

Bírálat

Mihály József „A szöveti polaritás és egy új aktin sejtvezetési szabályozó fehérje vizsgálata *Drosophila melanogaster*-ben” c. MTA doktori értekezéséről

Az értekezés a planáris sejt- és szöveti polaritás (PCP) kialakulásának és ezzel összefüggésben az aktin sejtvezetési átrendeződésének genetikai szabályozásával foglalkozik az *ecetmuslica* modellrendszerben. Az epidermisz-függelékek és az összetett szem polaritásának kialakulására vonatkozólag eredeti új megfigyeléseket tett, véleményem szerint eredményei lényegesen hozzájárulnak a tudományterület további fejlődéséhez.

Főbb megállapításai a következők:

- (1) A Wnt ligandot kötő két rokon receptor-fehérje, a Frizzled (Fz) és Frizzled2 (Fz2) jelátviteli specifitása különböző: a Fz elsősorban a Wnt/PCP, a Fz2 pedig a Wnt/ β -katenin útvonalat aktiválja.
- (2) Az összetett szem polarizált szerkezetének kialakításában az Ap-1, Yan, Pnt ill. Su(H) transzkripciós faktorok működnek közre, amelyek integrálják a Fz/PCP és az Epidermális növekedési faktor receptor (Egfr), ill. a Notch szignál-transzdukciós útvonalokról érkező jeleket.
- (3) A genetikai mozaicizmus felhasználásával új mutáns- izolálási stratégiát dolgozott ki, amelynek segítségével számos új polaritási mutáns gént azonosítottak. Ezek közül részletesen jellemezték a *rab23* és a *daam* gének *Drosophila* ortológjait.
- (4) A Rab23 egy kismolsúlyú GTPáz, amely specifikusan szabályozza az epidermisz-sejteken lévő egyes szőrök, a trichómák orientációját és számát, de a több sejtből összetett szőrök fejlődésére nincs hatással.
- (5) A másik részletesen jellemzett faktor a forminok közé tartozó dDAAM, amely a profilinnal együttműködve fokozza az aktin-polimerizációt, ezen keresztül a celluláris filopódiumok és lamellipódiumok képződését. A dolgozat részletesen elemzi a dDAAM szerepét a tracheák és az idegsejt-axonok fejlődésében, bizonyítja kölcsönhatását a Rho, Src43 és Tec29 protein-kinázokkal, és új formin-funkcióként írja le az aktin-filamentumok magasabbrendű szerveződésében játszott szerepét. Az egér és a muslica DAAM *in vivo* funkcióikban képesek egymást helyettesíteni, ami nagyfokú evolúciós konzerváltságot bizonyítja.

A kísérleti munkára és az értekezés egészére egyaránt a precíz következtetés jellemző. A munka vonalvezetése logikus és világos, a kísérletek egyértelmű igen-nem válaszokat adnak. Az eredményeket körültekintő óvatossággal, többféle szempont figyelembe vételével értékeli. A kísérleti munkában dominál a genetikai megközelítés, a gének egymás közötti viszonyának meghatározásában gyakran alkalmazza a mutánsok episztázis analízisét. A genetikát biokémiai módszerekkel, pl. immuno-precipitációval is kombinálja, és *in vitro* sejtenyészetekkel is dolgozik. Külön kiemelve a mikroszkópos immun-hisztokémia, amelynek kiváló eredményét az összesen 84 ábra nagy része szemlélteti.

Formai szempontból a dolgozat Előszó és köszönetnyilvánítás, Irodalmi áttekintés, Eredmények és megvitatásuk, Összefoglalás, Irodalomjegyzék és a Függelékek-ben Anyagok és módszerek, valamint Rövidítések jegyzéke c. fejezetekből áll. A Rövidítések jegyzéke nagyon hasznos az olvasó számára, de ahogy

az már lenni szokott, számos rövidítés kimaradt belőle. Az Irodalmi áttekintés c. fejezet nagyon jó összefoglalást ad a szöveti polarizáció jelenségéről és az ebben szereplő, jelenleg ismert génekről. Kritikailag értékeli és véleményezi a gének együttműködésére és hierarchiájára vonatkozó modelleket. Az Eredmények és megvitatásuk c. fejezet szerkesztése némileg rendhagyó, bár jól követhető: az eredményeket a megjelent közlemények szerint tárgyalja, az ismétlődő Háttér, Eredmények és Következtetések c. alfejezetekben. A mutáns fenotípusok leírása pontos, a penetrancia mértékét számszerűleg és statisztikailag értékeli. Az Irodalomjegyzék 302 idézett közleményt tartalmaz, ami a Jelölt széles irodalmi tájékozottságát mutatja.

A dolgozat világos, jól érthető stílusban íródott. Néhány gépelési hibától eltekintve a szöveg teljesen hibátlan. Megjegyzendő viszont, hogy visszatérőleg használ idegen kifejezéseket, pl. detektál, fókuszál, rekrutál, és kerüli az elváló ígékötők használatát (pl. „nem kimutatható”, 84. old.).

