

BIRÁLÓI VÉLEMÉNY

Gál Péter „A komplementrendszer aktiválódásának kezdeti lépései: Moduláris szerin proteázok szerepe a természetes immunválasz beindításában”

című MTA doktori értekezéséről

A doktori értekezés a komplement rendszer klasszikus és lektin útjának aktivációjával foglalkozik, különös tekintettel azok kezdeti lépéseire, és a szerin proteázok szerepére.

A munka alapvetően Závodszy Péter akadémikus úr által létrehozott világszínvonalú komplement kutatólaboratóriumban készült, hazai és külföldi munkacsoportokkal való együttműködésekkel, amelyek kialakításában Gál Péternek vezető és koordináló szerepe volt. Ez a kutatás nagyon szép ötvözete a különböző laboratóriumi technikák felhasználásának egy adott kérdéskör megválaszolásához. Eredményei számos ponton új ismeretekkel gazdagították komplement rendszer klasszikus és lektin útjának aktivációjával kapcsolatos ismereteinket. Számomra különösen érdekesek voltak azok gondolatok, amelyek az alap kutatás eredményeinek klinikai aspektusát vetítették fel. Ezek jövőbeli tervek nemcsak a különböző betegségek patomechanizmusának pontosabb feltárását célozzák, de lehetőséget adhatnak új terápiás szerek kifejlesztéséhez is.

Gál Péter közleményeinek **szcientometriai mutatói megfelelnek az MTA által támasztott követelményeknek**. A nemzetközi mércével is kimagasló publikációk mellett Gál Péter nemzetközi elismertségét bizonyítja továbbá, hogy a hazánkban megrendezett 6th International C1-INH Deficiency Workshop szervezőbizottsági tagja volt, illetve ő szervezte a Teaching Day-t, számos nemzetközi konferencia plenáris szekcióján volt meghívott előadó, a "Current protein and peptide science" folyóirat szerkesztőbizottsági, a European Complement Network vezetőségi tagja.

Részletes bírálat

A doktori értekezés szerkezeti és formai felépítését tekintve megfelel az MTA Doktori Tanácsa által meghatározott követelményeknek, megfelelő hosszúságú, jól áttekinthető. A struktúra és a prezentáció logikus, a szöveg precíz, a szakmai nyelv alkalmazása helyes megfelel a magyar helyesírás követelményeinek, csupán néhány elütési hibát találtam (Pl. 78. oldal 1. bekezdés 4. sor tormbin, 22. oldal 2. bekezdés 1. sor mechanismust.) Az értekezés fogalmazása világos, és sodró lendületű. A szerző személyes megjegyzéseivel, történeteivel

fűszerezve igazán érdekes olvasmány. Az olvasót együttgondolkodásra készíti és mindvégig érezhető az a kutatói szemlélet, amely világosan megfogalmazott kérdésekre keresi a választ, az eredményeket kritikusan értékeli és számos oldalról próbálja azokat alátámasztani.

Az irodalmi áttekintés terjedelme a dolgozat egészét tekintve arányos, naprakész információkkal szolgál, tartalmazza azokat a publikációkat, amelyek a kísérletes munka alapjául szolgáltak. Logikus áttekintés nyújt a komplement rendszer aktiválódási útvonalairól, az aktiválódás fiziológiai következményeiről, szabályozásáról, a komplement proteázokról és az iniciációs komplexekről. Elegáns, szemléletes ábrákkal illusztrálja a különböző molekuláris folyamatokat, modelleket. A laboratóriumi vizsgálatok során alkalmazott módszerek ismertetése megfelelően részletes, jól áttekinthető. Az alkalmazott statisztikai módszerek az eredmények értékelésére alkalmasak. A következtetések mértéktartóak, logikusak. Az értekezés végén Gál Péter számos izgalmas kérdést, problémát vet fel, amelyek megválaszolása a jövőbeli kutatások alapját képezhetik, és ebben a fejezetben a további konkrét kutatási tervek is megfogalmazódnak.

