

Dr. Sinka Rita

„A sejtorganellumok identitását szabályozó gének azonosítása és funkciójuk meghatározása”

című MTA doktori értekezésének bírálata

Készítette: Dr. Szüts Dávid

A téma jelentősége

Dr. Sinka Rita doktori disszertációjában az utóbbi kb. húsz évben részben Nagy-Britanniában, részben Magyarországon végzett tudományos munkája eredményeit foglalja össze. Tizennégy megjelent közlemény képezi a dolgozat alapját, melyekben két esetben ő az első szerző, kilenc esetben pedig a szenior szerző. A közlemények közül több a tudomány legrangosabb folyóirataiban jelent meg, mely tükrözi a bemutatott kutatás magas színvonalát – itt kiemelendők a posztdoktori időszakból származó megosztott első szerzős *EMBO J* (2010) és társszerzős *Nature* (2024) közlemények, valamint a szenior szerzős *PLOS Genetics* (2019) és a benyújtás időpontjában még közlés alatti *Commun Biol* (2024) közlemények. Az utóbbi években megjelent számos szenior szerzős közlemény mutatja a Sinka Rita által Magyarországon felállított tudományos műhely sikerét.

A dolgozat a sejtorganellumokat felépítő fehérjéket és folyamatokat vizsgálja több aspektusból. RNS interferencián alapuló, új sejtciklust szabályozó fehérjék azonosítására irányuló sikeres tanulmányokat követően Sinka Rita hasonló módszereket alkalmazott a sejtorganellumok közötti vezikulatranszport folyamatokban kulcsszerepet játszó gének azonosítására. Cambridge-ben végzett munkája fókuszában a nagyméretű Golgin fehérjék álltak, melyek a vezikulák membránfelszínhez történő kihorgonyzását segítik. A feltárt fehérjeinterakciók elősegítették a Golgi apparátus és egyéb sejtorganellumok közötti kapcsolatok megértését.

A posztdoktori kutatások során gyűjtött tapasztalatokkal Sinka Rita egy speciális kísérleti modell, a *Drosophila* spermatogenezis felé fordította figyelmét. Itt egyszerre vizsgálható a membrántranszport a sejtorganellumok látványos átalakulásai során, a mikrotubulus

citoszkeleton szerveződése, valamint tesztisz-specifikus folyamatok, mint az érett spermiumok mitokondriumában levő parakristályos anyagának kialakulása. A dolgozatban bemutatott kutatómunka metodikusan, nagy precizitással tárja fel a *Drosophila* spermatogenezis komplex biológiai folyamatának számos összekapcsolt vetületét. A klasszikus genetikai és biokémiai, valamint modern transzkriptomikai megközelítések ötvözete valódi felfedező biológiai kutatást eredményez, melynek eredményei egyrészt rendkívül érdekesek, másrészt hozzásegíthetnek akár első látásra nem egyértelműen analóg folyamatok megértéséhez is.

A dolgozat formai értékelése

A dolgozat szöveges része kb. 90 oldal terjedelmű, mely 44 (illetve 47) ábrát is tartalmaz; az ábrák számozása már a 3. ábrától kezdve el van csúszva a szövegbeli hivatkozásokhoz képest, a 3-5. ábra kétszer fordul elő. A disszertáció 12 oldal irodalmi áttekintést, egy 62 oldalas eredmények fejezetet, 8 oldal kivonatos anyagok és módszerek szekciót, valamint egy 7 oldalas összegzést tartalmaz.

A szöveg gyakorlatilag hibátlan, és igényes magyar tudományos nyelvhasználatot mutat. Egy rövidítésjegyzék segíthetné a megértést.

Megjegyzések az értekezéssel kapcsolatban

A dolgozat első fejezete egy irodalmi áttekintést nyújt a dolgozat nagy részében használt *Drosophila* modellrendszerről, és bemutatja, ahogy a membrántranszport-modellként áthidalja az élesztő és a gerincesek közötti különbséget és távolságot. A bemutatás nagyon jól érthető és meglehetősen kompakt; konkrét génekről, fehérjékről csak minimálisan esik szó. A *Drosophila* spermatogenezis igen különleges a spermiumok morfológiája és szinkronizált fejlődése miatt, melynek során kialakul egy speciális mikrotubulus-szervező központ, kifejlődik egy axonéma, mely mellett két megnyúlt mitokondrium egyike (vagy mindkettő) különleges parakristályos fehérjékkel telik meg. A bemutatott folyamatok szokatlanságuk ellenére konzervált szabályszerűségeket követnek, így vizsgálatuk általános érvényű biológiai következtetésekre is lehetőséget nyújt.

Az eredmények első fejezete genetikai szűréseket mutat be *Drosophila* S2 sejtekben. A sok év munkáját tömören leíró fejezet önálló bevezetést is tartalmaz, és csak lazán kapcsolódik az értekezés további szakaszaihoz. Itt is, és a továbbiakban is hasznos lett volna tovább tagolni az

eredmények bemutatását, mert komoly feladatot jelent az olvasónak az akár 20 oldalas alcím nélküli fejezetekben való tájékozódás.

