

Válasz Garami András opponensi véleményére

Tisztelt Prof. Garami András!

Köszönöm szépen, hogy elvállalta MTA doktori értekezésem bírálatát. Köszönöm méltató szavait. A tradicionális felépítés helyett azért választottam minden egyes témánál az eredmények és megbeszélések rész összevonását, mert így talán az olvasó számára is követhetőbb az egyes tanulmányokhoz kapcsolódó magyarázatok követése. A kérdéseire megfogalmazott válaszaimat az alábbiakban részleteztem.

1) A dendritikus sejtek aktiválásával kapcsolatban fontos lett volna indokolni a 36. oldalon részletezett gyulladásos koktél összetételének meghatározását. Mi indokolta kétféle citokin, egy stimuláló faktor és prosztaglandin együttes használatát? Mi alapján lettek megállapítva a felhasznált koncentrációk? Az egyes anyagok külön-külön hozzáadva nem vagy más hatással bírtak volna? Utóbbi megközelítés elősegíthetné különböző jelátviteli útvonalak azonosítását.

Egy másik ide tartozó kérdés, hogy az alkalmazott (magasnak tűnő) 10 μ M koncentrációban mennyire várható, hogy a tetrodotoxin a Nav1.7 csatornán kívül más nátrium vagy egyéb ioncsatornákra is hat? A Nav1.7 csatornáktól független, nem specifikus hatás mennyire befolyásolhatja a szerrel kapott eredmények interpretálását?

Köszönöm kérdéseit. A gyulladásos/citokin koktélok összetételét a kollaborációs partnerünk laboratóriumában az irodalomból ismert és korábban tesztelt receptúra alapján állapították meg (10.1002/eji.1830271209, 10.1006/bbrc.2000.3372, 10.1016/s0264-410x(02)00382-1). Minden esetben a cél az volt, hogy a monocitákból minél magasabb százalékban, azaz minél homogénebb éretlen/érett dendritikus sejt populációt állítsanak elő, reprodukálható módon. Ennek ellenőrzése a megfelelő sejtfelszíni markerek kimutatásával (pl. CD80/83/86, CCR7), valamint funkcionális tesztek segítségével történt (pl. migráció, fagocitózis, pinocitózis). Az egyes komponensek hatása más és más dendritikus sejt tulajdonságot hozott elő: PGE₂: hozzájárul a DC túléléshez, valamint fokozza a CCR7 expressziót és ezáltal a migrációt (érett DC-k esetén); TNF- α : robusztus érési citokin a DC-k számára stb. Az általunk használt aktivációs/differenciációs protokoll akkoriban széles körben elfogadott volt, mely lehetővé tette a relatíve egyszerű és nagy mennyiségben előállítható DC tenyésztést; ezen felül még klinikai alkalmazások során szintén ezt alkalmazták DC-k előállításához.

Ha egyenként, nem kombinálva adtuk volna hozzá ezeket a citokineket/faktorokat, akkor valószínűleg teljesen más fenotípusú sejteket tudtunk volna differenciáltatni (pl. csupán FCS hozzáadásával a monociták képesek spontán makrofággá alakulni). A kísérleteink során az ioncsatorna expresszió és funkció szempontjából vizsgáltuk a DC két típusát: az éretlen DC a szövet-rezidens DC-knek feleltethető meg (fő feladata a kórokozók felismerése), míg az érett DC-ék a nyirokcsomóba vándorló, antigén prezentáló DC-kkel szinte azonos funkciókkal rendelkeznek.

