Bírálat

Vellai Tibor: „Jelátviteli kapcsolatok feltárása *Caenorhabditid elegans*-ban" c. akadémiai doktori értekezéséről

A dolgozat Jelölt azon eredményeit foglalja össze, amelyeket a *Caenorhabditis* fonálférgen nyert a celluláris autofágia és a vulva-fejlődés genetikai szabályozására vonatkozólag. Az **autofágia** a sejtek önemésztő folyamata, amelynek során az éhező sejtek lizoszómák segítségével lebontják a tartalék anyagaikat, egyúttal megszabadulnak a citoplazmában lévő „salaktól" (hibás fehérjék és egyéb végtermékek zárványaitól, stb.), amely a sejt öregedésének egyik okozója. Ilyenformán az autofágia az élethossz szabályozásának lényeges tényezője a sejt és az organizmus szintjén egyaránt. A **vulva** a hermafrodita féreg női ivarnyílása, amelynek szerkezete három prekurzor sejtből (VPC) fejlődik ki. A vulva fejlődésének folyamata, amely a mikroszkópos anatómia szintjén tökéletesen dokumentált, a sejtek közötti kölcsönhatások tanulmányozásának egyik kedvelt objektuma. A dolgozat a a jelátviteli utakban szereplő gének funkcionális kölcsönhatásainak szempontjából elemzi a fenti folyamatokat. A munka a genetikai analízis szép példáját adja, amelynek során a mutáns fenotípusokból és az episztázis analízisből levont következtetéseket biokémiai kísérletekkel is alátámasztották.

A dolgozatot először **formai szempontból** értékelem. **Szerkezete** arányos, a szokásos tagolódást követi: Tartalomjegyzék, Előszó és Köszönetnyilvánítás, Irodalmi háttér, Eredmények és interpretálásuk, A fontosabb eredmények diszkussziója, Irodalomjegyzék (212 idézett irodalom), A dolgozat alapját képező és egyéb saját közlemények, valamint Függelék c. fejezetekből áll, utóbbiba kerültek a kísérleti módszerek. A dolgozat terjedelme 131 oldal. A **szöveg stílusa** általában világos és érthető, kerüli a hosszú körmondatokat. Megjegyzem, hogy magyarsága néhol kívánnivalót hagy maga után, gyakran használ labor-szleng kifejezéseket és angol szavakat, sőt néhol a fogalmazás ill, szóhasználat is angolos (pl. szenvedő és jelzői szerkezetekben, szórendben, stb.), ami időnként az érthetőség rovására megy..

A **fejezetek számozása** több helyen eltér a Tartalomjegyzéktől. A 22. old.-on a 3.3.1. „Paradigma I. Autofágia" cím alatt közvetlenül jön a 3.2.1.1. alfejezet, amely helyesen 3.3.1.1. a Tartalomjegyzékben. A hibás számozás a szövegben csak a 29. oldalon szűnik meg (3.3.2. Paradigma II. A vulva fejlődés szabályozása). Számozási hiba a Tartalomjegyzékben is van: az előbb említett 3.3.2. fejezet alatt a Tartalomjegyzékben 3.4.3.1. és 3.4.3.2. alfejezetek szerepelnek, ezek számozása viszont a szövegben helyes (29. old.:3.3.2.1. „Mintázatképzés" és 31. old.:3.3.2.2. „Genetikai útvonalak"). Hasonló probléma az **ábrák számozásában** is akad: a 63. old.-on lévő 52. ábra után a számozás megfelelő, a 68. old.-on azonban újra egy 52. ábra van, amelyre ugyanazon oldal szövegében mint 58. ábrára hívatkozik. A 69. old.-on lévő 53. ábra után a 70. old. 55. ábrája következik, ami helyesen 54. ábra lenne. A 71. és 72. oldalakon viszont mindkét ábra 56. számot visel, bár a 72. old.-on lévőre u.ezen oldal szövegében mint 57. ábrára hívatkozik.. Ezt követőleg az ábrák számozása innen folytatódik: a 73. old.-on lévő 57. ábrától az utolsó, 94. ábráig (106. old.). Egyéb **értelemzavaró elírások**: a 67. ábra magyarázatában (82. old.) a szex-kromoszómák és autoszómák arányát dupla kettősponttal írja (XX::AA=1 és X0::AA=0,5), amit az ábrában viszont helyesen jelez. A 77. ábra (89. old.) *Drosophilá*ra vonatkozó részében kétszer egymás után szerepel *abd-*, ami helyesen *abd-A* és *abd-B* . Ugyanitt a tori és abdominális génexpressziót jelző nyilak elcsúsztak

a posterior irányba. A 2. Táblázatban (41.-42. old.) kétszer szerepel *lgg-1* jelzés (helyesen *lgg1/Atg8* és *lgg-3/Atg12*).

