

## OPPONENSI VÉLEMÉNY

Dr. Kurucz Judit Éva: "A veleszületett immunitás molekuláris vizsgálata *Drosophila melanogaster* modellszervezetben" című MTA doktori értekezésről

A veleszületett immunrendszer olyan ősi, a törzsfejlődés korai szakaszában kialakult, a gazdaszervezet integritását szolgáló védekezési forma, amelynek kulcsfontosságú elemei konzerváltak. Ezért azok működése jól vizsgálható már gerinctelen szervezetekben is, mert az ott kapott eredmények a mikroorganizmusok elleni első védelmei vonalban általános érvényűek. A genetikai vizsgálatokra régóta alkalmazott *Drosophila melanogaster* a könnyű vizsgálhatóság (RNS interferencia, mutagenesis stb) miatt vált a veleszületett immunrendszer modellszervezetévé. Kurucz Judit Éva munkacsoportja a 90-es évek óta kiemelkedő szereplője a *Drosophila* veleszületett immunrendszerében szerepet játszó receptorok, molekuláris markerek azonosításában. Az általuk fejlesztett monoklonális ellenanyagokkal megalkották a *Drosophila* CD markereit tartalmazó könyvtárat, melyek segítségével leírták azok véresejt alcsoportjait, fejlődési és aktivációs stádiumait valamint funkcióit.

Az értekezésben szereplő eredményeit a legkorszerűbb immunológiai, genetikai és proteomikai módszereket felhasználva érte el, melyeket több mint 30 közleményben publikált. Ezek összesített impakt faktora mintegy 110, független hivatkozása közel 1000, Hirsch indexe jelenleg 14. Az értekezés alapjául szolgáló 13 közleménye mellé a dolgozat témájában megjelent 8 közleményt is felsorol, melyek közül 10-ben első vagy utolsó szerző, ezek összesített impakt faktora 77,514. Jelölt publikációs aktivitása és citációs eredménye messze meghaladja a MTA Doktori Tanácsa által támasztott követelményeket és eleget tesz ezeknek az első/utolsó szerzős cikkek vonatkozásában is.

Formai szempontok: A dolgozat a tudományos dolgozatok hagyományos felépítését követi. Könnyítette volna az olvasást a 1,5-es sorköz és a jobb tagoltság, valamint az ábrafeliratok ábrák alá helyezése, amely sok helyen átcsúszik a másik oldalra.

Egy rövid bevezetés után 23 oldalon részletezi a *Drosophila* veleszületett immunrendszerének működését, a mikroba felismerési mechanizmusokat és azok által elindított jelátviteli útvonalakat. Ezt követi véresejtek (hemociták) képződésének, működésének, fagocitózisban szerepet játszó molekuláinak a leírása. Mindezt 24 ábra segítségével magyarázza, melyek közül sajnos apró, elmosódott betűméretei miatt a 2-es, 5-ös, 12-es, 13-as, 19-es és 24-es egyáltalán nem olvasható, ezért kevéssé ad információt az olvasónak. A 24-es és 76-os ábra szám kétszer szerepel a dolgozatban. A célkitűzéseket 7 pontban fogalmazza meg, amit célszerű lett volna külön oldalra, számozással ellátva elhelyezni. Az eredmények és azok megbeszélése összevonásra került a 3. fejezetben 5 alfejezetbe és számos alpontba tagolva. A 79 oldalon részletezett, logikusan leírt eredményeket 78 ábrával és 5 táblázattal illusztrálta. Sajnos az ábrák mérete és a fluoreszcens képek minősége itt is néhol nehezíti a bíráló dolgát. Az új eredmények összefoglalása 14 pontban, nagyon tárgyilagosan és visszafogottan fogalmazva jól mutatja a jelölt szerénységét ez eredményeit illetően. Az anyagok és módszerek fejezet a dolgozat végén, nagy gonddal részletezve található 11 oldalon. A dolgozatban közel 300 irodalmi idézetre hivatkozik. Sajnálatos, hogy viszonylag kevés a friss, elmúlt évekből származó publikáció, ami elhelyezné a saját munkát a jelenleg a témában megjelenő irodalmi adatok közé.

A dolgozat jó stílusban, a biológiai szaknyelv szabályai szerint íródott, ugyanakkor néhol túl tömör, nincs átvezetés az egyes fejezetek között. Mindezen formai észrevételeim nem kisebbítik a szakmai értékét és a tudományos eredmények fontosságát.

Kérdéseim, megjegyzéseim:

