

**A DAAM és FRL forminok redundáns
szerepének vizsgálata a *Drosophila*
szemfejlődés során**

Ph.D. értekezés

Készítette: Gázsó-Gerhát Gabriella

Témavezető: Dr. Mihály József



**HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont
Genetikai Intézet
SZTE TTIK
Biológia Doktori Iskola
Szeged, 2024.**

MEGJELENT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

MTMT azonosító: 10053021

Összesített impakt faktor: 41,188

The Activities of the Gelsolin Homology Domains of Flightless-I in Actin Dynamics

Pintér, R., Huber, T., Bukovics, P., Gaszler, P., Vig, A.T. , Tóth, M. Á., **Gazsó-Gerhát, G.**; Farkas, D., Migh, E., Mihály, J., Bugyi, B.

Frontiers in Molecular Biosciences 7 Paper: 575077 , 18 p. (2020)

<https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.575077>

IF: 6,113 (2023-2024)

Assembly of a persistent apical actin network by the formin Frl/Fmnl tunes epithelial cell deformability

Dehapiot, B., Clement, R., Alegot, H., **Gazso-Gerhat, G.**, Philippe, J. M. and Lecuit, T.

Nature Cell Biology 2020, **22**, 791-802.

<https://doi.org/10.1038/s41556-020-0524-x>

IF: 28,213 (2023)

FRL and DAAM are required for lateral adhesion of interommatidial cells and patterning of the retinal floor

Gazsó-Gerhát, G., Gombos, R., Tóth, K., Kaltenecker, P., Szikora, Sz., Bíró, J., Csapó, E., Asztalos, Z. and Mihály, J.

Development 150 : 22 Paper: dev.201713 (2023)

<https://doi.org/10.1242/dev.201713>

IF: 6,862 (2023-2024)

BEVEZETÉS

Az ízeltlábúak rendkívül széleskörű földrajzi elterjedtsége miatt a rovarok és rákok összetett szeme minden bizonnyal a leggyakoribb fejlett látószerv a Földön. Az összetett szemek esetében a precíz képalkotás előfeltétele, hogy megvalósuljon a szemet alkotó egységnyi szemek optikai elszigetelése egymástól. Ily módon az egységnyi szemek (más szóval facetták vagy ommatídiumok) független optikai egységeket alkotnak, és a belőlük származó információ központi idegrendszeri integrálása képezi a látás alapját. Az ommatídiumok megfelelő optikai elkülönítését a pigmentsejtek rétege biztosítja. A figyelemre méltó hűséggel ismétlődő sejtes mintázatuk miatt az összetett szemek már több évtizede a fejlődésbiológiai kutatások egyik legnépszerűbb modellrendszerei lettek. Ez különösen igaz a közönséges ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) összetett szemére, ahol a sejtbiológiai vizsgálatokat hatékony genetikai eszközökkel lehet kombinálni. Ezeknek a kísérleteknek köszönhetően hatalmas tudás halmozódott fel az összetett szemet alkotó sejtek differenciálódásáról, a sejtors meghatározás és a sejt-sejt kommunikáció jelátviteli elemeiről, valamint a sejtadhézió szabályozásáról. Mindemellett meglepően keveset sikerült megtudni az optikai elkülönülést biztosító pigmentsejtek fejlődéséről. Munkám során egy olyan mutánskombinációra bukkantunk, ami egy korábban soha nem látott, egyedi pigmentsejt fenotípust mutatott. Ph.D. dolgozatomban ennek a különleges mutánsnak az analízisét foglaltam össze.

CÉLKITŰZÉSEK

A *Drosophila* DAAM és FRL formin fehérjék adult agyban történő vizsgálata során megfigyeltük, hogy azok az axon navigálási és növekedési folyamatokban redundáns szerepet játszanak. Az idegrendszer vizsgálatával kapcsolatos kísérleteink során észrevettünk még egy érdekességet, nevezetesen, hogy a kettős mutáns adult állatok szemei rögzös fenotípust mutatnak. Tekintve, hogy a csak az egyik formint érintő egyes mutánsok teljes mértékben vad típusú szemfenotípust mutattak, ez a megfigyelés azt jelezte, hogy a két formin fehérje az összetett szem fejlődése során is redundáns szereppel bírhat. Munkám során ezt a szerepet, és az általa létrehozott funkció(ka)t szerettem volna felderíteni.

A DAAM és az FRL részletes vizsgálata érdekében szerettünk volna létrehozni egy olyan genetikai és sejtbiológiai eszköztárat mutánsok, transzgénikus törzsek és ellenanyagok

formájában, amely segítségével a sejt szintjén is megérthetjük, hogy ezek a fehérjék milyen folyamatok szabályozásához járulnak hozzá, és a szemfejlődés melyik stádiumában van szükség a funkciójukra. Az összetett szemre jellemző ismétlődő mintázat miatt a viszonylag kismértékű, finom változások is könnyen és megbízhatóan vizsgálhatók. Ez lehetővé teszi többek között, hogy részletesen tanulmányozhassuk a sejt-sejt kapcsolatokat és a sejtmozgásokat, amik a szöveti mintázatok kialakulásáért felelősek. Ennek megfelelően több fejlődési stádiumban és optikai síkban terveztük elvégezni a különböző típusú sejtek szisztematikus vizsgálatát, hogy részletesen is megérthessük, milyen sejteket, sejtkapcsolatokat érint pontosan az általunk eredetileg makroszkópos szinten megfigyelt fenotípus. Az eredmények alátámasztása érdekében a két formin expressziós mintázatára is kíváncsiak voltunk a fejlődő szemben. Ezen kívül, a forminok molekuláris funkciójára vonatkozó előzetes ismeretek alapján feltételeztük, hogy az aktin sejtíváz vizsgálatára is szükség lesz, és azt reméltük, hogy a genetikai kölcsönható partnerek azonosításával közelebb kerülhetünk a molekuláris mechanizmusok megértéséhez.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1. Felhasznált *Drosophila* törzsek és genetika

Bloomingtoni *Drosophila* Törzsközpontból származó mutáns törzsek a katalógus számok feltüntetésével: w^{1118} (BL#3605), *54C-Gal4* (BL#27328), *UAS-LifeAct::GFP* (BL#58718), *UAS- α -Catenin::GFP* (BL#58787), *RhoA^{72F}* (BL#7326), *Rac1^{J11}*, *Rac2 Δ* , *Mtl Δ* (BL#6678), *Cdc42²* (BL#9105), *zip²* (BL#8739), *UAS-mCD8::GFP* (BL#5134), *FRL RNAi* (BL#32447), *Cdc42 RNAi* (BL#37477), *zip RNAi* (BL#36727), *zip RNAi* (BL#65947), *DAAM RNAi* (#39058), *sqh-ChFP::Cdc42* (BL#42236).