Az értekezésben taglalt tanulmányt megelőzte egy másik, amelyben DC-k ioncsatorna expresszióját vizsgáltuk (10.4049/jimmunol.0803003). Ebben molekuláris biológiával kimutattuk (degenerált PCR primerek és szekvenálás), hogy az éretlen DC-k az Nav1.7 csatornát expresszálják, más típusú Nav ioncsatorna nem található meg rajtuk. Ugyanebben a cikkben leírtuk, hogy a DC-ék esetén a TTX K_d/IC_{50} értéke kb. 55 nM, emiatt döntöttünk úgy, hogy ezt a magas TTX koncentrációt alkalmazzuk (kb. a K_d 200-szorosa). Továbbá ismert, hogy bizonyos CaV csatornákat is képes a TTX gátolni, bár ott az IC_{50} koncentráció több 10 μ M-os koncentrációban van, emiatt ezekre kifejtett gátlóhatás elhanyagolható. Valamint ionszubsztitúciós kísérletekkel igazoltuk, hogy NaV csatornák expresszálódnak a DC-kben és nem CaV-k. Természetesen sosem zárható ki a nem specifikus hatás farmakológiai vizsgálatok esetén, viszont pontosan emiatt végeztünk az Nav1.7-tel siRNS-sel kísérleteket, melyek eredményei egyezést mutattak a TTX gátlás során leírtakkal.

2) A hiperkoleszterinémias és Smith–Lemli–Opitz szindrómában szenvedő betegekkel végzett vizsgálatok kontroll csoportjai esetén célszerű lett volna megemlíteni, hogy demográfiai szempontból (pl. kor, nem, testtömeg) egyeztek-e a vizsgált csoporttal? Hogyan alakultak ezek a paraméterek az egyes csoportokban a SLOS betegek életkorán kívül (ami ismertetésre kerül a szövegben)?

Köszönöm kérdéseit. A vizsgálatba bevontuk mind a nyolc, Magyarországon akkoriban elérhető SLOS-beteget (életkor $7,65 \pm 2,23$ év), valamint nyolc, életkorban hozzájuk hasonló kontrollbeteget (életkor $7,66 \pm 1,83$ év) vettek részt a vizsgálatban. A klinikai súlyossági pontszám alapján a betegeket három csoportba soroltuk: a 20 alatti pontszám enyhe betegséget jelent, míg a tipikus SLOS-betegek pontszáma 20 és 50 között van, és 50 felett a SLOS súlyos típusa nyilvánul meg. A betegek közül hármat enyhe betegség jellemezte (életkor $9 \pm 1,88$ év, szérum 7DHC $0,38 \pm 0,08$ mmol/l, szérum CHOL $2,64 \pm 0,36$ mmol/l), öt gyermeket pedig tipikus betegség (életkor $7,4 \pm 2,13$ év, átlagos szérum 7DHC- és CHOL-szint $0,5 \pm 0,09$, illetve $1,44 \pm 0,26$ mmol/l). Továbbá megjegyezném, hogy minden esetben normál testalkatú gyerekeket vontunk be a kontroll csoportba, valamint az SLOS súlyosságától függően (táplálási nehézségek miatt) egyes gyermekek BMI-je jelentősen alacsonyabb volt a kontroll csoport korban azonos

gyermekhez képest, azonban ezt nem ellenőriztük. A nemi-összetételt igyekeztünk a két csoportban közel megegyezőnek választani.

3) Célszerű lett volna alátámasztani, hogy miért aktin szerepelt kontrollként Western blot során és miért 38B4 a PCR méréseknél. Miért éppen ezek és miért nem ugyanaz a kontroll a két módszernél? A sovány tejpor kiválasztása a Western blot kísérletekhez szintén érdekesnek tűnik: mennyire standardizálható a Dóczy ABC által forgalmazott termék összetétele?

Köszönöm kérdéseit. A kvantitatív PCR kísérleteknél a 36B4 gént használtuk „referencia gén” kontrollnak, mert ennek expressziója konstans számos sejttípusban, expressziós szintje alig függ a sejt állapotának változásától (pl. béta aktin esetén ez nem mondható el számos sejttípus esetén). Megjegyezném, hogy bizonyos betegségek esetén tapasztaltak változást (pl. diabéteszes retinopátia), ezért természetesen javasolt manapság számos „háztartási” gén bevonása a qPCR kísérletekbe. Megemlíteném, hogy a kollaborációs partnerünk végezte ezeket a kísérleteket, így ebben az ő szakmai tudására hagyatkoztunk, teljes mértékben megbíztunk kompetenciájában.

