

## Válasz Sármay Gabriella professzor asszony opponensi véleményére és kérdéseire

Köszönöm Sármay Gabriella professzor asszonynak, az MTA doktorának dolgozatom értékelését, a dolgozat címére és szerkesztésére vonatkozó megjegyzéseit és kérdéseit, amelyekre az alábbiakban válaszolok.

Professzor Asszony megjegyzései, kifogásai a következőket érintette:

1. Először is megköszönöm a dolgozat címére tett pontosító megjegyzését. Valóban, az immunszövet más szövettani rendszert implikál, elsősorban primer vagy szekunder immunszövetek vizsgálatára utal. Mivel emberi primer immunszöveteket nem, csak sejteket említ az értekezésben, egyetértek Professzor Asszony kritikai megjegyzésével.
2. A rövidítések jegyzéke valóban segítséget nyújt jelátviteli folyamatok nyomon követéséhez. Köszönöm Professzor Asszonynak a kritikai észrevételt.
3. Annak feltüntetése, hogy az eredmények mely megjelent közleményből származnak, valóban könnyebben követhetővé tette volna az értekezésemet. Köszönöm az észrevételt.
4. Az 1. ábra forrása: Erdei A., Sármay G., Prechl J.: Az immunológia alapjai. Medicina Kiadó, Budapest, 2012. Az ábra forrását az értekezés minden példányában fel fogom tüntetni.
5. A 19. ábra részletezésének szükségességével egyetértek.
6. 7. és 10. Sajnálom, hogy figyelmetlenségből adódó, zavaró hibákat ejtettem a cikkeim fordítása és az ábrák magyar nyelvű változatának elkészítése során és köszönöm, hogy Professzor Asszony felhívta erre a figyelmemet.
8. Valóban, a 32. ábrán feltüntetett kísérletekben anti-egér IgG rodaminnal jelölt konjugátummal dolgoztunk.
9. A 68. oldalon a hiányzó hivatkozás: Hare, K., Pongracz J, et al. (2003). "Modeling TCR signaling complex formation in positive selection." J. Immunol. 171: 2825-2831.

Válasz Professzor Asszony kérdéseire:

1. Az első kérdés az fMLP PKC függő és független sejtaktivációs mechanizmusaira koncentrál.

Természetesen, az fMLP hatása PKC-től független is lehet. A jelátviteli folyamatok vizsgálata erre rávilágított, hiszen a PKC alcsaládokat gátló kémiai gátlószerek nem akadályozták meg az fMLP által indukált neutrofilek aktivációját és szuperoxid termelését. Ezt sokkal határozottabban kellett volna megfogalmaznom az értekezés megírása során, hiszen a két különböző affinitású fMLP receptor létéről tudomásom volt és a 2004-ben megjelent cikk, amelyre Professzor Asszony hivatkozott már ismert volt számomra is az értekezés elkészítése során.

(Biochem. J. (2004) 377, 469–477. N-Formyl peptide receptor subtypes in human neutrophils activate L-plastin phosphorylation through different signal transduction intermediates. Marie-Helene PACLET, Clare DAVIS, Peter KOTSONIS, Jasminka GODOVAC-ZIMMERMANN, Anthony W. SEGAL, Lodewijk V. DEKKER).

A fent említett 2004-es közlemény arra is rávilágít, hogy az fMLP-nek alacsony és magas affinitású receptorai különböző jelátviteli kaszkádok aktiválásán keresztül érik el ugyanazt a sejtaktivációs hatást. Míg az alacsony affinitású fMLP receptorból való jelátvitelhez szükséges a PLD és PKC aktivitás, addig nem ugyanez a mechanizmus szükséges a magas affinitású fMLP receptorokból induló jelátvitel megindulásához. Ez a kísérleti eredmény az 1998-ban megjelent publikációnk kísérleteinek elvégzésekor azonban még nem volt ismert. Nagyon köszönöm, hogy Professzor Asszony rávilágított a pontosítások szükségességére.

2. A második kérdés a ConA által indukált T-sejtaktiválás fiziológiai relevanciáját firtatja.

A ConA és az anti-CD3 hatásának összehasonlító vizsgálatához Professzor Asszony által is megvilágított kérdések vezettek. Itt a fő kérdésünk az volt, hogy hogyan, milyen jelátviteli mechanizmusok útján lehet módosítani a „halál” jelet a fejlődő timocitákban?

Ugyanis, kétségtelen, hogy a ConA nem rendelkezik specifikus receptorokkal, de az anti-CD3-hoz hasonlóan, már régről ismert T-sejt-aktiváló hatása a perifériás T-sejteken.

(Quintáns J, Yokoyama A, Evavold B, Hirsch R, Mayforth RD.: Direct activation of murine resting T cells by con A or anti-CD3 Ig. J Mol Cell Immunol. 1989;4(4):225-35; discussion 235-7).