Korábbi közleményekben használt mutáns törzsek a forrás vagy a hivatkozás feltüntetésével:

DAAM-PD RNAi (Chougule és mtsai, 2020, *GMR-Gal4* and *lz-Gal4,mCD8::GFP* (Jessica E. Treisman, *DAAM^{Ex4}*; *UAS-DAAM-PB* (Matusek és mtsai, 2006), *DAAM^{Ex4}* and *UAS-FLDAAM I732A* (Gombos és mtsai, 2015), *frl⁵⁹* (Dehapiot és mtsai, 2020)

Az alábbi törzseket hoztuk létre:

A *DAAM^{Ex4}*, *GMR-Gal4* és a *DAAM RNAi,frl⁵⁹* vonalak standard genetikai rekombinációs technikákkal készültek. A *UAS-FRL* konstruktot alapvető molekuláris klónozási módszerekkel

hoztuk létre, melyet templátként használtunk fel az *UAS-FRL I773A* elkészítéséhez PCR mutagenezissel.

Az 5'-CGTCGCAAGCTGGGTATGCCC-3' és a 5'-GGACCGCTGCAATGTTTCTTAACCTCGTGTGC-3' primereket használtuk fel, hogy pontmutációt generáljunk a 773-as pozícióban lévő Izoleucinnál (Ile → Ala) a *UAS-FRL I773A* konstrukcióban.

Az *frl⁵⁹* mutáns törzset CRISPR/Cas9 technika segítségével készítettük el (Gratz és mtsai, 2013). Két, 21-nukleotid hosszúságú guide RNS-t (GAGCAACTTTGCTTTATCCGG és GTCGTTTATCGCGCACCCCTGG) terveztünk az *frl* második és utolsó kódoló exonjába, majd pCFD4 vektorba klónoztuk. A Cas9 és a gRNS-ek egyidejű, csíravonalspecifikus expresszióját követően a második utódnemzedékből gyűjtöttünk *frl* mutáns jelölteket, melyeket PCR-rel és szekvenálással validáltunk. A szekvenálási adatok alapján a várt, ~8 640-bp-os deléciót tudtuk azonosítani a mutáns vonalak genomikus DNS-éből. Az immunfestés és a Western-blot alapján az *frl⁵⁹* mutáns protein null allélnek tekinthető (Dehapiot és mtsai, 2020).

2. Western-blot

A kísérletek során genotípusonként 8 báb agyat lizáltunk 10 µl proteáz inhibitor tartalmú lízis pufferben (0,1 % SDS; 0,2 % NaDoc; 0,05 % NP40; 150 mM NaCl; 50 mM Tris-HCl), majd 5x SDS mintapuffer és merkaptóetanol hozzáadása után 10 percig forraltuk őket. A forralás után a mintákat 5 percig 14.000 rpm-en centrifugáltuk le, majd denaturáló 6 %-os SDS gélen futtattuk meg. Az elválasztott fehérjéket Millipore PVDF membránra blottoltuk. A blottolási lépést követően a membránokat 5 % sovány tejport tartalmazó TBST-ben blokkoltuk 1 órán keresztül szobahőmérsékleten, majd egy éjszakán át inkubáltuk őket a blokkolóban hígított elsődleges ellenanyagokkal. Ezt követően a membránokat TBST-ben 3x20 percig mostuk, majd a megfelelő másodlagos ellenanyagokkal kiegészített 5 % sovány tejpor TBST-s oldatában 1 órán át szobahőmérsékleten inkubáltuk. Ezek után a membránokat 3x20 percig TBST-ben mostuk, majd Millipore Immobilon kemilumineszcens detekciós reagenssel előhívtuk.

Elsődleges ellenanyagként egér anti- α tubulin (1:1000, DM1A, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) és patkány anti-Frl (1:50.000; Toth és mtsai, 2022), másodlagosként pedig egér és patkány HRP konjugált anti-IgG (1:5.000; Jackson Immunoresearch) ellenanyagot használtunk.

3. Szemek preparálása

A bábokat 0 h APF-ként gyűjtöttük le, és 25 °C-os inkubátorban tároltuk őket boncolásig. A 48 órás bábok szemeit hideg PBS-ben boncoltuk, majd szobahőmérsékleten 20 percig fixáltuk 4 %-os PBS-ben hígított paraformaldehiddel (PFA). A fixálás után a preparátumokat

3x10 percig 0.1 % TritonX-100-at tartalmazó PBS-ben (PBST) mostuk, majd Eppendorf csőbe helyeztük, és 0.2 % BSA tartalmú PBST-ben (PBS-BT) 2 órát szobahőmérsékleten blokkoltuk.

4. Immunhisztokémia

A kiboncolt, blokkolt és fixált szemeket éjszakán át (kb.18 h) inkubáltuk 4 °C-on PBS-BT-vel megfelelő koncentrációra kihígított elsődleges ellenanyaggal, majd ötször 20 percig mostuk őket PBST-vel. Ezután PBS-BT-vel megfelelő koncentrációra kihígított fluoreszcens másodlagos ellenanyagot helyeztünk rájuk, és 2-3 órán át inkubáltuk szobahőmérsékleten. Ezt követően ismét ötször 30 percig mostuk őket. A fluoreszcens festés utolsó lépéseként glicerin:PBS (1:1, majd 1:4) keveréket vagy ProLong Gold reagenst (#P36930, Thermo Fisher Scientific) mértünk a mintákra. Így a preparátumok már tárgylemezre tehetők, és fedőlemezzel lefedve mikroszkóp alatt vizsgálhatók.

A kísérletek során a következő elsődleges ellenanyagokat használtuk: patkány anti-FRL (1:1000, Toth et al., 2022), nyúl anti-dDAAM (R4) (1:500, Gombos et al., 2015), nyúl anti-Zip (1:200, Chougule et al., 2016), csirke anti-GFP (1:1000, #ab13970, Abcam), egér anti-Dlg (1:100, 4F3, DSHB), egér anti-chaoptin (1:50, 24B10, DSHB), egér anti-Armadillo (1:500, N27A1, DSHB), egér anti- α -catenin (1:100, DCAT-1, DSHB), egér anti-Cut (1:500, 2B10, DSHB), patkány anti-DE-cadherin (1:100, DCad2, DSHB), patkány anti-N-cadherin (1:10, DN-Ex#8, DSHB), egér anti-Talin (1:10, E16B, DSHB) és egér anti-Mys (1:100, CF.6G11, DSHB).

