



# 52. Membrán-Transzport Konferencia



2023. május 16-19., Sümeg

PROGRAMFÜZET

## cell culturing, evolved

### Tools that streamline workflows for consistent cell culture

Spend lots of time in the cell culture lab? Our newest instruments are designed to standardize cell culture methods, yield objective data, and enhance lab efficiency. Find out how the latest technology can help improve cell culture consistency, leading to more-accurate, reliable results.



#### Millicell® DCI Digital Cell Imager

Measure and assess your cell cultures with ease. The Millicell® DCI Digital Cell Imager provides quick, objective determination of common cell culture parameters. Conserve sample with in-vessel measurement. Track and record cell culture data. Analyze growth trends with instant access to historical results.

- Confluency determination
- Estimated cell counts
- Hemocytometer or in-vessel measurement
- Adherent cell, spheroid, and organoid cultures
- Optional web-based cloud service for data storage and analysis

For more information, visit [MillicellDCI.com](https://www.millicellDCI.com)

#### Scepter™ 3.0 Automated Cell Counter

From monitoring cell population during growth to normalizing cell density, simplify cell counting with an automated, ergonomic, handheld device - without leaving the culture hood. The Scepter™ 3.0 instrument is the next generation in cell counting:

- Precise cell counts in < 30 seconds
- Convenient, handheld format
- Coulter-based accuracy
- No sample prep, dedicated reagents, or hazardous dyes
- Wirelessly transfer results

For more information, visit [SigmaAldrich.com/Scepter](https://www.sigmaldrich.com/Scepter)



#### Elérhetőségünk:

Merck Life Science Kft.  
Október huszonharmadika utca 6-10., 1117 Budapest  
[rendeles@merckgroup.com](mailto:rendeles@merckgroup.com), +36 1 463-8100

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. Merck, the vibrant M and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.



# 52. MEMBRÁN-TRANSZPORT KONFERENCIA

2023. május 16-19.,  
Sümege

Membrán- Transzport Konferenciák Választmánya  
Romhányi György Alapítvány

## MEMBRÁN-TRANSPORT KONFERENCIÁK,

1972–2022

I.	1972.	Tihany	Gárdos György, Salánki János, Somogyi János
II.	1973.	Tihany	Somogyi János és munkatársai
III.	1973.	Tihany	Somogyi János és munkatársai
IV.	1974.	Tihany	Somogyi János és munkatársai
V.	1975.	Tihany	Somogyi János és munkatársai
VI.	1976.	Tihany	Karvály Béla és munkatársai
VII.	1977.	Sümeg	Somogyi János és munkatársai
VIII.	1978.	Sümeg	Somogyi János és munkatársai
IX.	1979.	Sümeg	Somogyi János és munkatársai
X.	1980.	Sümeg	Somogyi János és munkatársai
XI.	1981.	Sümeg	Somogyi János és munkatársai
XII.	1982.	Sümeg	Szollár Lajos és munkatársai
XIII.	1983.	Sümeg	Szollár Lajos és munkatársai
XIV.	1984.	Sümeg	Szollár Lajos és munkatársai
XV.	1985.	Sümeg	Szollár Lajos és munkatársai
XVI.	1986.	Sümeg	Szollár Lajos és munkatársai
XVII.	1987.	Sümeg	Kovács Tibor és munkatársai
XVIII.	1988.	Sümeg	Fischer Emil és munkatársai
XIX.	1989.	Sümeg	Köteles György és munkatársai
XX.	1990.	Sümeg	Nagy Zsolt és munkatársai
XXI.	1991.	Sümeg	Szelényi Judit és munkatársai
XXII.	1992.	Sümeg	Szollár Lajos és munkatársai
XXIII.	1993.	Sümeg	Kövér György és munkatársai
XXIV.	1994.	Sümeg	Somogyi Béla és munkatársai
XXV.	1995.	Sümeg	Erdei László és munkatársai
XXVI.	1996.	Sümeg	Módis László és munkatársai
XXVII.	1997.	Sümeg	Somogyi János és munkatársai
XXVIII.	1998.	Sümeg	Németh Péter és munkatársai
XXIX.	1999.	Sümeg	Dux László és munkatársai
XXX.	2000.	Sümeg	Kovács László és munkatársai
XXXI.	2001.	Sümeg	Török Tamás és munkatársai
XXXII.	2002.	Sümeg	Kellermayer Miklós és munkatársai
XXXIII.	2003.	Sümeg	Maderspach Katalin és Erdei László
XXXIV.	2004.	Sümeg	Mátyus László
XXXV.	2005.	Sümeg	Tímár József
XXXVI.	2006.	Sümeg	Németh Péter és Berki Tímea
XXXVII.	2007.	Sümeg	Bérczi Alajos és Szalontai Balázs
XXXVIII.	2008.	Sümeg	Erdődi Ferenc és Gergely Pál
XXXIX.	2009.	Sümeg	Bánhegyi Gábor
XL.	2010.	Sümeg	Sümegi Balázs
XLI.	2011.	Sümeg	Krizbai István és Deli Mária
XLII.	2012.	Sümeg	Panyi György
XLIII.	2013.	Sümeg	ifj. Kellermayer Miklós és Hegedűs Tamás
XLIV.	2014.	Sümeg	Nyitrai Miklós
XLV.	2015.	Sümeg	Török Zsolt
XLVI.	2016.	Sümeg	Bíró Tamás
XLVII.	2017.	Sümeg	Tretter László
XLVIII.	2018.	Sümeg	ifj. Gallyas Ferenc
XLIX.	2019.	Sümeg	Tóth Szilvia Zita
L.	2021.	Sümeg	Nagy Péter
LI.	2022.	Sümeg	Tóvári József

## A MEMBRÁN-TRANSPORT KONFERENCIA ALAPÍTÓI

Cseh Edit	Salánki János †
Gárdos György †	Somogyi János †
Györgyi Sándor †	Szász Ilma
Karvaly Béla	Varga Ferenc †
Kovács Tibor †	Vető Ferenc
Kövér András †	Zsoldos Ferenc †
Meszes Gabriella †	

## ROMHÁNYI GYÖRGY DÍJASOK

1993 Németh Árpád	2007 Szelényi Judit
1994 Cseh Edit	2008 Fischer Emil
1995 Kovács Tibor, Belágyi József	2009 Szollár Lajos
1996 Röhlich Pál	2010 Tímár József
1997 Somogyi János, Wollemann Mária	2011 Erdei László
1998 Kövér András	2012 Németh Péter
1999 Zsoldos Ferenc	2013 Erdődi Ferenc
2000 Damjanovich Sándor	2014 Berki Tímea
2001 Maderspach Katalin, Szabó Béla, Karvaly Béla	2015 Voszka István
2002 Kellermayer Miklós	2016 Sümegi Balázs
2003 Magyar Kálmán	2017 Bérczi Alajos
2004 Mészáros István, Lipcsey Attila	2018 L. Kiss Anna
2005 Módis László	2019 Molnár Miklós
2006 Köteles György, Mányai Sándor	2021 Bánhegyi Gábor

## ROMHÁNYI GYÖRGY ALAPÍTVÁNY KURATÓRIUMA

Elnök: Tímár József (Budapest)  
Titkár: Berki Tímea (Pécs)

Tagok:  
Erdődi Ferenc (Debrecen)  
Fischer Emil (Pécs)  
Molnár Miklós (Budapest)  
Németh Péter (Pécs)  
Szollár Lajos (Budapest)

**A MEMBRÁN-TRANSPORT KONFERENCIÁK VÁLASZTMÁNYA**

Örökös Tiszteletbeli Elnök: Fischer Emil (Pécs/Gyógyszertan)  
 Ügyvezető Elnök: Németh Péter (Pécs, Immunológia)  
 Titkár: Molnár Miklós (Budapest/Kórélettan)

**Tagok:**

Berki Tímea (Pécs/Immunológia)  
 Bérczy Alajos (Szeged/Biofizika)  
 Deli Mária (Szeged/MTA Biofizika)  
 Erdei László (Szeged/Növényélettan)  
 Erdődi Ferenc (Debrecen/Biokémia)  
 Ifj. Kellermayer Miklós (Budapest/Biofizika)  
 Margittai Éva (Budapest/Gyógyszertan)  
 Szollár Lajos (Budapest/Kórélettan)  
 Szondy Zsuzsa (Debrecen/ Biokémia)  
 Tímár József (Budapest/Patológia)  
 Tretter László (Budapest/Biokémia)

**A Konferencia helyszíne:**

Hotel Kapitány - 8330 Sümeg, Tóth Tivadar u. 19.

**A Konferencia szervezője:**

Remedicon Kft. - 1036 Budapest, Galagonya u. 7.  
 Tel: 06-1-225-0188, Fax: 06-1-225-0189  
 e-mail: [info@remedicon.hu](mailto:info@remedicon.hu),  
[www.remedicon.hu](http://www.remedicon.hu) - [www.remediconline.hu](http://www.remediconline.hu)

**A konferencia támogatói, kiállítói:**

Auro-Science Kft.	Greiner Bio-One Kft.
Biocenter Kft.	Life Technologies Kft
Bio-Kasztel Kft.	Merck Kft.
Bio-Science Kft.	Sarstedt Kft.
Carl Zeiss Technika Kft.	Softflow Kft.
Dialab Kft.	TS Labor Kft.
Eppendorf Austria GmbH	Unicam Mo. Kft.
Frank Diagnosztika Kft.	

Kedves Kollégák!

A hagyománynak megfelelően, **2023-ban** is május közepén kerül megrendezésre **Sümege**n, az **52. Membrán-Transzport Konferencia**, mely továbbra is őrzi a multidiszciplináris jelleget, a Gordon-Konferenciák nyitott, párbeszédés formáit szem előtt tartva. Így lehetőség van a legváltozatosabb területeken természettudományos kutatást végző szakembereknek találkozni, egymástól tanulni és baráti légkörben eszmecsere-t folytatni.

A konferenciát idén a Pécsi Tudományegyetem két munkacsoportja szervezi, amely kicsit megszabja a fő tématerületeket, melyek a komplex **jelátviteli mechanizmusok** köré csoportosulnak elsősorban az immunrendszer és a neuronális rendszer működésével kapcsolatban. Lesz szó a membrán-transzporter fehérjék szerkezetéről, funkciójáról, a membrán lipid raftjainak szerepéről és befolyásolási lehetőségeiről, de organogenezisről és az immunrendszer sejtjeiben zajló jelátviteli folyamatokról is. Várjuk a biofizika, biokémia, genetika, élettan onkológia gyógyszer-tudomány és elméleti orvostudományi kutatási eredményeket bemutató absztraktokat, melyek kapcsolódnak a membrán működéséhez, az abban zajló jelátviteli útvonalakhoz melyek megváltoztatják a sejtek funkcióit, túlélésüket vagy pusztulását okozva.

A kutatócsoportok vezetőinek referátum-szerű nagyelőadásai mellett, mindig szót kapnak a fiatalok is, akik közül a bemutatott poszterek alapján előadásokat válogatunk. Annak érdekében, hogy még nagyobb figyelmet kapjanak a fiatalok, felkérünk minden poszter bemutatót, hogy a délutáni poszter szekció ideje alatt 5 percben demonstrálja el munkáját. Az utolsó napon a bizottság által kiválasztott legjobb poszterek előadás formájában is bemutatásra kerülnek.

Felhívjuk a fiatalok figyelmét a Romhányi György Pályázati lehetőségre, mely absztrakt beadás esetén a részvételi díjat támogatja, valamint a Kovács Tibor Díj pályázatra.

A tudományos programok hatékonyságát és sikerét a helyszín, a Hotel Kapitány varázslatos atmoszférája és a Remedicon Kft munkatársainak nagyszerű szervező munkája, valamint a kiállítóknak és szponzoroknak nagylelkű támogatása teszi lehetővé.

A szervezőbizottság nevében:

Dr. Berki Timea  
Pécsi Tudományegyetem,  
Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

## PROGRAM

**2023. május 16., kedd**

13:00-17:00	<i>Regisztráció</i>	
17:00-17:10	<i>Ünnepélyes megnyitó</i> <b>Németh Péter, Berki Tímea</b>	
17:10-17:50	Romhányi díj átadása és a díjazott előadása <b>Tretter László</b> <i>Semmelweis Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Orvosi Biokémiai Tanszék</i> WALTZ AROUND THE CYCLE. A CITRÁTKÖR A BIOKÉMIA HAMLETJE	1
17:50-18:30	<b>KOVÁCS TIBOR DÍJAK ÁTADÁSA ÉS A DÍJAZOTTAK ELŐADÁSA</b> <b>Parveen Akhtar</b> <i>Institute of Plant Biology, Biological Research Centre, Szeged</i> ENERGY SPILLOVER BETWEEN PHOTOSYSTEMS II AND I IN NATIVE AND RECONSTITUTED MODEL MEMBRANES OF CYANOBACTERIA	2
	<b>Zákány Florina</b> <i>Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet</i> A VEKLURY® (REMDESIVIR) FORMULÁCIÓK CIKLODEXTRIN TARTALMUK RÉVÉN GÁTOLJÁK A SARS-COV-2 TŰSKEFEHÉRJÉK ACE2 KÖTÉSÉT ÉS FELVÉTELÉT	3
18:30-18:45	<b>Kiállítók köszöntése</b>	
18:45-21:00	<i>Vacsora a hotelben</i>	



2023. május 17., szerda

**08:30-10:35 I. szekció: Membrán transzporter fehérjék szerkezete és funkciója****Üléselnök: Hetényi Csaba, PTE ÁOK**

08:30-08:55	<b>Panyi György</b> <i>Debreceni Egyetem, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet</i> MOLEKULÁRIS ÁTRENDEZŐDÉSEK AZ S6 HÉLIXBEN A SHAKER-IR KÁLIUMCSATORNA LASSÚ INAKTIVÁCIÓJA SORÁN	4
08:55-09:15	<b>Tusnády Gábor</b> <i>Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest</i> TMALPHAFOLD ADATBÁZIS: AZ ALPHA-FOLD2 ÁLTAL BECSÜLT TRANZMEMBRÁN FEHÉRJE SZERKEZETEK ÉRTÉKELÉSE	5
09:15-09:35	<b>Hegedűs Tamás</b> <i>Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest</i> A SARS COV-2 E FEHÉRJE ÉS A HUMÁN SERCA PUMPA MOLEKULÁRIS KÖLCSÖNHATÁSAI	6
09:35-09:55	<b>Enyedi Ágnes</b> <i>Semmelweis Egyetem, Transzfuziológia Tanszék, Budapest</i> A PMCA4B Ca <sup>2+</sup> TRANZSPORTER ÉS A BASIGIN FEHÉRJE KOMPLEX SZEREPE A SEJTPOLARIZÁCIÓ SZABÁLYOZÁSÁBAN	7
09:55-10:15	<b>Krajcsi Péter</b> <i>Semmelweis Egyetem, Egészségtudományi Kar, Budapest</i> MEMBRÁN TRANZSPORTER-KUTATÁS GYÓGYSZERHATÓSÁGI KÖRNYEZETBEN	8
10:15-10:35	<b>Zsidó Balázs Zoltán</b> <i>Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiái Intézet, Farmakoinformatikai Tanszék</i> AZ ADAMANTÁN TÍPUSÚ VEGYÜLETEK KÖTÖDÉSI MECHANIZMUSA A SARS-COV-2 IONCSATORNÁJÁHOZ	9
10:35-11:00	<i>Kávészünet</i>	

11:00-12:40	<b>II. szekció: A lipid környezet receptoraktivációt befolyásoló hatása</b> <i>Üléselnökök: Szőke Éva, PTE ÁOK és Tóth István Balázs, DE ÁOK</i>	
11:00-11:20	<b>Sántha Péter</b> <i>Szegedi Tudományegyetem, SZAOK Élettani Intézet</i> A MEMBRÁN GANGLIOZIDOK SZEREPE A NOCICEPTÍV PRIMÉR AFFERENS NEURONOK MŰKÖDÉSÉBEN	10
11:20-11:40	<b>Varga Zoltán</b> <i>Debreceni Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet</i> A KOLESZTERIN MEMBRÁNFEHÉRJÉKRE KIFEJTETETT KÖZVETLEN ÉS KÖZVETETT HATÁSAI	11
11:40-12:00	<b>Zákány Florina</b> <i>Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet</i> CIKLODEXTRINEK: EGYSZERŰ VIVŐ-ANYAGOK VAGY TERÁPIÁS POTENCIÁLLAL BÍRÓ AKTÍV VEGYÜLETEK?	12
12:00-12:20	<b>Nehr-Majoros Andrea</b> <i>PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Farmakoinformatikai Tanszék</i> CIKLODEXTRIN SZÁRMAZÉKOK HATÁSA A TRANZIENS RECEPTOR POTENCIÁL IONCSATORNAAKTIVÁCIÓRA ÉS MITOKONDRIÁLIS AKTIVÁCIÓRA	13
12:20-12:40	<b>Tóth István Balázs</b> <i>Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet</i> FOSZFOINOZITÓLOK SZEREPE A TRPM3 IONCSATORNA AKTIVÁCIÓJÁBAN	14
12:45-13:45	<i>Ebédszünet</i>	
<b>14:00-16:00</b>	<b>POSZTER SZEKCIÓ I.</b> <b>(páratlan számú poszterek bemutatása)</b>	
17:00-19:00	<i>Püspöki Palota látogatása a Palota Pince borainak kóstolásával. (Sümege, Szent István tér 8.)</i>	
19:00-21:00	<i>Büfévacsona a Hotel Kapitányban</i>	

## 2023. május 18., csütörtök

<b>8:30-10:10</b>	<b>III. szekció: Anorganikus anyagok és membrán működés</b> <i>Üléselnökök: Gallyas Ferenc PTE ÁOK és Sipos Katalin PTE, GyTK</i>	
08:30-08:50	<b>Sipos Katalin</b> <i>Pécsi Tudományegyetem, GYTK, Gyógyszerészi Biológiai Tanszék</i> AZ SH-SY5Y NEUROBLASTOMA SEJTEK VAS METABOLIZMUSÁNAK VÁLTOZÁSA KÜLÖNBÖZŐ KEZELÉSEK HATÁSÁRA	15
08:50-09:10	<b>Erdélyi Katalin</b> <i>Országos Onkológiai Intézet, Budapest</i> TRANSSZULFURÁCIÓ JELENTŐSÉGE TRIPLE-NEGATÍV EMLŐTUMOROK PROGRESSZIÓJÁBAN	16
09:10-09:30	<b>Hajdinák Péter</b> <i>Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék</i> HOGYAN LESZ A VASBÓL ROSDA	17
09:30-09:50	<b>Gallyas Ferenc</b> <i>Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet</i> GAZOTRANSZMITTEREK BIOLÓGIAI RENDSZEREKBE	18
09:50-10:10	<b>Gaszler Péter</b> <i>Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Biofizikai Intézet</i> SZERKEZET-FUNKCIÓ KOORDINÁCIÓ GELSOLIN HOMOLÓGIA DOMÉN FEHÉRJÉKBEN: A KALCIUM SZEREPE	19
10:10-10:40	<i>Kávészünet</i>	

10:40-12:20	<b>IV. szekció: Szövetfejlődés, regeneráció</b> <b>Üléselnökök: Balogh Péter PTE ÁOK</b> <b>és Szondy Zsuzsanna DE ÁOK</b>	
10:40-11:00	<b>Engelmann Péter</b> <i>Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet</i> AZ EISENIA ANDREI BETA-CATENIN HOMOLÓG SZEREPE AZ EMBRIOGENEZISBEN, SZÖVETI REGENERÁCIÓBAN ÉS AZ ANTIMIKROBIÁLIS IMMUNITÁSBAN	20
11:00-11:20	<b>Apáti Ágota</b> <i>Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest</i> KARDIOVASZKULÁRIS BETEGSÉGEK PLURIPOTENS ÖSSEJT-ALAPÚ MODELLEZÉSE	21
11:20-11:40	<b>Nagy Nándor</b> <i>Semmelweis Egyetem, ÁOK, Anatómiai, Szövet és Fejlődéstani Intézet, Budapest</i> A BÉLIDEGRENSZERT KÉPZŐ IDEGI ÖSSEJTEK KARAKTERIZÁLÁSA TRANZSKRIPTOMIKAI ÉS EMBRYOMANIPULÁCIÓS MÓDSZEREKKEL	22
11:40-12:00	<b>Jakus Zoltán</b> <i>Semmelweis Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet, Budapest</i> A SZERVSPECIFIKUS NYIROKÉR-NÖVEKEDÉS ÉS FUNKCIÓ MODULÁLÁSA NUKLEOZID-MÓDOSÍTOTT MRNS-EK SEGÍTSÉGÉVEL	23
12:00-12:20	<b>Balogh Péter</b> <i>Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet</i> A PERIFÉRIÁS NYIROKSZÖVETEK ÉRMINTÁZAT-SPECIALIZÁCIÓJA, MINT A SZÖVET-SPECIFIKUS IMMUNOLÓGIAI FUNKCIÓ MEGHATÁROZÓJA	24
12:30-13:30	<i>Ebédszünet</i>	

13:30-15:10	<b>V. szekció: Jelátviteli folyamatok zavarai az immunrendszer működésében</b> <b>Üléelnökök: Berki Tímea, PTE ÁOK</b> <b>és Szondy Zsuzsa, DE ÁOK</b>	
13:30-13:50	<b>Koncz Gábor</b> <i>Debreceni Egyetem, ÁOK, Immunológiai Intézet</i> <b>A SZABÁLYOZOTT NEKROTIKUS SEJTHALÁL FOLYAMATOK SZEREPE A GYULLADÁS SZABÁLYOZÁSÁBAN</b>	25
13:50-14:10	<b>Mázló Anett</b> <i>Debreceni Egyetem, ÁOK, Immunológiai Intézet</i> <b>A SZABÁLYOZOTT SEJTHALÁL FOLYAMATOK HATÁSA AZ IMMUNVÁLASZ POLARIZÁCIÓJÁRA</b>	26
14:10-14:30	<b>Szondy Zsuzsa</b> <i>Debreceni Egyetem, FOK, Fogorvosi Biokémiai Nemönálló Tanszék</i> <b>AZ ELHALT SEJTEK ELTAKARÍTÁSÁNAK SZEREPE A REGENERATIV GYULLADÁS SZABÁLYOZÁSÁBAN</b>	27
14:30-14:50	<b>Boldizsár Ferenc</b> <i>Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet</i> <b>JELÁTVITELI ÚTVONALAK SZABÁLYOZÁSI ZAVARAI RA-BAN</b>	28
14:50-15:10	<b>Tímár József</b> <i>Semmelweis Egyetem, Patológiai, Igazságügyi és Biztosítási Orvostani Intézete, Budapest</i> <b>A ROSSZINDULATÚ DAGANATOK FENOTÍPUSÁNAK PLASZTICITÁSA ÉS AZ IMMUNOGÉN MIMIKRI JELENSÉGE</b>	29
15:15-17:00	<b>POSZTER SZEKCIÓ II.</b> <b>(páros számú poszterek bemutatása)</b>	
19:30-24:00	<i>Gálavacsora zenével</i> Közben: Poszter díjak kihirdetése	

**2023. május 19., péntek**

---

**10:00-11:30 IV. szekció: Fiatalok fóruma**

---

Díjnyertes posztetek előadása

---

11:30-12:00 A konferencia zárása

**Németh Péter**

---

Meghívás a 2024-es konferenciára

---

# Előadások



## 1

## WALTZ AROUND THE CYCLE. A CITRÁTKÖR A BIOKÉMIA HAMLETJE

**Tretter László***Semmelweis Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Orvosi Biokémiai Tanszék*

A citrátkör az a folyamat, amelyről minden magyar természettudományos alapműveltséggel rendelkező tudja, hogy létezik, és összekapcsolja Szent-Györgyi Alberttel. A citrátkör az intermedier anyagcserének valószínűleg a legfontosabb csomópontja. A citrátkörrel foglalkozó tudományos művek és interpretációk száma talán a Hamlettel kapcsolatos közlemények számát is eléri, de a pontos összehasonlítást megnehezíti, hogy a citrátkörnek több elnevezése van mint Hamletnek. Felfedezésében, leírásában valószínűleg a legfontosabb műszer a manométer volt. Hans Krebs zsenije átírta az aritmetikát „4+3-ból végül 6 lesz”, posztulálta, és tényleg így lett. A citrátkör nyolc ajtájánál általában nagy a tülekedés, a leszállók és felszállók tankönyvekbe rendezése több évtizedig is eltartott, így, bár a kör a kötelező olvasmányok sorsára látszott jutni, a 20 évvel korábbi vizsgatételek felhasználásával nem nagyon lehetett jelest kapni. Évtizedeket vett igénybe a kör megalkotása, majd ezután kutathattuk, hogy szervektől függően mi nincs a körben. Akinek ennyi jó kevés, az megtanulhatta, hogy a kör deficienciái, mutációi daganatképződéshez is vezetnek. Nemcsak a mitokondriokratáké a kör, mondták a demokraták, és felfedezték a kör izoenzimeit az extramitokondriális térben. De, hogy ne fitymáljuk le eme felfedezést, az izoenzimek rejtett (moonlighting) arcait is megmutatták. Miniket akartok kihagyni – háborodtak fel a molekuláris biológusok, és előhúzták az epigenetikát. A guta üssön meg, vagy infarktust kapjak – hezitált akinek eddig nem osztottak lapot, és belemerült az iszkémia-reperfúzió és a kör vizsgálatába. Sir Hans és Szent-Györgyi pedig citromos teát szürcsölgetve olvasgatják a közleményeket az aszkorbinsav és a citrátkör kapcsolatáról.



## ENERGY SPILLOVER BETWEEN PHOTOSYSTEMS II AND I IN NATIVE AND RECONSTITUTED MODEL MEMBRANES OF CYANOBACTERIA

**Parveen Akhtar**<sup>1</sup>, Fanny Balog-Vig<sup>1</sup>, Guangye Han<sup>2</sup>, Jian-Ren Shen<sup>2,3</sup>, Petar H. Lambrev<sup>1</sup>

2

<sup>1</sup>*Institute of Plant Biology, Biological Research Centre, Szeged, Hungary*

<sup>2</sup>*Photosynthesis Research Center, Key Laboratory of Photobiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China*

<sup>3</sup>*Research Institute for Interdisciplinary Science, Okayama University, Okayama, Japan*

The light reactions of photosynthesis are carried out by protein complexes in the thylakoid membranes, such as the two photosystems. In most photosynthetic organisms, the two photosystems, PSI and PSII, are equipped with separate light-harvesting antenna systems, including peripheral light-harvesting complexes whose abundance, composition and function is dynamically regulated to maintain balanced energy flux to the photochemical reaction centres. Balancing the excitation flux is facilitated by the physical separation of the two photosystems and their antenna complexes. It has been argued that the separation of the antenna systems of PSI and PSII is essential for efficient photosynthesis, because the kinetics of trapping of excitation energy is much faster in PSI than in PSII and locating the two antenna systems at short distances would lead to an uncontrolled flow of energy from PSII to PSI.

Cyanobacteria are one of the primary biomass producers and a biotechnologically important group of photosynthetic organisms. Cyanobacterial thylakoid membranes do not separate into appressed and non-appressed regions that enforce strict spatial separation between the photosystems, as in higher plants. The coexistence of the two photosystems provides a ground for spillover - excitation energy transfer from photosystem II to I. Spillover has been considered as a pathway of energy transport from the phycobilisomes to PSI and may also play a role in state transitions as means to avoid overexcitation of PSII but has not been quantitatively analysed in cyanobacteria so far. Here we quantify energy spillover from PSII to PSI in isolated thylakoid membranes of two cyanobacterial species, *Thermosynechococcus vulcanus* and *Synechocystis* sp. PCC 6803, by steady-state and time-resolved fluorescence spectroscopy. We compared two approaches to quantify the spillover in quantum yield terms: 1) by using reconstituted model membranes with PSI and PSII as a reference for the relative fluorescence yields of the two photosystems and, 2) by modelling the picosecond fluorescence kinetics of native and reconstituted membranes. The results show that around 30% of the energy absorbed by PSII is transferred to PSI in thylakoid membranes of *Thermosynechococcus vulcanus* and

around 25% in *Synechocystis* sp. PCC 6803. Our results show that a significant fraction of energy absorbed by PSII can be lost by spillover in the cyanobacterial thylakoid membranes. The study also defines an experimental approach that can be applied further to evaluate the spillover in intact cells and assess its role in the light regulation of photosynthesis in cyanobacteria and in other photosynthetic organisms.

**Acknowledgements:** The work was supported by grants from the National Research, Development and Innovation Fund (NKFI FK-139067 to PA and 2018-1.2.1-NKP-2018-00009 to PHL) and the Eötvös Loránd Research Network (SA-76/2021 to PA).

## 3

## A VEKLURY® (REMDESIVIR) FORMULÁCIÓK CIKLODEXTRIN TARTALMUK RÉVÉN GÁTOLJÁK A SARS- COV-2 TŰSKEFEHÉRJÉK ACE2 KÖTÉSÉT ÉS FELVÉTELÉT

**Zákány Florina<sup>1</sup>**, Kovács Tamás<sup>1</sup>, Kurtán Kitti<sup>1</sup>, Varga Zoltán<sup>1</sup>, Nagy Péter<sup>1</sup>, Panyi György<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen*

A súlyos lefolyású COVID-19 betegség terápiájában az első elfogadott gyógyszer a remdesivirt (REM) tartalmazó Veklury® volt, amelyet porként vagy koncentrált oldatként infúzióban alkalmaznak. Azonos mennyiségű REM mellett mindkét formuláció jelentős mennyiségű (3-6g) szulfobutiléter-béta-ciklodextrint (SBECD) tartalmaz, melynek szerumbeli koncentrációja a terápia során mM-os nagyságrendet is elérhet. A SARS-CoV-2 sejtekbe történő tüskefehérje által mediált bejutásának kapui a lipidtutajok, amelyekben a tüskefehérje receptoraként szolgáló ACE2 és a sejtbe jutást segítő TMPRSS2 proteáz dúsul.

A CD-ek koleszterinkivonó képességük révén a lipidtutajok roncsolásával képesek csökkenteni számos fehérje lipidtutajbeli lokalizációját. Azt vizsgáltuk, hogy különböző CD-ek és Veklury® formulációk hogyan befolyásolják az ACE2 és a TMPRSS2 lipidtutajokkal való asszociációját, továbbá a vad típusú, delta és omikron variánsú SARS-CoV-2 tüskefehérjék ACE2 kötését és sejtbe történő felvételét.

HEK/ACE2+TMPRSS2 sejtekről készített konfokális mikroszkópiás felvételeken Pearson-féle korrelációs koefficiens meghatározásával kimutattuk, hogy különböző CD-ek (MBCD,HPBCD,SBECD) és Veklury® formulációk terápiásan releváns koncentrációkban alkalmazva szignifikánsan csökkentik az ACE2 és TMPRSS2 lipidtutajokkal és egymással való kolokalizációját, míg a REM önmagában hatástalan. Áramlási citometria során mind HEK/ACE2+TMPRSS2, mind Calu-3 tüdő adenokarcinóma sejteken a CD-ek és Veklury® formulációk dóziszfüggően csökkentették a mindhárom tüskefehérje ACE2 kötését, hasonlóan azok felvételéhez, amelyet háromdimenziós kvantitatív képelemzés segítségével vizsgáltunk.

A Veklury® formulációk és a CD-ek terápiásan releváns koncentrációban alkalmazva az ACE2, TMPRSS2 és lipidtutajok asszociációjának csökkentése mellett gátolják a különböző variánsú SARS-CoV-2 tüskefehérjék ACE2 kötését és felvételét. Kétszeres CD tartalma révén a Veklury® oldat hatékonyabban gátolja a fenti folyamatokat, ami felhívja a figyelmet a CD-ek terápiás potenciáljára, valamint a kétféle Veklury® formuláció esetleges *in vivo* hatékonyságbeli különbségeire.

ÚNKP-22-4-II-DE-69,OTKA FK143400

CD:ciklodextrin,MBCD:metil-béta-ciklodextrin,HPBCD:hidroxipropil-béta-ciklodextrin, REM:remdesivir,SBECD:szulfobutiléter-béta-ciklodextrin

## 4

## MOLEKULÁRIS ÁTRENDEZŐDÉSEK AZ S6 HÉLIXBEN A SHAKER-IR KÁLIUMCSATORNA LASSÚ INAKTIVÁCIÓJA SORÁN

**Panyi György<sup>1</sup>**, Szántó G. Tibor<sup>1</sup>, Zákány Florina<sup>1</sup>, Papp Ferenc<sup>1</sup>, Varga Zoltán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem. ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen*

A feszültség kapuzott  $K^+$  csatornában az ionok áramlását különböző kapuk szabályozzák: az aktivációs kapu (A-kapu), amelyet az S6 transzmembrán hélixek keresztjeződése alkot, és a szelektivitási szűrőben található lassú inaktivációs kapu. Ez a két kapu kétirányúan kapcsolódik egymáshoz. Ha a kapuk közötti csatolást az S6 transzmembrán szegmens átrendeződése közvetíti, akkor kapuzási állapottól függő változásokat feltételezhetünk az S6 hélixet alkotó aminosav oldalláncok hozzáférhetőségében a csatorna vízzel telt ürege felől.

Ennek teszteléséhez egyenként ciszteinekkal helyettesítettük az S6 hélixben az A471, L472 és P473 pozícióit T449A mutációt is tartalmazó Shaker-IR csatornában, és meghatároztuk e ciszteinek hozzáférhetőségét inside-out patch konfigurációban a patch-ek citoszolikus felületére alkalmazott MTSET és MTSEA ciszteinmódosító reagensekre vonatkozóan. Megállapítottuk, hogy egyik reagens sem módosította egyik ciszteint sem a csatornák zárt vagy nyitott állapotában. Ezzel szemben az A471C-t és a P473C-t az MTSEA módosította, ha nyitott A-kapuvál rendelkező inaktivált csatornákon (OI állapot) alkalmaztuk. Ugyanilyen körülmények között az L472C módosítása nem következett be, míg az MTSET egyik ciszteint sem módosította a csatornák OI kapuzási állapotában.

Korábbi eredményeinkkel azt mutatták, hogy szintén az S6 hélixben található I470C és V474C hozzáférhetősége csökkent az OI állapotban MTSET és MTSEA reagensek számára a nyitott állapotban mért hozzáférhetőséghez képest. A korábbi és jelen eredmények kombinációja arra utal, hogy az A-kapu és a lassú inaktivációs kapu közötti kapcsolást az S6 szegmens átrendeződései közvetítik. Az S6 átrendeződése egy olyan modellel van összhangban ahol az S6 a csatorna inaktivációjakor merev rúdként elfordul saját hossz tengelye körül.

MTSET: Ethyltrimethylammonium methanethiosulfonate. MTSEA: ethylammonium methanethiosulfonate

## 5

## TMALPHAFOLD ADATBÁZIS: AZ ALPHAFOLD2 ÁLTAL BECSÜLT TRANZMEMBRÁN FEHÉRJE SZERKEZETEK ÉRTÉKELÉSE

**Tusnádý Gábor**<sup>1</sup>, Dobson László<sup>1</sup>, Szekeres Levente<sup>1</sup>, Gerdán Csongor<sup>1</sup>, Langó Tamás<sup>1</sup>, Zeke András<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Fehérje Bioinformatika Kutatócsoport, Budapest*

A mesterséges intelligencia, és azon belül az AlphaFold2 (AF2) új fejezetet nyitott a fehérjeszerkezet becslés területén, megreformálva a szerkezeti biológia számos területét. Mivel a transzmembrán fehérjék hagyományos szerkezet becslési eljárásai bonyolultak és jelentős hibával terheltek voltak, az AF2 nagy segítséget jelent a tudományos közösség számára. A viszonylag csekély számú kísérletes szerkezetet kiegészítve az AF2 több ezer új alfa-helikális membránfehérje 3D becslését biztosítja. A megbízható szerkezeti sablonok/templátok hiánya és az a tény, hogy az AF2-t nem tanították a membrán és vizes közeg fázishatárán lévő transzmembrán fehérjék speciális tulajdonságainak a kezelésére, szükségessé teszi a becslő szerkezetek helyességének értékelését. A munkacsoportunk által fejlesztett Transmembrane AlphaFold adatbázisban (TmAlphaFold adatbázis), egy általunk korábban készített eljárás, a TMDET segítségével egy egyszerű geometria-alapú módszert alkalmaztunk a fehérjék membránban való elhelyezkedésének a becslésére. A legvalószínűbb membránsík becslésén felül számos módon értékeljük a szerkezeteket, azokat öt megbízhatósági kategóriába rendezve. Eredményeink alapján az AF2 átlagosan nagy pontossággal képes megbecsülni a transzmembrán fehérjék szerkezetét, de sikerült néhány tipikus hibát azonosítani, amely hibák azonosítása előkészíti az utat egy még pontosabb szerkezetbecslő eljárás elkészítéséhez.

## A SARS COV-2 E FEHÉRJE ÉS A HUMÁN SERCA PUMPA MOLEKULÁRIS KÖLCSÖNHATÁSAI

**Hegedűs Tamás**<sup>1,2</sup>, Berta Blanka<sup>1</sup>, Tordai Hedvig<sup>1</sup>, Suhajda Erzsébet<sup>1</sup>, Lukács Gergely<sup>3</sup>, Papp Béla<sup>4</sup>, Enyedi Ágnes<sup>5</sup>, Padányi Rita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest;*

<sup>2</sup>*ELKH-SE Biofizikai Virologia Kutatócsoport, Budapest;*

<sup>3</sup>*Department of Physiology McGill University, McGill University, Montreal;*

<sup>4</sup>*U976, Inserm, CEA SRHI, Institut de Recherche Saint-Louis, Párizs;*

<sup>5</sup>*Transzfuziológiai Tanszék, Semmelweis Egyetem, Budapest*

6

A SARS CoV-2 vakcinák fejlesztése mellett továbbra is fontos a gyógyszercélpontként is szóba jöhető vírusfehérjék patomechanizmusban játszott szerepének a tanulmányozása. A vírus burokfehérjéje (E fehérje) szerepet játszik a virion összeszerelésében, PDZ fehérjékkel való kölcsönhatásokban és az iontranszportban is, ennek ellenére a vírus egyéb fehérjéihez képest kevésbé tanulmányozott. Arról, hogy az E fehérje hogyan befolyásolja a fertőzött sejtek ionháztartását, eltérő feltételezések vannak. Egyes kutatók szerint ioncsatornákat alkot, míg más tanulmányok alapján az ionáramot közvetett módon befolyásolja. Mivel harmadlagos és negyedleges szerkezete nagymértékben hasonlít a SERCA kalcium pumpát szabályozó regulinok szerkezetéhez (pl. phospholamban és endoregulin), ezért feltételezzük, hogy az E fehérje exo-regulinként két eltérő szinten lehet hatással a sejtek kalciumháztartására. Egyrészt kötődhet a SERCA pumpához, másrészt regulinokkal heteromereket alkotva befolyásolhatja a szabad regulin monomerek koncentrációját. Ezeket a kölcsönhatásokat FRET kísérletekkel és számítási biológiai módszerekkel vizsgáltuk. Dokkolással prediktáltuk a SERCA-regulin komplexek szerkezetét, amelyek molekula dinamika szimulációkban stabilnak mutatkoztak. A fehérje-fehérje kölcsönhatások funkcionális relevanciáját kalcium-mérésekkel támasztottuk alá. Eredményeink arra utalnak, hogy HeLa sejtekben a tranziensen transzfektált E fehérje nem viroporinként hat a kalciumháztartásra, hanem a SERCA működését gátolja. Az E fehérje patofiziológiai hatásainak és ezek molekuláris mechanizmusainak felderítése hozzájárul a fertőzés során fellépő szövődmények megértéséhez és kezelések kifejlesztéséhez.

