

Válasz Dr. Bánhegyi Gábornak az MTA doktori értekezésem bírálata kapcsán feltett kérdéseire

Köszönöm szépen Dr. Bánhegyi Gábornak eddigi munkásságom és a dolgozatom pozitív értékelését, valamint a kritikai észrevételeket. A feltett kérdésekre az alábbi válaszokat adom:

1. Véleményem szerint mind az autofágia révén történő fehérje-újrachasznosítás, mind pedig a glikogénraktárak feltöltése az állatok túlélését szolgálja cukoroldatban történő éhezés során, így ilyenkor feltehetően nem zajlik glikofágia. A Rack1 e két folyamatban betöltött funkciói valószínűleg egymástól függetlenek. Erre az a megfigyelésünk utal, miszerint zsírsejtekben glikogénszintézishez csak a lárvák cukoroldatban történő éheztetése vezet, vízben történő éheztetés nem, az autofágiát viszont mindkét 4-órás kezelés egyforma mértékben és Rack1-függő módon indukálja.

2. A *Drosophila* Rack1 IRE1alfával történő kölcsönhatására még nem publikáltak adatot, valamint az UPR és apoptózis szabályozásban betöltött szerepét sem vizsgálták legyekben.

3. A dolgozatomban tárgyalt makroautofágia mellett a mikroautofágia folyamatát is leírták már *Drosophila*-ban, amiben az *Atg* gének nem szerepelnek (Uytterhoeven és mtsai, *Neuron*. 2015 Nov 18;88(4):735-48.). Ez utóbbi folyamat, valamint a proteaszóma alegységeit kódoló gének *Atg* mutáns lárvákban általunk megfigyelt indukciója (Érdi és mtsai, *Autophagy*. 2012 Jul 1;8(7):1124-35.) részben kompenzálhatja a makroautofágia csökkent működését. Fontos kiemelni azt is, hogy a különféle *Atg* gének hiánya nem egyforma mértékben gátolja az autofág, azaz éhezés során PMSF proteázgátlóra érzékeny fehérjebontást élesztőben (Tsukada és Ohsumi, *FEBS Lett*. 1993 Oct 25;333:169-74.). A szakirodalmi adatok alapján szövet- és fejlődési állapot-specifikus különbségek figyelhetők meg abban, hogy az *Atg* gének közül melyek szükségesek adott kontextusban a makroautofág úton történő degradációhoz *Drosophila* esetén (Xu és mtsai, *Cell Death Differ*. 2015 Nov;22(11):1792-802., és Chang és mtsai, *Nat Cell Biol*. 2013 Sep;15(9):1067-78.). A fentiek fényében adott *Atg* gén(ek) hiánya nem feltétlenül vezet az autofág lebontás teljes gátlásához.

4. Toh és mtsai (*Hum Mol Genet*. 2013 Dec 20;22(25):5237-48.) kimutatták, hogy a *Myc* protoonkogén csendesítése humán sejtekben csökkenti a reaktív oxigénradikálok mennyiségét és a JNK1 stressz-indukált kináz aktivitását, ami miatt a Bcl2 JNK1 általi foszforilációja csökken. Mivel ez a foszforilációs esemény segíti a Bcl2-Beclin1 heterodimer disszociációját és így az autofág indukciót (Wei és mtsai, *Mol Cell*. 2008 Jun 20;30(6):678-88.), a *Myc* funkcióvesztése ezért gátolja az autofágiát tenyésztett humán sejtvonalban. Wei és mtsai említett cikke alapján éhezési autofágiához szükséges a JNK1 aktivációja humán sejtekben. Ez azonban *Drosophila* esetén nem figyelhető meg (Wu és mtsai, *Mech Dev*. 2009 Aug-Sep;126(8-9):624-37.), így legyekben nem világos a pontos hatásmechanizmus. A *Myc* szerteágazó funkciói alapján szerepet játszhat a tápanyagérzékelésben is, azonban ezen transzkripciós

faktor pontos működése jelenleg is vita tárgya (erre az 5. kérdésre adott válaszomban utalok).

5. Sokáig úgy vélték, hogy a Myc transzkripciós faktor egy specifikus DNS-szekvenciához (E-box: CANNTG) kötődve szabályozza néhány száz célgén transzkripcióját. A legújabb adatok azonban arra utalnak, hogy a Myc egy általános transzkripció-fokozó hatással bírhat, és gyakorlatilag minden aktívan átíródó génre hat (Nie és mtsai, Cell. 2012 Sep 28;151(1):68-79., és Lin és mtsai, Cell. 2012 Sep 28;151(1):56-67). Ennek alapján feltételezzük, hogy a Myc overexpresszió a legtöbb ER-ben szintetizált fehérje termelődését fokozza nem specifikus módon, ami egyfajta "túlterheléses" ER stresszt válthat ki. A PERK aktivációja mellett az ER stressz jelátvitel egy másik ágának aktivációját is kimutattuk Myc-et túltermelő sejtekben, az UPR-specifikus Xbp1-GFP splice izoforma riporter expressziója alapján. Ez az adat a vonatkozó cikkünk Figure S6 supplementary ábráján került bemutatásra.

6. Doktori eljárásom megindítása után publikáltuk azt a cikkünket, amelyben leírtuk, hogy a *Syntaxin 17* mutáns állatokban a TOR aktivitása a vad típushoz hasonló marad, a *Vps16A* (HOPS) mutánsokban viszont lecsökken (Takáts és mtsai, Autophagy. 2015;11(8):1209-15., Figure 1B). Ez valóban arra utal, hogy jól táplált állatokban az autofágia nem szükséges a TOR normális aktivitásához, feltehetően az endocitózis általi fehérjebontás ilyenkor is biztosítja a TOR lizoszómán történő aktivációját. Feltételezzük, hogy hosszabb távú éhezés során az autofágia hozzájárul a TOR reaktivációjához (mint azt Yu és mtsai leírták: Nature. 2010 Jun 17;465(7300):942-6.), ám ezt mi nem vizsgáltuk.

Budapest, 2016. 01. 22.

Juhász Gábor
tudományos főmunkatárs