Az elsődleges ellenanyag használatát követően a megfelelő Alexa-488, Alexa-546 és Alexa-647 (1:600; anti-mouse Alexa 488, A-11001; anti-mouse Alexa 647, A-21235; anti-chicken Alexa 488, A-11039; anti-rabbit Alexa 647, A-21245; anti-rat Alexa 488, A-11006; anti-rat Alexa 647, A-21247; Thermo Fisher Scientific) fluoreszcens festékekkel konjugált másodlagos ellenanyagokat használtuk. Az aktin láthatóvá tételéhez Phalloidin-Alexa-488 vagy Alexa-546 (1:50; Phalloidin-Alexa 488, A12379; Phalloidin-Alexa 546, A22283; ThermoScientific Scientific) festéket használtunk.

Megfelelő Frl ellenanyag hiányában saját ellenanyagot készítettünk. Ehhez patkányokat immunizáltunk az Frl 687-1183. pozícióban levő aminosavait tartalmazó, tisztított rekombináns fehérjével. Szérumot gyűjtöttünk a standard módszerek alapján, és Western-blot segítségével igazoltuk az ellenanyag specifitását (Toth és mtsai, 2022).

5. Retina sejtszám számolás

Ahhoz, hogy a vad típusú és a formin kettős mutáns mintákban számszerűsíteni tudjuk a különböző ommatidiális sejteket, eltérő ellenanyagokat alkalmaztunk. A lencsetermelő sejtek, elsődleges, másodlagos és harmadlagos pigmentsejtek, valamint a szőrsejtek azonosítására DE-

Cadherin-t használtunk, míg a fotoreceptor sejteket chaoptin festéssel azonosítottuk a számolás során. Minden egyes genotípusnál legalább 7-10 retinát, összesen/retinánként? legalább 100 ommatídiummal számoltunk le. ImageJ/Fiji (Schindelin és mtsai, 2012) és Microsoft Excel 2016 szoftvereket alkalmaztunk a sejtípusok kvantifikálásához.

6. Live imaging, képanalízis és kvantifikáció

Az élő mikroszkópiás felvételeket a Larson és mtsai (2008) által leírt módon készítettük el. Minden felvétel 25 °C-on készült. 50 síkból álló Z-sorozatot vettünk fel 0,6 µm távolságra egymástól. A képeket Huygens Professional (Scientific Volume Imaging B.V., Hilversum, The Netherlands) és ImageJ/Fiji szoftverekkel dolgoztuk fel, a különböző paraméterek vizsgálatához pedig az ImageJ/Fiji és Microsoft Excel 2016 szoftvereket alkalmaztuk.

Az interommatidiális sejteknek a teljes apico-bazális síkban történő nyomonkövetése érdekében *mCD8::GFP*-t expresszáztattunk *54C-Gal4* driver segítségével, láthatóvá téve így a másodlagos és harmadlagos pigmentsejteket. Dlg festést használtunk a szeptális junkciók (SJ), anti-Cut ellenanyagot a lencsetermelő sejtek sejtmagjának és a szőrsejt komplexeknek a jelölésére, valamint phalloidint az F-aktin láthatóvá tételére. Ez esetben a konfokális Z-sorozat 0,14 µm szelettávolságban készült, 90-100 optikai szeletet eredményezve minden mintánál. Az interommatidiális sejtek alakjának körvonalazása és színkódolása manuálisan történt minden egyes optikai szeletben, ami lehetővé tette a sejtek alakjának követését a retina apikális rétegétől egészen a bazálisig.

A DAAM és FRL fehérjék közötti kolokalizáció szintjének megállapítása érdekében meghatároztuk a Pearson-féle korrelációs koefficienszt. A vizsgálatok során a képeket a Nyquist aránynak megfelelően rögzítettük, a detektorok teljes dinamikus tartományát használva. A kvantifikációt megelőzően a képeket a Huygens Professional szoftver (Scientific Volume Imaging) segítségével feljavítottuk. A Pearson's korrelációs koefficienszt a Fiji's Coloc2 plugin szoftver segítségével határoztuk meg. Ahhoz, hogy a méréseket az IOC-kre korlátozzuk, manuálisan körvonalazott maszkolásokat használtunk.

A vad típusú és formin kettős mutáns szemeknél az aktinintenzitás összehasonlítása és kvantifikációja érdekében a Phalloidin-Alexa-488 festést ugyanabban az Eppendorf csőben végeztük el minden genotípus esetén, hogy biztosítsuk az azonos kísérleti körülményeket. A vad típusú és mutáns szemeket fenotípus alapján különítettük el. Az aktinintenzitás mérését a szem apikális és laterális régiójában a kortikális membránnál végeztük (egyetlen optikai szeleten 3 és 6 µm-rel az apikális felszín alatt, egyenként) ImageJ/Fiji szoftver segítségével egy manuálisan húzott vonal mentén, követve a sejt kortextet. Mintánként 5-10 szemet vizsgáltunk meg, és 60-70 sejtet mértünk meg minden egyes képen az apikális vagy laterális réteg

aktinintenzitásának összehasonlításához. A kapott értékeket ezután a háttérintenzitások átlagához normalizáltuk.

Az ommatídiumfúziós fenotípus számszerűsítése érdekében a 48 órás mintákat anti-chaoptin (24B10, DSHB) ellenanyaggal festettük meg. Az elkészült konfokális mikroszkópos felvételeken pedig manuálisan számoltuk meg a vad típusú és mutáns ommatídiumokat az ImageJ/Fiji szoftver segítségével. Átlagosan 10-16 szemet vizsgáltunk meg genotípusonként (legalább 2 független festésből). Minden felvétel Zeiss LSM800 konfokális mikroszkóppal készült, 63x/NA 1,4 oil vagy 40x/NA 1,3 objektív használatával.

7. Statisztika és ábrák

A statisztikai analízist Prism 8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) segítségével végeztük el. A D'Agostino–Pearson omnibus tesztet használtuk az adatok normalitásának megállapítására. A szignifikancia szinteket Mann-Whitney teszttel (**** $p \leq 0.0001$) mértük ki. Az ábrákat és a képeket Illustrator CS6 (Adobe) szoftverben készítettük el. A grafikus 3D rekonstrukciót Blender 3.5. (Stichting Blender Foundation, Amsterdam) szoftver segítségével hoztuk létre.

AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

Az ízeltlábúak összetett szeme minden bizonnyal az élővilág leggyakrabban használt fényérzékelő szerve. A precíz látás egy ilyen eszközzel az egyedi fényérzékelő egységek tökéletes optikai elszigetelésén alapul, amit a pigmentsejtek valósítanak meg. A *Drosophila* szemben a pigmentet termelő háromfajta sejt egy közel tökéletes méhsejt mintázatra emlékeztető rácsszerkezetet hoz létre a lencsetermelő sejtek és a fotoreceptor sejtek csoportjai között. Ebben az elrendezésben a pigmentsejtek elválasztó rétegeket, vékony falakat formálnak az ommatídiumok központi sejtcsoportjai között, amelyek a fényérzékelő apparátust tartalmazzák. A pigmentsejtekből formálódó vékony falak kialakulásában és fennmaradásában kitüntetett szerepet játszanak az IOC-k közötti sejt-sejt kapcsolatok, amelyek képesek ezeket a vékony falakat stabilan összetartani. Az elmúlt néhány évtized kutatásai sikeresen fényt derítettek a sejtadhézió szabályozásának lényeges mechanizmusaira az összetett szemben is nagy fontosságú, apikális sejtkapcsolatok esetében, azonban a latero-bazális kapcsolatok kialakulásáról és szerepéről jóval kevesebb ismeretünk van. A PhD kutatási témámhoz kapcsolódó kísérleteink során egy olyan új, korábban még nem ismert szemfenotípust figyeltünk meg, ami az IOC sejtek laterális adhézióját érintő defektusokkal jár. Ezen kívül megmutattuk, hogy az IOC-k laterális rögzítésében kitüntetett szerepet játszik két formin

típusú, aktin sejtvázat szabályozó fehérje, amelyek kulcsfontosságúak a retina bazális rétegeiben megfigyelhető sejtalak és sejt-sejt kapcsolatok kialakításában egyaránt.

A legtöbb sejtben az aktin sejtvázat szabályozását több tucatnyi fehérje befolyásolja, amelyek egy része hasonló molekuláris funkcióval rendelkezik. Például a legtöbb eukarióta sejtben többféle formin típusú aktin-összeszerelő faktor fejeződik ki, amelyek a nem elágazó aktin kötegek kialakulásához szükségesek. A hasonló molekuláris aktivitás ellenére, a domén összetétel és az aminosav szekvenciák alapos összehasonlítása után a formin fehérjecsald tagjait előbb 7, később 9 alcsaládba sorolták (Higgs és Peterson, 2005; Pruyne, 2016). Bár redundáns formin funkciókra is vannak szakirodalmi példák, a szerkezeti különbségekkel összhangban számos formin mutáns esetében leírtak specifikus fenotipikus hatásokat is, még azokban az esetekben is, amikor más forminok is expresszálódnak az érintett sejtekben. Ezzel ellentétben eredményeink azt jelzik, hogy a forminok két különböző alosztályát képviselő DAAM és FRL fehérjék teljes mértékben képesek egymást helyettesíteni a *Drosophila* szem fejlődése során, ami egy szokatlanul egyértelmű esete a funkcionális redundanciának. A latero-bazális szemfejlődésben betöltött azonos funkciójuknak megfelelően, nagymértékben átfedő eloszlást mutatnak az IOC-k latero-bazális régiójában, erős kortikális membránhalmozódással. Érdekes módon a feltűnő latero-bazális felhalmozódáson túl mindkét formin jelen van a szem apikális régiójában is, viszont ezen a területen nem figyelhető meg jelentős átfedés az eloszlási mintázatokban. Sem a *DAAM* és *frl* egyes mutánsok, sem a kettős mutánsok nem befolyásolják az apikális szemfejlődést, ezért valószínű, hogy ezek a forminok nem szükségesek a szem ezen területén. Mindemellett azt a lehetőséget sem tudjuk teljes mértékben kizárni, hogy az apikális síkokban a *DAAM* és/vagy az *FRL* egy vagy több másik forminnal tölt be redundáns funkciót. Tekintve, hogy az apikális sejtterületen számos aktin struktúra jelenlétét mutatták ki (Del Signore és mtsai, 2018; Johnson és mtsai, 2008), további forminok jelenléte és szükségessége sem lenne meglepő felfedezés ezen a területen. Arra számítunk, hogy az elkövetkező kutatások segítenek majd tisztázni ezt a kérdést a közeljövőben.

A DRF formin szupercsaládba tartozó *DAAM* és *FRL* fehérjék autoinhibíciós mechanizmus révén szabályozódnak, ami Rho-típusú GTPázok kötődésének hatására megbomlik, és ezáltal a forminok aktív állapotba kerülnek. Ezzel a mechanizmussal összhangban, a genetikai interakciós vizsgálataink egyértelműen azt jelezték, hogy a *Cdc42* fehérje vesz részt a *DAAM* és az *FRL* aktivációjában a szem latero-bazális régiójában. A *Cdc42* hiánya nagyon hasonló ommatídiumfúziós fenotípust eredményezett, mint amit a *DAAM*; *frl* funkcióvesztés esetében tapasztaltunk, ami egyértelműen a latero-bazális szemmintázat kialakításához kapcsolja a *Cdc42*-t. Ezt az elképzelést támogatják azok a korábbi megfigyelések