Tartalom szempontjából a dolgozatot nagyon jónak tartom. Az eredményeket a szakterület vezető nemzetközi folyóirataiban közölték, és számos új felismeréssel gazdagították a *Caenorhabditis* fejlődésgenetikáját. A dolgozat alapját képező 19 közleményből (ΣI.F.: 125,895) 15-ben Jelölt első vagy utolsó szerző. Itt jegyzem meg, hogy ezek közül 12 közleményben csak magyar szerzők szerepelnek, ami Jelölt iskolateremtő munkáját dícséri.

A dolgozatban foglalt eredeti eredmények közül a következőket emelem ki:

1. A TOR kinázt kódoló *let363* gén az autofágia gátlásán keresztül negatíve szabályozza az élettartamot. A TOR az IGF-1 receptor (*daf-2*) és a FoxO (*daf-16*) hatását közvetíti, amelyekkel egy jelátviteli útban működik, az előbbiekhez képest *downstream*.
2. Meghatározták az élesztő autofág génjeinek orthológjait a fonálféregben, és mutánsaik ill géncsendesítő transzgének episztázis-analízisével megállapították, hogy az autofágia gének episztatikusak az élettartamot befolyásoló egyéb folyamatok (tápanyagfelvétel és a mitokondriális légzési lánc) génjei felett. Ez arra utal, ezeknek az útvonalaknak a hatásai az autofágia-génkaszkádon konvergálnak, hatásuk ezen keresztül érvényesül. Az autofágia az öregedés folyamatának központi szabályozója.
3. Az autofágia génjei befolyásolják a sejtek növekedését és méretét is, az inzulin/IGF-1 és a TGF-β útvonallal kölcsönhatásban. Emellett a BEC-1 autofág fehérje és az anti-apoptotikus CED-9 (Bcl-2 orthológ) komplex-képzésével igazolták, hogy az autofágia kölcsönhatásba léphet az apoptózis és nekrózis útvonalakkal is.
4. Megmutatták, hogy a vulva fejlődését irányító LIN-39 HOX transzkripciós faktor közvetlenül szabályozza a *lin-12* Notch receptor gén és a *lag-2* Notch ligand transzkripcióját.
5. A szex-determinációs kaszkád végső effektora, a TRA-1A fehérje közvetlenül represszálja a *lin-39* gén expresszióját. Ezzel elsőként ismerték fel a szexdeterminációs kaszkád szerepét a vulva fejlődésében.
6. Genetikai és biokémiai eszközökkel igazolták, hogy a TRA-1A transzkripciós faktor közvetlenül represszálja a szex-determinációs kaszkád működését meghatározó *xol-1* gént, vagyis a kaszkád eleje és vége között negatív *feed-back* mechanizmus működik.

Az alábbiakban néhány kérdést teszek fel:

a.) A 28.old. alján írja, hogy „A Ras fehérje a Raf Ser/Thr kinázt foszforilálja…". Ez nyilván elírás a „Ras fehérje a Raf Ser/Thr kinázt aktiválja" helyett. (l. 18. ábrán is).

b.) A *bec-1(-)* mutáns homozigóta életképtelenségét *bec-1::gfp* transzgénnel menekítették. Az 50. és 54. oldalon említi, hogy ezek a transzgének extrakromoszómális állapotúak és mozaikos állatokat eredményeznek. Nem világos ennek mechanizmusa.

c.) A 39. ábrán látható, hogy az ATP-3 mitokondriális ATP-szintáz komponens RNAi géncsendesítése megnöveli az élethosszt, és az autofág LoF mutánsok élet-rövidítő hatása efölött episztatikus. Kérdés, hogy az autofágia gének

overexpressziója megnyújtaná-e az *atp-3(-)* élettartamát, azaz a kettő szinergizálna-e egymással?

d.) Az 56. ábrán látható, hogy a *bec-1* autofág gén inaktiválása apoptózist indukál, hasonlóan a ced-9/bcl-2 mutánshoz. Az egyik gén overexpressziója mentheti-e a másik inaktiválásának hatását?

Végezetül kijelentem, hogy fenti észrevételeim a dolgozat tartalmának értékét, az eredmények jelentőségét nem csökkentik. Javasolom a dolgozat nyilvános vitára bocsátását, sikeres védés utáni elfogadását és az MTA Doktora cím odaítélését.

Szeged, 2011. március 31.

Dr. Kiss István
Tudományos tanácsadó
MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont