

## Opponensi vélemény

### **Czirják Gábor *A TRESK háttér kálium csatorna molekuláris szabályozási mechanizmusainak vizsgálata* című MTA doktori értekezéséről**

Dr. Czirják Gábor MTA Doktori értekezése formailag és tartalmilag megfelel az MTA Doktori értekezésekkel szemben támasztott követelményeknek.

Dr. Czirják Gábor lektorált, tudományos folyóiratban megjelent in extenso dolgozatainak száma a bírálóidőpontjában 37, amelyből 34 nemzetközi, 3 magyar nyelvű folyóiratban jelent meg. Közleményeire kapott független idézetek száma 1759.

A jelöltnek 14 elsőszerzős, 1 egyedüli szerzős és 7 utolsó szerzős közleménye van. Czirják doktor így teljesíti az MTA Orvosi Osztály által szabott követelmények minden scientometriai elvárását. Fontosnak tartom kihangsúlyozni, hogy a jelölt nemcsak az impakt faktorral rendelkező külföldi lapokban publikál, hanem a magyar gyakorló orvosok széles köréhez eljutó impakt faktorral nem rendelkező kiadványokban is.

Czirják doktor a megjelent közleményeiből huszonkettőt használt fel dolgozata alapjául, melyekre 1372 független hivatkozást kapott. A jelölt a disszertációhoz felhasznált közlemények közül 12 cikkben elsőszerzős, 6 utolsó szerzős közlemény, és 1 egyedüli szerzős közlemény.

Az értekezés az általánosságban elfogadott tagozódást követi, elírás, értelmi hiba csupán néhány helyen fordul elő az értekezésben és a tézisekben:

- 26. oldal harmadik bekezdés: a befelé rektifikáló káliumcsatornák közül pl.  $I_{K1}$  nem csak a nyugalmi membránpotenciál fenntartásában vesz részt, hanem pl. kamrai szívizomsejten a repolarizációs rezerv része is (Banyasz et al. Acta Physiol 2007, 190, 189–198).
- 66. oldal 16. ábra, nem szerepel a leírásában, hogy az ábrán mi számít a specifikus jelölődésnek (világos, vagy a sötétebb részek).
- 72. oldal 20. ábra A panelen bemutatott áram inaktiválódik és nem deaktiválódik.

Az értekezés tartalmi része 198 oldalból áll, 69 ábrát és 2 táblázatot tartalmaz, amelyet 26 oldalas, összesen 366 pontos irodalmi hivatkozást tartalmazó irodalomjegyzék kísér. A szöveg megértését a bevezető előtt elhelyezett rövidítésjegyzék segíti. A munka célkitűzései világosak, az értekezés ennek a szellemében készült.

A szerző értekezésében a két-pórusú káliumcsatornák ( $K_{2P}$ ) családjába tartozó TRESK csatornákkal végzett úttörő kísérleteit, és azok eredményeit mutatja be.

A *Bevezetés* fejezetben ismerteti a  $K_{2P}$  ioncsatorna család elektrofiziológiai sajátosságait, a működésüket szabályozó mechanizmusokat, valamint ezen ioncsatornák élettani és orvosi jelentőségét. Ismerteteti a munkacsoport, a  $K_{2P}$  családba tartozó TASK ioncsatornákkal, korábban végzett kísérletek tapasztalatait, eredményeit is.

A *Módszerek* fejezet megfelelő hosszúságban és részletességgel tárgyalja a metodikák leírását.

Az *Eredmények* fejezetben a kapott adatok világos interpretációja következik, amelyet a már említett számos ábra segíti elő.

Az értekezésben a szerző következtetései logikusak, azokat az aktuális irodalmi adatok tükrében vizsgálja és magyarázza, amit jelez a nagyszámú irodalmi hivatkozás.

**Megállapítottam, hogy az értekezés önálló tudományos megfigyeléseken alapszik. A dolgozatban ismertetett legfontosabb új megállapítások a következő pontokban foglalhatóak össze:**

1. A humán genom szekvenciában azonosították a TRESK és Kv8.2 géneket.
2. Elsőként mutatták ki, hogy a  $G_q$  protein kapcsolt receptorok aktiválják a TRESK csatornát. Megállapították, hogy az ioncsatorna aktivációjáért, egy kalcium/kalmodulin-dependens protein foszfatáz, a kalcineurin felelős, mely a szerin klaszter (S262, S264, S267 aminosavak) defoszforilációján keresztül szabályoz, de közvetlenül is kötődik a TRESK ioncsatorna PQIIs és LQLP motívumaihoz.
3. A mikrotubulus-affinitást reguláló kinázok (MARK1-3) a szerin klaszter (S262, S264 aminosavak) foszforilálásán keresztül, míg a novel típusú protein kináz C (PKC  $\eta$  és  $\epsilon$ ) a szerin klasztert foszforiláló endogén kinázok gátlásán keresztül szabályozzák a TRESK csatorna működését.
4. A 14-3-3 molekula gátolja a szerin klasztert foszforiláló kinázokat, valamint a molekula kötődése a TRESK ioncsatornához csökkenti annak aktivitását. A 14-3-3 molekula kihorgonyzódása a TRESK-hez csak az S252 aminosav foszforilálódása után jön létre, amit a protein kináz A katalizál.
5. A  $Hg^{2+}$  a  $K_{2p}$  család más tagjaitól eltérően gátolja a TRESK ioncsatornát.

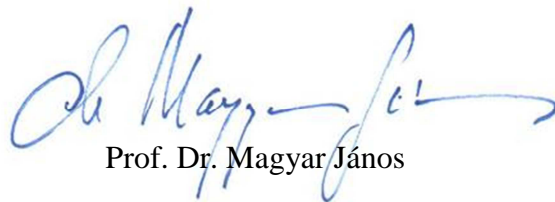
#### **Kérdések:**

1. Megállapították, hogy a Kv8.2 mRNS nagy mennyiségben kifejeződik a retinában. Ez még nem jelenti azt, hogy a csatorna fehérje is jelen. Vizsgálták-e közvetlenül a csatornafehérjék expresszióját a retina sejtjein? Ismer-e olyan mikro-RNS-eket, amelyek befolyásolhatják a Kv8.2 mRNS kifejeződését?
2. A 20. ábrán bemutatott kísérletben angiotenzin II jelenlétében mérte a *Xenopus* petesejten expresszált TRESK csatornák ionáramát és a kalcium aktivált klorid áramot. Az angiotenzin II milyen mértékű, kinetikájú kalciumválaszt idéz elő natív *Xenopus* petesejteken? A natív *Xenopus* petesejten milyen ionáramok mérhetők, ezek mennyire befolyásolhatják a TRESK áramok mérését?
3. Mi lehet a magyarázata annak, hogy a sejtekbe injektált kalciumionok millimólos koncentrációja nem aktiválta a TRESK csatornákat, ugyanakkor, a mikromólos szabad kalcium szint változás, amit kalciummal telített EGTA pufferrel, vagy az M1 receptorok stimulálásával ért el, hatékonyan növelte a TRESK áramot?

4. Kísérleteik során, a *Xenopus* petesejteken, expresszálták a TRESK csatornát és az AT<sub>1a</sub> receptort vagy a TRESK csatornát és a M<sub>1</sub> receptort. Az ilyen körülmények között tapasztalt TRESK szabályozás mennyire hasonlíthat a natív sejtekben tapasztalható szabályozásra?
5. Ismer-e olyan patológiás állapotot — a mutációkat kivéve — ami összeköthető a TRESK csatornák aktivitásának, vagy expresszójának a növekedésével, vagy csökkenésével? pl. a csípős ételek rendszeres fogyasztása okozhatja-e a TRESK/TREK csatornák aktivitásának a növekedését?
6. Minden eddig ismert TRESK mutáció összeköthető a migrén kialakulásával? A TRESK aktivitásának növelésével csökkenthető-e a migrén kialakulása, illetve növelhető-e a fájdalomküszöb? Mi erről a véleménye?

Az értekezés a kritikai megjegyzéseim és kérdéseim ellenére, formai és tartalmi szempontból mindenben megfelel a MTA doktori cím megszerzésével szemben támasztott követelményeknek, így az értekezés elfogadást, a nyilvános vita kitűzését, és - sikeres védés esetén - Dr. Czirják Gábor a MTA doktora cím odaítélését támogatom.

Debrecen, 2021. november 25.



Prof. Dr. Magyar János