

Opponensi vélemény

Dr. Laczka Csilla:

„A sejtmembrán gyógyszertranszporterei: módszerfejlesztéstől a szerkezet-hatás vizsgálatokig”

című MTA doktori értekezéséről

Dr. Laczka Csilla disszertációjában az ABCG2 (ATP Binding Casette G2) transzporter és több, az SLC családba tartozó organikus anion transzporter polipeptid szerkezetére és funkciójára vonatkozó kutatásait foglalta össze. Az értekezés a jelölt PhD fokozatának megszerzése (2003) óta eltelt idő alatt megjelent 16 darab, rangos nemzetközi folyóiratokban publikált, első, illetve levelező szerzős közleményének anyagán alapul. Tovább emeli a munka értékét, hogy az OATP-k vizsgálatára kidolgozott új módszerek kapcsán két szabadalmat is sikerült benyújtani.

A viszonylag rövid disszertáció a hagyományos formában íródott, az *Irodalmi bevezető*, *Célkitűzések*, *Módszerek*, *Eredmények és megvitatásuk*, *Az új tudományos eredmények összefoglalása*, valamint a *Következtetések és kitekintés* című fejezeteket a *Disszertáció alapját képező közlemények* és *A disszertációhoz kapcsolódó további közlemények* című fejezetek egészítik ki. Az *Irodalomjegyzékben* több mint 200 munkát sorol fel.

Előjáróban szeretném kiemelni, hogy a világos és logikusan felépített szerkesztés mellett a jó stílusban, olvasmányos formában íródott szöveg nagyban megkönnyítette az egyébként hatalmas és szerteágazó munka megértését. (Ez még a területen egyáltalán nem járatos bíráló esetében is igaz). Az írásmód megfelel a magyar helyesírás szabályainak. Az ábrák informatívak, esztétikus kivitelűek. A szövegben nagyszámú rövidítést alkalmaz a szerző. Ezek többsége a nemzetközi szakirodalomban egyébként is elterjedt, de a megértést a disszertáció elején található *Rövidítések jegyzéke* jelentősen megkönnyíti.

Tekintettel arra, hogy az értekezés alapját képező dolgozatok szinte kivétel nélkül lektorált, magas színvonalú nemzetközi folyóiratokban jelentek meg, így mindegyik szigorú

szakmai bírálaton esett át közlés előtt, a közölt adatokkal kapcsolatosan érdemi szakmai kifogásom nincs.

Az alábbi kérdések inkább csak a dolgozat olvasása közben megfogalmazódott gondolatokat közlök tükröznek néhányat:

- Említi a disszertációban, hogy a vad típusú ABCG2 fiziológias szubsztrátja a folsav lehet. Ennek kapcsán kérdezem: elképzelhető-e – illetve ismeretes-e – olyan, látszólag a folsav hiányára visszavezethető vérszegénységnek (például a megaloblasztos anaemiának) olyan formája, aminek hátterében valójában nem az elégtelen folsav bevitel, hanem az ABCG2 transzporter valamely, a molekula fokozott aktivitását kiváltó mutációja húzódik meg?
- Kapcsolódó, de általánosabb kérdés, hogy a köszvényen kívül ismert-e bármilyen betegség, ami az ABCG2 csökkent, vagy fokozott működésére vezethető vissza?
- A daganatterápiában alkalmazott tirozin kináz gátló gyógyszerről, az Iressáról azt írja, hogy magas koncentrációban gátolja az ABCG2-t, alacsony koncentrációban azonban fokozza a molekula ATPáz aktivitását, ami rezisztenssé teheti a daganatsejteket. Mi lehet – ha ismert - e különbség molekuláris háttere?
- az OATP2B1 szelektív inhibitora a természetes ösztromon 13α epimerjének vizsgálata kapcsán részletesen bemutatja a vegyület sejtosztódást gátló hatását. Mivel potenciális gyógyszerként említi az ilyen típusú vegyületeket, a proliferáció gátló hatás mellett szerencsés lett volna a sejtek életképességét is nyomon követni, vagyis eldönteni, hogy valóban csak a sejtosztódás blokkjáról, vagy az érintett sejtek pusztulásáról van-e szó? Ennek az esetleges terápiás alkalmazás szempontjából nagy jelentősége lehet, ugyanis az osztódásukban gátolt (dormant=alvó) tumorsejtek idővel esetleg visszanyerhetik proliferációs képességüket, ami a *in vivo* akár relapsushoz vezethet.

A jelölt által az értekezésben összefoglalt új megállapítások közül az alábbiakat emelném ki:

- Az ABCG2 transzporter molekulában több R482-es mutációt azonosított, amik egy része a vad típusúhoz képest fokozott, másik része csökkent működéssel rendelkezik.
- Ugyanennek a molekulának a koleszterin-szenzor régióját vizsgálva megállapította, hogy az ABCG2 LxxL szteroidkötő motívum leucinjai elsősorban a fehérje szubsztrátfelismerését és aktivitását befolyásolják, de a CRAC motívumok

tirozinjaihozhoz hasonlóan nem vesznek részt közvetlenül a koleszterinérzékelésben. Közvetett (allostérikus) hatásuk azonban nem zárható ki.

- A sejtfelszíni ABCG2 molekulákat felismerő 5D3 monoklonális ellenanyagról bebizonyította, hogy elsősorban a transzporter molekula inhibitor-kötött formáját képes felismerni, az ATP hidrolízis korai szakaszában megrekedt molekulához kevésbé kötődik.
- Számos, az OATP-ket kifejező sejtklónt állított elő és új fluoreszcencia-alapú módszereket dolgozott ki különböző organikus anion transzporterek aktivitásának mérésére, valamint az MRP2 és az OATP1B1 hepatikus transzporterek párhuzamos vizsgálatára.
- Szintén fluorogén szubsztrát felvételén alapuló eljárás segítségével sikerrel valósította meg a hepatocelluláris OATP-k aktivitásának valós idejű mérését. Megállapította, hogy az OATP1B1 molekula efflux transzporterként is működhet.
- Az ABCG2 és OATP1B1 transzporterek számos új gátlószert és potenciális szubsztrátját azonosította. Gyakorlati szempontból különösen fontosnak tűnik az a felismerés, hogy az ABCG2 képes felismerni két – a daganatterápiában kiterjedten alkalmazott tirozin-kináz gátló gyógyszert (Gleevec és Iressa).

Az alapos szakirodalmi áttekintés, a saját vizsgálatok módszertanának és eredményeinek be-mutatása, valamint azok értelmezése alapján megállapítható, hogy az értekezés hiteles adatokat tartalmaz.

Fentiek alapján javaslom az értekezés nyilvánosa vitára bocsátását és sikeres védelem esetén annak elfogadását.

Budapest, 2022.05.20.

Dr. habil Uher Ferenc
az MTA doktora