SARS Cov-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, PDZ: post synaptic density protein (PSD95), Drosophila disc large tumor suppressor (Dlg1), and zonula occludens-1 protein (ZO-1), SERCA: sarco/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase FRET: fluorescence resonance energy transfer

Támogatás: NKFIH 127961 és 137610

7

## A PMCA4B $Ca^{2+}$ TRANSZPORTER ÉS A BASIGIN FEHÉRJE KOMPLEX SZEREPE A SEJTPOLARIZÁCIÓ SZABÁLYOZÁSÁBAN

**Enyedi Ágnes<sup>1</sup>**, Tóth Sarolta<sup>1</sup>, Kaszás Diána<sup>2</sup>, Sónyák János<sup>1</sup>, Nagy Réka<sup>1</sup>, Padányi Rita<sup>3</sup>, Hegedűs Tamás<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>*Transzfuziológiai Tanszék, Semmelweis Egyetem, Budapest;*

<sup>2</sup>*Élettani Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest;*

<sup>3</sup>*Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest;*

<sup>4</sup>*ELKH-SE Biofizikai Virologia Kutatócsoport, Budapest*

A P-típusú ATPázok családjába tartozó plazmamembrán  $Ca^{2+}$  ATPáz (PMCA/ATP2B) fehérjét 4 gén kódolja és alternatív splice következtében több mint 20-féle variánsuk fejeződik ki a különböző sejtekben, szövetekben. Ezek közül a minden sejttypusban megtalálható PMCA1 felelős a  $Ca^{2+}$  homeosztázis fenntartásért, míg a többi izoforma sejt-specifikus folyamatokban is részt vesz. Az elmúlt évek izgalmas felfedezése, hogy a basigin és az idegsejtekben található neuropasztin sejt felszíni glikoproteineket a PMCA alegységeként azonosították. Ezt követően meghatározták a PMCA neuropaszttinnal alkotott komplexének első krio-elektronmikroszkópos szerkezetét, mi pedig az AlphaFold mesterséges intelligencia segítségével modelleztük a PMCA-basigin komplex térszerkezetét is. A PMCA fehérjék C-terminális rendezetlen fehérje szakaszán számtalan regulációban szerepet játszó motívum található. Legrégbben ismert a kalmodulin-kötő motívum, ami a fehérje aktivitását szabályozza, míg a „b” splice variánsok C-terminálisán található PDZ domén-kötő motívum állványfehérjék közvetítésével a PMCA megfelelő szignalizációs komplexekbe szerveződésében játszik szerepet. Az általunk jelenleg vizsgált PMCA4b variáns ebben a rendezetlen régióban tartalmaz egy ún. di-leucin motívumot, amely a fehérje internalizációját és reciklizációját szabályozza, ezzel is segítve a fehérje speciális membrán kompartmentekbe jutását. Munkatársainkkal a PMCA4b izoformát elsőként azonosítottuk áttétképzést gátló fehérjeként BRAFV600E mutációt hordozó melanóma sejtekben. Jelen kísérleteink azt mutatják, hogy a PMCA4b részt vesz a sejt polarizáció kialakulásában, illetve megtartásában, és ebben a C-terminális PDZ-kötő és di-leucin motívumok fontos szerepet játszanak. A PMCA4b-t túltermelő mellrák eredetű sejttenyészetekben számos lumen-szerű struktúra képződését detektáltuk, ami arra utal, hogy ezek a sejtek normál szövetre jellemző szerveződést mutatnak. Kísérleteinkkel olyan szabályozó molekuláris mechanizmusokat igyekszünk feltárni, melyek a sejt polaritás megővését célozzák korai stádiumú, epitél eredetű mellrák típusokban.

Támogatás: NKFI K135811, K127961, K137610 és TKP2021-EGA-24.

PMCA4b, plazmamembrán  $Ca^{2+}$  ATPáz 4b splice variáns; PDZ: post synaptic density; BRAF, v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B

MEMBRÁN TRANSPORTER-KUTATÁS  
GYÓGYSZERHATÓSÁGI KÖRNYEZETBEN**Krajcsi Péter***Semmelweis Egyetem, Egészségtudományi Kar*

A membrán transzporterek területe a gyógyszerkutatás és a gyógyszerhatóságok figyelmének középpontjába került az utóbbi évtizedekben. A gyógyszerhatóságok, gyógyszeripar és az akadémiai / egyetemi szektor együttműködése eredményeképpen az ajánlások komoly fejlődésen mentek át ezalatt az idő alatt.

Az előadás röviden ismerteti a gyógyszer - transzporter kölcsönhatás tesztelésére és jellemzésére használt legfontosabb módszereket és szempontokat a gyógyszerek ADMETox sajátságainak leírására.

A membrán transzportereknek fontos fiziológiás szubsztrátjai is vannak, így a transzporterek jelentős szerepet játszanak ezen szubsztrátok homeosztázisában. A transzporter funkció gátlása toxicitáshoz, adverz reakciókhoz vezethet. A transzporterek fiziológiás szubsztrátok transzportjának specifitására, illetve a transzport gátlások jelentőségének megítélésére a gyógyszerek transzportjára és a gyógyszer – gyógyszer kölcsönhatások értékelésére érvényes szabályok alkalmazásával tesz kísérletet az előadás.



## AZ ADAMANTÁN TÍPUSÚ VEGYÜLETEK KÖTŐDÉSI MECHANIZMUSA A SARS-COV-2 IONCSATORNÁJÁHOZ

**Zsidó Balázs Zoltán**, Börzsei Rita, Szél Viktor, Mohos Violetta, Hetényi Csaba

*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Farmakoinformatikai Tanszék, Pécs, 7624, Szigeti út. 12.*

A SARS-CoV-2 által okozott világvjárvány felhívta a figyelmet a gyógyszertervezés gyors reakciójának szükségességére. Jelenleg a gyógyszertervezési oldalról a gyógyszerrepozíciós vizsgálatok biztosítják a leggyorsabb reakciós lehetőséget az új igényekre. Ahogy a járvány elején végzett klinikai vizsgálatok tanulságaiból láttuk, nagyon fontos, hogy a gyógyszerrepozíció célpont alapú legyen. Ez azt jelenti, hogy az új indikációban alkalmazni kívánt gyógyszer régi és új célpontjának működésének meg kell egyeznie. Sok vírusban található transzmembrán ioncsatorna, az ezeket felépítő aminosavak ugyan eltérnek egymástól, de a funkció minden esetben a biológiai membrán két oldala közötti ionáramlás biztosítása. Az ionkondukciónak gátlására alkalmas gyógyszereket vizsgáltuk számítógépes módszerekkel, annak érdekében, hogy választ kapjunk, jó kiindulási pontot képeznek-e ezek a vegyületek a célpont alapú gyógyszerrepozícióhoz. A kutatás során létrehoztunk egy új módszert, a HydroDock-ot, amely képes előállítani jelenleg egyedülként hidratált ioncsatorna-gyógyszer komplex szerkezeteket atomi felbontásban, anélkül, hogy ehhez szüksége lenne bármilyen előzetes információra a szerkezeti vizek atomi pozícióival kapcsolatban. A módszert kísérletes eredményekhez viszonyítva sikeresen validáltuk, majd előállítottuk vele az adamantán típusú vegyületek kötődési módjait a SARS-CoV-2 ioncsatornához. A kötődési módok előállítása során a kötődési mechanizmusokkal kapcsolatban is olyan információkhoz jutottunk, amelyek a jövőbeni gyógyszertervezés sikerességét segíthetik. Az említett jövőbeni projektet számára mind a vízmolekulák, mind az egyéb vírusok felépítésével kapcsolatos szakirodalmi áttekintés szükséges.

SARS-CoV-2: Severe respiratory syndrome coronavirus 2

MEMBRÁN GANGLIOZIDOK SZEREPE A NOCICEPTÍV  
PRIMÉR AFFERENS NEURONOK MŰKÖDÉSÉBEN**Sántha Péter**, Oszlács Orsolya, Dobos Ildikó, Jancsó Gábor*Szegedi Tudományegyetem, Élettani Intézet, Szeged*

A nociceptív elsődleges érző neuronok fő funkciója a fájdalmat keltő, potenciálisan szövetkárosító ingerek detektálása. A nociceptor membrán működésének befolyásolása ezért a fájdalomcsillapítás célzott perifériás támadáspontjának is tekinthető. Az utóbbi évtizedekben a fájdalomérzés sejt(membrán) szintű transzdukciós mechanizmusainak tisztázása forradalmi előrehaladást mutatott, amelyben alapvető szerepe volt a capsaicin alkalmazásának és a capsaicin receptor, a TRPV1 ioncsatorna identifikálásának (Orvosi és élettani Nobel díj 2021).

Kísérleteink célját az idegsérüléseket követően jelentős változásokat mutató membrán gangliozidok, elsősorban a GM1 szerepének a nociceptor membrán működésében betöltött szerepének tisztázása képezte.

Patkány elsődleges érző neuron kultúrákon végzett funkcionális és morfológiai vizsgálataink igazolták, hogy a gangliozid szintézis kulcs enzimének tartott GCS enzim D-PDMP-vel történő farmakológiai gátlása jelentősen csökkenti a capsaicinnel, illetve endogén vanilloid ligandumokkal kiváltott TRPV1 aktivációt. Kimutattuk továbbá, hogy a D-PDMP előkezelés gátolja a szenzoros neuronokból capsaicinnel kiváltott CGRP felszabadulást is. A változás hátterében részben a TRPV1 fehérje expressziójának csökkenése áll, amely összefüggésben állhat az NGF érző neuronokra kifejttet hatásának GM1 depléciót követő csökkenésével. A neurotrofikus hatás gátlására utal az a megfigyelésünk is, hogy a GM1 depléció jelentősen csökkenti a szenzoros neuronok neurit növekedését.

Eredményeink igazolták, hogy a membrán lipid raft alkotó GM1 gangliozid, és esetlegesen további szfingolipid komponensek farmakológiai manipulációja jelentősen befolyásolja a nociceptív szenzoros neuronok érző (afferens) és szekretoros (efferens) funkcióit. Jelenleg is folyó kísérleteinkben tanulmányozzuk, hogy perifériás idegsérüléseket követően milyen, a nociceptor funkció szempontjából releváns változások figyelhetők meg a szenzoros neuronok gangliozid metabolizmusában. Eredményeink felhívják a figyelmet a szfingolipidek lehetséges szerepére a krónikus és a neuropátiás fájdalom mechanizmusában.

Támogató: NKFIH tematikus kutatási támogatás K-138568

## Rövidítések:

TRPV1: Tranziens receptor potenciál vanilloid 1 receptor

GCS: Glucosylceramid szintáz

D-PDMP: D-threo-1-Phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol

NGF: Nerve growth factor (idegnövekedési faktor)

CGRP: Calcitonin gene-rokon peptid

A KOLESZTERIN MEMBRÁNFEHÉRJÉKRE KIFEJTETETT  
KÖZVETLEN ÉS KÖZVETETT HATÁSAI.**Varga Zoltán***Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet*

A koleszterin a biológiai membránok egyik nélkülözhetetlen összetevője, mely nagymértékben befolyásolja a membrán biofizikai tulajdonságait és laterális heterogenitását, ezzel meghatározva a mikrodomének funkcionális diverzitását. A transzmembrán fehérjék, például ioncsatornák, transzporterek vagy receptorok működése során létrejövő molekuláris átrendeződések többsége a fehérjét körülvevő lipid kettősréteggel szoros együttműködésben megy végbe, így érzékeny annak koleszterintartalmára. A koleszterin és a transzmembrán fehérjék közötti kölcsönhatások két nagy csoportra oszthatók: a ligandszerű, közvetlen kölcsönhatásokra és a közvetett mechanizmusok széles spektrumára, melyek során a koleszterin a membrán biofizikai paramétereinek (fluiditás, merevség, vastagság, laterális nyomás, lipid rendezettség és dipólpotenciál), mikrodomén szerkezetének vagy a fehérjék expressziós szintjének megváltoztatása révén fejt ki hatását. Az előadásban e mechanizmusokat tekintem át példákon keresztül.

## CIKLODEXTRINEK: EGYSZERŰ VIVŐANYAGOK VAGY TERÁPIÁS POTENCIÁLLAL BÍRÓ AKTÍV VEGYÜLETEK?

**Zákány Florina<sup>1</sup>**, Kovács Tamás<sup>1</sup>, Nagy Péter<sup>1</sup>, Panyi György<sup>1</sup>, Szente

Lajos<sup>2</sup>, Varga Zoltán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen;*

<sup>2</sup>*CycloLab Cyclodextrin R&D Laboratory Ltd., Budapest*

A ciklodextrinek (CD) hat (alfa-CD), hét (béta-CD), illetve nyolc (gamma-CD) alfa-D-glükopiranoz egységből álló ciklikus oligoszacharidok. Szerkezetük olyan csonkakúpként írható le, amely hidrofób belső üreggel és hidrofil külső felülettel rendelkezik, ezáltal lehetővé téve, hogy nemkovalens, vízben jól oldódó zárványkomplexeket képezzenek egyébként alacsony oldhatósággal rendelkező gyógyszermolekulákkal és lipidekkel. Az alapvegyületek kémiai változatait (metil-béta-CD:MBCD, hidroxipropil-béta-CD:HPBCD, szulfobutiléter-béta-CD:SBECD) széles körben alkalmazzák vivőanyagként (javítva számos gyógyszermolekula oldhatóságát, stabilitását és biológiai hozzáférhetőségét), valamint a membrán koleszterinszintjének szelektív csökkentésére a kutatói és az orvosi gyakorlatban egyaránt.

Klinikai alkalmazásuk során a CD-eket többnyire inert hordozóknak tekintik, annak ellenére, hogy nemcsak kismolekulákkal, hanem a formulálás ellenére lipidekkel és fehérjékkel is kölcsönhatásba léphetnek *in vivo*, kiváltképp, hogy alkalmazásuk során jelentős, akár mM-os szérumkoncentrációt is elérhetnek.

Ismert, hogy a CD-ek képesek a fehérjékhez közvetlenül kötődni főként aromás aminosavakon keresztül módosítva azok működését, viszont a direkt fehérjehatások gyakorlatilag teljesen kiaknázatlanok a klinikumban óriási potenciáljuk ellenére. Továbbá azáltal, hogy képesek a koleszterinnel komplexet képezni, a CD-ek csökkentik a membránok koleszterintartalmát, így közvetett módon is befolyásolhatják a transzmembrán fehérjék működését a membránok biofizikai tulajdonságainak, illetve laterális heterogenitásának módosítása révén. Legutóbbi munkánk során kimutattuk, hogy a CD-ek a KV1.3 ioncsatorna pórusához kötődve képesek direkt módon gátolni az ionáramot azon túl, hogy a membrán koleszterintartalmának módosításán keresztül indirekten is befolyásolják a csatorna működését.

Végezetül rövid áttekintést adunk olyan patológiás állapotokról, mint a C-típusú Niemann-Pick betegség, az Alzheimer-és Parkinson-kór, valamint a COVID-19, amelyekben a CD-eket már aktív terápiás szerként alkalmazzák, vagy azzá válhatnak a jövőben a koleszterinnel való komplexképzés vagy a direkt fehérje kölcsönhatásaik révén.

ÚNKP-22-4-II-DE-69, OTKA FK143400

CD:ciklodextrin,MBCD:metil-béta-ciklodextrin,HPBCD:hidroxipropil-béta-ciklodextrin,SBECD:szulfobutiléter-béta-ciklodextrin

## TRPA1 ÉS TRPV1 RECEPTOROK AKTIVÁCIÓJÁNAK BEFOLYÁSOLÁSA LIPID RAFTOKON KERESZTÜL

**Nehr-Majoros Andrea Kinga<sup>1</sup>**, Steib Anita<sup>1</sup>, Helyes Zsuzsanna<sup>1</sup>, Szőke Éva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécs*

A Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1 (TRPA1) és Vanilloid 1 (TRPV1) a fájdalom integrációjában kulcsfontosságú nociceptorok (1). E nem-szelektív kationcsatornák primer szenzoros neuronok végződésein, koleszterinben és szfingolipidekben gazdag membrán mikrodoménekben, ún. lipid raftokban lokalizálódnak, ahol a rendezett lipid környezet facilitálja a receptor aktivációt (2). A ciklodextrinek (CD-k) ciklikus oligoszacharidok, melyek hidrofób üregük révén képesek koleszterinnel zárványkomplexet képezni (3).

Kutatócsoportunk leírta, hogy e lipid-fehérje kölcsönhatásokat metil-béta ciklodextrinnel (MCD) célozva koleszterin depléció által a raftok integritása megbontható, analgetikus hatást kiváltva különböző egér fájdalom modellekben (4,5).

CD származékok (random-metil- $\beta$ -ciklodextrin: RAMEB, (2-hidroxi-propil)- $\gamma$ -ciklodextrin: HPGCD, (2-hidroxi-propil)- $\beta$ -ciklodextrin: HPBCD, szulfobutil- $\beta$ -ciklodextrin: SBECD, (2-hidroxi-3-N, N, N-trimetilamino) propil- $\beta$ -ciklodextrin: QABCD, heptakis(2,6)-di-O-metil  $\beta$ -CD 50%-os és 95 %-os tisztaságú izomer keverékei: DIMEB-50 és DIMEB-95, heptakis (2,3,6)-tri-O-metil  $\beta$ -CD: TRIMEB) biztonságosságát, valamint funkcionális hatásait vizsgáltuk natív és transzfektált CHO (chinese hamster ovary) sejtvonalakban.

A származékok citotoxicitását CellTiter-Glo<sup>®</sup> Luminescent Cell Viability Assayben, mitokondriális aktivitásra kifejtett hatásukat MitoTracker<sup>™</sup> Red CMXRos fluoreszcens festéssel azonosítottuk. Koleszterin depletáló képességüket Filipin III fluoreszcens festéssel, receptor aktivációt befolyásoló hatásukat <sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>-izotóp beáramlás méréssel detektáltuk.

CellTiter-Glo<sup>®</sup> Assayben a metilezett származékok alacsonyabb (0,75-3,5 mM) koncentrációban szignifikánsan csökkentik a sejtek viabilitását, a nem-metilezett származékok 10 mM-os koncentrációig biztonságosak. 24 órás HPGCD, HPBCD, valamint QABCD (10 mM) kezelések hatására szignifikánsan megnőtt a MitoTracker<sup>™</sup> Red intenzitása, ami a sejtek növekedett mitokondriális aktivitására utalhat. A metilezett származékok mitokondriális diszfunkciót okoznak. A Filipin III festés eredményei bizonyítják a béta-CD származékok koleszterin depletáló hatását. CD kezelés után koncentrációfüggő módon csökkent a <sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>-izotóp beáramlás receptor-expresszáló sejtvonalakon, tehát a CD származékok általi lipid raft megbontás funkcionális gátló hatással bír.

Támogatások: TKP2021-EGA-16; TKP2021-EGA-13; RRF-2.3.1-21-2022-00015; ELKH-PTE Krónikus fájdalom kutatócsoport; NKFIH K 138936 ; ÚNKP-22-3-I-PTE-1616

### *Irodalomjegyzék*

1. Julius D. TRP channels and pain. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2013;29:355-84. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155833. PMID: 24099085.
2. Bobkov D, Semenova S. Impact of lipid rafts on transient receptor potential channel activities. *J Cell Physiol.* 2022 Apr;237(4):2034-2044. doi: 10.1002/jcp.30679. Epub 2022 Jan 10. PMID: 35014032.
3. Mahammad S, Parmryd I. Cholesterol depletion using methyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Methods Mol Biol.* 2015;1232:91-102. doi: 10.1007/978-1-4939-1752-5\_8. PMID: 25331130.
4. Horváth Á, Payrits M, Steib A, Kántás B, Biró-Süt T, Erostyák J, Makkai G, Sággy É, Helyes Z, Szőke É. Analgesic Effects of Lipid Raft Disruption by Sphingomyelinase and Myriocin via Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Ion Channel Modulation. *Front Pharmacol.* 2021 Jan 27;11:593319. doi: 10.3389/fphar.2020.593319. PMID: 33584270; PMCID: PMC7873636.
5. Horváth Á, Biró-Sütő T, Kántás B, Payrits M, Skoda-Földes R, Szánti-Pintér E, Helyes Z, Szőke É. Antinociceptive Effects of Lipid Raft Disruptors, a Novel Carboxamido-Steroid and Methyl  $\beta$ -Cyclodextrin, in Mice by Inhibiting Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Ankyrin 1 Channel Activation. *Front Physiol.* 2020 Sep 23;11:559109. doi: 10.3389/fphys.2020.559109. PMID: 33071817; PMCID: PMC7539994.

## FOSZFOINOZITOLOK SZEREPE A TRPM3 IONCSATORNA AKTIVÁCIÓJÁBAN

**Tóth István Balázs**, Maik Konrad<sup>3</sup>, Debapriya Ghosh<sup>2</sup>, Florian Mohr<sup>3</sup>, Christian R. Halaszovich<sup>3</sup>, Michael G. Leitner<sup>3</sup>, Joris Vriens<sup>2,4</sup>, Johannes Oberwinkler<sup>3</sup>, Thomas Voets<sup>2</sup>

14

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem ÁOK, Élettani Intézet, Debrecen*

<sup>2</sup>*KU Leuven, Laboratory of Ion Channel Research, Leuven (Belgium)*

<sup>3</sup>*Philipps-Universität Marburg, Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Marburg (Germany)*

<sup>4</sup>*KU Leuven, Laboratory of Obstetrics and Experimental Gynaecology, Leuven (Belgium)*

A tranziens receptor potenciál melasztatin 3 (TRPM3) egy hőérzékeny,  $\text{Ca}^{2+}$  ionokra is permeábilis nem-szelektív kationcsatorna, amit a fájdalmas meleg hőmérséklet mellett a neuroszteroid pregnenolon szulfát is aktivál. Aktivációja a pancreas béta sejteknél fokozza az inzulinelválasztást, a szomatoszenzoros neuronokon pedig szerepet játszik a fájdalmas hőingerek érzékelésében és gyulladás során a termális hiperalgézia kialakulásában, sejtszintű szabályozása azonban egyelőre kevésbé ismert. Munkánk során a plazmamembránban található foszfatidil-inozitol foszfátok (PIP-ok) szerepét vizsgáltuk a rekombináns TRPM3 regulációjában elektrofiziológiai és intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció mérések segítségével. Inside-out konfigurációban végzett patch clamp méréseink során azt tapasztaltuk, hogy a HEK-293T sejtekben kifejezett TRPM3 aktivitása a membrán patch kiszakítását követően hirtelen megnő, majd a csatorna fokozatosan deszenzitizálódik. A membrán citoplazmatikus oldalára alkalmazott foszfatidilinozitol 4,5-biszfoszfát (PI(4,5)P2) valamint adenosin 5'-trifoszfát (ATP) mediált PIP reszintézis a TRPM3 aktivitását helyreállítja. Különböző vízóldékony PIP analógokat vizsgálva azt találtuk, hogy a PI(3,4,5)P3 a PI(4,5)P2-nél is hatékonyabban fokozza a TRPM3 aktivitását, ugyanakkor a hosszú zsírsavláncú PI(4,5)P2 analógok még hatékonyabbnak bizonyultak. A natív PI(4,5)P2 szerepét teljes sejt konfigurációban végzett méréseink során vizsgáltuk. A plazmamembránban található PI(4,5)P2 lebontását a rapamycin és feszültség által szabályozott foszfatidil-inozitol 5-foszfátázok segítségével indukáltuk, ami részlegesen csökkentette a TRPM3 aktivitását. Ezzel összhangban a foszfolipáz C receptor mediált aktivációja is csökkentette mind a rekombináns, mind a patkány inzulinoma sejtvonalon kifejeződő natív TRPM3 aktivitását. Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy a membránban található PIP-ok a TRPM3 fontos regulátorai és jelentősen befolyásolhatják a TRPM3-hoz kapcsolódó élettani folyamatokat.

Rövidítések:

TRPM3 – tranziens receptor potenciál melasztatin 3  
 PIP – foszfatidil-inozitol foszfát  
 ATP – adenosin 5'-trifoszfát  
 PI(4,5)P2 – foszfatidilinozitol 4,5-biszfoszfát  
 PI(3,4,5)P3 – foszfatidilinozitol 3,4,5-triszfoszfát

## AZ SH-SY5Y NEUROBLASTOMA SEJTEK VAS METABOLIZMUSÁNAK VÁLTOZÁSA KÜLÖNBÖZŐ KEZELÉSEK HATÁSÁRA

**Sipos Katalin**, Pandur Edina, Pap Ramóna, Jánosa Gergely  
*PTE GYTK Gyógyszerési Biológiai Tanszék*

A neurodegeneratív betegségeknek, különböző formái ellenére, vannak közös vonásaik. Ezek közé tartozik a vasanyagcsere szabályozásának megváltozása, amely akár kiinduló pontja, de mindenképpen súlyosító faktora a kórképeknek. Az SH-SY5Y humán neuroblasztóma sejtek megfelelő háttérrel adnak a fenti betegségcsoport fő jellemzőinek in vitro vizsgálatára.

Kísérleteink egyik iránya a retinadegeneráció modellezése volt. A sejtekre nem toxikus szintű glutamát kezeléssel előidézett stressz kapcsolatát vizsgáltuk a vasanyagcserével, mégpedig három fő területen: vastranszport (sejtek általi felvétel és leadás), raktározás (citoszólban és mitokondriumban) és felhasználás (hem és vaskén komplex bioszintézis). Lutein adagolásával gátoltuk a patológiás változások egy részét.

Vizsgálataink másik részében az unfolded protein response (UPR) kialakulásának hatását néztük a vasanyagcsere szabályozására, valamint ezen folyamatok és a D vitamin kezelés kapcsolatát. Az UPR és a hepcidin, a fő vasmetabolizmust szabályozó hormon kapcsolata már ismert. A D vitamin a már eddig ismert, kalcium anyagcserét szabályozó hatása mellett számos új, hormonszerű aktivitását is leírták. Egyik receptora többek között az UPR folyamatához is kapcsolódik. Ennek tükrében próbáljuk összekapcsolni neuroblasztóma sejtekben az UPR, a D vitamin hatás és a vasanyagcsere folyamatait. Érdekesség, hogy ezek a hatások nagymértékben függenek az UPR létrehozásának és a D vitamin adagolásának sorrendjétől.



16

## TRANSSZULFURÁCIÓ JELENTŐSÉGE TRIPLE-NEGATÍV EMLŐTUMOROK PROGRESSZIÓJÁBAN

**Erdélyi Katalin**, Ditrói Tamás, Nagy Péter

*Országos Onkológiai Intézet, Molekuláris Immunológia és Toxikológia Osztály, Budapest*

Az emlődaganatok közül a triple-negatív (TNBC) típusúak a legkedvezőtlenebb besorolásúak targetált terápia híján. Klinikai minták tömegspektrometriai vizsgálatai azt mutatták, hogy oxidatív stresszben és redox szabályozásban részt vevő fehérjék közül a TNBC típusban a cisztation-béta-szintáz (CBS) szintje magasabb a többi, PAM50 besorolás szerinti altípushoz képest. A CBS fehérjeszint emelkedése arányosságot mutatott az mRNS szinttel. CBS csendesített (shCBS) Cal51 és HCC1143 sejtek proliferációja, malignációs hajlama alacsonyabb, oxidatív stresszel szembeni érzékenysége nagyobb kontroll sejtekhez képest. Emellett, kísérletes hipoxiás körülményekhez az shCBS sejtek kevésbé alkalmazkodtak. shCBS sejtekből indított xenograft szövetek növekedése és érképzése mérsékeltebb volt a kontrollhoz képes, a szövetekben mért nekrotikus területek pedig nagyobbak bizonyultak. Tematikus gén expressziós vizsgálat a 6-foszfofrukto-2-kináz /fruktóz-2,6 biszfoszfátáz 4 (PFKFB4) expressziójának fokozott emelkedését mutatta shCBS sejtekben és szövetekben. Mindezen adatok fokozott oxidatív stressz jelenlétére utalnak CBS távollétében. Mindemellett ismeretes volt, hogy egyes daganatos sejteknek fokozottabb a cisztin igényük. Ennek kielégítését a sejtek transzszulfurációval tudják kompenzálni. Cisztin hiányában a sejtek ferroptózissal elhalnak melyre az shCBS sejtek fokozottan érzékenyek. Kén származékok metabolit elemzése arra enged következtetni, hogy a CBS szulfid/perszulfid termelő funkciója számottevő lehet oxidatív stresszel szembeni védelemben és ily módon a sejtek, szövetek növekedése szempontjából. Cal51 sejtekben a CBS hiányát a cisztation-gamma-liáz (CSE) fokozott expressziója valamint a perszulfid katabolizáló enzimek csökkenése kompenzálta, a cisztein metabolizmus elengedhetetlen jelenlétét sugallva. A CSE enzim gátlása shCBS sejtekben drasztikusan csökkentette a tumorszövet növekedési hajlamát.

triple-negatív breast cancer (TNBC); cisztation béta szintáz (CBS); cisztation-gamma-liáz (CSE); short hairpin CBS (shCBS); 6-foszfofrukto-2-kináz /fruktóz-2,6 biszfoszfátáz 4 (PFKFB4)

## HOGYAN LESZ A VASBÓL ROS-DA?

**Hajdinák Péter<sup>1</sup>**, Szarka András<sup>1</sup><sup>1</sup>*Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék; Budapest*

A vas számos fehérje nélkülözhetetlen összetevője, így a sejtek normális működéséhez elengedhetetlen, hogy megfelelő mennyiségben rendelkezésre álljon. Ugyanakkor, ha túl sok a szabad vas a sejtekben, akkor az oxigén jelenlétében a potenciálisan káros reaktív oxigénszármazékok (ROS) termelését katalizálja. Jól mutatja a vas szerepét a ROS termelésben, hogy 2012-ben leírásra került emlőssejtekben egy vasfüggő, kaszpázfüggetlen programozott sejthalálforma, a ferroptózis, amelyet vaskelátorokkal – azaz a szabad vas mennyiségének csökkentésével – gátolni lehet. Jelenlegi ismeretünk szerint a ferroptózis az egyetlen, tisztán oxidatív stressz és lipidperoxidáció által hajtott programozott sejthalál. 2017-ben növényekben is megfigyeltek egy vasfüggő sejthalálformát, amelyet a ferroptózishoz mutatott nagyfokú morfológiai és biokémiai hasonlósága miatt ferroptózis-szerű sejthalálnak neveztek el. Közös jellemzője a két említett sejthalálnak, hogy mindkét esetben nagyfokú lipidperoxidáció következik be, azonban a sejthalál folyamatok ezt követő pontos molekuláris mechanizmusa jelenleg még nem ismert, így intenzíven kutatott. Kutatócsoportunk eredményei azt mutatják, hogy a lipidperoxidok fragmentációja révén keletkező reaktív karbonilvegyületek – köztük az akrolein – mediátor szereppel bírhatnak a sejthalál folyamatban.

A C-vitamin, vagy másnéven aszkorbinsav széleskörben ismert antioxidáns. A farmakológiai – azaz millimólos – koncentrációban alkalmazott aszkorbát azonban átmenetifémek, köztük a vas jelenlétében prooxidánsként viselkedik, és hidrogénperoxid, valamint ajelenleg ismert legerősebb oxidálószer, a hidroxilgyök képződését idézi elő. Az így keletkező ROS-ra a folyamatos oxidatív stresszben élő rákos sejtek érzékenyebbek, mint a normál társaik, így a farmakológiai aszkorbátnak tumorelles hatást tulajdonítanak. A farmakológiai aszkorbát citotoxikus hatása mögött álló pontos mechanizmus még tisztázásra szorul, és folyamatos vizsgálat tárgyát képezi. Jelenleg annyi biztosnak tűnik, hogy központi szerepet jut benne a ROS-nak, mivel antioxidánsokkal a citotoxikus hatás felfüggeszthető.

ROS: reaktív oxigénszármazékok

Az elmúlt évtizedekben egyre több kis, gáz halmazállapotú, sokszor toxikusként számontartott molekuláról derült ki, hogy a szervezetben kis mennyiségben ugyan, de keletkeznek, továbbá számos élettani folyamatban nélkülözhetetlen szerepet játszanak. Az elsőként felfedezett NO-t követően, a gyűjtőnevükön gazotranszmitterek családja jelenleg a CO-t, a H<sub>2</sub>S-t és az SO<sub>2</sub>-t tartalmazza. A mára már tankönyvi anyaggá vált vazodilatációs, neurotranszmitter és makrofág-mediálta anti-patogén szerepükön felül ismert, hogy részt vesznek az oxidatív stress és az apoptózis folyamataiban. Jelen előadás az öregedésben, valamint a kardiovaszkuláris-, a rheumatoid-, a vese- és a neurodegeneratív betegségekben betöltött szerepről alkotott ismereteinket foglalja össze. Megemlítésre kerülnek a skizofréniában, bipoláris betegségben, a depresszióban és a fóbiákban részvételükkel zajló jelátviteli folyamatok is. Noha a gazotranszmitterek hatása általánosságban sejtspecifikus, továbbá nagy mértékben függ a koncentrációjuktól, összességében megállapítható, hogy az NO a leginkább Janus-arcú gazotranszmitter, míg a család másik három ismert tagja inkább citoprotektív folyamatokban vesz részt.

## SZERKEZET-FUNKCIÓ KOORDINÁCIÓ A GELSOLIN HOMOLÓGIA DOMÉN FEHÉRJÉKBEN: A KALCIUM SZEREPE

**Gaszler Péter**<sup>1,3</sup>, Huber Tamás<sup>1,3</sup>, Pintér Réka<sup>1</sup>, Vig Andrea Teréz<sup>1</sup>, Tóth Mónika Ágnes<sup>1</sup>, Takács-Kollár Veronika<sup>1</sup>, Venukumar Vemula<sup>2</sup>, Marko Ušaj<sup>2</sup>, Alf Månsson<sup>2</sup>, Bugyi Beáta<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Pécsi Tudományegyetem, Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet, Szigeti út. 12, Pécs, H-7624*

<sup>2</sup>*Linnaeus University, Department of Chemistry and Biomedical Sciences, SE-39182, Kalmar, Svédország*

<sup>3</sup>*MTA Pécsi Akadémiai Bizottság, XI. Szakbizottság, Spektroszkópiai Munkabizottság*

19

A gelsolin homológia (GH) domén fehérjék központi szerepet játszanak az aktin sejtvíz szabályozásában. A fehérjecsalád névadója a hat GH-domént tartalmazó gelsolin. A Flightless-I egy nemrégiben azonosított, egyedi felépítésű GH fehérje: a hat GH-doménon kívül egy leucinban gazdag régiót (LRR) is tartalmaz. A gelsolin multifunkcionális sajátágai és a gelsolin:aktin kölcsönhatás kalcium függése jól ismert. A Flightless-I aktinnal való kölcsönhatása és a kalcium szerepe a szabályozásában nem tisztázott.

Célunk a gelsolin és a Flightless-I összehasonlító szerkezet-funkció elemzése és a kalcium szabályozásukban betöltött szerepének vizsgálata. A fehérjéket rekombináns úton állítottuk elő, munkánk során *in vitro* fluoreszcencia spektroszkópiai és TIRF mikroszkópiai módszereket alkalmaztunk.

A Flightless-I képes kölcsönhatni mind az aktin filamentumok szöges végével (KD ~ nM), mind pedig az aktin monomerekkel (KD ~ μM). A Flightless-I a filamentum-vég kötés révén, a sapkafehérjékhez hasonló módon gátolja azok dinamikáját, míg a monomerekkel való kölcsönhatása révén nukleációs aktivitással rendelkezik. A gelsolinnal ellentétben a Flightless-I nem mutat filamentum severing aktivitást. Érdekes módon, funkcionális vizsgálataink alapján a Flightless-I:aktin kölcsönhatás független a kalcium jelenlététől. A gelsolin és a Flightless-I tehát eltérően reagál a kalciumra, ami a két fehérje GH doménjeinek eltérő konformációs sajátágait/szabályozását feltételezi. Bioinformatikai elemzésünk alapján a gelsolin kalcium aktiválásáért felelős szekvenciaelemek nem konzerváltak a Flightless-I GH doménjeiben. A fluoreszcencia spektroszkópiai analízis (8-anilínnaftalin-1-szulfonsav; ANS) alapján - a gelsolintól eltérően - a Flightless-I GH domének szerkezetét nem befolyásolja a kalcium. Eredményeink a kalcium eltérő szerepét fedik fel a GH domén fehérjecsaládban, ami a gelsolin és a Flightless-I aktinnal való kölcsönhatásának és aktivitásainak szabályozásában érhető tetten.

*Támogatók: „A Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-22-3-II-PTE-1607 kód-számú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.” 2021-4.1.2-NEMZ\_KI-2022-00025-„ Activities of Flightless-I revealed by acto-myosin based in vitro motility techniques”. Köszönjük Mihály Józsefnek (SZBK, Genetikai Intézet) a Flightless-I plazmidokat és Robert C. Robinsonnak (Okoyama Egyetem) a gelsolin plazmidot.*

## AZ EISENIA ANDREI BETA-CATENIN HOMOLÓG SZEREPE AZ EMBRIOGENEZISBEN, SZÖVETI REGENERÁCIÓBAN ÉS AZ ANTIMIKROBIÁLIS IMMUNITÁSBAN

**Engelmann Péter**<sup>1</sup>, Bodó Kornélia<sup>1,3</sup>, Boros Ákos<sup>2</sup>, László Zoltán<sup>2,3</sup>, Nagyeri György<sup>3,4</sup>, Chayeen Brotzki da Costa<sup>1</sup>, Tolnai Gréta<sup>1</sup>, Rumlper Éva<sup>5</sup>, Molnár László<sup>5</sup>, Németh Péter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet, Pécs

<sup>3</sup>Soft-Flow Kft., K+F Laboratórium, Pécs

<sup>4</sup>Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet, Állatbiotechnológia Tanszék, Gödöllő

<sup>5</sup>Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Állatszervezettani és Fejlődésbiológiai Tanszék, Pécs

20

Az evolúciósan konzervált Wnt/ $\beta$ -catenin jelátvitel központi molekulája a  $\beta$ -catenin. A  $\beta$ -catenin ( $\beta$ -cat) összetett funkciója számos sejtbiológiai folyamatban jól ismert. Jelen munkánkban célul tűztük ki az általunk *Eisenia andrei* giliszta fajból azonosított *Ea- $\beta$ -cat* homológ biológiai szerepének a vizsgálatát.

