

## **Bírálat L. Kiss Anna „Caveolák, caveolin izoformák és a caveola-mediált endocitózis” című MTA doktori értekezéséről**

Dr. L. Kiss Anna doktori értekezésében a caveolák szerkezetével és szerepével kapcsolatos kutatásairól számol be.

A jelölt az MTMT alapján 43 közlemény szerzője, h indexe 15, független idézőinek száma 486, összes idézettsége 634.

A disszertáció referenciákkal és köszönetnyilvánítással együtt 154 oldal, 52 ábrát és 6 táblázatot tartalmaz.

A disszertáció alapjául 12 saját közlemény szolgál. Ezek közül a jelölt egy közleményben társszerző, 9 közleményben első szerző és egy közleményben utolsó szerző. A közlemények között egy összefoglaló közlemény is szerepel.

**I. Formai szempontból** a disszertáció esztétikus, igen jó minőségű ábrákat tartalmaz. Szép magyarsággal íródott, azonban helyenként előfordulnak elütések és ismétlődő ékezethibák.

**II. Részletes tartalmi bírálat és kérdések:**

### **Tartalomjegyzék**

Megjegyzések:

- A tartalomjegyzékben nem kapott fejezet sorszámot az „Irodalmi előzmények és célkitűzések” fejezet hasonlóan az Irodalomjegyzék és a Köszönetnyilvánítás fejezetekhez.
- A Rövidítések jegyzéke nem szerepel a Tartalomjegyzékben. A Rövidítések jegyzéke több elütést és apró pontatlanságot tartalmaz (transzjpciós faktor, homeboscx, stre4ssz, MHC (mely helyesen Major Histocompatibility Complex)).

### **Bevezető, irodalmi összefoglaló fejezet:**

Megjegyzések:

- A caveolákra vonatkozó bevezető, irodalmi összefoglaló fejezetek világosak, letisztultak, didaktikusak, mintha nem is tudományos disszertációt, hanem egyetemi tankönyvet tartanánk a kezünkben.
- Az irodalmi bevezető fejezetekben található hivatkozások jelentős része igen korai publikáció (10-15 éves)

**Kérdések:**

- *A 14. oldalon említi a jelölt, hogy a caveolákban található szteroid hormonok receptorai. Milyen újabb adatok állnak rendelkezésre ezekre a caveolákban található szteroid receptorokra vonatkozóan?*
- *16. oldal: Mi lehet a magyarázata annak, hogy specifikusan az izomsejtek caveolái rendelkeznek külön cavin típusal (cavin 4) és PACSIN típusal (PACSIN 3) szemben egyéb sejtekkel?*

- **23. oldal: Mi lehet az oka, hogy - mint a jelölt is említi - az utóbbi időben az irodalomban egyetlen publikációban sem említik a potocitózist?**

### **Célkitűzések fejezet**

Megjegyzés:

- A jelölt feltehetőleg a tartalmi koherencia érdekében vállalta azt a kompromisszumot, hogy viszonylag korai munkák eredményeit foglalta össze a disszertációban. Mindebből adódóan a kísérleti rendszerek egy része szükségszerűen kevésbé tekinthető korszerűnek.

**Kérdések:**

- *A kísérleteiben vizsgált, egérből izolált rezidens és elicitált makrofágok milyen tisztaságúak voltak, milyen %-ban tartalmaztak makrofágokat?*
- *A ma ismert M0, M1, M2a, M2b és M2c populációk közül melyeknek feleltethetők meg a kísérletek során használt peritoneális és elicitált makrofágok?*
- *Az utóbbiak aktivációs státuszát mi jellemezte?*
- *Milyen felszíni markerek jellemzik az egér rezidens és elicitált makrofágokat?*

### **Anyag és módszer fejezet**

Megjegyzések:

- A disszertáció szerint a jelölt a Sigma Chemical Co.-t jelöli meg az okadánsavat forgalmazójaként, miközben a Sigma Chemical és az Aldrich Chemical már 1975-ben egyesült Sigma-Aldrich céggé, mely termékeit ráadásul ma már Merck termékeként ismerjük.
- Nem világos, hogy HepG sejtek helyett miért nem humán monocita/makrofág sejtvonalat vizsgált a jelölt.
- A 41. és az 50. oldalon a CD138 antitestet anti-syndecan antitestként említi. Az anti-CD138 pontosabban anti-syndecan 1.
- Az „Anyag és módszer” fejezetben a jelölt egyes helyeken megjelöli (pl. 48. oldal), míg máskor nem ismerteti az antitest hígításokat (nem pl. 43 o).
- 43 oldal: a Monidet helyesen Nonidet.
- A tizedes vesszők helyett a szövegben többnyire angolosan tizedes pontok szerepelnek (pl. 44. oldal)
- Az „Anyag és módszer” fejezetben ismételtelen szerepelnek átfedő módszertani leírások. Például a peritoneális rezidens és elicitált makrofágok után a HEPG2 sejtek esetében elegendő lett volna a módszertani különbségekre kitérni pl. fénymikroszkópos és elektronmikroszkópos vizsgálatok esetében.
- A felhasznált korai közleményekben a percollon izolált membrán frakciókat nem vizsgálta/validálta a jelölt molekuláris markerekkel.

