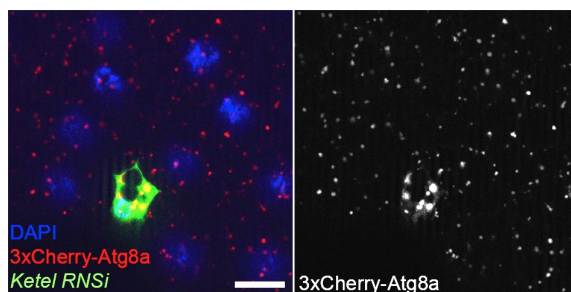


Válasz Dr. Szabad Jánosnak az MTA doktori értekezésem bírálata kapcsán feltett kérdéseire

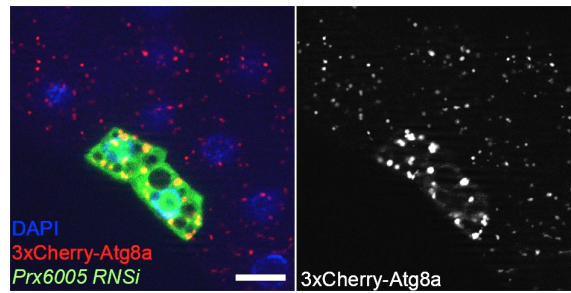
Köszönöm szépen Dr. Szabad János eddigi munkásságomat és disszertációmért méltató véleményét. Az importin- β és a peroxiredoxin-6005 fehérjék működése és az autofágia kapcsán feltett kérdésekre az alábbi válaszokat adom:

1. A kérdés kapcsán leteszteltük, hogy az importin- β fehérjét kódoló *Ketel* gén kifejeződésének RNS interferenciával (BL-61362 törzs révén) történő gátlása hogyan befolyásolja az éheztetett *Drosophila* lárvák zsírsejtjeiben zajló autofágia mértékét (1. ábra). A géncsendesítés hatására a sejtek növekedése gátlódott, és a környező kontroll sejtekben látott autofág struktúrákhoz viszonyítva több, nagyobb, és intenzívebben fluoreszkáló mCherry-Atg8a pozitív granulum alakult ki.



1. ábra. A *Ketel* gén csendesítése (BL-61362 törzs felhasználásával) fokozza az mCherry-Atg8a pozitív autofág struktúrák kialakulását zsírsejtjeiben. A sejtmagok kékkel, az RNSi transzgént kifejező sejtek zölddel (GFP együttes expressziója miatt), az autofág struktúrák pirossal jelöltek. A jobb oldali képpanel a piros csatornát ábrázolja szürkeárnyalatos megjelenítésben.

2. A kérdés kapcsán megvizsgáltuk, hogy a *Prx-6005* gén RNS interferenciával történő csendesítése éheztetett *Drosophila* lárvák zsírsejtjeiben milyen hatással van az autofágiára. Azt tapasztaltuk, hogy a géncsendesített sejtek növekedése lelassult, és sok nagyméretű mCherry-Atg8a pozitív autofág vezikula halmozódott fel bennük, melyek a környező kontroll sejtekben látott struktúráknál erősebben fluoreszkáltak. Három független RNSi transzgén indukciója (BL-27567, BL-31242, BL-44576 törzsek révén) is ezt a fenotípust mutatta, melyek közül egy reprezentatív képet a 2. ábrán mutatok be.



2. ábra. A Prx-6005 gén csendesítése (BL-31242 törzs felhasználásával) fokozza az mCherry-Atg8a-val jelölt autofág struktúrák kialakulását zsírsejtekben. A sejtmagok kékkel, az RNSi transzgént kifejező sejtek zölddel (GFP együttes expressziója miatt), az autofág struktúrák pirossal jelöltek. A jobb oldali képpanel a piros csatornát ábrázolja szürkeárnyaltos megjelenítésben.

Összességében elmondható, hogy a fenti kísérletek alapján mind a sejtmagi fehérjeimportban szereplő importin- β , mind pedig az antioxidáns peroxiredoxin-6005 (ami egy thioredoxin/glutation peroxidáz) fehérjék hiánya a sejtnövekedés gátlását és egyúttal az autofágia fokozódását okozhatja. Ez összhangban van azzal a modellel, mely szerint az autofágia egy általános sejtes stresszválasznak tekinthető, amit feltehetően az említett Villányi és mtsai cikkben részletezett sejtmagi fehérjeimport hiba (Ketel funkcióvesztés esetén), illetve a megnövekvő szabadgyöktermelés és oxidatív stressz (Prx-6005 funkcióvesztés esetén) vált ki a fenti esetekben.

Budapest, 2016. 01. 19.

Juhász Gábor
tudományos főmunkatárs