Az *Ea- $\beta$ -cat* mRNS expresszióját mértük különböző szervekben és embrionális stádiumokban. Az anterior és posterior szegmens regenerációt követően az *Ea- $\beta$ -cat* mRNS szinteket qPCR-rel vizsgáltuk. Szöveti szinten az *Ea- $\beta$ -cat* fehérje kifejeződését, egyidejűleg a sejtosztódás detektálásával, a ScanR nagy áteresztőképességű mikroszkóp rendszerrel követtük nyomon. *In vitro*, illetve *in vivo* mikroba (Gram-pozitív / -negatív baktérium) és mikrobiális komponens (zymosan, és poly I:C) kezeléseket után mértük az *Ea- $\beta$ -cat* mRNS és fehérje expressziós mintázatát.

Az *Ea- $\beta$ -cat* alacsony (coelomasejtek), közepes (ventrális ideglánc, petefészek) vagy magas (metanephridium) mRNS expressziót adott a különböző szervekben, melyet immunhisztokémiai mérésekkel is igazoltunk. Az ontogenezis során fokozódó *Ea- $\beta$ -cat* mRNS értékeket kaptunk. Az anterior és posterior regeneráció eltérő *Ea- $\beta$ -cat* mRNS kifejeződési mintázatot mutatott. Szöveti szinten csak a posterior vég regenerációja során figyeltünk meg szignifikáns változást az *Ea- $\beta$ -cat* fehérje kifejeződésében az intakt állatokhoz képest, amely csökkenő tendenciát mutatott.

*In vitro* (3–24 h) ill. *in vivo* patogén (36 h és 48 h) kezeléseket során megemelkedett *Ea- $\beta$ -cat* mRNS szinteket mértünk a coelomasejtekben. *In vitro* vizsgálatok során szignifikáns mRNS emelkedést tapasztaltunk a 6 órás poli I:C illetve a 12 órás zymosan kezeléseket után, míg az *in vitro* poli I:C kezelés csökkenő *Ea- $\beta$ -cat* fehérje szinteket indukált.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az *Ea- $\beta$ -cat* ubiquiter expressziót mutat és központi szerepet tölt be az ontogenezisben, a szöveti regenerációban ill. a mikrobák elleni immunválaszban.

**KARDIOVASZKULÁRIS BETEGSÉGEK PLURIPOTENS  
ŐSSEJT-ALAPÚ MODELLEZÉSE****Apáti Ágota***Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest*

A hatékony gyógyszerfejlesztés és gyógyítás érdekében a széles körben elterjedt állatmodellek mellett szükség van humán in vitro modellekre is. A rákos sejtvonalak és a primer sejtek felhasználása mellett egyre nagyobb teret nyer a humán pluripotens őssejt-alapú modellek tanulmányozása. Különösen igaz ez, amikor komplex betegséget vizsgálunk, amelyek genetikai háttere, szervi érintettsége és fenotípusa is összetett. Ebben az előadásban áttekintem a lehetőségeket, amellyel a betegségben érintett sejtípusokat létrehozhatók, a vizsgálati módszereket, amelyekkel a betegség tünetei in vitro vizsgálhatók és végül a saját kutatásaink közül is hozok példát, hogy áttekintést nyújtsak a terület jelenlegi állásáról.

A kutatásaink a Nemzeti Agykutatási Program (NAP) (2017-1.2.1-NKP-2017-00002), és a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (OTKA- K128369) támogatásával valósult meg.

## A BÉLIDEGRENSZERT KÉPZŐ IDEGI ÖSSEJTEK KARAKTERIZÁLÁSA TRANZKRIPTOMIKAI ÉS EMBRYOMANIPULÁCIÓS MÓDSZEREKKEL

**Nagy Nándor**

*Semmelweis Egyetem, AOK, Anatómiai, Szövet és Fejlődéstan Intézet,  
Össejt és Kísérletes Embryológia Labor, Budapest-1094, Tüzoltó utca 58.*

A bélidegrendszer a gasztrointesztinális traktus falában található neuron és gliasejtekből álló összetett hálózat, amely fontos szerepet játszik a motilitás és egyéb alapvető bélfunkciók szabályozásában. A korai embryonális fejlődés idején a velőcsőből kilépő dúlcél-eredetű enterális idegi összejtek (ENCDC) először az előbél mesenchymális rétegét kolonizálják, majd caudalis irányba haladva az utóbélbe vándorolnak és a teljes bélidegrendszer hozzák létre. Ezt a fejlődési folyamatot a legelől haladó, differenciálatlan, nagymértékben proliferatív és invazív ENCDC sejtpopuláció hajtja, de ezeknek a sejteknek a molekuláris jellemzői csak részben ismertek. Az ENCDC-k sajátos migrációs képessége olyan speciális mechanizmusokon alapul, amelyek megszakítása a bélidegrendszer rendellenes kialakulását eredményezi. Az ENS legjellemzőbb veleszületett rendellenessége a Hirschsprung-kór (HSCR), amelyben az ENCDC-k nem tudják benépesíteni a bél caudális szakaszát. Számos olyan génmutáció, amelyekről kimutatták, hogy hozzájárulnak ehhez a veleszületett rendellenességhez, rávilágít az ENCDC-k ontogenezisének összetettségére.

Bélidegrendszer embryonális fejlődését célzó vizsgálataink során embryomanipulációs, in vitro és in vivo tenyészetek technikáját ötvözzük morfológiai és transzkriptómikai módszerekkel. Az aktív sejt migrációt mutató differenciálatlan, valamint a neurogén differenciálódást mutató ENCDC-k RNS szintű összehasonlítása során azt találtuk, hogy az embryonális bélben elkülönülő kétféle ENCDC-populáció az extracelluláris mátrix és a citoskeletális gének megváltozott expressziót mutatja, s ez a különbség összhangban helyezhető a migrációs fenotípussal. Továbbá, megfigyeltük, hogy az aktív migrációt mutató sejtekben hiányoztak a neuron vagy gliaréssel kapcsolatos gének expressziója. Kimutattuk, hogy a Dusp6 gén expressziója kifejezetten a differenciálatlan ENCDC-re jellemző. A DUSP6 aktivitás gátlása megakadályozta az utóbél ENCDC kolonizációját és gátolta a posztnatális bélből izolált idegi sejt aggregátumok (neurosphere) fejlődését. Ezeket a hatásokat az ERK jelátvitel egyidejű gátlása megfordította, ami jelzi, hogy az ENCDC-k migrációjához DUSP6-közvetített ERK gátlásra van szükség.



**A SZERVSPECIFIKUS NYIROKÉR-NÖVEKEDÉS ÉS FUNKCIÓ  
MODULÁLÁSA NUKLEOZID-MÓDOSÍTOTT MRNS-EK  
SEGÍTSÉGÉVEL****Jakus Zoltán***Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest*

A kutatócsoportunk a nyirokrendszer és a nyiroknövekedési jelpályák szervspecifikus szerepét vizsgálja fiziológias és patológias körülmények között. Kifejlesztettünk egy nukleozid-módosított mRNS alapú rendszert, amellyel VEGFC nyirokérnövekedési faktor kifejezésén keresztül, alacsony dózist alkalmazva ki tudunk váltani nyirokérnövekedést. Kimutattuk, hogy VEGFC mRNS kezelés hatására képződő új nyirokerek funkcionálisak, és képesek visszafordítani a nyiroködémát állatmodellben. Az alkalmazott VEGFC mRNS platform nemcsak egy kiváló eszköz a nyirokerek szervspecifikus szerepének preklinikai modellekben történő vizsgálatára, de a jövőben az alapját képezheti egy új terápiás megközelítés kifejlesztésének. Legújabb kísérleteinkben azt vizsgáljuk, hogy mely sejtípusok veszik fel a nukleozid-módosított mRNS-t, illetve a nyirokerek milyen szerepet játszanak az mRNS alapú vakcinák által kiváltott immunválaszban.

## A PERIFÉRIÁS NYIROKSZÖVETEK ÉRMINTÁZAT-SPECIALIZÁCIÓJA, MINT A SZÖVET-SPECIFIKUS IMMUNOLÓGIAI FUNKCIÓ MEGHATÁROZÓJA

**Balogh Péter**<sup>1,2</sup>, Kellermayer Zoltán<sup>1,2</sup>, Gábris Fanni<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*PTE Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs*

<sup>2</sup>*Nyirokszövet Fejlődésbiológiai Kutatócsoport, Szentágotthai János Kutatóközpont, PTE*

A perifériás nyirokszövetek limfocita-homeosztázisának és antigén-felvételének meghatározó eleme a szövet-specifikus vér- és nyirokérhálózat. A limfocita-megteledés kulcsmolekulái az érszakaszra jellemző endoteliális addresszinek, amik a különböző nyirokszövet-variánsokban eltérő szövet-specifikus transzkripcionális preferenciát mutatnak. Az előadás célja a lép és bél-asszociált nyirokszövetek érmintázat-meghatározásában szereplő Nkx2-3 transzkripció faktor szerepének bemutatása. Eredményeink szerint az Nkx2-3 szerepet játszik a nyirokendotél/vérendotél (LEC/BEC) differenciálódás szabályozásában, valamint utóbbiak addresszin-preferenciájának szövet-specifikus meghatározásában, ezáltal befolyásolva a helyi nyirokszöveti szerveződést és limfocita-összetételt.

## A SZABÁLYOZOTT NEKROTIKUS SEJTHALÁL FOLYAMATOK SZEREPE A GYULLADÁS SZABÁLYOZÁSÁBAN.

**Koncz Gábor<sup>1</sup>**, Jenei Viktória<sup>1</sup>, Molnár Krisztina<sup>1</sup>, Mázló Anett<sup>1</sup>, Virág László<sup>2</sup>, Maléth József<sup>3</sup>, Molnár Tamás<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, ÁOK, Immunológiai Intézet*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem, ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet*

<sup>3</sup>*Szegedi Tudományegyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika*

Az elmúlt évtizedekben új szabályozott sejtpusztulási utakat, írtak le, amelyek függetlenek az apoptózistól. Míg a sejthalált szabályozó jelpályák már viszonylag jól ismertek, a folyamatok immunológiai kimenetelét még alig tanulmányozták. Az egyes sejthalál formák hatása eltérő lehet a természetes és az adaptív immunrendszere is, így a sejthalál útvonalak átmenetének szabályozása, tolerogén/immunogén, anti/pro-inflammatorikus hatásainak befolyásolása jelentős klinikai potenciállal kecsegtet.

Kimutattuk, hogy a mitokondriális apoptózis iniciátora, a kaszpáz-9 alapvető szerepet játszik a nekroptózisban is. Kaszpáz-9 hiányos humán és egér eredetű sejtvonalakon sejthalál receptorok, mintázatfelismerő receptorok és Herpes simplex virus-1 fertőzés stimulálásakor is szignifikánsan kevesebb nekroptotikus sejtpusztulást figyelünk meg, mint vad típusú sejteken. Ezen az eredményeinket in vivo is megerősítettük egy transzgenikus egérmodell segítségével, amelyben LoxP szekvenciákat építettünk be a kaszpáz-9 génbe. A kaszpáz-9 hiánya acinus sejtekben gátolta a pancreatitis, endotél sejt specifikus kiütése pedig a TNF-indukált szisztémás gyulladás kialakulását. Bizonyítottuk továbbá, hogy az immunrendszer citotoxikus funkciói RIPK1 függő sejthalált indukálnak, ami lehetővé teheti a pusztuló sejtek keresztprezentációját és ezáltal az adaptív immunrendszer aktivációját.

Eredményeink új célzott beavatkozási lehetőségeket kínálnak a mitokondriális apoptózis és a nekroptózis átmenetének szabályozásában és így steril gyulladási folyamatok befolyásolásában.

(RIPK1-Receptor-interacting protein kinase 1, TNF-Tumor necrosis factor)

## A SZABÁLYOZOTT SEJTHALÁL FOLYAMATOK HATÁSA AZ IMMUNVÁLASZ POLARIZÁCIÓJÁRA

**Mázló Anett**, Muszka Zsuzsa, Homoki Eszter, Burai Sára, Kardos Balázs, Jenei Viktória, Koncz Gábor

*Debreceni Egyetem, ÁOK, Immunológiai Intézet*

A sejtek közötti dinamikus kommunikáció a folyamatosan változó környezethez való alkalmazkodás alapja. Ezen “párbeszédet” folytató sejtek lehetnek immun- és nem immunsejtek egyaránt. A szöveti rezidens sejtípusok állapota, korábbi kondicionálódása, egymáshoz viszonyított aránya, a köztük zajló kommunikáció módja meghatározza a gyulladáshoz és anti-inflammatórikus folyamatok egyensúlyát, ezáltal támogathatják a homeosztázis fenntartását vagy befolyásolhatják a patológiás folyamatok kimenetelét. Célunk az ezen folyamatokat koordináló kritikus sejtípusok, molekulák, mechanizmusok azonosítása, melyek befolyásolhatják a makrofág (M) polarizációt, mezenchymális őssejt (MSC) “priming-ot” vagy a dendritikus sejt (DS) adaptív választ meghatározó képességét.

A sejtek pusztulása fiziológias és patológiás folyamatok kulcslépése. Kutatásaink során különféle sejthalál útvonalak, mint az apoptózis, nekroptózis, piroptózis, és ferroptózis természetes és adaptív immunválaszra kifejtett hatásait igyekszünk feltárni. Mivel a különböző sejtípusok eltérő sejthalál-érzékenységgel jellemezhetők, optimalizáltuk primer sejtek (M, BM-MSC) és sejtútvonalak (Jurkat, THP-1 és MSC1) eltérő módokon történő ölési protokollját. Ezt követően vizsgáljuk az ölt sejtekről származó szolubilis mediátorok (DAMP-ok, RAMP-ok) immunválaszra gyakorolt hatásait. Ezen molekulák felszabadulása a sejtekből eltérő összetételt és időbeli mintázatot mutat az egyes sejtípusok, sőt az egyes sejthalál formák esetén is. Megfigyeltük, hogy a termelt/kibocsátott mediátorok befolyásolják a makrofágok polarizációját, az MSC-ek immunmoduláló képességét, illetve a DS-ek különböző TLR ligandokra adott válaszát és kostimulációs profilját.

Számos nekrotikus sejthalál forma gyulladáshoz kapcsolódó folyamatokban betöltött szerepét vizsgálták már, de szerepük tanulmányozása a gyulladásgátlásban és a regenerációs folyamatokban eddig nem kapott nagy hangsúlyt. Érdeklődésünk középpontjában épp ezért a különböző immunogenitással jellemezhető sejthalál formák az immunválaszokat meghatározó, a “rezolvációt” potenciálisan irányító és beindító sejtípusokra gyakorolt hatásának vizsgálata áll a későbbi potenciális terápiás lehetőségek és célpontok azonosítása céljából.

M – makrofág, MSC – mezenchymális ősztróma sejt, DS – Dendritikus sejt, BM – bone marrow, DAMP - Damage-associated molecular pattern, RAMP - Resolution-associated molecular patterns, TLR – Toll-like receptor

A projekt megvalósulását az „OTKA” PD\_22, K142930 pályázat támogatja.

## AZ ELHALT SEJTEK ELTAKARÍTÁSÁNAK SZEREPE A REGENERATÍV GYULLADÁS SZABÁLYOZÁSÁBAN

**Szondy Zsuzsa**<sup>1,2</sup>, Sarang Zsolt<sup>2</sup>, Garabuczi Éva<sup>3</sup>, Nour Al-Zaed<sup>4</sup>, Nastaran Tarban<sup>4</sup>, Budai Zsófia<sup>4</sup>, Andreas Patsalos<sup>5</sup>, Halász László<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, FOK, Nemönálló Fogorvosi Tanszék,*

<sup>2</sup>*AOK, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet,*

<sup>3</sup>*ETK, Egészségtudományi Intézet,*

<sup>4</sup>*Molekuláris Sejt és Immunbiológiai Doktori Iskola, Debrecen,*

<sup>5</sup>*Departments of Medicine and Biological Chemistry, Johns Hopkins University School of Medicine, St. 11 Petersburg, FL, USA*

A vázizom sérülést követő regenerációja a regeneratív gyulladás szép példája. A regeneráció az izomrostok bazális laminájában elhelyezkedő miogén őssejtek, az ún. szatellit sejtek osztódásának és differenciációjának eredménye. A szatellit sejt differenciációja nem szatellit sejt autonóm folyamat, hanem a környező sejtek által kibocsájtott szignálmolekulák függvénye. A folyamat szervezésében meghatározó szerepet töltenek be a sérülés helyére bevándorló makrofágok, részben mert eltakarítják az elhalt sejteket, részben mert a mioblaszt differenciációt, érujdonképződést segítő szignálokat bocsájtanak ki. A folyamat kezdetén ezek gyulladáshoz vezető makrofágok, melyek az eltakarítást követően ún. M2 szerű reparatív makrofágokká alakulnak. Mind a korai szakaszban termelt gyulladási citokinek, mind a gyógyító szakaszban termelt makrofág eredetű növekedési faktorok és gyulladásellenes molekulák szükségesek a megfelelő szöveti regenerációhoz és a gyulladás leállításához. Előadásomban bemutatom, két (Mer illetve transzglutamináz 2) knock out egér tanulmányozásán keresztül, hogy két fagocitózis receptor hiánya is, nemcsak eltakarítási zavarhoz vezet, hanem speciálisan módosítja a makrofágok M2 irányú polarizációját, és ennek zavara az izomregeneráció zavarához vezet. A Nur77 transzkripciós faktor hiányos egerek tanulmányozása pedig arra világított rá, hogy az elhalt sejt eltakarítás során kialakuló reparatív makrofágok több alcsoportra oszthatók, és a makrofágok M2 irányú gyulladás ellenes polarizációja alcsoport specifikusan szabályozódik.

Támogató: OTKA138162

JELÁTVITELI ÚTVONALAK SZABÁLYOZÁSI ZAVARAI  
RHEUMATOID ARTHRITISBEN**Boldizsár Ferenc<sup>1</sup>**, Olasz Katalin<sup>1</sup>, Esam Khanfar<sup>1</sup>, Gál Patrícia Szonja<sup>1</sup>, Berki Tímea<sup>1</sup><sup>1</sup>*PTE, KK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet*

A rheumatoid arthritis az egyik leggyakoribb szisztémás autoimmun betegség. Klinikailag a kisízületek krónikus, progresszív gyulladása jellemzi, melynek hátterében kóros autoimmun reakció azonosítható. Kialakulásában szerepet játszanak mind a veleszületett- mind pedig a szerzett (specifikus) immunrendszer elemei. RA-ban az autoreaktív (saját antigéneket felismerő) sejtek aktivációs- és apoptózis folyamatai különféle változásokat mutatnak. Ezek alapján egyre több olyan terápiás megközelítés elérhető, amelyek célja egyes jelátviteli folyamatok célzott befolyásolása.

Munkánk során a RA egyik egérmódeljében vizsgáljuk a betegség kialakulását befolyásoló lehetséges mechanizmusokat. A rekombináns humán aggregán G1-domén indukált arthritis (GIA) modell klinikai- és hisztopathológiai megjelenésben, autoantitest termelésben, az autoreaktív T sejtek részvétele- és a gyulladós citokinek túltermelése alapján nagyon hasonlít a humán RA-hoz. A GIA modell előnye, hogy a betegség különböző stádiumaiban vizsgálhatók az immunválasz részletei és a sejtek aktivációs folyamatai.

Kísérleteink alapján GIA-ban eltéréseket tapasztaltunk mind a T- mind a B sejtek aktivációs jelátviteli folyamataiban. T sejtek esetében a TcR-ből kiinduló jelátvitel erőssége befolyásolja az aktiváció/apoptózis egyensúlyát, amely az autoimmun arthritis súlyosságát is meghatározza. Ennek szabályozásában a ZAP-70 molekula központi szerepét igazoltuk. A B sejtek esetében azt tapasztaltuk, hogy a lép kritikus szerepet tölt be a BcR-en keresztül kiváltható aktiváció szabályozásában.

Eredményeink rámutatnak a lymphocyták jelátvitelének komplex változásaira autoimmun arthritisben, melyek segíthetnek a RA jobb megértésében és esetleges terápiás célpontok azonosításában.

RA: rheumatoid arthritis; GIA: rekombináns humán aggregán G1-domén indukált arthritis; TcR: T sejt receptor; BcR: B sejt receptor

## A ROSSZINDULATÚ DAGANATOK FENOTÍPUSÁNAK PLASZTICITÁSA ÉS AZ IMMUNOGÉN MIMIKRI JELENSÉGE

**Tímár J**, Honn KV, Hendrix JC, Marko-Varga G, Jalkanen S.

*Semmelweis Egyetem, Patológiai, Igazságügyi és Bizotításorvostani Intézete, Budapest, Wayne State University, Detroit, MI, Sepherd University, Sepherdtown, WV,*

*Lund University, Lund Svédország, University of Turku, Finnország*

A rosszindulatú daganatok plaszticitása egy fontos új alapvető jellegzetességük, ami a diagnosztikát is zavarhatja, de közre játszik az áttétképző képesség formálásában is. Tovább menve, daganataink jelentős részében különféle módon, de kialakul a részleges vagy teljes immunrezisztencia, melynek alapvető mechanizmusait kezdjük megismerni. Ilyen mechanizmusok az alacsony mutációs terhelés, a HLA vesztés, a hipoxiás környezetben fokozottan termelt VEGF vagy a daganatsejtek által kifejezett immunellenőrzőpont gátló PDL1 vagy CTLA4 megjelenése.

Magunk bőrmelanóma áttéteiben észleltük az immunsejt-gének (19) rendszerszintű amplifikációját és következményes fehérje expresszióját. Az irodalom átvizsgálása során ez a génlista 26-ra bővült és érintett sokféle daganatot. Érdekesség hogy ezen génnek többsége un. IFN-regulált gén. Az általunk leírt immunogén mimikri jelentősége abban van hogy számos lehetőséget kínál a daganatsejtek számára az immunválasz előli el- és megmenekülésre. A jelenség klinikailag releváns, hiszen a PDL1/PD1 és a CTLA4 mellett az immunogén mimikriben érintett más gének által kódolt fehérjék is szerepelhetnek sikeres terápiás célpontként: CD27, CD47, CD166, CD172 vagy az IDO.





# Poszter absztraktok



P01

## A TRPM4 SZEREPE HASNYÁLMIRIGY ACINUS SEJTEKBEN

Diszházi Gyula<sup>1</sup>, Magyar Zsuzsanna Édua<sup>1</sup>, Lisztes Erika<sup>1</sup>, Tóth István Balázs<sup>1</sup>, **Almássy János**<sup>2</sup><sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet*<sup>2</sup>*Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet*

A tranziens receptor potenciál ioncsatornák melastatin alcsaládjának 4-es típusa (TRPM4) egy Ca<sup>2+</sup>-függő, nem szelektív kationcsatorna, mely aktiválódása a plazma membrán depolarizációját okozza. Mivel az intracelluláris [Ca<sup>2+</sup>]-nak és bizonyos Ca<sup>2+</sup>-függő ioncsatornáknak központi szerepe van a hasnyálmirigy acinus sejtek működésében, arra voltunk kíváncsiak, hogy a TRPM4 jelen van –e ezekben a sejtekben, és ha igen, hogyan befolyásolja a sejt működését.

Enzimátikus emésztéssel nyert egér hasnyálmirigy acinus sejteken patch-clamp technika segítségével jelentős Ca<sup>2+</sup>-aktivált kationáramot találtunk, amely a TRPM4 gátlószereivel (9-fenantról és CBA) csökkenthető volt. Ez a CBA-érzékeny áram a sejteket a nyugalmi -44 mV-os értékről Ca<sup>2+</sup>-függő módon -28 mV-ra depolarizálta. Továbbá, mikrofluorimetriás (Ca<sup>2+</sup>-imaging) módszerrel kimutattuk, hogy a Ca<sup>2+</sup> beáramlás a TRPM4 KO- illetve a CBA-val kezelt acinus sejtekben magasabb [Ca<sup>2+</sup>] emelkedést okozott, mint a kontroll sejtekben. Mivel a szekretogok által kiváltott, periodikusan ismétlődő, oszcilláló mintázatot mutató Ca<sup>2+</sup>-szint változások részben az extracelluláris térből történő Ca<sup>2+</sup> beáramlás eredményei, a TRPM4 kolecisztokinin által kiváltott Ca<sup>2+</sup> oszcillációkra gyakorolt esetleges szabályozó hatását is megvizsgáltuk. Azt találtuk, hogy a Ca<sup>2+</sup> jelek amplitúdója TRPM4 KO-ban magasabb volt, mint a kontroll sejtekben.

Eredményeinkből arra következtetünk, hogy a hasnyálmirigy acinus sejteket fiziológiai szekretog stimuláció alatt a TRPM4 áram olyan mértékben depolarizálja, hogy az a Ca<sup>2+</sup> befelé irányuló hajtóerejének jelentős csökkenését eredményezi. Azaz a TRPM4 negatív visszacsatolással szabályozza Ca<sup>2+</sup> beáramlást.

*A TKP2021-EGA-24 azonosítószámú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a 2021. évi Tématerületi Kiválóság Program pályázati program finanszírozásában valósult meg.*

P02

## A PARP INHIBITOR TALAZOPARIB CSÖKKENTI A KÍSÉRLETES CROHN BETEGSÉG TÜNETEIT EGÉR BEN EPITHELIÁLIS BARRIER VÉDELMEK KERESZTÜL

**Bagóné Vántus Viola\***, Kovács Dominika, Vámos Eszter, Deák Péter, Ifj. Gallyas Ferenc, Radnai Balázs

*Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet*

A gyulladáshoz vezető bélbetegségekre a bélfal epitheliális barrier funkciójának károsodása és a fokozott permeabilitás jellemző. Ez igaz a Crohn-betegségre és a fekélyes vastagbélgyulladásra egyaránt. E folyamat az immunsejtek aktivációjához, oxidatív stresszhez, energetikai összeomláshoz és szövetkárosodáshoz vezet. Korábbi munkánkban alkalmazott PARP inhibitorral (olaparib) összehasonlítva a talazoparib azonban nem gátolja a komplex I-et. Ezért a mitokondriális ATP szintézis hatékonyabb lehet, ami az epithél sejtek javuló energetikáját és túlélését eredményezheti, amivel hatékonyabb barrier védelem is megvalósulhat. Célul tűztük ki tehát a Talazoparib gyulladásgátló hatásának vizsgálatát állatkísérletes modellben és makrofágokon, és az energetika vizsgálatát epithél sejteken.

LPS-sel indukált Raw 264.7 makrofág sejteken életképességet, ROS és nitrit termelést vizsgáltunk. A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-vel kezelt Caco-2 sejteken pedig az energiatermelést Seahorse XFp műszerrel analizáltuk. A TNBS indukálta kísérletes colitis modellben a 0,33 mg/ ttk talazoparibot naponta i.p. adagoltuk. A vastagbél szöveti elváltozásait makroszkópiusan értékeltük, pontosítottuk és FITC-dextrán permeabilitás tesztet végeztünk.

Talazoparib hatására csökkent a sejthalál, a ROS és nitrit képződés a makrofágokon és megerősítettük, hogy a talazoparib az olaparibbal összehasonlítva nem gátolja a komplex I-et. A Talazoparib hatására megnövekedett ATP termelést mértünk epithél sejteken oxidatív stresszben. A talazoparib csökkentette a kísérletes colitis súlyos tüneteit (fekélyek száma, mérete; véres széklet, hasmenés), hatására javult a barrier integritása. A hematológiai paramétereiből számolt arányszámok (LMR, PLR, NLR) a TNBS hatására a Crohn-betegségre jellemző változást mutattak, amit a PARP gátló szignifikánsan javított.

A PARP inhibitor talazoparib csökkentette a gyulladáshoz vezető tüneteket a TNBS indukálta kísérletes Crohn-betegség modellben, feltehetően az energiatermelés megerősítésével és az epitheliális barrier integritásának megőrzésével.

**Rövidítések:** **LPS** – Lipopolysaccharides, **ROS** - reactive oxygen species, **ATP** - Adenozin-trifoszfát, **i.p.** – intraperitoneális, **FITC**- fluoreszcein izotiocianát dextran, **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** - hidrogén-peroxid, **NAD+** - nikotinamid-adenin-dinukleotid, **PARP** – poli (ADP-ribóz) polimeráz, **TNBS** - 2,4,6-trinitrobenzén-szulfonsav

**Támogatás:** TKP2021-EGA-17 Tématerületi Kiválósági Program

## A SEPTIN7 FUNKCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ HUMÁN MELANOMA SEJTVONALAKBAN

**Balogh Krisztián<sup>1</sup>**, Hajdú Tibor<sup>1</sup>, Vágó Judit<sup>1</sup>, Zákány Róza<sup>1</sup>, Fodor János<sup>2</sup>, Csernoch László<sup>2</sup>, Matta Csaba<sup>1</sup>, Takács Roland<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem ÁOK, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Debrecen*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem ÁOK, Élettani Intézet, Debrecen*

### Bevezetés

A melanoma malignum a bőr pigmenttermelő sejtjeiből kiinduló agresszív rosszindulatú daganat. Kutatások igazolták a SOCE jelentőségét a melanoma sejtek migrációjában. A SOCE alapvetően két molekula, az ORAI1 csatornaféhrje, illetve a STIM1 transzmembrán fehérje összekapcsolódása révén kialakult komplex eredménye. Bizonyítást nyert, hogy a fenti folyamatokhoz szükséges a septin filamentumok átrendeződése. A septin fehérjecsalád az eukarióta sejtek citoskeletonjának alkotóeleme. Tagjai GTP hidrolízisen keresztül képesek egymással hetero-oligomer komplexet létrehozni, amik filamentumokká, gyűrűkké és egyéb komplex struktúrákká állhatnak össze.

### Célkitűzés

Az itt bemutatott munkánk célja volt megvizsgálni a komplex septin struktúrák alapjául szolgáló hetero-oligomer egyik alapvető tagjának, a SEPTIN7-nek géncsendesítésével járó sejtlejtani változásokat.

### Anyagok és módszerek

Egy primer (WM35), valamint egy nyirokcsomó áttétből izolált (A2058) melanoma sejtvonalon végeztük el a SEPTIN7 géncsendesítését, aminek hatékonyságát qPCR-ral ellenőriztük, majd a további vizsgálatainkban a sejtvonalak malignitását meghatározó főbb folyamatokban bekövetkező változásokat követtük.

### Eredmények

A SEPTIN7 gén csendesítése mindkét sejtvonal esetében sikeres volt (~80%). Az eddig elvégzett kísérleteink során a kontrollal történő összehasonlításnál a géncsendesített sejtek kemotaktikus aktivitása alacsonyabb volt a nem géncsendesített sejtekhez mérten.

### Következtetés

A fentiekből adódóan feltételezzük, hogy a SEPTIN7 gén csendesítésének hatása a SOCE gátlásán keresztül a melanoma sejtek migrációs képességének csökkenéséhez vezet. A septin gencialád különböző tagjainak aberráns expresszióját már több malignus daganatban leírták, viszont a szerepük általunk vizsgált aspektusa a daganatok patomechanizmusában egyelőre ismeretlen terület. Véleményünk szerint eredményeink segíthetik a melanoma, illetve akár más daganattípusok metasztatizálásának molekuláris mechanizmusainak részletesebb megértését, ami potenciálisan új onkoterápiás célpontokat szolgáltathat.

Támogatás: FK-134304, 2020-4.1.1-TKP2020.

Rövidítések: SOCE: store-operated Ca<sup>2+</sup> Entry, ORAI1: calcium release-activated calcium channel protein 1, STIM1: stromal interaction molecule 1

P04

## AZ OPA-1 VÉDŐ SZEREPE A BLEOMYCIN INDUKÁLT-TÜDŐFIBRÓZISBAN

**Bárándi Gergő**<sup>1</sup>, Szántó Henrietta Anna<sup>1</sup>, Andreidesz Kitti<sup>1</sup>,  
Hocsák Enikő<sup>1</sup>, Bognár Zita<sup>1</sup>, Fekete Katalin<sup>1</sup>, Szabó Aliz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet, Pécs

Az idiopátiás tüdőfibrózis a diagnózis felállítása után 2-6 éven belül halálhoz vezet. A kórkép jelenleg nem gyógyítható, és egyre gyakoribb. Irodalmi adatok azt mutatják, hogy a mitokondriumok és az oxidatív stressz fontos szerepet töltenek be a tüdőfibrózis iniciálásában és progressziójában. Munkánk során megvizsgáltuk a BGP-15 szerepét primer humán pulmonális arteriális endotélsejteken (HPAEC), valamint egy korai, bleomycin-indukált idiopátiás tüdőfibrózis egérmodellben, ugyanis a BGP-15 már számos oxidatív stresszel összefüggő betegségmodellben védő hatást mutatott. Továbbá munkacsoportunk korábban leírta, hogy a BGP-15 csökkenti az oxidatív stressz indukálta mitokondriális fragmentációt az OPA-1 fehérjén keresztül.

Sejtkultúras kísérleteinket HPAEC sejtvonalon végeztük. Először szulforodamin B teszt segítségével megvizsgáltuk, hogy a BGP-15 miként befolyásolja a bleomycin indukálta sejthalál mértékét. Majd tanulmányoztuk a BGP-15 bleomycin-indukált mitokondriális fragmentációra gyakorolt hatását normál és OPA-1 szupresszált HPAEC sejteken, MitoTracker Red-del jelölve a mitokondriumokat. Végül az állatkísérletes modellünkben az egerek intratracheális instillációval bleomycint, majd további 14 napig intraperitoneálisan BGP-15-t vagy fiziológiás sóoldatot kaptak. A 14. napon a tüdőket kivettük, fixáltuk, majd elvégeztük hisztopatológiai vizsgálatukat.

A BGP-15 csökkentette a bleomycin-indukált sejthalál és mitokondriális fragmentáció mértékét normál sejteken, ugyanakkor az OPA-1 szupresszált sejtekben nem csökkentette a mitokondriális fragmentációt. A szövettani vizsgálat során azt tapasztaltuk, hogy a BGP-15 mérsékelte a gyulladásos sejtek infiltrációját és az alveoláris falvastagságot, továbbá redukálta a bleomycin-indukált pulmonális fibrózis mértékét.

Eredményeink azt mutatják, hogy a BGP-15 védő hatása az OPA-1 fehérjén keresztül érvényesül. A tüdőfibrózis korai szakaszában a mitokondriális dinamika fúzió irányába történő eltolása jelentős terápiás hatással bírhat.

HPAEC: humán pulmonális arteriális endotél sejtvonal

OPA-1: optic atrophy-1

BGP-15: N'-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]piridin-3-karboximidamid

A Tématerületi Kiválósági Program 2021 Egészség Alprogram (TKP2021-EGA-17) által támogatva.

P05

## ÚJ KRAS G12C INHIBITOROK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA TÜDŐ ADENOKARCINOMA SEJTVONALAK 2D ÉS 3D MODELLJEIN

Molnár Eszter<sup>1</sup>, **Baranyi Marcell**<sup>1</sup>, Gábrriel Zsófia<sup>1</sup>, Petényi Flóra  
Gréta<sup>1</sup>, Bordás Fanni<sup>1</sup>, Hegedűs Balázs<sup>1</sup>, Tímár József

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Patológiai Igazságügyi és Biztosítási Orvostani  
Intézet, Budapest*

### Bevezetés

A KRAS a plazmamembránhoz lokalizálódó, kulcsfontosságú regulátor fehérje, amely számos jelpálya szabályozásában vesz részt. Onkogén mutációi a KRAS tüdő adenokarcinómák harmadában fordulnak elő, amelyek 40%-át a KRAS G12C mutációk teszik ki. Az intenzív kutatásoknak köszönhetően a közelmúltban sikeresen fejlesztettek ki erre a mutációra specifikus kovalens inhibitorokat, amelyek közül kettő (sotorasib és adagrasib) klinikai alkalmazásra is került. Bár a klinikai vizsgálatok eredményei ismertek, közvetlen in vitro összehasonlításuk – tudomásunk szerint – még nem lett közölve. Jelen vizsgálatunkban három tüdő adenokarcinoma sejtvonalon vizsgáljuk meg a vegyületek hatékonyságát, illetve a RAS jelpályák aktivációs változásait.

### Anyag és módszer

Három KRAS G12C mutációt hordozó tüdő adenokarcinóma sejtvonalat (H1792, SW1573 és PF139) vontunk be a vizsgálatokba. A sotorasib és adagrasib életképességre gyakorolt hatásait 72 órás SRB és 6 napos 3D szferoid tesztekkel vizsgáltuk. Az inhibitorok RAS jelpályákra kifejtett hatását western blot analízissel vizsgáltuk.

### Eredmények

Az életképességi tesztek eredményei alapján a sotorasib az összes sejtvonal esetében egy adott koncentráció felett már tudta tovább csökkenteni a sejtek életképességét, míg az adagrasib valamennyi vizsgált koncentráción dóziszfüggő hatást mutatott. Az inhibitorok a Western blot eredmények alapján gátló hatást fejtettek ki a RAS jelpályákra. A RAS gének vizsgálata során megfigyelhető volt a HRAS fehérje magasabb aktivációja a KRAS fehérje gátlása esetén.

### Következtetés

Az inhibitorok összehasonlítása során az adagrasib hatékonyabban tudta gátolni a sejtvonalak életképességét a sotorasibhoz képest. Az inhibitorok hatékonyan gátolták a RAS jelpályákat, ugyanakkor a HRAS fehérje fokozott aktiválódása a KRAS inhibitorokkal szembeni rezisztenciához vezethet.

### Rövidítésjegyzék:

SRB: szulforodamin B festék

A KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS MINISZTERIUM ÚNKP-22-4-II-SE-11 KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK A NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS ALAPBÓL FINANSZÍROZOTT SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.

P06

## A GERJESZTETT AKCEPTOROK ÉS DONOROK DETEKTÁLÁSI HATÉKONYSÁG ARÁNYÁNAK JOBB BECSLÉSE FRET MÉRÉSEKHEZ

**Batta Ágnes<sup>1,2</sup>**, Hajdu Tímea<sup>1</sup>, Nagy Péter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai és  
Sejtbiológiai Intézet*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem Molekuláris Orvostudományi Doktori Iskola*

A FRET egy sugárzásmentes kölcsönhatás donor és akceptor között, melynek távolságfüggése érzékeny eszközzé teszi a fehérjék oligomerizációjának és szerkezetének tanulmányozásához. Így képes a biológiai mintákban 2-10 nm tartományban intermolekuláris távolságokat meghatározni, mivel a hatás fordítottan arányos a távolság hatodik hatványával.