Az aktinra a WB kísérleteknél azért esett a választásunk, mert ennek segítségével tudtuk megbecsülni a sejtek mennyiségét, illetve ellenőrizni, hogy nem technikai hiba csúszott a kísérletbe. Az aktin mennyisége különféle tényezők hatására megváltozhat, ezért qPCR kísérletek esetén nem alkalmazzák, ugyanis elfedheti a detektálni kívánt fehérje expressziójában a különbségeket. Itt is célszerű lett volna egyéb kontrollok tesztelése is (GAPDH, tubulin), mivel nem történt esetünkben drasztikus változás a sejtek morfológiájában, fenotípusában külső tényezők hatására, ezért az aktin használata is megfelelőnek bizonyult. Továbbá minden esetben fehérje szintű direkt vizsgálat is történt (patch-clamp), mely egyértelműen kimutatta az Nav1.7 szintben történő változást.

A sovány tejpor használata a blokkolás miatt szükséges, a nemspecifikus kötődés csökkentése miatt. A szigorú ételminőségügyi normák miatt feltételeztük (reméljük ez így is van), hogy nem volt nagy variabilitás a különböző gyártásból származó tejporkok között. FCS/BSA használatával lehetett volna kiváltani a tejporkot, viszont ez esetben sincs semmiféle garancia arra, hogy két eltérő gyártásból származó termék összetétele teljesen megegyezik. Az állatok, esetünkben szarvasmarhák tartása valószínűleg mindkét esetben befolyásolja mind a savó, mind a tej összetételét.

4) A 4.1.1 fejezetben ismertetett eredmények kapcsán felmerül a kérdés, hogy hogyan alakult a vizsgálatba bevont 15 beteg aránya (38. o.) a HC I. és II. csoportokban? A limfociták koleszterin tartalmának meghatározása miatt csak $n = 3$ esetben történt a HC II. és kontroll csoportokban, és miért nincs adat a HC I. csoport sejteiről (57-58. o.)? Az elemszámokat illetően a kérdés a SLOS betegekre is vonatkozik, akiknél a módszertani részben $n = 8$ a beteg és kontroll csoport egyaránt, míg a 2. táblázat (65. o.) csak 7 beteg és 5 kontroll adatot tartalmaz.

Milyen (kór)élettani jelentősége lehet a HC II. csoport estén talált szignifikánsan csökkent aktivációs időállandónak (59.o. és 15. ábra)? Az időállandó növekedésének negatív élettani hatásait, ami koleszterin deplécióban bekövetkezik (ld. 66. o.) könnyebb megérteni, de az időállandó csökkenése fokozottabb kinetikára utalhat?

Szembevetendő a különbség az 1. és 3. táblázatban bemutatott kontroll csoportok első 5 paraméterében. Ennek mi lehet az oka? Az alanyok különböző életkorán kívül más is állhat a háttérben?

A hiperkoleszterinémiás betegekből izolált sejteknél talált csökkent T-sejt proliferációnak ismert dokumentált klinikai következménye, például a betegek elmaradó T-sejtes immunválasza bizonyos kórképekben? Illetve felmerül a kérdés, hogy más immunsejtek esetében is ismert hasonló hatás?

Érdekes megfigyelés, hogy az osztódási index túl magas (HC I. és II., ld. 17. ábra) és túl alacsony koleszterinszintek (SLOS, ld. 22C ábra) esetén is egyaránt alacsonyabb a kontrollnál. Ez akár azt is sugallhatja, hogy valójában nem a koleszterinszint megváltozása felelős az eltérésért. Milyen mechanizmus állhat ennek háttérben?

Köszönöm kérdéseit. A HC I-es csoportba 7 főt, míg a HC II-es csoportba nyolc főt soroltunk be. A koleszterin méréseket a HC II-es csoportban végeztük, mivel csak itt láttunk biofizikai paraméterekben csekély változást a Kv1.3 csatornáknál. Eredményeink az mutatták, hogy ebben a csoportban se annyira a magas a koleszterinszint a kontrollhoz képest, mint ciklodextrinnel történő töltés hatására. Emiatt szinte biztos, hogy a HC I-es csoportban sem emelkedett a kontrollhoz viszonyítva. Mivel mintánkként a sejtek száma nem volt túl magas, emiatt csupán 3 HC II-es donor esetében határoztuk meg a koleszterinszintet, a többi mintát inkább elektrofiziológiai és citometriai mérésekhez használtuk fel.

