

Bíráló vélemény Bay Péter „POLI(ADP-RIBÓZ) POLIMERÁZ-1 ÉS 2 ENZIMEK SZEREPE METABOLIKUS TRANSZKRIPCIÓS FAKTOROK SZABÁLYOZÁSÁBAN” CÍMŰ” MTA Doktori Értekezéséről

Az értekezés témája két poli(ADP-ribóz) polimeráz enzim (PARP-1 és PARP-2) metabolikus funkcióinak vizsgálata. A PARP enzimek több doménből álló, igen szerteágazó sejtbiológiai funkcióval rendelkező fehérjék, amelyeknek fontos szerepük van a DNS hibajavításban, a génexpresszió szabályozásában, jelátviteli folyamatokban és ezen kívül metabolikus hatásokkal is rendelkeznek. A téma fontosságát jól illusztrálja, hogy a PARP inhibitorok közül több vegyület van a klinikai kipróbálás különböző szakaszaiban. Ezekben a vizsgálatokban elsősorban a daganat-ellenes terápiában keresik a PARP inhibitorok helyét, azonban ezek a vegyületek a jövőben olyan akut betegségek kezelésében is fontosak lehetnek, mint a miokardiális infarktus, vagy az agyvérzés.

Az értekezés összesen 7 közleményen alapul, amelyek közül négy eredeti és három pedig összefoglaló munka. Az értekezést megalapozó közlemények összesített impakt faktora 69,59, a PhD fokozat óta megjelent közlemények összesített impakt faktora pedig 139,5. Szeretném kiemelni, hogy az értekezést megalapozó eredeti közlemények közül kettő a *Cell Metabolism*-ban jelent meg, amely az anyagcserével kapcsolatos kutatások legrangosabb fóruma. A közleményeknek nemcsak az impakt faktora, hanem az idézettsége is rendkívül magas, ami arra utal, hogy a tudományterület alapvetően fontos munkáiról van szó.

Az értekezés kísérletes eredményeket tartalmazó része alapvetően három részre tagozódik. Az első részben a PARP-1 deléció hatására létrejövő metabolikus változások részletes elemzését nyújtja a szerző, a második részben pedig a PARP-2 hiány metabolikus következményeit ismerteti. Míg az első két rész a génhiányos modellek segítségével a PARP enzimek fiziológiás működéséről tár fel eddig ismeretlen részleteket, a harmadik részben a PARP-2 oxidatív károsodásban játszott szerepét vizsgálja a szerző. Az értekezés erényének tartom, hogy a szerzője nem

próbált túl sok, (egymáshoz esetleg csak lazán vagy nem kapcsolódó eredményt) tárgyalni, hanem jól fókuszált, koherens doktori munkát készített.

Az MTA doktori értekezés elkészítése egy olyan mérföldkő minden Magyarországon dolgozó kutató számára, amely lehetőséget ad arra, hogy posztdoktori pályafutásának legfontosabbnak tartott eredményeit összefoglalja. Úgy gondolom, hogy a megmérettetés jelentősége miatt a doktori művet elsősorban a tartalma alapján kell megítélni, ezért formai megjegyzésem viszonylag kevés van. Ezek közül talán a legfontosabb, hogy az értekezés eredményeit bemutató ábrákat jobb minőségben kellett volna elkészíteni. Az a probléma, hogy a sok részből álló ábrák gyakran kis méretűek és a feliratok nehezen olvashatók. A mikroszkópos felvételek helyenként szintén nehezen ítéltethők meg. Érthető, hogy az eredeti közlemények több összetett ábrát is tartalmaznak hiszen – szerencsére – igen sok érdekes eredményt kellett bemutatni, miközben arra is tekintettel kellett lenni, hogy az egyes újságok korlátozzák az ábrák maximális számát. Az MTA doktori értekezés esetében azonban nincsenek ilyen korlátok ezért célszerű lett volna több, nagyobb méretű ábrában bemutatni az eredményeket.

Az értekezésben ismertetett legfontosabb tudományos eredmények a következők:

1. A PARP-1 hiánya vagy gátlása a NAD⁺ koncentráció emelésén keresztül aktiválja a SIRT1 enzimet, ami a barna zsírszövetben és a harántcsíkolt izomban. A mitokondriális biogenezis emelkedéséhez vezet.
2. A PARP-1 deléciót követő mitokondriális aktivitás fokozódás védelmet nyújt olyan metabolikus betegségmodellekben, mint az elhízás, vagy a II. típusú diabétesz.
3. Az inhibitorral létrehozott PARP gátlás a PARP-1 delécióhoz hasonló előnyös metabolikus változásokat hoz létre a harántcsíkolt izomban.
4. A PARP-2 a SIRT1 promóterének represszora. A PARP-2 deléciója a SIRT1 expresszió és ezen keresztül a SIRT1 aktivitás növekedéséhez vezet.

