

SZAKMAI VÉLEMÉNY

MTA doktori értekezésről

Az értekezés címe: A sejtorganellumok identitását szabályozó gének és funkciójuk meghatározása

Az értekezést benyújtotta: Sinka Rita

Az értekezés áttekintést nyújt Sinka Rita tudományos munkásságának arról a részéről, amelynek a középpontjában olyan molekuláris folyamatok állnak, amelyek bizonyos sejtorganellumok szintjén játszódnak le a *Drosophila melanogaster* spermiumképzése során. A mintegy két évtizedes munka egy, a Nature folyóiratban megjelent közleményben bemutatott kutatásból ágazott le. Abban a tanulmányban egy nemzetközi kutatócsoport, amelynek Sinka Rita is tagja volt, többek között Golginok vizsgálatáról is beszámol. A Golginok fontos szerepet játszanak abban, hogy a citoplazmában képződő vezikulumok hozzákapcsolódnak bizonyos membránok felszínéhez. Ebben a folyamatban részt vesznek úgynevezett kis GTPázok is. Mivel vezikulumképzés és membránátalakulások a *Drosophila* spermiumképzése során is intenzíven folynak, a szerző és munkatársai figyelme ezek irányába terelődött. Az idők folyamán kiterjedt a munkájuk más sejtorganellumok változásainak tanulmányozására is a spermiumképzés folyamatában. Az elért eredmények közül a következők különösen fontosak.

A jelölt a munkatársaival együttműködve illetve azok munkáját irányítva

1. megállapította, hogy retrográd membrántransportra van szükség a spermatogenezis során a sejtmagok megnyúlásához, valamint az akroblaszt illetve az abból kifejlődő akroszóma kialakításához.
2. bizonyította a CDP-diacylglycerol synthase (CDS) enzimet kódoló gén (*CdsA*) fontosságát a foszfatidsav megfelelő szintjének biztosításában, illetve annak átalakításában a spermatogenezis során. Erről a génről korábban már ismert volt, hogy más folyamatokban játszik fontos szerepet a *Drosophila* fejlődése során.
3. kimutatta, hogy a spermiumok mitochondriumában felhalmozódó parakristályos anyag fő alkotói az S-Lap fehérjecsaládhoz tartozó enzimek és a Bb8 glutamát-dehidrogenáz. Az előbbieket elvesztik enzimaktivitásukat és csak szerkezeti szerepük van. Az utóbbi viszont megőrzi az aktivitását.
4. a Bb8 glutamate dehydrogenase segítségével továbbá kiderítette, hogy a glutamát metabolizmusnak is fontos szerepe van a spermatogenezisben.

5. Jellemezte a γ -Tubulin Ring Complex (γ -TuRC) összetételét, a fejlődő spermiumon belüli elhelyezkedését és részvételét a sejtmagok apikális végén valamint a mitochondriumok felszínén szerveződő nem-centroszómális mikrotubulus-szervező központok (MTOC-k) kialakításában. Kiderült, hogy a komplex egyik tagja, a Grip84 fehérje, a Golgihoz is kapcsolódhat.

6. Transzkriptomikai vizsgálatokkal kimutatta, hogy mely gének átírása illetve annak hatékonysága tér el a tesztiszrégiókban és a szomatikus sejtekben. A nagyszámú ilyen gén között identifikáltak olyanokat, amelyek tesztisz-specifikusnak tekinthető kinázokat, foszfatázokat, illetve fehérjedegradációban részt vevő fehérjéket kódolnak.

7. Rávilágított, hogy a tumor-szupresszor E3 ligáz is részt vesz a spermatidok (spermatidák) differenciációjában.

A felsoroltakon kívül számos további fontos adattal és felismeréssel gazdagította a szakterületet a jelölt kutatómunkája.

Az elért eredmények értékét tükrözi, hogy 14 (tézisek szerint) illetve 15 (értekezés szerint) közlemény született belőlük a szakterület rangos nemzetközi folyóirataiban. Ezekben a közleményekben a jelölt egy alkalommal volt első szerző és kilenc alkalommal volt utolsó (levelező) szerző (ennek a tíz közleménynek az összesített impakt faktora: 43).

Külön kiemelendő a metodikai sokoldalúság.

Megjegyzések az értekezéshez:

(1) Az értekezés felépítése hagyományos szerkezetű: „Irodalmi áttekintés”, „Eredmények”, „Anyagok és módszerek”, valamint „Összegzés”, ami egy „Kitekintés” alfejezetet is tartalmaz. Hasznos lett volna egy „Célkitűzés” fejezetet is beiktatni, ahhoz hasonló, mint ami a tézisekben szerepel. A fejezetek egyébként jól épülnek egymásra, tartalmuk visszafogottan lényegretörő, a dolgozat logikai vonalvezetése könnyen követhető, a dolgozat nyelvezete érthető.

(2) A címe túl általános. Jobban tükrözné a tartalmat, ha szerepelne benne a „*Drosophila*-ban” vagy a „*Drosophila* spermatogenezisében” kifejezések valamelyike.