Az SLO-s minták esetében mind a nyolc beteg esetében történt elektrofiziológiai vizsgálat, viszont GC-MS mérés nem volt minden esetben. A betegmintákat országsszerte összegyűjtöttük, majd utána kontroll személyektől vért vettünk, és ezután együtt küldtük el analízisre a vvt-eket. Tárolási időt igyekeztünk lerövidíteni, hogy különféle kémiai változások ne befolyásolják eredményeinket.

Aktivációs kinetika gyorsulása ebben az esetben (HC II) ugyan statisztikailag szignifikáns, véleményem szerint azonban biológiailag nem releváns. A gyorsabb aktivációs kinetika annak a következménye, hogy az egyensúlyi aktiváció membránpotenciál (MP) függése megváltozik, balra tolódik, azaz negatívabb MP-nél már aktiválódik a csatorna. Esetünkben ez nem következett be, így valószínűleg ennek gyorsulásnak biológia hatása nincs a T sejt életében. Továbbá ismernünk kéne az egyensúlyi inaktiváció membránpotenciál függését is, melynek ismeretében meghatározhatnánk a „window-current”-et, amely a csatorna funkcionalitásáról ad információt normál élettani körülmények között. Értekezésben bemutattam, hogy csupán egy esetben kaptunk hasonló eredményeket, mint korábban az *in vitro* koleszterinnel töltött T sejtek esetében, ekkor a koleszterinszint extrém magas volt (29 mmol/l). Összefoglalva elmondható, hogy a koleszterinszint betegek esetében tapasztalt emelkedése (HC I és HC II csoport) nincs hatással a Kv1.3 általunk vizsgált biofizikai jellemzőire, legalábbis T sejt esetében.

Feltételezhetően a vizsgálatba bevont személyek életkora szerepet játszik az eltérés meglétében, ugyanis leírták, hogy: 1) idősebb személyek (90 év feletti) esetében a Kv1.3 csatorna aktivitása csökken (egyensúlyi inaktiváció MP függése balra tolódik kb. 10 mV-tal) (<https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1259>), 2) a T sejtek Ca^{2+} válasza maximális 25 és 55 év közötti korosztályban, ez alatt és e felett alacsonyabb (<https://doi.org/10.18632/oncotarget.3808>), és eltérően módosul Kv1.3 vagy KCa3.1 gátlás hatására. Az első példa esetén ugyan extrém magas volt az életkor, azonban utalhat arra, hogy az életkor is befolyásolja a Kv1.3 csatornákat jellemző paramétereket. A második idézett tanulmány arra enged következtetni, hogy az egyes T sejt altípusok eltérő Kv1.3 és KCa3.1 csatorna expressziót és expressziós arányt mutatnak az életkor változásával, amelynek következménye, hogy a T sejtek Ca^{2+} -függő aktivációja Kv1.3 vagy éppen KCa3.1 csatornától függ. Az életkoron kívüli egyéb, T sejtben belüli vagy membránjában történő változások csak spekulációk lennének, de nem zárhatók ki akár a diétás okok miatt a felnőttkorban magasabb koleszterinszint miatt kialakuló különbségek.

Nincs tudomásom olyan tanulmányról, mely arról számolt volna be, hogy betegek T-sejtes válasza csökkent volna hiperkoleszterinéma miatt. Viszont egerekben kimutatták, hogy hiperkoleszterinémia esetén (ApoE^{-/-} genetikai háttérű állatok) a tuberkulózis elleni immunitás csökkent, elsősorban az adaptív immunválasz kései kialakulása miatt (<https://doi.org/10.1128/jai.00037-08>). Ezen felül leírták, hogy statin-kezelés hatására hiperkoleszterinemiás betegcsoportban a velünk született immunsejtek funkciója normalizálódott, a normál koleszterinszintű alanyok sejtjeivel megegyező lett (<https://doi.org/10.1016/j.athplu.2025.11.004>). Továbbá a magas koleszterinszint miatt kialakuló arterioszklerózis alacsony grádusú gyulladást okoz (melynek háttérében T sejtek állnak), mely szintén hozzájárulhat az immunrendszer gyengüléséhez a T sejt kimerülés révén (exhaustion).

Mind hiperkoleszterinémia, mind SLOS esetén figyelembe kell venni, hogy a CRAC és/vagy KCa3.1 csatorna is (vagy egyéb ioncsatorna/transzporter) érzékeny lehet a

koleszterinszint változására (CRAC esetén igazolták), ami szintén hozzájárulhat a csökkent (<https://doi.org/10.1126/scisignal.aad7808>) proliferációs képességhez. Véleményem szerint a hiperkoleszterinémia esetében inkább ez állhat a háttérben, vagy esetleg egyéb intracelluláris fehérje működésének megváltozása. Míg SLOS esetén a Kv1.3 funkciójának megváltozása magyarázhatja a csökkent aktivációt: a CD154/CD40L pozitív sejtek csökkenése is ezt jelzi, ugyanis ezen fehérje kifejeződését egyértelműen az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció növekedés indítja be, melyet a Kv1.3 szabályoz.

5) A 75. oldalon olvasható, hogy a Kv1.3 működésének megváltozása a 7DHC és 8DHC felhalmozódásának következménye is lehet, azonban ezek közül csak a 7DHC töltés hatását vizsgálták. Vannak adatok a 8DHC töltés hatására kialakuló változásokról? A jelölt kutatásai során történtek ilyen vizsgálatok?

Köszönöm kérdéseit. A 8DHC-val kapcsolatban nem történtek kísérletek, GC-MS adatok áttekintve elmondható, hogy a 8DHC koncentrációja alacsonyabb volt (a vvt-ék membránjában) a 7DHC-hez viszonyítva. Mivel az SLOS-t elsősorban a 7DHC feldúsulása jellemzi, illetve az SLOS-t mimikáló modellrendszerünkben az SLOS-es T sejtekben leírt változásokat tapasztaltuk, ezért úgy véljük, hogy a 7DHC lehet elsősorban felelős a Kv1.3 csatorna biofizikai paramétereinek változásáért. Az irodalmat áttekintve eddig egy V-ATPase funkció változását írták le *Saccharomyces cerevisiae*-ben 8DHC hatására.

6) Az anandamiddal és ruténium vörössel végzett kísérletek (4.2.1.4 fejezet) kapcsán azt is meg kell említeni, hogy ezek az anyagok a vizsgált csatornákon kívül más receptorokra is hatással bírnak. Így például az anandamid jól ismert endogén agonista ligandja kannabinoid és vanilloid receptoroknak, amelyek szintén hatással lehetnek kation (pl. Ca^{2+} , K^{+}) áramokra. Hasonló a helyzet a ruténium vörössel is, amely számos különböző ioncsatorna (pl. rianodin, TRP család tagjai) funkcióját képes gátolni. Ezek mennyiben befolyásolhatták a megfigyelt eredményeket?

Mi indokolta az anandamid (3 és 30 μ M) és ruténium vörös (10 μ M) eltérő koncentrációinak használatát (86. o.)? Az anandamid esetén milyen eredményeket kaptak 30 μ M koncentráció esetén (ez sem a szövegben, sem ábrán nem került bemutatásra)?

Köszönöm kérdéseit. Kísérleteink célja az volt, hogy kimutassuk, hogy a Kv1.3-ra is gátlóhatással van az AEA (anandamide) és RR (ruténium red), azaz nem specifikus gátlószere a TASK1 (AEA) és TASK3 (RR) ioncsatornáknak. Emiatt a Kv1.3 csatornák HEK sejtekben overexpresszáltattuk, majd outside-out patch konfigurációban mértük, ezáltal lecsökkentve annak esélyét, hogy esetleg egyéb ioncsatornának/receptornak a patchen mért áramhoz jelentős hozzájárulása legyen. Az alkalmazott koncentrációt a TASK1

