

Válasz Várnai Péter opponensi véleményére

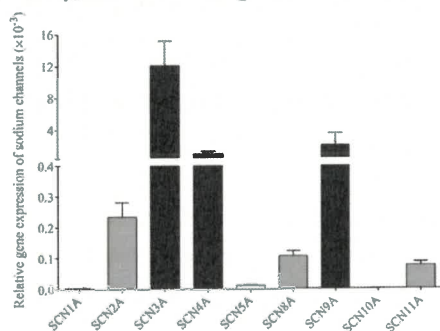
Tisztelt Prof. Várnai Péter!

Köszönöm szépen, hogy elvállalta és elkészítette MTA doktori értekezésem bírálatát. Külön köszönöm a méltató szavait, kritikai megjegyzéseit. Elnézést kérek a hiányosságokért, az ábrák helyenként rosszabb minőségért. A kérdéseire megfogalmazott válaszaim az alábbiakban részleteztem.

1. A Nav 1.7 csatornákkal kapcsolatban végül is az a konklúzió, hogy expressziójuk következtében pozitívabb lesz a sejtek nyugalmi membránpotenciálja, tehát mintegy háttércsatornaként funkcionálnak. Van erre példa más sejtek és másféle csatornák esetében, hogy feszültségfüggő csatornáknak van ilyen funkciója? És mi a mechanizmus?

Köszönöm kérdéseit. A Kv1.3 csatornák esetében ismert, hogy a T sejtek membránpotenciálját képesek szabályozni (-40 – -70 mV között tartják). Korábban mi is kimutattuk, hogy a Kv1.3 csatorna ChTx-szel történő gátlása a membránpotenciált elmozdítja a pozitív tartomány irányába (<https://doi.org/10.3390/ijms21051568>). Ennek hátterében az áll, hogy a Kv1.3 csatorna egyensúlyi aktiváció és inaktiváció membránpotenciál (MP) függése létrehoz egy úgynevezett „window-current”-et, azaz a két Boltzmann-görbének van átfedő része. Ennek következtében kialakul egy MP tartomány, ahol a Kv1.3 csatorna funkcionális, azaz képes kinyitni/aktiválódni, majd utána bezáródni/inaktiválódni.

B sejtek esetén is leírták, hogy az MP értéke -7 mV körüli, annak ellenére, hogy van a membránban K^+ konduktancia (<https://doi.org/10.3390/cells11071225>). A B sejtek esetében többféle Nav csatorna is expresszálódik (ábra alul), köztük a Nav1.7 (SCN9A) és Nav1.9 (SCN11A) is. Ezekről leírták, hogy perzisztens Na^+ áramot hoznak létre akár pozitív MP-en, amely hozzájárulhat az MP kevésbé negatív értéken tartásában (<https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00852>, <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb07091.x>, <http://dx.doi.org/10.1097/j.pain.0000000000003394>)



2. A 24. oldal tetején olvashatjuk, hogy „A CRAC csatornák szinapszisban történő feldúsulása a Ca^{2+} influx által lokálisan nagy intracelluláris, és kis extracelluláris Ca^{2+} -szintet eredményez.” Ezen mit ért a szerző pontosan?

Köszönöm megjegyzését. Ez a megállapítás Cahalan és Chandy (10.1111/j.1600-065X.2009.00816.x.) review-jában szerepel, mint egyfajta hipotézis a CRAC feldúsulásának következményéről. Az immunszinapszisban lévő CRAC csatornák intracelluláris szájadéka környezetében a beáramló Ca^{2+} lokálisan megemeli a Ca^{2+} -szintet, mely számos Ca^{2+} -függő fehérje aktivációját (pl. NFAT), a citoszkeleton stabilizációját eredményezheti. Továbbá a szinaptikus részben, amely a T sejt és az antigén prezentáló sejt közötti térrészt jelenti, a Ca^{2+} koncentráció lecsökken: 1) az IS-ben lévő CRAC csatornákon keresztül bejut a Ca^{2+} a T sejtbe, 2) a Ca^{2+} ionok ezen térrészbe történő bediffundálása gátolt a szinapszisban feldúsuló egyéb membránfehérjék jelenléte miatt (versenyfutás a nyílt terepen vs. sűrű erdőben). A cikkben található számolás egyértelműen azt mutatja, hogy a szinaptikus részben a Ca^{2+} koncentráció jelentős mértékben lecsökken. Tulajdonképpen a kérdésben szereplő mondat ezt hosszú eszmefuttatást próbálta összegezni.

3. A munka során a sejtekbe történő kalciumion beáramlás mérésére a realkalcinálás hatására bekövetkező citoplazmatikus kalciumion szint emelkedéséből következtettek. Nem lenne erre megfelelőbb módszer a mangán-quench mérés?

Köszönöm kérdését. Az irodalmat áttekintve arra a következtetésre jutottam, hogy a mangán-quenching módszer talán alkalmas lehet azon esetekben, mikor teszteltük a Orai1csatornák funkcionalitását a mutációk bevitelét után, illetve STIM1/SAP97 expresszió szabályozás esetén, vagy még citometriás Indo-1 méréseknél. Azonban nem vagyok benne biztos, hogy az immunszinapszisbeli mérések során a Mn-quenching megközelítés alkalmas lenne (ez esetben a mérések 60-90 percig tartottak): egyrészt a Mn-nak van citotoxikus hatása, amely adódhat abból, hogy folyamatosan felhalmozódik a sejtben, illetve a mitokondriális diszfunkciót okoz. Természetesen meg kéne vizsgálni ezen „mellékhatásokat”, mielőtt funkcionális kísérletet végzünk. A jövőben mindenképp tesztelni fogjuk, hogy tudnánk-e alkalmazni ezt a technikai megközelítést SOCE mérésre.

Másik, inkább praktikus oldala a direkt Ca^{2+} -mérésnek, hogy nehézkes lenne a mérési eredményeink irodalmi adatokkal történő összehasonlítása. Továbbá úgy vélem, hogy azon tudományos közösség, amely az általunk közlésre megcélzott folyóiratokat

olvassa, nem jellemző, hogy használja e módszert, így nem lenne meg az „első pillantásra megértem érzés” az olvasóközönségnél.

4. Számos esetben előfordul, hogy bizonyos sejtek előfordulási gyakoriságát mutató ábrákon nincsen szórás feltüntetve. Ennek mi az oka, és hogyan lehet ebben az esetben statisztikát számolni?

Ezen kísérletek esetén legalább 3 különböző napon elvégzett mérések eredményeit összevontuk ($n \geq 30$), majd meghatároztuk az IS-ben lévő (F-aktin akkumulációt mutató), Orai1 IS-felhalmozódást mutató sejtek gyakoriságát az így kapott mintában. A különböző időpontokban kapott gyakoriságot pedig a Fisher exact vagy χ^2 próba segítségével hasonlítottuk össze.

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

