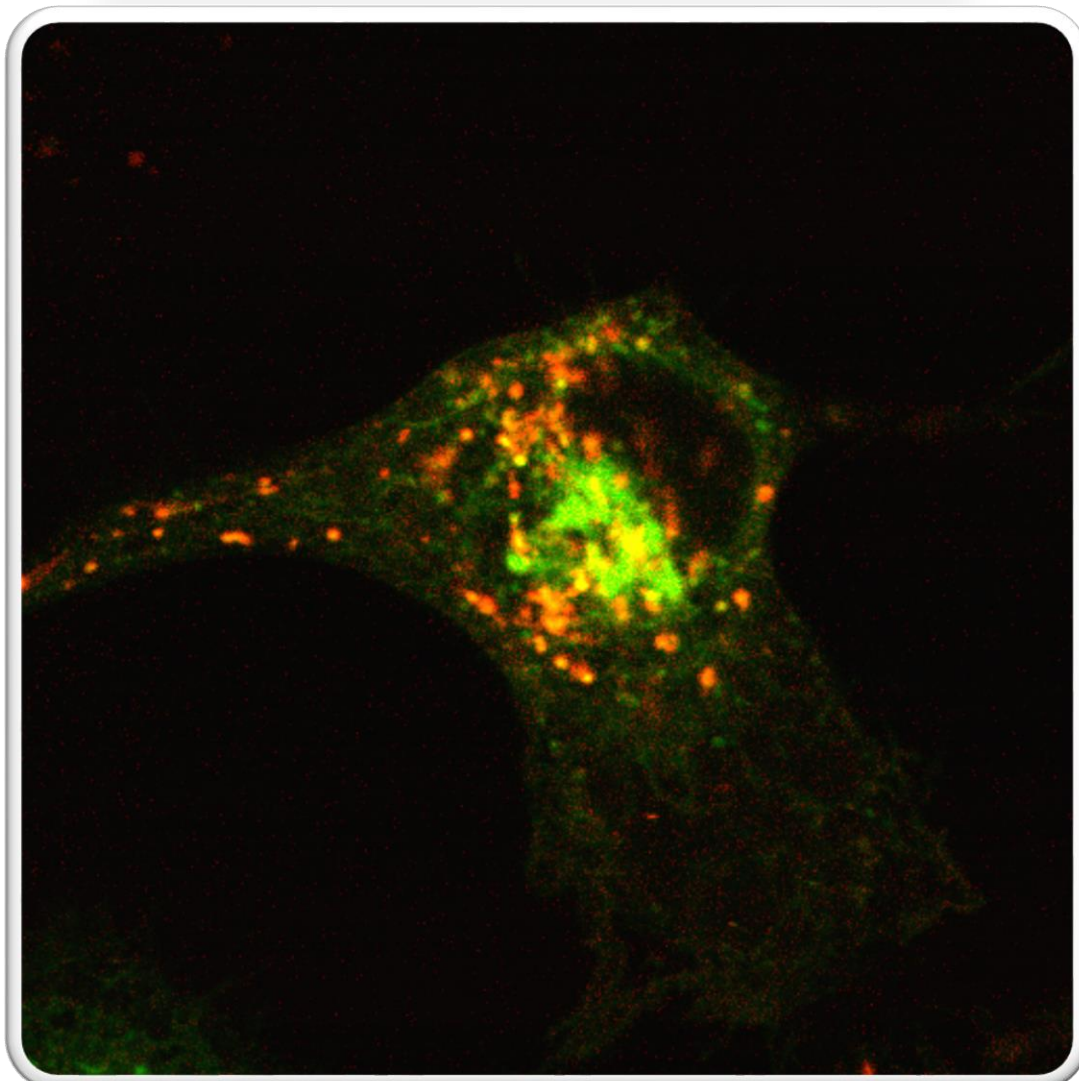




A MAGYAR BIOFIZIKAI TÁRSASÁG
XXVII. KONGRESSZUSA



DEBRECENI
EGYETEM

2019. augusztus 26 – 29.

Debrecen

Debreceni Egyetem

Élettudományi Központ

TÁMOGATÓK



Magyar Biofizikai Társaság



Debreceni Egyetem



Biocenter Kft.



Bio-Kasztel Kft.



Bio-Science Kft.



Biotech Hungary Kft.



Central European Biosystems



Femtonics Kft.



FRLab (Francelab SAS)



*Greiner Bio-One
Hungary Kft.*



Laborinte Kft.



*Merck Kft./
Sigma-Aldrich*



Per-Form Hungária Kft.



RK Tech Kft.



SoftFlow Kft.



*UNICAM
Magyarország Kft.*



VWR International Kft.



Zeiss Magyarország



Zenon Bio Kft.

A MAGYAR BIOFIZIKAI TÁRSASÁG XXVII. KONGRESSZUSA

DEBRECEN - 2019. AUGUSZTUS 26-29.

TUDOMÁNYOS BIZOTTSÁG

MÁTYUS LÁSZLÓ, ELNÖK (DE)

AZ MBFT SZEKCIÓK ELNÖKEI

BÓTA ATTILA (MTA TTK)
CSIGE ISTVÁN (MTA ATOMKI)
HARMAT GYÖRGY
NAGY PÉTER (DE)
PANYI GYÖRGY (DE)
SÁFRÁNY GÉZA (OSSKI)
SMELLER LÁSZLÓ (SOTE)
SOLYMOSI KATALIN (ELTE)
VOZÁRY ESZTER (SZIE)

FELKÉRT SZEKCIÓSZERVEZŐK

CSÍK GABRIELLA (SE)
DERÉNYI IMRE (ELTE)
DOSZTÁNYI ZSUZSANNA (ELTE)
HORVÁTH PÉTER (MTA SZBK)
KELLERMAYER MIKLÓS (SE)
KRIZBAI ISTVÁN (MTA SZBK)
LUKÁCS ANDRÁS (PTE)
VARGA ZOLTÁN (DE)
VÁMOSI GYÖRGY (DE)
VEREB GYÖRGY (DE)
VONDERVISZT FERENC (PE)
ZÁVODSZKY PÉTER (MTA TTK)
ZIMÁNYI LÁSZLÓ (MTA SZBK)

SZERVEZŐBIZOTTSÁG

PANYI GYÖRGY, ELNÖK (DE)
NYITRAI MIKLÓS (PTE)
PUSZTAI NÉ HOLCZER MAGDOLNA (MBFT)
VARGA ZOLTÁN (DE)
GRAMA LÁSZLÓ (WEB, PTE)
SZÁNTÓ G. TIBOR (DE)
PÁLFI ÉVA (DE)
MAGYAR JUDIT (DE)
SZABÓ-SZENTESI NIKOLETT (DE)

KÖSZÖNTŐ

Kedves Kollégák, kedves Barátaink! Köszöntjük a Magyar Biofizikai Társaság XXVII. kongresszusának résztvevőit! 2005. után látogat újra Debrecenbe, az Debreceni Egyetem Élettudományi Központjába, a Magyar Biofizikai Társaság kétévenként, más-más helyszínen megrendezett kongresszusa.

Az idei kongresszus, a hagyományokhoz híven ismét „megmozgatta” a magyar biofizikus és a biofizika után érdeklődő tudományos közösséget. Nyolc szekcióban 47 előadás hangzik el a nagyelőadóban, és 57 poszter tölti meg az előcsarnokot, ahol szép számmal vonulnak fel kiállító támogatóink is. A szekciók előadóit, közöttük számos fiatal biofizikust, a benyújtott összefoglalók alapján a Tudományos Bizottság választotta ki.

A kongresszus meghívott plenáris előadója Hannes Stockinger, aki ultraszenzitív mikroszkópiával vizsgálja a T sejtek antigén felismerésével együtt járó molekuláris átrendeződéseket a sejtmembránban. Ezzel vezeti be a konferencia egyik különlegességét: a Damjanovich Sándor Sejtanalitikai Szolgáltató Labor (DSZL) ünnepélyes megnyitóját. Damjanovich Professzor Úr a magyar biofizika emblematis professzora volt, a Biofizikai Intézet megalapítója Debrecenben, és számos sejtanalitikai technika úttörő bevezetője Magyarországon. Többek között az első áramlási citométer is az általa alapított intézetben működött. Damjanovich Professzor Úr emlékére neveztük el a megújult, önálló menedzsmenttel rendelkező szolgáltató labort. Ennek méltó megünneplése lesz a megnyitó.

Hagyományainknak megfelelően a kongresszus ünnepélyes megnyitóján vehetik az Ernst Jenő Alapítvány díjait a kuratórium által kiválasztott kutatók, akik előadásban ismertethetik tudományos eredményeiket.

A nagyon színvonalasnak ígérkező tudományos program mellett igyekszünk vendégeink debreceni tartózkodását még kellemesebbé tenni a Munkácsy- trilógia megtekintésével, és a Debreceni Egyetem Főépületének Aulájában megtartandó gálavacsorával.

Szeretettel várjuk a biofizika és határterületei kutatóit, művelőit és a biofizika tudományával ismerkedő hallgatókat 2019. augusztus 26-29 között Debrecenben!

Mátyus László
az MBFT Elnöke

Panyi György
a Szervezőbizottság elnöke

INFORMÁCIÓK

Helyszín – A konferencia helyszíne a Debreceni Egyetem Élettudományi Központ (ÉTK) – Egyetem tér 1. Debrecen, 4032 (A DE Főépülete mögötti, a Botanikus kert előtti üveg/beton épület). Az **augusztus 26-i** fogadás helyszíne a DE ÉTK Aulája, (Egyetem tér 1. Debrecen, 4032). Az **augusztus 28-i** kulturális program helyszíne a Déri Múzeum (Déri tér 1, Debrecen, 4026). Az augusztus 28-i gálavacsora helyszíne a DE Főépületének Aulája (Egyetem tér 1, Debrecen, 4032). Térképek a programfüzet utolsó oldalán találhatók.

Előadások – A programban jelzett időtartamok a vitát is tartalmazzák. Az előadóteremben kivetítő, illetve egy PC (Powerpoint programmal) áll az előadók rendelkezésére, melyre az előadások USB pendrive-ról átmásolhatók. Saját laptopról is lehet vetíteni (HDMI és VGA csatlakozón keresztül).

Poszterszekciók – A poszterek a kongresszus teljes ideje alatt kifüggeszthetők, azonban a poszterek készítői két poszterszekció keretében mutathatják be eredményeiket az érdeklődőknek. Kérjük, hogy az I. Poszterszekció (augusztus 27., 17:00 - 19:00 óra) ideje alatt a P1-P31 azonosítószámú, a II. Poszterszekció (augusztus 28., 13:30 - 15:30 óra) alatt pedig a P32-P57 azonosítószámú poszterek készítői legyenek a poszterek mellett.

Étkezés – A regisztráció ebédet tartalmaz a 2019. augusztus 27-29. közötti időtartamra (kedd-csütörtök között). Az **ebéd** helyszíne az ÉTK épülete mellett található Nagyerdei Étterem, ahol menüválasztásos étkezésre van lehetőség. A menüválasztás magába foglal egy kis adag levest, egy egész adag főételt, 10 dkg savanyúságot vagy 1 szelet süteményt (főételtől függően). Ebédelni a regisztrációkor kapott ebédjegyek leadásával lehetséges.

2019. augusztus 26-án este a **nyitó fogadás** az ÉTK Aulájában, míg a 2019. augusztus 28-i **gálavacsora** a Debreceni Egyetem Főépületének Aulájában kerül megrendezésre. A részvételhez a névtáblákat a helyszínen fel kell mutatni. 2019. augusztus 27-én a vacsora egyénileg történik. A **kávészünetek**ben teasütemény, kávé, szénsavas és szénsavmentes üdítő, ásványvíz fogyasztható.

Társasági programok – Augusztus 28-án a **Déri Múzeumot** látogatjuk meg. A Déri Múzeum megközelíthető az 1-es villamossal az Egyetem megállóhelytől a Kálvin tér megállóhelyig (5. megálló). A villamos 16-18 óra között 8 percenként közlekedik, a menetidő 10 perc a Kálvin tér megállóhelyig. A Kálvin tértől a Déri Múzeum 5 perces sétával közelíthető meg. A Déri Múzeumban zenekísérettel egybekötött fényjáték keretében tekinthetik meg a Munkácsy- trilógia kiállítását. A turnust 3 részletben lehet megtekinteni, a terem egyszerre 50 fő befogadására képes. A turnusok 16:30, 17:00, 17:30 időponttal indulnak. Az utazáshoz szükséges villamos jegyeket (személyenként 2 db) regisztrációkor vehetik át.

Közlekedés – Az Egyetem a belvárosból az 1-es villamossal érhető el, az Egyetem nevű megállónál kell leszállni. Az Élettudományi Épület egy új, szürke, beton és üveg épület, mely a Főépület mögött található.

Wifi kapcsolat – A Kongresszus ideje alatt a DE ÉTK-ban elérhető az **Eduroam** wifi hálózata. Ezenkívül a konferencia résztvevői a **vendég wifi** hálózatot használhatják, a hálózat neve és a jelszó az előadóteremben elérhető lesz.

ÁTTEKINTŐ PROGRAM

2019. AUGUSZTUS 26., HÉTFŐ

14:00 - 18:00	Regisztráció
15:30-16:00	Sajtótájékoztató (Zártkörű, Kenézy villa)
16:30-17:30	Ünnepélyes megnyitó és Ernst-díjasok előadásai
17:30-17:40	Szünet
17:40-18:40	Plenáris ülés
18:40 - 19:00	Damjanovich Sándor sejtanalitikai szolgáltató laboratórium bemutatása és ünnepélyes megnyitása
19.00-	Nyitófogadás

2019. AUGUSZTUS 27., KEDD

08:30 - 10:30	I. szekció	SEJTANALITIKA BIOFIZIKAI MEGKÖZELÍTÉSSEL
10:30 - 11:00	Kávészünet I.	
11:00 - 13:00	II. szekció	MOLEKULÁRIS BIOFIZIKA
13:00 - 14:30	Ebédszünet	
13:00 - 14:30	Az MTA Biofizikai Bizottság, munkaebéd (Zártkörű, Kenézy villa)	
15:00 - 17:00	III. szekció	MEMBRÁNOK, MEMBRÁNFEHÉRJÉK BIOFIZIKÁJA
17:00 - 19.00	I. Poszterszekció (P1-P31)	

2019. AUGUSZTUS 28., SZERDA

08:30 - 10:00	IV. szekció	BIOSZENZORIKA ÉS BIO-NANOTECHNOLÓGIA
10:00 - 10:30	Kávészünet	
10:30 - 12:00	V. szekció	BIOENERGETIKA ÉS FOTOBIOFIZIKA
12:00 - 13:30	Ebédszünet	
12:00 - 13:30	MBFT elnökségi ülés (Zártkörű, Kenézy villa)	
13:30 - 15:30	II. Poszterszekció (P32-P58)	
16:00 - 18:00	Déri Múzeum - fényjátékkal kísért tárlatvezetés a Munkácsy Teremben	
19:00-	Gálavacsora	

2019. AUGUSZTUS 29., CSÜTÖRTÖK

08:30 - 9:40	VI. szekció	ELMÉLETI BIOFIZIKA
9:50 - 11:40	VII. szekció	MODERN BIOFIZIKAI MÓDSZEREK
11:40 - 12:00	Kávészünet	
12:00 - 13:00	VIII. szekció	ORVOSI BIOFIZIKA ÉS SUGÁRBIOLÓGIA
13:00	Záróünnepség, poszterdíjak átadása	
Ebéd		

RÉSZLETES PROGRAM

2019. AUGUSZTUS 26., HÉTFŐ		
14:00 - 18:00	Regisztráció	
15:45-16:15	Sajtótájékoztató (Zártkörű, Kenézy villa)	
16:30-17:30	Ünnepélyes megnyitó és Ernst-díjasok előadásai	
	Elnök:	Mátyus László
	Parveen Akhtar - Excitonic States and Excitation Energy Transfer in Plant Light-Harvesting Complexes in Different Molecular Environments	
	Závodszy Péter - Identification and characterization of an allosteric protein-protein interaction (ROCK2-APP-BACE) in pathological signaling pathways in the brain	
17:30-17:40	Szünet	
17:40 - 18:40	Plenáris ülés	
	Elnök:	Panyi György
	Előadó:	Hannes Stockinger
	Előadás címe:	Ultrasensitive insight into organization and function of immunoreceptors based on prof. Damjanovich's groundbreaking immuno-FRET
18:40 - 19:00	Damjanovich Sándor sejtanalitikai szolgáltató laboratórium bemutatása és ünnepélyes megnyitása	
19:00 -	Nyitófogadás	