A kutatómunka legfontosabb új eredményei az alábbiakban összegezhetők:

1. Az autoaktiváció a szerint proteáz domén inherens tulajdonsága. A CCP domének növelik a katalitikus hatékonyságot.
2. A CCP1 kulcsszerepet játszik a Cr dimerizációjában.
3. Az aktív C1r dimer nehezebben bomlik monomerekre, mint a zimogén forma.
4. Az aktív C1r kristályszerkezetének feltárása és új modellt kidolgozása a C1r autoaktiválódására a C1 komplexen belül.
5. A C1r CUB2 doménje kalcium hiányában nagyfokú flexibilitással rendelkezik, ami kulcsfontosságú az aktiválódás során.
6. A MASP2 magányos SP doménje a C2 szubsztrát hasításához elegendő, míg a C4 szubsztrát hasításához legalább a CCP2 modul jelenléte szükséges. Az extra kötőhelyek megtalálhatók a C1s molekulán is.
7. A zimogén MASP-2 hatékonyan hasítja a C4 fehérjeszubsztrátot, proteolitikus aktivitással rendelkezik, amely az autoaktiváció fontos eleme.
8. A MASP1 a MASP2-nél gyorsabban autoaktiválódik és további autolízisre hajlamos.
9. A MASP-1 csak a hidrolizált C3 molekulát képes hasítani.

10. A MASP-1 a komplement komponensek közül csak a C2-t hasítja számottevő hatékonysággal.
11. A MASP-1 szubsztrát specificitását illetően hasonlít a trombinra és leghatékonyabban antitrombinnal gátolható heparin jelenlétében.
12. A MASP-1 proteolitikus aktivitása révén képes endotélsejteket aktiválni és a trombinhoz hasonlóan hasítja a PAR4 receptort.
13. MASP-1 képes a nagymolekulasúlyú kininogénből bradykinint felszabadítani.
14. A MASP-1 felszíni topológiája a széles szubsztrátspecifikus tripszinéhez hasonló.
15. A szelektív MASP inhibitorok kifejlesztése és alkalmazása.
16. A MASP-1 a zimogén MASP-2 hasítása révén fontos szerepet tölt be a lektin út aktiválódásának a beindításában.

Az értekezéssel kapcsolatos kérdéseim a következők:

1. A vizsgálatok nagy részét oldatfázisban végezték. A szérum kaszkádrendszerek aktiválódása általában felszíneken jönnek létre *in vivo*. Hogyan lehetne modellezni ezeket a felszíneket *in vitro*?
2. A MASP-1 legerősebb inhibitora az antitrombin. A kísérletekben mégis C1-inhibitort használták. Mi volt az oka?
3. Mi az α_2 - makroglobulin fiziológiás hatása? Melyik proteáz inhibitornak van a legjelentősebb szabályozó szerepe a lektin út aktiválódásában?
4. Mivel a kaszkádrendszerek szorosan összefüggnek egymással és egy finom egyensúlyi állapotot tartanak fenn, aktiválódásuk számos úton lehetséges. Vajon hogyan modellezhető ez a komplex rendszer? Van-e lehetőség több kaszkádrendszer egyidejű vizsgálatára?
5. Elképzelhető-e, hogy "kereszt" komplexek (MBL-C1_{r2s2} és C1q-MASP) alakuljanak ki *in vivo*? Hexamer MBL képes a C1_{r2s2} tetramert leghatékonyabban aktiválni, jóllehet a tetramer az MBL leggyakoribb formája. *In vivo* a hexamer forma milyen százalékban fordul elő és hogyan alakul ki?
6. A MASP-2 fragmentumok reakciókészségét vizsgálva azt találták, hogy a CCP1-CCP2-SP fragmentum sokkal hatékonyabb a C4 hasításnál, mint az SP domén, jóllehet nem éri el a CCP2-SP fragmentum hatékonyságát. Mi ennek az oka? Mi a CCP1 szerepe?
7. Vajon mitől függ, hogy a lektin út komponenseinek a hiánya okoz-e betegséget?

8. A C1-INH deficiens egyének jó modellt jelenhetnének a klasszikus és lektin út aktivációjának vizsgálatára. Terveznek-e ilyen kísérleteket?
9. Hereditár angioödémában (HANO) szenvedő betegek MASP1 szintjének mérése ödémás rohamban, illetve rohammentes állapotban fontos információval szolgálhatna. Van-e elérhető laboratóriumi módszer hazánkban arra, hogy a HANO-s betegek MASP1 szintjét meghatározzuk?

Összefoglalva: Az értekezést mind formai, mind tartalmi szempontból kiválóan tartom. A bemutatott kutatási eredmények megfelelőek az MTA doktori cím megszerzéséhez. Javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását, és elfogadását, Gál Péternek az „MTA doktora” tudományos fokozat odaítélését.

Budapest, 2014. január 6.

Dr. Farkas Henriette
egyetemi tanár
az MTA doktora