Az ábrák nagyon szépek, esztétikusak, jól szerkesztettek, a jelölések és az ábramagyarázatok is jól követhetők. Néhány megjegyzés azonban engedjék meg ezzel kapcsolatban.

A 48. ábra (77. old.) magyarázatában a genotípusok jelzése nem egyértelmű: pl. a $stbm^6$; $Rab23^{51}/+$ kombináció a $stbm$ allélra valószínűleg homozigóta? A következő oldal 49. ábráján (78. old.) viszont már precízen kiírja a homozigóta mutációkat.

Az 56. ábra azt szemlélteti, hogy a profilin és a dDAAM FH1-FH2 doménje szinergista módon gyorsítja az aktin filamentumok növekedését. Az 56.A ábra grafikonján a polimerizáció sebessége egyértelműen a profilin + aktin jelenlétében a legnagyobb. Az 56.B ábra jobb oldalán feltüntetett polimerizációs sebesség aktin + profilin jelenlétében 2,91 su/s, aktin + profilin + dDAAM FH1-FH2 jelenlétében viszont csak 2.35 su/s.

A 71. P ábra diagramján nem világos, hogy mit jelentenek az egyes oszlopok tetején feltüntetett számok?

Az alábbiakban néhány kérdést említek abban a sorrendben, ahogy az értekezés olvasása közben felvetődtek:

- (1) 71-72. old.: a vad típusú báb szárny-epidermisz sejtjeiben az aktin a sejtek disztális csúcán halmozódik fel, és a későbbiekben minden sejten egy trichoma szőr fejlődik. A $Rab23^{T69A}$ mutánsban viszont az aktin diffúzabb formában halmozódik fel, és sejtenként több trichóma is fejlődik. Lehetséges, hogy a két mutáns jelleg nem független egymástól: a trichóma fejlődése ott indul meg, ahol az F-aktin koncentrációja meghalad egy küszöbértéket, és ez a mutáns sejtekben egyidejűleg több ponton is megtörténhet?
- (2) 79. old.: „Az elsődleges PCP gének vonatkozásában a szinergisztikus interakció arra utal, hogy a $Rab23$ egy azoktól független vagy (részben) redundáns jelátviteli útban vesz részt.” Ha két mutáns gén egymástól függetlenül működik, akkor fenotípusuk additíve összeadódik. A szinergizmus inkább arra utal, hogy a kétféle géntermék szorosan együttműködve, pl. egy komplexben funkcionál. A következő mondatban rögtön közli is, hogy a $Rab23$ és a Pk fehérje egymással komplexet képez.
- (3) 80. old.: A $Rab23$ és a *hedgehog* (*hh*) gének gerinces ortológjai (pl. *Shh* egérben) jelátviteli kapcsolatban állnak egymással. A *Drosophila Rab23* mutáns fenotípus azonban nem mutat hasonlóságot a *hh* fenotípussal, ami arra utalhat, hogy a két gén *Drosophilában* független egymástól. Van-e genetikai kölcsönhatás az *ecetmuslica Rab23* és *hh* mutánsok között?

- (4) 83-84. old.: Az 52. ábrán látható, hogy a *dDAAM* 5' deléciós mutánsok, amelyek homozigóta letálisok, kiejtik az első három, nem-transzlált exont, de meghagyják a 4. exont, amelyben a translációs startpont van. Az lenne várható, hogy a mutáns génről átíródó csonkolt mRNS-ről hiánytalan fehérje szintetizálódik. Keletkezik-e mRNS ill. dDAAM fehérje a mutánsokban, és mi lehet a letalitás oka? Ugyanitt a *dDAAM^{Ex202}* deléció, amely eltávolítja a gén 3' végét, de meghagyja a 4.-7. exonokat, szintén homozigóta letális, és Western blot-on nem tudták kimutatni a csonkolt fehérje jelenlétét. Keletkezik-e ebben a mutánsban csonkolt mRNS?
- (6) 86. old.: Emlősökben a DAAM fehérje komplexet képez a Dsh fehérjével (l. 82. old.). *Drosophila*-ban azonban a *dDAAM* mutánsok nem mutatnak a *dsh* mutánsokéhoz hasonló PCP fenotípust. Van-e genetikai interakció a *dDAAM* és a *dsh* mutánsok között?
- (7) 122. old., 84. ábra: Az egér *mDAAMI* transzgén menekíti a *Drosophila* *dDAAM^{mat/zyg}* mutáns idegrendszer-fejlődési hibáit. Képes-e az *mDAAMI* helyettesíteni a *dDAAM* gént a trachea fejlődése során is?

Fenti észrevételeim a disszertáció lényegét nem érintik. Mihály József munkáját és eredményeit minden szempontból kitűnőnek tartom, amelyek véleményem szerint bőven teljesítik az MTA Doktora fokozat követelményeit. Javaslom az Értekezés nyilvános vitára bocsájtását, és az MTA Doktora fokozat odaítélését.

Szeged, 2011. szeptember 21.

Dr. Kiss István
Tudományos tanácsadó
MTA Szegedi Biológiai Központ
Genetikai Intézete