2019. AUGUSZTUS 27., KEDD			
08:30 - 10:30	I. szekció	SEJTANALITIKA BIOFIZIKAI MEGKÖZELÍTÉSEL	
	Elnök:	Nagy Péter	Horváth Péter
8:30	Méhes Előd	Tumorsejtek angiogenezisre gyakorolt hatásának vizsgálata, in vitro	E2
8:50	Ungai-Salánki Rita	Egyedi sejtek manipulációja piezoelektromos mikropipettával	E3
9:10	Kovács Kinga Dóra	Élő sejtek jelölésmentes vizsgálata optikai bioszenzorral áramlási térben egyidejűleg létrehozott széles áramlási sebességtartományban	E4
9:25	Rehó Bálint	Magreceptorok mobilitásának és dimerizációjának vizsgálata élő sejtekben SPIM-FCCS és FRET segítségével	E5
9:40	Lina Fadel	Impact of agonist treatment on RXR partner selection	E6
9:55	Kovács Tamás	A dipólpotenciál mérése membránösszetétel-változással járó betegségek membránbiofizikai modellrendszereiben új áramlási citométeres módszerrel	E7
10:10	Rebenku István	A digitális patológia új lehetőségei: multispektrális konfokális fluoreszcenciás képalkotás	E8

10:30 - 11:00 Kávészünet

11:00 - 13:00	II. szekció Elnök:	MOLEKULÁRIS BIOFIZIKA Vámosi György Závodszy Péter	
11:00	Kellermayer Miklós	A titin-miozin kölcsönhatás topológiája	E9
11:25	Papp Ferenc	A feszültség-kapuzott Hv1 protoncsatorna VCF jelének eredete	E10
11:45	Padányi Rita	A CFTR fehérje NBD1 domén szerkezetének vizsgálata letekeredési útvonalak elemzésén keresztül	E11
12:00	Bukovics Péter	Szerkezet-funkció koordináció gelsolin homológ fehérjékben	E12
12:15	Feller Tímea	Amiloid β -peptid hatása a fibrinháló szerkezetére és lízisére	E13
12:30	Farkas Enikő	A glyphosate gyomirtószer-hatóanyag élettani hatása MC3T3-E1 sejtek adhéziójára	E14
12:45	Kanyó Nicolett	Rákos sejtek adhéziójának vizsgálata optikai bioszenzorral: a glikokálix enzimatis emésztésének hatásai	E15

13:00 - 14:30 Ebédszünet

13:00 - 14:30 Az MTA Biofizikai Bizottság, munkabéd (Zártkörű, Kenézy Villa)

15:00 - 17:00	III. szekció Elnök:	MEMBRÁNOK, MEMBRÁNFÉHÉRJÉK BIOFIZIKÁJA Bóta Attila Varga Zoltán	
15:00	Hegedűs Tamás	Az ABCG2 fehérje regulációjának és transzport mechanizmusának in silico felderítése	E16
15:20	Mihály Judith	Extracelluláris vezikulák IR spektroszkópiája	E17
15:40	Szántó G. Tibor	Feszültségfüggő K ⁺ csatornák gátlásának specifikus mechanizmusa: peptid gátlószerek és a C-típusú inaktiváció kölcsönhatása.	E18
16:00	Kenesei Ádám	Interleukin-15 transz-prezentáció tanulmányozása fluoreszcencia mikroszkópiával	E19
16:15	Mocsár Gábor	Fehérjeklaszterek T sejtek membránjában és blebjein	E20
16:30	Volkó Julianna	Új intracelluláris jelátviteli mechanizmus? Interleukin receptor összeszerelődés az ER-ben és a Golgi-ban	E21
16:45	Zákány Florina	Membránszterolok és -ceramidok támadáspontjának meghatározása feszültségkapuzott káliumcsatornákon voltage-clamp fluorometry (TEVCF) módszerrel	E22

17:00 - 19:00

I. Poszterszekció (P1-P31)

2019. AUGUSZTUS 28., SZERDA			
08:30 - 10:00	IV. szekció Elnök:	BIOSZENZORIKA ÉS BIO-NANOTECHNOLÓGIA Vonderviszt Ferenc Kellermayer Miklós	
8:30	Kelemen Lóránd	Label-free protein detection with an optofluidic lab-on-chip sensor	E23
8:55	Kertész Krisztián	Színek módosítása lepkék szárnyán	E24
9:15	Kiss Bálint	Virális DNS kilökődés bakteriális membrán modellekben	E25
9:30	Gerecsei Tamás	Felületi kölcsönhatások erősségének egyedi-sejt szintű mérése automatizált mikropipettával	E26
9:45	Husztiné Nagy Georgina	Magnetit-kötő flagelláris filamentumok kötési tulajdonságainak vizsgálata eltérő kristályszerkezetű magnetit nanorészecskékkel	E27

10:00 - 10:30 Kávészünet

10:30 - 12:00	V. szekció Elnök:	BIOENERGETIKA ÉS FOTOBIOFIZIKA Zimányi László Csík Gabriella	
10:30	Bartók Ádám	A MICU1 fehérje szerepe neuronok mitokondriális Ca ²⁺ homeosztázisában és túlélésében	E28
10:50	Maróti Péter	A gerjesztési energia vándorlása fotoszintetizáló baktériumok antennájában	E29
11:10	Lambrev Petar	Exciton–radical-pair equilibration in Photosystem II observed by two-dimensional electronic spectroscopy	E30
11:30	Solymosi Katalin	Sóstressz illetve ozmotikus stressz hatása a fotoszintetikus apparátus kialakulására és működésére	E31
11:45	Groma Géza	Fényindukált komplex folyamatok kinetikai modellezése gépi tanulás módszerével	E32

12:00 - 13:30 Ebédészünet**12:00 - 13:30 MBFT elnökségi ülés (Zártkörű, Kenézy Villa)****13:30 - 15:30 II. Poszterszekció (P32-P57)****16:00 - 18:00 Déri Múzeum - fényjátékkal kísért tárlatvezetés a Munkácsy Teremben****19:00- Gálavacsora**

2019. AUGUSZTUS 29., CSÜTÖRTÖK			
08:30 - 9:40	VI. szekció	ELMÉLETI BIOFIZIKA	
	Elnök:	Dosztányi Zsuzsanna	Derényi Imre
	8:30	Pancsa Rita	Folyadék fázisátmenet útján létrejövő biológiai kondenzátumok szerepe a sejtes folyamatok hatékonyságának növelésében
	8:50	Erdős Gábor	Szerkezet alapú partner predikció lineáris motívum kötő fehérjékhez
	9:05	Hoffka Gyula	The role of conformational heterogeneity in enzyme evolution
9:50 - 11:40	9:25	Kiss Máté	Tissue hierarchies in plants can efficiently minimize somatic evolution and act as a functional germline
	VII. szekció	MODERN BIOFIZIKAI MÓDSZEREK	
	Elnök:	Vereb György	Lukács András
	9:50	Szöllősi András	A Nematostella vectensis TRPM2 ioncsatorna krio-elektron mikroszkópos szerkezete
	10:15	Lukács András	Fénnyel szabályozott adenilát-cikláz fotoaktivációjának vizsgálata ultragyors infravörös tranziens abszorpciós spektroszkópai módszerekkel
	10:40	Steinbach Gábor	Anizotróp szerkezetek leképezése újrapasztázó konfokális mikroszkóppal (RCM)
	11:00	Nagy Krisztina	Antibiotikum- és fágrezisztencia evolúciója strukturált környezetben
	11:20	Renata Gronczewska	ForteBio BLI Systems for Versatile and Rapid Biomolecular Binding Kinetics and Quantitation

11:40 - 12:00 Kávészünet

12:00 - 13:00	VIII. szekció	ORVOSI BIOFIZIKA ÉS SUGÁRBIOLÓGIA	
	Elnök:	Krizbai István	Csige István
	12:00	Kis Dávid	Extracelluláris vezikulák szerepe rövid és hosszútávon a sugárzás szomszédsági hatásában
	12:15	Csige István	CO ₂ és radon gázok bőrön keresztüli felvétele mofettákban
	12:30	Gresits Iván	Mágneses nanorészecskéken alapuló rákterápia módszertanának vizsgálata és fejlesztése
	12:45	Végh Attila Gergely	Neurovaszkuláris egység sejtes elemeinek rugalmasság térképezése gyulladásos mediátorok jelenlétében

13:00 Záróünnepség, poszterdíjak átadása

Ebéd

ELŐADÁSOK

Plenáris előadás (E1)

Sejtanalitika biofizikai megközelítéssel

Tumorsejtek angiogenezisre gyakorolt hatásának vizsgálata, *in vitro* (E2)

Méhes Előd^{1,2}, Gulyás Márton¹, Tárnoki-Zách Júlia¹, Bilecz Ágnes², Kovács Ildikó², Bugyik Edina³, Paku Sándor³, László Viktória⁴, Döme Balázs^{2,4}, Czírók András¹

¹ Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Fizika Tanszék

² Országos Korányi Pulmonológiai Intézet, Tumorsejtbiológiai Osztály

³ Semmelweis Egyetem, I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

⁴ Medical University of Vienna, Comprehensive Cancer Centre Vienna, Department of Surgery, Division of Thoracic Surgery

Tumorsejtek progressziója, valamint a (kemo)irradiációs kezelésekre való érzékenysége függ a vérellátásuktól, ezért az érképződés vizsgálata a rákkutatás egyik fontos területévé vált. A tumort ellátó érrendszer kialakulása önszervező folyamat, vagyis a végleges struktúrát nem a szöveti környezet előmintázata határozza meg, hanem az érképző endothel sejtek és a tumorsejtek közötti kölcsönhatások. Az egyes érszegmensek növekedésében fontos szerepet játszik a kollektív sejtmozgás, amit autokrin/parakrin szekretált faktorok, a sejtközi állomány mikromechanikája, valamint sejt-sejt kapcsolatok is befolyásolnak.

A malignus pleurális mesothelioma (MPM) egy agresszív daganattípus. Korlátozott kezelési lehetőségei miatt különösen rossz prognózissal rendelkezik, és nincsen ellene molekulárisan célzott terápia. MPM tumorok eltérő mennyiségben expresszálnak a semaphorin (Sema) fehérjecsaládhoz tartozó molekulákat, amelyeknek angiogenezisre gyakorolt különböző hatása ismert.

Létrehoztunk egy *in vitro* modellrendszert az angiogenezis kvantitatív elemzésére. Endothel sejtek aggregátumaiból kinövő ércsírák és térbeli ágrendszerük mikroszkópos képelemzésével, módosított Sholl-analízis segítségével vizsgáltuk az ércsira képződést. Különböző MPM tumorsejtvonalakban megmértük különböző semaphorin altípusok expressziós mintázatát, és ezek alapján kiválasztottunk több sejtvonalat az *in vitro* tumor-angiogenezis vizsgálatához.

Videomikroszkópos (time-lapse) kísérletekben vizsgáltuk, hogyan hatnak az eltérő semaphorin expressziójú MPM tumorsejt szferoidok kokultúrában az endothel aggregátumokból induló ércsira növekedésre. Az ércsira ágrendszer térbeli alakulásának vizsgálatára tovább fejlesztettük a módosított Sholl-analízist. Segítségével kvantitatív elemzéseket végeztünk és kapcsolatot tártunk fel egyes semaphorinok szekréciója és az ércsira növekedés térbeli szabályozása között. Ezzel párhuzamosan *in vivo* kísérleteket végeztünk MPM tumorsejtekkel beoltott egereken. A kialakult tumorok szövettani és immunhisztokémiai vizsgálatával alátámasztottuk, hogy az MPM tumorok érhalózatának kialakításában lényeges szerepet töltenek be a tumorsejtek által termelt semaphorinok.

Egyedi sejtek manipulációja piezoelektromos mikropipettával (E3)

Ungai-Salánki Rita^{1,2,3}, Francz Barbara², Sautner Éva², Horváth Róbert³ és Szabó Bálint^{1,2}

¹ Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Fizika Tanszék

² CellSorter Műszaki Kutató és Fejlesztő Korlátolt Felelősségű Társaság

³ MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Nanobioszenzorika Csoport

Korábban kifejlesztettünk egy számítógépes látáson alapuló robotot [1], mely képes automatikusan felismerni és izolálni az egyedi sejteket szuszpenzióból az ezt követő DNS és RNS szekvenálás céljából. Az egyedi sejteket nanoliteres térfogatban tudtuk izolálni anélkül, hogy a szomszédos sejteket eltávolítottuk volna. Jelen munka az általunk kifejlesztett piezoelektromos mikropipetta alkalmazását mutatja be. A mikropipettában a folyadék fluktuációit két független módszerrel vizsgáltuk. Így igazoltuk a mikropipetta robosztus, nanoliter alatti (32 ± 8 pikoliter) folyadékkezelési pontosságát [2].

A piezoelektromos mikropipettát alkalmazva, lényegesen, ~75 %-ról 90 %-ra javult az egyedi sejt izolálási hatékonyság. Ez a javulás döntő fontosságú a ritka vagy értékes sejtek válogatásakor, különösen az orvosi alkalmazásokban. A kiváló minőségű fáziskontraszt megvilágításhoz a mikropipetta köré koncentrikusan elhelyezett LED gyűrűket alkalmaztunk. Így módszerünk teljesen automatizálható az élő sejtek fluoreszcens vagy fáziskontraszt megvilágítása mellett is. A piezoelektromos mikropipetta a hosszú műanyag csöveket és szelepeket is kiküszöböli, ami nagyságrendekkel precízebb folyadékkezelést tesz lehetővé.

Úgy gondoljuk, hogy a piezoelektromos mikropipetta hamarosan az orvosi diagnosztikai egy-sejt manipulációk új eszköze lehet keringő tumor sejtek izolálása, gyógyszer hatóanyagok tesztelése, egyedi sejtek mikroinjektálása, vagy reagensek pikoliteres-nanoliteres skálán történő kezelése céljából.

Köszönetnyilvánítás

A kutatási munka a Nemzeti, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (PD 124559, KH_17, KKP 129936, ERC_HU és Élvonat), az MTA "Lendület" Program támogatásával valósulhatott meg.

Irodalom

[1] Ungai-Salánki R, Gerecsei T, Fürjes P, Orgovan N, Sándor N, Holczer E, et al. (2016) *Sci Rep* 6:20375.doi:10.1038/srep20375.

[2] Francz B, Ungai-Salánki R, Sautner É, Horváth R, Szabó B. Piezoelectric micropipette for automated single cell isolation (Beküldés előtt, 2019)

Élő sejtek jelölésmentes vizsgálata optikai bioszenzorral áramlási térben egyidejűleg létrehozott széles áramlási sebességtartományban (E4)

Kovács Kinga Dóra¹, Novák Martin¹, Hős Csaba², Szabó Bálint³, Székács Inna¹, Bonyár Attila⁴ és Horváth Róbert¹

¹ MTA EK MFA Nanobioszenzorika Labor, Budapest

² Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Hidrodinamikai Rendszerek Tanszék, Budapest

³ Eötvös Loránd Tudományegyetem Biológiai Fizika Tanszék, Budapest

⁴ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Elektronikai Technológia Tanszék

Élő sejtek vizsgálata áramlási térben egy fontos területe a biofizikának, mivel így lehet vizsgálni az élő szervezetek ereiben fennálló körülményeket. Munkánkban egy olyan eszközt mutatunk be, ami jelölésmentes optikai bioszenzor segítségével (EPIC BT), nagy áteresztőképességgel képes nyomon követni a sejtekben lejátszódó változásokat áramlási tér hatására. Ez az eszköz lényegesen eltér az eddig ismert átfolyó küvettától illetve az úgynevezett 'plate and cone device'-től: egy forgó mágneses tér segítségével tartott és forgatott mágneses keverőbot hozza létre az áramlást, így kikerülve a mechanikai összeköttetést a bioszenzor és a rotor között, jelentősen csökkentve a zajt.

Méréseinkben HeLa sejtek kitapadását és áramlás hatására bekövetkező lemosódását vizsgáltuk pll-g-peg/pll-g-peg-rdg funkcionális felületen. Fluidikai szimulációk segítségével vizsgáltuk a sejtek válaszát az áramlási sebesség, 0-1.16 m/s, függvényében.

Ezzel az új mérési elrendezéssel lehetséges lesz érfalsejteken hatóanyagok hatását vizsgálni áramlás alatt jelölésmentesen, illetve a különböző rákos sejtek áttétképzését részletesebben tanulmányozni.