A FRET-rendszer mindig tartalmaz két fluorofór molekulát: egy donort és egy akzeptort. A mérések kalibrálásához elengedhetetlen az ún.  $\alpha$  paraméter ismerete, amely leírja a gerjesztett akceptor detektálási érzékenységét a gerjesztett donorral szemben.

Amikor a FRET-et az akceptor szenzitizált emissziójának mérésével határozzuk meg, a formalizmusban mindig található egy paraméter, amely a gerjesztett akceptor és a gerjesztett donor detektálási hatékonyságának arányát jellemzi. Fluoreszcens antitestekkel vagy más külső jelölésekkel végzett FRET-méréseknél ezt az  $\alpha$ -val jelölt paramétert általában úgy határozzák meg, hogy összehasonlítják az ismert számú donor és akceptor intenzitását két független mintában, ami nagy statisztikai variabilitáshoz vezet, ha a minta mérete kicsi. Itt egy olyan módszert mutatunk be, amely a pontosságot javítja kalibrált számú antitestkötő hellyel rendelkező mikrogöngyök és donor-akceptor keverék alkalmazásával, amelyben a donorok és akceptorok kísérletileg meghatározott arányban vannak jelen. Kidolgoztunk egy formalizmust az  $\alpha$  meghatározására, és bemutatjuk a javasolt módszer jobb reprodukálhatóságát a hagyományos megközelítéshez képest. Mivel az új módszertan nem igényel bonyolult kalibrációs mintákat vagy speciális műszereket, széles körben alkalmazható FRET kísérletek számszerűsítésére a biológiai kutatásokban.

Rövidítések: FRET – Förster rezonancia energiáttranszfer

P07

## A HHV1 PROTONCSATORNA SZEREPE VASZKULÁRIS SIMAIZOMSEJTEK BEN

**Gyuris Katinka**<sup>1</sup>, Geraldo Domingos<sup>1</sup>, Korpos-Pintye-Gyuri Éva<sup>2</sup>, Varga Zoltán<sup>+</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport, Debrecen*

A hHv1 feszültség-függő protoncsatorna egy passzív transzporter, mely protonokat juttat át a membránon szelektíven, s így fontos szerepet tölt be számos sejtípus pH-szabályozásában. Az artériák falában megtalálható vaszkuláris simaizom sejtek (VSMC) fiziológiás körülmények között nyugalmi, vagy kontraktilis fenotípusal bírnak. Az érfal sérülése esetén a sejtek átváltanak a szintetikus, migrációs és proliferatív fenotípusra, ami lehetővé teszi a szövet regenerációját. Amennyiben a migráló / proliferáló sejtek nem képesek visszaváltani kontraktilis fenotípusra, az patogén vaszkuláris átalakulásokat indukál melyek atheroszklerózishoz vezetnek.

Munkánk során célunk a hHv1 vaszkuláris simaizomsejteken való jelenlétének bizonyítása, továbbá annak a szerepnek a feltárása, amelyet a csatorna az intracelluláris pH regulációja révén a sejtek normál és kóros tevékenységei során betölt. Vizsgáljuk, hogy milyen szerepet játszik a hHv1 a VSMC-k túlélésében, differenciációjában és mátrix termelésében.

Amennyiben a hHv1 kulcsszerepet tölt be a VSMC-k kóros tevékenységében érlelmeszedés során, azonban a normál működésben nem, akkor a csatorna fontos farmakológiai célponttá válhat a VSMC-k ateroszklerózisban fellépő kóros aktivitásának gátlására.

A hipotézis igazolására végeztünk életképességi vizsgálatokat MTT assay alkalmazásával, mozgékonyági kísérleteket scratch assay módszerrel és impedancia méréssel, PCR és Western Blot kísérleteket a hHv1 kimutatására, alizarin vörös festést a kalcifikált extracelluláris mátrix termelésre vonatkozó hatás szemléltetésére, valamint mikroszkópos vizsgálatokat.

Vizsgálati eredményeink alátámasztják a hipotézist, mely szerint a VSMC-kben kifejeződik a hHv1 és szerepet játszik azok migrációs képességében, valamint befolyással van az életképességre. Ez a következtetés további kísérletek végrehajtásához nyújthat alapot, melyek segítségével kvantitatív különbséget mutathatunk ki a kontraktilis, illetve a differenciálódott proliferatív sejtek hHv1 expressziójában majd ezzel összefüggésben lévő funkcionális különbségeket tárhatunk fel.

Rövidítések:

hHV1 – humán feszültség-kapuzott protoncsatorna

VSMC – Vascular Smooth Muscle Cell

MTT- 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium-bromid

PCR – Polimeráz láncreakció



P08

## RNS VÍRUSBAN KIALAKULÓ G-QUADRUPLÉX STRUKTÚRÁK VIZSGÁLATA ÉS SZERKEZETÜK STABILIZÁSLÁSA

**Cervenak Miklós<sup>1</sup>**, Smeller László<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest*

A G-quadruplexek (GQ) olyan nemkanonikus polinukleotid szerkezetek, melyek a nukleinsav molekulák guaninban gazdag régióiban alakulhatnak ki. Egy GQ-t 2-3 egymás fölött elhelyezkedő G-kvartett alkot. A G-kvartett egy síkba rendezett, Hoogsten-féle hidrogénkötésekkel összetartott 4 darab guaninból áll. GQ szerkezetek előfordulnak például a telomer, vagy egyes onkogén promóter régiókban.

Több potenciálisan GQ kialakítására képes szekvencia ismert a SARS-CoV-2 genomjában is. Elsődleges célunk, ezen G-quadruplex struktúrák stabilitásának vizsgálata, és a stabilitást befolyásoló tényezők leírása, úgy mint: oldott kationok minősége, stabilizátorok hozzáadása, magas nyomás, molekuláris zsúfoltság, pH...

Kísérleteink során fluoreszcens spektroszópiával vizsgáltuk az egyes oligonukleotidok végeihez kapcsolt fluorofórok között létrejött energiáttranszfert. Nemlineáris regressziós módszerekkel határoztuk meg a kitekeredés hőmérsékletét ( $T_m$ ), valamint az ezt kísérő entalpiaváltozást ( $\Delta H$ ).

A SARS-CoV-2 genomjából vizsgált három RNS oligomer mindegyike képes GQ forma kialakítására. Stabilizáló ligandumok, mint például a TMPyP4, vagy a PhenDC3 használatával a stabilitás nagymértékben növelhető volt. Szintén növelte a stabilitást a nyomás emelése, míg a molekuláris zsúfoltságot előidéző makromolekulák jelenlétében nem tapasztaltunk mérhető eltérést.

Rövidítések:

GQ: G-quadruplex

SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

RNS: Ribonukleinsav

TMPyP4: meso-5,10,15,20-tetrakis-(N-methyl-4-pyridyl)porphine

PhenDC3: 3,3'-[1,10-Phenanthroline-2,9-diylbis(carbonylimino)]bis [1-methylquinolinium]

## A CISZTATIONIN- $\beta$ -SZINTÁZ OVEREXPRESSZIÓ SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A HASNYÁLMIRIGY DUKTÁLIS ADENOKARCINÓMA AGRESSZIVITÁSÁBAN ÉS A METASZTÁZIS KÉPZÉSBEN

**Czikora Ágnes<sup>1</sup>**, Erdélyi Katalin<sup>1</sup>, Ditrói Tamás<sup>1</sup>, Szántó Noémi<sup>1</sup>, Jurányi Eszter Petra<sup>1</sup>, Szanyi Szilárd<sup>2,3</sup>, Tóvári József<sup>4</sup>, Strausz Tamás<sup>5</sup>, Nagy Péter<sup>1,6,7</sup>

<sup>1</sup>Molekuláris Immunológia és Toxikológia osztály, Országos Onkológiai Intézet, Nemzeti Tumorsejtbiológiai Laboratórium, Budapest

<sup>2</sup>Fej- Nyaki Daganatok Multidiszciplinális Központ, Országos Onkológiai Intézet, Nemzeti Tumorsejtbiológiai Laboratórium, Budapest

<sup>3</sup>Morfológiai és Fiziológiai Tanszék, Egészségtudományi Kar, Semmelweis Egyetem, Budapest

<sup>4</sup>Kísérletes Farmakológiai Osztály, Országos Onkológiai Intézet, Nemzeti Tumorsejtbiológiai Laboratórium, Budapest

<sup>5</sup>Daganatpatológiai Központ, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, Országos Onkológiai Intézet, Nemzeti Tumorsejtbiológiai Laboratórium, Budapest

<sup>6</sup>Anatómiai és Szöveti Tanszék, ELKH Redox Biológiai Laboratórium, Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

<sup>7</sup>Kémiai Kordinációs Intézet, Debreceni Egyetem, Debrecen

P09

A hasnyálmirigy duktális adenokarcinóma az egyik leghalálosabb ráktípus, kimagasló mortalitás és növekvő incidencia jellemzi. Ezért a PDAC biológiájának megértése a hatékonyabb diagnosztikai és kezelési módok tervezése érdekében prioritást élvez.

Célkitűzés: Tanulmányunk célja, hogy feltárjuk a transzszulfurációs utak szerepét a PDAC tumor progressziójában.

Anyag és módszer: *In vitro* kísérleteinkben nyirokcsomó metasztázisból és primer daganatból származó immortalizált sejtvonalakat használtunk. A sejteken molekuláris biológiai, biokémiai, sejtbológiai és tömegspektrometriai méréseket hajtottunk végre. Humán szövettani mintákon immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk. *In vivo* méréseinkben NODSCID hím egereket használtunk.

Eredmények: Megfigyeltük, hogy a CBS enzim szintje a metasztatikus pankreász sejtvonalakban magasabb a primer tumorokból izolált sejtekhez képest. Humán szövettani mintákkal is alátámasztottuk ezen megfigyelésünket. Méréseinkhez géncsendesítéssel hoztunk létre CBS hiányos T3M4 sejtvonalat. *In vivo* kísérleteinkben ezen sejtvonalat oltottuk be az egerek hasnyálmirigyébe, orthotopikus pankreász modellt hoztunk létre. A CBS hiányos sejtvonal pankreászba oltva kevesebb máj áttétet eredményezett a kontrollhoz képest. Sebzárási és telepképződési esszé se-

gítségével is kimutattuk, hogy a CBS hiányos, valamint a primert tumor sejtek lassabban migrálnak a kontroll T3M4 sejtekhez képest. Molekuláris biológiai vizsgálataink során csökkent WNT5a génexpressziót találtuk a primer daganat és CBS csendesített sejtekben a kontrollhoz képest. A csökkent WNT5a expresszió hátterében a STAT3 foszforilációjának csökkenését tapasztaltuk, aminek hátterében a magasabb oxidatív stressz hatására bekövetkező STAT3 oxidációjának köszönhető intra- és intermolekuláris diszulfid hidak képződése állhat. Továbbá eredményeink arra utalnak, hogy a STAT3 oxidatív stressz elleni védelmében a CBS enzimnek kulcs szerepe van az általa termelt perszulfidokon keresztül.

Megbeszélés: A duktális adenokarcinóma agresszivitásában és metasztázis képzésben jelentős szerepe van a CBS overexpressziójának az EMT szabályozásán keresztül.

- PDAC - hasnyálmirigy duktális adenokarcinóma
- CBS - cisztationin- $\beta$ -szintáz
- STAT3 - jelátalakító és transzkripció aktivátor 3
- WNT5a - Recombinant protein of human wingless-type MMTV integration site family, member 5A
- EMT - epiteliális-mezenchimális átmenet

P10

PDTX MODELL HASZNÁLATA BRAF-MUTÁNS MELANÓMÁBAN KIALAKULÓ VEMURAFENIB-REZISZTENCIA MECHANIZMUSOK AZONOSÍTÁSÁRA

**Cserepes T. Mihály<sup>1</sup>**, Vári-Mező Diána<sup>1</sup>, Kigyós Attila<sup>2</sup>, Tóvári József<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Kísérletes Farmakológiai Osztály és Nemzeti Tumorsejtbiológiai Laboratórium, Országos Onkológiai Intézet, Budapest*

<sup>2</sup>*KINETO Lab Kft., Budapest*

A melanómás betegek kezelésében terápiás célpontként használható a BRAF V600E pontmutáció, mely a betegek 40%-ában jelen van, azonban a hatékony inhibitorok ellen rendkívül gyakran, akár néhány hónap alatt rezisztencia alakul ki. Az *in vitro* rezisztenciamodellek sikeresen elvezettek a BRAF és a MEK 1/2 kombinált gátlásához, azonban a rezisztencia problémája továbbra is fennáll (PMID: 33003483). Az utóbbi évtizedben fokozatosan fejlődő betegeredetű tumor xenograft (PDTX) modellek alkalmasak a heterogén tumor és a tumor mikrokörnyezet folyamatos fenntartására, ezáltal a klinikai tumorokhoz hasonlóan viselkednek (PMID: 25185190).

Laboratóriumunkban nagyszámú PDTX modell került kialakításra. Egy 76 éves férfi kután melanóma szövetéből származó tumormodellben NOD-SCID egerekben alakítottunk ki *in vivo* rezisztenciát, több generáción át tartó per os vemurafenib kezeléssel (napi 100mg/ ttkg, heti ötször). A megnőtt tumor, vagy öregedő egér esetén a tumorokat továbboltottuk, valamint elemzésre mintát készítettünk. 9 mintán mRNA-seq elemzés készült (Xenovea Kft., Szeged), melyből 12 gént kiválasztva, 45 mintán qPCR analízissel validáltunk. A fehérjék aktivációját western blot, illetve immunhisztokémia segítségével vizsgáltuk.

Az állatmodellben sikeresen kialakítottuk a vemurafenib-rezisztens tumorokat, melyekben a korábban leírt rezisztenciamechanizmusokat (főként BRAF, NRAS, GFRs, MEK 1/2, PI3K változások) nem találtuk, azonban a 434 differenciáltan expresszált gén közül 12 részletes vizsgálatában találtunk nyolcat, melyek expressziója a rezisztenciával együtt megváltozott. Közülük kiemelendő az ABCB1 expresszió növekedése, mely felelős lehet a szubsztrátként felismert vemurafenib tumorsejtekből való eltávolításáért.

A PDTX modellek jól használhatóak klinikailag releváns, komplex preklinikai rendszerként, melyben a vizsgált melanóma vemurafenib rezisztenciájáért korábban nem azonosított gének felelőssége merül fel, előirányozva új lehetséges kombinációs terápiák alkalmazhatóságát.

A munkát a TKP2021-EGA-44 és NLP-17 projektek támogatták.

Rövidítések:

PDTX: Patient-derived tumor xenograft / betegeredetű tumor xenograft

NOD-SCID: non-obese diabetic-severe combined immunodeficient

GFRs: growth factor receptors / növekedési faktor receptorok

P11

## TUMORSEJTEK AGYI ENDOTÉLIUM SEJTEKHEZ VALÓ TAPADÁSI MINTÁZATÁNAK VIZSGÁLATA

**Csonti Katalin**<sup>1,3,4</sup>, Fazakas Csilla<sup>1</sup>, Mészáros-Molnár Kinga<sup>1</sup>, Poscher Anna<sup>1</sup>, Dorogi Márta<sup>3,4</sup>, Wilhelm Imola<sup>1,2</sup>, Krizbai István<sup>1,2</sup>, Végh Gergely Attila<sup>1,3</sup>

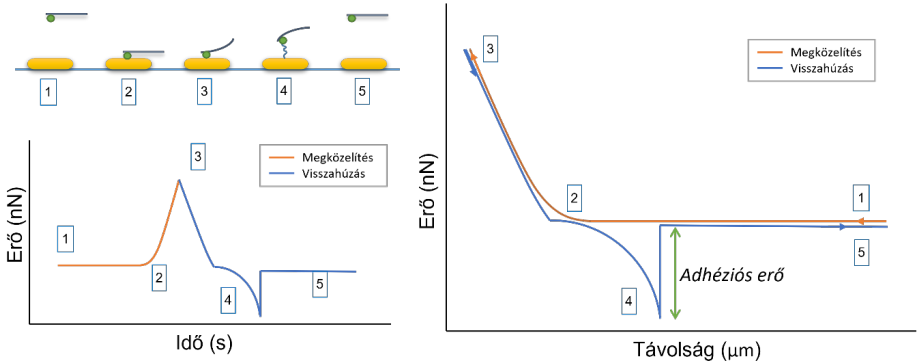
<sup>1</sup>Biofizikai Intézet, Szeged, Magyarország

<sup>2</sup>Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Kar, Szeged, Magyarország

<sup>3</sup>Szegedi Tudományegyetem Fizikai Doktori Iskola, Szeged

<sup>4</sup>Semilab Semiconductor Physics Laboratory Ltd., Budapest, Magyarország

Az egyik leggyakoribb agyi metasztázist okozó rákos megbetegedés az emlőrcarcinóma. A legrosszabb prognózis és a legfélelmetesebb szövődmények az agyi metasztázisokhoz kapcsolódnak. A klasszikus nyirokelvezetés hiánya miatt az agyi áttétek képződésének folyamatában a hematogén út elsődleges fontosságú. A véráramban keringő tumor sejtek endotélsejteken való átjutásához először is fontos lépés az endotélsejteken való megtapadás, ezt követheti a tumor sejtek vér-agy gáton történő átjutása.



1. ábra: Az emlőráksejteket a csúcs nélküli konzol legvégén rögzítettük, és az endothelsejtek összefolyó rétegéhez nyomtuk.

Ez a tanulmány összehasonlítja két emlőrák sejttípus (MDA-BrM2, MDA-TGL) adhéziós tulajdonságait és dinamikáját az agy mikropilláris endoteliális sejtjeinek összefolyó rétegével (humán agy -hcme / D3 endoteliális sejtek). Calcein-Am fluoreszcens festékkel történő jelölés után a rákos sejteket a csúcs nélküli konzol legvégén rögzítettük. Minden kísérletet egy Asylum Research MFP-3D atomerőmikroszkóppal (Asylum Research, Santa Barbara) végeztünk, amelyet egy Zeiss Axiovert 200 optikai mikroszkóp tetejére szereltek fel optikai pozicionálás céljá-

ból. A konzol (CSC38 MikroMasch) rugóállandóját minden alkalommal termikus kalibrációval határoztuk meg. A mérések átlagos hossza 2 óra volt, és az állandó nyomóerő értékét 2nN alatt tartottuk, ezen határ alatti erők nem zavarják a sejtek normál működését. A görbék kiértékeléséhez MatLab programot használtuk.

Atom erő mikroszkóp egy nagyon jó mérési technika az élő sejtek nano-mechanikai tulajdonságainak a meghatározására. Az adhéziós minták sok új részlettel szolgálhatnak az intercelluláris adhézió kialakulásának folyamatairól. Amellett, hogy ezek a kutatások több információval szolgálnak a daganatos sejtek vér-agy gáton való áthaladásáról, lehetőséget adnak az endothélsejtek tulajdonságainak mélyebb vizsgálatára is.

AFM: atomic force microscopy – atomi erő mikroszkóp

MDA-TGL: emlődaganatból izolált sejtsor

MDA-BrM2: agyi metasztázisos variáns

hCMEC/D3: az agyi endothél fenotípusra hasonlító sejtek, a vér-agy gát modellezésére használt sejtsor

MatLab: MATrix LABoratory- numerikus számítások elvégzésére alkalmas speciális programrendszer és egyben programozási nyelv

Asylum Research MFP-3D atomerőmikroszkóp- Asylum Research, Santa Barbara

P12

## A HIPOXIA ÉS A KOMPLEMENT MASP-1 KÁROS SZINERGISTA HATÁSA AZ ATEROSZKLERÓZISHOZ TÁRSULÓ BETEGSÉGEKBEN, ENDOTÉLSEJT MODELLLEN

**Demeter Flóra**<sup>1</sup>, Németh Zsuzsanna<sup>1</sup>, Kajdácsi Erika<sup>1</sup>, Debreczeni Márta<sup>1</sup>, Gál Péter<sup>2</sup>, Dobó József<sup>2</sup>, Cervenak László<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Hematológiai Klinika Kutatólaboratóriuma, Budapest*

<sup>2</sup>*Eötvös Lóránd Kutatási Hálózat, Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest*

A hipoxia az ateroszklerózis talaján kialakuló stroke/AMI patogenezisének egyik központi eleme. Ismert a komplement lektin útvonal részvétele az ateroszklerózisban és a hozzá társuló betegségekben. A MASP-1, a lektin útvonal legjelentősebb enzime, a PAR receptorok hasításával az endotélsejtek gyulladásofenotípusát indukálja. Azonban nincs adat arról, hogy a hipoxia és a MASP-1 egymás hatását potenciórozhatja-e, így célunk ennek vizsgálata volt.

Hipoxiás endotél modellként hipoxiás inkubátorban (1% O<sub>2</sub>) tartott vagy CoCl<sub>2</sub>-kezelt konfluens réteg HUVEC-et használtunk. Az adhézíós molekulákat sejtes-, a citokineket szendvics ELISA-val detektáltuk. A jelátviteli utakat immunfluoreszcens mikroszkóppal, a Ca<sup>2+</sup> mobilizációt Fluo-4-AM Ca-szenzitív festékkel, fluoreszcens mikroszkóppal, a PAR génextpressziót qPCR-rel, a permeabilitásváltozást XperT módszerrel vizsgáltuk. A statisztikai analízis GraphPad Prism 7.0-ban készült.

A hipoxia és a MASP-1 szinergisztikusan aktiválta a Ca<sup>2+</sup>, CREB és NFκB jelátviteli utakat. Az E-szelektin, a neutrofil homing egyik központi adhézíós molekulájának expresszióját a hipoxia és a MASP-1 szinergisztikusan fokozta, míg a MASP-1 által kiváltott VCAM-1 expressziót a hipoxia gátolta. A hipoxia az ICAM-1 expresszióját fokozta, míg az ICAM-2 expresszióját csökkentette. A két ágens egymás hatásának erősítése nélkül növelte a GROα és IL-8 termelést, valamint a permeabilitást. A hipoxia időfüggően fokozta a MASP-1 receptor PAR2 gének expresszióját. A C1INH gátolta a MASP-1 hipoxia hatását fokozó hatását.

A hypoxia legalább részben a MASP-1 receptor PAR-ok expressziójának fokozásával potenciózza annak endotélsejtekre kifejtett hatását. Ennek következménye a folyamat számos szintjén (pl. jelátviteli utak, adhézíós molekulák) tapasztalt szinergizmus, ami hozzájárulhat a stroke/AMI akut fázisában ismert erős neutrofil infiltráció kialakulásához. Ez felveti a MASP-1 gyógyszer target szerepét az ateroszklerózishoz társuló betegségek akut szakaszában.

AMI: acute myocardial infarction

C1INH: C1 inhibitor

CREB: cAMP responding element binding protein

GROα: growth related oncogen alpha

HUVEC: human umbilical vein endothelial cell

ICAM: intercellular adhesion molecule

IL-8: interleukin 8

MASP-1: mannan-binding lectin-associated serine protease-1

NFκB: nuclear factor-κB

PAR: protease activated receptor

VCAM: vascular cell adhesion molecule

MASSZÍV MÁJNECROSIS KÖVETŐ REGENERÁCIÓ  
ALTERNATÍVÁI EXPLANTÁLT HUMÁN MÁJAKBAN**Dezső Katalin**<sup>1</sup>, Paku Sándor<sup>1</sup>, Kóbori László<sup>2</sup>, Scheich Bálint<sup>1</sup>,  
Rókusz András<sup>1</sup>, Nagy Péter<sup>1</sup><sup>1</sup>SE, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet<sup>2</sup>SE, Sebészeti, Transzplantációs és Gasztroenterológiai Klinika

Fulmináns májelégtelenséggel járó masszív májneccrosist számos, különböző máj-károsító ágens okozhat. Irodalmi adatok alapján az alfa-fetoprotein (AFP) emelkedett szérumszintje fulmináns májelégtelenségben gyakran jobb prognózissal jár együtt, s bár a betegek egy része csak májtranszplantációval menthető meg, kis hányaduknál a máj spontán regenerációja figyelhető meg. A regeneráció pontos mechanizmusa nem ismert, a túlélő májsejtek és a kis epeutakban elhelyezkedő májösszejtek egyaránt részt vehetnek a folyamatban.

A SE, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetében fulmináns májelégtelenség miatt explantált májakat részletes szövettani vizsgálatoknak vetettünk alá.

A vizsgált mintákban a májregeneráció két alternatíváját figyeltük meg és különítettük el:

1. a túlélő májsejtek acináris struktúrákba rendeződtek, élénk proliferációs aktivitás mellett, változó mértékben AFP-t és glipikán-3-at expresszáltak.

2. kiterjedt parenchymamentes területek alakultak ki, periportálisan élénk epeutproliferáció/duktuláris reakció szöveti jeleivel. A duktuláris reakció sejtjei kis májsejteké differenciálódtak melyek, kerekded fókuszokat formáltak, ezek egy-egy centrális vénaág körül „fuzionálva”, megkísérelték a klasszikus, hatszögletű májlebenyke kialakítását.

Eredményeink alapján akut májelégtelenségben szenvedő betegek emelkedett AFP-szintje az AFP-pozitív hepatociták által közvetített hatékony májregenerációra utalhat, és magyarázatot adhat arra, hogy miért jobb ezeknek a betegeknek a prognózisa. A mintáinkban megfigyelt májregeneráció két lehetséges alternatívájának prospektív klinikopatológiai vizsgálata és felismerése segítheti a terápiás stratégia kiválasztását, esetleg befolyásolhatja a májtranszplantációra várakozó recipiensek szelekcióját.

NKFIH FK-138673



## FAJFÜGGŐ KÉSŐI NÁTRIUM KONDUKTANCIA EMLŐS SZÍVIZMON

**Dienes Csaba**<sup>1</sup>, Kovács Zsigmond<sup>1</sup>, Óvári József<sup>1</sup>, Magyar János<sup>2</sup>, Bányász Tamás<sup>1</sup>, Szentandrassy Norbert<sup>3</sup>, Nánási Péter Pál<sup>4</sup>, Horváth Balázs<sup>1</sup>

P14

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettan Intézet*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettan Intézet, Sportélettani Tanszék*

<sup>3</sup>*Debreceni Egyetem, Fogorvostudományi Kar, Alapozó Orvosi Ismeretek Intézet*

<sup>4</sup>*Debreceni Egyetem, Fogorvostudományi Kar, Fogorvosi Élettani és Gyógyszertani nem önálló Tanszék*

A késői nátriumáram ( $I_{Na,late}$ ) emlősben egy, az akciós potenciál (AP) plató fázisa alatt befelé folyó áram. A  $I_{Na,late}$  egy lehetséges antiaritmiás célpont, de az áram és konduktancia AP alatti lefutásának fajfüggése kevésbé ismert.

Jelen tanulmányban a  $I_{Na,late}$  lefutását és a hozzá tartozó konduktancia-változásokat ( $G_{Na,late}$ ) hasonlítottuk össze nyúl, kutya és tengerimalac kamrai szívizomsejtekben akciós potenciál feszültség clamp technikával.

Kutya és nyúl miocitákban a  $I_{Na,late}$  denzitása a plató alatt viszonylag stabil volt, és csak az AP terminális repolarizációja mentén csökkent, míg a  $G_{Na,late}$  értéke monoton csökkent. Tengerimalacban ezzel szemben az AP alatt a  $I_{Na,late}$  monoton nőtt, míg a  $G_{Na,late}$  nagyjából változatlan maradt. A  $G_{Na,late}$  exponenciális csökkenése tengerimalacban sokkal lassabb volt, mint kutyában vagy nyúlban. A nyúl vagy tengerimalac AP-k, kutya sejteken feszültség parancsjelként alkalmazva nem változtatták meg a kutya  $I_{Na,late}$  és  $G_{Na,late}$  tulajdonságait, vagyis az áramprofilok különböző formáit a  $I_{Na,late}$  kapuzásában való fajok közötti valódi különbség okozza. Kutyából származó sejteken a  $I_{Na,late}$  és a  $G_{Na,late}$  is kisebbnek adódott az intracelluláris  $Ca^{2+}$ -koncentráció csökkentése esetén. Kutya sejteken az ATX-II által indukált  $I_{Na,late}$  és  $G_{Na,late}$  a natív áramhoz hasonló kinetikát mutatott, míg tengerimalacban az ATX-II által indukált  $G_{Na,late}$  az AP során növekedett.

Jelentős fajok közötti különbségeket mutattunk ki az  $I_{Na,late}$  kapuzási kinetikájában. Ezen különbségek nem magyarázhatóak a fajok közötti eltérő AP alakkkal, de a tengerimalacokon kapott  $I_{Na,late}$  eredmények értelmezésekor mindenképpen érdemes figyelemmel lenni rájuk.

Rövidítések:

$I_{Na,late}$  késői nátriumáram  
 AP akciós potenciál  
 $G_{Na,late}$  késői nátrium konduktancia

## IDENTIFICATION OF INHIBITORS OF THE HUMAN HV1 PROTON CHANNEL

**Geraldo Domingos**<sup>1</sup>, Adam Feher<sup>1</sup>, Eva Korpos<sup>1,2</sup>, Tibor G. Szanto<sup>1</sup>, Martina Piga<sup>3</sup>, Tihomir Tomasic<sup>3</sup>, Nace Zidar<sup>3</sup>, Adrienn Gyongyosi<sup>4</sup>, Judit Kallai<sup>4</sup>, Arpad Lanyi<sup>4</sup>, Ferenc Papp<sup>1</sup>, Katinka Gyuris<sup>1</sup>, Zoltan Varga<sup>1</sup>

P15

<sup>1</sup>*Department of Biophysics and Cell Biology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Hungary,*

<sup>2</sup>*MTA-DE Cell Biology and Signalling Research Group, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Hungary*

<sup>3</sup>*Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Ljubljana, Slovenia,*

<sup>4</sup>*Department of Immunology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Hungary*

The human voltage-gated proton channel (hH<sub>V</sub>1) plays an important role in immune and cancer cells being involved in functions such as proliferation, migration, and oxidative burst. H<sub>V</sub>1 does not have a conventional ion-conducting pore, the conduction occurs through the voltage-sensing domain. This difference may be the reason for the lack of selective hH<sub>V</sub>1 inhibitors. Currently, 5-chloro-2-guanidinobenzimidazole (ClGBI) is the most widely used inhibitor of H<sub>V</sub>1 but it has low selectivity for the channel. This could lead to misinterpretation of functional assays addressing the role of H<sub>V</sub>1 with the use of ClGBI. Thus, our aim was to find potent and more selective inhibitors for hH<sub>V</sub>1, which could be useful research tools and serve as lead molecules for the development of drug molecules targeting H<sub>V</sub>1.

We used patch-clamp to test the affinity and selectivity of potential inhibitors of H<sub>V</sub>1 on CHO and HEK cells expressing hH<sub>V</sub>1 and other channels. Seven “hit” molecules were identified among the NZ family of compounds of which NZ-13 has the best selectivity profile.

The widely-used H<sub>V</sub>1 inhibitor ClGBI blocks various ion channels and therefore is not a selective H<sub>V</sub>1 blocker. This must be considered in functional tests investigating the role of H<sub>V</sub>1 in healthy and pathological conditions.

We have identified a new family of hH<sub>V</sub>1 inhibitors, which have comparable affinities for the channel to ClGBI.

Most NZ molecules have low selectivity for hHV1, but NZ-13, the one with the highest selectivity, may be better suited for functional tests than ClGBI as it inhibits T cell proliferation less.

P16

## ENYHE STRESSZ HATÁSÁRA FELFORRÓSODÓ ORGANELLUMOK

**Dukic Barbara**<sup>1</sup>, Tizslavicz Ádám<sup>1</sup>, Bíró Péter<sup>2</sup>, Péter Mária<sup>1</sup>,  
Balogh Gábor<sup>1</sup>, Varga-Zsíros Vanda<sup>1</sup>, Erdélyi Miklós<sup>2</sup>, Vígh László<sup>1</sup>,  
Gombos Imre<sup>1</sup>, Török Zsolt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémia Intézet, Molekuláris  
Stresszbiológiai Kutatócsoport

<sup>2</sup>Szegedi Tudományegyetem, Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék

A hősokkválasz, a sejtek károsító hatások elleni védekező mechanizmusa gyakran a hősokkfehérjék fokozott expressziójával jár, ami segít megelőzni a fehérjekárosodást és az aggregációt. Emlős sejteken végzett vizsgálataink azonban egy új, enyhe lázszerű hőmérsékleti tartományt (39,5-40 °C) tártak fel, ahol a sejtek hőtűrő képessége a stresszfehérje-szintézis hiányában is kifejlődik. (Peksel et. al 2018)

Vizsgálataink célja az enyhe hőkezelés során bekövetkező membránváltozások és a sejtek stresszválasza közötti lehetséges összefüggések feltárása, illetve a hő hatásának szubcelluláris szinten történő vizsgálata volt.

Kísérleteink szerint a sejtorganellumok hőmérséklete jelentősen eltérhet a környezet és az egész sejt hőmérsékletétől. ER-thermo-yellow hőmérséklet-érzékeny endoplazmatikus retikulum specifikus fluoreszcens próbával MEF és U2-OS sejtek ER-jében hőmérsékletfüggő termogenezist (potenciális SERCA-Ca<sup>2+</sup>-ATPáz aktivitást) detektáltunk. 40 °C-os hőkezelés esetén az ER közel 50 °C-ra forrósodott. Ehhez hasonló hőmérséklet-különbséget eddig csak mitokondriumokban figyelték meg a metabolikus aktivitás eredményeként. RNS-seq eredményeink rámutattak, hogy a 40 °C-os hőkezelést követően beindul a selejtféhrje-válasz (UPR) (Tizslavicz et. al 2022), annak ellenére, hogy ezen a hőmérsékleten még nem várható fehérjedenaturáció. Ez arra enged következtetni, hogy az ER-ban lokális fehérjedenaturáció következhet be, amelyet a kísérleteinkben megfigyelt jelentős hőtermelés magyarázhat. A különböző UPR útvonalak hozzájárulásának vizsgálata érdekében U2-OS sejtekben dSTORM szuperrezolúciós mikroszkópiával követtük a lázszerű hőkezelés hatására bekövetkező IRE1 klaszterizálódást - ami az IRE1 útvonal aktiválódásának első lépése. Áramlási citometriával kimutattuk az IRE1-függő XBP1 fehérje indukciójának emelkedését is, ugyanakkor a kezelés másik UPR útvonalat, a PERK-függő ATF4-expressziót nem érintette.

ER: endoplasmic reticulum / endoplazmatikus retikulum

MEF: mouse embrionic fibroblast / egér embrionális fibroblaszt sejtvonal

UPR: Unfolded Protein Response / selejtféhrje válasz

P17

## FLUCTUATION OF DNA METHYLATION DURING ANTERIOR AND POSTERIOR SEGMENT REGENERATION IN EARTHWORMS

Chayeen Brotzki da Costa, Péter Németh, **Péter Engelmann***Department of Immunology and Biotechnology, University of Pécs, Pécs*

DNA methylation is a common epigenetic mark. The 5-methylcytosine (5mC), 5-hydroxy-methylcytosine (5hmC) and N6-methyladenine (6mA) modified nucleotides were described from various living organisms, but their methylation patterns in *Eisenia andrei* earthworm are not known. Epigenetic mechanisms influence cellular differentiation during animal regeneration, however, there are scarce data about the DNA methylation in earthworm segment restoration.

Global DNA methylation was evaluated applying mouse monoclonal antibodies raised against 5mC, 5hmC and 6mA. Immunohistochemistry was executed on anterior and posterior segments from intact, 2 and 4 weeks regenerating earthworms. Dot blot analysis was performed on genomic DNA isolated from anterior and posterior segments of intact and regenerating (1, 2, 3 and 4 weeks) blastema of earthworms.

By means of immunohistochemistry we observed ubiquitous signals in various tissues; however, there is no visible differences between the intact and regenerated segments. Dot blot assay evidenced higher 5mC levels on the first week of anterior regeneration, 5hmC peak occurred during third week, while 6mA levels did not vary significantly. During posterior regeneration higher levels of 5mC (week 4) and 5hmC (week 2) were detected, while 6mA had higher levels on week 2. In addition, methylation levels of 5hmC and 6mA were higher in regenerated posterior segments compared to the anterior ones. To assess the methylation levels during the embryogenesis of earthworms a similar approach will be applied.

For the first time we observed the different forms (5mC, 5hmC and 6mA) of DNA methylation in earthworm *E. andrei* that fluctuate during anterior and posterior segment regeneration.

## A KCA1.1 IONCSATORNA JÁRULÉKOS ALEGYSÉGEINEK FUNKCIONÁLIS EXPRESSZIÓJÁNAK FELTÉRKÉPEZÉSE GLIOBLASZTÓMÁBAN

**Fehér Ádám**<sup>1</sup>, Pethő Zoltán<sup>1,2</sup>, Szántó G. Tibor<sup>1</sup>, Klekner Álmos<sup>3</sup>, Tajti Gábor<sup>1</sup>, Batta Gyula<sup>1,4</sup>, Hortobágyi Tibor<sup>5,6</sup>, Varga Zoltán<sup>1</sup>, Albrecht Schwab<sup>2</sup>, Panyi György<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejbíológiai Intézet*

<sup>2</sup>*University Münster, Institute of Physiology II*

<sup>3</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Idegsebészeti Klinika*

<sup>4</sup>*Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Genetikai és Alkalmazott Mikrobiológiai Tanszék*

<sup>5</sup>*Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pathológiai Intézet*

<sup>6</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Neurológiai Intézet*

P18

A glioblasztóma (GBM) a leginvazívabb agydaganat, ahol az ionszatornák, köztük a  $K_{Ca}1.1$ , új terápiás célpontok lehetnek. Mivel a GBM-ben a  $K_{Ca}1.1$ -hez kapcsolódó járulékos alegységek nagyrészt ismeretlenek, farmakológiával és géncsendesítéssel kombinált elektrofiziológiai méréseket alkalmaztunk a  $K_{Ca}1.1/\beta$  alegység-komplexek funkcionális expressziójának vizsgálatára mind a primer tumorsejteknel, mind az U-87 MG glioblasztóma sejtvonalnál. A makroszkópos áramok paxilline, litokólsav, arachidonsav és iberiotoxin iránti érzékenységeinek mintázata (aktiválás/gátlás); a whole-cell áram inaktiválásának jelenléte, valamint a kifelé irányuló egyenirányítás elvesztése a DTT redukálószerrel való expozíció hatására együttesen amellet szól, hogy a  $K_{Ca}1.1/\beta3$  komplex kifejeződik az U-87 MG-ben. Hasonló eredményeket találtunk a betegmintákból izolált humán primer glioblasztóma sejtek vizsgálatánál is. A  $\beta3$  alegység expressziójának csendesítése gátolta a karbakol által kiváltott  $Ca^{2+}$  tranzienseket az U-87 MG-ben, ezzel jelezve a  $K_{Ca}1.1/\beta3$  szerepét a glioblasztóma sejtek  $Ca^{2+}$  jelátvitelében. A  $K_{Ca}1.1/\beta3$  komplex funkcionális expressziója viszont nem függ a sejtciklustól. Eredményeink alapján a KCA1.1/ $\beta3$  komplex a jövőben diagnosztikai és terápiás potenciállal rendelkezhet a glioblasztómában.