(3) Az értekezés olvasásánál beleütköztem a következő nehézségekbe:

(a) Az ábrák számozása az Irodalmi áttekintés utáni részekben eltér attól, ami a szövegben szerepel. Kiderült, hogy 3., 4., és 5. sorszámú ábra kétszer is van az értekezésben. Emiatt a következő algoritmust kellett használni az olvasás során:

ábra-sorszám a szövegben – 3 = ábra-sorszám az ábra alatt

(b) Számos helyen nem válik el világosan, hogy melyek a szakirodalmi adatok és melyek a dolgozatban bemutatott kutatás eredményei. Egy példa:

38. oldal: „...a központi metabolizmust és a mitochondriális elektrontranszportlánc tagjait is azonosítottuk (Goto et al., 1996)”. Sem a jelölt sem a munkatársai nem szerzői a Goto et al. cikknek.

(c) Gyakran hiányoznak a hivatkozások a szakirodalmi előzmények áttekintésénél. Példák:

A 25. oldalon a Scat fehérjékkel kapcsolatos ismeretek összefoglalása nem tartalmaz egyetlen hivatkozást sem.

A 23. oldalon a „...volt ismeretes...” után könyvtárnyi ismeretanyag kerül összefoglalásra hivatkozások nélkül.

A 31. oldalon: „Ismert, hogy...”, de nincs hivatkozás.

(d) Helyenként a gének és fehérjék között nincs különbségtétel. Például

a 37. oldalon. „A Hsp60I géncsoport tagjai főleg a bazális régióban, míg a Hsp60II géncsoport tagjai az apikális régióban halmozódnak fel.” Nyilván a fehérjék halmozódnak fel, nem a gének.

(e) Nem teljes a következetesség a dőlt és álló betűk használatában a gén- és fehérjenevek esetében (Pl. Grip84 gén a 90 oldalon és a tézisekben). Érdekes módon a *Drosophila* is sokszor van álló betűvel írva.

(f) A szöveg és az ábrák nincsenek mindig tartalmilag összhangban. Például a 8. oldal egyik mondata szerint: „A szomatikus és csírasejtek közötti szoros kölcsönhatások az állati spermatogenezisben nagyfokú konzerváltságot mutatnak (2. ábra)”. A 2. ábra viszont semmit sem mutat a konzerváltságból. Másik példa a 15. oldalról „...az érett spermiumokra jellemző túszerű sejtmag”. Az ábrán viszont nincs jelölve a sejtmag (a fekvő vízszintes pálca lenne az?)

(4) A módszereket a szerző a dolgozat terjedelmére hivatkozva vázlatosan írja le. Azonban számos módszer még ilyen vázlatos formában sincs bemutatva. Például a Bb8, S-Lap y-TuRC gének/géncsaládok jellemzésére használt konstrukciók eredete nem derül ki. Ezek egy részét nyilván a szerző és munkatársai hozták létre, és lehet, hogy a létrehozás menete le is van írva egyik vagy másik közleményükben. De az utóbbiakra nincs utalás. Ugyanez a helyzet a transzgénikus törzsek létrehozásához szükséges konstrukciók esetében is. Az immunogold lokalizáció módszere sincs leírva a módszereknél.

A filogenetikai analízisnél némi ellentmondás látszik. A 18. ábránál Maximum Likelihood van említve. Máshol semmi. Az Anyagok és módszerek fejezetben viszont a FastME algoritmus van feltüntetve, mint fakészítő módszer. A FastME a Neighbor-Join logikájára épül. A Maximum Likelihood viszont egy karakteralapú módszer.

(5) Zavaró az irodalomjegyzékek (a saját közlemények és az idézett irodalom jegyzéke egyaránt) formai következetlensége. A saját közlemények listájában például: a szerzők vezeték és „keresztneveinek” sorrendje nem egységes, a közlemények felsorolása nem felel meg az abécének sem és az időbeni sorrendiségnek sem. Az idézett irodalom listájában például: egyes hivatkozások adatai hiányosak (Fabian és Brill, Cheung és Pfeffer, Paiardi et al., Bates, stb.), a kis és nagy betűk használata következetlen, a *Drosophila* hol ferde, hol nem.

(6) Az értekezésben gyakran szerepel az „élesztő” megnevezés. A nemzetközi szakirodalmi szokásnak megfelelően pontosítás nélkül. A véleményező bátorodik megjegyezni, hogy több mint 2200 élesztőfaj ismert, szinte mindegyik típus törzs genomját már megszekvenálták, és legalább három tucatról állnak rendelkezésre részletes molekuláris biológiai adatok. Egyes élesztőfajok között nagyobb a filogenetikai távolság, mint a *Drosophila* és az ember között.

A jelölt szakmai sokoldalúságát és együttműködési készségét mutatja a nagyszámú társszerzőség olyan cikkekben, amelyek témája nem kapcsolódik az értekezésben bemutatott

kutatásokhoz. Az eredményes együttműködéseknek is köszönhetően kimagaslóan magas az összesített impakt faktora: 251

Kérdések a jelölthöz:

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?
2. A tesztiszspecifikusan 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?
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?

Össességében kijelenthető, hogy Sinka Rita és munkatársainak kutatási eredményei jelentős mértékben hozzájárultak a *Drosophila melanogaster* spermatogenezise során lejátszódó folyamatok jobb megértéséhez. Nemzetközi visszhangjuk nagyon pozitív.

A fentiek alapján megállapítható, hogy a doktori munka tudományos eredményei elegendők az MTA doktori cím megszerzéséhez, számos vonatkozásban jelentős mértékben meg is haladják az elvárásokat.

Javaslom a nyilvános vita kitűzését.

Debrecen, 2024 december 2.

Sipiczki Máttyás