Az eredmények utolsó, hosszú fejezete a spermatogenezis késői stádiumaiban mutatja be a citoskeleton változásait és az ezt szervező struktúrák összetételének vizsgálatát. Az ezen eredményeket tartalmazó, a dolgozat benyújtásakor még preprint státuszú kézirat 2024 őszén megjelent a rangos *Communications Biology* folyóiratban.

A módszerek fejezet vázlatosan, de mégis meglehetősen részletességgel ismerteti a bemutatott kutatási eredmények metodikai hátterét, a felhasznált *Drosophila* törzseket, ellenanyagokat, kísérleti és omikai módszereket. Ez utóbbiak közül a lipidomikai vizsgálatokat és a transzkriptomikai vizsgálatokat hazai kutatócsoportokkal kollaborációban végezték. Általánosságban is elmondható, hogy jelentősen bővítették a kutatás perspektíváját a különféle szakterületeket bevonó kiváló kollaborációk.

Új tudományos eredmények

Az értekezésben részletezett kutatások új fő tudományos eredményeinek a következőket tartom:

1. A vezikulattranszport szisztematikus vizsgálata során megmutatta, hogy a Golgin fehérjék változatosan kapcsolódnak kis GTPáz fehérjékkel és kihorgonyzó komplexekkel.
2. Megállapította, hogy a *Drosophila* spermatogenezis során retrográd membrántranszport szükséges a sejtmagok megnyúlásához és a specializált Golgi, az un. akroblaszt, illetve az abból származó akroszóma kialakításához.
3. Leírta a CdsA gén szerepét a foszfátidsav membránkomponens szintjének szabályozásában.
4. Transzkriptomikai elemzésekkel jellemezte a tesztisz-specifikus génexpresszió térbeli és időbeli tulajdonságait.
5. Feltárta az érett spermiumok mitokondriumában felhalmozódó parakristályos anyag fő alkotóit, az enzimatisz aktivitásukat elvesztett S-lap fehérjéket és az aktív Bb8 glutamát dehidrogenázt.
6. Jellemezte a mitokondrium citoskeletont szervező kanonikus és tesztisz-specifikus komplexeket a spermatogenezis fázisaiban.

Kérdéseim

1. Az összes 23 *Drosophila* Rab GTPáz GTP- és GDP-kötött formáival végzett pulldown tömegspektrometriás kísérletek új kötőpartnereket és más eddig nem ismert interakciókat azonosítottak. Végeztek-e azóta mások hasonló átfogó kísérleteket a humán Rab fehérjékkel? Vannak-e, várhatók-e lényeges eltérések a *Drosophila* interaktómhoz képest?
2. A *Drosophila* szövetek lipidomikai elemzése mennyire végezhető szövetspecifikusan? Mi lehet a magyarázata annak, hogy a CDS enzim hiányában a foszfatidsav főként a tesztiszben halmozódik fel?
3. A tesztisz különböző régiói összehasonlító transzkriptomikai elemzésében milyen statisztikai módszert használt? A 10. ábrán szereplő n értékek a felhasznált minták számát jelölik, de ha jól értem, ezek egyesítve voltak. Összesen hány minta került szekvenálásra régióként, és hogyan lettek statisztikailag elemezve a Benjamini-Hochberg FDR korrekciót megelőzően?
4. A bazális tesztisz-régióból izolált mRNS-ek transzkripcionálisan inaktív sejtekből származnak, tehát ezeknek még a meiózist megelőzően, az apikális vagy középső régióban kellett kifejeződniük. Mivel magyarázza ennek fényében a csak a bazális régióban azonosított transzkriptek nagy számát (302, 10B ábra)?
5. Megközelítőleg hány génnek van tesztisz-specifikus homológia, és ebből mennyi retrogén? A reverz transzkripcióval keletkezett gének különösen jellemzőek a tesztisz-specifikus génkészletre?
6. Az S-Lap aminoszintézis milyen sztöchiometriával vannak jelen a spermiumokban? Valóban bármelyiknek a hiánya megzavarja a parakristályos anyag kialakulását? Van szerkezeti modelljük a nyolcféle fehérje interakciójára?
7. Milyen evolúciós útvonalon alakulhatott ki az S-Lap fehérjék strukturális szerepe a spermiumokban?
8. Mi a valószínűbb, részt vesz a Bb8 glutamát dehidrogenáz a parakristályos anyag felépítésében, vagy csak a glutamátszinten keresztül szabályozza azt?
9. A spermatidák mikrotubulus szervező struktúráinak részletes elemzése megmutatta, hogy a tesztisz-specifikus és a normál gamma-TuRC fehérjék egyaránt jelen vannak ezekben, és valószínűleg egymással is képesek komplexeket alkotni. Milyen specifikus

szerepe lehet a két rokon fehérjekészletnek a spermatidák sejtvázában szabályozásában?

Összegzés

Sinka Rita egy igényesen elkészített, módszertanilag sokoldalú, nemzetközi érdeklődésre számot tartó sejtbiológiai eredményeket tartalmazó doktori értekezést nyújtott be. Munkája jelentős új eredményekkel gazdagította a sejtorganellumok felépítését és átalakulásait szabályozó mechanizmusok megértését.

Mindezek alapján javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását és a doktori cím odaítélését.

Budapest, 2025. január 16.



Dr. Szüts Dávid

az MTA doktora