

Válasz Dr. Sipiczki Mátyás Professzor Úr bírálatára

Először is szeretném megköszönni Sipiczki Mátyás Professzor Úrnak, hogy elvállalta értekezésem bírálatát. Köszönöm pozitív véleményét és támogatását.

A dolgozattal kapcsolatos megjegyzéseit teljes mértékben elfogadom, és az alábbiakban válaszolnék rájuk.

(1-3) Köszönöm szépen a címre és a szövegezésre vonatkozó megjegyzéseket. Törekedtem a megfelelő nyelvezet, idézés, ábraszámozás használatára, ennek ellenére ez nem sikerült maradéktalanul.

A hivatkozásoknál próbáltam a legrelevánsabbakat feltüntetni a dolgozatban, de talán körültekintőbben és a teljességre jobban törekedve kellett volna eljárnom.

A 38. oldalon kiemelet Goto et al. 1996 hivatkozás a mondat első felében említett KEGG adatbázisra vonatkozik, amelynek segítségével azonosítottuk és kategorizáltuk a központi anyagcserében és metabolizmusban szerepet játszó géneket. A *Vps54 (scat)* esetében a szakirodalmi hivatkozások a 24. oldalon vannak és a saját munkánkat is ezen az oldalon hivatkoztam, a későbbiekben pedig csak leírtam a tapasztalt eredményeinket. Hasznos lett volna a saját munkák hivatkozását többször is beletenni.

(4) A transzkriptomikai elemzések alfejezetben a géncsoportok tagjainak transzkriptjeit vizsgáltuk és szerencsés lett volna ezt minden esetben kiírni.

A metodikai rész összefoglaló jellegét elismerem és az ezzel kapcsolatos kritikai megjegyzéseket elfogadom. A részletes leírások, mint a transzgének létrehozásához használt vektorok, primerek a hivatkozott publikációinkban szerepelnek. A felsorolt transzgenikus törzsekhez a vektorokat változatos rekombináns DNS technológiai módszerekkel hoztuk létre (klasszikus klónozás, Gateway és Gibson típusú klónozás), amelyek a hivatkozott cikkek anyagok és módszerek fejezeteiben minden esetben le vannak írva.

A filogenetikai elemzés tekintetében a 18. ábrán látható filogenetikai elemzés a Maximum Likelihood módszerrel lett készítve, míg az FastMe módszert a 49. oldalon tárgyalt *Drosophila* és humán glutamát-dehidrogenázok filogenetikai összehasonlításánál használtuk.

(5-6) A nevezéktannal kapcsolatos megjegyzéseit teljesen jogosnak tartom, sajnálom a pontatlanságokat.

A feltett szakmai kérdésekre a válaszaim:

1. Módszertani kérdés. A „sterilitás“ nincs definiálva az értekezésben. A jelölt bizonyos helyeken a mikroszkópos struktúra alapján, máshol az utódok száma alapján következtet sterilitásra. Az „Anyagok és módszerek“ fejezetben az utóbbi szerepel. Elvileg a sterilitás oka lehet az, hogy a spermiumok létre sem jönnek, vagy létrejönnek, de életképtelenek vagy életképesek, de nem alkalmasak megtermékenyítésre. Az értekezésben bemutatott kísérletek során lehetett ilyen kategóriákat elkülöníteni?

A sterilitás megállapítása az anyagok és módszerek fejezetben leírtak alapján történt. A sterilitásra minden esetben az utódok megjelenésének hiánya alapján következtettünk. Ezt igazolandó hisztokémiai és mikroszkópos vizsgálatokkal, a legkésőbbi fejlődési stádiumok meghatározására törekedtünk. A steril vonalak esetében a boncolás során megvizsgáltuk a spermatogenezis egyes stádiumait, illetve a szemínális vezikulumot, hogy tartalmaz-e érett mozgó spermiumokat. A dolgozatban tárgyalt hímsteril mutánsok esetében érett spermiumok

nem voltak jelen a szeminális vezikulumban, az egyes mutánsok jellemzésénél említésre került, hogy a spermatogenezis melyik stádiumában áll le a spermatidák fejlődése.

2. A tesztisz-specifikusan transzkriptálódó gének által kódolt Hsp-knek milyen funkcióik vannak más szervezetekben (esetleg nem csak állatokban), és milyen tesztisz-specifikus funkciókat lehet számukra feltételezni a *Drosophila*-ban?