GBM: glioblastoma multiforme

$K_{Ca}1.1$ : Kalcium-aktivált káliumcsatorna alfa alegység

P19

## PACAP KEZELÉS HATÁSA CPC SEJTEKEN

**Csaba Fillér<sup>1</sup>**, Anna Tóth<sup>1</sup>, Barbara Hinnah<sup>1</sup>, Róza Zákány<sup>1</sup>, Dóra Reglódi<sup>2</sup>, Tamás Juhász<sup>1</sup><sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Debrecen*<sup>2</sup>*Pécsi Tudományegyetem, Anatómiai Intézet, PTE-MTA PACAP Kutatócsoport, Pécs*

A hypothalamusból izolált neuropeptid a hypophysis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, PACAP) számos szövet differenciációjában, pl. a porcszövet fejlődésében tölt be fontos szerepet. *In vivo* két izoformáját azonosították eddig: a PACAP 1-38-at és a PACAP 1-27-et, melyek mindegyike a G-féherje kapcsolt PAC1 receptoron keresztül fejt ki hatását. A kutatások azt igazolták, hogy PACAP KO egerekben korai osteoarthritisra jellemző elváltozások jelentkeztek PACAP hiányára. Osteoarthritisben szenvedő emberek synovialis folyadékából izolált human chondroprogenitor (CPC) sejtekre gyakorolt hatása, illetve funkciója azonban még ismeretlen. Kutatásunk célja a PACAP kezelés hatásainak vizsgálata ezen CPC sejtek differenciációjára.

Kutatásaink során a CPC sejteket PACAP 1-38-al, illetve az annak antagonistájaként szolgáló, trunkált formájával, a PACAP 6-38-al kezeltük. A sejtek életképességét MTT assay-vel, míg a proliferációt trícilált timidin beépüléssel mértük. Továbbá megvizsgáltuk a sejtek differenciációját, melyhez dimetil-metilénkék festést használtunk, illetve monitoroztuk a sejtek migrációját és motilitását is a CytoSmart kamerarendszer segítségével.

Habár a PACAP variánsokkal történő kezelés nem vezetett apoptotikus vagy nekrotikus folyamatok beindulásához, azonban a CPC sejtek proliferációs képessége *in vitro* szignifikánsan csökkent. A PACAP 1-38 sejt kultúrához történő hozzáadása a sejtek lekerekedését eredményezte, illetve a sejtosztódás csökkenése mellett jellemző volt a tenyészetek esetében a nodulusok – a sejtek szorosan egy csoportba rendeződésével keletkező csoportosulások – képződése, mely a megnövekedett metakromatikusan festődő extracelluláris mátrix termelésével volt magyarázható. PACAP 6-38 kezelés hatására nem volt megfigyelhető metakromatikus terület a tenyészetekben. A sejtek migrációja és motilitása mindkét PACAP variáns hatására csökkent.

Az eddigi kutatásaink során kapott eredményeink a PACAP *in vivo* gyógyászati alkalmazására teremthetnek lehetőséget osteoarthritisben szenvedő betegek esetében.

Támogató: NKFIHK139396

## REDOX RENDSZEREK VIZSGÁLATA A DABRAFENIB- TRAMETINIB CÉLZOTT TERÁPIÁRA REZISZTENS MELANÓMA SEJTEKBEN

**Galambos Klaudia**<sup>1,2</sup>, Erdélyi Katalin<sup>1</sup>, Ditrói Tamás<sup>1</sup>, Jurányi Eszter Petra<sup>1,3</sup>, Szántó Noémi<sup>1</sup>, Liszky Gabriella<sup>4</sup> és Nagy Péter<sup>1,5,6</sup>

<sup>1</sup>*Országos Onkológiai Intézet, Molekuláris Immunológia és Toxikológia Osztály, Budapest*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem, Laki Kálmán Doktori Iskola, Debrecen*

<sup>3</sup>*Semmelweis Egyetem, Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola, Budapest*

<sup>4</sup>*Országos Onkológiai Intézet, Dermatoonkológia Osztály, Budapest*

<sup>5</sup>*Anatómiai és Szövetani Tanszék, ELKH Redox Biológiai Laboratórium, Állatorvostudományi Egyetem, Budapest*

<sup>6</sup>*Kémiai Koordinációs Intézet, Debreceni Egyetem, Debrecen*

P20

A BRAF V600E mutációt hordozó melanómás betegek kezelésére hatékonyan bizonyult a BRAF és MEK inhibitor terápia, azonban a rezisztencia kialakulása legtöbb esetben elkerülhetetlen. Érdekes módon a rezisztens sejtekre a ROS magasabb szintje jellemző. Célunk, hogy megértsük a rezisztencia hátterében álló redox változásokat.

Kísérleteinket BRAF V600E mutáns A375 sejtvonallal és az általunk létrehozott rezisztens vonallal végeztük. Az enzimszinteket Western blottal, a sejtek viabilitását Sulforhodamine B módszerrel vizsgáltuk, a kéntartalmú metabolitok szintjét tömegspektrometriás módszerekkel mértük.

Azt találtuk, hogy a kontroll sejteket gyógyszerekkel kezelve nő az oxidációt indukáló peroxid és szuperoxid lebontásáért felelős enzimek (kataláz, SOD2) szintje. A rezisztens sejtekben ezek szintje a kezeletlen kontroll sejtekhez képest magas, illetve a rezisztens sejtektől a gyógyszer megvonva visszaesik. Hasonló tendenciát láttunk az oxidációt követő redukcióért felelős enzimek (TrxR1, TRP14, GPX1,4) szintjében, illetve az ezen enzimek redukciós ekvivalenseit biztosító NADPH termeléséért felelős enzim, a G6PD szintjében. A redukáló enzimkaskád számos szelenociszteint tartalmazó fehérjéből áll. Szelén megvonás hatására jelentős csökkenést tapasztaltunk a szelénfüggő enzimek szintjében, illetve a szelén megvonás következtében a rezisztens sejtek érzékenysége nőtt a cisztin megvonás okozta sejthalállal szemben. Továbbá a rezisztens sejtekben a kezeletlen kontrollhoz képest a cisztinfelevétel mértékében és az intracelluláris glutation szintekben növekedést észleltünk, az intracelluláris cisztein szintek pedig lecsökkentek.

Eredményeink arra utalnak, hogy a BRAF és MEK inhibitor terápiára rezisztens melanóma sejtek az oxidatív stressz ellensúlyozására jelentősen megnövekedett szelén és cisztein szükséglettel rendelkeznek.

A projekt a Tématerületi Kiválósági Program (TKP2021-EGA-44), a Nemzeti Laboratóriumok Program (NLP-17) és Richter Gedeon a Richter Gedeon Talentum Alapítvány támogatásával valósult meg.

BRAF: B-Raf protoonkogén

MEK: Mitogén aktivált protein kináz kináz

ROS: reaktív oxigén származékok; SOD2: szuperoxid diszmutáz 2

TrxR1: tioredoxin-reduktáz 1

TRP14: 14-kDa human thioredoxin (Trx)-related protein

GPX1, 4: glutation-peroxidáz 1,4

G6PD: glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz

NADPH: nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát

GSTpi: glutation-S-transzferáz pi



## P21

## A-KETOGLUTARÁT-DEHIDROGENÁZ E2 ÉS E3 ALEGYSÉGEK KIÜTÉSÉNEK HATÁSA A MITOKONDRIÁLIS ENERGIATERMELÉSRE EGÉR AGYI ÉS VESE MITOKONDRIUMOKON

**Gáspár Dániel**, Komlódi Tímea, Kokas Márton, Tretter László  
*Neurobiokémiai Munkacsoport, Biokémiai Tanszék, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest*

Az  $\alpha$ KGDHc a mitokondriális metabolizmus központi eleme, amely a citrát-kör sebességmeghatározó lépését katalizálja. Az  $\alpha$ KGDHc alulműködését számos neurodegeneratív kórképben azonosították, így az aleggységek hiánya miatt kialakuló bioenergetikai változások tanulmányozása nagy jelentőséggel bír a betegségek patomechanizmusának megismerésében. Az enzim az  $\alpha$ KG + NAD<sup>+</sup> → szukcinil-KoA + NADH + H<sup>+</sup> + CO<sub>2</sub> átalakításért felelős. Az enzimkomplex három aleggységből épül fel: 2-oxoglutarát-dehidrogenáz (E1); dihidrolipoil-transzszukciniláz (E2); dihidrolipoildehidrogenáz (E3). Korábban munkacsoportunk írta le elsőnek, hogy az  $\alpha$ KGDHc képes ROS képzésre emelkedett NADH/NAD<sup>+</sup> arány mellett.

Munkánk célja, hogy vizsgáljuk az  $\alpha$ KGDHc E2 és E3 aleggység heterozigóta formában történt kiütésének hatását a mitokondriális oxigénfogyasztásra, valamint a ROS termelésre különféle légzési szubsztrátok jelenlétében.

Kísérleteinkhez vad típusú és E2<sup>+/-</sup>, E3<sup>+/-</sup> kettős heterozigóta génkiütött egérből izoláltunk agy és vese mitokondriumokat. A mitokondriális oxigénfogyasztást polarográfiás oxigénelektóddal, míg a ROS termelést Amplex UltraRed segítségével fluoreszcensen mértük.

A E2<sup>+/-</sup> / E3<sup>+/-</sup> kettős heterozigóta egerekből izolált agy és vese mitokondriumokban az O<sub>2</sub> fogyasztás csökkent  $\alpha$ KG, illetve piruvát-malát légzési szubsztrátok (NADH-függő) jelenlétében a kontrollhoz viszonyítva. Ezzel ellentétben a Komplex I-et kikerülő légzési szubsztráttal (szukcinát) energetizált agy- és vese mitokondriumokban az O<sub>2</sub> fogyasztást nem befolyásolta az  $\alpha$ KGDHc aleggységeinek kiütése. A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> termelés az E2<sup>+/-</sup> / E3<sup>+/-</sup> egerekből izolált agy mitokondriumokban csökkent függetlenül az alkalmazott légzési szubsztrát típusától. A szukcinát jelenlétében mért reverz elektron transzporttal előidézett H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> termelés kisebb volt a transzgén állatokban mind agy, mind pedig vese mitokondriumban.

Eredményeink bizonyítják az  $\alpha$ KGDHc aleggységeinek ROS-képzésben betöltött szerepét a forward és reverz elektrontranszport során, amelynek kiemelkedő jelentősége lehet nemcsak neurodegeneratív kórképekben, hanem ischemia-reperfúziós károsodás esetén is.

$\alpha$ KG:  $\alpha$ -ketoglutarát;  $\alpha$ KGDHc:  $\alpha$ -ketoglutarát-dehidrogenáz komplex; ROS: reaktív oxigéngyökök; E2: dihidrolipoil-transzszukciniláz; E3: dihidrolipoildehidrogenáz

## A T-SEJTEKRE OPTIMALIZÁLT HER2-SPECIFIKUS CAROKKAL MÓDOSÍTOTT NK-92 SEJTEK ÁTMENETI TUMORELLENES HATÁST MUTATNAK EMLŐTUMOR XENOGRAFT MODELLBEN

**Gergely Bence<sup>1</sup>**, Vereb Márk<sup>1</sup>; Vereb György<sup>1</sup>; Szöör Árpád<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen*

Az onkológia területén áttörést hozott a beteg T sejtjeinek módosítása kiméra antigén receptorokkal (CAR). Ugyanakkor, a szinte kizárólagosan autológ alkalmazás jelentős korlát a CAR T sejtek széleskörű terápiás elterjedésében. A természetes ölüsejtek (NK) áthidalhatják ezt az akadályt, mivel a recipiensben nem váltanak ki graft-versus-host-betegséget, így lehetséges allogén alkalmazásuk „off-the-shelf” készítményként.

Előkísérleteinkben II. és III. generációs, a CD28 és/vagy 41BB kostimulációs endodoméneket kifejező HER2 specifikus CAR-okkal módosított NK-92 sejtvo-  
nalakat állítottunk elő retrovirális transzdukcióval, majd validáltuk in vitro akti-  
vításukat. Megállapítottuk, hogy a CD28 és 41BB kostimulációs endodoméneket  
együttesen kifejező III. generációs HER2-CAR-ok indukálták a legjelentősebb  
effektorhatást, amit szignifikánsan magasabb IFN $\gamma$  szekréció jelzett a trastuzumab  
rezisztens HER2+ JIMT-1 tumorsejtvo-  
nalak ellenében.

Ezt követően megvizsgáltuk, hogy a III. generációs HER2-specifikus CAR-NK-92  
sejtek képesek-e egy preklinikai szolid tumor modellben is hatékonyabb tumorelle-  
nes aktivitást indukálni, mint a II. generációs CAR-NK-k.

Kísérletünkben NSG egereket szubkután xenotranszplantáltunk a luciferáz mar-  
kert stabilan kifejező JIMT-1 tumorsejttekkel, majd két héttel az oltást követően  
intravénásan 5-5 millió II., illetve III. generációs CAR-NK-92 sejtrel kezeltük az  
állatokat. A kontrollcsoport egyedei nem transzdukált NK-92 sejteket +/- intrape-  
ritoneális trastuzumab injekciót kaptak. A tumorelles hatást Perkin Elmer IVIS  
Spectrum CT készülékkel monitoroztam.

Megállapítottam, hogy az in vitro kísérletekben szignifikáns tumorelles hatást  
mutató HER2-CAR NK-92 sejt-készítmények a kezelést követő két hetes inter-  
vallumban in vivo is tumorelles hatást váltottak ki, azonban ez minden esetben  
ideiglenesnek bizonyult és a tumorok a kezelt állatokban túlnőttek.

Azt feltételezzük, hogy a kísérleteinkben használt T sejtekre optimalizált CAR  
konstruktok megváltoztatása az NK sejtekre specifikus 2B4 kostimulációs domén  
beépítésével jobb in vivo tumorelles hatást eredményezhet.

P23

## A RECEPTORIÁLIS VÁLASZKÉSZSÉG MÓDSZER (RRM) PONTOSSÁGA ÉS MEGBÍZHATÓSÁGA LOKÁLIS, VALAMINT EGY- ÉS KÉT-MODELLES GLOBÁLIS GÖRBEILLESZTÉSKOR

Óvári Ignác<sup>1</sup>, Tele-Héri Brigitta<sup>2</sup>, Viczján Gábor<sup>1</sup>, Erdei Tamás<sup>1</sup>, Juhász Béla<sup>1</sup>, Szilvássy Zoltán<sup>1</sup>, Zsuga Judit<sup>2</sup>, **Gesztyeli Rudolf**

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pszichiátriai Tanszék*

A receptorális válaszkésztség módszer (RRM) koncentráció-hatás (E/c) görbék regresszióanalízisén alapuló eljárás. Az RRM lehetővé teszi egy bomlékony agonista receptorközelbeli koncentrációjában beállt változás becslését az érintett receptor egy stabil agonistájával felvett két E/c görbe adataiból, amennyiben az első görbe a koncentráció változás előtt (vagy hiányában), a másik pedig utána készült ugyanazon (vagy egy ugyanolyan) biológiai rendszerben. Az RRM eredménye egy helyettesítő paraméter, ami a stabil agonista azon koncentrációja, ami ekvifektív a bomlékony agonista koncentrációjának változásával. Az RRM lényegét jelentő görbeillesztés azonban többféleképpen végezhető el, ami befolyásolhatja a meghatározás pontosságát, megbízhatóságát, illetve a kivitelezés könnyű vagy körülményesebb voltát. Jelen vizsgálatunkban stabil agonisták ismert koncentrációit becsültük meg az RRM lokális (individuális), továbbá egy- és két-modelles globális illesztéssel való kivitelezése mellett, melyet a regresszió hagyományos, illetve robusztus módjával kombináltunk. Mivel a E/c görbék a meghatározandó agonistákkal vettük fel, ezúttal helyettesítő paraméter helyett közvetlenül a keresett agonista koncentrációkra kaptunk becsléseket, melyeket összehasonlítottunk az ismert valós értékekkel. Eredményeink szerint a globális mód megbízhatóságát és pontosságát nagyban fokozta, amikor az egymást kiegészítő E/c görbék páronként illesztettük (tehát egyszerre csak kettőt). A legpontosabb eljárásnak az egyébként legnehézkesebb lokális illesztés bizonyult, melyet holtversenyben szorosán követett a közepesen körülményes két-modelles és a könnyen végezhető egy-modelles globális illesztés. A legmegbízhatóbb eljárás a két-modelles globális illesztés volt, amitől a lokális illesztés alig, az egy-modelles globális regresszió viszont jelentősen elmaradt. Az illesztés hagyományos, illetve robusztus módja nem befolyásolta számottevően a becslési pontosságot. Az RRM kivitelezésére tehát a páronként végzett, két-modelles globális illesztés ajánlható, de a lokális illesztés is jól alkalmazható.

Témátámogatás: GINOP-2.3.4-15-2020-00008, TKP2020-NKA-04 (2020-4.1.1-TKP2020 finanszírozás)

## AZ ENDOGÉN GYULLADÁSCSÖKKENTŐ GALEKTIN-1 FEHÉRJE ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA BIOLÓGIAI GÁTRENDSZEREK TENYÉSZETES MODELLJEIN

**Gróf Ilona**<sup>1</sup>, Bocsik Alexandra<sup>1</sup>, Szabó Enikő<sup>2</sup>, Imre Norbert<sup>3</sup>, Monostori Éva<sup>3</sup>, Martinek Tamás<sup>4</sup>, Deli Mária<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Szeged

<sup>2</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Funkcionális Genomikai Laboratórium, Szeged

<sup>3</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Szeged

<sup>4</sup>Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet, Szeged

P24

A galektin-1 (Gal-1) endogén lektin, a sejtfelszíni glikozilált fehérjék cukor oldal-láncainhoz kapcsolódik, ezáltal irányítva a sejtszintű folyamatokat. A Gal-1 sejtbe jutásának egyik lehetséges módja az energiafüggő endocitózis, amit a GM1-gangliozidhoz való kötődés indukál. Terápiás szempontból a Gal-1 legfontosabb tulajdonsága, hogy gyulladáscsökkentő hatással rendelkezik. Az exogén úton beadott Gal-1 jótékony hatása potenciálisan kiaknázható lehet, ha a szervezet biológiai gátrendszerein átjutva, képes bejutni a vérkeringésbe. Azonban az exogén Gal-1 átjutásáról a biológiai gátrendszereken nem állnak rendelkezésre adatok, ezért célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a Gal-1 sejtfelszíni kötődését, a sejtek általi felvételének mértékét, sejt organellumokkal való kolokalizációját, továbbá különböző biológiai gátrendszereken keresztüli átjutását. A kísérleteinkhez a humán kornea-, tüdő-, és bélhám, valamint a vér-agy gát tenyészetes modelljeit használtuk. A Gal-1 sejt felszínhez való kötődését áramlási citometriával mutattuk ki. Vizsgáltuk a sejtekbe bejutott fluoreszcensen jelölt Gal-1 mennyiségét, valamint jelölt Gal-1 kolokalizációját az endoplazmatikus retikulummal és a lizoszómával konfokális mikroszkóp segítségével. A Gal-1 sejtrétegen keresztüli átjutásának vizsgálatához permeabilitási méréseket végeztünk speciális tenyésztőbetéteken. Munkánk során kimutattuk, hogy a Gal-1 mindegyik általunk vizsgált sejttípus felszínéhez kötődik. Mind az epitél-, mind az endotelsejtek esetében megfigyelhető volt részleges ko-lokalizáció az endoplazmatikus retikulummal, de nem a lizoszómával. A transzcitózis vizsgálat eredményei alapján a Gal-1 képes átjutni az általunk vizsgált barrieréken anélkül, hogy károsítaná a sejtréteget. Eredményeink alapján az alveoláris tüdő sejtek voltak a legérzékenyebben a galektin-1 kezelésre. Eredményeink a jövőben hozzájárulhatnak új típusú gyógyszerformulációk és célzott terápiák kifejlesztéséhez, amelyek különböző betegségek hatékonyabb gyógyítását segíthetik elő.

Gal-1: galektin-1

P25

## THE ROLE OF CXCR4-CXCL12 SIGNALING IN EXTRINSIC INNERVATION OF THE HINDGUT ENTERIC NERVOUS SYSTEM DEVELOPMENT

**Viktoria Halasy**, Tamas Kovacs, Eموke Szocs, Adam Soos, Dalma Jancsovcics, Nandor Nagy

*Laboratory of Stem Cells and Experimental Embryology, Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

The gastrointestinal tract is innervated by the extensive intrinsic network of the enteric nervous system (ENS) and by extrinsic afferent and efferent axons of the peripheral ganglia. The nerve of Remak (NoR) is a sacral neural crest-derived (NCC) structure, an avian-specific ganglionated structure that extends from the cloaca to the proximal midgut and has role in extrinsic innervation of the distal gut. The molecular mechanism of NoR-derived axon growth is unknown. In vertebrates the presence of CXCR4, a cell surface receptor for the chemokine stromal cell-derived factor-1 (SDF1; CXCL12) is responsible for several embryonic developmental processes including migration of neural crest cells, neuronal survival and axon pathfinding. We have employed chimeric tissue recombination, in situ hybridization, combined with immunofluorescence labeling to follow the precise spatiotemporal expression of CXCR4/CXCL12 molecules during ontogeny of ENS. We have observed specific CXCR4 expression on NoR and pelvic plexus derived nerve fibers. In contrast, CXCL12 expression was localized in the hindgut mesenchyme and enteric ganglia. Embryonic tissue recombinants of hindgut and NoR cultured in presence of excess CXCL12 results in significant increase of NCC migration and axon projection from the NoR, while inhibition of CXCR4 signaling with AMD3100 disrupt their migration out of explant, suggesting a novel role for CXCR4/CXCL12 signaling in the extrinsic innervation of the colorectum.

Grant: NKFI 138664

TROP2 MEMBRÁNFEHÉRJE SPECIFIKUS  
ELLENANYAG-GYÓGYSZER KONJUGÁTUM TERÁPIA  
ALKALMAZÁSÁNAK VIZSGÁLATA PLEURÁLIS  
MEZOTELIÓMA SEJTVONALAKON

**Hegedüs Luca**<sup>1</sup>, Fabian Mairinger<sup>2</sup>, Till Plönes<sup>1</sup>, Sebastian Reuter<sup>3</sup>,  
Martin Schuler<sup>4</sup>, Silvia Vega-Rubin-de-Celis<sup>5</sup>, Balazs Hegedüs<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Thoracic Surgery, University Medicine Essen –  
Ruhrlandklinik, Germany*

<sup>2</sup>*Institute of Pathology, University Hospital Essen, Germany*

<sup>3</sup>*Department of Pulmonology, University Medicine Essen –  
Ruhrlandklinik, Germany*

<sup>4</sup>*Department of Medical Oncology, West German Cancer Center,  
University Hospital Essen, Germany*

<sup>5</sup>*Institute of Cell Biology, University Hospital Essen, Germany*

P26

A pleurális mezotelióma egy ritka daganat típus mely a mellhártya szövetéből alakul ki általában azbeszt belégzésének következményeként. A betegek varható élettartama a diagnózist követően 9-14 hónap annak ellenére, hogy újabban a platinum alapú kemo-terápia mellett az immunellenőrző pont gátló terápiák is alkalmazásra kerültek. Azonban a betegek nagy része nem reagál vagy rezisztensé válik a kezelést követően. A sacituzumab govitecan (SG) ellenanyag-gyógyszer konjugátumban az SN38 topoizomeráz gátló molekula és a trophoblast cell-surface antigen 2 (TROP-2) fehérje specifikus ellenanyag van jelen. SG-t nem rég hagyták jóvá előkezelt metasztatikus tripla negatív emlőrák kezelésére. TROP2 egy transzmembrán glikoprotein mely részt vesz a tumor sejtek növekedésének és inváziójának szabályozásában. SN38 az irinotecan gyógyszer 100-1000-szer nagyobb aktivitású metabolikus terméke. Laboratóriumunkban pleurális effúziós mintákból 15 új mezotelióma sejtvonalat alapítottunk és megvizsgáltuk ezek és két nemzetközi sejtvonal SN38 érzékenységet és a TROP2 fehérje kifejeződését. Azt tapasztaltuk, hogy a 17 sejtvonalból hatban jelen volt a TROP2 fehérje még a normál mezotél kultúrákban és a pleura mezotél rétegében nem volt kimutatható. A TROP2 fehérje jelen volt a plazmamembránban öt sejtvonalban de érdekes módon ugyanakkor a sejtmagban is kimutatható volt. A 17-ből tíz sejtvonal nagyfokú érzékenységet mutatott az SN38 kezelésre és ezek közül négyben a TROP2 fehérje is jelen volt. Kimutattuk, hogy az SN38 kezelés sejtcilul gátlást és apoptózist váltott ki az érzékeny sejtekben továbbá gén kifejeződési analízis alapján az AURKA gén kifejeződési szintje és az osztódási ráta összefüggést mutat a sejtek SN38 érzékenységgel. Eredményeink arra utalnak, hogy az ellenanyag-gyógyszer konjugátum sacituzumab govitecan alkalmas lehetne, mint kezelés TROP2 fehérjét kifejező pleurális mezoteliómákban.

TROP2 (trophoblast cell-surface antigen 2), SG (sacituzumab govitecan), AURKA (Aurora kinase A), SN38 (7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin)

P27

## A SZTEROLOK TRANSZPORTJÁBAN SZEREPET JÁTSZÓ ABC TRANSZPORTEREK SZERKEZETI ÉS FUNKCIONÁLIS ÖSSZEFÜGGÉSEINEK VIZSGÁLATA

Hegyi Zoltán<sup>1</sup>, Hegedűs Tamás<sup>2</sup> és **Homolya László<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Enzimológiai Intézet, Természettudományi Kutatóközpont, Budapest, Hungary*

<sup>2</sup>*Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest, Hungary*

A lipid-homeosztázisban bekövetkező változások számos betegséggel, többek között érelmeszesedéssel, magas vérnyomással, szív- és érrendszeri betegségekkel, időskori makuladegenerációval stb. hozhatók összefüggésbe. Az ABC-transzporterek G alcsaládjának számos tagjáról feltételezik, hogy szerepet játszanak a szterol-metabolizmusban. Míg az ABCG5/G8 obligát heterodimerről azt feltételezik, hogy a növényi szterolok szelektív reabszorpciójáért felelős a bélhámsejtekben, addig az ABCG1-ről az az elfogadott nézet, hogy a koleszterint a makrofágokból a nascens HDL-re transzportálja. A retina hámsejtjeiben található ABCG4 élettani szerepe még nem tisztázott. Ezekkel szemben a multispecifikus ABCG2 nem transzportál szterolokat, de a koleszterin allosztérikusán szabályozza ennek a fehérjének a működését. Krio-EM vizsgálatok több ABCG fehérje molekuláris felépítését feltárták a közelmúltban, ami új perspektívákat nyit a szerkezet-funkció összefüggéseik jobb megértéséhez. Jelen munkánkban elsősorban az ABCG1 két izoformájára, valamint az ABCG4-re összpontosítottunk, és ATPáz-aktivitás mérés segítségével kimutattuk közvetlen kölcsönhatásukat különböző szterol-vegyületekkel, valamint szelektív érzékenységüket. A potenciális koleszterin-kötő (CRAC és SBE) motívumok mutációs elemzése révén azonosítottuk az ABCG1 az emberben domináns, rövid izoformájában a szterol-kölcsönhatásban részt vevő molekuláris részeket. Az ABCG1 részletes szerkezeti elemzése rávilágított, hogy az ABCG1 funkcióit moduláló mutációk vagy az ún. „reentry helixben”, vagy annak közvetlen közelében helyezkednek el (F571 és L626), ahol a fehérje belső pórusának tetején egy "szelepszervezet" alakul ki. Érdekes módon az ABCG2-ben ezt a szelepet (vagy dugót) a transzport szabályozásában alapvető fontosságúnak tételezték fel. Az ABCG1 szerkezetében kristályosodott koleszterinmolekulák szintén az Y586 közelében helyezkednek el. Kísérleti megfigyeléseink és a szerkezeti megfontolások alapján egy olyan modellt állítottunk fel, amelyben a reentry helixben lévő CRAC-motívum a koleszterin szenzor, amely allosztérikusán befolyásolja a közelben lévő szelepszervezetet. Összehasonlító szerkezeti elemzésünk megmutatta a CRAC-motívum központi tirozinjának analóg elhelyezkedését az ABCG1, ABCG2, ABCG4 és ABCG5 fehérjékben, valamint a feltételezett szelepszervezetéhez való közeli elhelyezkedését, ami arra utal, hogy a szterol-érzékelés és annak a transzport szabályozásához való kapcsolása jelentősen konzervált, ami hasonlóan működhet ezekben a rokon transzportfehérjékben. E fiziológiailag releváns transzporterfehérjék molekuláris részleteinek mélyebb megértése hozzájárulhat a megváltozott lipid/szterol metabolizmussal összefüggő betegségek új gyógyszer-célpontjainak azonosításához.



## A KASZPÁZ-9 ENDOTÉLSEJT-SPECIFIKUS LEÜTÉSE GÁTOLJA A NEKROPTOTIKUS SEJTHALÁL FÜGGŐ SZEPSZIS KIALAKULÁSÁT

**P28**

**Jenei Viktória<sup>1</sup>**, Molnár Tamás<sup>1</sup>, Molnár Krisztina<sup>1</sup>, Mázló Anett<sup>1</sup>, Virág László<sup>2</sup>, Maléth József<sup>3</sup>, Koncz Gábor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, ÁOK, Immunológiai Intézet*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem, ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet*

<sup>3</sup>*Szegedi Tudományegyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika*

Az utolsó néhány évtizedben több az apoptózistól független sejthalál útvonalat is leírtak, köztük a nekrozis egy típusát, a nekroptózist, mely szabályozott program szerint nekrotikus sejt pusztulását és ezen keresztül gyulladást okoz. A nekroptózis egyaránt szerepet játszik patogének eliminálásában, vagy a rákos sejtek elpusztításában. Ugyanakkor a túlzott nekroptózis hozzájárul degeneratív vagy gyulladásos kórképek kialakulásához.

Munkánk során igazoltuk, hogy a sejthalál és mintázattfelismerő receptorok aktivációja kaszpáz gátolt körülmények között nekroptózishoz vezet vad típusú Jurkat és MEF sejteken, de ugyanezen stimulusokkal szemben a kaszpáz-9 deficiens sejtvonalak érzéketlennek bizonyultak. Korábbi vizsgálatainkat kiegészítve létrehoztunk egy egyedí transzgenikus egértörzset, melyben lehetővé vált a kaszpáz-9 sejtípus specifikus leütése cre/lox módszerrel. A létrejött kaszpáz-9 flox egértörzs használatával LysM Cre (mieloid specifikus delécio) és TEK-Cre (endotél specifikus delécio) állatokon szeptikus sokkot indukáltunk, majd monitoroztuk a túlélést, testhőmérsékletet és a gyulladásos citokinek megjelenését a szérumban. A kísérletekben a TEK-Cre mutáció helyreállítja a testhőmérséklet csökkenését ezzel növelve a túlélés arányát, míg a LysM Cre mutációval rendelkező állatoknál ez nem megfigyelhető.

Az in vitro kísérletekhez egér tüdő endotél sejteket izoláltunk vad típusú és kaszpáz-9 hiányos egerekből. Ezekből sejthalál vizsgálatokat végeztünk, ahol a kaszpáz-9-hiányos endotél sejteknél alacsonyabb nekroptózis érzékenységet tapasztaltunk ugyanazon stimulusokkal szemben a vad típusú sejtekhez képest.

Eredményeink egyrészt újdonságot jelentenek a nekroptózis jelátvitelének megismerésében, másrészt új perspektívát nyújtanak a tolerogén apoptózis és a gyulladást indukáló nekroptózis átmentének szabályozásában.



## LYSOPHOSPHATIDYLCHOLINE DEPLETION IN HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMA IDENTIFIES LYPLA1 AS A POTENTIAL BIOMARKER

Schmidt J.<sup>1</sup>, **Juhász K.**<sup>1</sup>, Kajtár B.<sup>2</sup>, Péter M.<sup>3</sup>, Járai T.<sup>4</sup>, Nyitrai M.<sup>5</sup>, Gerlinger I.<sup>4</sup>, Kereskai L.<sup>2</sup>, Balogh G.<sup>3</sup>, Tornóczky T.<sup>2</sup>, Márk L.<sup>1</sup>, Balogi Z.<sup>1</sup>

P29

<sup>1</sup>*Inst. Biochem. & Med. Chem., Medical School, Univ. Pécs, Pécs, Hungary*

<sup>2</sup>*Dept. Pathol., Medical School, Univ. Pécs, Pécs, Hungary*

<sup>3</sup>*Inst. Biochem., Biol. Res. Center, Hung. Acad. Sci., Szeged, Hungary*

<sup>4</sup>*Dept. Oto-rhino-laryngology, Medical School, Univ. Pécs, Pécs, Hungary*

<sup>5</sup>*Inst. Biophys., Medical School, Univ. Pécs, Pécs, Hungary*

**Keywords:** biomarker, lipid tumor marker, MS image screening

Pathological characterization of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) relies on morphological analysis. Apart from occasionally used HPV and EGFR testing molecular markers are not available that could help define resection margins and patient prognosis. Here we used MALDI mass spectrometry imaging to carry out an in-depth screening for localization and expression of potential protein and lipid markers in human tumor samples. Comparing expressions of low molecular weight proteins in healthy vs tumor tissue areas revealed limited differences such as for S100A8 and S100A9. More strikingly, lipid imaging unraveled numerous dramatic differences in healthy vs tumor tissue areas. Remarkably, a specific lipid-ion adduct of 519 Da was absent in tumorous areas of the tissue, which was identified by lipidomics as (palmitoyl)-lysophosphatidylcholine. Level of other lysophospholipid species (LPC, LPE, LPI, LPS, LPG) was also reduced in tumor regions, showing a strong pattern of potential biomarker value and pointing to a recently raised lysolipid and fatty acid dependence of tumor cells. Finally, based on immunohistochemical staining of a set of tumor samples, the lysolipid degrading enzyme lysophospholipase A1 (LYPLA1) may be considered clinically as a potential tumor biomarker.

## A SHIKONIN HATÁSA AZ APOPTÓZISBAN SZEREPET JÁTSZÓ MIRNS-EK ÉS AZOK TARGETJEINEK EXPRESSZIÓJÁRA HUMÁN VESEDAGANATOS SEJTVONALAKON

**P30**

**Király József<sup>1</sup>**, Szabó Erzsébet<sup>1</sup>, Vass Anna<sup>1</sup>, Szegedi Krisztián<sup>2</sup>, Szenthe Kálmán<sup>3</sup>, Halmos Gábor<sup>1</sup>, Szabó Zsuzsanna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Biofarmácia Tanszék, Debrecen,

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Urológiai Klinika, Debrecen,

<sup>3</sup>RT-Europe Kutató központ Nonprofit kft., Mosonmagyaróvár,

A Shikonin egy kínai gyógynövényből izolált természetes naphthoquinone, melynek tumorelles hatását már számos daganatos modellben demonstrálták. Munkánk célja volt a Shikonin citotoxikus hatásának vizsgálata CAKI-2 és A-498 humán vesedaganatos sejtvonalakon, valamint a Shikonin miRNS expresszióra kifejtett hatásának vizsgálata 24, 48 és 72 órás kezelést követően.

Az *in vitro* sejtes vizsgálatokhoz a Shikonint 1-40  $\mu$ M-os koncentrációban alkalmaztuk, majd a vegyület citotoxikus hatását a Cell Titer Blue sejtproliferációs assay segítségével detektáltuk. A Shikonin miRNS-ekre kifejtett hatását miRNS specifikus TaqMan assay-vel vizsgáltuk. A miRNS-ek (miR) targetjei *in silico* adatbázis elemzéssel lettek azonosítva, a targetek expressziójában bekövetkezett változást qRT-PCR-el detektáltuk.

Mindkét vizsgált sejtvonalon megfigyeltük a Shikonin sejtproliferációra kifejtett dózis függő hatását, amely hatás már 2,5  $\mu$ M-os koncentrációban is szignifikáns gátlást eredményezett. A CAKI-2 sejtek esetében szignifikáns csökkenést mutatkozott a miR-15a és miR-99a expressziójában 24 és 48 órás kezelést követően, majd 72 óra után ismét enyhe emelkedés volt tapasztalható. Az A-498 sejteknel 48 órát követően jelentős csökkenés, 72 óra után pedig enyhe emelkedés mutatkozott a miR-15a és miR-99a expressziójában a kontrollal szemben. A miR-181a expressziójában mindkét vizsgált sejtvonalnál emelkedést tapasztaltunk 48 és 72 óra Shikonin kezelést követően is. Az *in silico* adatbázisokban 7 közös targetet találtunk (ERK2, PDCD4, FOXO3, FOXO, JNK, MAP2K1IP1, AKT3), melyek expressziója 24, 48 és 72 óra Shikoninnal történő inkubálást követően folyamatos emelkedést mutatott. Ez a miR-ek apoptózisban betöltött szerepére enged következtetni. Feltehetőleg a Shikonin által indukált miR-ek a PI3K/AKT és MAPK szignalizációs útvonalakon keresztül gátolhatják a sejtproliferációt, és egyben befolyásolják a vesedaganatos sejtek terápiás érzékenységét is.

A munkát támogatta: GINOP-2.3.2.-15-2016-00043 (HG) és TKP2021-EGA-20 (HG).

P31

## METABOLIKUS POLIHISZTOR VAGY EGYSZERŰ GLUTAMINGYÁR? – CITRÁTKÖR AZ ASZTROCITÁKBAN

**Kokas Márton**<sup>1</sup>, Kirchlechner-Farkas Judit Mária<sup>1</sup>, Gáspár Dániel<sup>1</sup>,  
Komlódi Tímea<sup>1</sup>, Ozohanic Olivér<sup>1</sup>, Környei Zsuzsanna<sup>2</sup>, Sváb  
Gergely<sup>1</sup>, Tretter László<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet,  
Biokémia Tanszék, Budapest*

<sup>2</sup>*Központi Orvosi Kutató Intézet, Budapest*

**Bevezetés:** Az agyban a gliasejtek jelentős részét az asztrociták teszik ki, melyek különbözőféle metabolitok előállításával támogatják a neuronok működését. Az asztrociták metabolizmusával foglalkozó irodalom ellentmondásos. A glikolízistől a glukoneogenezisig, a zsírsav szintézistől a zsírsav oxidációig minden fontosabb anyagcsere-folyamatot kimutattak bennük. Az asztrociták aktív glikolízissel rendelkeznek. A felvett glükóz egy részét változatlanul, míg másik részét laktát formájában továbbítják a neuronnak. Nem egyértelmű azonban, hogy a glikolízisben keletkezett piruvát milyen mértékben lép be a CK-be és milyen funkciót lát el az asztrocita metabolizmusában. A CK be- és kimenetelének szerepe döntő a sejtek metabolikus profiljának meghatározásában.

**Céltűzésünk:** Az asztrociták metabolizmusának, ezen belül a CK jellegzetességeinek vizsgálata, következtetések levonása, állásfoglalás az asztrocita metabolizmus vitatott kérdéseiben.

**Módszer:** Újszülött egerek agyából izoláltunk és tenyésztettünk primer asztrocitákat. A CK enzimeinek aktivitását spektrofotometriás módszerekkel végeztük lizált sejteken. Az intakt és légzési szubsztrátokkal ellátott permeabilizált sejtek oxigénfogyasztását Clark-elektroddal mértük. A metabolitok mennyiségét tömegspektrométerrel határoztuk meg.

**Eredmények:** Az asztrociták aktív glikolízisen kívül képesek oxidálni FA-kat és KB-t is. A CK-i öt és hat szénatomos molekulák metabolit koncentrációja és a hozzájuk kapcsolódó enzimek aktivitása is alacsonyabb, mint a négy szénatomos molekuláké és az őket továbbalakító enzimeké. A NADP<sup>+</sup>-izocitrát-dehidrogenáz és az akonitáz relative jelentős extramitokondriális aktivitással rendelkeznek.

**Következtetés:** Eredményeink valószínűsítik, hogy nem a glikolitikus piruvát képezi az asztrocitákban a CK indításához szükséges acetyl-CoA-t. Az asztrociták zsírsav oxidációja az eddig feltételezettnél nagyobb szerepet játszhat metabolizmusukban. A CK első felének alacsony enzimaktivitása miatt a négy szénatomos metabolitok felhalmozódnak. Az  $\alpha$ -ketoglutarát kiléphet a mitokondriumból és a citoplazmában részt vehet a glutamát-glutamin ciklusban.

**Rövidítések:** CK: citrátkör; FA: zsírsav, KB: ketontest

P32

AZ  $\alpha$ -KETOGLUTARÁT DEHIDROGENÁZ SZEREPE AZ ISCHEMIA-REPERFÚZIÓS KÁROSODÁSBAN

**Komlódi Tímea**<sup>1</sup>, Kokas Márton<sup>1</sup>, Gáspár Dániel<sup>1</sup>, Szénási Gábor<sup>2</sup>, Dézsi László<sup>2</sup>, Tretter László<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Neurobiokémiai Munkacsoport, Biokémiai Tanszék, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest*

<sup>2</sup>*Transzlációs Medicina Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest*

Sejteink energiatermelő organelleim, a mitokondriumok, központi szerepet játszanak ischemia-reperfúzió során. Ischemia alatt a szukcinát felhalmozódik, majd a reperfúzió kezdeti szakaszában oxidálódik és az elektronok a mitokondriális légzési láncban a szukcinát dehidrogenáizról (Komplex II) a Komplex I felé áramlanak (reverz elektron transzfer). A folyamat során nagy mennyiségű ROS keletkezik, amely hozzájárul a sejteket ért reperfúziós károsodáshoz. Munkánk célja, hogy megvizsgáljuk hogyan befolyásolja a citrátkör sebességhatározó lépését katalizáló enzim, az  $\alpha$ -KGDHc az IR károsodás során fellépő ROS termelést. Az  $\alpha$ -KGDHc három alegységből épül fel (E1, E2, E3), amely maga is képes ROS képzésre.

A projekt során  $\alpha$ -KGDHc E3<sup>+/-</sup> vagy az E2<sup>+/-</sup> és E3<sup>+/-</sup> együttes heterozigóta génkiütött egereket használtunk, amelyekből egyoldali ischémia és reperfúziót követően eltávolítottuk a veséket. Majd mitokondrium izolálást után mértük az oxigénfogyasztást polarográfiás oxigénelektóddal, valamint az akonitáz és a citrát szintáz aktivitását spektrofotometrián.

Az IR műtétet követően a műtött vese mitokondriumban csökkent az O<sub>2</sub> fogyasztás a kontrollhoz képest. Az akonitáz enzim aktivitása, amely a legérzékenyebb enzim ROS-ra, alacsonyabb volt IR műtét után az álműtöthöz képest. A mitokondriális marker enzim, a citrát szintáz aktivitása nem változott egyik csoportban sem. Előkísérleteinkben azt láttuk, hogy az  $\alpha$ -KGDHc KO vesében javult a mitokondriális O<sub>2</sub> fogyasztás, csökkent a mitokondriális károsodás és növekedett az akonitáz aktivitása IR műtétet követően a vad típusú csoporthoz viszonyítva.

Eredményeink ezt mutatják, hogy az  $\alpha$ -KGDHc E2<sup>+/-</sup> vagy E3<sup>+/-</sup> heterozigóta kiütése protektíven hat IR károsodás esetén, amely felveti a Komplex I és az  $\alpha$ -KGDHc közötti szoros funkcionális kapcsolat meglétét és olyan vegyületek alkalmazását, amelyek a Komplex I és az  $\alpha$ -KGDHc együttműködését célozzák.

$\alpha$ -KGDHc:  $\alpha$ -ketoglutarát dehidrogenáz, IR: ischemia-reperfúzió, ROS: reaktív oxigénszármazékok

## AZ IMMUNELLENŐRŐPONT-GÁTLÓSZEREREKRE ADOTT TERÁPIÁS VÁLASZ BIOMARKEREINEK VIZSGÁLATA DAGANATOS MEGBETEGEDÉSEKBE

**Kovács Szonja Anna**<sup>1,2</sup>, Kovács Tamás<sup>3</sup>, Varga Zoltán<sup>3</sup>, Kun Beáta<sup>4</sup>, Holló Péter<sup>4</sup>, Györffy Balázs<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Bioinformatika Tanszék, Tüzoltó utca 7-9, 1094, Budapest*

<sup>2</sup>*ELKH Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Magyar Tudósok körútja 2, 1117, Budapest*

<sup>3</sup>*Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Nagyvárad tér 4, 1089, Budapest*

<sup>4</sup>*Semmelweis Egyetem, Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika, Mária utca 41, 1085, Budapest*

P33

Az immunellenőrzőpont-gátlók megjelenése mérföldkönek számított a daganatok kezelésében, mégis a terápiára adott válaszkészség elmaradt a vártaktól. Az immunterápia kezelési előnyeinek maximalizálásához robusztusabb biomarkerekre van szükségünk, ezért célunk az volt, hogy nyilvánosan elérhető transzkriptomikai és klinikai adatok felhasználásával új biomarkereket azonosítsunk be. A statisztikai kiértékeléshez Mann-Whitney U-tesztet, ROC-analízist és Bonferroni-korrekciót alkalmaztunk. Az adatbázisunkból, amely 19 tanulmányból 1434 tumorszövet mintát tartalmaz, egy webes elemzőplatformot (<https://rocplot.com/immune>) hoztunk létre. A pembrolizumabbal, illetve nivolumabbal kezelt melanoma kohorszban (n=501) a YAP1 volt a legjobb, gyógyszeresen is célozható biomarker, amelynek fokozott expressziója a terápiára nem reagáló betegekben volt megfigyelhető (padj=3,22E-05, FC=2,21, AUC=0,725). További ígéretes jelöltek voltak a rezisztens csoportban a SPIN1 (padj=4,83E-05, FC=1,70, AUC=0,721), a PLS3 (padj=1,61E-04, FC=1,80, AUC=0,709), a RHOQ (padj=2,77E-04, FC=1,74, AUC=0,701) és a KCTD (padj=1,29E-05, FC=2,03, AUC=0,729). A YAP1 farmakológiai gátlásának vizsgálatához C57BL/6J egereket injektálunk melanoma sejtvonalakkal (B16-F10, B16-OVA MO4, YUMM1.7 és YUMMER1.7). Melanómás betegek FFPE mintáin pedig az említett génpanelt vizsgáljuk. Összefoglalva, létrehoztunk egy publikusan hozzáférhető elemzőfelületet az immunellenőrzőpont-gátlók biomarkereinek vizsgálatához, ennek segítségével egy génpanelt választottunk ki az ex vivo validáláshoz. Az immunológiailag aktív és inaktív melanoma tumorok egérmódeljeit optimalizáltuk a YAP1-gátlás hatásainak teszteléséhez. A kísérleteket az Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács (PE/EA/01017-6/2022), valamint a Nemzeti Népegészségügyi Központ (35314-7/2021/EÜIG) hagyta jóvá.

Rövidítések jegyzéke:

ROC: receiver operating characteristic

YAP1: yes-associated protein 1

FC: fold change

AUC: area under the curve

anti-PD-1: anti programmed cell death protein 1

SPIN1: spindlin 1

PLS3: plastin 3

RHOQ: Ras homolog family member Q

KCTD: potassium channel tetramerization domain

FFPE: formalin-rögzített, paraffinba ágyazott

## GAUCHER-FENOTÍPUSÚ NEURONOK CELLULÁRIS MEMBRÁNJAIBAN MEGJELENŐ BIOFIZIKAI ELTÉRÉSEK KARAKTERIZÁLÁSA

P34

**Kovács Tamás<sup>1</sup>**, Zákány Florina<sup>1</sup>, Szabó Máté<sup>1</sup>, Vigh Barbara<sup>1</sup>, Cs. Szabó Bence<sup>1</sup>, Kothalawa Rosemary<sup>1</sup>, Székelyhidi Virág Enikő<sup>1</sup>, Varga Zoltán<sup>1</sup>, Panyi György<sup>1</sup>, Nagy Péter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen*

A lizoszomális béta-glükocerebrozidáz (GBA) örökletes deficienciája által okozott Gaucher-kór patognómikus eltérése a szubsztrát glükoszilceramid (GC) felhalmozódása az intracelluláris organellumok membránjában és a sejtmembránban, amely révén ezen membránok biofizikai jellemzői jelentősen megváltozhatnak, hozzájárulva a betegség patomechanizmusához. A Gaucher-kórban leginkább érintett sejtek a makrofágok mellett a neuronok, amelyek eltérései megfelelő modellrendszer hiányában még jórészt ismeretlenek. Bár a betegségben alapvető jelentőségük lehet az intracelluláris organellumok membránjaiban megjelenő változásoknak, ezek izolált vizsgálata nehéz.

Célunk egy új neuronális Gaucher-modellrendszer membránbiofizikai karakterizálása. A GBA<sup>-/-</sup> egerekből származó immortalizált kortikális neuronokból álló modell validálására megvizsgáltuk a sejtmembrán GC mennyiségét áramlási citometriával, majd környezeti paraméterekre szenzitív fluorofórok (TMA-DPH – fluiditás, Laurdan – hidráció, PY3174 – lipid rendezettség, illetve di-8-ANEPPS és F66 – dipólpotenciál) spektrofluorimetriás, konfokális mikroszkópos és áramlási citométeres elemzésével jellemeztük a megjelenő eltéréseket kontroll GBA<sup>+/+</sup> sejtekhez viszonyítva.

A GBA<sup>-/-</sup> neuronokban szignifikánsan megnőtt a GC mennyisége, amely a membránbiofizikai paraméterek jelentős eltéréseivel társult, ugyanis a GBA<sup>+/+</sup> neuronokhoz képest szignifikánsan lecsökkent a membránok fluiditása, illetve hidrációja, valamint megnövekedett a lipid rendezettség és a dipólpotenciál értéke. Bár spektrofluorimetriával és elsősorban áramlási citometriával jól jellemezhetőek voltak a sejtszintű eltérések, konfokális mikroszkópiával elkülöníthettük a sejtmembrán és az intracelluláris membránok változásait. A kedvező spektrális tulajdonságokkal bíró F66 kombinálhatónak bizonyult különböző specifikus organellum markerekkel, így kvantitatív képanalízis során karakterizálni tudtuk ezen organellumok membránbiofizikai eltéréseit.

Kísérleteink során validáltuk a GBA<sup>-/-</sup> neuronális Gaucher-fenotípusú modellrendszerünket és leírtuk az abban megjelenő membránbiofizikai változásokat. A dipólpotenciálszenzitív F66 és specifikus organellum markerek kombinált alkalmazásával emellett lehetővé vált az intracelluláris organellumok potenciális patofiziológiai relevanciával bíró eltéréseinek karakterizálása. OTKA FK143400, ÚNKP-22-4-II-DE-69, ÚNKP-22-3-I-DE-302, ÚNKP-22-3-I-DE-243, ÚNKP-22-2-I-DE-134

GBA: béta-glükocerebrozidáz, GC: glükoszilceramid

P35

## AZ ABT-333 (DASABUVIR) HATÁSA A KUTYA BAL KAMRAI SZÍVIZOMSEJTEK ÉS EXPRESSZÁLT HERG-CSATORNÁK ELEKTROFIZIOLÓGIÁJÁRA

**Kovács Zsigmond Máté**<sup>1</sup>, Dienes Csaba Bálint<sup>1</sup>, Óvári József<sup>1</sup>, Magyar János<sup>2</sup>, Bányász Tamás<sup>1</sup>, Nánási Péter Pál<sup>3</sup>, Horváth Balázs<sup>1</sup>, Fehér Ádám<sup>4</sup>, Varga Zoltán<sup>5</sup>, Barta Zalán<sup>1</sup>, Szentandrassy Norbert<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Debrecen

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Sportélettani Tanszék, Debrecen

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, Fogorvostudományi Kar, Fogorvosi Élettani és Gyógyszertani nem önálló Tanszék, Debrecen

<sup>4</sup>Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

<sup>5</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Az ABT-333 egy metánszulfonamid csoportot tartalmazó hepatitis C elleni szer. A csoport jelen van több, a IKr-t gátló vegyületben is. Korábban kimutattuk az ABT-333 koncentrációfüggő AP-t nyújtó és 0., 1., és 3. fázis maximális sebességét csökkentő hatását. Célunk annak vizsgálata volt, hogy milyen ioncsatornákon keresztül hozza létre az ABT-333 a fenti hatásokat és hogy azon hatások csökkentett repolarizációs rezerv esetén hogyan módosulnak. Az AP-k és az ionáramok felvételét hegyes mikroelektróda, valamint AP feszültség-clamp technikával végeztük 37 °C-on kutya bal kamrai szívműködéseken. Kísérleteinkben az ABT-333-t 5 perc dofetilide vagy BaCl<sub>2</sub> előkezelés után, kumulatív módon emelkedő koncentrációban (1, 3, 10 és 30 μM, 5-5 perc) alkalmaztuk. Az ionáram méréseinknél 10 μM ABT-333-t használtunk. A hERG áramot HEK293 sejteken expresszált Kv11.1 csatornákon mértük. Az emelkedő koncentrációban perfundált ABT-333, magában és csökkent repolarizációs rezerv mellett is reverzibilis AP nyúlást, és a 0. és 1. fázis maximális sebességének csökkenését okozta. Ionáram méréseinknél megfigyeltük, hogy az ABT-333 szenzitív áram egy rövid, korai és egy elnyújtott outward komponenset tartalmaz, melyek valószínűleg a Ito és az IKr gátlás következményei. A Kv11.1 csatornákat az ABT-333 idő és koncentrációfüggő módon, kb. 3 μM-os félmaximális koncentrációval gátolta. Valószínű, hogy az ABT-333 AP-ra gyakorolt hatását elsősorban az Ito és IKr áram gátlásán keresztül éri el. Az ABT-333 hatásai csökkent repolarizációs rezerv esetén nem voltak nagyobbak, így valószínűleg nem növelik a kardiális mellékhatások kockázatát hosszú QT szindrómás betegekben.

IKr: gyors késői egyenirányító káliumáram

AP: akció potenciál

Ito: korai kifelé irányuló káliumáram

HEK293: human embryonic kidney

hERG: human Ether-a-go-go-related Gene

Kv11.1: feszültségfüggő kálium csatorna



P36

## QUANTUMBIOLOGY EXPLOITED BY AN IMMUNE ENZYME

**Krisztian Kvell**, Krisztina Banfai*Department of Pharmaceutical Biotechnology**Faculty of Pharmacy, University of Pecs, Hungary*

Enzymes catalyze biochemical processes. The most potent enzymes accelerate biochemical transformations a billion times. This is difficult to explain using standard rules of chemistry and physics, and quantum physics (electron or proton tunneling) is likely involved. In order to examine the potential role of quantum physics in a specific enzymatic process one has to test how substrate weight (e.g. deuterium ions) affect catalysis rate. We were interested if a specific immune enzyme (TdT or terminal deoxy-ribonucleotide transferase) exploits quantum tunneling.

For this purpose we used an adherent cell line host (1889c cells) that were spun on glass, exsiccated by acetone then rehydrated in H<sub>2</sub>O or D<sub>2</sub>O to perform TdT enzymatic assay, also resuspended in H<sub>2</sub>O or D<sub>2</sub>O (along with negative and positive controls). Experimental conditions in D<sub>2</sub>O were expected to slow down hydrogen transfer due to double hydrogen-ion weight (deuterium-ion vs proton) in a linear manner (no quantum tunneling involved) or in an exponential manner (quantum tunneling involved). Our results indicate a very strong inhibition of the enzymatic reaction in D<sub>2</sub>O experimental conditions, as opposed to the H<sub>2</sub>O setting. Our results suggest the involvement of quantum tunneling in TdT enzyme function.



P37

## INVESTIGATION OF THE OLIGOMERIZATION AND UPTAKE OF PENETRATIN IN VITRO AND IN VIVO

**Iuliia Lapochkina**<sup>1</sup>, Gabriella Tóth<sup>1</sup>, Gyula Batta<sup>1,2</sup>, Péter Nagy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Biophysics and Cell Biology, University of Debrecen;*

<sup>2</sup>*Department of Genetics and Applied Microbiology, University of Debrecen*

Because cellular and tissue barriers prohibit medicines from accessing their intracellular targets, the majority of chemotherapeutic medications have unmet medical potentials. Since conjugating drugs with cell-penetrating peptides may improve cellular uptake and therapeutic efficacy, this research was focused on finding proof of better cellular uptake of conjugated penetratins in in vitro and in vivo experiments. The original penetratin and a modified peptide are designated penetratin-A and penetratin-B, respectively. For our experiments, we used two tumor cell lines: SKBR-3 and MDA-MB-231, and tissue sections from mice.

According to our findings, the FRET efficiency for the homo-oligomerization of penetratin-B is higher than that of penetratin-A, and it is especially high in cells with endosome-like structures. The FRET efficiency is higher in the cell membrane in cells with low FRET efficiency otherwise. Endosomal penetratin accumulation and significant fluorescence were visible in the cytoplasm, which means that conjugated penetratins enter the cytoplasm.

Mice were inoculated with 0.06 mg of Cy5-penetratin-B, and after half an hour, their organs were removed. For confirming the uptake of penetratin-B in vivo, we used confocal microscopic images of liver tissue sections that contained the injected Cy5-penetratin-B. The membrane was visualized with phalloidin staining labeling the actin network under the membrane. The microscopic images clearly show that Cy5-penetratin-B enters the cells and shows a homogeneous cytosolic distribution.

In summary, penetratin-B can be used as a possible carrier for improving the delivery of medications. After further studies, it can even be used in human trials or in the clinical setting.

AF488: AlexaFluor 488, AF532: AlexaFluor 532, Cy5: Cyanine 5, FITC: Fluorescein isothiocyanate, FRET: Förster resonance energy transfer, SKBR-3: human breast cancer cell line, MDA-MB-231: human breast cancer cell line.

## MIOPÁTIÁT OKOZÓ MUTÁNS RIANODIN RECEPTOR ELEMI ÁRAMAINAK JELLEMZÉSE

**Magyar Zsuzsanna Édua<sup>1</sup>**, Almácssy János<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi kar, Élettani Intézet, Debrecen*

<sup>2</sup>*Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi kar, Élettani Intézet, Budapest*

Az 1-es típusú rianodin receptor (RyR1) a vázizom szarkoplazmatikus retikulumanak (SR) membránjában található ioncsatorna, mely fiziológiás körülmények között idegi ingerület hatására megnyílik és  $Ca^{2+}$ -t szabadít fel az SR-ből, ami kiváltja az izom összehúzódását. A RyR1-génmutációk többsége domináns módon öröklődő izombetegségeket okoz, ám a közelmúltban a recesszív mutációk listája is egyre bővült. Ilyen recesszív mutáció például az általunk vizsgált T4706M mutáció is, amely alacsony előfordulási gyakorisága ellenére komoly orvosi jelentőséggel bír, hiszen a heterozigóta esetek 55%-ában a vad típusú allél epigenetikus allél-némítása recesszív, miopatiás fenotípust eredményez, melyre jellemző az arc- és proximális végtaggyengességgel, gerincferdüléssel, szemizom-bénulással és légzésfunkció-romlással együtt járó mozgáskorlátozottság.

Jelenleg a T4706M RyR-miopátia vizsgálatára egy olyan transzgenikus egérmodell áll rendelkezésre, amely homozigóta (RyR1<sup>TM/TM</sup>) formában hordozza a mutációt. Mivel ezek fenotípusa eltér a páciensekben tapasztaltakétól, a RyR1<sup>TM/TM</sup> betegségben betöltött szerepének megértéséhez egyedű csatorna szintű vizsgálatok szükségesek.

Jelen kutatás keretein belül mesterséges kettős lipidrétegbe épített egyedű csatornákon vizsgáltuk a RyR1<sup>TM/TM</sup> biofizikai jellemzőit, ligandok általi szabályozhatóságát, valamint farmakológiáját. Célunk a RyR1-T4709M mutációhoz kapcsolódó kórfolyamat megértése.

Eredményeink szerint a RyR1<sup>TM/TM</sup> vezetőképessége megegyezik a vad típusú (RyR1<sup>wt</sup>) csatornáéval, de a mutációt hordozó csatornák fele a RyR1<sup>wt</sup>-hoz képest nagyobb nyitvatartási valószínűséggel rendelkezett, és nem reagált a  $[Ca^{2+}]$  változtatására. A többi csatorna viszont a fiziológiailag releváns  $[Ca^{2+}]$  tartományban a RyR1<sup>wt</sup>-hez képest jelentősen alacsonyabb elemi áramaktivitást mutatott. A mutáns csatornák  $Mg^{2+}$ - és ATP- általi szabályozása ép volt, és a RyR-gátlószer dantrolén is gátolta őket. Eredményeink arra utalnak, hogy ezek az elsődleges és/vagy másodlagos működési zavarok megmagyarázhatják a betegség kórélettantát.

Rövidítések:

RyR1 – 1-es típusú rianodin receptor

SR – szarkoplazmás retikulum

RyR1<sup>TM/TM</sup> – homozigóta T4706M mutációt hordozó RyR1

RyR1<sup>wt</sup> – vad típusú RyR1

P39

## MULTIPLETESTING.COM: EGY SZABADON ELÉRHETŐ ONLINE ESZKÖZ TÖBBSZÖRÖS HIPOTÉZIS TESZT KORREKCIÓJÁHOZ

**Menyhárt Otília<sup>1,2</sup>, Weltz Boglárka<sup>2,3</sup>, Gyórfy Balázs<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Bioinformatikai Tanszék, H-1094, Budapest, Magyarország*

<sup>2</sup>*Természettudományi Kutatóközpont, Onkológiai Biomarker Kutatócsoport, Enzimológiai Intézet, H-1117, Budapest, Magyarország*

<sup>3</sup>*A5 Genetics Kft, H-9464, Únd, Magyarország*

Az elmúlt évtizedek technológiai újításai lehetővé tették a komplex biológiai rendszerek többszintű vizsgálatát. A nagy áteresztőképességű omika-alapú technológiák (pl. genomika, transzkriptomika, proteomika, metabolomika) több ezer marker egyidejű vizsgálatával biztosítanak óriási lehetőségeket a fenotípussal való összefüggések felfedezésére. Azonban a hatalmas adatmennyiség statisztikai elemzése olyan, akár egy kétélű kard. Az eredmények feldolgozása során gyakran szembesülünk a többszörös összehasonlítás problémájával, mivel több hipotézis szimultán vizsgálata jelentősen megnöveli a hamis pozitív eredmények valószínűségét. Ahhoz, hogy érvényes következtetéseket tudjunk levonni, figyelembe kell venni az elvégzett statisztikai tesztek számát.

Több stratégia létezik a többszörös hipotézis teszt problémájának leküzdésére, azonban ezek megfelelő alkalmazása sokszor kihívást jelent. A korrekciók megkönnyítésére egy szabadon elérhető, teljesen automatizált rendszert fejlesztettünk ki, amely nem igényel programozási ismereteket.

Regisztrációmentes online eszközünk a [www.multipletesting.com](http://www.multipletesting.com) címen érhető el, és lehetővé teszi az öt leggyakrabban alkalmazott korrekciós eszköz együttes alkalmazását. A p-értékek egyszerű beillesztését követően egyetlen lépésben határozhatjuk meg a Bonferroni-, a Holm- (step-down) és a Hochberg- (step-up) módszerekkel kiszámolt korrigált p-értékeket, továbbá lehetővé válik a false discovery rate (FDR) és q-értékek kiszámolása. Eszközünk egy valódi hiánypótló az élettudományok kutatói számára, mivel felhasználóbarát módon helyettesíti a programozást igénylő alternatívákat.

P40

## A POLIPEPTID NANOHORDOZÓK CÉLZÁSA FOKOZZA AZ ÁTJUTÁSUKAT A VÉR-AGY GÁTON ÉS A FELVÉTELÜKET AGYI ORGANOIDOKBA

**Mészáros Mária**<sup>1</sup>, Vigh Judit Piroska<sup>1,2</sup>, Porkoláb Gergő<sup>1,2</sup>, Kocsis Anna<sup>1</sup>, Páli Emese Kincsó<sup>1</sup>, Walter R. Fruzsina<sup>1</sup>, Deli Mária Anna<sup>1</sup>, Veszélka Szilvia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Szeged*

<sup>2</sup>*Szegedi Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola, Szeged*

A neurodegeneratív betegségeknek különösen nehéz a gyógyszeres kezelése, mivel a vér-agy gát jelentősen korlátozza a hatóanyagok bejutását a vérből az idegszövetbe. Az agyi gyógyszerbejuttatás hatékonyságának növelésére az egyik lehetőség a nanoméretű gyógyszerhordozó rendszerek alkalmazása. Ezek közül nagyon ígéretesnek bizonyulnak a polipeptid nanopartikulumok, mivel könnyen módosíthatóak, biokompatibilisek és biodegradábilisek. A nanopartikulumok vér-agy gáton keresztüli sikeres átjutásának kulcsa a funkcionálizálásuk az agyi kapilláris endotélsejtek transzporterfehérjéit specifikusan célzó molekulákkal. Korábbi kutatásaink során bizonyítottuk, hogy az alanin és a glutation célzóligandokkal, különösen a kettős kombinációjukkal fokozható a nanovezikulákba zárt töltetük átjutása a vér-agy gáton. Jelenlegi kutatásunk célja az volt, hogy megvizsgáljuk, vajon ez a ligandkombináció ugyanilyen hatékony-e háromkarú poli-(L-glutaminsav) nanopartikulumok átjutásának növelésére humán vér-agy gát ko-kultúra modellben. Az alaninnal és glutationnal célzott polipeptidek citokompatibilisnek bizonyultak és időfüggő, aktív humán agyi endotélsejtek általi felvételt mutattak. A célzóligandok nemcsak a polipeptidek vér-agy gát permeabilitását növelték meg, hanem kiválóan fokozták az átjutott nanohordozók internalizációját egészséges és Parkinson-kóros betegek őssejtjeiből származó közepagi organoidokba is. Eredményeink alapján a háromkarú poli-(L-glutaminsav) nanorészecskék alkalmasak lehetnek központi idegrendszeri felhasználásra. Az agyi endotélsejteket célzó alanin és glutation ligandkombináció pedig elősegítheti a gyógyszer-molekulák agyszövetbe jutását. Eredményeink hozzájárulhatnak új típusú célzott nanohordozók kifejlesztéséhez, ezzel a neurodegeneratív betegségek gyógyításának megkönnyítéséhez.

## TARGETING NOVEL BIOMARKERS IN MELANOMA BY PROTEOMIC AND NETWORK BIOLOGY ANALYSIS OF THE SURFACEOME

**Minh Ngoc Nguyen**<sup>1</sup>, Patrik Kovács<sup>1</sup>, Róza Zákány<sup>1</sup>, Emese Zsigrai<sup>1,2</sup>, András Balajthy<sup>2</sup>, David J Boocock<sup>3</sup>, Peter N Pushparaj<sup>4</sup>, Csaba Matta<sup>1</sup>, Tibor Hajdú<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*University of Debrecen, Department of Anatomy, Histology and Embryology, Debrecen*

<sup>2</sup>*University of Debrecen, Department of Pediatrics, Debrecen*

<sup>3</sup>*Nottingham-Trent University, John van Geest Cancer Research Centre, Nottingham, United Kingdom*

<sup>4</sup>*King Abdulaziz University, Center of Excellence in Genomic Medicine Research, Department of Medical Laboratory Technology, Jeddah, Saudi Arabia*

The surfaceome is a special subset of the plasma membrane proteome. The surfaceome plays crucial roles in determining cellular identity and significant alterations may occur in its composition during pathological processes. Currently, there are no data available concerning plasma membrane proteomic data of normal and pathological pigment cells. Therefore, this project is aimed at discovering the human melanocyte and melanoma-specific surfaceome.

Primary epidermal melanocytes, and cells from in situ (WM35) and metastatic (A2058) melanoma were used for our experiments. Cell surface proteins were labelled by aminoxy-biotin and then isolated by streptavidin-conjugated beads. Isolated proteins were trypsin-digested, and peptides were analysed by mass spectrometry. Identified proteins were evaluated by bioinformatics tools (GO annotations, SURFY database).

The enrichment of the surfaceome was 78%, 71,6% and 68% in melanocytes, WM35 and A2058 cells, respectively. The proteins constituting the surfaceome were further classified into functional subcategories. The combined list consisted of 759 proteins (127 proteins in melanocytes; 301 proteins in melanoma cells; 123 proteins in all pigment cells). Our proteomic findings were further analysed using network biology approaches (STRING, Reactome, IPA), which can highlight specific interactions related to surfaceome components to better understand certain biomarker candidates. For validation, we performed RT-qPCRs, quantitative western blots, and immunocytochemistry reactions.

The differences found in the surfaceome of healthy versus malignant pigment cells can lead to the discovery of biomarkers on melanoma onset and progression. Our results may provide a global picture on relationships between our identified proteins and networks regarding melanoma evolution.

Supported by grants: NTP-HHTDK-22-0051, FK-134304

### Abbreviations

**GO:** gene ontology, **IPA:** Ingenuity Pathway Analysis, **RT-qPCRs:** reverse transcription quantitative polymerase chain reactions

P42

## A BIOTIN-TRASTUZUMABBAL CÉLRA IRÁNYÍTOTT UNICAR-T-SEJTEK ELIMINIÁLJÁK A HER2+ TUMOROKAT IN VITRO, UGYANAKKOR IN VIVO TOXIKUSAK

**Nagy Lőrinc<sup>1</sup>**, Dan Le<sup>1</sup>, Vereb György<sup>1,2</sup>, Szőőr Árpád<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen;*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, ELKH-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport, Debrecen*

A CAR-T sejteken alapuló daganatterápiák áttörést hoztak a hematológiai malignitások kezelésében, ugyanakkor szolid tumorok ellen kevésbé hatékonyak. Ennek egyik fontos oka, hogy általában csak egy antigént céloznak, ami nagy heterogenitást mutató daganatokban nem elegendő. A jelen kutatásban karakterizált univerzális kiméra antigén receptor (UniCAR) nagy affinitású sztreptavidinjén (mSA2) keresztül képes különböző epitópokra specifikus biotinált antitesteket kötni, ezzel lehetővé téve – a megfelelő antitestek beadásával együtt – több tumorantigén egyidejű felismerését.

Az UniCAR-T sejteket retrovirális transzdukciónal állítottuk elő, majd 10 µg/ml koncentrációjú biotin-trastuzumab (linker) jelenlétében vizsgáltuk aktiválódásukat és citotoxikus hatékonyságukat konvencionális immunológiai esszéekkel. Célpontként plate felszínen immobilizált, valamint MDA-HER2 emlőtumorsejtek membránjában kifejeződő HER2 szolgált. Megállapítottuk, hogy biotin-trastuzumab jelenlétében az UniCAR-T sejtek felismerték mind a molekuláris, mind a sejtfelszíni HER2-t, amit szignifikáns interferon-gamma szekréció és tumorsejt-lízis jelzett. A válasz mértéke összevethető volt a pozitív kontrollént alkalmazott konvencionális anti-HER2-CAR-T sejtjével. Linker és target hiányában aktiváció nem történt.

Ezt követően MDA-HER2 sejtekkel szubkután xenotranszplantált NSG egerekben vizsgáltuk az UniCAR-T sejtek in vivo tumor elleni hatékonyságát biotin-trastuzumab linker jelenlétében. Meglepetésünkre az így kezelt egerekben a terápia megkezdése után röviddel súlyos mellékhatások alakultak ki, míg a csak UniCAR-T sejtekkel kezelt egerek esetén ezt nem tapasztaltuk. Az elpusztult állatok tüdő metszeteiben jelentős T sejt infiltráció, valamint natív biotin volt kimutatható. Feltételezésünk szerint a mellékhatást a szervezetben megtalálható biotinhoz közvetlenül és a HER2-höz biotin-trastuzumabon keresztül kötődő UniCAR-T sejtek közötti szinergizmus okozta. Ennek alapján további kísérleteinkben egy másik, emlősejtekben nem kifejeződő linker molekulával (pl. FITC) tervezzük tesztelni az UniCAR koncepció in vivo alkalmazhatóságát.

P43

## LIPOSZÓMÁLIS NANORENDSZEREK SZUPERREZOLÚCIÓS FELBONTÁSÚ VIZSGÁLATA

Böcskei-Antal Barnabás, **Orosz Ádám**, Török György, Kiss Balázs  
*Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet*

A nanoméretű lipid vezikulák (~100 nm-es átmérő) vizsgálatában a dinamikus fényszórás-mérés régóta használatos módszernek számít. Mindaddig ebben a mérettartományban a vezikulumok szerkezetét is közvetlen módon feltáró képalkotó metodika nem volt használatos. Azonban a nanovezikulumok szerkezetét fiziológiás körülmények között láthatóvá tévő módszer alkalmazása jelentős előnyökkel járna a terápiás felhasználás tervezésében és fejlesztésében. Konfokális mikroszkópiával már eddig is többen alkottak képet liposzómákról, azonban ez a mikroszkópiás módszer nem rendelkezik kellően nagy felbontóképességgel ahhoz, hogy a membrán és a belső folyadéktér jól látható elkülönítését lehetővé tegye. Célnk volt egy olyan módszertan kidolgozása, amellyel liposzómális rendszerek szerkezetét nagy felbontással, robusztusan és reprodukálható módon tehetjük láthatóvá.

Munkánkhoz DPPC molekulákból előállított kis unilamelláris vezikulumokat jelöltünk meg fluoreszcens (Alexa Fluor 594) lipopoliszacharid molekulákkal, ezt a rendszert dinamikus fényszórásméréssel és STED mikroszkópiával vizsgáltuk.

A 100 nm-es pórusnyíláson extrudált liposzómák átmérője mind a fényszórásmérés során, mind pedig a konfokális rekonstrukciós képeken közel azonosnak adódott (~100-110 nm). A megfelelő DPPC/LPS arány megtalálása és az optimális STED beállítások megkeresése után sikerült jó jel/zaj arányú képeket felvennünk. A STED képek dekonvolúciós feldolgozása által a liposzómák belső vizes fázisa is eredményesen feltárhatóvá vált.

Kutatócsoportunk korábban a membránok fotoreaktív károsodásával foglalkozott. Metodikánk tesztelésére ezt a folyamatot is követtük kidolgozott STED-es megközelítésünk segítségével.

DPPC – 1,2-dipalmitoil-foszfatidilkolin

LPS – lipopoliszacharid

STED - Stimulated Emission Depletion (kényszerített emissziós kioltás) mikroszkópia

A HUMÁN SZTEARIL-KOA DESZATURÁZ-5 (SCD5)  
 EGYENLŐTLEN ALTERNATÍV SPLICINGJÁNAK  
 MOLEKULÁRIS HÁTTERE ÉS GENETIKAI VARIABILITÁSA  
**Orosz Gabriella<sup>1</sup>**, Szabó Luca<sup>1</sup>, Bereti Szanna<sup>1</sup>, Zámbó Veronika<sup>1</sup>, Csa-  
 Miklós<sup>1</sup>, Kereszturi Éva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Molekuláris Biológiai Tanszék, Budapest*

Az alternatív splicing (AS) a génextpresszió poszttranszkripció szabályozásának egyik fő eszköze, mely dinamikus sokféleséget tesz lehetővé az eukarióta gének által kódolt fehérjeizomorfok számára. A rákkal összefüggő AS rendellenességek felismerése diagnosztikai, prognosztikai és terápiás értékkel bírhat. Az egyik humán  $\Delta 9$ -deszaturáz, a sztearil-KoA deszaturáz-5 (SCD5) expressziójában és AS-jában bekövetkező változások ígéretes tumor típus-specifikus markerek, annak ellenére, hogy transzkripció variánsainak (TV) arányát a különböző szövetekben még nem vizsgálták.

Munkánk során az SCD5 transzkripció variánsainak (SCD5A és SCD5B) humán szöveti eloszlását, a splicing szempontjából releváns hasítóhelyek funkcionalitását, valamint ezen szekvenciákat érintő egypontos nukleotid variációk (SNV) transzkripcióra gyakorolt hatását vizsgáltuk *in silico* és *in vitro*.

Az SCD5A minden vizsgált szövetben legalább egy nagyságrenddel nagyobb mennyiségben expresszálódik a B formához képest. Ennek az egyenlőtlen szerkesztődésnek az okát a NetGene predikciós program segítségével az SCD5B kevésbé definiált akceptor helyének gyengébb felismerhetőségében azonosítottuk, melyet az általunk optimalizált SCD5 minigén konstrukció segítségével HEK293T sejtes rendszerben mRNS szinten RT-PCR-rel és qPCR-rel, fehérje szinten pedig immunoblotol is megerősítettünk.

A TV specifikus donor-és akceptor helyek természetes SNV-i nagymértékben módosították (rs1430176385\_A, rs1011850309\_A), vagy akár meg is fordították (rs1011850309\_C) az SCD5A és az SCDB expressziójának relatív arányát.

Kísérleteinkkel régóta hiányzó ismereteket szereztünk az SCD5 TV-ainak szöveti eloszlásáról. Emellett jelentős, természetes humán genetikai variánsok által vezérelt változásokat tártunk fel az SCD5 AS-ban, amelyek hatással lehetnek a lipidanyagcsere tumorigenezissel összefüggő változásaira, így akár prognosztikai jelentőséggel is bírhatnak, és szerepük lehet a rákos megbetegedések kezelésének személyre szabott megközelítésében.