1. A jelölt még a biológusok között is kevesek által ismert modellt, az ecetmuslinca lárvákat felhasználva vizsgálja a veleszületett immunrendszer működését. Ezzel egy speciális szaknyelvet használ, tele rövidítésekkel, ami a bíráló számára nem mindenhol könnyen érthető. Ezt tovább nehezítette, hogy nem minden rövidítést találtam meg a jegyzékben.
2. Monoklonális ellenanyagok előállítása *Drosophila* lárvák hemocitáinak immunizálásával történt, amely minden típusát és fejlődési stádiumát reprezentáló sejt keverék. Ha szeparált sejtcsoportokkal történt volna az immunizálás vajon más markerek ellen kapott volna-e immunválaszt és ellenanyag termelődést?
3. Lehetséges-e az egyes hemocita alcsoportokat FACS vagy mágneses eljárással szeparálni és azt követően *in vitro* tenyészteni? Változik-e *in vitro* az egyes hemocita sejtcsoportok morfológiája, funkciója? Tudnak-e egymásba alakulni?
4. Beszélhetünk-e a *Drosophilákban* az immunsejtek között sejt-sejt kommunikációról, vagy csak fagocita-mikroba kapcsolódások zajlanak? Ha létezik sejt-sejt kommunikáció, annak milyen formái ismertek és mi a szerepe az immunválaszban? Beszélhetünk-e irányított sejt-vándorlásról?
5. Van-e a rovarokban vírusfertőzés és az elleni védekező mechanizmus?
6. Mi a viszonya a már ismert lymph gland-ban képződő hemociták és az általuk újonnan leírt szesszilis szövetben képződő vérsejt elemeknek. Lehet-e ezeket a humán primer és szekunder nyirokszervekhez hasonlítani?
7. A lárvákban észlelt nyirokszövetek a kifejlett állatokban hogy változnak az életkorral?
8. A scramblase 1 génnek szerepe van a foszfatidil-szerin transzlokációban, amely az apoptózis korai jele. Scramblase 1 mutáns *Drosophilában* B cereus fertőzés az életképesség csökkenését eredményezte. Mi a magyarázata, hogy csak ez az egy törzs okozott halálos fertőzést? Mi a szerepe a foszfatidil-szerin sejt felszíni megjelenés mechanizmusának a sebgógyulásban?

Új eredményként fogadhatóak el az alábbi megállapítások:

1. Monoklonális ellenanyagokat fejlesztettek *Drosophila* hemocita alcsoportok azonosítására, melyeket klaszterekbe soroltak. Meghatározták 16 monoklonális ellenanyag által felismert markerek expressziós mintázatát a különböző hemocita alcsoporton és fejlődési stádiumban: H1,2,3, az összes hemocita alcsoporton előforduló molekula, Ad1 a felnőtt hemocita, P1, P3 plazmocita, L1-6 a lamellocita, C2-5 a kristálysejten kifejeződő molekula.
2. Meghatározták az antigének molekulatömegét Western blot technikával. Azonosították a felismert molekulák szerepét.
3. Leírták a H2 molekula szöveti lokalizációját, génkönyvtár segítségével azonosították a kódoló gént, amelyet H+Emese névből „hemese” géneknek hívtak, amely egy transzmembrán fehérjét kódol. Ennek szerepe van a lamellocita differenciálódásban és a sejt-közvetített immunválasz szabályozásában.
4. Az L5 molekulát azonosították, mint a filamin 240 és 90 kD-os izoformáit, melynek szerepe van a lamellociták differenciálódásának gátlásában.

5. Génexpressziós és immunológiai módszerekkel időben követték a tokképződés során megjelenő markereket. Az L4 molekulát, mint  $\beta$ PS integrin adhézios molekulát azonosították és tisztázták annak szerepét a parazita darázsfertőzés során a tokképződés folyamatában.
6. Az anti-L1a és L1b ellenanyagokkal azonosított 16kDa-os fehérje expresszióját és szerkezetét, valamint az azt kódoló géncsaládot feltérképezték és „*atilla*” géncsaládnak nevezték el, melyek klaszterekbe csoportosulnak egyéb rovarokban is.
7. Leírtak a *Drosophila* lárvában egy a lymph gland mellett egy új szesszilis vérsejtképző szigetet, amelyből már korábban differenciálódnak lamellociták darázspete parazita fertőzés esetén. A hemociták és lamellociták differenciálódását befolyásoló jelátviteli útvonalakat (Toll, JAK/STAT, Alk Pvr tirozin kináz, MAPK) befolyásoló géneket azonosítottak transzgenikus törzsek létrehozásával.
8. A P1a és P1b ellenanyaggal egy transzmembrán fehérjét azonosítottak, melyet kódoló gént *nimród*nak nevezték el. Leírták a Nimród fehérje család domén szerkezetét és szerepét egyes baktérium törzsek és apoptotikus sejtek fagocitózisban és sejt adhézióban. Azonosították a *nimród* géncsaládot más rovarokban is.
9. Új *in vivo Drosophila* fertőzési modellt dolgoztak ki a bakteriális fertőzések elleni védekezés tanulmányozására a sebgyógyulásban és veleszületett immunitásban fontos génmutációs törzsekben.
10. Megállapították, hogy a *Drosophila raspberry* gén a fontos szerepet játszik a parazita darázspeték elleni tokképződés és melanizáció folyamatában.

A doktori értekezés számos új eredményt tartalmaz, melyek rangos nemzetközi folyóiratokban is publikálásra kerültek. Ezek alapján a mű hiteles adatokat tartalmaz, hozzájárul a genetika és immunológia tudományterületeinek tovább fejlődéséhez. Az általuk fejlesztett ellenanyagokat világszerte elismert és rutinszerűen alkalmazott standard-ként fogadja el a tudományos világ.

Ezért a nyilvános vita kitűzését javaslom és sikeres védelem esetén a doktori munka tudományos eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez.

Pécs, 2018. szeptember 14.

dr. Berki Tímea  
egyetemi tanár, MTA doktora