

Bírálati vélemény L. Kiss Anna "Caveolák, caveolin izoformák és a caveola-mediált endocitózis" című doktori értekezéséről

A benyújtott értekezés egy caveolákkal kapcsolatos, közel három évtizedes kutatói és oktatói karrier eredményeit foglalja össze 154 oldalban. A bevezetésben részletesen taglalásra kerül a caveolák felfedezése, főbb alkotóelemeik, kialakulásuk és lehetséges funkcióik. A módszerek, eredmények és diszkusszió fejezetek kellően részletesek, a célkitűzések és a dolgozat végi eredmények jól összecseengenek. Sajnos elgépelések jelentős számban fordulnak elő, szinte minden oldalon több is (pl. már a rövidítésjegyzékben: transzforánciót, transzjripció, releted, homeobosx, stre4ssz). Ez általános probléma az általam értékelt különféle dolgozatok esetén, így a szövegszerkesztő program helyesírás-ellenőrző funkciójának nem-használata mára már szinte vesszőparipámmá vált.

A doktori mű 12 nemzetközi szaklapokban megjelent publikációra épül, amelyben Szerző 8 esetben első, egy esetben utolsó, egy review esetében pedig egyedüli szerző. Az utolsó szerzős cikkek száma ennek alapján kevésnek tűnik, aminek feltehetően az a magyarázata, hogy csak nagyjából 10-15 éve vált egyre fontosabbá hazánkban is az, hogy a meghatározó szerző neve legyen az utolsó a sorban. Ennek a pozitív habitusvizsgálatot követően amúgy sem tulajdonítok nagy jelentőséget, az én feladatom csupán a dolgozat értékelése volt.

Az eredmények kapcsán kiemelem a kiváló elektron mikroszkópos felvételeket és immunogold lokalizációkat, amelyek feltehetően jórészt Szerző saját keze munkáját dicsérik, tekintve hogy az erre vonatkozó részekben rendszerint egyes szám első személyben fogalmaz. További módszerek között megtaláljuk a PCR, immunprecipitáció és Western blot technikákat. Sajnos a funkcionális vizsgálatok tekintetében az olvasónak (külösen ha az genetikus) erős hiányérzete támad: a különféle gátlószerek kezeléseket (filipin, okadánsav, vanadát) mellett semmilyen géncsendesítési (siRNS, shRNS) vagy újabban génszerkesztési (knockout, CRISPR) kísérletet nem végeztek, amik a molekuláris mechanizmusokra vonatkozó hipotéziseket validálhatnák.

Véleményem szerint a fő tudományos eredmények, újdonságok, tézisek az alábbiak:

1. Szerző elsőként mutatta ki makrofágokon a caveolák jelenlétét, és hogy aktiválás hatására mennyiségük (a caveolin-1 expresszió növekedésével párhuzamosan) jelentősen megnő.
2. Makrofágokban azonosítottak egy új, 29 kDa-os, feltehetően caveolin-2 izoformát.
3. Morfológiai vizsgálatok alapján leírta a caveolák száma és a makrofágok endocitotikus anyagfelvétele közötti összefüggést.
4. Leírták a caveolin tirozin foszforilációjának caveola lefűződést szabályozó szerepét makrofágokban és HepG2 sejtekben.
5. Leírták, hogy a Ser/Thr foszfatázokat gátló okadánsav - meglepő módon - jelentősen növeli a tirozin foszforiláció mértékét.

6. Morfológiai adatai alapján a caveola-mediált endocitotikus anyagfelvétel is a késői endoszómákba irányul, és azt az okadánsav kezelés gátolja.
7. Sejtfelszíni ruténium-vörös jelöléssel bizonyította, hogy a caveoszómáknak tűnő struktúrák többsége összeköttetésben áll a plazmamembránnal.
8. Morfológiai és fehérjeszintézis-gátló adatai a caveolák turnover-ére utalnak, és a caveolin-1 fehérje de novo szintézise fontos szerepet játszik a caveolák pótlásában.

Szerző több helyütt is kiemeli, hogy kísérleti eredményeinek nagy szerepe volt abban, hogy a szakterület vezető kutatója, Ari Helenius egy 2010-es cikkében visszavonta a korábbi, caveoszómák mint önálló sejtorganellumok létezésére vonatkozó hipotézisét. Sajnos ebben a cikkben én nem találtam a Szerző munkájára vonatkozó hivatkozást, aminek persze lehet hogy tudománypolitikai okai vannak.

Megválaszolást nem igénylő kritikai megjegyzéseim az alábbiak:

1. A 14/b ábrán nincs feltüntetve az 50 kDa körüli fehérjesávok mibenléte (feltételezem IgG?).
2. A 22. ábra és a 117. oldali szöveg kapcsán: nem tudom elfogadni azt a kijelentést, hogy az egymást követő metszeteken látszó, caveolának tűnő struktúrák plazmamembrán összeköttetésének hiánya igazolja, hogy nem létezik ilyen összeköttetés. Ezt szerintem csak a caveoszómákat elejétől végéig tartalmazó sorozatmetszetek vagy tomográfiás vizsgálatok alapján lehetne egyértelműen kijelenteni, ezek nélkül csak nagy valószínűségről beszélhetünk.
3. A 16. ábrán bemutatott lokalizációs adatokat én igen nehezen értelmezem, különösen kolokalizációs vizsgálatok hiányában. Ezek meg sem közelítik a későbbiekben (pl. 32-33. ábra) bemutatott kiváló minőségű konfokális felvételeket.
4. A 124. oldalon újabb kutatási eredményekről beszél, de a mondat végén egy 1994-es cikket idéz. Ezt azért újnak nem nevezném.

Megválaszolásra váró kérdéseim az alábbiak:

1. Hatással van-e a caveolák száma/jelenléte a makrofágok fagocita aktivitására?
2. Milyen adatok vannak a felhasznált ellenanyagok specificitására (pl. történt-e Szerző vagy mások által végzett validálás, azaz hogy géncsendesített sejtekben lecsökkent az adott fehérje mennyisége mikroszkópos vagy western blot vizsgálatokban)?
3. A dolgozat elsősorban emlős sejteket vizsgált, nem említi, hogy milyen más fajokban vannak jelen ezek a struktúrák/caveolint kódoló gének. A bemutatott génredundancia (caveolin-1, -2, -3 jelenléte) kapcsán felmerült bennem, hogy ismert-e olyan faj, aminek csak egyetlen caveolint kódoló génje van, és milyen fenotípust okoz ennek kiütése (ha ezt vizsgálta valaki)?

Összegzőképpen véleményem szerint a doktori mű egyértelműen alkalmas a nyilvános vitára bocsátásra.

Szeged, 2017. november 8.

Dr. Juhász Gábor, PhD, Dsc, habil.
tudományos tanácsadó
MTA SZBK Genetikai Intézet