



**EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR
BIOKÉMIAI TANSZÉK**

Opponensi vélemény

**Vámosi György „Receptorműködés vizsgálata a sejtmembrántól a sejtmagig”
című MTA doktori értekezéséről**

Vámosi György disszertációja egy olyan kutató eddigi életművét tükrözi, aki fizikusként megszerzett szilárd alaptudására építve a sejtbiológia területén honosodott meg, és ott jelentős tudományos eredményeket ért el. A dolgozat magas színvonala egyértelműen jelzi a szerző mély konceptuális átlátását, valamint azt, hogy kutatási elképzeléseit innovatív módon, magas technikai igényességgel valósítja meg. A szerző tudatos törekvése, hogy az adatgazdag művet olvasmányossá tegye, és elkerülje a molekuláris biológiai szövegekre gyakran jellemző túlzott zsúfoltságot; ugyanakkor a téma komplexitásából és az adatok gazdagságából fakadóan a szöveg helyenként így is komoly koncentrációt igényel, ami azonban nem a szerző hibája.

A mű címével összhangban a disszertáció három, a sejtbeli receptorműködéshez és annak szabályozásához kapcsolódó fő témakört tárgyal. Az interleukin-2 és -15 receptorok meghatározó szerepet töltenek be a T-sejtek és NK-sejtek proliferációjában, túlélésében és aktivációjában. A RAR, RXR, VDR és PPAR γ magreceptorok ligandkötésük és génexpressziót szabályozó működésük révén a sejt differenciáció, az anyagcsere, az immunválasz és a sejtnövekedés kulcsfontosságú szabályozói. Az AP-1 (c-Fos, c-Jun) transzkripciós faktor komplex pedig a génkifejeződés irányításában játszik központi szerepet a sejtnövekedés, differenciáció és stresszválasz folyamataiban. E rendszerek jelentőségét tovább növeli kifejezett patológiai és terápiás relevanciájuk, amelyeket a szerző megfelelő részletességgel és hangsúllyal ismertet.

A szerző mindhárom tématerületen számottevő, eredeti tudományos megállapításokkal járult hozzá a szakterület fejlődéséhez. Eredményeit nagymértékben elősegítette az élvonalbeli, elsősorban fluoreszcencia-mikroszkópián alapuló biofizikai módszerek alkalmazásában, valamint a sejtes folyamatok értelmezésében mutatott kiemelkedő jártassága. Kiemelendő továbbá, hogy a disszertáció nemcsak új tudományos felismeréseket mutat be, hanem a szerző több úttörő jelentőségű módszertani fejlesztéséről is részletesen beszámol.

A színvonalasan szövegezett, kimerítő részletességű dolgozat a hivatkozásjegyzék nélkül 139 oldalt, illetve maga a téziszfüzet is 36 oldalt tesz ki. Meglepő módon a szerző a téziszfüzetben az eredményeket a doktori műben szereplőtől eltérő sorrendben taglalja, a téziszfüzet összefoglalásában azonban visszatér a doktori mű szerkezetéhez.

A szerző munkájának alapossága és életművének súlya a doktori disszertációt megalapozó közlemények gyűjteményében is megmutatkozik. Az IL-2R/IL-15R témakörbeli eredményeit egy megosztott első és négy utolsó szerzős cikkben (ezek megjelenési helyei: PNAS, Biophys J, J

Immunol), a magreceptor témakörbelieket öt utolsó vagy megosztott utolsó szerzős cikkben (J Cell Sci, Mol Cell Biol, J Biol Chem stb.), az AP-1 témakörbelieket egy első és egy utolsó szerzős cikkben (Biophys J, Mol Cell Biol), módszertani fejlesztéseit pedig egy megosztott utolsó szerzős (Cytometry A) cikkben ismertette. A disszertáció témájához további 21 eredeti felfedezéseket tartalmazó, és 12 módszertani cikk, valamint öt könyvfejezet kapcsolódik. A szerző teljes életművére közel 2000 független hivatkozást kapott, H-indexe 32. A teljesség kedvéért említem, hogy 76 cikkéből (ezek közülük összesített impakt faktora 390) 66 Q1 (ebből 42 D1) besorolású, meghatározó szerzős cikkeire pedig (amelyek közülük összesített impakt faktora 121) 652 független idézést kapott.