is, amelyek *in vitro* kölcsönhatást mutattak ki a Cdc42 és az FRL között, valamint genetikai kölcsönhatást igazoltak az *frl* és a *cdc42* között az ommatídiumrotációval és az axonok navigálásával összefüggésben (Dollar és mtsai, 2016). A Rho-típusú kis GTPázok a sejtvázátrendeződések kulcsfontosságú szabályozói, beleértve azokat is, amelyek a sejtalakváltozásokkal és a sejtadhézióval kapcsolatosak (Etienne-Manneville és Hall, 2002; Fukata és Kaibuchi, 2001), és a forminok tudvalevőleg a legfontosabb Rho effektor fehérjék közé tartoznak (Kühn, 2014). Például a Dial1-ről egy humán mellrák epitél sejtvonalban (Carramusa és mtsai, 2007) és *Drosophilában* (Homem és Peifer, 2008) megmutatták, hogy részt vesz az adhéziós kapcsolatok Rho-függő szabályozásában, az FMNL2-ről humán MCF10A sejtekben pedig azt találták, hogy a Rac1-től downstream hatva elősegíti az adhéziós kapcsolatok kialakulását (Grikscheit és mtsai, 2015). A Cdc42 és az FMNL3 együttműködik endotéliális sejtekben (Richards és mtsai, 2015) és a sebgyógyulás folyamatában (Rao és Zaidel-Bar, 2016), valamint a Cdc42-ről és a DAAM-ról ismert, hogy együttműködnek a kardioblaszt sejtek alakjának és adhéziójának szabályozásában a *Drosophila* szívfejlődés során (Vogler és mtsai, 2014). Míg ezek a tanulmányok az apikálisan lokalizálódó adhéziós kapcsolatokra fókuszáltak, a DAAM1-ről kimutatták, hogy RhoA-függő módon vesz részt a laterális sejtkeapcsolatok stabilizálásában egér EpH4 sejtvonalban (Nishimura és mtsai, 2016). Mindezek alapján logikusnak látszik, hogy a bábszemben a **Cdc42/DAAM/FRL** modul egyik elsődleges feladata az IOC-k laterális adhéziójának a biztosítása. A latero-bazális retina morfogenezisében való részvétel nem csak a forminok, hanem a Cdc42 vonatkozásában is egy új funkciónak tekinthető a *Drosophila* bábszem fejlődésében. Ez a szerep úgy tűnik, hogy eltérő a Cdc42 apikális funkciójától, ahol a Cdc42 az adhéziós kapcsolatok fenntartásának egy negatív szabályozója a DE-Cadherin endocitózisának elősegítése révén (Warner és Longmore, 2009a), míg az IOC-k latero-bazális membránjaiban a Cdc42 egyértelműen a sejtkeapcsolatok kialakítását és/vagy fenntartását segíti elő.

A menekítési és az RNSi kísérleteink megmutatták, hogy a DAAM és az FRL funkciójára specifikusan az IOC-kben van szükség a szemben, míg más sejt típusokban nincs vagy nem esszenciális a szerepük. Ami a pigmentsejteken belüli szerepet illeti, ott egy kettős funkciót figyeltünk meg, ami részben a laterális sejtkeapcsolatokhoz köthető, részben pedig a sejtalak kialakításához és fenntartásához a retina laterális és bazális rétegeiben. Egy egyedi jellegzetessége a formin funkcióvesztéses fenotípusnak, hogy mind az apikális AJ keapcsolatok, mind az IOC-k bazális laminához való keapcsolata megmarad, míg az AJ-k és a bazális lamina közötti területen az SPC-k gyakran nem képesek stabilan keapcsolódni a saroksejtekhez (TPC-k és BC-k). Ezzel ellentétben a retina legbazálisabb részén az IOC-k kiterülő „talpai” képesek

kapcsolódni egymáshoz, és biztosítják a közel tökéletes bazális lezárást, attól függetlenül, hogy gyakran szabálytalan sejtalakot vesznek fel, és olyan szokatlan kapcsolatokat hoznak létre, amik a vad típusban nem figyelhetők meg. Amennyiben tehát ezt a fenotípust a retina teljes apiko-bazális tengelye mentén értelmezzük, láthatjuk, hogy az apikális sejtkapcsolatok nagyrészt épnek tűnnek, de a laterális kontaktusok a SPC-k és a saroksejtek között elromolhatnak, csaknem rögtön az adhéziós kapcsolatok területe alatt, egészen az IOC-k bazálisán kiterülő régiójáig, ahol újra sikeresen kapcsolódnak egymással és a bazális laminával. Annak ellenére, hogy képes bazális sejtkapcsolatokat kialakítani, a retina bazális része súlyosan érintett a forminok hiányában, a kiszélesedő részek alakja és elrendezése jelentősen eltér a vad típustól. Mivel a megfelelő laterális kapcsolatok nélkül az IOC-k bazális részei képesek kapcsolódni a bazális laminához, és bizonyos mértékben egymáshoz is, ezért felmerül a kérdés, hogy vajon a laterális és bazális mintázatot érintő defektusok függetlenek egymástól, vagy a bazális defektusok a laterális defektusok közvetett következményei, esetleg ugyanez fordítva. Miután a vad típus esetében a retina bazális részén az IOC „talpak” egy meglehetősen bonyolult mintát alkotnak, valószínűnek tartjuk, hogy a DAAM és az FRL ezen a területen specifikus aktin hálózatok kialakulását segíti elő, amelyek a retina bazális részének a fejlődéséhez szükségesek, míg az apikálisabb szubcelluláris régiókban a laterális sejtkapcsolatok stabilizálásához szükséges aktinkötegeket hoznak létre. Ily módon különböző aktin hálózatok járulnának hozzá a bazális és a laterális funkciók ellátásához, ami az indirekt hatást teszi kevésbé valószínűvé.

Az aktin szabályozásban jól ismert formin funkcióknak megfelelően, a szem latero-bazális területein csökkent kortikális aktinszintet figyeltünk meg. Mivel a formin-függő ommatídiumfúziós fenotípus érzékeny a miozin II fehérje szintjére, és a Zip hiánya önmagában is ommatídiumfúziót eredményez, a DAAM és az FRL által szabályozott kortikális aktin alpopuláció valószínűleg kontraktilis lehet, ahogy ezt más, sejtadhézióhoz köthető aktin hálózatokról is leírták már korábban (Harris és Tepass, 2010; Mege és Ishiyama, 2017). Ezek alapján úgy gondoljuk, hogy a DAAM és az FRL elsődleges feladata a megfelelő sejtkapcsolatok létrehozása és fenntartása az IOC-k között, a sejtalakra gyakorolt hatás pedig a celluláris kapcsolatok elvesztésének közvetett következményeként magyarázható. Mindazonáltal az IOC-k egy különleges sejtalakot mutatnak, ami szükséges ahhoz, hogy nagyon vékony falakat alakítsanak ki az ommatidiális klaszterek központi sejtjei között és alatt. Azt gondoljuk, hogy az ilyen egyedi és különleges sejtalakok képződéséhez és fenntartásához mindenképpen szükség van különböző sejtvázas alkotórészekre, elsősorban aktin filamentumokra. Ennek megfelelően, az apikális junkcionális területeken már több kortikális és