([10.1093/emboj/20.1.47](https://doi.org/10.1093/emboj/20.1.47)) és TASK3 (<https://doi.org/10.1124/mol.63.3.646>) csatornákon meghatározott IC_{50} érték, valamint a cikkünket bíráló szerzők cikke ([10.1074/jbc.M800637200](https://doi.org/10.1074/jbc.M800637200)) alapján állapítottuk meg. Az eredményeink alapján elmondható, hogy a Kv1.3 csatornák áramát is képes gátolni e két molekula körülbelül ugyanolyan mértékben, mint a két 2P K^+ csatornát. A 30 μ M AEA koncentráció tesztelését nem tüntettem fel, a mérések során a gátlás mértéke megközelítőleg 100% volt. Megemlíteném, hogy e kísérletsorozat válasz volt (<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2009.12.026>) a munkákat bíráló cikkre ([10.1074/jbc.M800637200](https://doi.org/10.1074/jbc.M800637200)), hogy bizonyítsuk, hogy fent említett két 2P K^+ csatorna nem járul hozzá a Kv1.3 csatornák áramát jellemző biofizikai paraméterek változásához, amint azok feldúsulnak az immunológiai szinapszisban a T sejtben.

7) A reprezentatív konfokális képek (pl. 40., 41., 50-52, 54. ábrák) esetén célszerű lett volna a szövegben megemlíteni, hogy a több vizsgált időpont közül, melyiknél készültek a bemutatott felvételek.

Köszönöm megjegyzését, tényleg nem tüntettem fel. A Kv1.3 csatorna esetén az immunszinapszis kialakítása utáni 5. percben fixált sejtekről készültek a felvételek, míg a Orai1 kísérletek esetében a 15 percnél rögzített képeket mutattuk be.

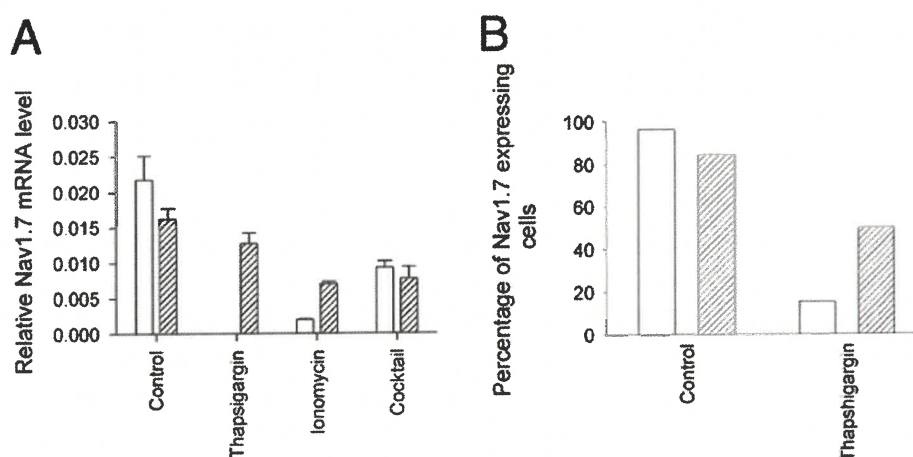
8) Mi lehet az összefüggés az immunológiai szinapszisban megfigyelt csökkent Orai1 funkció (Ca^{2+} válasz, 51D ábra), ugyanakkor fokozott Orai1 felhalmozódás (52C ábra) között a STIM1-KD sejtekben? Feltételezhető, hogy valamelyik kompenzációs mechanizmus? Ez esetben melyik lehet a primér elváltozás?

Köszönöm kérdését, viszont úgy vélem, hogy ez nem egy kompenzációs mechanizmus a sejt részéről, hiszen ugyanezt tapasztaltuk, amikor a N-terminális mutáns (Δ 72-Orai1) vagy a teljes hosszúságú Orai1 SAP97-deficiens T sejtekben történő felhalmozódását vizsgáltuk, ahol mindkét esetben a tapsigargin kiváltott Ca^{2+} jel kialakulása azonos volt a megfelelő kontrollokhoz viszonyítva. Inkább itt a STIM1 N-terminálishoz történő kötődésének hiánya (Δ 72-Orai1, teljes hosszúságú Orai1 STIM1-KD sejtben) meggátolja a SAP97 kötődését az Orai1-hez, melynek következtében az Orai1 alegység nem kerül eltávolításra a szinapsziszból. A két fentebb felsorolt esetben az immunszinapszisban lévő T sejtek hasonló Ca^{2+} -válaszai is ezt támasztják alá.

9) A 65. ábrán látható eredmények ismertetése során a szövegből kimarad annak magyarázata, hogy az aktivációs kinetika a WT-polyA esetén nem nőtt (csak a másik 2 konstrukciónál) (65A ábra), míg az egyensúlyi félaktivációs feszültség a WT-Atail esetén csökkent (míg a másik 2 konstrukciónál nem) (65F ábra). Mi lehet az oka, hogy ezekben az esetekben a konstrukciók ilyen különbözően viselkedtek?

Köszönöm a kérdéseket, de a tanulmányunk céljai között nem szerepelt, hogy az összes Kv1.3 mutáns biofizikai paramétereiben látott eltérést elemezzük. Kv1.3 C terminálisán a HRETE szekvencia kicserélése 5 darab alaninra (WT-polyA), illetve trunkációja és a C terminális végén lévő HRETE szekvencia helyettesítése szintén 5 darab alaninnal (WT-Atail) annak demonstrálására szolgált, hogy bizonyítsuk ezen konstruktok kijutását a plazmamembránba és funkciójuk megtartottságát. Úgy vélem, a változás hátterének megismerése egy ígéretes projekt lehet egy leendő TDK/diplomamunkás hallgató részére, hisz ennek segítségével hasznos információt kaphatunk a csatorna aktivációs kapuzásáról.

10) Mi lehet az oka a 79A ábrán megfigyelhető nagyfokú Nav1.7 mRNS szint növekedésnek EGTA hatására a thapsigarginnal kezelt csoportban?



Köszönöm észrevételét, a magyarázat nagyon egyszerű erre, valami oknál fogva nem a megfelelő ábra került beillesztésre. Fent feltüntettem a cikkünk (10.4049/jimmunol.1003345) megfelelő ábráját (Figure 3), amelyen egyértelműen látszik, hogy amennyiben megnőtt az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció lecsökken az Nav1.7 expresszió, méghozzá oly módon, hogy az extracelluláris térből történő beáramlás is szerepet játszik ebben, valószínűleg a SOCE aktiválódása miatt.

11) A 82. ábra C és D részében ábrázolt kontroll csoportok MMP12 mRNA szintjei között kb. ötszörös különbség figyelhető meg. Ennek mi állhat a hátterében? A Nav1.7 csatorna gén csendesítése után (siRNA) nem került sor a 82E-F ábrán bemutatottakhoz hasonlóan citokinek koncentrációjának mérésére? A jelölt véleménye szerint milyen eredmények lettek volna várhatók ilyen kísérletekben?

Köszönöm kérdését. Ennek hátterében az áll (az ábrát a kollaborációs partnerünk készítette), hogy a D ábrán az MMP12 expressziós szint az transzfekciós kontrollra van normálva (kontroll siRNA), míg a C ábrán az expressziós szint a háztartási génre (36B4) normált értéke van feltüntetve. Elnézést, hogy ez nem lett egyértelműen megemlítve az ábraszövegben, továbbá érdekes számomra is, hogy ennyi átnézés után nem tűnt fel a reviewereknek sem.

Nem végeztünk siRNA géncsendesítés után citokin szint meghatározást, egész pontosan nem végeztek a kooperációs partnerünk laboratóriumában. Mivel a többi funkcionális kísérlet során a farmakológiai és genetikai Nav1.7 „funkció-gátlás” kvantitatívan azonos eredményt mutatott, ezért feltételezhető, hogy hasonló lenne a kimenetel, azaz az Nav1.7 géncsendesítése ugyanúgy változtatná meg bizonyos citokinek (TNF- α , IL-10) termelését.

Végezetül köszönöm még egyszer bírálatát, és remélem, hogy válaszaim megfelelő magyarázatot szolgáltatnak a megfogalmazott kérdéseire.

Debrecen, 2026. 05. 19.



Hajdu Péter Béla
DE Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet
DE Fogorvosi Biokémia nem Önálló
Tanszék