A doktori műben kifejtett tézisek mindegyikét elfogadom a jelölt új tudományos eredményeként. E tézisek olvasatomban, tételeken a következők:

Interleukin-2/15 receptorok témakör

1. A jelölt kimutatta, hogy az IL-2R/IL-15R receptorok alegységei közös klaszterekben jelennek meg a T-sejtek membránjának lipid tutajjaiban. Konfokális mikroszkópiával vizsgálva megállapította, hogy az IL-2R α és IL-15R α egymással és a GM1 lipid tutaj markerrel is átfedő membrándoménokban található. Az IL-2R α /IL-15R α és IL-2R α /MHC I fehérjepárok stabil asszociációját és együttmozgását fluoreszcencia keresztkorrelációs spektroszkópiával (FCCS) mutatta ki. Förster rezonancia energiatranszfer (FRET) mérésekkel kimutatta, hogy az IL-15R α az IL-2 illetve IL-15 citokin ligandok hozzáadása nélkül is kölcsönhat a β és γ c láncokkal, vagyis az IL-2R-hez hasonlóan az IL-15R is előre összeszerelt állapotban található a membránban.

2. Kimutatta továbbá, hogy az IL-2R/IL-15R receptorok az MHC I és MHC II molekulákkal is kölcsönhatnak. Azt találta, hogy az MHC I csendesítése csökkenti az IL-R/MHC klaszterek méretét és növeli azok mobilitását. A klaszterezettséget két különböző méretskálán is kimutatta STED szuperfelbontású mikroszkópia alkalmazásával. Mindezek mellett FRET mérései azt mutatták, hogy az MHC I csendesítés nem befolyásolja az IL-2/15R alegységek összeszerelődését.

3. FRET mikroszkópia alkalmazásával kimutatta, hogy az IL-2R és IL-15R alegységek már az endoplazmatikus retikulumban (ER-ben) és a Golgi-készülékben részlegesen összeszerelődnek. E jelenség IL-2-t is termelő felnőttkori T-sejtes leukémia sejtekben ún. intrakrin jelátvitelt tesz lehetővé, amelynek során a receptor már az ER/Golgi lumenében képes megkötni a ligandot és jelátvitelt indítani. Mivel az IL-2R intracelluláris doménjai már ekkor is a citoplazmatikus kompartmentum felé orientálódnak, ahol a jelátviteli molekulák (JAK kinázok, STAT transzkripciós faktorok stb.) is találhatóak, az IL-2R intracelluláris ligandkötése után a jelátvitel is elindulhat. E mechanizmus jelentőséggel bírhat antigénnel frissen aktivált, IL-2R alegységeket és tranziensen az IL-2 ligandot is termelő T-sejtekben is: ekkor a jelátvitel nem gátolható hatékonyan a sejtmembránt célzó receptorelleses antitestekkel, és emiatt intracelluláris célpontok elleni, pl. kinázgátló terápiák válhatnak szükségessé. Mindennek jelentőségét tovább növeli, hogy az IL-2 intrakrin mechanizmusa élettani körülmények között is hozzájárulhat a T-sejtek robbanásszerű osztódásához.

4. Fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiával (FCS) kimutatta, hogy a membránpotenciál – amely a tumoros és gyulladásos szövetek mikrokozonyeteiben jellegzetes változásokat mutat – befolyásolja az IL-2R α , IL-15R α , MHC I és MHC II molekulák mobilitását T-sejtek membránjában. Ezzel összefüggésben a depolarizáció növeli az IL-2 által, míg a hiperpolarizáció csökkenti az IL-15 kiváltott STAT5 foszforiláció hatékonyságát.

5. FRET mérések alkalmazásával bizonyítékot nyújtott a prezentáló B sejtek által kifejezett IL-15R α , valamint a T-sejtek által kifejezett IL-2/15R β receptor alegységek összeszerelődésére IL-15 transzprezentáció során. Kimutatta továbbá, hogy a memória T-sejtek túlélését elősegítő IL-15 transzprezentáció az antigénprezentációtól függetlenül is végbemehet. A két folyamat által kiváltott membránközeli fehérje (STAT5, CD3 ζ) foszforilációs események nem erősítik egymást. Eredményei alapján a prezentáló sejten az IL-15R α és az MHC II kölcsönhat egymással és közösen vándorol a T-sejttel kialakított immunszinapszisba, míg a T-sejten az IL-2/15R β és a CD3 között nem mutatható ki kölcsönhatás.