A hősokkfehérjék (Hsp-k) molekuláris chaperonok, amelyek kulcsszerepet játszanak a fehérjék érésében, fehérje komplexek összeszerelésében, transzlokációjában és lebontásában és a hő és egyéb stressz hatásokra adott válaszban. A spermiumok természetüknél fogva több, különböző stressz hatásnak vannak kitéve, mint sok egyéb sejttypus. Számos Hsp családtagot, mind a nagy, mind a kis molekulatömegű Hsp-k közül azonosítottak az emlősök heréjében és spermiumában. Proteomikai analízissel különböző típusú Hsp-eket azonosították bika, vaddisznó, egér, patkány és az emberi spermiumok membránjának a felszínén. Hímekben a Hsp-k a here csírasejtjeiben, a Sertoli-sejtekben és összességében a hím ivarvonal legtöbb sejtjében expresszálódnak. A kifejeződésük általános volta felvetette, hogy kulcsfontosságúak lehetnek a hím reprodukív funkciók fenntartásában és összefüggésben állhatnak a férfi meddőséggel is. A herespecifikus Hsp70 formákat (Hsp70-2 és Hsc70T) először egerekben írták le, de később homológjaik jelenlétét leírták az emberi herében is, ahol a hím ivarvonal differenciálódása és fejlődése során expresszálódnak. A Hsp70 család tagjai a spermiumok membránjának felszínén lokalizálódnak és hozzájárulnak a spermiumok motilitásához és kapcsolatba hozhatók a megtermékenyítéssel. A Hsp60 jelentőségét a hím ivarvonal kialakulásában *Drosophila melanogaster*-ben és emlősökben egyaránt leírták. (10.1007/BF02715797, 10.1379/1466-1268(2001)006<0071:thgdm>2.0.co;2, 10.1007/s00441-011-1151-4)

A Hsp-k expressziójának növekedése hőstressz hatására is megfigyelhető volt egér és patkány herékben. Összességében a különböző Hsp-k jelenléte a hím reprodukív rendszerben arra utal, hogy kritikus szerepet játszanak a hím reprodukív funkciók fenntartásában stresszes és nem stresszes körülmények között egyaránt.

(10.1128/mcb.8.8.3260, 10.1016/j.jprot.2010.09.002, 10.1016/j.jri.2009.09.006)

3. A „Kitekintés“ alfejezetben a jelölt rámutat, hogy milyen kérdések maradnak nyitva az értekezésben bemutatott eredmények után is, illetve milyen új kérdéseket nyitnak meg ezek az eredmények. Melyik irányban tervezi a folytatást?

Az elmúlt években számos fehérjecsalád tagjának a tesztisz-specifikus paralógját jellemeztük, amellyel közelebb jutottunk a meiózist követő sejtorganellum átalakulások jobb, de ezidáig nem teljes megértéséhez. Ezért a továbbiakban is folytatjuk az ilyen irányú kutatásokat. A génextpresszió szabályozása alapvető szerepet játszik az élő szervezetek egyes sejttypusainak vagy szerveinek meghatározásában. A szerv és sejt típus specifikus RNS szekvenálási adatoknak köszönhetően a szövetspecifikus génextpresszió mélyebb megértése érdekében elemezni kezdtük a *Drosophila* és az emberi RNS variánsok eloszlást és feldúsulását. A *Drosophila* és a humán RNS-profilok elemzésével lehetőségünk van a szövetspecifikus génextpresszió hátterében álló mechanizmusokat felderíteni és a hím ivarvonal kialakításában szerepet játszó evolúciósan konzervált útvonalakat azonosítani. Az állatmodelleknek és a meglévő nagyfokú hasonlóságnak köszönhetően eredményeink kísérletesen is ellenőrizhetők és modellezhetők lesznek. A gametogenezissel kapcsolatos kutatási irány koordinált fejlesztése

az alapkutatás mellett a klinikai kutatások irányába is elindult., Az elmúlt években jellemzett konzervált géncsaládok humán tagjainak vizsgálatával a spermiumok karakterizálására alkalmas további biomarkereket szeretnénk azonosítani az SZTE Reprodukciós Medicina Intézet munkatársaival együttműködve. Reményeink szerint eredményeinkkel közelebb juthatunk a férfi meddőség vagy fertilitás csökkenés hátterében álló faktorok jobb megismeréséhez, a jelenleg használt diagnosztikai eljárások bővítéséhez.

Még egyszer nagyon köszönöm a feltett kérdéseket és a dolgozatom alapos és körültekintő bírálatát.

Szeged, 2025. 06. 12.

Tisztelettel,



Dr. Sinka Rita