Magreceptorok mobilitásának és dimerizációjának vizsgálata élő sejtekben SPIM-FCCS és FRET segítségével (E5)

Rehó Bálint¹, Lukas Lau², Mocsár Gábor¹, Jan Wolfgang Krieger², Jörg Langowski², Tóth Katalin², Vámosi György¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² German Cancer Research Center, Biophysics of Macromolecules

A magreceptorok szupercsaládjába olyan fehérjék tartoznak, amelyek ligandfüggő módon képesek szabályozni célgénjeik átírását. Kutatásunk során a retinoid receptorok családjába tartozó reténsav receptor (RAR) és a retinoid X receptor (RXR) kölcsönhatásait vizsgáljuk élő sejtekben. Működésüket a molekuláris kapcsoló modell írja le. Ezek a receptorok ligand hiányában DNS-hez kapcsolódva korepresszor komplexet kötnek és gátolják célgénjeik átíródását. A modell szerint agonista ligand hatására (az A vitamin származékai) a receptorok konformációváltozáson mennek keresztül, melynek során koregulátor csere történik és a korepresszor komplex aktivátor komplexre cserélődik. Ezt a modellt a területen zajló intenzív kutatások eredményeképp egyre dinamikusabb kép kezdi felváltani. Vizsgálataink során arra voltunk kíváncsiak, hogyan változik a magreceptorok mobilitása és egymáshoz való affinitásuk ligand jelenlétében és hiányában.

Kísérleteink során HeLa sejtekbe transzfektáltunk fluoreszcens proteinekkel (GFP, mCherry) jelölt magreceptorokat. A mobilitásban bekövetkező változásokat fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiával (FCS) követtük nyomon. Heidelbergi kollaborációs partnereinknél fluoreszcencia keresztkorrelációs spektroszkópiával (FCCS) kombinált Selective Plane Illumination Mikroszkópiai (SPIM) méréseket végeztünk⁽¹⁾. A sejtekről készült SPIM képeken FRET analízist is végrehajtottunk, hogy tovább növeljük méréseink információtartalmát.

Vizsgálataink kimutatták, hogy a receptorok mobilitása agonista ligand hatására csökken, valamint sikerült megmutatnunk azt is, hogy a két receptor kotranszfekciója ligand nélkül is a mobilitás csökkenéséhez vezet. Bebizonyítottuk továbbá, hogy egyes receptor-komplexek csak az egyik fél felől aktiválhatóak.⁽²⁾

SPIM-F(C)CS-el kombinált FRET vizsgálataink egy igen komplex rendszer képét kezdik kirajzolni, és segíthetnek feltárni a magreceptorok aktivációjában és dimerizációjában szerepet játszó molekuláris mechanizmusokat.

Köszönetnyilvánítás

GINOP-2.3.2-15-2016-00026, DAAD #273478

Irodalom

[1] Krieger, J. W., Singh, A. P., Bag, N., Garbe, C. S., Saunders, T. E., Langowski, J., & Wohland, T. (2015). Imaging fluorescence (cross-) correlation spectroscopy in live cells and organisms. *Nature Protocols*, 10(12), 1948-1974.

[2] Brazda, P., Krieger, J., Daniel, B., Jonas, D., Szekeres, T., Langowski, J., Vámosi, G. (2014). Ligand Binding Shifts Highly Mobile Retinoid X Receptor to the Chromatin-Bound State in a Coactivator-Dependent Manner, as Revealed by Single-Cell Imaging. *Molecular and Cellular Biology*, 34(7), 1234-1245.

Impact of agonist treatment on RXR partner selection (E6)

Lina Fadel¹, Laszlo Nagy^{2,3,4}, György Vámosi¹

¹Department of Biophysics and Cell Biology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary.

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary

³UD-Genomed, Debrecen, Hungary.

⁴Departments of Medicine and Biological Chemistry, Johns Hopkins University School of Medicine and Johns Hopkins All Children's Hospital, St. Petersburg, FL, USA. lnagy@jhmi.edu.

Retinoid X Receptor (RXR) plays a pivotal role as a transcription regulator. It serves as an obligatory heterodimerization partner for many other nuclear receptors (NRs). Activation of RXR heterodimers exert a transcriptional activity controlling a wide variety of important biological processes such as development, differentiation, metabolism and cell death. NRs share a common structure composed of several functional domains: an N-terminal transcription activation function domain; a DNA-binding domain; a flexible hinge region domain; and a C-terminal ligand binding domain. The mechanism of activation called molecular switch is also common between these receptors. In this study we intended to understand how the promiscuous RXR molecule behaves in the presence of several potential heterodimeric partners and ligands. We hypothesized that there is a competition between RXR partners for binding to RXR and binding of a specific agonist increases the affinity of a given receptor to RXR. Our hypothesis was tested with three partners of RXR: PPAR γ , RAR, VDR using nuclear translocation assay in a three-color model system. The competition was evaluated detecting changes in heterodimerization between RXR and one of its partners, NR1, in the presence of another competing partner, NR2. Therefore, NR1 was needed in a form that is distributed evenly in the cell when expressed alone and enriched in the nucleus when interacting with RXR. These conditions were fulfilled by wt. VDR and mutant forms of both PPAR γ and RAR lacking their NLS. Our data revealed that RXR binds to its unliganded partners with different affinities; highest for RAR, lowest for VDR and moderate for PPAR γ while specific agonist treatment tips the scale in favor of the liganded partner. This work was undertaken to a better understanding of RXR partition between its different heterodimeric and to obtain insight into triggering specific signaling pathway in complicating cellular environments.

A dipólpotenciál mérése membránösszetétel-változással járó betegségek membránbiofizikai modellrendszereiben új áramlási citométeres módszerrel (E7)

Szabó Máté, Zákány Florina, Cs. Szabó Bence, Varga Zoltán, Nagy Péter, **Kovács Tamás**¹

¹ Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A membrán dipólpotenciálja (DP) a lipidekhez asszociált interfaciális vízmolekulák, illetve a foszfolipidek és szterolok dipoláris szegmentumainak rendezett térbeli orientációjából ered. A dipólok elrendeződése révén ≈ 300 mV-os pozitív potenciál jön létre, amely a transzmembrán és felületi potenciáloknál jóval nagyobb intramembrán elektromos erőteret eredményez, befolyásolva a membránfehérjék konformációját és funkcióit. A DP nagyságát főleg a membrán lipidösszetétele, különösen a szterolok mennyisége határozza meg. Elhelyezkedése miatt mérése rendkívül nehéz, erre főleg a feszültség-szenzitív di-8-ANEPPS fluorofórt használják spektrofluoriméteres vagy konfokális mikroszkópos excitációs aránymérési assay során. Ezen módszerek azonban jelentős hátrányokkal rendelkeznek, így célul tűztük ki egy új DP mérési módszer kifejlesztését.

Kísérleteink során egy újonnan leírt 3-hidroxiflavon-származék használatával kidolgoztunk és optimalizáltunk egy áramlási citometriás technikát a DP mérésére. Alkalmazásának alapja, hogy excitáció után a fluorofórban gerjesztett állapotú intramolekuláris proton transzfer reakció megy végbe. Az így kialakuló normál és tautomer forma emissziója elkülönül és mivel a két forma relatív előfordulása az intramembrán elektromos erőter függvénye, a fluorofór alkalmas a DP meghatározására emissziós aránymérési assay segítségével.

Ismert DP-t módosító kezelések (phloretin, 6-ketocholestanol) használatával bizonyítottuk módszerünk alkalmazhatóságát, di-8-ANEPPS-sel végzett spektrofluorimetriás referenciamérések mellett. JY lymphoblastoid és THP-1 monocita sejtekben kimutattuk, hogy a membrán koleszterin, illetve 7-dehidro-koleszterin tartalmának metil- β -ciklodextrin/szterol komplexekkel történő növelése dóziszfüggő módon növeli a DP nagyságát.

A munkánk során optimalizált új áramlási citometriás módszer alkalmazható nagy mennyiségű élő sejt DP-jának gyors, egyszerű és megbízható mérésére.

A digitális patológia új lehetőségei: multispektrális konfokális fluoreszcenciás képalkotás (E8)

Rebenku István¹, Bartha Ferenc², Cameron B. Lloyd¹, Szöör Árpád¹, Katona Tamás¹,
Molnár Béla³, Vereb György¹

¹ Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet;

² Szegedi Tudományegyetem Bólyai Intézet;

³ Semmelweis Egyetem II, Belklinika; 3DHistech Kft.

A kvantitatív mikroszkópia a molekulák sejtbeli jelenlétének és lokalizációjának meghatározásától indulva változatos, fluoreszcencia-alapú modalitásokkal bővült, mint pl. konfokális 3D és multispektrális képalkotás, vagy molekuláris interakciók Förster rezonancia energia transzferen (FRET) alapuló in situ mérése. Ugyanakkor a digitális patológia gyors fejlődése mára lehetővé tette a mikroszkópiás sejtparaméterek szöveti kontextusban történő vizsgálatát, biztosítva a heterogenitás és ritka események felderítését.

A Panoramic Confocal (3DHistech) az első digitális patológiai szkennert, mely a multiplex fluoreszcenciás detektálást nem csak konvencionális epifluoreszcenciás, de konfokális módban is lehetővé teszi. Munkánk során teszteltük a készülék pontosságát, linearitását és szenzitivitását, vizsgáltuk a dekonvolúció alkalmazhatóságát, valamint szövet szintű FRET méréseket implementáltunk.

Qifikit kalibrációs gyöngyök segítségével megállapítottuk, hogy 22.000 epitóp/gyöngy már detektálható a készülékkel. Az X-Y-Z irányú időbeli stabilitás és relokalizációs pontosság 100 nm-en belül volt. Elméleti modell hiányában a dekonvolúcióhoz kísérletileg határoztuk meg a különböző fényutakhoz tartozó rendszer PSF-ek katalógusát és verifikáltuk ezek mintasíkbeli homogenitását. A dekonvolúció az elvárt módon csökkentette a fókuszsíkon kívüli fotonforrások kontribúcióját és javította a finom struktúrák kivehetőségét. A FRET mérésre való alkalmazhatóság teszteléséhez immundeficiens egérben növesztett HER2+ tumorokon vizsgáltuk a HER2 homoasszociáció mértékét, a spektrálisan korrigált 3-szűrős kvantitatív módszert alkalmazva. A FRET értékek mind teljes látómezős, mind konfokális módban jól korreláltak a CLSM-ben mértékekkel.

A Panoramic Confocal digitális patológiai szkennert utat nyit a molekuláris interakciók és a fehérje-expressziós és morfológiai mintázatok szöveti szintű korrelatív vizsgálatához.

Köszönetnyilvánítás

A projektet a GINOP-2.2.1-15-2017-00072 pályázat támogatta.

Molekurális biofizika

A titin-miozin kölcsönhatás topológiája (E9)

Kellermayer Miklós, Sziklai Dominik, Papp Zsombor, Brennan Decker, Lakatos Eszter és Mártonfalvi Zsolt

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A titin a harántcsíkolt izom rugalmas tulajdonságait meghatározó legfontosabb fehérje. A titinmolekula a szarkomer Z- és M-csíkjai között húzódik. A titin funkcionális szempontból rugalmasan kontrahálódik illetve megnyúlik a szarkomer összehúzódása illetve passzív feszítése közben. Rugalmas alakváltozása mellett a titin meghatározó szerepet játszik a szarkomer szerkezeti integritásának fenntartásában. A szarkomer A-szakaszában a titin a miozin vastag filamentumokhoz asszociált, és így itt funkcionálisan rugalmatlan. A titin ismétlődő szerkezeti mintázata és a vastag filamentum periodicitása közötti hasonlóság alapján már régóta feltételezik, hogy a titin geometriai templátként szolgálhat a vastag filamentum felépülésében. Kísérleteinkben ezt a titin templát hipotézist teszteltük úgy, hogy a titint és miozint in situ sztöchiometriai arányban (300 miozin/12 titin) összekevertük változó ionerősség (100-300 mM) mellett, majd a kialakuló filamentumok és komplexek topológiai szerkezetét atomi erőmikroszkóppal (AFM) vizsgáltuk. Eredményeink szerint a titin és miozin filamentumok minden vizsgált kísérleti körülmény mellett szegregált populációt alkottak. Nem találtunk olyan asszociátumot, amelyben a miozin molekulák periódikusan helyezkednének el relaxált vagy megnyújtott egyedi titinmolekulák vagy titin oligomerek mentén. Ugyanakkor a titin oligomerek a miozin vastag filamentumok mentén kitapadtak és felületi hálózatot alkottak. Tehát, bár a titin nem geometriai templátja a miozin vastag filamentumnak, felületi hálózata fontos szerepet játszhat a miozin vastag filamentum in situ hosszának dinamikus szabályozásában.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával készült (Nemzeti Szívprogram NVKP-16-1-2016-0017)

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

A feszültség-kapuzott Hv1 protoncsatorna VCF jelének eredete (E10)

Papp Ferenc, Pethő Zoltán, Bagosi Adrienn, Panyi György, Varga Zoltán

Debreceni Egyetem, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A VCF (Voltage Clamp Fluorometry) technika egy nagyon hatékony módszer a membránpotenciál megváltozását érzékelni képes fehérjék konformáció-változásának a vizsgálatára. Ezt a technikát több labor már sikerrel alkalmazta feszültség-kapuzott ioncsatornák vizsgálatára, beleértve a Hv1-et is. Azonban csupán feltételezések vannak arra vonatkozóan, hogy mi is az oka annak, hogy a vizsgált fehérjéhez kapcsolt fluoreszcens festék által emittált fluoreszcencia intenzitásában változás történik a VCF-mérés során. A célunk az volt, hogy feltételezések helyett pontosabban meg tudjuk mondani, hogy a VCF jel mitől alakul ki, és ezáltal pontosabban megérthessük a vizsgált fehérje konformáció-változását.

A VCF méréseinket olyan Ci-Hv1 protoncsatornán végeztük, amelyben a 241-es pozícióban lévő Glu aminosav Cys-re van cserélve. Ehhez a Cys-hez kötődik az a Tamra-MTS fluoreszcens festék, amely érzékeny a lokális környezetére és ezáltal képes információt adni számunkra a fehérje konformáció-változásairól. Miután megvizsgáltuk a Hv1 csatorna aminosav-szekvenciáját, két lehetséges fluoreszcenciát kioltó aminosavat találtunk az extracelluláris oldalon. Ezeket Ala-ra mutáltuk és néztük, hogyan változik a VCF jelünk.

Bármelyik kioltó aminosavat mutáltuk Ala-ra (az Ala aminosav nem képes kioltani a fluoreszcenciát), kisebb VCF jelet mértünk. Ha mindkét fluoreszcenciát kioltó aminosavat elmutáltuk Ala-ra, semmilyen változást (jelet) nem voltunk képesek mérni. Ezek az eredményeink az jelzik, hogy a VCF jelünk kialakulásáért a Tamra-MTS festék közelében lévő fluoreszcenciát kioltó aminosavak a felelősek. További bizonyítékul szolgálhatna még, ha a fluoreszcenciát kioltó aminosavat másik, szintén kioltó aminosavra mutálnánk. Azonban már ezen ismeretek birtokában is elkezdtük egy modell kidolgozását, amelyben a legegyszerűbb, egyenes vonalú mozgását feltételezzük a Tamra festéknek a kioltó aminosavakhoz képest. Az előzetes modell-számításaink segítségével jól reprodukálhatók a mért eredményeink.

A CFTR fehérje NBD1 domén szerkezetének vizsgálata letekeredési útvonalak elemzésén keresztül (E11)

Padányi Rita, Tordai Hedvig, Hegedűs Tamás

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A cisztás fibrózis (CF) betegséget a CFTR fehérjében bekövetkező mutációk okozzák. A betegséget okozó mutációk nagy része, beleértve az 508-as fenilalanin delécióját ($\Delta F508$) az N-terminális nukleotid-kötő doménben (NBD1) található. A mutációk befolyásolhatják a domén-domén összeszerelődést, az NBD1 domén stabilitását és feltekeredését. A jelenlegi CF gyógyszerek a domén-domén összeszerelődést célozzák meg, de alacsony hatékonyságuk miatt újabban inkább a szerkezeti stabilitás növelése a cél. A CFTR érésének egyik első lépése a fehérje megfelelő feltekeredése, így a *folding* útvonalak pontos feltérképezése nélkülözhetetlen a hatékony CFTR terápia kidolgozásához.