5. A PARP-2 hiánya és az ennek hatására emelkedő SIRT1 aktivitás a mitokondriális biogenezis fokozódásához vezet a harántcsíkolt izomban és a májban, ami az energialeadás irányába változtatja a szervezet energiaháztartását.

6. A PARP-2 deléciója az RXR-PPAR dimer hiányán keresztül csökkenti a fehér zsírszövet mennyiségét egérben és védelmet nyújt az egér modellben kialakított elhízással szemben.

7. A PARP-2 hiánya részleges védelmet nyújt az doxorubicin toxikus hatása ellen. Ennek valószínű mechanizmusa a SIRT1 aktivitás fokozódása és ennek következményeként a mitokondriális biogenezis fokozódása.

A munkával kapcsolatos észrevételeim, kérdéseim a következők:

1. A PARP-1 deléciója megnöveli a SIRT-1 aktivitást és ennek a magyarázata a jelölt szerint a hiányzó PARP aktivitás miatt megemelkedő NAD⁺ koncentráció emelkedés. Az 5. ábrán bemutatott eredmények alapján viszont azt is mutatják, hogy PARP-1 hiányában a SIRT-1 expresszió is jelentősen emelkedik. Próbálták-e kvantifikálni a SIRT-1 fehérje expressziójában bekövetkező emelkedést és mi lehet a jelentősége a fehérjeszint változásának az energiaforgalom szempontjából előnyös fenotípus kialakításában? Mi lehet annak a magyarázata, hogy HEK293T sejtekben a PARP-1 depléciónak hatására nem emelkedett a SIRT-1 expressziója?

2. Számos ábra mutat be QPCR eredményeket, azonban a „Módszerek” fejezet nem ad információt arra nézve, hogy milyen módon történt e kísérletek kiértékelése és ábrázolása. A „relatív expresszió” milyen háztartási génhez viszonyított expressziót jelent? A 24. ábrán bemutatott QPCR eredményen mindegyik vizsgált gén kontroll állatban megfigyelt expressziója 1, ami arra utal, hogy ehhez viszonyította a KO állatban mért expressziós szinteket. Ha ez így van, akkor viszont nem beszélhetünk a tengely feliraton olvasható tetszőleges egységben megadott relatív expresszióról. A 4. ábrán bemutatott expressziós szinteknél ugyanakkor a szintén tetszőleges egységben megadott expressziós szint a kontroll állatokban 9 vizsgált gén közül nyolcban 2 körüli érték. Ebben az esetben hogyan történt az eredmények kiértékelése és ábrázolása?

3. A PARP aktivitás Western blot technikával történő detektálása esetén mi lehet a domináns szignál eredete?

4. Vizsgálták-e esetleg állatmodell segítségével a PARP-1 és PARP-2 együttes hiányának következményeit?

5. A jelölt felveti azt az érdekes hipotézist, hogy a PARP-inhibitoroknak anti-Warburg hatása lehet, ugyanis a mitokondriális oxidáció indukcióján keresztül csökkenthetik a mitokondriumokban zajló, tumor sejtek számára esszenciális metabolitok szintézisét. Hogyan lehetne kísérletesen tesztelni ezt az érdekes gondolatot?

6. Az értekezés „Megbeszélés” fejezetében arról ír a szerző, hogy a PARP-1-et aktiválja az oxidatív stressz és a PARP-1 aktivációja az oxidatív stressz fokozódásához vezet. Milyen mechanizmusok korlátozhatják a sejtekben ezt az önerősítő, az oxidatív stressz fokozódásához vezető szabályozást?

7. 3. A 18. ábra A része, amely a SIRT-1 fehérje mennyiségének Western blot technikával detektált emelkedését hivatott mutatni, kimaradt a dolgozatból.

Összegezve, Bay Péter fontos eredményekkel járult hozzá a tudományterület fejlődéséhez, ezért javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását és az MTA doktora cím odaítélését.

Budapest, 2014. október 14.

Dr. Geiszt Miklós
egyetemi docens, az MTA doktora
Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet