

Vellai Tibor, Ph.D., D.Sc.
egyetemi tanár
tanszékvezető
Tel.: +36-1-372-2500 Ext: 8684
Fax: +36-1-372-2641
E-mail: vellai.tibor@ttk.elte.hu
<http://celegans.elte.hu/>



Természettudományi Kar
Biológiai Intézet
Genetikai Tanszék

Pázmány Péter stny. 1/C. 5/505.
Budapest H-1117

Bírálat Dr. Káldi Krisztina „A cirkadián ritmus sejt- és szervezetszintű vizsgálata” című MTA doktori értekezéséről

Az értekezés tartalmi elemzése

A Föld forgása következtében az élőlények többsége állandó környezeti változásnak (pl. fény-sötétség periodikus váltakozása) van kitéve. Eme változáshoz történő adaptáció során egy belső biológiai (molekuláris) óra evolválódott, amely kialakítja az ún. cirkadián (napi) ritmust. Ez teszi lehetővé a szervezet alkalmazkodását a környezeti viszonyok napszakonkénti változásához. A cirkadián óra egy olyan endogén időmérő rendszer, amely felkészíti a szervezetet a ciklikus változásokra, hatékonyra teszi az alkalmazkodást, energiát spórol és segíti az antagonisztikus folyamatok elkülönítését. Az óra mechanizmusát alapvetően olyan fehérjék alkotják, amelyek idővel felhalmozódnak és közben önmaguk termelődését blokkolják. Ezen fehérjéket kódoló gének mutációi a napi ritmus megváltozását eredményezik. Soksejtűekben molekuláris hírvivők szinkronizálják az egyedi sejtekben zajló ritmust. A cirkadián óra zavara jelentős rizikófaktor pszichiátriai betegségek, neurodegeneratív elváltozások, rák, cukorbetegség, valamint szív- és érrendszeri betegségek kialakulásában. A terület alapkutatási és orvosi jelentőségét mi sem bizonyítja jobban, mint hogy a cirkadián ritmusra és órára vonatkozó úttörő kutatásokat 2017-ben orvosi és fiziológiai Nobel díjjal jutalmazták (díjazottak: Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash és Michael W. Young). Dr. Káldi Krisztina MTA doktori értekezése a cirkadián ritmus és a jelenséget szabályozó molekuláris óra komplex (genetikai, molekuláris biológiai és fiziológiai) elemzésével foglalkozik. Vonatkozó vizsgálatait, melyeket a 2000-es évek elején kezdett meg, *Neurospora crassa* fonalas gombában, emlős immunsejtekben (neutrofil granulociták) és emberen végezte el.

A dolgozat köszönetnyilvánításában a szerző az alábbiakat írja: „Szeretettel gondolok vissza azokra az időszakokra, amiket Wilhelm Just, Felix Wieland, később pedig Walter Neupert munkacsoportjában tölthettem. Diákként, illetve fiatal kutatóként példát jelentett

számomra tudomány iránti alázatuk, ...”. Ez a szemlélet köszön vissza a dolgozat minden oldaláról. Káldi Krisztina mértéktartó, precíz fogalmazással vezeti be az olvasót a terület főbb eredményeinek és orvosi biológiai jelentőségének, valamint a munkacsoportja által elért új eredmények megismertetésébe és értelmezésébe. A dolgozat – megítélésem szerint – a hazai molekuláris biológiai kutatások egy különleges ékköve; egy izgalmas és aktuális, de meglehetősen speciális tudományos terület remekbe szabott összefoglalója is egyben.

A dolgozat 13 saját közleményre alapul, ezek közül 9-ben utolsó-, 3-ban pedig (megosztott) első szerző. A cikkek összesített IF-a 126,47, független hivatkozásainak száma 618. A közlemények között 2 darab megosztott első szerzős *Cell* (IF: 29,43 és 32,4) publikáció, valamint egy társszerzős (2. szerző) *Genes Dev.* (IF: 15,05) cikk is található. Ezek a kiemelkedő minőségű közlemények elsősorban a Németországban elvégzett kutatómunkához kapcsolódnak. Hazatérve önálló csoportot hozott létre a Semmelweis Egyetemen, ahol a dolgozat alapjául is szolgáló *Free Radic. Biol. Med.*, *Antioxid. Redox Signal*, és *J. Biol. Chem.* cikkek születtek Káldi Krisztina levelezős szerzőségével. Mindezen tudásmetriai mutatók alapján nem merülhet fel kétség a dolgozat szakmai kiválóságával és a kutatási terület jelentőségével kapcsolatban.

Az értekezés formai elemzése és vonatkozó kritikai megjegyzések

A dolgozat átlagos hosszúságú (120 oldal), és 324 hivatkozásra támaszkodik. A Bevezető részben a cirkadián óra mechanizmusát írja le *Neurospora* és emlős rendszerekben. Megtudhatjuk, hogy az óra működése transzkripció és poszttranszkripció szabályozási lépéseket (foszforiláció, acetiláció, ubiquitináció és proteaszóma lebontás) egyaránt tartalmaz, valamint a gének akár 10%-át is befolyásolhatja. A cirkadián óra és az immunrendszer működése szoros kapcsolatban van. Nem véletlen, hogy a rendszer zavara számos humán patológia kialakulását eredményezheti. A megfogalmazott célok világosak és ambiciózusak: 1, a *Neurospora* pozitív órakomponensének (WCC) szabályozása; 2, reaktív oxigénszármazékok (ROS-ok) és az óra kapcsolata; 3, a RAS2 fehérje szerepe az óra és a metabolizmus összehangolásában; 4, neutrofil granulocitákban működő cirkadián ritmus és óra feltárása és jellemzése; és 5, a szociális *jet-lag* (időeltolódás) hatása a tanulmányi teljesítményre. A Módszerek rész precízen írja le a használt metodikákat.

Az Eredmények fejezet első nagy részében a Németországban végzett munkáit foglalja össze. Kimutatta, hogy 1, a foszforiláció alapvető jelentőségű az óraműködés pozitív komponensének represszáálásában – ezen keresztül gátolja FRQ fehérje WCC-t; 2, a PP2A foszfatáz felelős a WCC defoszforilációjáért (aktiválásáért); 3, a WCC defoszforilációja RGB-1-függő; 4, a *wc-1* gén szabályozott transzkripciója szükséges az

óra megfelelő fényválaszához; 5, a WCC sötétben is szabályozza a *wc-1* expressziót; 6, a *wc-1* promóter régió két fő szakaszból áll, a disztális rész fényre nem reagál, míg a proximális rész fényrel indukálható; 7, a WC-1 fehérje a WCC limitáló komponense; 8, a FRQ poszttranszkripció szinten serkenti a *wc-1* aktivitását; 9, az óra abszolút fényintenzitás helyett a fényintenzitás változását méri; 10, a Neurosporának két darab kék fényre reagáló receptora van; 11, a VVD fehérje gátolja a WCC dimerizációját (aktiválódását); 12, a VVD fizikailag kölcsönhat a WCC-vel; 13, a WD és az FRQ egymástól függetlenül stabilizálja a WCC-t; 14, a VVD szint egy molekuláris memória a megelőző fényperiódusra vonatkozóan. Ezek a fontos eredmények két *Cell*, egy *Genes Dev* és egy *EMBO Rep* publikációban lettek eredetileg közölve. Ennek tükrében szakmai probléma- és kérdésfelvetés nem tűnik relevánsnak a „bíráló” részéről.

Formai szempontból azonban lenne pár kritikus megjegyzésem. A fajnevek számos helyen nem dőltbetűvel szerepelnek; Rövidítésjegyzékben hol angolul, hol magyarul szerepelnek a magyarázatok; számos „angol-magyar” hibridszót (pl. asszociált, mediált, stb.) inkább magyarul írtam volna (kapcsolt, közvetített, stb.); a citációkra tett utalások néha a mondat közepébe lettek beszúrva; a képek felirata angolul van, ami nagyon zavaró egy magyar nyelvű dolgozatban; *wt* helyett vad típust írtam volna; helyenként a fogalmazás túlságosan „tudományos” vagy „szakzsargonos”, ami a megértés és olvashatóság rovására megy [egy nem olvasóbarát példamondat a 37. oldalról: „Míg a *wt*-ben a korábbiakban látottakhoz (LD átmenetkor adott CHX hatása) defoszforilálódott a WC-1 és jelentősen emelkedett az *frq* transzkripciója, addig az *rgb-1^{IP}* törzsben se a WC-1 defoszforilációja, se az RNS szint emelkedése nem volt számottevő.”] – érdemesebb lett volna közérthetőbben és egyszerűbben fogalmazni; „lókus” helyett lokusz a korrekt (habár nagyon sok helyen lehet találkozni az utóbbival); a % és °C jelölések kihagyás nélkül kellene követniük a számokat.