Mivel a feltekeredést vizsgálni nehéz és a fel- és letekeredés során az egyes lépések reverzibilisek, munkánk során a vad típusú, illetve a $\Delta F508$ mutáns NBD1 fehérje letekeredési útvonalait vizsgáltuk *in silico* módszerekkel illetve erőspektroszkópiás kísérletekkel. Molekuladinamikai szimulációval meghatározott intermedier állapotok két letekeredési útvonal mentén helyezkednek el. A folyamat egy közös szakasszal indul, majd a béta-szubdomén letekeredése után az alfa-alegység szerkezeti egységei eltérő sorrendben is letekeredhetnek. Az NBD1 fehérje letekeredésének *in vitro* vizsgálata során egyedi molekulákat nyújtottunk meg atomerőmikroszkóp (AFM) segítségével. A szerkezeti alegységek letekeredésének mintázata megfeleltethető volt az *in silico* módszerekkel kapott eredményeinknek. Azt a különbséget figyeltük meg, hogy az *in vitro* kísérletekben az alfa-szubdomén több mint két útvonalon tudott széthajtogatódni. Kiemelten fontos, hogy a $\Delta F508$ mutációt tartalmazó és a vad típusú NBD1 a letekeredés során más-más arányban jártak be az egyes útvonalakat.

Eredményeink hozzájárulnak a vad típusú és a $\Delta F508$ mutáns NBD1 domén szerkezeti és dinamikai különbségeinek pontosabb megértéséhez.

Szerkezet-funkció koordináció gelsolin homológ fehérjékben (E12)

Bukovics Péter¹, Gaszler Péter¹, Rauan Sakenov¹, Pintér Réka¹, Huber Tamás¹, Bugyi Beáta¹

¹ Pécsi Tudományegyetem, Biofizikai Intézet

A Gelsolin Homológ (GH) domén család fehérjéi központi szerepet játszanak az aktin citoszkeleton szabályozásában. A hat GH-domént tartalmazó gelsolin (GSN) egy Ca^{2+} -aktivált multifunkcionális aktin szabályozó fehérje. A közelmúltban azonosították a Flightless-I-et (Fli-I), melyet szintén hat GH-szegmens jellemez, ám ehhez kapcsolódik egy leucin-gazdag ismétlődés. Mind a GSN, mind a Fli-I szerepet játszanak különböző patológiai folyamatokban (szepszis, szöveti regeneráció). Bár a Ca^{2+} -függő aktiválás tekintetében a GSN szerkezeti-funkcionális viszonyai jól ismertek, a Ca^{2+} Fli-I aktin-aktiválásában betöltött szerepe tisztázatlan. Funkcionális vizsgálataink azt mutatják, hogy a GSN és a Fli-I GH16 doménjei Ca^{2+} hatására különböző módon reagálnak, ami a két fehérje eltérő konformációs jellemzőit feltételezik. Munkánk során a GSN és a Fli-I szerkezeti viselkedését vizsgáltuk Ca^{2+} jelenlétében és hiányában fluoreszcencia spektroszkópia és biokémiai módszerek alkalmazásával.

Ca^{2+} jelenlétében a Trp fluoreszcencia paramétereinek változása a GSN-ben fluoreszcencia kioltás vizsgálatoknál, illetve kémiai denaturációt követően markáns konformációs változásokra utal, mely összhangban van a GSN aktivációjának nagyfelbontású szerkezeti modelljével. Ezzel szemben eredményeink arra utalnak, hogy a Fli-I GH16-ban lévő Trp-ok mikrokörnyezete különbözik a GSN-étől, még Ca^{2+} -mentes környezetben is, így azt jelentősen nem befolyásolja a kation jelenléte. A spektroszkópiai adatokat a GSN és a Fli-I GH16 esetében a limitált proteolízisnél megfigyelt különböző kinetikai jellemzők is alátámasztják. Kísérleti eredményeinket bioinformatikai elemzésünk is megerősíti, amely rámutat, hogy a II-es típusú Ca^{2+} -kötő helyek és a C-terminális farok, melyek a GSN Ca^{2+} -indukálta szerkezeti változásaiért felelősek, nem konzerváltak a Fli-I GH16-ban. Összességében munkánk során különböző Ca^{2+} -függő válaszokat tárunk fel, melyek a GSN és a Fli-I eltérő aktiválási módjait jelzik.

Amiloid β -peptid hatása a fibrinháló szerkezetére és lízisére (E13)

Feller Tímea, Hársfalvi Jolán, Csányi Csilla, Kiss Balázs és Kellermayer Miklós S.Z.

Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest

Az Alzheimer kór neurodegeneratív betegség, melyben fontos vaszkuláris komponens is jelentkezik. Az agyi erekben nem csak a kórra jellemző amiloid peptidek, hanem fibrinogén felhalmozódása is megfigyelhető. Amiloid jelenlétében a fibrinogénből kialakuló alvadék mechanikai és morfológiai tulajdonságai is megváltoznak, a kialakult fibrinháló lízise is gátlódik. Az emésztésnek ellenálló alvadék elzárja a véráram útját, gyulladást indukál és további neurovaszkuláris károsodáshoz vezet.

Az amiloid β -peptid neurotoxikus fragmense az A β 25-35. Ezen fragmensből csillámfelszínen epitaxiálisan növesztett amiloid szálakat állítottunk elő fibrinogén jelenlétében. Az amiloid szálak környezetében megfigyelhető a fibrinogén monomerek felhalmozódása.

Amiloid jelenlétében csillámfelszínen alvasztott fibrinháló mikrostruktúráját atomi erőmikroszkópiával (AFM) vizsgáltuk. A háromdimenziós hálóból egy kvázi kétdimenziós struktúrát hoztunk létre. Az egyedi szálak átlagos magasságát és szélességét vizsgáltuk, mely 20 μ M amiloid jelenlétében szignifikánsan csökkent (magasság 18,0 nm ($\pm 5,09$ nm) 21,8 nm ($\pm 5,47$ nm) helyett, szélesség 122,7 nm ($\pm 28,4$ nm) 141,7 nm ($\pm 32,5$ nm) helyett).

Az alvadék mechanikai tulajdonságait a munkacsoportunk által kifejlesztett nanoreológiai méréssel, a nano-trombelasztográfiával (nTEG) vizsgáltuk. Amiloid jelenlétében az alvadás folyamán végig nagyobb maximális erőkülönbség értékeket mértünk. Ebből az egyedi fibrinszálak megnövekedett Young-modulusára következtethetünk.

Összességében amiloid peptid jelenlétében kisebb szálakból felépülő fibrinháló alakul ki. A kisebb szálakra megnövekedett merevség jellemző, amit nTEG méréseink megnövekedett erőkülönbség-értékei alátámasztanak.

Köszönetnyilvánítás

A kutatása az alábbi programok támogatásával készült:

Az orvos-, egészségtudományi- és gyógyszerészképzés tudományos műhelyeinek fejlesztése (EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009)

Új Nemzeti Kiválósági Program (ÚNKP-18-3-IZ-SE-12)

Nemzeti Szívprogram (NVKP-16-1-2016-0017)

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

A glyphosate gyomirtószer-hatóanyag élettani hatása MC3T3-E1 sejtek adhéziójára (E14)

Farkas Enikő^{1,2}, Orgován Norbert³, Székács András⁴, Horváth Róbert¹, Székács Inna¹

¹Magyar Tudományos Akadémia, Energiatudományi Kutatóközpont, Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Nanobioszenzorika Momentum Csoport

²Pannon Egyetem, Vegyészmérnöki- és Anyagtudományok Doktori Iskola (Molekuláris- és Nanotechnológiák Doktori Iskola)

³Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Biológiai Fizika Tanszék

⁴Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Agrár-Környezettudományi Kutatóintézet

A világszerte használt növényvédőszer-hatóanyag a *glyphosate* biztonságos használatával kapcsolatban számos kérdés merült fel, mivel bizonyos toxikus hatásokkal hozták összefüggésbe (pl.: csontvelői, magzati, embrionális és placentális sejtvonalakon). Ezért ennek a szernek a sejtadhézióra gyakorolt élettani hatását vizsgáltuk Epic BT bioszenzorral, a sejtes folyamatokat jelölésmentesen és valós időben monitorozni képes szenzorikai eljárással.

Epic BT alkalmazásával kidolgoztunk receptorspecifikus sejtletapadási vizsgálatokat, lehetővé téve integrin-ligandum-interakciók kvantitatív karakterizálását élő sejtekben [1]. Modellként a legkisebb ismert természetes diszintegrin, az echistatint választottuk ki az integrin által közvetített sejtadhézió gátlására. Az új módszert alkalmazva az echistatin gátlási koncentráció félfértékét (IC_{50}) az élő HeLa sejtekben 20-40 nM tartományban határoztuk meg, ami összhangban van a szakirodalmi adatokkal.

Továbbá a *glyphosate* integrinkötődési folyamatokra gyakorolt célzott hatását és sejtadhéziós modulációs effektusát figyeltünk meg és tártuk fel Epic BT optikai bioszenzor segítségével. Kimértük különböző koncentrációjú *glyphosate*-oldattal bevont felületeken a MC3T3-E1 sejtek adhéziós kinetikáját, ahol azt tapasztaltuk, hogy a *glyphosate* alacsony koncentráció esetén (0,1%) az RGD-motívumhoz hasonlóan serkenti, míg magasabb koncentráció alkalmazásával gátolja a sejtek letapadását a szenzorfelületre.

Különböző koncentrációjú *glyphosate*-oldatokkal is vizsgáltuk az integrinblokkoló hatást. Megállapítottuk a *glyphosate* IC_{50} értéket 20,6 mM. Illetve az RGD-specifikus integrinek (MC3T3-E1 sejtekben) és az oldatban lévő *glyphosate* közötti háromdimenziós disszociációs konstansát számítottuk ki, amelyre 0,352 mM értéket kaptunk, míg az RGD-specifikus integrinek az RGD-motívumhoz mutatott affinitására 5,97 μ M-t.

Köszönetnyilvánítás

Magyar Tudományos Akadémia „Lendület Program”, NKFIH (ERC_HU, KH_17, NVKP_16-1-2016-0049 és KKP_19) és OTKA K109865.

Irodalom

[1] I. Szekacs et al. (2018) *Sens Actuators B-Chem* 256: 729–734.

Rákos sejtek adhéziójának vizsgálata optikai bioszenzorral: a glikokálix enzimátikus emésztésének hatásai (E15)

Kanyó Nicolett, Székács Inna, Horváth Róbert

MTA EK MFA Nanobioszenzorika Lendület Kutatócsoport

Az élő sejtek adhéziója központi szerepet játszik számos életfolyamatban. A rákos sejtek terjedésében a sejtadhéziós folyamatok meghatározó szerepet töltenek be [1]. Sejtadhéziós molekulák közé tartoznak az integrinek. Az integrinek fő funkciója a sejt-extracelluláris mátrix közötti kapcsolat kialakítása. Egyes integrinek az RGD tripeptiddel kölcsönhatva indítják el a sejtadhéziós folyamatot. Ez a mechanizmus nagyban függ a kapcsolódási felületen lévő RGD-motívumok számától, elhelyezkedésétől, egymástól mért átlagos távolságától [2].

A glikokálix szinte valamennyi sejt típusra, köztük a rákos sejtekre is jellemző sejt felszíni cukorréteg, amely nagyban befolyásolja a sejtek kölcsönhatását a környezetükkel. A glikokálix az integrin rendszer viselkedésében és a sejtek szignalizációjában feltételezhetően erős, de részleteiben nem tisztázott szabályozó funkciót lát el. A glikokálix adhézióban betöltött szerepe meglehetősen ellentmondásos, egyes helyeken az adhéziót növelő, máshol viszont csökkentő szerepéről számolnak be.

A sejtadhézió valós idejű, kvantitatív követésére napjainkban kezdenek elterjedni a felületérzékeny optikai bioszenzorok, mint pl. a rezonáns rácsos hullámvezető (RWG) technológia. Az RWG típusú bioszenzorok közé tartozik a Corning Epic® BenchTop (Epic BT) műszer is. Az Epic BT kiemelkedő előnye a nagy áteresztőképesség és felületi érzékenység, a műszer képes biológiai folyamatok valós idejű követésére is, ezért az adhézió kinetikáját segítségével nagy precizitással detektálhatjuk. [3].

Kutatómunkánk során különböző RGD-motívum sűrűségű szintetikus polimer felületeket alakítottunk ki, melyeken HeLa sejtek adhéziós kinetikát mértük. A létrehozott felületeken meghatároztuk a sejtek integrinjei és a felület RGD-motívumai közötti kötés disszociációs állandóját a glikokálix egyes komponenseit emésztő enzimmel kezelt és kezeletlen esetben is. A kezelések hatására az integrin-RGD kötés erősödését tapasztaltuk. Megállapítottuk továbbá, hogy a glikokálix elemek eltávolítása nemcsak az adhézió mértékét csökkenti, de a sejtek kezelésére használt enzimkoncentráció növelésével az adhézió sebessége is csökken. A látszólag egymásnak ellentmondó eredményeink magyarázatára egy egyszerű biofizikai modellt állítottunk fel a glikokálix szabályozó funkcióját illetően.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük, Dr. Deli Mária Annának és Dr. Dér Andrásnak a kutatási téma megindításában a csoportunknak nyújtott értékes segítségét, a hasznos megbeszéléseket

Irodalom

[1] Mackay, C. R., & Imhof, B. A. (1993) *Immunology today* 14(3), 99-102.

[2] Orgovan, N., Peter, B., Bösze, S., Ramsden, J. J., Szabó, B., & Horvath, R. (2014) *Scientific reports* 4, 4034.

[3] Peter, B., Ungai-Salanki, R., Szabó, B., Nagy, A. G., Szekacs, I., Bösze, S., & Horvath, R. (2018) *ACS omega* 3(4), 3882-3891.

Membránok, membránfehérjék biofizikája

Az ABCG2 fehérje regulációjának és transzport mechanizmusának *in silico* felderítése (E16)**Hegedűs Tamás***Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet*

Az ABCG2 (az ATP Binding Cassette szupercsalád G2-es tagja, más néven Breast Cancer Resistance Protein, BCRP), egy farmakológiailag jelentős transzmembrán fehérje, amely kulcsfontosságú biológiai barrierékben és gyógyszer metabolizáló szervekben fejti ki működését. Számos kémiaiag különböző szerkezetű vegyületet képes szubsztrátként felismerni és a sejtől kipumpálni, így jelentősen befolyásolja gyógyszer-molekulák farmakokinetikáját. Szerepet játszik sejtek xenobiotikumoktól való megvédésében és rákos sejtek kemoterápiás szerekekkel szemben mutatott rezisztenciájában is. Az ATP-függő transzportfolyamatot jelentősen befolyásolja a koleszterin jelenléte. A koleszterin általi szabályozásnak és magának a transzportnak az atomi felbontású részletei még nem ismertek. Ezeket a folyamatokat kísérletesen nehéz vizsgálni, ezért megértésükhöz molekula dinamikai módszereket alkalmaztunk. Vizsgálatainkat az tette lehetővé, hogy a közelmúltban a fehérje több konformációjának szerkezetét is meghatározták krio-elektronmikroszkópiával. Mikroszekundumos időskálájú molekuladinamikai szimulációkat hajtottunk végre a fehérje apo és ATP kötött szerkezetével szubsztrát (húgysav) jelenlétében illetve hiányában, POPC illetve POPC/koleszterin lipid-kettősrétegbe ágyazva. A koleszterin jelenléte nem befolyásolta a fehérje egyensúlyi dinamikáját, ami arra utal, hogy ez a molekula az ABCG2 átmeneti állapotán fejti ki hatását. Szimulációinkban meg tudtuk figyelni a húgysav mozgását az általunk prediktált szubsztrátkötő helyek között [1]. A szubsztrát extracelluláris tér felé történő transzlokációja még a hosszú MD szimulációkban sem történt meg, ezért a lehetséges átjutási útvonalakat metadinamikai szimulációkkal írtuk le. Eredményeink várhatóan hozzájárulnak a fehérje működésének és a szubsztrátfelismerés mechanizmusának megértéséhez.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük az NKFIH (K 111678 és K 127961), KIFÜ HPC erőforrások és az MTA Wigner GPU laboratórium támogatását.

Irodalom

[1] Laszló L, Sarkadi B, Hegedűs T (2016) PLoS One 11:e0164426.

