

BÍRÁLAT

L Kiss Anna “Caveolák, caveolin izoformák és a caveola-mediált endocitózis” című MTA doktori értekezéséről

Örömmel vállaltam el L. Kiss Anna az MTA doktori cím elnyerésére benyújtott értekezésének bírálatát, mivel a disszertáció egy olyan sejtbiológiai tématerületet érint, ami a saját kutatási témámmal rokonságban áll, a sejtekben zajló transzport folyamatoknak taglalja. A jelölt a tématerület egy korábban kevésbé kutatott részét, a caveolákat és a caveola-mediált endocitózist vizsgálata részletesen két különböző sejtes rendszerben: patkányokból izolált peritoneális makrofágokban, illetve egy humán hepatocelluláris karcinóma, a HepG2 sejtvonalon.

A benyújtott disszertáció egy 154 oldal terjedelmű, hagyományos szerkezetű értekezés. A 30 oldalas bevezetést követi a „Célkitűzések” fejezet, majd egy 12 oldal terjedelmű metodikai rész következik. Ezután a jelölt 60 oldalon, 5 táblázattal és 40 ábrával illusztrálva mutatja be részletesen a kísérleti eredményeit, melyet követően egy 18 oldalas „Diskusszió” fejezetben értelmezi és helyezi összefüggésbe a kapott eredményeket, végül 3 oldalon összegzi a megszerzett ismereteket. Az értekezés a szokásos módon, irodalomjegyzékkel, valamint köszönetnyilvánítással zárul. A benyújtott dolgozat formailag megfelel az MTA doktori értekezéssel szemben támasztott követelményeknek, melyet már korábban részletesen megvizsgáltak és megfelelőnek találtak.

L Kiss Anna az MTA doktori cím elnyerésére benyújtott értekezésében a következőket tartom új eredménynek:

- 1.) Elsőként mutatta meg, hogy makrofágok felszínén vannak caveolák, a clatrin-burkos vezikuláktól strukturálisan és biokémiaiilag is különböző invaginációk, melyek szabályozott módon jelennek meg a sejtfelszínen.
- 2.) Feltárta, hogy az elicitált makrofágokban, melyeken nagyszámú caveola jelenik meg, a caveolin 1-es izoformája van túlsúlyban, míg a rezidens makrofágokban, melyeket csak csekély számú caveola jellemez, a 29 kDa molekulásúlyú caveolin-2 a domináns izoforma.

- 3.) Igazolta, hogy a caveolák a plazmamembránról lefűződő, dinamikusan viselkedő, stimulálható struktúrák, melyek egy alternatív endocitotikus utat jelentenek. Kimutatta továbbá, hogy a kanonikus, a clatrin-burkos vezikulákon keresztül megvalósuló és a caveola-mediált endocitotikus utak a késői endoszómák szintjén kapcsolódnak egymáshoz, valamint hogy a lefűződő caveolák pótlásához hozzájárul a caveola-1 *de novo* szintézise.
- 4.) Kísérletileg igazolta, hogy a caveolák lefűződésének szabályozásában szerepe van a caveola izoformák, elsősorban a caveolin-2 tirozin foszforilációjának, valamint a PP2A foszfatáznak. Egy konzisztens modellt javasolt a lefűződés szabályozásának molekuláris mechanizmusára.
- 5.) Rávilágított, hogy az irodalomban korábban caveoszómaként leírt struktúra a sejtfelszínnel közvetlen összeköttetésben álló caveola cluster. Ez az eredmény hozzájárult a caveaszóma-fogalom hipotézisének visszavonásához.

A fent felsoroltakat új és jelentős tudományos eredményeknek ítélem.

Az értekezéssel kapcsolatos kérdéseim és kritikai megjegyzéseim a következők:

- 1.) Szerencsésnek tartottam volna, ha a „Bevezetés” fejezetben a caveolák részletes ismertetésén túl az olvasó kapott volna egy átfogó képet a két vizsgált sejtípus: a makrofágok és a HepG2 sejtek legfőbb jellemzőiről is. Hiányoltam továbbá, hogy a jelölt nem tüntette fel külön jegyzékben a saját, a disszertáció alapját képező közleményeit. Mivel ezek betagozódtak az idegen irodalmi hivatkozások közé, sajnos így nem kaptak kellő hangsúlyt az eredmények ismertetése során.
- 2.) Elvileg nem értek egyet azzal a szóhasználattal, hogy egy membránfehérje citoplazmatikus lokalizációjáról beszéljünk, mivel ezek a fehérjék szintézisüktől kezdve mindig valamilyen membránstruktúrában helyezkednek el. A disszertációban sok helyen szó esik a caveolin izoformák citoplazmazmatikus elhelyezkedéséről vagy frakciójáról (leghangsúlyosabban a IV. és V. táblázatokban). Létezik-e a caveolin fehérjének egy szolubilis változata, amely valóban a citoplazmában van, vagy itt tulajdonképpen a caveolinok intracellulárisan elhelyezkedő, valamilyen membránnal határolt sejtalkotóhoz kötött formáiról van szó?
- 3.) Az okadánsav kezelés hatására a sejtfelszíni caveolák száma csökken, az intracellulárisan elhelyezkedőké pedig megemelkedik. Logikusan tehát az a következtetés vonható le ebből, hogy a PP2A foszfatáz gátlása serkenti a caveolák internalizációját. Ugyanakkor a

jelölt bemutatja, hogy az okadánsav hatására a caveolák degradációja megakad, valamint irodalmi adat szerint a reciklizációjuk csökken. Hasonlóképpen az SV40 vírus a PP2A foszfatáz gátlása révén kerüli el a degradációt. Figyelembe véve ezeket a megfigyeléseket is, elképzelhetőnek tart-e egy olyan magyarázatot is az okadánsav hatásának leírására, hogy a sejtekben zajló folyamatos internalizáció-degradáció-reciklizáció steady state állapotát a foszfatáz gátlása csupán a kilépő oldalon, azaz a degradáció és a reciklizáció folyamatában akasztja meg, és ez eredményezi a caveolák intracelluláris felhalmozódását. Mivel az alkalmazott megközelítés nem dinamikus módszer, hanem a sejtekről készült „pillanatfelvétel”, nem biztos, hogy a két különböző modell, vagy ezek kombinációjának érvényessége egyértelműen eldönthető a mikroszkópos felvételekből.

- 4.) A jelölt megmutatta, hogy a HepG2 sejtekben az albumin stimulálja a caveolák internalizációját. A HepG2 sejtvonal nem elhanyagolható mennyiségű albumint szekretál, amit az alkalmazott kezelések (pl. okadánsav, Na-ortovanadát) esetlegesen módosíthatnak. Számoltak-e ezzel a lehetőséggel, és befolyásolhatta ez a bemutatott kísérleteket? Elképzelhető-e az - a talán radikálisnak tűnő - gondolat, hogy a caveolák nemcsak az endocitotikus út egy alternatíváját képezik, hanem esetleg részt vesznek a szekréción folyamatokban is – akár a reciklizáció, akár a de novo szintézis útvonalán.
- 5.) A caveoszómának nevezett struktúra az extracelluláris térrel való kapcsolatát a jelölt többek között úgy mutatta ki, hogy ruténium vörös festést alkalmazott. A caveoszóma-szerű képletekben fellelhető volt a ruténium vörös. Hogyan zárható ki ebben az esetben, hogy a festék (vagy legalábbis egy része) endocitózis útján nem jut be a sejtbe, és festi az internalizálódott kompartmenteket is?

Véleményemet összefoglalva, L. Kiss Anna elért eredményeit és tudományos teljesítményét messzemenőig elismerem, így a dolgozat nyilvános vitára bocsátását és a jelölt számára az MTA doktori fokozat odaítélését teljes mértékben támogatom.

Budapest, 2017. november 21.



Homolya László
az MTA doktora