Az Eredmények fejezet másik része a Káldi laboratóriumban (Simmelweis Egyetem) végzett kutatásokat mutatja be. Noha itt is számos jelentős felfedezés született, érdekes módon az itthonról közölt publikációk minősége nem közelíti meg a kinti teljesítményt. Jelentős, de nem „*top level*” közlemények születtek döntően. A következő felfedezéseket ismerhetjük meg ebből a részből: 1, a ROS befolyásolja a cirkadián óra működését, hatására megváltozik a periódushossz; 2, a ROS ugyancsak befolyásolja a WCC PP2A-függő defoszforilációját; 3, a RAS2 (monomer G) fehérje az óraműködés metabolikus kompenzációját szabályozza, de nem áll az óra kontrollja alatt; 4, RAS2 funkció hiányában órakomponensek (FRQ, WC-1, WC-2) hipo- és hiperfoszforilációja történik meg; 5, RAS2 funkció hiányában a WC-1 szintje nem oszcillál sötétben; 6, a RAS2 befolyásolja az FRQ sejten belüli lokalizációját; 7, a RAS2 részt vesz az oszcillátorműködés glükóz szintekhez történő alkalmazkodásában; 8, a neutrofil granulocitákban – melyek száma a vérben napi ritmust mutat – nem detektálható oszcillátorműködés, és bennük a *Per1* expressziót a kortizol növeli; 9, a szociális *jet-lag*

(SJJ – a munkanapi és szabadnapi alvási középido különbsege) mértéke arányos az évközi tanulmányi eredményekkel; 10, késői kronotípusú egyének nagyobb valószínűséggel teljesítenek gyengén reggel; és 11, nagyobb SJJ-hez rosszabb alvásminőség társul a hétköznapiokon, és jelentősebb szívfrekvencia eltérés kapcsolódik az érintett egyénekben. Az eredmények megfelelően prezentáltak, csupán a 37. ábra Western blot eredményét kellett volna mennyiségileg is jellemezni, mert a kép alapján szemre nehéz eldönteni, melyik komponens mennyire hipo- vagy hiperfoszforilált.

Az értekezésre vonatkozó kérdések

- 1, A cirkadián óra működése robosztus: a VVD fehérje represszálja a WCC működését gyenge fényben (értsd: gátolja, hogy a félhold felborítsa az óra működését). A városi életforma éjszakai megvilágításai azonban messze meghaladhatják a félhold fényerősségét. Ez miért nem torzíja el a biológiai óránk ritmusát, miért nem okoz tömeges mértékű alvási problémákat?
- 2, Milyen molekuláris kölcsönhatásokon keresztül alakulhat ki egy tetszőleges humán betegség az óra hibájának következtében?
- 3, Mi a helyzet az állandóan sötétben (pl. talajban, barlangban) élő szervezetek esetében? A *Caenorhabditis elegans* fonalféregnek például van cirkadián órája?
- 4, A jelölt eredményei alapján a ROS-ok hatnak a cirkadián óra működésére. A ROS-ok részben a mitokondriális respiráció termékei. Miért nem befolyásolja a fokozott mitokondriális légzés az óra normális működését?
- 5, Miért hat a glükóz az oszcillátorműködésre?
- 6, Minden fajt egy adott átlagos élettartam jellemez (a *C. elegans* jellemzően 2 hétig, a *Drosophila* 2 hónapig, a kutya 10-15 évig, míg az ember 70-80 évig él). Létezhet egy olyan biológiai óra, amely az életkorunk változását méri, és amely beállítja az öregedési ráta sebességét? A cirkadián óra mechanizmusának tükrében milyen jellegű molekuláris gépezetről lehet szó?

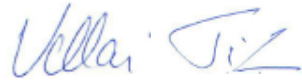
Értékelés, ajánlás

Az értekezésben bemutatott témakörök szinte mindegyike fontos, alapvető biológiai problémát boncol. Az ezekre vonatkozó bemutatott eredmények némelyike jelentős orvosi biológiai alkalmazásokat rejt.

Az értekezés és az értekezés alapjául szolgáló kutatómunka messze megfelel az MTA doktora cím odaítélésével kapcsolatban támasztott feltételeknek, és rávilágít egy értékes tudományos életműre, ezért javaslom és támogatom Dr. Káldi Krisztina részére az MTA doktora cím adományozását.

Tisztelettel,

Budapest, 2021. május 18.



Vellai Tibor, Ph.D., D.Sc.
egyetemi tanár
ELTE Genetikai Tanszék