Extracelluláris vezikulák IR spektroszkópiája (E17)

Mihály Judith, Bebesi Tímea, Kitka Diána, Szentirmai Veronika, Szigyártó Imola Csilla,
Bóta Attila, Varga Zoltán

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag- és Környezetkémiai Intézet

Az extracelluláris vezikulák (EV-k) az utóbbi években kerültek a tudományos érdeklődés középpontjába: ismertté vált, hogy a sejtek foszfolipid kettősréteggel határolt nanoméretű struktúrákat, ún. extracelluláris vezikulákat bocsátanak ki, amelyek jelentős szerepet játszanak a sejtek közötti intercelluláris kommunikációban. Bár az EVk kiemelkedő lehetőséggel bírnak, mint betegségmarkerek vagy gyógyszerhordozók, klinikai alkalmazásukhoz szükség van a megfelelő észlelési és jellemzési módszerek kidolgozására. Az infravörös (IR) spektroszkópia – standardizált mérési körülmények és adatfeldolgozási eljárásokkal kiegészítve – egy egyszerű, jelölésmentes módszer lehet EV-k jellemzésére. Bár főként az egyedi vezikulák jellemzésére alkalmas technikák fejlesztése került előtérbe (AFM, lézercsipeszes Raman spektroszkópia), mind orvosdiagnosztikai szempontból, mind a biokémiai jelenségek tanulmányozása céljából szükség van olyan gyors, mintaelőkészítés nélküli módszerekre, amelyek az EVk egy-egy sokaságát tudják specifikusan jellemezni.

A jelen munka során vörösvértestkoncentrátumokban (VVT) ex vivo keletkező EVket (mikrovezikulákat) vizsgáltunk IR spektroszkópiai módszerrel. Az alkalmazott ATR FT-IR technika, valamint a spektrumokból számolt fehérje-lipid arány egy robosztus karakterizálási eljárásnak bizonyult különböző jellegű EV minták megkülönböztetésére. A fehérjék másodlagos szerkezetére, illetve orientációjára utaló IR markerek szintén megfelelő „ujjlenyomatot” szolgáltatnak. A kapott eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy bár az alap kutatásban a VVT-eredetű EVket, mint modell-vezikulákat alkalmazzák, ezek minőségére hatással vannak a vörösvértestkoncentrátumok tárolási körülményei (tárolási idő, tárolási adalék). A vérkészítményekben az öregedés/tárolás során keletkező és felgyülemelő EVk - gyulladás-indukáló hatásuk miatt - károsan befolyásolhatják a vérkészítmények további felhasználhatóságát; az IR spektroszkópia alkalmas lehet ezen EVk gyors jellemzésére.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást az NVKP_16-1-2016-0007 pályázat anyagi támogatásával végeztük.

Feszültségfüggő K⁺ csatornák gátlásának specifikus mechanizmusa: peptid gátlószerek és a C-típusú inaktiváció kölcsönhatása (E18)

Szántó G Tibor¹, Panyi György¹, Izhar Karbat² és Eitan Reuveny²

¹ Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² Department of Biomolecular Sciences, Weizmann Institute of Science, Izrael

A feszültségfüggő ioncsatornák nagy affinitású és specifikus gátlószerei a peptid gátlószerek, melyek lehetnek az ioncsatornák pórusába kötődő pórus gátlószerek, illetve az ioncsatornák feszültség érzékelő doménjéhez kötődő, így az ioncsatorna kapuzását módosító gátlószerek.

A kollaborációs partnerünk által végzett molekuláris dinamikai szimulációk a gátlás mechanizmusának egy új lehetőségét feltételezik, amely szerint bizonyos peptid gátlószerek a feszültségfüggő ioncsatornák inaktivációs kinetikáját befolyásolják, mivel kölcsönhatásba lépnek az ioncsatornák szelektivitási szűrő mögötti régiójában („inaktivációs üreg”) található lokális vízhálózattal, az ún. "inaktivációs vízmolekulákkal". Célunk ilyen speciális peptid gátlószerek (pl. Cs1 – Cone Snail toxin) hatásmechanizmusának leírása, továbbá a számításokkal összhangba hozható kísérletes bizonyítékok feltárása.

A Cs1 gátlószer ioncsatornákra gyakorolt hatását patch-clamp technikával, feszültség-zár üzemmódban, outside-out konfigurációban végeztük több, eltérő sebességgel, de lassú, ún. C-típusú inaktivációt egyaránt mutató, Shaker-IR típusú feszültségfüggő káliumcsatornán. Eredményeink szerint az extracellulárisan alkalmazott Cs1 csökkentette az áramamplitúdót (az egyensúlyi blokk néhány másodperc alatt kialakult), míg szignifikánsan növelte az ioncsatornák inaktivációs időállandóját, de nem volt hatása az ioncsatornák aktivációs kinetikájára és a félaktivációs feszültség értékére. A toxin hatás nem mutatott feszültség függést.

Mindezen eredmények alátámasztják a Cs1 gátlószer specifikus kötődési mechanizmusát, egyúttal rávilágítanak az inaktivációs üregben található szerkezeti vízmolekulák C-típusú inaktiváció stabilizációjában betöltött szerepére is. Továbbá a Cs1 és hasonló peptidek alkalmazása nagy jelentőségű lehet az inaktiváció tanulmányozásában, mivel egy új gátlási mechanizmussal rendelkező peptid molekula megnyithatja az utat újabb, eddig kis sikerrel megcélzott ioncsatornák működésének modulálásához.

Interleukin-15 transz-prezentáció tanulmányozása fluoreszcencia mikroszkópiával (E19)

Kenesei Ádám¹, Szalóki Nikoletta¹, Hegedűs Éva¹, Volkó Julianna¹, Waldmann Thomas A.², Vámosi György¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² National Institutes of Health Lymphoid Malignancies Branch

Interleukin-15 (IL-15) citokin jelentős szerepet játszik a természetes és adaptív immunrendszer szabályozásában. A szintézis fő helyszínei a dendritikus sejtek és monociták. Az IL-15 receptor (IL-15R) három alegységből (IL-15R α , IL-2/15R β , γ_c) épül fel. Az IL-15 elsősorban transz-prezentáció útján biztosítja a jelátvitelt. Professzionális antigén prezentáló sejtek (APC-k) - amelyek expresszálják az IL-15-öt és az azt megkötő IL-15R α alegységet – prezentálják a ligandot a célsejten jelenlévő β és γ_c alegységeknek. Felvetődik a kérdés, hogy az APC antigént kötő fő hisztokompatibilitás komplexe (MHC II) és a T sejten elhelyezkedő T sejt receptor (TCR) kölcsönhatása révén lejátszódó antigén-felismerés szerepet játszik-e a transz-prezentációban. Ennek tanulmányozásához az IL-15R α -t stabilan kifejező Raji B-sejtvonalat, valamint a β és γ_c alegységeket kifejező Jurkat T-sejtvonalat használtunk. Ha a Raji sejteket Staphylococcus Enterotoxin E szupernatigénnel (SEE) kezeljük, az SEE-t kötő MHC II molekula stabil immunológiai szinapszist alakít ki a Jurkat sejten lévő TCR-rel, így tanulmányozhatóvá válik az MHC II-TCR interakció hatása az IL-15 transz-prezentációra. A transz-prezentáció kimutatására Förster rezonancia energia transzfer (FRET) méréseket végeztünk a β és α alegységek között. Az IL-15R α mCherry fluoreszcens fehérjével jelölt formában (N-terminálison) expresszálódik a Raji sejteken, az IL-2/15R β alegységet Alexa488-Mik β 3 antitesttel jelöltük. A FRET mérések közvetlenül bizonyítják az IL-2/15R β és IL-15R α alegységek összeszerelődését transz-prezentáció során. Az alegységek közt mérhető FRET megnőtt az MHC II-TCR interakció hatására. Transzprezentáció során mind az IL-15R α , mind az IL-2/15R β alegység feldúsul a szinapszisban, azonban SEE és IL-15 szimultán kezelés hatására ez a feldúsulás kisebb mértékű.

Fehérjeklaszterek T sejtek membránjában és blebjein (E20)

Mocsár Gábor¹, Zubánics-Nagy Áron¹, Volkó Julianna¹, Tóth Katalin², Waldmann Thomas A.⁴, Wieser Stefan³, Vereb György¹, Schütz Gerhard³, Bodnár Andrea¹, Vámosi György¹

¹ Debreceni Egyetem, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

³ Institute of Applied Physics, Vienna University of Technology

⁴ Lymphoid Malignancies Branch, National Cancer Institute, Bethesda, USA

A membránfehérjékből felépülő sejtfelszíni struktúrák változatos térbeli és időbeli szerkezettel rendelkeznek, több hierarchikus szinten szerveződnek. Az immunfolyamatokban fontos szereppel rendelkező interleukin-2 és -15 citokin receptorok és az MHC I és II molekulák közös klaszterekben fejeződnek ki T sejtek membránjában. Tápanyag megvonás hatására a sejteken apoptotikus/nekrotikus membrán hólyagok, blebek alakulnak ki, a nagyméretű blebek membránja nem rendelkezik citoszkeletális kapcsolatokkal, azokat citoszkeleton mentes modellmembránnak használtuk.

Kísérleteinkben arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a citoszkeleton hiánya, a fehérjék mobilitásának a növekedése, illetve a membrán mikrodomén szerkezetének megváltozása a blebeken hogyan hat az MHC I, MHC II, valamint az IL-2R α és IL-15R α - alegységek klaszterméreteire, homo- illetve heteroasszociációjára, a fehérje-fehérje kölcsönhatások stabilak maradnak-e a citoszkeleton hiányában.

Az ép sejtfelszínen, illetve a blebek felszínén a receptorok és molekulák klaszterméreteinek meghatározását szuperfeloldású STED képek analízisével végeztük el. A közös komplexekben levő fehérjék arányát fluoreszcencia keresztkorrelációs spektroszkópiával vizsgáltuk meg. A fehérjék homo- és heteroasszociációit többcsatornás fluoreszcencia intenzitásmérésen alapuló mikroszkópos FRET méréssel jellemeztük.

Méréseink szerint, 40 nm-es feloldás mellett, a blebek felszínén fehérjeeloszlások homogének, nem volt jele magasabb szintű szerveződésnek, illetve mikrodomének jelenlétének. A mérési eredmények alapján megállapítható, hogy a fehérjék aránya a közös komplexekben, valamint ezen fehérjeasszociációk stabilitása független a citoszkeletonnal való kapcsolattól és a magasabb szerveződésű sejtmembrán eltűnésétől.

Új intracelluláris jelátviteli mechanizmus? Interleukin receptor összeszerelődés az ER-ben és a Golgi-ban (E21)

Volkó Julianna¹, Kenesei Ádám¹, Mocsár Gábor¹, Várnai Péter², Tóth Katalin³, Waldmann
Thomas A.⁴, Vámosi György¹

¹ Debreceni Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² Semmelweis Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet

³ German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

⁴ NIH, CCR, Lymphoid Malignancies Branch, Bethesda MD, USA

Az interleukin-2 és -15 citokinek központi szerepet töltenek be az immunrendszer szabályozásában, kontrollálva a limfociták túlélését és apoptózisát, meghatározó jelentőségűek különböző leukémiákban és autoimmun betegségekben. Heterotrimer receptoraik a sejtmembránban ligandspecifikus, saját α -alegységekkel rendelkeznek, ugyanakkor a jelátvivő β - és γ -láncokat közösen használják. A sejtfelszínen kifejeződő receptor láncokat célzó anti-IL-2R α (daclizumab) terápiákkal, melyek a T sejt proliferáció gátlására irányulnak, csekély siker érhető el felnőttkori T sejt leukémiában (ATL) és sclerosis multiplex-ben. Kíváncsiak voltunk, vajon az IL-2R alegységek képesek-e összeszerelődni így hatékony jelátvitelt lehetővé tenni már az endoplazmatikus retikulumban (ER) és/vagy a Golgi-ban, mielőtt a sejtfelszínre jutnak.

Az EGFP vagy mCherry fluoreszcens fehérjével jelölt receptor láncok összeszerelődését a szekréciós úton (az ER és a Golgi területén) élő HeLa sejtekben vizsgáltuk konfokális mikroszkópiás intenzitás-alapú Förster rezonancia energia transzfer (FRET) mérések segítségével.

Az ER-ben és a Golgi-ban is sikerült energiatranszfert mérni a β - és a γ -, valamint a β - és az IL-2R α -ill. IL-15R α alegységek között. Az IL-2R α heteroasszociációját az IL-15R α -val és a γ -láncok homoasszociációját szintén kimutattuk ezekben a sejtorganellumokban. A β -IL-2R α /IL-15R α és az IL-2R α -IL-15R α heteroasszociációkat jellemző energiatranszfer hatásfokok szignifikánsan magasabbak voltak a plazmamembránban, mint az ER-ben vagy a Golgi-ban, ami arra utal, hogy a szekréciós út során történő részleges asszociáció után, az alegységek összeszerelődése a sejtfelszínen fejeződik be.

IL-2-termelő T sejtekben a jelátvitel végbemehet az ER/Golgi-ban előre összeszerelődött receptorok által. Eredményeink rávilágíthatnak az intracelluláris autokrin jelátvitel egy új paradigmájára ill. magyarázatot adhatnak a sejtfelszíni receptorokat célzó antagonistá antitest terápiák rezisztenciájára.

Membránszterolok és -ceramidok támadáspontjának meghatározása feszültségkapuzott káliumcsatornákon voltage-clamp fluorometry (TEVCF) módszerrel (E22)

Zákány Florina¹, Kovács Tamás¹, Panyi György¹, Varga Zoltán¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A feszültségkapuzott káliumcsatornák (Kv) egy feszültség szenzor (VSD) és egy pórusdoménből (PD) épülnek fel. A VSD felelős a membránpotenciál érzékeléséért, míg a PD az ionok számára átjárható pórust alakítja ki. Ismert, hogy a membrán koleszterin (hiperkoleszetrinémia, Smith-Lemli-Opitz szindróma), illetve ceramid (Gaucher-kór) tartalmának növelése befolyásolja a Kv csatornák több kapuzási paraméterét. A kísérletek során azt határoztuk meg, hogy ezek a lipidek melyik doménen keresztül hatva fejtik ki elektrofiziológiai hatásaikat, a VSD vagy a PD az elsődleges célpontjuk.

A fenti betegségek membránbiofizikai modelljeinek kialakításához *Xenopus laevis* oociták membránját töltöttünk metil-béta-ciklodextrin-koleszterin vagy -7-dehidrokoleszterin komplexekkel, valamint C16-ceramiddal, illetve C16-glikozilceramiddal. Az elektrofiziológiai méréseket TEVCF módszerrel végeztük, ami a patch-clamp mérésekkel szemben az ionáramok meghatározásával egyidőben lehetővé teszi a VSD mozgásának monitorozását a VSD extracelluláris részének MTS-TAMRA fluoreszcens festékkel történő jelölését követően. Így egyszerre kapunk információt a PD (G-V görbe, áramkinetika) és a VSD (F-V görbe, fluor. jel kinetika) állapotáról a kapuzási folyamat alatt, ezáltal nemcsak a fent említett lipidek ionáramra gyakorolt elektrofiziológiai hatásai, hanem azok ioncsatornán belüli célpontja (VSD vagy PD) is azonosíthatóvá válnak. A VSD-PD közti csatolás vizsgálatoz az eltérő csatolási mechanizmussal bíró Kv1.3 és Kv10.1 csatornákon végeztük el a kísérleteinket.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a szterolok elektrofiziológiai hatásait a Kv csatornák PD-jén keresztül fejtik ki. Ezzel szemben a C16-glikozilceramid és C16-ceramid más támadásponttal rendelkezik, méréseink alapján előbbi a PD-n, utóbbi a VSD-n keresztül fejt ki hatását. A ceramidok támadáspontjának további vizsgálatához a két VSD-ből felépülő feszültségkapuzott protoncsatornán (Hv1) tervezünk hasonló méréseket.

Köszönetnyilvánítás: ÚNKP-18-3-IV-DE 54

Bioszenzorika és bio-nanotechnológia

Label-free protein detection with an optofluidic lab-on-chip sensor (E23)

Lóránd Kelemen^{1,*}, Eugenia Lepera², Bence Horváth¹, Pál Ormos¹, Roberto Osellame² and Rebeca Martínez Vázquez²

¹ *Biological Research Centre, Institute of Biophysics, Hungarian Academy of Sciences, Temesvári krt. 62, 6726 Szeged, Hungary;*

² *Institute for Photonics and Nanotechnologies, National Research Council, Piazza Leonardo da Vinci, 32, 20133 Milan, Italy*

Whispering gallery mode (WGM) resonators are promising optical structures for microfluidic label-free biosensors mainly due to their high sensitivity. Their real laboratory diagnostic application however lacks a robust fabrication method that offers a complete device of practical value. Here we report on a monolithic lab on a chip sensor fabricated by a hybrid femtosecond laser micromachining approach, for label-free biosensing of a selected protein. It consists of a polymer WGM microresonator sensor made by two-photon polymerization directly inside a glass microfluidic chip prepared by laser-assisted etching. The device, after a thorough geometry optimization, presents a refractive index change sensitivity of 61 nm/RIU. We demonstrate its bio-sensing capability exploiting the biotin-streptavidin binding affinity, obtaining a detectable minimum protein surface density increase of 67×10^3 molecules/ μm^2 .

Acknowledgements

This work was supported by funding received from the CONCERT-Japan Photonic Manufacturing Joint Call (FEASIBLE project), GINOP-2.3.2-15- 2016-00001, GINOP-2.3.3-15-2016-00040 and the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Programme under grant agreement No. 654148 Laserlab-Europe.

Színek módosítása lepkék szárnyán (E24)

Kertész Krisztián¹, Piszter Gábor¹, Horváth Zsolt Endre¹ Bálint Zsolt², és Biró László Péter¹

¹ *Energiatudományi Kutatóközpont, Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet*

² *Magyar Természettudományi Múzeum, Lepkegyűjtemény*

A természetben több példa fellelhető nanoszerkezetből származó színek képződésére, különösen látványos ez az ízeltlábúak között. A lepkeszárnyak esetében az irizáló kék szín a szárnypikkelyben található, fény hullámhosszával összemérhető méretű nanoarchitektúra és a festékanyagok összességének eredménye [1].

Korábban megmutattuk az Európából és Ázsiából származó (> 300 egyed) hím Ikarusz boglárka példányok vizsgálatával, hogy a faj egyedei színbeli eltérést mutatnak a kontinensek között [2]. Ugyanakkor igazoltuk [3], hogy hosszú idejű hűtés hatására a báb állapot ideje akár megtízszerezhető, de ennek hatására a szerkezeti eredetű színek alig változnak, míg a pigment eredetű mintázat drasztikus változást szenved. Most a kísérletek megismétlésével vizsgáljuk a reprodukálhatóságot, és pontosítjuk az elért változások jellemzését. A szerkezeti színek stabilitása fontos tulajdonság a vizsgált alkalmazási lehetőségek szempontjából.

A szerkezeti eredetű színek esetében megváltozik a szárnyakról visszavert fény jellemző spektruma, ha a környezeti levegőbe más, eltérő törésmutatójú anyagot keverünk. A spektrométerrel mérhető változás összefügg a hozzáadott anyag koncentrációjával és anyagi minőségével [4], és az összefüggést hangolni is lehet [5]. Jelen munkában megmutatjuk hasonló nanoszerkezetek eltérő érzékelési tulajdonságait [6] valamint levegőhöz adott kétkomponensű gőzkeverékek érzékelésének lehetőségét.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat támogatja az OTKA K111741 és K115724.

Irodalom

[1] Biró LP, Vigner JP (2011) Laser Photon Rev 5: 27.

[2] Kertész K, Piszter G, Bálint Zs, Biró LP (2019) Sci Rep 9: 2338.

[3] Kertész K, Piszter G, Horváth ZsE, Bálint Zs, Biró LP (2017) Sci Rep 7: 1118.

[4] Potyrailo RA, Ghiradella H, Vertiatchikh A, Dovidenko K, Cournoyer J, Olson E (2007) Nat Photonics 1: 123-128.

[5] Piszter G, Kertész K, Bálint Zs, Biró LP (2016) Sensors 16: 1446.

[6] Kertész K, Piszter G, Bálint Zs, Biró LP (2018) Sensors 18: 4282.

Virális DNS kilökődés bakteriális membrán modellekben (E25)**Kiss Bálint¹** , Tordai Hedvig¹ , Bozó Tamás¹ , Kellermayer Miklós¹¹ *Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest*

Gram-negatív baktériumok sejtfalának külső felszínét nagyrészt fehérjék és lipopoliszacharidok (LPS) alkotják. Ezen alkotóelemek között található az a molekula melyet a T7 bakteriofágok fertőzésük kezdetén felismernek. Az, hogy a letapadást követően milyen szerkezetbeli változások indítják be és valósítják meg a virális genom bejuttatását a célsejtbe részleteiben feltáratlan. Célunk egy olyan modellmembrán felépítése melynek segítségével a T7 fágok kikötődése és ezt követően a DNS kilökődése megfigyelhető. Ahhoz, hogy az LPS által alkotott szupramolekuláris struktúrákat, illetve az LPS bakteriális membrán szerkezetére való hatását jobban megérthessük, lipid kettősrétegekhez hozzáadott LPS mintákat készítettünk, illetve különféle összetételű és LPS tartalmú liposzómákat preparáltunk extrúziós módszerrel. A vizsgálatokat atomerőmikroszkópos (AFM) képalkotás segítségével végeztük. Az atomerőmikroszkópos felvételeken azonosítottuk az LPS-eket, megfigyeltük a membránon belüli eloszlásukat és a lipid kettősrétegekre gyakorolt hatásukat. Megvizsgáltuk, hogy milyen hatással van magára a lipid kettősrétegre, illetve a membránban szétoszló LPS molekulákra a hőmérséklet változtatása és az oldószer összetétele. Ahhoz, hogy a natív állapothoz a lehető legközelebbi modellt alkothassunk *E. coli* külső membrán kivonatot készítettünk. A virális DNS kilökődést LPS tartalmú minták jelenlétében vizsgáltuk fluoreszcens, illetve lézercsipeszes technikákkal. Mivel a bakteriofágok vélhetően az LPS-t, vagy az LPS rétegbe ágyazódó fehérjéket ismerik fel a fertőzési ciklus kezdő lépéseként, munkánk hosszútávú célja az LPS tartalmú membránok pontosabb megértésén keresztül egy olyan optimalizált modellrendszer létrehozása, amelyben a T7 bakteriofág fertőzési mechanizmusa viszonylag könnyen tanulmányozhatóvá válik.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával készült (Nemzeti Szívprogram NVKP-16-1-2016-0017, OTKA K124966)

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

Felületi kölcsönhatások erősségének egyedi-sejt szintű mérése automatizált mikropipettával (E26)

Gerecsei Tamás^{1,2}, Erdődi István³, Székács Inna², Hős Csaba³, Szabó Bálint^{1,2} és Horváth Róbert²

¹ ELTE TTK, Biológiai Fizika Tanszék

² MTA EK MFA Nanobioszenzorika Kutatócsoport

³ BME GPK Hidrodinamikai Rendszerek Tanszék

A biológiai tudományokban zajló robbanásszerű fejlődés jelentős felismerései közé tartozik, hogy az élő sejtek populáció jóval kevésbé homogének mint azt korábban feltételezték, ezért az úgynevezett egyedi-sejtes technológiák mára meghatározó kutatási irányvá váltak a kísérletes biológia és a biofizika területén. Egy alapvető biológiai jelenség, az adhézió, egyedi-sejt szintű mérésére jelenleg még kevés módszer létezik, azonban a terület rohamosan fejlődik hiszen az ilyen jellegű vizsgálatok által alapvető fontosságú biológiai kérdésekre adhatunk választ [1].

Munkám során egy új módszert, az automatizált mikropipettát [2] alkalmaztam sejtpopulációk egyedi-sejt szintű adhéziós erő eloszlásának mérésére, illetve egy olyan modell rendszert fejlesztettem ki, amely a kapott erő értékek lehető legpontosabb meghatározását teszi lehetővé. A rendszer mikroszkopikus méretű polisztirol gyöngyök felületének avidin-biotin kötésen keresztüli kémiai funkcionálisításán alapul. A beállított nyomáskülönbség által a sejtre kifejtett erőt numerikus szimulációk segítségével határoztuk meg. Mivel a szimuláció eredménye függ a modell rendszer geometriájától, optikai hullámvezető spektroszkópiával karakterizáltuk a gyöngyök és a felszín közötti kontaktust és az abban lévő kötések számát. A mért erő kalibrációjához egy szintén új, atomerő-mikroszkópián (AFM) alapuló módszert, a FluidFM-et alkalmaztam. A technika lényege, hogy egy mikrofluidikai csatornával ellátott AFM mérőfejjel sejteket vagy mikroszkopikus részecskéket választunk el az aljzattól miközben mérjük a fellépő tapadási erőt.

A két módszer alkalmazása által kapott erőspektrumok jó egyezést mutattak így beláttuk, hogy a mikropipettás módszer lényegében a kolloid erőspektroszkópia magas áteresztőképességű verziójaként alkalmazható bármilyen biológiai vagy általános molekuláris kölcsönhatás erősségének mérésére. Demonstráljuk továbbá, hogy a gyöngyfelületet eukarióta vagy bakteriális felületi motívumokkal bevonva képesek vagyunk megmérni az egyes felületi komponensek hozzájárulását az adhéziós folyamatokhoz

Irodalom

- [1] Ungai-Salánki, R., Peter, B., Gerecsei, T., Orgovan, N., Horvath, R., & Szabó, B. (2019). A practical review on the measurement tools for cellular adhesion force. *Advances in Colloid and Interface Science*.
[2] Ungai-Salánki, R., Gerecsei, T., Fürjes, P., Orgovan, N., Sándor, N., Holczer, E., ... & Szabó, B. (2016). Automated single cell isolation from suspension with computer vision. *Scientific reports*, 6, 20375.

Magnetit-kötő flagelláris filamentumok kötési tulajdonságainak vizsgálata eltérő morfológiájú magnetit nanorészecskékkel (E27)

Nagy Georgina, Papp Lejla, Pósfai Mihály, Vonderviszt Ferenc

Pannon Egyetem, Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet

A mágneses nanorészecskék felhasználása igen széleskörű, számos műszaki és orvostudományi alkalmazásuk ismert. A mágneses nanokristályok alakja és mérete az adott alkalmazás szempontjából lényeges, ám szabályozása nem egyszerű. A magnetit kristályok egyensúlyi morfológiája az oktaéder, különböző laboratóriumi szintézis módszerekkel azonban ettől eltérő, pl. kocka alak is kialakítható.

Kutatómunkánk célja az volt, hogy biológiai templáton különböző morfológiájú mágneses nanorészecskéket felhasználva egyenletes borítottságú mágneses nanoszálakat állítsunk elő, és hogy megvizsgáljuk, van-e különbség az eltérő morfológiájú kristályok filamentumokhoz való kötődésében.

Ennek első lépéseként a baktériumok flagelláris filamentumait felépítő fehérje alegység, a flagellin felszíni doménjét módosítottuk génsebészeti módszerekkel, és ezáltal olyan variánsokat alkottunk, melyekbe a magnetit nukleációjában és/vagy megkötésében szerepet játszó oligopeptideket építettünk be.

Szelekciós eljárással kiválasztottuk azokat a variánsokat, amelyek a legnagyobb affinitással képesek a különböző magnetit részecskéket felszínükön kötni. A legnagyobb kötési affinitást egy magnetoszóma membránfehérje, a MamI kötőrégiója, valamint egy szintetikus peptid, az IB2 mutatta.

Valamennyi variáns esetében vizsgáltuk a kötési tulajdonságokat mind az oktaéder, mind a kocka magnetit jelenlétében transzmissziós elektronmikroszkóp segítségével. A kocka alakú magnetittel egyenletesebb borítást értünk el a filamentumok felületén, mint az oktaéderes alakúakkal.

Köszönetnyilvánítás

A kutatómunkát az ERA-CHEMISTRY NN-117642 és a BIONANO_GINOP-2.3.2-15-2016-00017 projektek támogatták.

Bioenergetika és fotobiofizika

A MICU1 fehérje szerepe neuronok mitokondriális Ca^{2+} homeosztázisában és túlélésében (E28)**Bartók Ádám^{1,2}**, Raghavendra Singh², Hajnóczky György²¹ *Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézet*² *MitoCare Center, Dept. of Pathology, Anatomy and Cell Biology, Thomas Jefferson University, Philadelphia PA*

A mitokondriális Ca^{2+} homeosztázis a sejt energia termelésének, a sejthalál mechanizmusának és az intracelluláris Ca^{2+} jelek kialakulásának egyaránt elengedhetetlen szabályozó eleme. A MICU1 egy, a mitokondriális Ca^{2+} uniporter (MCU) működését szabályozó intermembrán térben elhelyezkedő fehérje, mely a mitokondriális Ca^{2+} felvétel extramitokondriális Ca^{2+} szint általi szabályozását biztosítja. Ez a szabályozás kettős természetű, azaz alacsony Ca^{2+} szint mellett a MICU1 fehérje az MCU zárva tartásával a mitokondriális Ca^{2+} felvételt gátolja, míg az ER/SR felől érkező Ca^{2+} jel hatására az MCU aktiválásával a mitokondriális Ca^{2+} felvételt segíti elő. A MICU1 fehérje génjének funkcióvesztéses mutációja humán betegekben progresszív tanulási zavar, izomgyengeség, krónikus fáradtság és mozgási rendellenességek kialakulásához vezet.

A MICU1 működésének pontosabb megértéséhez létrehoztunk egy neuron specifikus MICU1-KO egér vonalat. Élő állaton végzett viselkedési tesztekkel a humán betegeknek leírtakhoz hasonló, progresszív tanulási és mozgási rendellenességeket mutattunk ki. Szöveti vizsgálatokkal a gerincvelőben csökkent motor neuron számot, míg a motoros kéregben a dendritikus nyúlványok megváltozott morfológiáját találtuk. *Ex vivo* növesztett kortikális neuronokban megváltozott citoszolikus és mitokondriális Ca^{2+} jeleket mértünk, mely a MICU1-KO sejtek fokozott elhalásához vezetett excitotoxikus stimuláció alkalmazása esetén. Humán betegekből izolált fibroblasztok és limfoblasztok szintén megváltozott mitokondriális Ca^{2+} homeosztázist és emelkedett sejthalálozást mutattak. Eredményeink alátámasztják azt a feltevést, hogy a humán betegekben a MICU1 hiányában a neuronokban megváltozott mitokondriális Ca^{2+} homeosztázis következménye a neurodegeneráció, és az azt kísérő progresszív kognitív és mozgási zavarok kialakulása.

Köszönetnyilvánítás

Bartók Ádám a Tempus Közalapítvány által nyújtott Magyar Állami Eötvös Ösztöndíj támogatásában részesült.

A gerjesztési energia vándorlása fotoszintetizáló baktériumok antennájában (E29)

Maróti Péter^{1*}, Iglói Ferenc^{2,3}, Kis Mariann¹, Kovács István³ és Smart James^{4*}

¹Szegedi Tudományegyetem TTIK-ÁOK Orvosi Fizikai Intézet

²Szegedi Tudományegyetem TTIK Elméleti Fizikai Intézet

³MTA SZFKI Budapest

⁴Tennessee Egyetem Biológiai Intézet, Martin, USA

*email: pmaroti@sol.cc.u-szeged.hu

A fotoszintetikus egységek (PSU) közötti gerjesztési energia átadása klasszikus Joliot (később Lavergne-Trissl) elmélete [1] hiányosságainak felderítésére *Rba. sphaeroides* fotoszintetizáló baktériumokon párhuzamosan mértük a fluoreszcencia hatásfokának (ϕ) emelkedését és a reakciócentrumok (RC) bezáródását (az oxidált dimer mennyiségét, $[P^+]$ -t) gerjesztő fény hatására (indukció, [2]), valamint ezt követően sötétben ϕ lecsengését és a bezárt RC-ok fokozatos kinyitását (relaxáció, [3]). A RC többszöri átfordulásának kiküszöbölésére olyan mutánst (*cycA*) állítottunk elő, amelyből hiányoznak a P^+ gyors visszaredukálásáért felelős citokrómok [4]. A kinetikákból meghatározott ϕ vs. $[P^+]$ függvények nyilvánvaló eltéréseket mutatnak a Joliot-elméletből számítottakkal: 1) az indukcióban és relaxációban mért görbék különböznek, 2) a $0 < p < 1$ csatolási paraméter nem állandó, hanem a nyitott/zárt PSU-k arányától függ, 3) a hiperbola nem merőleges szárú, és 4) mérési pontok szisztematikusan eltérnek a számított görbétől. A megfigyelt eltéréseket azzal magyarázzuk, hogy 1) a gerjesztési energia az élettartama alatt a PSU-k által meghatározott négyzettrácson bolyong, 2) a zárt PSU-k térbeli eloszlása nem marad véletlenszerű az indukció során (mint ahogy azt a Joliot elmélet feltételezi), hanem csomósodások lépnek fel a PSU-k közötti energetikai csatolás miatt.

[1] de Rivoyre M, Ginet N, Bouyer P, Lavergne J (2010) BBA 1797:1780-1794.

[2] Maróti P (2016) In: Handbook of Photosynthesis, Pessarakli (ed) 3rd ed. pp 463-483 CRC Press, Boca Raton.

[3] Asztalos E, Sipka G, Maróti P (2014) Photosynth Res 124:31-44.

[4] Sipka G, Kis M, Smart JL, Maróti P (2018) Photosynthetica 56(1):125-131

A munka az EFOP-3.6.2-16-2017-00001 támogatásával készült.

Exciton–radical-pair equilibration in Photosystem II observed by two-dimensional electronic spectroscopy (E30)

Petar Lambrev¹, Parveen Akhtar^{1,2}, Pawel Nowakowski³, Gábor Sipka¹, Guangye Han⁴, Jian-Ren⁵ Shen, Győző Garab¹, Howe-Siang Tan³

¹ Biological Research Centre HAS, Plant Biology Institute

² ELI-ALPS, ELI Nonprofit Ltd.

³ Nanyang Technological University, School of Physical and Mathematical Sciences, Singapore

⁴ Photosynthesis Research Center, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China

⁵ Photosynthesis Research Center, Okayama University, Okayama, Japan

The kinetics of energy transfer and charge separation in isolated Photosystem II (PSII) core complexes was studied by time-resolved fluorescence, femtosecond transient absorption and two-dimensional electronic spectroscopy (2DES). Time-resolved fluorescence showed that the main excited-state deactivation time constant in PSII with open reaction centres is around 40 ps, in accordance with literature results. Global analysis of the transient absorption data revealed lifetimes of 200 fs and 3–4 ps (assigned mainly to energy equilibration among antenna chlorophylls), 35–40 ps (the main photochemical trapping), 200–250 ps (electron transfer from pheophytin to QA) and a nanosecond component (re-reduction of P680⁺). The transient spectra of the reduced pheophytin and oxidized P680 are well defined. These data are in excellent agreement with previous results. 2DES, performed under identical excitation conditions, further resolved uphill and downhill pathways of energy transfer in the antenna as well as equilibration between the primary radical pair and the antenna occurring on a sub-picosecond timescale. The results bring new evidence supporting the exciton–radical-pair equilibrium model of PSII kinetics.

Acknowledgements

The work was supported by grants from the Hungarian Ministry of Finance (GINOP-2.3.2-15-2016-00001), the National Research, Development and Innovation Office (NKFIH NN 124904; 2018-1.2.1-NKP-2018-00009), and the Singapore Ministry of Education Academic Research Fund (Tier 2 MOE2015-T2-039).

Sóstressz illetve ozmotikus stressz hatása a fotoszintetikus apparátus kialakulására és működésére (E31)

Sóti Adél¹, Ounoki Roumaissa¹, Kósa Annamária¹, Beata Mysliwa-Kurdziel² és Solymosi Katalin¹

¹ ELTE – Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Növény-szervezettani Tanszék
² Krakkói Jagelló Egyetem, Növényélettani és Biokémiai Tanszék

A nem megfelelő talajmegművelési és öntözési eljárások következtében Földünk mezőgazdaságilag megművelhető területének egyre jelentősebb részén (egyes becslések szerint közel 800 millió hektáron) okoz gondot a talaj magas sókoncentrációja [1]. A talajban felhalmozódó káros ionok a legtöbb termesztett növényünk fejlődését és termés hozamát negatívan befolyásolják. A sóstressz komplex módon hat a növények anyagcseréjére és élettani folyamataira. Rövidtávon hiperozmotikus stresszt okoz, amelynek következtében csökken a vízpotenciál, és így a növény vízfelvétele és a sejtek növekedése is gátolt, hosszabb távon pedig az egyes szövetekben, szövetekben, sejtekben illetve sejtalkotókban felhalmozódó ionok (Na^+ és Cl^-) specifikus toxikus hatásai kerülhetnek előtérbe [2].

Munkánk során azonos ozmolaritású só- (600 mM NaCl:KCl, 1:1) illetve polietilén-glikol (PEG) oldat hatását vizsgáltuk egy hazai búzafajta (*Triticum aestivum* L. Mv. Béres) sötétben nevelt csíranövényeinek levelében található szintestekre, a bennük zajló klorofill szintézisre és fokozatos zöldülésre. Már pár órás kezelés is a tilakoidmembránok specifikus és ionok által indukált duzzadását okozza a sóstresszelt mintában, míg a PEG kezelés hatásai kevésbé szembetűnők. A klorofill bioszintézise és a fotoszintetikus apparátus kiépülése és működése, a kloroplasztiszok fejlődése teljes mértékben gátolt volt a sóoldaton, míg a pusztán hiperozmotikus stresszt előidéző PEG oldaton, ha valamivel lassabban is, de mindkét folyamat végbement. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a klorofill bioszintézist és a zöldülést a sóstressz specifikus ionos komponense(i) gátolja(k), önmagában az ozmotikus stressz kevésbé hat rá negatívan.

Köszönetnyilvánítás

A kutatásokat az OTKA (FK 124748) és az MTA Bolyai János kutatási ösztöndíja (S.K.) támogatta.

Irodalom

- [1] FAO (2015) FAO Land and Plant Nutrition Management Service. Rome.
- [2] Maathuis FJM, Ahmad I, Patishtan J (2014) *Front Plant Sci* 5: 467.

Fényindukált komplex folyamatok kinetikai modellezése gépi tanulás módszerével (E32)

Groma Géza, Sarlós Ferenc, Sipos Áron, Nagypál Rita, Nagy Dávid, Dér András, Zimányi László

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A biológiai mintákon végzett időbontott spektroszkópiai vizsgálatok jelentős része elsőrendű kinetikák komplex rendszerével írható le [1]. Ilyenek a különböző konformációs állapotban levő FAD vagy NADH molekulákból származó fluoreszcencia kinetikák, valamint a retinál fehérjék és a fotoszintetikus rendszerek fényindukált folyamatainak kinetikái. Noha e folyamatok leggyakrabban exponenciális függvények összegével írhatók le, a modellezésnél súlyos nehézségeket okoz, hogy (1) a sokszor több nagyságrendet átfogó időtartományon kevés mérési pont áll rendelkezésre, (2) a komponensek számát nem ismerjük előre, (3) az exponenciális illesztés instabil probléma: kis bemeneti zaj is nagy bizonytalanságot eredményezhet a paraméterekben, (4) nem garantált a globális illesztési minimum elérése.

Megmutatjuk, hogy a fenti problémák elkerülhetők a modern statisztika két módszerének alkalmazásával. Egyrészt a kis- (és ismeretlen) számú exponenciális illesztése helyett az időállandók egy nagyszámú, kvázifolytonos halmazán keresünk ritka (sparse) megoldásokat, azaz olyan eloszlásokat, amelyek csak néhány pontban különböznek zérustól [2]. Másrészt a ritkaság mértékét szabályzó hiperparaméter(ek)e)t az adott zajszintnek megfelelően választjuk ki, valamely resampling technikán (pl. cross-validation) alapuló gépi tanulás (Bayesian Optimization) útján. Ez az eljárás automatikusan optimalizál a kevés paraméterrel való gyenge illesztés (high bias) és a sok paraméterrel való zajra illesztés (high variance) között.

A fenti eljárást elsőként alkalmaztuk komplex elsőrendű kinetikák modellezésére. Eredményességét a bakteriorodopszin fotociklus és a FAD fluoreszcencia kinetikáin fellépő Hofmester effektus tanulmányozásán mutatjuk be.

Köszönetnyilvánítás

Ez a munka az NKFIH GINOP-2.3.2-15-2016-00001 projekt támogatásával készült.

Irodalom

- [1] van Stokkum IHM, Larsen DS, van Grondelle, R (2004) *Biochim Biophys Acta* 1657: 82–104.
- [2] Groma GI, Heiner Z, Makai A Sarlos F (2012) *RSC Adv* 2: 11481–11490.

Elméleti biofizika

Folyadék fázisátmenet útján létrejövő biológiai kondenzátumok szerepe a sejtes folyamatok hatékonyságának növelésében (E33)Pancsa Rita¹, Tompa Péter¹¹ MTA TTK, Enzimológiai Intézet

Az elmúlt évek egyik legizgalmasabb molekuláris és sejtbiológiai felfedezése, hogy bizonyos fehérjék képesek folyadék fázisátmenet útján különböző membrán nélküli testeket/kondenzátumokat létrehozni a sejtekben, ilyenek például a stressz granulumok, P-testek, a nukleólusz vagy a posztszinaptikus denzitások [1]. A különböző membrán nélküli testek (MNTk) fontos funkciókat töltenek be a sejtek normál működésében és stressztűrésében. Egyre több sejtes folyamatról derül ki, hogy ilyen kondenzátumok kialakulása révén megy végbe, ide tartozik például a transzkripció szabályozás és több membrán receptor jelátviteli hálózata is. Kialakulásuk, úgynevezett folyadék fázisátmenet útján történik, amely többnyire alacsony szekvencia komplexitású, rendezetlen fehérje régiók közti multivalens, gyenge kölcsönhatásokhoz, vagy multivalens domén-motívum kölcsönhatásokhoz köthető. Az ilyen folyamatok alapvető fontosságát jól mutatja, hogy a meghatározó fehérje régiókat érintő mutációk súlyos neurológiai betegségekhez köthetők, mint például az amiotrófiás laterálsklerózis és frontotemporális demencia, valamint különböző rákos megbetegedésekben és muszkuláris atrófiákban is szerepet játszanak. Minden jel arra mutat, hogy a fehérjék általi folyadék fázisátmenet egy általános mechanizmus a sejten belüli tér rendszerezésére, amit nem csak az eukarióta sejtek alkalmaznak, de a baktériumok és vírusok is.

A kialakult kondenzátumok változatos funkciókat látnak el, mi egy 5 kategóriából álló rendszert javasoltunk funkcionális osztályozásukra [2]. Ezen kívül a kapcsolódó irodalom alapos átvizsgálásával összegyűjtöttük és változatos szempontok szerint annotáltuk az eddig leírt, folyadék fázisátmenetet képző fehérjéket és létrehoztuk első önálló adatbázisukat (publikáció alatt). Következő lépésként az ilyen folyamatok alternatív splicing általi szabályozottságát fogjuk vizsgálni, mely során szövetspecifikus jellegek és rákos mutációk általi splicing mintázat változások azonosítását is tervezzük.

Köszönetnyilvánítás

Köszönet a Dosztányi és Tompa csoport tagjainak, akik részt vettek a PhaSePro adatbázis elkészítésében.

Irodalom

[1] Shin Y, Brangwynne CP (2017) *Science* 357(6357).

[2] Pancsa R, Schad E, Tantos A, Tompa P (2018) *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom* pii: S1570-9639(19)30043-3.

Szerkezet alapú partner predikció lineáris motívum kötő fehérjékhez (E34)**Erdős Gábor¹, Dosztányi Zsuzsanna¹**¹ MTA-ELTE Lendület Bioinformatikai kutatócsoport

A rövid lineáris motívumok a fehérjék kompakt funkcionális régiói, amelyek specifikus globuláris doménekhez kapcsolódnak. Az ilyen jellegű kölcsönhatások alapvetően fontosak a biológiai rendszerekben; részt vesznek tranziens fehérje komplexek kialakításában, a sejten belüli lokalizáció, vagy a fehérje sorsának meghatározásában.

Az LC8 egy lineáris motívumot kötő, rendkívül jól konzervált eukarióta homodimer fehérje. Elsőként a dynein motor komplex részeként írták le, ám mára több mint 60 új kötőpartnerét azonosították. Az eddig feltárt kölcsönhatások közül többnek ismert a szerkezete, és ezek nagyon hasonló kötési mechanizmust írnak le. A fontossága ellenére az LC8 fehérje pontos funkciója máig ismeretlen, és kölcsönhatási hálózata még csak részben feltárt.

A már ismert kötőpartnerek lehetőséget adnak szekvencia vagy szerkezeti alapú predikciós eljárások kidolgozására, amelyek alapján további partnerek azonosíthatóak, azonban a jelenlegi módszerek több szempontból is limitáltak. A szekvencián alapuló módszerek nem képesek arra, hogy új típusú kötőmotívumot azonosítsanak, a szerkezet alapú predikciós módszerek pedig nem működnek megfelelően lineáris motívumok esetében. Kutatásunk célja egy olyan módszer kifejlesztése, amely a kötődőmód háromdimenziós szerkezete és kötőmechanizmusa alapján képes új kötőpartnerek azonosítására.

Az általunk kidolgozott módszer egy minden vizsgált rendszerre egyedi energiafüggvényen alapul, ami statisztikus potenciál alapján jellemzi a kölcsönhatást. A módszer lényege, hogy a Boltzmann statisztika alapján maximalizáljuk egy adott szerkezethez kötődő partnerek valószínűségét egy véletlenszerűen generált sokaságban. Eredményeink szerint a módszer képes jól kiválasztani az LC8 fehérje már ismert partnereit egy véletlen halmazból, anélkül hogy túl restriktív lenne új típusú motívumokkal szemben. Az energiafüggvény lehetőséget ad a molekuláris felismerésben fontos biofizikai tényezők felismerésében, és alkalmazható olyan rendszerekre is, amelyeknek szerkezete ismert, de a kötőmotívumát még nem írták le.

The role of conformational heterogeneity in the evolution of enzymes (E35)

Mónika Fuxreiter¹, Gyula Hoffka¹, Letif Mones²

¹MTA-DE Laboratory of Protein Dynamics, Department of Biochemistry and Molecular Biology,
University of Debrecen

²Department of Engineering, University of Cambridge

Designing artificial enzymes to catalyse reactions, which do not occur in Nature is a challenge for computational biology. The traditional procedure largely ignores protein motions, and exploits an interaction between a fixed quantum zone (QM) corresponding to the active site and a protein structure framework. The efficiency of such designs however, lags much behind that of natural enzymes. The only exception is the Kemp eliminase HG-3.17 [1], which has a catalytic activity comparable to the parent xylanase enzyme. We have employed multiscale QM/MM calculations to elucidate the molecular driving forces of the directed evolution process. Applying the Empirical Valence Bond [2] framework and the Free Energy Perturbation/Umbrella Sampling (FEP/US) method, we found that the reorganization energy is optimized throughout the development of HG-3.17 and enabled to suppress the promiscuous activities. Surprisingly, two conformers mutually play a role in optimization of the activity, and only the heterogeneous ensemble is capable to reproduce the experimental catalytic barriers. Determination of individual residue contributions highlighted the interplay between the different conformers and the optimization of the specific reaction. To our knowledge, this is the first example, where a conformationally heterogeneous system was involved in shaping enzymatic activity.

References

- [1] R. Blomberg, H. Kries, D. M. Pinkas, P. R. Mittl, H. K. Privett, S. L. Mayo, D. Hilvert (2013) *Nature*, 503:418-421
- [2] A. Warshel, R.M. Weiss, An empirical valence bond approach for comparing reactions in solutions and in enzymes, *J. Am. Chem. Soc.* (1980) 102: 6218–6226

Tissue hierarchies in plants can efficiently minimize somatic evolution and act as a functional germline (E36)

Kiss Máté¹, Derényi Imre¹ és Szöllősi Gergely János¹

¹ *Eötvös Loránd Tudományegyetem Biológiai Fizika Tanszék,
ELTE-MTA „Lendület” Evolúciós Genomika Kutatócsoport*

Plant growth is governed by cell divisions in the apical meristems, which are tissues of undifferentiated cells in the shoot buds. The central zone of each meristem harbors a small group of slowly dividing stem cells. From time to time meristems also produce cells that give rise to leaves and a new meristem, called axillary meristem, in the axil of each leaf. These axillary meristems have the potential to turn into apical meristems and start to form new branches, but it is not a priori known which ones.

Recent studies have found surprisingly few genetic differences between distant branches of large plants which implies that plants can manage to keep the number of cell divisions along each lineage low (less than one per year), despite the large number of constantly produced stem cells of the axillary meristems and the inherently stochastic nature of the growth process.

To understand how plants can minimize somatic evolution, we developed a hierarchical meristematic tissue model and used computer simulations to find the optimal parameters that minimize the number of cell divisions along each lineage. We found that the optimal solution involves slow stem cell divisions in the apical meristems, and an exponentially increasing divisional rate of cells away from the central zone. New axillary meristems are produced from a few cells at the edges of apical meristems via cell divisions along a perfect binary tree.