A munkát az NKFIH FK\_138115 és a PD142709 pályázatok segítették.

SCD5: sztearil-KoA deszaturáz-5

AS: alternatív splicing

TV: transzkripció variáns

SNV: egypontos nukleotid variáns (single nucleotide variant)



## SARS-COV-2 E FEHÉRJÉNEK A SERCA SZABÁLYOZÁSI RENDSZERRE KIFEJTETT HATÁSA

**Padányi Rita**<sup>1</sup>, Blanka Berta<sup>1</sup>, Tordai Hedvig<sup>1</sup>, Gergely Lukács<sup>3</sup>, Béla Papp<sup>4</sup>, Ágnes Enyedi<sup>5</sup>, Hegedűs Tamás<sup>1,2</sup>

P45

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest;*

<sup>2</sup>*ELKH-SE Biofizikai Virologia Kutatócsoport, Budapest;*

<sup>3</sup>*McGill Egyetem, Élettani Intézet, Montréal;*

<sup>4</sup>*Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut Saint-Louis, Paris;*

<sup>5</sup>*Transzfuziológiai Tanszék, Semmelweis Egyetem, Budapest*

SARS-CoV-2 vírus legkisebb szerkezeti fehérjéje, a burokfehérje (E fehérje) a vírus replikációját több ponton is szabályozza, de szerepe pontosan nem tisztázott. Bár nagy mennyiségben expresszálódik a fertőzött sejtekben, csak kisebb mennyiségben épül be a virionokba, ami arra utal, hogy a gazdasejt saját rendszereit manipulálja. Az E protein egy transzmembrán régióval rendelkező fehérje, amely pentamert alkotva viroporinként kationokat enged át lipidmembránon az elektrokémiai potenciálnak megfelelően. A  $\text{Ca}^{2+}$  grádiens az endoplazmás retikulumban a szarko/endoplazmás retikulum  $\text{Ca}^{2+}$ ATPáz (SERCA) hozza létre. Szabályozó fehérjéi az ún. regulinok (foszfolamban: PLN, another-regulin: ALN, endoregulin: ELN) az E fehérjéhez hasonlóan szintén 1 TM fehérjék, illetve szintén képesek pentamert alkotni. A regulinok esetében a pentamer frakció a monomer regulinok mennyiségét szabályozza ezzel egy újabb szabályozási réteget adva a SERCA rendszernek. Munkacsoportunkkal azt vizsgáltuk, hogy a regulinokhoz szerkezetiileg hasonló E fehérje képes-e a SERCA rendszer működését módosítani. FRET vizsgálattal nyert eredményeink szerint az E fehérje képes kölcsönhatásba lépni a SERCA szabályozó rendszer tagjaival, mind magával a SERCA-val, mind a regulinokkal (PLN és ELN). Az ER kalciumdinamikájának vizsgálata azt mutatja, hogy az E fehérje jelenlétében az ER  $\text{Ca}^{2+}$  jel kevésbé stabil, könnyebben billen ki parakrin stimuláció hatására. Eredményeink azt mutatják, hogy kísérleti rendszerünkben ez a változás nem az E protein  $\text{Ca}^{2+}$  viroporin funkciójának az eredménye, hanem az ER  $\text{Ca}^{2+}$  visszatöltésének kinetikájára gyakorolt hatásának köszönhető. Az E fehérje mellett a  $\text{Ca}^{2+}$  visszatöltés lassabb, ami a SERCA szabályozórendszer gátolt működésének lehet a következménye. Annak megismerése, hogy a vírusfehérjék hogyan módosítják a sejtet jelátviteli folyamatokat, hozzájárul a fertőzések komplex fenotípusának megértéséhez.

SERCA : szarko/endoplazmás retikulum  $\text{Ca}^{2+}$ ATPáz, ER: endoplazmás retikulum, PLN: foszfolamban, ALN: another-regulin, ELN: endoregulin, TM: transzmembrán, FRET: fluoreszcencia rezonancia energia transzfer

Támogatás: NKFIH 127961 és 137610

P46

## AZ OLAPARIB HATÁSA A TEMOZOLAMIDE-INDUKÁLT SEJTHALÁLRA U-87 MG SEJTEKEN

**Pfeiffer Nikolett<sup>1</sup>**, Andreidesz Kitti<sup>1</sup>, Hocsák Enikő<sup>1</sup>, Bognár Zita<sup>1</sup>, Fekete Katalin<sup>1</sup>, Szabó Aliz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet, Pécs*

A glioblasztoma multiforme a leggyakoribb rosszindulatú agydaganat. A standard terápia magában foglalja a sebészeti reszekciót és az azt követő kemo-radioterápiát temozolomide adásával. A tumor gyakran rezisztenssé válik a temozolomide-dal szemben azért, hogy az aktiválódó repair mechanizmusok kijavítják a temozolomide-indukált DNS károsodást.

A PARP inhibitorok a PARP enzim gátlásával fokozzák a tumorsejtek sugár- és kemoterápia iránti érzékenységét, míg a normál sejtekre nem toxikusak. Irodalmi adatok szerint az olaparib (egy kereskedelmi forgalomban lévő PARP inhibitor) képes átjutni a vér-agy gáton, ez pedig lehetővé teszi a neuro-onkológiai alkalmazhatóságát. Munkánk során azt tanulmányoztuk, hogy az olaparib miként befolyásolja a temozolomide hatását U-87 MG glioblasztóma sejteken.

Kísérleteink során elsőként meghatároztuk szulforodamin B teszt segítségével, hogy az olaparib miként hat a temozolomide-indukált sejthalálra. Ezután flow citometria segítségével annexin V-propidium jodid jelölést követően azonosítottuk az indukált sejthalál típusát. Majd azt vizsgáltuk, hogy az alkalmazott két vegyület önmagában és kombinációban hogyan befolyásolja az U-87 MG sejtek kolónia-képzését. A sejtmagok morfológiájának vizsgálatához Hoechst 33342-vel jelöltük a nukleuszokat, amelyeket fluoreszcens mikroszkópia segítségével detektáltunk. Ennél a kísérletnél azt tanulmányoztuk, hogy az olaparib miként befolyásolja a temozolomide-indukált nukleáris fragmentációt.

Az olaparib jelentősen fokozta a temozolomide-indukált sejthalál és nukleáris fragmentáció mértékét, illetve kombinációban szignifikánsan gátolta az U-87 MG sejtek kolónia-képződését. Továbbá flow citometria alkalmazásával megállapítottuk, hogy az indukált sejthalál mindkét vegyület esetén túlnyomórészt apoptózis volt.

Eredményeink azt mutatják, hogy a temozolomide rövidebb *in vitro* kísérletek esetén csak magas koncentrációban pusztítja el az U-87 MG sejteket, azonban az alacsony koncentrációjú olaparib jelentősen fokozza a temozolomide citotoxicitását, így az alacsonyabb koncentrációban is hatékony lehet.

U-87 MG: egy humán glioblasztóma sejtvonal

PARP: poli(ADP-ribóz) polimeráz

A Tématerületi Kiválósági Program 2021 Egészség Alprogram (TKP2021-EGA-17) által támogatva.

P47

EFFECT OF DESETHYLAMIODARONE ON TRIPLE  
NEGATIVE BREAST CANCER**Fadi HJ Ramadan**<sup>1</sup>, Kitti Andreidesz<sup>1</sup>, Rita Bogнар<sup>1</sup>, Katalin Fekete<sup>1</sup>, Aliz Szabo<sup>1</sup>, Eniko Hocsak<sup>1</sup>, Ferenc Gallyas Jr.<sup>1,2,3</sup>, Zita Bogнар<sup>1</sup><sup>1</sup>*Department of Biochemistry and Medical Chemistry, University of Pécs Medical School, Pécs, Hungary*<sup>2</sup>*Szentagotthai Research Centre, University of Pécs, Pécs, Hungary*<sup>3</sup>*HAS-UP Nuclear-Mitochondrial Interactions Research Group, Budapest, Hungary*

Triple-negative breast cancer is considered to have a poorer prognosis than other types of breast cancer, mainly because there are fewer targeted medicines that treat triple-negative breast cancer.

In the present study, we suggest that DEA may have cytostatic potential even on triple negative breast cancer. For our experiments we used a Triple Negative (TN; 4T1) and a hormone receptor positive (HR+; MCF7) breast cancer cell lines. As expected DEA was more effective on MCF-7, HR+ cell s, than it was on the TN, 4T1 cell line. However, it significantly reduced viability, colony formation and invasive growth at physiologically achievable concentrations in both cell lines. Apoptosis, induced by DEA, was detected by annexin V labeling, the shifting of Bax/Bcl-2 ratio, PARP-1 cleavage and caspase-3 activation. DEA did decrease the mitochondrial transmembrane potential, as assessed by JC-1 dye and fluorescence microscopy. It also induced mitochondrial fragmentation, as visualized by confocal fluorescence microscopy. Novel compounds significantly interfering with the mitochondrial energy production may have therapeutic value in triple negative breast cancer. DEA decreased maximal respiration, ATP production, coupling efficiency, glycolysis, and non-mitochondrial oxygen consumption not only in MCF-7 cell line, it had significant effect on this values in 4T1-TNBC cell line, too, measured by a Seahorse cellular energy metabolism analyzer.

All these data indicate that DEA may have potentiality in the therapy of TNBC, however the therapeutic dose have to be determined in animal models since the cell culture models translate poorly to the human clinical practice.

DEA: desethylamiodarone

TN: triple negative

HR+: hormone receptor positive

4T1-TNBC: triple negative breast cancer cell line

„SUPPORTED BY THE ÚNKP-22-5 NEW NATIONAL EXCELLENCE PROGRAM OF THE MINISTRY FOR INNOVATION AND TECHNOLOGY FROM THE SOURCE OF THE NATIONAL RESEARCH, DEVELOPMENT AND INNOVATION FUND. SUPPORTED BY THE JÁNOS BOLYAI RESEARCH SCHOLARSHIP OF THE HUNGARIAN ACADEMY OF SCIENCES”

## GLIOMA TARGETING PEPTIDE-DRUG CONJUGATES WITH EFFICIENT CELL AND BLOOD–BRAIN BARRIER INTERNALIZATION

**Ivan Randelović<sup>1</sup>**, Zsuzsa Baranyai<sup>2,3</sup>, Sára Eszter Surguta<sup>1</sup>, Előd Méhes<sup>4,5</sup>, Levente Lakatos<sup>2,6</sup>, Bálint Jezsó<sup>7</sup>, Bence Stipsicz<sup>2,6</sup>, Beáta Biri-Kovács<sup>8</sup>, Petra Parrag<sup>9,10</sup>, István Kenessey<sup>9,11</sup>, Szilvia Bősze<sup>2,5</sup>, József Tóvári<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Department of Experimental Pharmacology, National Tumor Biology Laboratory, National Institute of Oncology, Budapest, Hungary*

<sup>2</sup> *ELKH-ELTE Research Group of Peptide Chemistry, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary*

<sup>3</sup> *Institute of Nanoscience and Materials Aragon (INMA), CSIC – University of Zaragoza, Zaragoza, Spain*

<sup>4</sup> *Department of Biological Physics, Institute of Physics, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary*

<sup>5</sup> *National Public Health Center, Budapest, Hungary*

<sup>6</sup> *Doctoral School of Biology, Institute of Biology, Faculty of Science, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary*

<sup>7</sup> *Institute of Enzymology, Research Centre for Natural Sciences, Budapest, Hungary*

<sup>8</sup> *Institute of Chemistry, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary*

<sup>9</sup> *National Cancer Registry and Biostatistics Center, National Institute of Oncology, Budapest, Hungary*

<sup>10</sup> *Doctoral School, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

<sup>11</sup> *Forensic and Insurance Medicine, Institute of Pathology, Semmelweis University, Budapest, Hungary*

P48

Gliomas are the most common type of primary brain tumors and among the many subtypes, glioblastoma (glioblastoma multiforme, GBM) is the most aggressive form characterized by poor prognosis and high recurrence rate. The need for new targeting approaches into glioma tumor cells has been recognized for many years, the challenge is to design the delivery vehicles carrying an antitumor agent in a form that can be internalized and then released into these cells in an active form. Based on previous results [PMID:33719423] our major aims in this study was to evaluate novel drug delivery peptides and their drug-conjugates on glioma mimicking in vitro spheroid and in vivo murine models. As carrier peptides we employed cell penetrating SynB3 peptide (RRLSYSRRRF) of protegrin-origin, which has been reported to be able to cross the blood-brain barrier (BBB) and its tuftsin-elongated tandem derivative (RRLSYSRRRF<sup>2</sup>TKPPR) to target the neuropilin-1 transport system to achieve selectivity [PMID:33719423]. As antitumor drug, we used daunomycin (Dau) to synthesize peptide-drug conjugates. Dau-conjugates showed

antitumor efficacy against U87MG glioblastoma cells and they have high cellular uptake rate. As tissue-mimicking platform we applied agarose-based spheroid system to evaluate the penetration ability of the carboxyfluorescein-labelled carrier peptides and the Dau-conjugates. The Dau-SynB3 and the tandem Dau-conjugate showed superior penetration ability on U87MG spheroids. Additionally, the drug-conjugates were tested on murine *in vivo* subcutaneous U87MG human malignant glioma bearing mice, where conjugates showed significantly higher antitumor activity than free Dau. Moreover, conjugates showed significantly lower toxicity and side effects than free drug.

Funding: The National Laboratories Excellence program (under the National Tumor Biology Laboratory Project (2022-2.1.1-NL-2022-00010) and the Hungarian Thematic Excellence Programme (TKP2021-EGA-44).

## HUMÁN CALMODULIN KONFORMÁCIÓS DINAMIKÁJA ALACSONY $Ca^{2+}$ -TELÍTETTSÉG ESETÉN

**Schay Gusztáv**<sup>1</sup>, Klaudia Onica<sup>2</sup>, Arian Jafari<sup>1</sup>, Franci Merzel<sup>3</sup>, Balog Erika<sup>1</sup>, Liliom Károly<sup>1</sup>

P49

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, 1085. Budapest, Üllői út 26.*

<sup>2</sup>*Pázmány Péter Katolikus Egyetem, 1088 Budapest, Szentkirályi utca 28.*

<sup>3</sup>*National Institute of Chemistry, Hajdrihova 19, p.p. 660, SI-1001 Ljubljana, Slovenia*

A kalmodulin az intracelluláris jelátviteli folyamatok egyik fontos szereplője. Az egyik legkonzervatívabb fehérje, a humán és növényi kalmodulin szekvenciája közel 80%-ban megegyezik. Négy kalcium-iont képes megkötni két-két „EF-hand” motívummal a fehérje két doménjében. Kalcium kötés hatására a doménekben hozzáférhetővé válik egy addig rejtett hidrofób felület, amely a partner fehérjék széles skáláját képes megkötni. Ezért a kalmodulint hagyományosan úgy tekintjük, mint egy kalcium-függő molekuláris kapcsolót, amely kalcium-kötés hatására aktiválja partnereit, szabályozva ezáltal az intracelluláris kalcium-függő jelátvitelt. Felmerül azonban a kérdés, hogy milyen konformációs mozgásokban manifesztálódik az intracelluláris kalcium-jelekre adott reakció, valamint a fiziológias intracelluláris kalcium-ion koncentráció tartományban hogyan kerülnek a célfehérjék kiválasztásra? Ismert, hogy a kalmodulin kalcium-kötése kooperatív jellegű, a Perutz-féle modell egy változatát sikerrel alkalmazták a kalmodulin kalcium-kötésének leírására. Ezekben a kísérletekben azonban a telítési jelenség magyarázata volt a fő célkitűzés, így az alacsony kalcium/fehérje arányú koncentráció-tartományra nem fordítottak jelentősebb figyelmet. A partner-szelektivitást leginkább a célfehérjék kompartmentalizációjával, illetve kanonikus kötési módusokkal próbálják magyarázni, ami azonban nem ad választ arra, hogy a fiziológias kalcium koncentráció időbeli változásában megjelenő információ tartalom miért nem vész el a jelfeldolgozás során.

Kísérleteinkben egyrészt kimutattuk, hogy az alacsony kalcium/fehérje koncentráció tartományban a kalmodulin megnövekedett szerkezeti inhomogenitást mutat, továbbá azt is, hogy a modell target peptid mellett is képes megkötni, jóval a kalcium-telítési állapot bekövetkezése előtt. Számítógépes molekuladinamikai szimulációk segítségével megmutattuk, hogy a szerkezeti dinamika jelentősen eltérő abban az esetben, ha a C-terminális két kalciumköthelyét betöltött fél-telítési állapotot apo (0-kalcium), vagy holo (4-kalcium) állapotok felől érjük el, ami azt sugallja, hogy az intracelluláris kalcium koncentráció időbeli alakulása a kalmodulin szerkezeti dinamikájában kerülhet kódolásra a sejtes jelfeldolgozás során.

A kutatást az NKFIH FK-135517 pályázat támogatta.

P50

A  $\Delta F508$  ÉS  $G551D$  CISZTÁS FIBRÓZIST OKOZÓ MUTÁCIÓK HATÁSA A CFTR-PKA KÖLCSÖNHATÁSRASimon Márton<sup>1,2</sup>, Csanády László<sup>1,2</sup><sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék, Budapest,*<sup>2</sup>*ELKH-SE Ioncsatorna Kutatócsoport, Budapest*

Az ABC fehérjék szupercsaládjába tartozó CFTR kloridion-csatorna két pórus-képző transzmembrán-doménből; két citoszolikus, az ATP kötéséért és hidrolíziséért felelős nukleotidkötő-doménből; valamint egy citoszolikus szabályozó (R)-doménből áll. A PKA katalitikus alegysége az R-doménhez kötődik, és foszforilálja azt, ami egymással additív reverzibilis, illetve irreverzibilis csatorna-aktiválást okoz. A CFTR mutációi egy gyógyíthatatlan, halálos betegség, a cisztás fibrózis (CF) kialakulásához vezethetnek. Leggyakoribb CF-mutációként, a  $\Delta F508$  károsítja a fehérje érését és a csatorna kapuzását, míg a  $G551D$  mutáció megzavarja a csatorna ATP-függő kapuzását. Továbbá, a  $\Delta F508$  és a  $G551D$  mutációval bíró ioncsatornák PKA-függő aktivációja is hibás. Mivel az ivacaftor, az egyetlen FDA által jóváhagyott gyógyszer serkentő hatása a CFTR foszforilációjától függ, a CFTR-PKA kölcsönhatás károsodásának megértése a mutánsokban nagy jelentőséggel bír. A PKA kötés és foszforiláció hozzájárulását a csatorna teljes aktiválásához egy olyan ATP-analóg alkalmazásával vizsgáltuk, amely támogatja a CFTR kapuzását, de nem teszi lehetővé a PKA általi foszforilációt. Makroszkópos 'inside-out' 'patch clamp' felvételek révén összehasonlítottuk a mutánsok és a vad típusú CFTR esetében a PKA általi reverzibilis / irreverzibilis stimuláció sebességét és relatív amplitúdóját. A mutánsok foszforilációs sebessége összemérhető a vad típusú csatornáéval. Továbbá, a vad típusú csatornákhöz képest mindkét mutáns esetében lényegesen nagyobb a kötődés relatív hatása. Ezek alapján a foszforiláció csatornaaktiválásra gyakorolt hatása sérül a  $\Delta F508$  és  $G551D$  esetén. A PKA mirisztoil-csoportja a mutánsok esetén is esszenciális a reverzibilis aktiválás szempontjából. Míg a  $G551D$  esetében ivacaftor és elexacaftor együttes jelenlétében a PKA reverzibilis aktiváló hatása továbbra is megfigyelhető, a  $\Delta F508$  esetében a foszforilációt követően csak kismértékben figyelhető meg további, PKA-kötés okozta stimuláció.

ABC, ATP-kötő kazetta; ATP, adenzin-trifoszfát; CF, cisztás fibrózis; CFTR, cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia regulátor; FDA, U.S. Food and Drug Administration; PKA, protein kináz A; R domén, szabályozó domén.



P51

VIRÁLIS G-QUADRUPEXEK TERMODINAMIKAI  
JELLEMZÉSE ÉS A STABILITÁSUKAT BEFOLYÁSOLÓ  
FIZIKOKÉMIAI PARAMÉTEREK FELDERÍTÉSE

**Smeller László**<sup>1</sup>, Cervenak Miklós<sup>1</sup>, Véghe András<sup>2</sup>, Molnár Orsolya Réka<sup>1</sup>,  
Somkuti Judit<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest*

<sup>2</sup>*Semmelweis Egyetem, Szemészeti Klinika, Budapest*

A nukleinsavak nem csak a szokásos kettős hélix szerkezetet vehetik fel. A guaninban gazdag régiókban négyszálú struktúrák ún. G-quadruplexek (GQ) jelenhetnek meg. Legelőször a telomér régióban, majd különböző onkogének promóter régióiban fedeztek fel ilyen szerkezeteket. Ennek a lokalizációnak a nyilvánvaló rákkutatási aspektusa inspirálta a GQ szerkezetet stabilizáló ligandumok fejlesztését. A szekvencia analízis alapján azonban ilyen szerkezetek nem csak a humán sejtekben, hanem baktériumok és vírusok nukleinsavaiban is előfordulhatnak.

Kísérleteinkben egy DNS és egy RNS genommal rendelkező vírus, a hepatitis B (HBV) vírus és a SARS-CoV-2 vírus genomjában potenciálisan GQ formáló DNS és RNS szekvenciákat vizsgáltunk. Infravörös spektroszkópiával ill. fluoreszcens és abszorpciós spektroszkópiai módszerekkel vizsgáltuk, hogy kialakul-e a GQ szerkezet ill. hogy a virális GQ-ek is stabilizálhatóak-e a humán célra fejlesztett ligandumokkal.

Méréseink eredményeként mindkét vírus esetén találtunk három GQ formáló oligomert. A vizsgált oligók esetén a  $K^+$  és a  $Na^+$  ionok is képesek voltak a szerkezetet stabilizálni. Érdekes módon - a humán GQ-ekkel ellentétben - a  $K^+$  és  $Na^+$  stabilizált virális GQ-ek stabilitása nem volt lényegesen különböző.

A GQ szerkezet felbomlásakor történő térfogatváltozás fontos szerkezeti paramétere a stabil GQ struktúrájának. A térfogati paraméterek meghatározása a nyomás függvényében végzett mérésekkel történt. A térfogatváltozások 10-20 cm<sup>3</sup>/mol tartományban voltak, ami a hidratárburokban végbemenő változásokkal, ill. a stabilizáló ionoknak a kitekeredéskor végbemenő hidratálásával magyarázható.

Mind a DNS, mind pedig az RNS GQ-ek stabilizálhatóak voltak a TMPyP4 ill. PhenDC3 ligandumokkal. A HBV GQ-eket a BRACO19 is stabilizálta, bár kisebb mértékben.

Rövidítések: GQ: G-quadruplex; SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; HBV: Hepatitis B vírus; RNS: Ribonukleinsav; DNS: Deoxiribonukleinsav; TMPyP4: meso-5,10,15,20-tetrakis-N-methyl-4-pyridyl porphine; PhenDC3: 3,3'-[1,10-Phenanthroline-2,9-diylbis(carbonylimino)] bis[1-methylquinolinium]; BRACO19: 9-(4-(N,N-dimethylamino)phenylamino)-3,6-bis(3-pyrrolidinopropionamido) acridine



P52

## A NEGYEDIK VANILLOID (TRPV4) PORCOSODÓ KULTÚRÁBAN

**Somogyi Csilla**, Fürstál Barbara, Juhász Tamás, Matta Csaba,  
Katona Éva, Vágó Judit, Hegyi Zoltán, Dócs Klaudia, Zákány Róza  
*Debreceni Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Debrecen*

A főként kalcium szelektív TRPV4 ioncsatorna funkciónyeréses mutációja súlyos vázrendszeri defekttal jár. Túlzott aktivitása hyperchondrogenezissel, szabálytalan chondrocita érésel és hibás enchondrális csontosodással jellemezhető. A mechanizmusok, amelyek fokozott TRPV4 aktiváció következtében skeletális rendellenességet váltanak ki, a mai napig ismeretlenek.

A kísérleti modellekben gyakran alkalmazott, prompt kezelésekkel szemben, laborunk hosszú távú TRPV4 csatorna moduláción keresztül vizsgálja a kondrogenikus kultúrák morfológiai és intracelluláris kalcium-koncentráció változásait. Az ioncsatorna aktivitásának befolyásolásához az agonista 4 $\alpha$ -PDD és az antagonistá HC06707 farmakonokat alkalmaztuk.

Kísérleti modellünk egy olyan spontán differenciálódó kondrogenikus kultúra, amely 11 és fél napos egér embrió végtagbimbójából izolált, nagy sejtsűrűségben kicseppentett mezenchimális sejtek elegye. A multinoduláris kondrogenezissel jellemezhető kultúrákban az internoduláris területeken kevésbé elkötelezett, hosszúkás sejtek, míg a noduláris területeken kerekded, fiatal kondrociták helyezkednek el.

A kicseppentett kultúrákban a TRPV4 mRNS és fehérje expressziója fokozatosan emelkedik egészen a 10 napig majd ezt követően csökkenő tendenciát mutat. Az ioncsatorna nem csak időbeli, hanem eltérő térbeli kifejeződéssel is jellemezhető. Klasszikus, valamint porc-és csontspecifikus festési eljárásokkal jelentős morfológiai eltérést figyelhetünk meg a noduláris/internoduláris területek között hosszú távú TRPV4 ioncsatorna gátlás és aktiválás folyamán. Az itt elhelyezkedő differenciálódó kondrogenikus sejtek eltérő kalcium-görbéjük alapján csoportokba sorolhatóak, mely egyben tükrözi noduláris/internoduláris elhelyezkedésüket. A csatorna gátlása során jelentős mennyiségű kalcium-pirofoszfát kristály jelenik meg a kultúrában, amely chondrokalcinózis magyarázattal szolgálhat a TRPV4 mutáns egerek térdízületének oszteoarthritiszes kalcifikációjára.

Feltevésünk szerint a TRPV4 ioncsatorna túlzott aktivitása lassítja, míg gátlása fokozza a chondrogenézis folyamatát. Az alkalmazott in vitro porcosodó egér kultúra kiváló modellként szolgálhat az in vivo TRPV4 mutáció okozta vázrendszeri eltérések vizsgálatához.

Az emberi erőforrások minisztériuma ÚNKP-18-3-III kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának és a DETEP támogatásával készült kutatási téma.

TRPV4: Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid ioncsatorna 4  
4 $\alpha$ -PDD: 4alpha-phorbol 12,13-didecanoate

P53

## GENERATION AND DIFFERENTIATION OF NEUROSPHERES FROM AVIAN ENTERIC NERVOUS SYSTEM

Ádám Soós<sup>1</sup>, Csongor-László Pethő<sup>1</sup>, Emőke Szőcs<sup>1</sup>, Viktória Halasy<sup>1</sup>, Nándor Nagy<sup>1</sup><sup>1</sup>*Semmelweis University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Histology and Embryology, Budapest, Hungary***Keywords:** stem cells, neurosphere, embryo, Hirschsprung disease

The enteric nervous system (ENS) develops from neural crest cells (NCC) that migrate along the intestine, and differentiate into neurons and glia within the gut wall. Congenital abnormalities of the ENS cause severe intestinal disorders, such as Hirschsprung disease, which is characterized by the absence of enteric ganglia along a variable length of colon. Recently the enteric neurosphere technique has been used to isolate and culture enteric nervous system derived stem cells (ENCDCs) for cell transplantation to treat congenital neurointestinal diseases: however, the optimal method of generating neurospheres is not well defined.

ENS development is highly dependent on reciprocal interactions between NCCs and their stromal environment that is conserved between mammals and avian species. The avian embryo offers a unique opportunity to study ENS development, where ENCDCs and their interaction with the gut mesenchyme-derived growth factors can be followed, and to leverage our understanding to bioengineer neurospheres, to enhance the migration of transplanted ENSCs.

The objective of this study was to compare the quantity and neurogenic potential of ENCDCs isolated from the late embryonic and posthatched chicken large intestine and to develop efficient methodologies for their neurosphere cultivation. Unsorted gut cells were grown in Neurocult Basal Medium. To optimize stem cell growth and proliferation potential we supplemented the culture media with glial-cell-line-derived neurotrophic factor (GDNF) and Noggin growth factors that have been described to influence the ontogeny of ENCDCs. Neurospheres were cultured for 3 and 7 days, co-cultured with embryonic hindgut for 24 hours, recombinants were transplanted to CAM membrane of chicken embryo in ovo for another 7 days and processed for immunostaining to characterize the cells and their microenvironment. Exposure to GDNF+Noggin promoted the expansion of ENCDCs and resulted in a robust increase in neurosphere volume. Chicken neurospheres transplanted to aneural hindgut migrate normally and differentiate into appropriate neural crest-derived cell types.

Our data show that the ability of avian ENCDCs to generate enteric neurospheres can be enhanced by exposure to appropriate growth factors. Using this technique we can better understand interactions of different cell types and the microenvironmental factors that increase proliferation potential and guide differentiation into specific ENS cell types.

P54

## ÚJSZERŰ BIOMARKEREK VIZSGÁLATA VESETUMOROKBAN

**Steli Ákos József**<sup>1</sup>, Király József<sup>1</sup>, Szász Csaba<sup>2</sup>, Vass Anna<sup>1</sup>, Szegedi Krisztián<sup>3</sup>, Szabó Zsuzsanna<sup>1</sup>, Halmos Gábor<sup>1</sup><sup>1</sup>*Debeceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Biofarmácia Tanszék, Debrecen*<sup>2</sup>*Debeceni Egyetem, ÁOK, Patológia Intézet, Debrecen*<sup>3</sup>*Debeceni Egyetem, Klinikai Központ, Urológiai Klinika, Debrecen*

Az amerikai Globális Rákkutató Intézet szerint a vesedaganat a 14. leggyakoribb rosszindulatú daganat világszerte, de az előfordulása régióként eltérő. Az átlagos öt éves túlélési arány 75%, a legmagasabb előfordulási arány Európában és Észak-Amerikában van. A terápiás lehetőségek között szerepel a sugár-, illetve a kemoterápia is, a korai stádiumban diagnosztizált vesedaganat immunterápiás módszerekkel is kezelhető. A modern daganatkutatásban, az új terápiás módszerek kifejlesztése mellett a potenciális tumordiagnosztikai markerek felkutatása is jelentős szerephez jutott. Mindezek alapján olyan fehérjék jelenlétét vizsgáltuk vesetumorokban, melyek nagy potenciállal válhatnak tumormarkerré és gyógyszeres támadásponttá a jövőben. Vizsgálatainkhoz 20 ép/tumoros vese szövetminta párokat használtunk, melyek a Debreceni Egyetem Urológiai Klinika betegeiből származtak. A Proteome Profiler™ Human Kidney Biomarker Array 38 fehérje egyidejű kimutatását tette lehetővé. Korábbi kutatások szerint az endoglin (ENG), a lipokalin (LCN), a resistin (RES), a Vascular cell adhesion protein (VCAM) és a chemokine ligand 1 (CXCL1) markereket már többféle daganat típusban is azonosították. A szövetekből total-RNS-t izoláltunk, majd ezen fehérjéket mRNS szinten qRT-PCR-el validáltuk. Az LCN és az ENG expressziójában a tumoros minták az ép mintákhoz képest szignifikáns eltérést mutattak, mely összefügg a betegek klinikai státuszával is. A RES, a VCAM és a CXCL1 esetében az ép/tumoros mintáknál nem volt jelentős eltérés. Az irodalom szerint az LCN, a RES, a VCAM és a CXCL1 immunfolyamatok révén járulnak hozzá a tumorgenezishez. Az ENG viszont a tumor mikrokörnyezet modulálásával kedvezővé teheti a tumor progresszióját és az áttétes terjedést. Feltételezzük, hogy a klasszikus anti-angiogén gyógyszerek mellett az ENG-ellenes terápiák ígéretes megközelítésként jelennek meg majd a vesetumorok célzott terápiájában is.

TKP2021-EGA-20 (GH) AND GINOP-2.3.2.-15-2016-00043 (GH)

## HIPOXIA HATÁSA TÜDŐTUMOR SEJTVONALAK MOTILITÁSÁRA

**Surguta Sára Eszter**<sup>1</sup>, Baranyi Marcell<sup>2</sup>, Tóvári József

<sup>1</sup>*Országos Onkológiai Intézet, Kísérletes Farmakológiai Osztály és Nemzeti Tumorsejtbiológiai Laboratórium, Budapest*

<sup>2</sup>*Semmelweis Egyetem, Patológiai, Igazságügyi és Biztosítási Orvostani Intézet, Budapest*

**Bevezetés:** A hipoxia - amely a tumor mikrokörnyezetének gyakori állapota – és az epitheliális-mesenchymális átalakulás (EMT) szoros összefüggésben áll a tumorsejtek migrációjával, inváziójával és metasztatizálásával. A szöveti hipoxiára adott sejtválasz egyik kulcsfontosságú fehérjéje a hypoxia inducible factor 1 (HIF1), amely transzkripció faktoroként számos gén expresszióját szabályozza. Több tanulmány is vizsgálta a hipoxiás állapotok és a HIF1 $\alpha$  stabilizálódásának összefüggéseit a tumorsejtek fokozott in vitro motilitásával különböző migrációt szabályozó jelpályák mentén.

**Kitűzött célok:** A tanulmány célja annak vizsgálata, hogy a hipoxia miként befolyásolja a különböző tüdő adenokarcinóma sejtvonalak mozgékonyágát és metasztatikus potenciálját, illetve milyen molekuláris változások játszhatnak kiemelkedő szerepet ezekben a folyamatokban.

**Alkalmazott módszer:** Vizsgálatunkba négy tüdő adenokarcinóma sejtvonalat vontunk be, amelyek a növekedési faktor jelpályán hordoznak különböző mutációkat (H1975 EGFR T790M, PF901 BRAF V600E, PF139 KRAS G12C mutáns és H838 WT). A sejteken a hipoxiás környezet, illetve a Hif1 $\alpha$  fehérjét stabilizáló CoCl<sub>2</sub> (200  $\mu$ M) kezelés motilitásra gyakorolt hatását vizsgáltuk 48 órás videomikroszkópiás kísérletekkel. A Hif1 $\alpha$ -t és az általa szabályozott célfehérjéket, a motilitásban szerepet játszó kis G fehérjék, valamint az epitheliális-mesenchymális átalakulásban szerepet játszó gének expresszióját Western Blot technikával és qPCR-el vizsgáltuk.

**Eredmények és következtetés:** Vizsgálataink során egyik sejtvonal motilitásában sem tapasztaltunk különbséget a CoCl<sub>2</sub> kezelés hatására a normoxiás állapotokhoz képest. Ezzel szemben a PF139 és PF901 sejtvonalak migrációs aktivitását szignifikánsan csökkentette a hipoxiás környezet, annak ellenére, hogy a Western blot módszerrel egyértelműen kimutatható volt a HIF1 $\alpha$  stabilizálódása mind CoCl<sub>2</sub>, mind hipoxia hatására. Az EMT markerekben és a motilitás fehérjékben a CoCl<sub>2</sub> és a hipoxia eltérő, sejtvonalfüggő változásokat okozott.

**Támogatók:** A KDP-14-3/PALY-2021 (1018567) számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a KDP-2020 pályázati program finanszírozásában, valamint a TKP2021-EGA-44 és NLP-17 projektek támogatásával valósult meg.

P56

HYPOXIÁT BEFOLYÁSOLÓ ÉS KLINIKAILAG HASZNÁLT  
KEMOTERÁPIÁS HATÓANYAGOK KOMBINÁLT HATÁSÁNAK  
VIZSGÁLATA EMLŐDAGANATOKBAN ÉS OVÁRIUM  
KARCINÓMÁKBAN

**Svajda Laura<sup>1</sup>**, Cserepes Mihály Tamás<sup>1</sup>, Randelović Ivan<sup>1</sup>, Tóvári József<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Kísérletes Farmakológiai Osztály és Nemzeti Tumorsejtbiológiai  
Laboratórium, Országos Onkológiai Intézet, Budapest*

A tumorsejtek oxigén- és tápanyag ellátása nagyban függ a sejtek lokációjától, a tumor belső rétegeiben elhelyezkedő sejtek számára az oxigén korlátozott mennyiségben van jelen. A hypoxiás környezethez való adaptáció kulcseleme a hypoxia által indukálható faktor-1 (HIF-1) transzkripció faktor. Annak ellenére, hogy a több mint 60 célgénét aktiváló HIF-1 $\alpha$  ígéretes gyógyszer célpontnak bizonyul, a célzott transzkripció-faktor gátló gyógyszerek önmagukban nem szerepeltek eredményesen a klinikai vizsgálatokon.

A kísérletek során a konvencionális kemoterápiás szerek és a HIF-1 $\alpha$  inhibitorok együttes alkalmazásának hatását vizsgáljuk az emlő- és ovárium eredetű daganatok növekedésére.

Az *in vitro* modellek kiválasztása során igyekeztünk széleskörben bevonni különböző típusú emlő-és ovárium tumor sejtvonalatokat.

Az Acriflavine nevű HIF-1 $\alpha$  inhibitor és a Paclitaxel kombinált hatását szulforodamin B esszével, valamint mRNS és fehérje expresszió mérésével analizáljuk. Az *in vitro* módszereken kívül sejtvonat-és beteg eredetű xenograftokat is alkalmazunk.

A szulforodamin B esszék eredményei alapján bizonyos sejtvonalakban kimutatható a Paclitaxel és az Acriflavine közötti additív hatás, esetenként szinergia. Az mRNS expressziós vizsgálatok kimutatták az Acriflavine hypoxiás-hatást mérséklő tulajdonságát az egyes HIF-1 célgének expresszióját tekintve, továbbá az oxigén hiányos környezetben tartott sejtek epiteliális-mezenchimális átmenetének befolyásolását. Ezeket az eredményeket *in vivo* validáljuk.

Végeredményben elmondható, hogy a konvencionális kemoterápiás szerek kiegészítése HIF-1 inhibitorokkal ígéretes terápiás útvonal lehet, mely hozzájárulhat az áttétképzés megelőzéséhez, ezáltal a betegek túlélési esélyeinek javításához.

A munkát a TKP2021-EGA-44 és NLP-17 projektek támogatták.

P57

## A SEJTMEMBRÁN HATÁSA A LOKÁLIS LIGANDUM KONCENTRÁCIÓRA

Szabó Ágnes<sup>1</sup>, Szöllösi János<sup>1,2</sup>, Nagy Péter<sup>2</sup>

<sup>1</sup>MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport, Debreceni Egyetem

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

**Bevezetés:** A plazmamembrán kulcsfontosságú szerepet tölt be jelátviteli folyamatokban, mivel a hírvivők és a gyógyszermolekulák vagy kötődnek a membránhoz, vagy áthaladnak rajta. Bár a ligandum kötődése triviális egyensúlyi folyamat, a jelenséget jelentősen módosíthatja a ligandumok dinamikus asszociációja és disszociációja, ill. különböző membránjelenségek. Ezért célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk, milyen hatással van a membrán közelsége a ligandum lokális koncentrációjára.

