

Vélemény Dr. Vámosi György MTA Doktora cím megszerzésére benyújtott dolgozatáról

Dr. Vámosi György 165 oldalban foglalta össze eddigi munkásságának a legfőbb eredményeit. A dolgozatot öröm olvasni, nagyon igényes és jól szerkesztett, nincsenek benne elgépelések vagy nyelvtani hibák, elejétől a végéig érzékelhető az odafigyelés és az igényesség. Összesen 79 ábrát tartalmaz, amelyek szintén jól vannak elhelyezve, feliratozva, és önmagukban is értelmezhetőek.

A dolgozat az eredmények szempontjából nagyon tartalmas, és három fő témakör köré szerveződik és Vámosi Györgynek az i) az interleukin 2/15 receptorok interakciójával, ii) a magreceptorokkal valamint az AP-1 transzkripciós faktorról kapcsolatos kutatásai köré van szervezve.

Mindezek mellett több módszerfejlesztést is ismertet azoknál a részeknél, ahol használta őket. Ezek mindegyike valódi újdonság és hozzájárult a fluoreszcencia mikroszkópia biofizikai eszköztár bővítéséhez, ami szintén nagyon komoly eredménynek tekinthető.

Egy ilyen magas minőségű, igényes és tartalmas dolgozat esetében nem is annyira az egyes közleményekben leírt részletekre szeretnék rákérdezni, hanem - kihasználva azt a rengeteg ismeretet amit az elmúlt két-három évtizedben felhalmozott - néhány koncepcionális meglátása érdekelne.

1. A módszertani leírás során az 5. egyenletben az α kiszámolásánál szerepel az ECFP és az EYFP kvantumhatásfoka. A kvantumhatásfok számítását saját maguk végezték el – ha igen hogyan – vagy irodalmi adatot használtak.

Ehhez kapcsolódó alkérdésem lenne, hogy milyen alacsony kvantumhatásfok esetében lehet még jó konfokális képeket készíteni? A dolgozatban sok olyan mérés van ahol az mCherry-t használták, aminek a kvantumhatásfoka meglehetősen alacsony az EGFP-hez képest, tehát a 20 százalék körüli kvantumhatásfok még nem kizáró ok.

Ugyancsak itt tenném fel azt a kérdést, hogy megfelelő minőségű FLIM képekhez mennyi lenne a legalacsonyabb kvantumhatásfok?

2. Szintén általános kérdésem lenne, hogy mennyire lehet építeni 1-2 százalékos FRET hatásfok változásra ?

A 60. oldalon például $1.5 \pm 3\%$ -ról, $5.3 \pm 2.4\%$ -ra változik a FRET hatásfok, a 94. oldalon 1.6-ról 4.9-re növekszik. (Egy olyan esetben, ahol mondjuk az $R_0 \sim 50 \text{ \AA}$ egy két százalékos FRET hatásfok 100 $\text{\AA}$ körüli donor-akceptor távolságot jelent, ami már elég nagy távolság, és a Förster által felvázolt határon mozog).

3. FLIM mérések esetében mekkora fluoreszcencia élettartam változás tekinthető már elfogadottnak, amiből érdemes FRET hatásfokot számolni?

A 69. oldalon szereplő 32. ábrán bemutatott donor élettartamok nagyon közel vannak egymáshoz. Nincsen táblázat mellékelve, de ránézésre a többi élettartam is nagyon közel esik az eredeti donor élettartamhoz. Egy szub-nanoszekundumos csökkenésből lehet már megbízható módon FRET hatásfokot számolni?

4. A 75-76. oldalon bemutatott mérések esetében nem képzelhető el a GFP dimerizációja? Az ugyanis befolyásolná a kapott eredményeket.
5. A 79. oldalon beszámolt arról, hogy az első cink-ujj mind a négy ciszteinjének kicserélése alaninra a receptor aktiváló képességének drámai csökkenéséhez vezetett. Ennek mi lehet az oka, mi ebben az esetben a hipotézis?
6. A 93. oldalon bemutatott mérések esetében nem zavarja meg a méréseket a GFP dimerizációja?
7. A 81. oldalon bemutatta, hogy a GFP dimerként, trimerként és tetramerként is jelen lehet a mérések során. Kérdésem, hogy mennyire jellemző ezek együttes előfordulása? Általában mennyi a dimer/trimer/tetramer populáció a mérések során, illetve hogyan lehet akadályozni a GFP oligomerizációját.
8. Ehhez kapcsolódó kérdés, hogy miért nem használtak inkább mCherry-t, ahol a GFP dimer/trimer/tetramer képződés zavarta volna a méréseket.
9. Kicsit az előző kérdésekhez kapcsolódik a következő is: milyen tömeg-különbség kell a megbízható FCS mérésekhez? Ha GFP-vel jelölünk akkor mekkora az a legkisebb tömegű komplex, amit magabiztosan meg tudunk különböztetni a GFP-től.
10. Mely esetekben érdemes a FRAP-ot és mely esetekben érdemes az FCS technikát választani?

Mindezek a kérdéseket természetesen csak a pontosabb megértés kedvéért tettem fel. A bemutatott munka mindenképpen megérdemli az MTA doktori fokozat odaítélését, amelyet ezúton is javaslok.



Dr. Lukács András, MTA doktora