### **Eredmények fejezet:**

Megjegyzések:

- 11 ábra egyszerű oszlopdiagram, az ábrán nincs szórás, statisztika

- 15. ábra. A caveolin RT PCR esetében nem látszik a housekeeping kontroll
- 16. ábrán nem szerepel scale bar
- 19. ábra oszlopdiagram szórás nélkül. Mit jelent az „SD:0.05”?
- 25. ábra oszlopdiagram, nincs szórás, statisztika
- 41. ábra. ábra aláírás: OA, nem fejt ki, hogy ez a rövidítés okadánsavat jelent
- 105. oldal. Korábban szerepel a szövegben a 48. ábra, mint a 47-es.

#### **Kérdések:**

- *A 14.B ábrán mai szemmel minek felel meg az anti-caveolin-2-vel jelölődő, 46 kD körüli, jelölődő molekula?*
- *A PCR caveolin-1, -2 vagy -3-specifikus PCR volt?*
- *A 29. ábra oszlopdiagram. Mit jelent a „\*”: SD < 0.05”? Milyen statisztikai próbát alkalmazott, miért nem ábrázolta az SD vagy SEM értékeket?*
- *Hogyan tudta azonosítani a 35. ábra citoskeletonális filamentumait?*
- *Mi a véleménye, hogyan kerülhet a Cav1 az MVB-be?*
- *38. ábra. Mit jelent az SD > 0.005? SD-t vagy SEM-et ábrázolt, milyen statisztikai próbát végzett?*
- *Hogyan végezte a 100. oldalon említett albumin megvonást*
- *45. ábra, 104. oldal: oszlopdiagram. Milyen statisztikai próbát végzett, SD-t vagy SEM-et ábrázolt a jelölt?*
- *47. ábra, oszlopdiagram: Milyen statisztikai próbát végzett a jelölt, SD-t vagy SEM-t tüntetett fel az ábrán?*
- *109. oldal Szignifikáns emelkedésről és csökkenésről beszél. Milyen statisztikai próbát végzett? Végzett-e denzitometriás elemzést?*

#### **Az Eredmények megvitatása fejezet**

##### **Megjegyzések:**

- 124. oldal. A jelölt azt írja, hogy „Újabb kutatási eredmények azt mutatják...”, majd egy 1994-es cikkre hivatkozik (Stenmark és mtsai 1994)
- Nem érthetünk egyet azzal a megállapítással, hogy a caveolin-1 fehérje az MVB-k közbeiktatásával a lizoszómákba kerül, mert létezik az exoszómális szekréciós útvonal is. A lizoszómális degradációra, és főleg annak kizárólagos voltára nincs bizonyíték. Ugyanakkor a caveolin fehérje jelenlétét már igazolták MVB eredetű exoszómákban.

##### **Kérdések:**

- *Elképzelhetőnek tartja-e, hogy a limfocitákon „elicitálás” (aktiválás) hatására megjelennek caveolák?*
- *A 29 KD fehérje kapcsán a jelölt a következőt írja: „Nem zárható ki, hogy makrofágokban a caveolin expressziója során módosulások történnek, melyek a nagyobb molekulatömegű fehérje kialakulását eredményezik.” Van-e erre azóta bizonyíték?*
- *Milyen módosulásra gondol, és ennek a módosulásnak a jelenlétét hogy tudná igazolni?*

### **Összefoglaló értékelés:**

A jelölt a caveola-kutatás területén úttörő munkát végzett.

Elsőként igazolta caveolák jelenlét makrofágok felszínén, igazolta, hogy rezidens makrofágokra a caveolin-2 jelenléte jellemző. Igazolta a caveolák dinamikus, sejtfelszínről lefűződő voltát, a tirozin foszforiláció szerepét a caveola lefűződésben és vizsgálta többek között a caveola-mediált endocitózis állomásait.

A disszertáció tematikája egységes.

A jelölt megfigyeléseihez előremutató módszertant alkalmazott. Kitűnő minőségű elektronmikroszkópos és cryoEM munkákra, immundetektálásra valamint biokémiai megfigyelésekre alapozza. A disszertációkban összefoglalt munkák külön értéke az alkalmazott korszerű cryoEM technika, amely értékét jól tükrözi a 2017-es kémiai Nobel díj odaítélése.

A disszertációban felhasznált közlemények viszonylag régen születtek, és ezért mai szemmel helyenként hiányérzetet keltenek.

Azonban összességében a disszertáció számos jól dokumentált eredeti megfigyelést tartalmaz, melyek megjelenésükkor úttörőek volt, s melyek létrehozásában a jelölt első szerzőként vett részt. A fentiek alapján a jelöltnek az MTA doktora cím odaítélését javaslom.