTA doktora, Tudományos Tanácsadó
Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet
Növényi RNS Biológia Csoport, csoportvezető