Magreceptorok témakör

6. A jelölt FCS és FRAP mérésekkel kimutatta, hogy számos magreceptor (retinsav receptor (RAR), retinoid X receptor (RXR), D-vitamin receptor (VDR) és peroxisóma proliferátor-aktivált receptor gamma (PPAR γ)) két különböző mobilitású – egy szabad/DNS-hez tranziensen kötődő és egy DNS-hez stabilan kötött – populációban van jelen a sejtekben. Kimutatta továbbá, hogy receptor agonisták elősegítik a RAR, a PPAR γ és a VDR molekulák RXR-rel való heterodimerizációját és DNS-kötését. Az említett elemeken túlmenően a DNS válaszadó elemet és koaktivátort is tartalmazó ún. aktivációs komplex minden eleme hozzájárul a komplex stabilitásához.

7. Kimutatta továbbá, hogy a vizsgált magreceptorok ligand által befolyásolt módon versengenek az RXR-rel való heterodimerizációért. Egy adott receptorspecifikus agonista jelenlétében annak célreceptora dominál a kötési kompetícióban, míg két célreceptor agonistájának jelenlétében az agonsista távollétében tapasztalt kompetíciós sorrend érvényesül. A kompetíció, amely a szisztémás ligandterápiák egyes mellékhatásaihoz is hozzájárulhat, a magreceptorok DNS-kötésében is jelentkezik.

8. A jelölt a fehérjék (ko)mobilitásának kétdimenziós térképezésére fejlesztett fénysík megvilágítású fluoreszcencia keresztkorrelációs mikroszkópiát (SPIM-FCCS) FRET technikával kombinálva molekuláris közelség kimutatására is alkalmassá tette. A kombinált SPIM-FRET-FCCS technika alkalmazásával kimutatta, hogy a RAR-RXR és AP-1 transzkripciós faktorok dimerjei nagyrészt DNS-kötött állapotban találhatók a vizsgált sejtekben.

AP-1 transzkripciós faktor témakör

9. A szerző általa kidolgozott módszerekkel (lásd alább) becsülte az endogén illetve transzfekció révén kifejezett c-Fos és c-Jun fehérjék abszolút koncentrációját, illetve meghatározta kölcsönhatásaik sejtbeli disszociációs állandóit. Igazolta, hogy a c-Fos a DNS-hez kötődő homodimereket képes létrehozni a sejtekben. Kimutatta azt is, hogy a c-Fos homodimer stabilitása jelentősen alacsonyabb a Fos-Jun heterodimerénél. A feltárt jelenségek arra utalnak, hogy a c-Fos-t túltermelő tumorokban a c-Fos homodimer önálló, onkogén transzkripciós faktorként is működhet.

Módszertani fejlesztések

10. Az FCS és FCCS görbék pixelenkénti, kétdimenziós rögzítését lehetővé tevő, a jelölt munkatársai által kifejlesztett szelektív sík megvilágítás alapú fluoreszcencia (kereszt)korrelációs spektroszkópia (SPIM-FCS/SPIM-FCCS) módszert a jelölt hozzájárulása révén FRET modalitásra terjesztették ki, ezáltal alkalmassá téve a molekuláris (ko)mobilitás és közelségi paraméterek egyidejű térképezésére.

11. A jelölt további módszertani fejlesztései (FCS/immunfluoreszcencia, FRET titrálás, α faktor számítás) a sejtbeli fehérjekoncentrációk és disszociációs állandók precíz meghatározását teszik lehetővé.

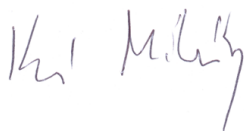
A disszertációval kapcsolatban felmerült kérdéseim a következők:

1. A szerző hipotézise szerint az IL-2R α , IL-15R α és más transzmembrán fehérjék transzmembrán régiójához közeli régiók töltéseloszlása a membránpotenciáltól függő módon szerepet játszik a fehérjék mobilitásának szabályozásában. Kérem vázolja fel egy kísérleti tervet ennek a potenciálisan nagy jelentőségű javaslatnak a felderítésére.

2. Kérem, hogy a szerző fejtse ki megfigyeléseit arról, hogy az (orvos)biológia mely területein lát a saját életművére is jellemző precíz, kvantitatív molekuláris biofizikai vizsgálatok által teremtett áttörési lehetőségeket.

A doktori mű hiteles adatokat tartalmaz, amelyek a mellékelt különlenyomatokban is megtalálhatók. A doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak tartom. Megítélésem szerint a szerző publikált munkáinak és disszertációjának színvonala kiemelkedő, vizsgálatainak alapossága és megfigyeléseinek mélysége példaeértékű a kutatótársak, diákok számára is.

Budapest, 2026. március 19.



Kovács Mihály

az MTA doktora

tanszékvezető egyetemi tanár, ELTE TTK Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék