

Válasz Prof. Sipiczki Mátyás opponensi véleményére

Tisztelettel köszönöm Sipiczki Mátyás professzor úr opponensi véleményét, melyben a dolgozatomban bemutatott eredményeket elegendőnek tartja az MTA doktori cím megszerzéséhez. Megtiszteltetés volt hallgatnom hajdan volt tanárom elismerő szavait. A tanítvány számára tanárának elismerése és természetesen bíráló szavai is különös értékkel bírnak. Az elismerést és a megfogalmazott bírálatokat is jó szívvel fogadom.

Bírálat érte a téziszüzet helyesírását és a közleményjegyzék következetlenségeit. A kritikát elfogadom. Valóban, a tézis füzetre, és az egész dolgozatra ráfért volna egy gondos végső lektorálás. A volt tanár megértő dorgálását olvasom ki a következő mondatokból.

„ Az értekezés mértéktartó, mindössze 104 oldalas terjedelmének köszönhetően a bemutatott eredmények viszonylag könnyen áttekinthetők. A mértéktartás mellékhatásaként a kísérleti megvalósítás rögzös útjának számos részlete rejtve marad az olvasó előtt. Ha kíváncsi rájuk, megtalálja azokat az interneten. „

Dolgozatom elkészítésekor a kísérleti módszerek leírása okozta a legnagyobb fejtörést számomra. A túl részletes leírás az olvasót szükségtelen erőfeszítésre kényszeríti, a módszerek elnagyolt ismertetése pedig felületességre vallott volna. A megoldást abban láttam, ha a kísérletek elvi leírását az eredmények részben, legtöbbször egy bőszéges ábraalírásban szerepeltetem. A kísérleti elvek közül így természetesen csak azokat írtam le eredményként, melyeket magunk fejlesztettünk ki. Így például a *Drosophila* genetika általánosan használt keresztezési sémái rendre kimaradtak. Lehetséges, hogy ez hiányérzetet kelt az olvasóban. A kísérletekben alkalmazott eljárások technikai részleteit klasszikus anyag és módszer részben, a lehető legrészletesebb módon írtam meg, azzal az igénnyel, hogy a leírásokból a kísérletek reprodukálhatók legyenek.

Köszönöm, hogy bírálóm megemlíti az SZBK Genetikai Intézetének nagy múltú *Drosophila* genetikai műhelyét, melyhez tartozónak van szerencsém mondani magam, és nagyon sokat köszönhetek ennek a közösségnek. Köszönöm továbbá, hogy bírálóm kiemelte nagy impakt faktorú közleményeimet. Meg kívánom jegyezni, hogy sokszor a kevésbé neves folyóiratokban közölt publikációimra büszkébb vagyok, mert tudom, hogy azok mögött az adott esetben sokkal több saját és munkatársaim által elvégzett munka van.

Bírálóm egyetlen, de igen összetett kérdést tesz fel opponensi véleményében.

„A dolgozattal kapcsolatos egyetlen kérdésem is az utóbbiakra vonatkozik. Amikor a transzkriptum elemzése azt mutatja, hogy egy jelenség vagy folyamat mögött gének csoportja áll, akkor még nem látszik, de sejthető, hogy a gének egy része csak áttételesen, pleiotrop módon vesz részt a meghatározásban. Elsődleges funkciójuk egészen máshol valósul meg. Milyen stratégiával lehet az ilyen géncsoporton belül a legegyszerűbben tisztázni, hogy melyik géneknek van közvetlen és melyiknek van áttételes szerepe.”

A kérdés a mai genetikai analízis legfőbb kihívását érinti. A klasszikus genetikai boncolás fenotípusok megfigyelésén alapszik. Mára ez a végletekig kifinomult rendszer egyértelmű következtetések levonását teszi lehetővé egy adott génnek egy bizonyos életfolyamat szabályozásában betöltött szerepére vonatkozóan. Funkció nyeréses és veszteses fenotípusok összehasonlításával egyértelműen meghatározható az adott gén funkciója. Páros genetikai interakciókon alapuló kísérletekkel egy biológiai jelenség irányításában résztvevő géneket alá fölé rendelőségi viszonyok felderíthetők, az egyes gének lineáris szabályozási sorba állíthatók. A fenotípusok fókuszának meghatározásával megmutathatók azok a szövetek, sejtek, melyekben az adott gének működnek. A klasszikus genetikai analízis, éppen érzékenysége okán feltárhatja azonban egy gén pleiotróp voltát, vagyis, hogy több életfolyamat szabályozásában is részt vesz. A klasszikus genetikai analízis egy gén funkciói közül az éppen vizsgáltat fő fenotípusnak a többit pleiotrópnak tekinti. Az utóbbi idők megfigyelései kezdik kikezdeni a klasszikus genetikai analízisen alapuló világgépet. Kiderült, hogy a pleiotropia jelensége nem kivétel, hanem szabály, a gének túlnyomó többsége nem sejt vagy szövetspecifikusan hat. Olyan genetikai szabályozó elemekre derült fény melyek egyszerre több száz másik gén expresszióját szabályozzák, ráadásul sejtről sejtre eltérő kombinációban. Ebben az esetben a pleiotropia nem egy tisztázandó mellékkörülmény, hanem maga a működési mód. Továbbá kiderült, hogy a gének felének teljes funkció vesztese sem okoz hagyományos értelemben vett fenotípust. Ezen gének vizsgálata klasszikus egyes mutáns vizsgálatokra alapozva nem kivitelezhető. Mára az is nyilvánvaló, hogy a gének hierarchiája általában, de különösen ezeknek a nagyon pleiotróp szabályozási géneknek működése hálózatos modellekkel, mintsem lineáris szabályozási rendszerekkel írható le.

Nagy szükség lenne tehát génhálózatok szerveződési szintjeinek vizsgálatára alkalmas genetikai eszköztár, gondolkodásmód, és nomenklatúra kialakítása. Égető szükség lenne olyan eszközökre, melyek a hagyományos, néhány kategóriába sorolható durva fenotípus elemzésén túl a genom működésének finom megváltozásait tudnák *in vivo* megfigyelhető fenotípussá alakítani. Eszközfejlesztés ideje van. Vannak rész megoldások, de korántsem állt össze egy koherens új genetikai világgép. Egyik megoldási kísérletnek tekinthetjük a többes genetikai interakción alapuló ivarsejhiányos fenotípusra érzékenyítő rendszerünket. Ez alkalmas arra, hogy megmutassa, hogy egy adott gén részt vesz-e az adott folyamat kialakításában, vagyis a pleiotróp funkciók közül kiemeli az ivarsejtek életében fontos funkciót. Ez a módszer az episztázis vizsgálatokkal ellentétben azonban alkalmatlan a génhierarchiában betöltött hely megmutatására. Az injektáláson alapuló RNSi rendszerünk is egyfajta kísérlet arra, hogy a pleiotróp funkciók közül kiválasszuk a számunkra fontos fenotípus elemeket. Az injektálás adja ugyanis jelenleg a *Drosophila* ivarsejthiányos fenotípusok vizsgálatnak a legjobb időbeli felbontását. A módszer használatával a megfigyelt jelenség szempontjából releváns időablakkal szűrhetjük ki, a pleiotróp fenotípus elemek közül a mi esetünkben az ivarsejt kialakulás szempontjából fontosakat. Injektálással a gének működésének megfelelő időbeliségről kapunk adatokat, de a módszer a szövetspecifitásról nem mond semmit. A szövetspecifikus jelleg kimutatására új eszközöket kezdünk a dolgozat beadása utáni időben használni. Ivarsejtspecifikusan illetve testisejt-specifikusan működő mesterséges microRNS-ekkel mutatjuk meg, hogy az ivarsejt-specifikus fenotípus fókusza melyik sejttípusban van. Az itt felvázolt kísérleteink összességéből származó eredmények

alapján próbáljuk megállapítani, hogy egy adott gén mennyire közvetlenül járul hozzá egy az ivarsejtek fejlődésének vizsgálatára használt fenotípusért.

Végezetül még egyszer köszönöm Sipiczki professzor úr elfogadó bírálatát.

Szeged, 2012. október 29.

Erdélyi Miklós