



MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
SZEGEDI BIOLÓGIAI KÖZPONT
Biofizikai Intézet
6701 Szeged, Temesvári krt. 62. Pf. 521.
Telefon: 36-62-599-753 Fax: 36-62-599-759

**Opponensi vélemény Kovács Mihály „Motorenzimek működésének sokfélesége” c.
MTA doktori értekezéséről**

Az értekezés az élőlények különböző szervezeti szintjein lejátszódó mozgásokban alapvető szerepet játszó motorfehérjék működési mechanizmusának molekuláris részleteivel foglalkozik. A szerkezet-funkció összefüggéseivel kapcsolatos olyan új tudományos eredményeket tárgyal, amelyeket a jelölt PhD fokozatának megvédése óta ért el. A téma – fontossága és határterületi jellege következtében – biológusok, vegyészek, orvosok és fizikusok kiemelt érdeklődésére tarthat számot. A dolgozat alapjául szolgáló felfedezéseket mintegy 27 nemzetközi közleményben foglalta össze a szerző, amelyek – kivétel nélkül - a tudományterület legmagasabban jegyzett nemzetközi folyóirataiban jelentek meg. A téma közérdeklődésre számot tartó jellege okán Dr. Kovács Mihály több magyar nyelvű, ismeretterjesztő cikket is publikált az elmúlt években.

A jelölt kiemelkedő eredményeket ért el a motorenzimek szerteágazó funkciói, és a hozzájuk rendelhető szerkezeti-kinetikai sajátosságok közötti összefüggések feltérképezésével. A különböző izom és nem-izom miozin izoformák, valamint a DNS-helikázok energiaátalakító mechanizmusát összehasonlítva egyrészt közös alapelveket fogalmazott meg a motorenzimek működésére vonatkozóan, másrészt elemezte és a funkció szempontjából értelmezte a szerkezeti különbségeket. A motorenzimeket az enzimműködés kinetikai paraméterei alapján funkcionális csoportokba osztotta. Igen

érdekesnek találtam annak kimutatását, hogy a mechanikai terhelés hogyan szabályozza a miozin 2 „üzemmód-váltását”.

Kutatásai során a legkorszerűbb molekuláris biológiai és biofizikai vizsgálati módszereket alkalmazta (rekombináns géntechnológia, fluoreszcencia-spektroszkópia, egyedi molekula motilitási tesztek és fluoreszcencia-mérések, röntgen-krisztallográfia, molekulamodellezés). Az eredmények elérésében hangsúlyos szerepet kaptak az enzimciklus időbeli lefutásának követésére alkalmas relaxációs technikák (stopped-flow, queched-flow, T-jump, kinetikai modellezés). Főként az utóbbiakhoz kapcsolódnak a jelölt módszertani fejlesztései is, amelyek közül kiemelném a nukleinsavak mentén mozgó motorfehérjék legfontosabb funkcionális paramétereinek meghatározására általánosan alkalmazható kinetikai mérési eljárást.

A mintegy 80 oldalas értekezés felépítése arányos, stílusa világos, olvasmányos, ugyanakkor a szerző mindig ügyel a tudományos szabatsosságra is. A mondanivaló megértését kiváló ábrák segítik. A szövegben értelemzavaró hibákat nem találtam, a disszertáció olvasásakor felmerült alábbi kérdéseim és megjegyzéseim inkább abból adódnak, hogy az igen nagy volumenű kutatómunka teljes részletességű tárgyalása a dolgozat keretei között nem volt lehetséges.

1. 30. oldalon látható séma jól leírja a különböző aktomiozin formák kinetikai jeleit annak ellenére, hogy gyakorlatilag csak a legfontosabb kémiai lépéseket (asszociációs-disszociációs folyamatok, ATP-bontás) tartalmazza. Ez - tekintettel arra, hogy a séma bonyolultságából adódóan sok kinetikai paraméter szerepel - nem túlságosan meglepő, de felveti a kérdést, hogy a valamely „belső” (konformációváltozásos) lépés elhanyagolása nem módosíthatja-e jelentősen az egyszerűsített séma illesztésével meghatározott kinetikai paramétereket, illetve, hogy mekkorára becsüli az illesztésből meghatározott kinetikai paraméterek hibáját?

2. A 49. oldalon tárgyalja, hogy vak dokkolásos elemzése szerint a blebbistatin a miozin aktinkötő árkába köt (33. ábra). Vannak-e molekuladinamikai modellezési eredményei

arra nézve, hogyan egyeztethető ez össze azzal a kísérleti ténnyel, hogy a blebbistatin ADP jelenlétében egy aktint erősen kötő intermediert stabilizál?

3. Az 55. oldalon a 38. ábra, és a hozzá tartozó 3. táblázat szövegében található számértékek nem tűnnek konzisztensnek. Pl. a kétféjű NM2A ADP-disszociációját jellemző k_{-} az ábra szövegében $0,86 \text{ s}^{-1}$, a táblázatban viszont $0,59 \text{ s}^{-1}$ értékkel szerepel, továbbá az NM2B hasonló reakciójában a k_{+} és k_{-} sebességi állandók értéke az ábraaláírásban $0,59 \text{ s}^{-1}$ és $0,021 \text{ s}^{-1}$, a táblázatban ugyanezek $1,1 \text{ s}^{-1}$ illetve $0,023 \text{ s}^{-1}$ értékekkel szerepelnek. Némileg zavaró, hogy az első nukleotidcsere-reakcióra vonatkozó sebességi állandót az „ATP-„ és az „ADP-chase” ágon ugyanúgy jelöli (k_{+}), valamint, hogy a k_{on} sebességi állandó jelentését nem definiálja.

4. A dolgozatban ismertetett kutatási eredmények számos érdekes, új problémát vetnek fel (pl. a RecQ helikáz hibajavító működésének vizsgálatára vonatkozóan), amelyeket a jelölt a dolgozat végén található „Tervek és perspektívák” c. fejezetben foglal össze. Kérdezem, hogy a dolgozat beadása óta eltelt időben mennyiben sikerült előrelépni a tervek megvalósításában?

Fenti kérdéseim és megjegyzéseim a disszertáció értékelését természetesen a legkevésbé sem befolyásolják. Dr. Kovács Mihály tudományos munkásságát igen nagyra értékelem, a tézispontokban foglaltakat jelentős új tudományos eredményeknek ismerem el, a nyilvános vita kitűzését és az MTA doktora címnek a jelölt számára történő odaítélését javaslom.

Szeged, 2011. november 18.

Dér András
tudományos tanácsadó
az MTA doktora