Ez az aktiváló hatás lehet annak következménye, hogy a TCR sem mentes a lektin kötő képességtől, pontosan a TCR fehérjéihez kapcsolt cukormolekulák következtében. A glikoziláltság a kialakulóban lévő és a már sejtfelszínen megjelenő TCR között is különbséget mutat. Ennek következtében például a TCR lektin kötő képességét is felhasználják a TCR különféle fejlődési stádiumának vizsgálatához.

(Kelly P. Kearsé<sup>2</sup> T-cell receptor purification. Methods in Molecular Medicine, 1997. 9: 291-298; DOI: 10.1385/0-89603-396-1:291).

A vizsgálataink további része abból a megfigyelésből indult ki, hogy a fejlődő T-sejteken nem azt a hatást váltja ki a ConA, mint az anti-CD3 ellenanyag. Ebből következtettünk arra, hogy noha a ConA a periférián TCR-ből származó, aktivációs jelekhez hasonlókat képes kiváltani a T-sejteken, a fejlődő timocitákon válik nyilvánvalóvá, hogy ezek a jelek eltérően generálódnak, mint az anti-CD3 ellenanyag által indukált keresztkötések. Ennek a megfigyelésnek a sejten belüli jelátvitelre fókuszáló vizsgálata vezetett annak felismeréséhez, hogy sejtfelszíni glikozilált receptorokból ceramid-függő jelek módosíthatják egy adott sejt/sejttípus válaszadó képességét.

Saját kutatásaimban viszont nem folytattam ennek az eredménynek a teljes feltérképezését, mivel ez számomra a jelátviteli kutatásokban lipid irányú elköteleződést jelentett volna, amelyhez nem volt meg az anyagi és műszer-bázisom.

Egyet értek Professzor Asszonnyal azonban, hogy a kérdéskör további vizsgálata ígéretesnek bizonyulhatott volna, például a mannóz tartalmú molekulákból induló sejten belüli jelek további vizsgálata területén.

Irodalmi adatok alapján megállapíthatjuk azonban, hogy a glikozilációs módosulások sejt és szövetfunkciókra illetve patológiás mechanizmusokra gyakorolt hatásának vizsgálata egyre nagyobb lendületet vesz, melyet az alábbi, az irodalomban fellelhető közel 400 publikációból kiragadott cikkek is bizonyítanak:

Ablation of neuronal ceramide synthase 1 in mice decreases ganglioside levels and expression of myelin-associated glycoprotein in oligodendrocytes.

Ginkel C, Hartmann D, vom Dorp K, Zlomuzica A, Farwanah H, Eckhardt M, Sandhoff R, Degen J, Rabionet M, Dere E, Dörmann P, Sandhoff K, Willecke K.

J Biol Chem. 2012 Dec 7;287(50):41888-902.

Self-recognition of high-mannose type glycans mediating adhesion of embryonal fibroblasts.

Yoon SJ, Utkina N, Sadilek M, Yagi H, Kato K, Hakomori SI. Glycoconj J. 2012 Sep 25

Protective role of V-set and immunoglobulin domain-containing 4 expressed on kupffer cells during immune-mediated liver injury by inducing tolerance of liver T- and natural killer T-cells. Jung K, Kang M, Park C, Hyun Choi Y, Jeon Y, Park SH, Seo SK, Jin D, Choi I. Hepatology. 2012 Nov;56(5):1838-48.

Beta-glucosylceramide administration (i.p.) activates natural killer T cells in vivo and prevents tumor metastasis in mice. Inafuku M, Li C, Kanda Y, Kawamura T, Takeda K, Oku H, Watanabe H. Lipids. 2012 Jun;47(6):581-91. doi: 10.1007/s11745-012-3666-1

DC-SIGN mediated sphingomyelinase-activation and ceramide generation is essential for enhancement of viral uptake in dendritic cells. Avota E, Gulbins E, Schneider-Schaulies S. PLoS Pathog. 2011 Feb;7(2):e1001290. doi: 10.1371/journal.ppat.1001290.

Role of the JNK/c-Jun/AP-1 signaling pathway in galectin-1-induced T-cell death. Brandt B, Abou-Eladab EF, Tiedge M, Walzel H. Cell Death Dis. 2010;1:e23. doi: 10.1038/cddis.2010.1

Ezért külön köszönöm Professzor Asszonynak a kérdés felvetését.

Még egyszer köszönettel tartozom Professzor Asszonynak a kritikai észrevételekért és remélem, hogy válaszaimat kielégítőnek találja.

Pécs, 2013. április 2.

Dr Pongrácz Judit Erzsébet

egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem

Immunológiai és Biotechnológiai Intézet