citoplazmatikus aktin populáció szerepét leírták az IOC-k fejlődésében (DeAngelis és mtsai, 2020; Del Signore és mtsai, 2018). Saját vizsgálataink a latero-bazális régióban a kortikális aktin filamentumok fontosságára utalnak, azonban más, citoplazmatikusnak mutakozó aktin hálózatot nem sikerült azonosítanunk. Elképzelhetőnek tartjuk, hogy a megfelelően szerveződött kortikális aktin struktúrák talán elegendőek lehetnek a laterális sejtadhéziós kapcsolatok, és így az SPC-k által formált vékony falak kialakításához a szem laterális régiójában, az IOC-k bazális virágszirom mintázatának kialakulását és fennmaradását azonban jóval nehezebbnek tűnik összhangba hozni kizárólag kortikális aktinfüggő mechanizmusokkal. Következésképpen, valószínűbbnek látszik, hogy technikai okok akadályozzák azoknak a citoplazmatikus aktin populációknak a detektálását, amelyek szükségesek a megfelelő sejtalak kialakulásához a retina bazális részén. Az alternatív lehetőség az lehet, hogy a citoplazmatikus nyomás szabályozása a kulcsfaktor az IOC-k bazális részében, és a kortikális aktin ellenállásának szabályozása az SPC-kben, de nem a TPC-kben és BC-kben, elegendő az IOC-k bazális alakjának a meghatározásához. Habár nyilvánvalóan további kísérletek szükségesek ezeknek a kérdéseknek a tisztázásához, bízunk benne, hogy az általunk leírt, új, forminfüggő szemfenotípus vizsgálatának eredményei nagyon hasznos kiindulópontnak bizonyulnak a bábkori szemfejlődés háromdimenziós vonatkozásainak jobb megértéséhez.

ÖSSZEFOGLALÁS

A *Drosophila* összetett szeme évtizedek óta a fejlődés-genetikai vizsgálatok egyik kedvenc modellrendszere. Ennek a szemnek a fejlődése kiváló példa arra, hogy hogyan alakul át egy kétdimenziós epitélium egy komplex háromdimenziós struktúrává, egy fényérzékelésre képes funkcionális szöveté. A folyamat során az epitéliális monolayeret alkotó szemdiszkusz sejtek előbb különböző sejtípusokká differenciálódnak, majd azok sejtcsoportokba rendeződve alakváltozásokon mennek keresztül, és néhány nap alatt kialakul a kb. 7-800 egységnyi szemből (ommatídiumból) álló összetett szem. Az összetett szemek esetében a precíz látás egyik fontos előfeltétele az egységnyi szemek optikai elszigetelése egymástól, amit a pigmentsejtek biztosítanak. Ezek a sejtek egy hatszögletű, méhviasszerű rácsszerkezetet alakítanak ki a *Drosophila* szemben, vékony falakat formálva a facetták között, ami miatt interommatidialis sejteknek (IOC) is nevezzük őket. Az apikálisan és latero-bazálisan lokalizálódó sejtadhéziós komplexeknek nélkülözhetetlen szerepe van abban, hogy a pigmentsejtek stabilan és

hézagmentesen kapcsolódjanak egymáshoz és a bazális laminához, ami a tökéletes optikai szigetelés alapfeltétele.

PhD munkám során a formin típusú aktin sejtvázat szabályozó fehérjék funkcionális vizsgálatába kapcsolódtam be. Míg a humán genomban 15 formin gént ismerünk, az ecetmuslicában 6 formin gén található, amelyek nagyfokú evolúciós konzerváltságot mutatnak DNS-, illetve fehérjeszekvencia és fehérjeszerkezeti szinten is. Csoportunk és mások korábbi eredményei alapján tudható, hogy a forminok hozzájárulnak a trachea, az embrionális, a lárvális és az adult idegrendszer, az izmok és az ovárium fejlődéséhez, és szükségesek a korai embriók cellularizációjához is. Mindezekon túl, a forminok neuronális funkcióinak vizsgálata során azt találtuk, hogy a *DAAM; frl* formin kettős mutáns állatoknak rögzös szeme van, ami szemfejlődési hibára utalhat. Tekintve, hogy a sejtvázat szabályozásnak fontos szerepe van a szemfejlődésben, de a forminok hozzájárulását ehhez a folyamathoz korábban nem írták le, elhatároztuk, hogy részletesebben is megvizsgáljuk ennek a két forminnak a szemfejlődésben betöltött szerepét.

Kísérleteim során a *DAAM* esetében az *Ex4* allállal dolgoztam, ami egy homozigóta életképes, PB izoformára specifikus, protein null mutáns. Az *FRL* esetében a CRISPR/Cas9 rendszer segítségével állítottam elő egy null mutánst (*frl⁵⁹*). Ezeken kívül RNSi vonalakat is használtam az eredmények megerősítése érdekében, illetve a szemsejtspecifikus kísérletek során. Annak érdekében, hogy megértsük milyen sejtes mechanizmusok állnak a formin kettős mutánsokban megfigyelhető szemfenotípusok hátterében, elvégeztük a mutánsok fejlődési analízisét a szem általános morfológiáját és a sejt típusokat jelölő markerekkel. Ez a kísérletsor feltárta, hogy a formin mutánsok esetében már a 24 órás bábszemekben is eltérések vannak az ommatídiumok alakjában és a sejtek elrendeződési mintájában. Legfontosabb megfigyelésünk, hogy az apiko-bazális tengely mentén haladva a szem apikális régiójában az ommatídiumok elrendeződése és a sejtek alakja még közel vad típusúnak mutatkozik, de a laterális régióban a pigmentsejtek gyakran elválnak egymástól és a szabályos rácsszerkezetük megbomlik. Ezenkívül a bazális régió sejtes szerveződése is teljesen abnormálisnak mutatkozik, mert a pigmentsejtek bazális mintázata szabálytalanná válik a vad típustól eltérő sejtalak és sej-sejt kapcsolatok, továbbá az axonkilépési pontok szabálytalan elrendeződése miatt. Mivel a *DAAM* és *frl* egyes mutánsok szeme teljesen vad típusú, míg a kettős mutánsok szemfenotípusa jól menekíthető bármelyik formin szemspecifikus kifejezésével, egyértelműen levonhatjuk a következtetést, hogy a *DAAM* és *FRL* forminok egymással redundáns módon járulnak hozzá a pigmentsejtek alakjának és sejtkapcsolatainak a meghatározásához a szem laterális és bazális régiójában. Ezt a konklúziót a két formin fehérje kifejeződési mintázata is alátámasztja, mert mindkét fehérje erősen felhalmozódik az IOC-k bazális membránjában és részleges

kolokalizációt mutatnak a pigmentsejtek laterális membránjában is. A fenotípusanalízis és a fehérjelokalizációs adatok együttesen azt jelezték, hogy a DAAM és az FRL redundáns funkciójára csak a pigmentsejtekben van szükség a normális szemfejlődés során, és ezzel összhangban az *frl* pigmentsejt-specifikus csendesítése DAAM mutáns háttéren nagyon hasonló latero-bazális IOC defektusokat okoz, mint amelyek a kettős formin mutánsokra jellemzőek.