**Módszerek:** A méréseket eGFP-ErbB1 receptorokat stabilan kifejező CHO sejteken (F1-4 sejtvonal) vagy ezek eCFP-ErbB2 plazmiddal transzfektált változatával (F1-4\_ErbB2) végeztük, vagy ezen sejtekből készített vezikulumokkal (GPMV). Az ErbB1 fluoreszcensen jelölt ligandumával (TAMRA-EGF) inkubáltuk a sejteket / vezikulumokat, majd FCS-sel meghatároztuk a koncentrációját és a diffúziós állandóját a sejtmembrántól való távolság függvényében.

**Eredmények:** A csak ErbB1-et kifejező F1-4 sejtvonal esetében a sejtmembrán ~2 µm-es környezetében ~3-szor nagyobb volt az EGF koncentráció, mint a szabad oldatban. Ez a csúcs magas EGF koncentráció (~100 nM) esetében eltűnt. Az ErbB2-t is expresszáló sejtekben a TAMRA-EGF lokális koncentrációja a sejtmembrán felett 10-20 µm-rel maximumot mutatott. Az EGF koncentrációs maximum egybe esett az EGF diffúziós állandójának minimumával. Az F1-4\_ErbB2 sejtekből izolált vezikulák esetén a lokális EGF koncentráció a membrán közelében magasabb volt, míg az F1-4 sejtekből készített vezikulák esetén nem tapasztaltuk ezen csúcsok jelenlétét.

**Konklúzió:** A membrán jelenléte jelentősen befolyásolja a ligandumkoncentrációt a sejt közelében. Az eredmények és modellezésük arra utalnak, hogy a membrán közelében található csúcs a membránrecirkuláció/ligandum rezervoár miatt alakul ki, míg a membrántól 10-20 µm-re levő csúcs a magasabb lokális viszkozitás következménye.

### Rövidítések:

EGF: epidermális növekedési faktor

ErbB1: epidermális növekedési faktor receptor (EGFR)

FCS: fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia

F1-4: ErbB1-eGFP-vel stabilan transzfektált CHO sejtvonal

F1-4\_ErbB2: ErbB2-eCFP-vel tranziensen transzfektált F1-4 sejtvonal

GPMV: giant plasma membrane vesicle

P58

## A VIRÁLIS EREDETŰ PEPH3 SEJTPENETRÁLÓ PEPTID HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA AGYI ENDOTÉLSEJTEKEN

**Szecsó Anikó**<sup>1</sup>, Mészáros Mária<sup>1</sup>, Porkoláb Gergő<sup>1,2</sup>, Vera Neves<sup>3</sup>, Marco Cavaco<sup>3</sup>, Beatriz Simões<sup>3</sup>, Catarina Chaparro<sup>3</sup>, Miguel A.R.B. Castanho<sup>3</sup>, Deli Mária A.<sup>1</sup>, Veszélka Szilvia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*ELKH, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Biológiai Barrierek Kutatócsoport, Szeged, Magyarország*

<sup>2</sup>*Szegedi Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola, Szeged, Magyarország*

<sup>3</sup>*Universidade de Lisboa, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina, Lisszabon, Portugália*

A központi idegrendszeri betegségek gyógyítása nagy kihívást jelent, mivel az agyi kapillárisok sejtjei által kialakított vér-agy gáton keresztül a terápiás hatóanyagok bejutása az agyba nagymértékben akadályozott. Erre a problémára megoldást jelenthetnek a nanopartikulumok, melyek felszínéhez célzó molekulákat kötve hatékonyan növelhetjük a belsejükbe zárt hatóanyagok specifikus agyi bejutását.

Kutatásaink során megvizsgáltuk, hogy a Dengue vírus kapszid eredetű PepH3 peptid önállóan, illetve nanorészecskék felszínéhez kötötten képes-e az agyi endotélsejtben a modellanyag sejtfelvételét és vér-agy gáton keresztüli transzportját elősegíteni.

Kísérleteinkben nem célzott és PepH3 célzott nanorészecskéket állítottunk elő, melyek belsejébe Texas Red jelölt borjú szérum albumint (TR-BSA) zártunk. Dinamikus fény-szórás méréssel meghatároztuk, hogy a nanopartikulumok ~100 nm átmérőjűek, enyhén negatív töltéssel rendelkeztek és a TR-BSA bezárási hatékonysága ~35% volt. Impedancia méréssel megállapítottuk, hogy az önálló PepH3, és a peptiddel célzott nanopartikulumok egyik vizsgált kezelési koncentrációban sem befolyásolták az endotélsejtek életképességét.

Az önálló PepH3 peptid sejtfelvétele konfokális mikroszkóppal vizsgálva 30 perc alatt jelentős volt, a vér-agy gáton keresztüli átjutása pedig szignifikánsan magasabbnak bizonyult, mint a marker molekulaké. Spektrofluoriméteres méréseink igazolták, hogy a nanohordozók felszínéhez kötött PepH3 peptid 24 órás kezelést követően szignifikánsan megnövelte a TR-BSA sejtfelvételét az endotélsejtben a nem-célzott nanopartikulumokkal összehasonlítva. Kimutattuk, hogy ez a sejtfelvétel részben endocitózissal valósult meg, és a bejutott TR-BSA jelentős kolokalizációt mutatott az Golgi apparátussal és az endoplazmatikus retikulummal. A sejtfelvételi kísérletekkel ellentétben a PepH3, mint célzóligand nem befolyásolta a nanopartikulumokba zárt modellanyag vér-agy gáton való átjutását.

Eredményeinkből arra következtetünk, hogy a PepH3 önállóan alkalmas lehet az agyi gyógyszerbejuttatás fokozására, azonban nanopartikulumok felszínén több célzóligand együttes alkalmazása szükséges.

Rövidítések:

TR-BSA: Texas-Red borjúsérum albumin komplex



## ANALYSIS OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL INTERACTIONS IN INITIAL FORMATION OF THE AVIAN PRIMARY LYMPHOID ORGANS

**Emőke Szócs**, Ádám Soós, Viktória Halasy, Nándor Nagy  
*Semmelweis University, Department of Anatomy, Histology and Embryology, Budapest, Hungary*

Primary lymphoid organ development in birds relies on epithelial-mesenchymal interactions and the inductive capacities of immigrating hematopoietic cells. The bursa of Fabricius is an avian specific, gut associated primary lymphoid organ of ectodermal origin, which exclusively supports development of B-lymphocytes. In contrast, the thymic stromal environment develops from the endoderm of the third pharyngeal pouch, surrounded by a specialized neural-crest derived pharyngeal mesenchyme.

The goal of this project is to characterize the role of epithelial-mesenchymal interactions during primary lymphoid organ development. Using the chick-quail chimera system, bursa rudiment isolated from 9 day old embryo and third pharyngeal pouch dissected from quail embryos at embryonic day 3 were grafted into the coelom of the chick embryo and allowed to develop *in ovo*. In transplanted quail bursas chick hematopoietic cells enter the quail epithelium and induce functional bursal follicles filled with B-cells. In pharyngeal pouch grafts thymus developed with reticulo-epithelial cells belonging to the quail, while T-cells were derived from the chick host. Next, pharyngeal pouch endoderm was enzymatically isolated and *in vitro* associated with chicken bursa mesenchyme, then cultured *in ovo*. Tissue recombinants were able to develop thymus like morphology, contained both cortical and medullary regions of quail derived reticular epithelium colonized by CD8+ T-cells of host origin.

These tissue recombination experiments indicate that the third pharyngeal pouch endoderm can induce thymus differentiation in heterospecific mesenchyme of bursa origin. Whether the bursa epithelium has the potential for lymphoid follicle formation when cultured with pharyngeal mesenchyme deserves further analysis.



P60

CALCIUM-DEPENDENT TRANSCRIPTION  
FACTORS MAY CONTRIBUTE SIGNIFICANTLY TO  
CHONDROGENIC DIFFERENTIATION

**Roland Ádám Takács**<sup>1</sup>, Krisztián Balogh<sup>1</sup>, Szilárd Póliska<sup>2</sup>, Richard Barrett-Jolley<sup>3</sup>, Róza Zákány<sup>1</sup>, Csaba Matta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, H-4032, Hungary*

<sup>2</sup>*Genomic Medicine and Bioinformatics Core Facility, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen H-4032, Hungary*

<sup>3</sup>*Department of Musculoskeletal and Ageing Science, Institute of Life Course and Medical Sciences, University of Liverpool, Liverpool L7 8TX, United Kingdom*

During the morphogenesis of the vertebrate appendicular skeleton, progenitor cells originating from the mesoderm of the embryo undergo a series of events that include specification, proliferation, condensation, and nodule formation. The default pathway for chondrogenesis is terminal chondrocyte differentiation, followed by hypertrophy and apoptosis. This default pathway is blocked in articular cartilage, resulting in permanent cartilage. Specific intracellular calcium signaling events are necessary for the proper development of permanent/articular cartilage tissue. Oscillatory changes of intracellular calcium levels have been demonstrated in chondroprogenitor cells, but the identity of the majority of transcription factors that are consequently activated (either in a primary or secondary manner) is only hypothesized. Therefore, the aim of this work was to identify calcium-dependent transcription factors expressed in chondrogenic cells on various days of differentiation using RNASeq.

We used RNA sequencing to examine gene expression patterns during early cartilage formation of chicken LMPs limb bud mesenchymal progenitor cultures, and focused on genes encoding transcription factors that are either primarily or secondarily calcium-dependent.

Based on our *in silico* analysis, NUCB-2, and CAMTA1 are not only highly expressed in LMPs, but also have an intriguing network of connections that may directly influence chondrogenesis, as presented in our poster.

In summary, LMPs express transcription factors that are activated by Ca<sup>2+</sup> in a primary or secondary manner. Currently these molecules are not known to be associated with chondrogenic functions, making them a desirable targets for further research.

RNASeq: ribonucleic acid-sequencing, NUCB-2: Nucleobindin-2, LMPs: limb bud mesenchymal progenitor cultures, CAMTA1: Calmodulin-Binding Transcription Activator 1

Funding: Young Researcher Excellence Programme [FK-134304] of the National Research, Development and Innovation Office, Hungary. Project no. TKP2020-NKA-04 was implemented with the support provided by the National Research, Development and Innovation Fund of Hungary, financed under the 2020-4.1.1-TKP2020 funding scheme.

P61

## PROMÓTER POLIMORFIZMUSOK SZEREPE AZ SCD1 ZSÍRSAV-FÜGGŐ SZABÁLYOZÁSÁBAN

**Tibori Kinga<sup>1</sup>**, Zámbo Veronika<sup>1</sup>, Csala Miklós<sup>1</sup>, Kereszturi Éva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Molekuláris Biológiai Tanszék, Budapest*

A lipidmetabolizmus szisztémás rendellenességei változatos anyagcserezavarokat eredményezhetnek. A telítetlen zsírsavak szintézisét katalizáló sztearil-KoA deszaturáz-1 (SCD1) kardinális enzim a lipotoxicitással szembeni védelemben. Az SCD1 azonban kedvez a zsírraktározásnak, így túlzott expressziója vagy megnövekedett aktivitása hozzájárulhat a kettes típusú diabetes mellitus kialakulásához.

Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy a különböző zsírsavak és a deszaturáz természetes promóter polimorfizmusai hogyan befolyásolják az SCD1 expressziót *in vitro* sejtes rendszerben. Immunoblot és qPCR módszerrel kísértük figyelemmel HEK293T és HepG2 sejtvonalakon a zsírsavak hatásait az endogén, illetve a transziensen transzfektált SCD1 mennyiségére. A négy leggyakoribb promóter variánst irányított mutagenézissel hoztuk létre a pGL3-SCD1 riportter konstrukcióban. A polimorfizmusok transzkripció faktor kötőhelyekre gyakorolt hatását *in silico* a JASPAR program segítségével, *in vitro* luciferáz riportter rendszerben vizsgáltuk.

Kimutattuk, hogy az SCD1 expressziója mind fehérje, mind mRNS szinten szignifikánsan növekszik elaidát hatására vakcenáthoz képest – ezt a hatást luciferáz riportter rendszerben is igazoltuk. Bár a négy polimorfizmus önmagában nem befolyásolta az SCD1 promóter aktivitását, az rs1054411 fokozta azt zsírsavak jelenlétében, különösen vakcenát és elaidát esetén. *In silico* elemzéseink alapján a polimorfizmus minor alléljének jelenlétében az ETS1 transzkripció faktor kötődése az SCD1 promóterhez 20%-kal csökken. A különböző alléleket tartalmazó SCD1 promóter konstrukciókkal és ETS1 expressziós vektorral végzett kotranszfekció megerősítette az ETS1 csökkent affinitását az rs1054411\_G allélvariánshoz.

Eredményeinkből arra következtetünk, hogy az rs1054411 polimorfizmus befolyásolhatja az SCD1 védő szerepét azáltal, hogy módosítja expresszióját az ETS1 transzkripció faktor promóterhez való affinitásán keresztül.

Munkánkat az NKFIH FK138115 pályázat segítette.

SCD1: sztearil-KoA deszaturáz-1

P62

## TERMÉSZETES ÉS PATOLÓGIÁS TRPM2 IONCSATORNA VARIÁNSOK MOLEKULÁRIS JELLEMZÉSE

Tóth Ádám Viktor<sup>1</sup>, Bartók Ádám<sup>1</sup>, Csanády László<sup>1</sup><sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Budapest*

A TRPM2 ioncsatorna egy hőmérséklet érzékeny, Ca<sup>2+</sup>-permeábilis, nem szelektív kationcsatorna, mely nagyfokú expressziót mutat a központi idegrendszer egyes sejtjeiben, csontvelőben, immunsejtokban és a hasnyálmirigy  $\beta$ -sejtjeiben. A csatorna aktivációjához intracelluláris ADPR és Ca<sup>2+</sup>-ionok, továbbá PIP2 együttes jelenléte szükséges. A TRPM2 ioncsatornán keresztül jelentős Ca<sup>2+</sup>-influx valósulhat meg, mely fontos fiziológiás és patológias funkcióban játszik szerepet, pl.: testhőmérséklet szabályozása, citokintermelés, migráció, oxidatív stresszválasz, gyulladás vagy irányított sejthalál. A TRPM2 élettani fontosságát növeli, hogy bizonyos pontmutációi szoros genetikai kapcsoltságot mutatnak bipoláris zavarral (D543E, R755C), míg más mutációt amiotrófiás laterálszklerózisban és Parkinson-demenciában azonosítottak (P1018L). Érdekes módon egészséges neutrofil granulocitákból ( $\Delta$ C-TRPM2) és a striatumból (SSF-TRPM2) olyan alternatív hasítási termékeket is izoláltak, melyek feltételezhetően sejtspecifikusan módosítják a csatorna ligandum-specifitását és működését.

Az említett variánsokat eddig csak fluoreszcens képalkotó technikákkal vagy teljes-sejt elektrofiziológiai módszerekkel vizsgálták, ami limitált lehetőségeket biztosít az intracelluláris oldalon ható ligandumok szerepének tanulmányozására. Célunk a felsorolt ioncsatorna-variánsok működésének molekuláris szintű feltérképezése. A TRPM2-variánsokat tranziens, vagy stabil transzfekcióval fejezzük ki HEK sejtekben, majd a funkcionális méréseket sejt-mentes környezetben, az elektrofiziológia inside-out patch konfigurációjában végezzük, mely lehetővé teszi mikro- és makroszkópikus áramok rögzítését és az intracelluláris ligandumok gyors és hatékony cseréjét. Módszerünkkel lehetőség nyílik feltérképezni az egyes csatorna-variánsok ADPR- és Ca<sup>2+</sup>-érzékenységet, egyedi csatorna kapuzási paramétereit, inaktivációs kinetikáját és hőmérséklet függését. Ezen ismeretek elengedhetetlenek a mutánsok patomechanizmusban betöltött szerepének részletes megismerésében, illetve a szövet-specifikus variánsok működésének megértésében.

Rövidítések: TRPM2 (tranziens receptor potenciál melasztatin 2 ioncsatorna), ADPR (adenozin-difoszfát-ribóz), PIP2 (foszfatidilinozitol-4,5-biszfoszfát)

P63

## A TRPM2 CSATORNA N-TERMINÁLIS DOMÉNJÉNEK SZEREPE A CSATORNA KAPUZÁSÁBAN

Tóth Balázs<sup>1</sup>, Csanády László<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Semmelweis Egyetem, Biokémiai Tanszék, Budapest*

A TRPM2 egy nem szelektív kation csatorna, melyet intracelluláris ADPR és  $\text{Ca}^{2+}$  aktivál. Fiziológias körülmények között részt vesz a testhőmérséklet és az inzulin szekréció szabályozásában és az immunsejtek aktiválásában. Patológias körülmények között szerepe lehet az ischémiás-reperfúziós károsodásban és egyes neurodegeneratív kórképekben.

Az elmúlt évek során számos krio-elektronmikroszkópos TRPM2 szerkezetet közöltek. A különböző szerkezetekben az ADPR kötésért felelős N-terminális domén eltérő pozíciókban látható, ami megfelelhet a csatorna nyitott vagy csukott állapotában elfoglalt helyzetének. Kutatásunk célja annak vizsgálata, hogy ez az átrendeződés ténylegesen szerepet játszik-e a csatorna kapuzásában. Ehhez olyan aminosav párokat választottunk ki, amelyek egyes szerkezetekben egymás közelében vannak, viszont más szerkezetekben távol kerülnek egymástól. Ha a párokat ciszteinre cseréljük, akkor oxidatív környezetben ( $\text{H}_2\text{O}_2$  jelenlétében) keresztköthetjük őket, így rögzítve a távolságukat a kapuzás során, ezzel stabilizálva a nyitott vagy a zárt állapotot. Előbbi az aktivitás növekedését, utóbbi az aktivitás csökkenését eredményezheti. A hatás reverzibilis, magas koncentrációjú DTT alkalmazásával a keresztkötés felszakítható és az eredeti aktivitás visszaállítható.

Méréseink során három ilyen párt vizsgáltunk meg, amelyek igazolták az N-terminális domén átrendeződésének jelentőségét a csatorna kapuzása során.

TRPM – Tranziens Receptor Potenciál, Melastatin alcsalád

ADPR – Adenozin-difoszfo ribóz

$\text{Ca}^{2+}$  - Kalcium

$\text{H}_2\text{O}_2$  - Hidrogén-peroxid

DTT - Dithiothreitol

## A TITIN ÓRIÁSFEHÉRJE A-SZAKASZÁNAK ADAPTÍV VÁLTOZÁSAI A HUMÁN SZÍVIZOM SZARKOMERBEN

**Török György<sup>1</sup>**, Iliza Ramazanova<sup>1</sup>, Péter Dániel<sup>1</sup>, Jámbor András<sup>1</sup>, Kellermayer Dalma, Şulea Cristina M.<sup>1,2</sup>, Szabolcs Zoltán<sup>2</sup>, Kellermayer Miklós S. Z.<sup>1</sup>, Kiss Balázs<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Semmelweis Egyetem, Budapest*

<sup>2</sup>*Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest*

A legnagyobb ismert fehérje a titin, amely a szív- és vázizmok kontraktilis egységeinek, a szarkomernek a Z-lemezétől egészen annak közepéig, az M-csíkig nyúlik, miközben a vékony-, illetve a vastag filamentumokkal kapcsolódik a szarkomer I- és A-szakaszában. A titin A-szakaszbeli régiójának szerepe még kevésbé feltárt, azonban ismert, hogy nagyságrendekkel kisebb a nyújthatósága, mint a molekula I-szakaszbeli régiójának. A titin A-szakaszát érintő heterozigóta trunkációs mutációk (TTNtv) gyakran társulnak dilatatív kardiomiopátiával (DCM). A Marfan-szindróma (MFS), egy kötőszöveti rendellenesség, amelyet a fibrillin fehérje mutációi okoznak, gyakran jár együtt a szívizom összehúzódási képességének károsodásával, de ennek pontos patomechanizmusa még felderítetlen.

Jelen munkában STED szuperfelbontású mikroszkópiát végeztünk heterozigóta TTNtv mutációt hordozó, vagy MFS-betegekből származó, membránjuktól megfosztott, nyújtott és fixált humán szívizomrost metszeteken. Kontrollként ismert patogén mutációt nem hordozó DCM szívizomrostokat használtunk. A titin különböző szakaszait szekvenancia-specifikus anti-titin antitestekkel jelöltük a vastag filamentumok végeinél (MIR), illetve a molekula M-csík régiójában, a titin kináznál (A170). Az utóbbi epitóp a TTNtv+ variánsok csonkolt titinjéből hiányzik.

A szarkomereket nyújtva vizsgáltuk a titin epitópok elhelyezkedésének, alakjának és intenzitásának változását. Elsőként igazoltuk, hogy a csonkolt fehérje is beépül a szívizom szarkomerbe. Emellett a TTNtv+ szarkomerek I/A-átmenetében és M-csíkjában szerkezeti hibákat azonosítottunk. Feltételezésünk szerint a trunkált titin nem képes pontosan regisztrálni a vastag filamentum végeit, így a vékony és a vastag filamentumok átlapolása nem tökéletes, ez pedig végső soron DCM-hez vezethet. A Marfan-szindrómás szarkomerekben az A170 titin epitóp kifejezett, ~30 nm-es eltolódást mutat az M-csíktól, ami arra utal, hogy az M-csík ultrastruktúrájának változásai fontos kóroki szerepet játszhatnak az MFS-ben szenvedő betegek szívizom-károsodásában.

DCM: dilatatív kardiomiopátia; TTNtv: titin gén trunkációs variánsai, MFS: Marfan-szindróma; STED: stimulált emisszió-depléciós mikroszkópia

## LIPIDMETABOLIKUS VÁLTOZÁSOK A TUMORAGRESSZIVITÁS HÁTTERÉBEN

**Varga-Zsíros Vanda**<sup>1,2</sup>, Migh Ede<sup>1</sup>, Marton Annamária<sup>1</sup>, Kóta Zoltán<sup>3</sup>,  
Vizler Csaba<sup>1</sup>, Tiszlavicz László<sup>4</sup>, Horváth Péter<sup>1</sup>, Török Zsolt<sup>1</sup>, Vígh  
László<sup>1</sup>, Péter Mária<sup>1</sup>, Balogh Gábor<sup>1</sup>

P65

<sup>1</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Szeged

<sup>2</sup>Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Kar,  
Biológia Doktori Iskola, Szeged

<sup>3</sup>Single Cell Omics Advanced Core Facility, Hungarian Centre of Excellence  
for Molecular Medicine, Szeged

<sup>4</sup>Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Szent-Györgyi  
Albert Klinikai központ, Pathológiai Intézet, Szeged

A lipidek számos biológiai folyamat kulcsszereplői: membránalkotók, energiatárolók, jelátviteli molekulák. A lipidanyagcsere-zavarok több betegséggel, mint például a 2-es típusú cukorbetegséggel vagy rosszindulatú daganatok kialakulásával hozhatók összefüggésbe. A rákos sejtek egyik fő jellemzője, hogy újraaktiválják de novo lipidszintézisüket annak érdekében, hogy biztosítsák a sejtek proliferációjához, migrációjához, inváziójához szükséges mennyiségű és minőségű lipidet.

A tumor és sztrómasejtek közötti lipidmetabolikus kommunikáció befolyásolja a tumorok agresszivitását és áttétképző hajlamát. Ezek vizsgálatához és megértéséhez kifejlesztettünk egy lézerdisszekcióval kapcsolt, nagy térbeli felbontást biztosító (~80 um) kvantitatív lipidomikai módszert.

Agresszív egér emlőtumor sejtekből (4T1) növesztett szferoidokon végzett méréseink számos lipid esetén jelentős radiális gradienst mutattak, mint például a szfingomielin, a lizolipidek, vagy a kívülről felvett többszörösen telítetlen és a sejt által szintetizált egyszeresen telítetlen lipidek. Ez kapcsolatban lehet a tápanyagok, illetve az oxigén limitált diffúziójával.

Különösen érdekes, hogy bizonyos éterlipidek mennyisége jelentősen megnövekedett a szferoid belsejében. 4T1 egér allograft modellek vizsgálata során szintén nagy mértékű éterlipid dúsulást detektáltunk a nekrotikus régiók környezetében. Ez a megfigyelés összhangban van azzal az irodalmi adattal, hogy nem a tumor, hanem a nekrotikus mag mérete mutat szoros korrelációt az inváziós és metasztatikus potenciállal. Kevésbé agresszív humán emlőtumor sejtekből (MCF7) készült szferoidokban az éterlipid szintet rendkívül alacsonynak találtuk. Ugyanakkor ismert, hogy az éterlipid-szintézis indukciója ezekben a sejtekben szignifikánsan növeli a túlélést, proliferációt és migrációt, egér allograft modellben pedig a tumor növekedését.

Folyamatban lévő kutatásaink célja, hogy a lézerdisszekciós minták multiomikai analízisével (RNA seq, proteomika) feltárjuk a lipidmetabolikus mintázatváltozások és a tumorfejlődés komplex összefüggéseit

## A KEMOTERÁPIA TUMOR REZISZTENCIÁRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI MÓDSZEREKKEL

**Diána Vári-Mező**<sup>1,5</sup>, Balázs Vári<sup>1,5</sup>, Atakan Nalbant Alba<sup>6</sup>, Tibor Vaszkó<sup>2</sup>, Matthias Trost<sup>6</sup>, Gábor Mező<sup>3,4</sup>, József Tóvári<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*National Institute of Oncology, Department of Experimental Pharmacology and the National Tumor Biology Laboratory, Budapest, Hungary*

<sup>2</sup>*National Institute of Oncology, Department of Pathogenetics, Budapest, Hungary*

<sup>3</sup>*Eötvös Loránd Research Network, Research Group of Peptide Chemistry, Budapest, Hungary*

<sup>4</sup>*Eötvös Loránd University, Faculty of Science, Institute of Chemistry, Budapest, Hungary*

<sup>5</sup>*Semmelweis University, School of Ph.D. Studies, Budapest, Hungary*

<sup>6</sup>*Newcastle University, Faculty of Medical Sciences, Newcastle, United Kingdom*

A tumorsejtek egyik közös jellemzője a kontrollálhatatlan növekedés és a test más részeire való átterjedés képessége. Az egyes tumoros betegek vizsgálatakor azonban döntő különbségek figyelhetők meg. Ezek az eltérések a tumorsejtek, rosszindulatú daganatokon belüli heterogenitásából erednek, ami a daganatoknak hatalmas előnyt biztosít a terápiákkal szemben. Annak ellenére, hogy a célzott terápia és a személyre szabott orvoslás a tumorterápia egyre növekvő területe, jelenleg a három leggyakoribb kezelési mód a sebészi beavatkozás, a kemoterápia és a sugárterápia. A kemoterápiás kezelések, amelyek kezdetben a betegek nagy részénél hatékonyan működnek, nem mindig biztosítanak hosszú távú gyógyulást, ugyanis a daganatok rezisztencia mechanizmusokat fejlesztenek ki ellenük. A legújabb bizonyítékok azt mutatják, hogy a tumor összejtek vagy "tumoriniciáló sejtek" jelenléte elsődleges forrása lehet a rák relapszusának. Ráadásul a tumorsejtek eltérő anyagcserével, mutációs terheléssel és a tumorkörnyezettől való függőséggel rendelkezhetnek, így a terápiákra adott válaszuk jelentősen eltérhet. Feltételezésünk szerint a kemoterápia bizonyos szakaszában a tumorméret illetve a tumorsejtek heterogenitása jelentősen csökken, és a rezisztens, illetve tumoröszejtek száma meglehetősen magas a kemoterápiára érzékeny sejtekhez viszonyítva. Ezek a sejtek a tumor relapszusa során újra benépesítik a környezetet. Ennek eredményeként egy új, heterogén, de az eredeti kezeléssel szemben ellenállóbb tumor alakul ki.

A projekt során egér melanoma xenograft modelleket kezeltünk kemoterápiás szerekkel, paclitaxellel, dakarbazinnal és vemurafenibbal. A kezelés után a tumorokat eltávolítottuk, és az RNS- és fehérjeszint molekuláris változásait RNS-szekvenálással és proteomikával vizsgáltuk. Eredményeink az mutatják, hogy a vizsgált gyógyszerek RNS-szinten a különböző útvonalakon eltérő expressziós profilokat okoznak a kontroll kezeléshez képest.



P67

## TRANSPORTEREK EXPRESSZIÓJÁNAK VIZSGÁLATA HUMÁN VESEKARCINÓMÁBAN

**Vass Anna<sup>1</sup>**, Szabó Zsuzsanna<sup>1</sup>, Király József<sup>1</sup>, Fodor Petra<sup>1</sup>, Steli Ákos<sup>1</sup>, Szabó Erzsébet<sup>3</sup>, Szegedi Krisztián<sup>2</sup>, Halmos Gábor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Biofarmácia Tanszék,*

<sup>2</sup>*Debreceni Egyetem, Klinikai Központ, Urológiai Klinika,*

<sup>3</sup>*Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerhatástani Tanszék*

A veserák diagnosztizálása és kezelése napjainkban is világszerte komoly problémát okoz. A betegség rossz prognózisú és nehezen kezelhető, terápiája napjainkban egyre nagyobb kihívást jelent. A helyzetet tovább súlyosbítja a tumorsejteknek a különböző daganatellenes szerekkel szemben fellépő rezisztenciája is, így az ezen folyamatok hátterében álló molekuláris mechanizmusok tanulmányozására irányuló kutatások igen nagy jelentőséggel bírnak.

Munkánk során célul tűztük ki a vesetumorokban szerepet játszó transzporterek expressziójának vizsgálatát humán vesetumoros mintákban. A DE KK Urológiai Klinikáról származó szövetminta-párokból (11ép/tumoros) a Macherey-Nagel kit segítségével totál RNS-t izoláltunk, melyből PCR technika segítségével cDNS került átírásra. Az irodalmi adatok alapján kiválasztott multidrogt (ABCC6, ABCB1, ABCB5), polispecifikus efflux (BCRP1), gyógyszer-szállító (OCT4) és a kalcium szállítását indukáló (NANOG) transzporter gének expresszióját qRT-PCR segítségével vizsgáltuk.

Az összesített eredmények alapján a kiválasztott transzporter gének expressziójában jelentős növekedés volt tapasztalható a tumoros szövetmintákban, az ép mintákhoz hasonlítva. Az eredmények mintánként történő vizsgálata alapján azonban elmondható, hogy főként a BCRP1, az ABCC6, illetve az ABCB5 transzporterek esetén láthatóak szignifikáns eltérések a tumoros-ép mintapárokat összehasonlítva.

A vizsgált transzporter génekben életkori, nemi különbségek is mutatkoztak, mely a betegség klinikai státuszával is összefüggést mutatott. Ezen transzporterek alapvető expressziós szintjei különbségeket okoznak a gyógyszerek biológiai hozzáférhetőségében, eloszlásában és clearance-ében, befolyásolva a gyógyszer hatékonyságát és a mellékhatásokat. Mindezeket figyelembe véve úgy gondoljuk, hogy eredményeink hozzájárulnak majd a vesetumorok terápiájában alkalmazott farmakokinetikai eltérések, gyógyszerhatékonyság és -toxicitás egyedi különbségeinek felméréséhez és megértéséhez egyaránt.

**Kutatási támogatás:** TKP2021-EGA-20 (HG) és GINOP-2.3.2.-15-2016-00043 (HG)

EGY ÚJ VÉR-AGY GÁT AGYI ORGANOID MODELL  
MORFOLÓGIAI ÉS FUNKCIONÁLIS JELLEMZÉSE**Vigh Judit P.**<sup>1,2</sup>, Kocsis Anna<sup>1</sup>, Bolognin Silvia<sup>3</sup>, Schwamborn Jens C<sup>3</sup>,Kincses András<sup>1</sup>, Dér András<sup>1</sup>, Deli Mária A.<sup>1</sup>, Walter Fruzsina R.<sup>1</sup><sup>1</sup>Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Szeged<sup>2</sup>Biológia Doktori Iskola, Szegedi Tudományegyetem, Szeged<sup>3</sup>Luxembourg Centre for Systems Biomedicine, University of Luxembourg, Belvaux, Luxembourg

A vér-agy gát (BBB) funkcionális alapját az agyi endotélsejtek és a köztük húzódnak szoros kapcsolatok alkotják, ez az agy egyik legfontosabb védelmezője. A BBB modellek esetében többnyire periciták és asztrociták képviselik az agyi kompartmentet. Az indukált pluripotens őssejt (iPSC) alapú technológia, olyan humán agyi szferoidokat és organoidokat eredményezett, amelyek a központi idegrendszer egyszerűsített 3D-s modelljét biztosítják, beleértve a különböző típusú idegsejteket. Emellett a mikrofluidikai chip eszközök használata lehetővé teszi a BBB még összetettebb modellezését.

Célunk volt (1) megvizsgálni a humán BBB-modell és a középagyi organoidok közötti kölcsönhatást statikus elrendezés segítségével. Illetve (2) a csoportunkban használt mikrofluidikai chip eszközt tovább fejleszteni a BBB-sejtek és agyi organoidok együttes tenyésztésére morfológiai és funkcionális kísérletekhez.

Humán endotélsejteket és agyi pericitákat együtt tenyésztettünk a humán BBB modellel létrehozásához. Az agyi organoidokat egészséges és a Parkinson-kórban szenvedő betegek iPSC-sejtjeiből hozták létre együttműködő partnereink. A gát integritásának vizsgálatára transzendenteliális elektromos ellenállást (TEER), permeabilitás mérést és a szoros kapcsolatok immunfestését végeztünk.

Az agyi organoidok jelenléte (2 napos együtt tenyésztés) nem befolyásolta a humán BBB modell gát integritását – TEER, permeabilitás és Claudin-5 immunfestés – statikus körülmények között. Sikeresen integráltuk az agyi organoidokat a biochipbe. Morfológiailag jellemeztük mind a BBB modellt, mind az agyi organoidok ideg- és glia sejtjeit immunfestéssel.

Létrehoztunk egy jó gát integritással rendelkező BBB-agyi organoid modellt, mely alkalmas nanorészecskék vér-agy gáton való átjutásának és agyi organoidba történő bejutásának vizsgálatára. Az agyi organoidok mikrofluidikai chip eszközbe történő integrálásával létrehoztunk egy összetett organ-on-a-chip rendszert, mely alkalmas további nanorészecske és gyógyszerhatóanyag átjutási kísérletekhez.

Rövidítések: BBB: vér-agy gát, iPSC: indukált pluripotens őssejt, TEER: transzendenteliális elektromos ellenállást

P69

## MEMBRÁN CERAMIDOK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A Kv1.3 IONCSATORNA PARKINSON-KÓRRA JELLEMZŐ KÓROS FOSZFORILÁCIÓJÁBAN MIKROGLIA SEJTEKBE

**Zákány Florina<sup>1</sup>**, Kovács Tamás<sup>1</sup>, Székelyhidi Virág Enikő<sup>1</sup>, Cs. Szabó Bence<sup>1</sup>, Kothalawala Rosemary<sup>1</sup>, Szabó Máté<sup>1</sup>, Kurtán Kitti<sup>1</sup>, Vigh Barbara<sup>1</sup>, Nagy Péter<sup>1</sup>, Varga Zoltán<sup>1</sup>, Panyi György<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen*

A Parkinson-kór jellegzetessége a dopaminerg neuronok szelektív pusztulása, amelyben fontos a mikrogliai kóros, Kv1.3 túlműködésével összefüggő aktivációja, ezáltal a csatorna szelektív gátlása új terápiás utat jelenthet. A Kv1.3 foszforilációjáért felelős Fyn kináz a betegség fontos rizikófaktora. A Parkinson-kórra jellemző a membrán ceramid (Cer) tartalmának növekedése. A sejtmembránban sajátos szignalizációs mikrokörnyezetet biztosító mikrodomének a koleszterinben és glükozilceramidban (GCer) gazdag lipidtutajok mellett a Cer által képzett platformok. Azt, hogy Parkinson-kórban a membrán Cer tartalmának növekedése a Cer platformokon keresztül hozzájárulhat-e a Kv1.3 megnövekedett foszforilációjához (pKv1.3) korábban nem vizsgálták.

Kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy a membrán Cer (töltés, LPS kezelés) és GCer (töltés) szintjét növelő kezelések hatására hogyan változik a Kv1.3 és pKv1.3 szintje és membrán mikrodomének közti laterális megoszlása egér mikroglia sejtvonalon.

Konfokális mikroszkópiával kimutattuk, hogy míg a GCer töltés esetén a Kv1.3-lipituj kolokalizáció nő, addig a Cer szintet emelő kezelések (Cer töltés, LPS) hatására a csatorna-Cer platform kolokalizáció növekedett. Áramlási citometriás mérések alapján a Cer töltés és LPS hatására megnőtt a pKv1.3 mennyisége, ami együtt járt a pKv1.3-Cer platform kolokalizáció növekedésével, míg a pKv1.3-lipidutaj kolokalizáció nem változott. Jelenleg azt vizsgáljuk, hogy az LPS által kiváltott hatások kivédhetők-e a Cer szint növekedésének egyidejű megakadályozásával a szerin-palmitoil-transzferáz, savas vagy neutrális szfingomielináz enzimek gátlása révén.

Kimutattuk, hogy mikroglia sejtekben a sejtmembrán Cer szintjének növekedése a Kv1.3 megnövekedett foszforilációjával jár, a pKv1.3 pedig a Cer platformokban dúsul, így eredményeink a Parkinson-kórban megnövekedett Cer szint és a pKv1.3 szint közti direkt kapcsolatra utalhatnak.

ÚNKP-22-4-II-DE-69, ÚNKP-22-2-I-DE-134, ÚNKP-22-3-I-DE-302, ÚNKP-22-3-I-DE-243, OTKA FK143400

Cer:ceramid, GCer:glükozilceramid, LPS:lipopoliszacharid, pKv1.3:foszforilált Kv1.3





# Fedezze fel az élet alkotóelemeit!



## A konfokális mikroszkópia új szintje

Tudományos kérdéseink megválaszolásához a lehető legjobb adatokra van szükség a lehető legrövidebb expozíciós idő mellett. Ezt biztosítja a ZEISS LSM 900 kompakt konfokális mikroszkópja, minden részletében optimalizálva a legjobb képi eredmények eléréséhez. Az innovatív LSM Plus konfokális technológiával kiegészülve egyedülálló módon javítja minden többszörös és élősejtes képalkotás minőségét. Növelje a felbontást és a képminőséget kiváló érzékenység és lényegesen kevesebb fotobleaching mellett!

Carl Zeiss Technika Kft.  
info.microscopy.hu@zeiss.com  
+36 23 802 800  
www.zeiss.hu/microscopy



Seeing beyond