Korábbi vizsgálatok alapján a forminok az aktin sejtvázat szabályozó fehérjék közé tartoznak, ezért megvizsgáltuk, hogy az aktinnal való kölcsönhatásra és aktin polimerizációra képtelen formin mutánsok is képesek-e menekíteni a kettős mutánsokra jellemző szemfenotípust. Eredményeink alapján a forminok aktin polimerizáló képessége egyértelműen szükséges a pigmentsejtek megfelelő fejlődéséhez. A vad típusú és a mutáns szemek aktin eloszlási mintázatát összehasonlítva megállapítottuk, hogy az IOC-k kortikális területén lényegesen alacsonyabb az aktin felhalmozódás mértéke a forminok hiányában a szem apikális, laterális és bazális síkjaiban is. A csökkent aktinszinten túl jellemző, hogy a mutáns szemekben sokkal kevésbé folytonos az aktin kortikális eloszlása, mint a kontrolban.

A DAAM és az FRL mindketten a forminok ún. DRF (diaphanous related formin) alcsaládjába tartoznak, amelyekről ismert, hogy Rho típusú GTPázok szabályozzák az aktivitásukat. Genetikai kölcsönhatások vizsgálatával megállapítottuk, hogy az összetett szemben a Cdc42 lehet a DAAM és az FRL legfontosabb aktivátora, amit az is megerősített, hogy a *Cdc42* csendesítése és egy hipomorf allélja önmagában is a formin kettős mutánsokhoz hasonló ommatídiumfúziós fenotípust mutatott. Predikciónknak megfelelően, a Cdc42 fehérje erős felhalmozódást mutat a pigmentsejtek kortikális membránjai mentén. Ezek az eredmények együttesen azt jelezték, hogy a Cdc42 által szabályozott forminok olyan aktin filamentumok képződését segítik elő a pigmentsejtek laterális és bazális membrán doménjeiben, amelyek a megfelelő sejtadhéziós kapcsolatok kialakulásához és/vagy fenntartásához szükségesek. Mivel a sejtadhéziós kapcsolatok dinamikus átrendeződése legtöbbször kontraktilis aktinstruktúrákon alapul, megvizsgáltuk a nem-izom Miozin II szerepét is a fejlődő báb szemben. Azt találtuk, hogy a Miozin II-t érintő mutáció domináns genetikai interakciót mutat a formin mutánsokkal, és a Miozin II IOC-specifikus csendesítése hasonló latero-bazális pigmentsejt alak és adhéziós fenotípusokat eredményez, mint a forminok hiánya. Mindezek alapján azt gondoljuk, hogy a DAAM és az FRL által szabályozott kortikális aktin alpopulációk összehúzódnásra képes sejtvázelemeken keresztül járulnak hozzá a laterális sejtadhéziós kapcsolatok és a bazális sejtalak meghatározásához.

Összefoglalásként elmondható, hogy a PhD kutatási témámhoz kapcsolódó kísérleteink során egy olyan új, korábban még nem ismert szemfenotípust figyeltünk meg, ahol sérül az IOC

sejtek laterális adhéziója és bazális elrendeződési mintája is. Mutáns analízissel megmutattuk, hogy a DAAM és FRL sejtvázsabályozó fehérjék redundáns szerepet játszanak a retina laterális és bazális rétegeiben a sejtalak és a sejt-sejt kapcsolatok kialakításában. Azt is bizonyítottuk, hogy ez a két formin a Cdc42 kis GTPázsal együttműködve szabályozza a pigmentsejtek adhézióját a kortikális aktin sejtvázon keresztül. Eredményeink arra utalnak, hogy a DAAM és az FRL elsődleges funkciója a megfelelő sejtkecsolatok létrehozása és fenntartása az IOC-k között, ami döntő hatással van a sejtalak meghatározására is. Nyilvánvaló, hogy az IOC-k különleges sejtalakot mutatnak, ami szükséges ahhoz, hogy nagyon vékony falakat alakítsanak ki az ommatidiális klaszterek központi sejtjei között és alatt. Azt gondoljuk, hogy az ilyen egyedi és különleges sejtalakok képződéséhez és fenntartásához valószínűleg több, különböző típusú sejtvázelemre is szükség van. Annak ellenére, hogy eddigi vizsgálataink a latero-bazális régióban a kortikális aktin filamentumok fontosságára utalnak, feltételezhető, hogy a kortikális vázelemeken kívül citoplazmatikus aktin hálózatok is szükségesek a pigmentsejtek egyedi alakjának a kialakításhoz. Bár ennek a kérdésnek a tisztázása további kísérleteket igényel, bízunk benne, hogy az általunk leírt új, formin-függő szemfenotípus vizsgálata nagyon hasznos kiindulópontnak bizonyul a báb szemfejlődés 3 dimenziós aspektusainak jobb megértéséhez.

SUMMARY

The *Drosophila* compound eye has been one of the favorite model systems for developmental genetic studies for decades. The development of this eye is an excellent example to demonstrate how a 2-dimensional epithelium can transform into a complex 3-dimensional structure, a functional tissue capable of sensing light. During the process, the eye disc cells that make up the epithelial monolayer, first differentiate into different cell types, than they are organized into cell groups and undergo cell shape change. Within a few days the compound eye consisting of approximately 7-800 units (called ommatidiums) is formed. In case of the compound eyes one of the most important requirement for precise vision is the optical isolation of the unit eyes from each other, which is provided by the pigment cells. These cells form hexagonal, honeycomb-like lattice structure in the *Drosophila* eye, forming thin walls between facets, which is why they are also called interommatidial cells (IOCs). The apically and latero-basally localized cell adhesion complexes play essential role in the stable and gap-free

connection of pigment cells to each other and to the basal lamina, which is the basic condition for perfect optical insulation.

During my PhD work, I was involved in the functional investigation of formin-type actin cytoskeleton regulatory proteins. While 15 formin genes are known in the human genome, there are only 6 formin genes in the fruit fly, which show a high degree of evolutionary conservation at the DNA and protein sequence and structural levels. Based on our results and those of other groups, formins contribute to the development of the trachea, embryonic, larval and adult nervous systems, muscles and ovary, and they are required to the cellularization of early embryos. Above all, during examination of the neuronal function of formins, we found that *DAAM; frl* double-mutant flies have rough eye which indicates a defect in eye development. Considering that the cytoskeleton has a fundamental role in eye development, but the contribution of formins to this process has not been previously described, we decided to investigate the role of these two formins in eye development in more detail.

During my experiments, in the case of *DAAM*, I worked with the *Ex4* allele, which is a homozygous viable protein null mutant specific for the PB isoform. In the case of FRL, I created a null mutant (*frl⁵⁹*) by using the CRISPR/Cas9 system. In addition to these, I also used RNAi lines in order to confirm the results. In order to understand the cellular mechanisms underlying the eye phenotypes observed in formin double mutants, we performed a developmental analysis of the mutants with markers indicating the general morphology of the eye and cell types. This series of experiments revealed that in the case of formin mutants, there are already detectable differences in the shape of the ommatidium and in the arrangement pattern of the cells even in the 24-hour pupal eyes. Our most important observation is that, moving along the apico-basal axis in the apical region of the eye, the arrangement of the ommatidia and the shape of the cells are still almost wild-type, but in the lateral region the pigment cells often separate from each other and their regular grid structure is broken. In addition, the cellular organization of the basal region is also completely abnormal, as the basal pattern of the pigment cells becomes irregular due to the cell shape and cell-cell connections different from the wild type, as well as the irregular arrangement of the axon exit points. Since the eyes of some *DAAM* and *frl* mutants are completely wild-type, while the eye phenotype of the double mutants can be easily rescued by the eye-specific expression of either formin, we can clearly conclude that *DAAM* and *FRL* formins contribute redundantly to the determination of the shape and cellular connections of pigment cells in the lateral and basal regions of the eye. This conclusion is also supported by the expression pattern of the two formin proteins, because both proteins strongly accumulate in the basal membrane of IOCs and show partial colocalization in the lateral membrane of pigment

cells as well. Together, phenotypic analysis and protein localization data indicated that the redundant function of DAAM and FRL is required only in pigment cells during normal eye development. Consistent with this, pigment cell-specific silencing of *frl* in a *DAAM* mutant background results in latero-basal IOC defects very similar to those characteristic of double formin mutants.

Based on previous studies, formins belong to the regulatory proteins of the actin cytoskeleton, so we investigated whether formin mutants incapable of actin interaction and polymerization are also able to produce the eye phenotype characteristic of double mutants. Based on our results, the actin polymerization ability of DAAM and FRL is clearly necessary for the proper development of pigment cells. By comparing the actin distribution pattern of wild-type and mutant eyes, we found that the degree of actin accumulation in the cortical area of the IOCs is significantly lower in the absence of formins also in the apical, lateral and basal sections of the eye. In addition to the reduced actin levels, the cortical distribution of actin in the mutant eyes is much less continuous than in the control.

DAAM and FRL both belong to the formin DRF (diaphanous related formin) subfamily, members of which are known to be regulated by Rho-type GTPases. By examining genetic interactions, we determined that *Cdc42* may be the most important activator of DAAM and FRL in the compound eye, which was confirmed by the fact that *Cdc42* silencing and a hypomorphic allele alone showed an ommatidium fusion phenotype similar to formin double mutants. In accordance with our prediction, the *Cdc42* protein shows a strong accumulation along the cortical membranes of pigment cells. Together, these results indicated that *Cdc42*-regulated formins promote the formation of actin filaments in the lateral and basal membrane domains of pigment cells, which are necessary for the formation and/or maintenance of appropriate cell adhesion contacts. Since the dynamic reorganization of cell adhesion connections is mostly based on contractile actin structures, we also investigated the role of non-muscle Myosin II in the developing pupal eye. We found that a mutation affecting Myosin II shows a dominant genetic interaction with formin mutants, and IOC-specific silencing of Myosin II results in a latero-basal pigment cell shape and adhesion phenotypes similar to that seen in the absence of formins. Based on all of this, we think that the cortical actin subpopulations regulated together by DAAM and FRL contribute to the determination of lateral cell adhesion connections and basal cell shape through contractile cytoskeletal elements.

In summary, it can be said that during our experiments we observed a new, previously unknown eye phenotype, where the lateral adhesion and basal arrangement pattern of the IOC cells are damaged. Through mutant analysis, we showed that the cytoskeleton regulatory

proteins DAAM and FRL play a redundant role in the formation of cell shape and cell-cell connections in the lateral and basal layers of the retina. We also demonstrated that these two formins cooperate with the small GTPase Cdc42 to regulate the adhesion of pigment cells through the cortical actin cytoskeleton. Our results suggest that the primary function of DAAM and FRL is to create and maintain proper cell connections between IOCs, which also has a decisive effect on the determination of cell shape. It is clear that IOCs show a special cell shape, which is necessary to develop very thin walls between and below the central cells of the ommatidial clusters. We believe that the formation and maintenance of such unique and special cell shapes probably require several different types of cytoskeletal elements. Despite the fact that our studies so far indicate the importance of cortical actin filaments in the latero-basal region, it can be assumed that in addition to cortical skeletal elements, cytoplasmic actin networks are also necessary for the formation of the unique shape of pigment cells. Although the clarification of this question requires further experiments, we are confident that the analysis of the new formin-dependent eye phenotype we described will prove to be a very useful starting point for a better understanding of the 3-dimensional aspects of pupal eye development.

TÁRSSZERZŐI LEMONDÓ NYILATKOZAT

Alulírott Jungné Pintér Réka (Department of Biophysics, Medical School, University of Pécs, Pécs, Hungary), Gázsó-Gerhát Gabriella Ph.D jelölt doktori fokozatszerzési eljárásának alapját képező társszerzős publikáció első szerzőjeként nyilatkozom, hogy a jelöltnek meghatározó szerepe volt a fent említett közlemény létrehozásában. Hozzájárulok, hogy a publikációt a jelölt felhasználja az SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola doktori fokozatszerzési eljárásához szükséges társszerzős közleményként, és egyúttal kijelentem, hogy a jelölt által a fokozatszerzésben felhasznált anyagrésztől más jelöltnek nem adok ki hasonló tartalmú nyilatkozatot.

Kelt: Szeged, 2024. 10. 03.



Jungné Pintér Réka

A pályázó tézispontjaiban érintett, közösen publikált közlemény:

Réka Pintér, Tamás Huber, Péter Bukovics, Péter Gaszler, Andrea Teréz Vig, Mónika Ágnes Tóth, **Gabriella Gázsó-Gerhát**, Dávid Farkas, Ede Mígh, József Mihály, Beáta Bugyi: The Activities of the Gelsolin Homology Domains of Flightless-I in Actin Dynamics

Frontiers in Molecular Biosciences 7 Paper: 575077 , 18 p. (2020)

<https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.575077>