While recent empirical evidence suggests a non-segregated functional germline in plants, it has been unclear how plants are able to produce the steady source of cells with low divisional numbers that are necessary to limit intergenerational mutation rates. Our results demonstrate that there exists an efficient mechanism, which renders germline segregation unnecessary, as the tissue hierarchies underlying plant growth are themselves able to minimize the accumulation of somatic mutations to sufficient extent.

Modern biofizikai módszerek

A *Nematostella vectensis* TRPM2 ioncsatorna krio-elektron mikroszkópos szerkezete (E37)Szöllősi András¹, Zhang Zhe², Tóth Balázs¹, Chen Jue² és Csanády László¹¹Semmelweis Egyetem, Budapest; MTA-SE Lendület Ioncsatorna Kutatócsoport, Budapest²Rockefeller Egyetem, New York, USA; Howard Hughes Medical Institute, USA

A „Transient Receptor Potential Melastatin 2”, rövidítve TRPM2, fehérje egy nemszelektív kation csatorna, amely számos élettani folyamatban fontos szerepet tölt be, ezek közül kiemelendő az immunválaszban, inzulin szekrécióban és az állandó testhőmérséklet szabályozásában játszott szerepe. A TRPM2 fehérje aktivátorai a citoszólikus Ca^{2+} , foszfatidil-inozitol-4,5-biszfoszfát, valamint az ADP ribóz. Jelen előadásban a *Nematostella vectensis* csalánzóóból izolált TRPM2 ioncsatorna (nvTRPM2) ~3 Å felbontás mellett meghatározott krio-elektron mikroszkópos szerkezetét mutatjuk be a Ca^{2+} -kötött csukott konformációban. Rokon TRPM fehérjékkel összehasonlítva az nvTRPM2 fehérje szerkezete számos egyedi vonást tartalmaz, melyek segítenek jobban megérteni az ioncsatorna funkcionális jellegzetességeit. Az nvTRPM2 nagyobb Ca^{2+} iránti szelektivitása és ionáteresztő képessége jól magyarázható a negatív oldalláncokkal körbevett relatíve széles pórussal. A csatorna Ca^{2+} kötőhelye egy molekuláris alagúton keresztül a pórus alatti tágulatba torkollik, de emellett a citoszóllal is kapcsolatban van; ezen szerkezeti elemek ismeretében értelmezhetővé vált a csatorna markáns intra- és extracelluláris Ca^{2+} -függése. A szelektáló filtert követő rövid helikális régió az nvTRPM2 tetramer szerkezetében nyolc negatív oldalláncot tartalmaz. A humán TRPM2 ioncsatorna azonos régiójában lévő töltetlen oldalláncok a csatorna már korábban megfigyelt gyors inaktivációját okozzák. Összességében tehát az itt bemutatott krio-elektron mikroszkópos szerkezet nagyban hozzájárul a TRPM2 ioncsatorna kapuzási mechanizmusának megértéséhez.

Fénnyel szabályozott adenilát-cikláz fotoaktivációjának vizsgálata ultragyors infravörös tranziens abszorpciós spektroszkópiai módszerekkel (E38)

Lukács András, Pirisi Katalin¹, Jinnette Tolentino, James Iuliano, Peter J. Tonge², Greg Greetham³, és Stephen R. Meech⁴

¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet

² Department of Chemistry, Stony Brook University, New York

³ Rutherford Appleton Laboratory, Central Laser Facility

⁴ University of East Anglia, School of Chemistry

Az OaPAC nevű fehérje egy fotoaktivált adenilát-cikláz (PAC), amely az *Oscillatoria acuminata* cianobaktériumban található [1]. Az adenilát-cikláz fényaktivációja egy BLUF (Blue light sensing using FAD) domén segítségével valósul meg, amelyben a fény hatására egy gyors átrendeződés következik be a flavin adenin dinukleotid körüli hidrogénkötés-rendszerben [2].

Kék foton elnyelését követően az OaPAC klasszikus BLUF fehérjeként viselkedik és a flavin abszorpciós maximumának közel 10 nm-es vörös eltolódását figyelhetjük meg. Ultragyors infravörös tranziens abszorpció segítségével megállapítottuk, hogy a fényabszorpciót követően egy a pikoszekundumos skálán megvalósuló elektron transzfer folyamatra kerül sor. Ennek az elektron transzfernek a fotoaktivációban betöltött szerepét vizsgáltuk több mesterséges fluoro-tirozinnak a segítségével [3]: attól függően, hogy hol helyezkedik el a fluor a a fluoro-tirozin fenolgyűrűjén úgy változik a mesterséges aminosav pK értéke.

Infravörös tranziens abszorpció segítségével megállapítottuk, hogy a gerjesztést követően az OaPAC-ben proton kapcsolt elektron transzferre kerül sor, amely meghatározza az adenilát-cikláz fotoregulációját.

Köszönetnyilvánítás

EFOP-3.6.2-16

Irodalom

[1] Ohki M, et al. (2016) Structural insight into photoactivation of an adenylate cyclase from a photosynthetic cyanobacterium. *Proc Natl Acad Sci USA* 113:6659–6664

[2] Lukacs et al., (2014) BLUF Domain Function Does Not Require a Metastable Radical Intermediate State, (2014), *J. Am. Chem. Soc.*, 136, 4605–4615

[3] Gil et al., (2017) Photoactivation of the BLUF protein PixD probed by the site-specific incorporation of fluorotyrosine residues. *J. Am. Chem. Soc.*, 139, 14638– 14648,

Anizotróp szerkezetek leképezése újrapásztázó konfokális mikroszkóppal (RCM) (E39)

Steinbach Gábor¹, Lucas Patty², Nagy Dávid¹, Sipka Gábor², Erik Manders³, Garab Győző^{2,4}, Zimányi László

1 MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

2 MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

3 Confocal.nl

4 Biofotonika Kft.

Biológiai minták komplex molekuláris rendezett szerkezetének vizsgálata, bár a fénymikroszkópok limitált felbontóképessége miatt korlátozott, konfokális mikroszkópra épített differenciál-polarizációs mérési technikával (DP-LSM) feltérképezhető [1]. A közelmúltban sikerrel alkalmaztuk a DP mikroszkópiát rendezett növényi szerkezetek vizsgálatára [2]. Hasznos, ha a konfokális mikroszkópiában elérhető, a felbontóképességet növelő fejlesztéseket is igénybe véve kiterjesztjük a polarizált fénnel való szerkezetvizsgálat hatókörét. Az újrapásztázó konfokális mikroszkóp (RCM) sCMOS kamerán alapuló leképezése 1,4-szeres laterális feloldóképesség javulást és kedvezőbb jel-zaj viszonyt biztosít a PMT-t használó LSM-ekhez képest, miközben megtartja a Z irányú felbontást [3].

A gerjesztőlézer polarizációját moduláló folyadékkristály (LC) alkalmazásával lehetővé válik a szerkezeti információk kinyerése, az FDL leképezés elvégzése 2D-ben és 3D-ben. A moduláció és a képalkotás szinkronizálását egy külső programmal oldottuk meg, amely mind az eredeti Nikon szoftverrel, mint a LC vezérlővel tartja a kapcsolatot. A képfeldolgozási funkciókat MATLAB-ban elkészített, grafikus felületű program végzi [4].

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a GINOP-2.3.2-15-2016-00001, a GINOP-2.3.2-15-2016-00003 és a GINOP-2.3.2-15-2016-00030 pályázatok pénzügyi támogatását.

Irodalom

- [1] Steinbach G, Pawlak K, Pomozi I, Tóth EA, Molnár A, Matkó J, Garab G (2014) *Methods and Applications in Fluorescence* 2: 015005 (9pp)
- [2] Radosavljević JS, Pristov JB, Mitrović AL, Steinbach G, Mouille G, Tufegdžić S, Maksimović V, Mutavdžić D, Janošević D, Vuković M, Garab G, Radotić K (2017) *Cellulose*, 24: 4653–4669
- [3] de Luca GMR, Breedijk RMP, Brandt RAJ, Zeelenberg CHC, de Jong BE, Timmermans W, Azar LN, Hoebe RA, Stallinga S, Manders EMM (2013) *Biomed Opt Express* 4:2644-2656.
- [4] Steinbach G, Nagy N, Sipka G, Manders E, Garab G, Zimanyi L (2019) *European Biophysics Journal* eprint <https://doi.org/10.1007/s00249-019-01365-4>

Antibiotikum- és fágresztencia evolúciója strukturált környezetben (E40)

Nagy Krisztina¹, Phan Trung², Dukic Barbara¹, Ábrahám Ágnes¹, Csákvári Eszter¹, Austin Robert² és Galajda Péter¹

¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet
² Princeton University, Department of Physics

A baktériumokat természetes élőhelyeiken különféle környezeti hatások érik, melyek sok esetben kihívást jelentenek egy adott populáció túlélése szempontjából. Ezek a stresszfactorok általában erősen heterogén térbeli eloszlást mutatnak. Egyes tanulmányok szerint a szelekciós nyomás ilyen inhomogén megjelenése nagymértékben felgyorsíthatja az egyébként lassú evolúciós folyamatokat.

Laboratóriumunkban azt vizsgáljuk, hogy a környezet térbeli strukturáltsága és kémiai heterogenitása hogyan befolyásolja baktériumközösségek ellenállóképességének evolúcióját antibiotikumokkal és bakteriofág vírusokkal szemben. A környezet összetettségét mikrofluidikai eszközökkel modelleztük. Kísérleteinkhez kétféle eszközt használtunk, egy komplexebb kamra- és csatornarendszert, amely nagyobb mozgásteret biztosít a baktériumok számára, és egy egyszerűbb, egyetlen lineáris kémiai gradienst előállító eszközt. *E. coli* populációk dinamikus térbeli eloszlását, növekedését követtük több napon keresztül fluoreszcencia mikroszkópia segítségével.

Különböző hatásmechanizmusú antibiotikumok kémiai gradienseit teszteltük. Jellegzetes térbeli eloszlásokat figyeltünk meg, és kimutattuk, hogy a gradiens pusztán jelenléte már 10-12 órán belül rezisztens sejtek megjelenését és elszaporodását okozza.

A T4r vírusokkal szemben rezisztens populációk körülbelül egy nap után jelentek meg. A strukturált környezet különböző pontjain biológiai képletek indultak növekedésnek, amelyekből kiindulva a baktériumok később az eszköz más pontjait is benépesítették.

A kísérletek végén az eszközök felnyitásával a rezisztens törzsek további vizsgálatok céljából kinyerhetők. Teljes genom szekvenálással azonosítottuk a keletkező genetikai változásokat, mutációkat.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az NKFIH K 116516 és PD 124889 kutatási pályázatait, illetve a GINOP-2.3.2-15-2016-00001, a GINOP-2.3.2-15-2016-00026 és a GINOP-2.3.2-15-2016-00037 pályázatok támogatásával valósult meg.

Orvosi biofizika és sugárbiológia

Extracelluláris vezikulák szerepe rövid és hosszútávon a sugárzás szomszédsági hatásában (E42)

Kis Dávid, Persa Eszter, Szatmári Tünde, Sándor Nikolett, Hargitai Rita, Kis Enikő, Sáfrány Géza, Lumniczky Katalin

Nemzeti Népegészségügyi Központ, Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztály, Sugárorvostani Osztály

Szomszédsági (bystander) sugárhatásnak nevezzük, ha olyan sejtekben is megnyilvánul sugárhatás, amelyeket közvetlen sugárzás nem ért. Az utóbbi években több *in vitro* kutatás is tudományosan bizonyította, hogy ez a hatás a sejtek közötti kommunikáció révén valósul meg. Azonban az erre irányuló komplexebb *in vivo* kutatások még hiányosak. Az extracelluláris vezikulák (EVk) olyan membránnal határolt struktúrák, amelyeknek a komplex tartalma (RNS, fehérje, lipid, DNS) alkalmassá teszi őket a sejtek közötti kommunikációra.

Kísérletünkben 9-12 hetes hím C57Bl/6 egereket egésztest besugárzás alá vetettünk 0; 0.1Gy; 0.25Gy és 2Gy dózissal. Az állatok csontvelőjét, lábcsonthátát, lépét és máját az expozíciót követően 4 vagy 24 órával vagy 3 hónappal később vizsgáltuk. A csontvelőből EVt izoláltunk, melyeket analizáltunk és nem besugárzott, egészséges állatok farokvénájába oltottuk. Őket nevezzük bystander állatoknak. A bystander állatok csontvelőjét, lábcsonthátát, lépét és máját EVk oltása után 4 vagy 24 órával vagy 3 hónappal később vizsgáltuk. A közvetlen besugárzást szenvedett és EVk oltásán átesett állatokban apoptózis, DNS károsodás, sejtfenotípusos és sejtszámbeli változásokat követtünk nyomon.

A besugárzott állatokból származó EVk hatását a bystander állatokban bekövetkező elváltozásokkal igazoltuk. Rövidtávú hatásként (4 vagy 24 órával a kezelés után) apoptózist mutattunk ki dózisfüggően hematopoietikus őssejtekben (HSC) és limfoid progenitorokban. Csontvelőből migráló HSC-eket detektáltunk a lépben, és mezenchimális őssejteket (MSC) a csontszövetben. Csökkent a HSC és MSC populációk sejtszáma a csontvelőben. A HSC alpopulációi közül a multipotens progenitorok aránya szignifikánsan csökkent, mely hatás 3 hónappal később ugyan moderáltabban, de megnyilvánult. Hosszútávú hatásként (3 hónappal kezelés után) a limfoid progenitorok és granulocita-monocita progenitorok sejtszáma szignifikánsan csökkent dózisfüggően.

Összefoglalva, bizonyítottuk, hogy EVk rövid és hosszútávon is képesek a sugárzás szomszédsági hatását közvetíteni. Ez a vizsgálat segít megérteni a sugárzás közvetlen és szomszédsági hatásainak mechanizmusát a csontvelőben.

Támogatás: Euratom kutatási és oktatási program 2014-2018; 662287 számú pályázat.

CO₂ és radon gázok bőrön keresztüli felvétele mofettákban (E43)

Csige István^{1,2}, Futó István¹, Janovics Róbert¹, Molnár Mihály¹, Rinyu László¹, Palcsu László¹, Major István¹, Turi Marianna¹, Sóki Erzsébet¹², Molnár József¹, Gyila Sándor³

¹ MTA Atomki, Izotóp Klimatológia és Környezetkutató (IKER) Központ, H-4026 Debrecen, Bem tér 18/c

² DE TTK – MTA Atomki Környezetfizikai Kihelyezett Tanszék, H-4026 Debrecen, Bem tér 18/c

³ Dr. Benedek Géza Szívkórház, RO-525200 Kovászna, M. Eminescu u. 160, Románia

A szén-dioxidos fürdőterápia hatásmechanizmusára vonatkozóan viszonylag kevés irodalmi hivatkozás található, ezek is inkább csak hipotéziseket fogalmaznak meg. A hatásmechanizmus megismerése szempontjából lényeges lenne tudni, hogy a szén-dioxid kezelésnek kitett páciensek esetén milyen mértékű a szén-dioxid gáz bőrön át felszívódott mennyisége, hogyan függ ez a kezelés körülményeitől, a páciens állapotától, stb. Jelen projekt keretében demonstrálni kívántuk, hogy az MTA Atomki Környezetanalitikai Laboratórium stabilizotóp-arány mérésére szolgáló műszerháttérének alkalmazásával alkalmas módszer kifejlesztésével választ tudunk arra a kérdésre, hogy milyen sebességgel veszi fel a szervezet a bőrön keresztül a szén-dioxid gázt. A bőrön keresztüli CO₂-felvétel meghatározásának elve, hogy a bőrön keresztül bejutó CO₂ gáz ¹³C/¹²C izotóparánya lényegesen különbözik a szervezetben a normális életműködés során keletkezett CO₂ gáz ¹³C/¹²C izotóparányától, és a kilélegzett levegőben a bőrön keresztül bejutott CO₂ mennyiségétől függően meg kell változnia a ¹³C/¹²C izotóparálynak. A mátradereskei mofettában jelentős, 100-200 kBqm⁻³-es nagyságrendben található radon gáz is. A bőrön keresztüli diffúziós, és az egész szervezetre kiterjesztett biokinetikai számítások szerint, speciális körülmények között, az így felvett radon gáz is kimutatható kell, hogy legyen a kilélegzett levegőben. Az elvégzett méréseink alapján becslést tudunk adni a CO₂-felvétel sebességére, illetve felső korlátot a radonfelvétel sebességére a bőrön keresztül.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást részben az Európai Unió és Magyarország az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásában a GINOP-2.3.2-15-2016-00009 azonosítószámú 'IKER' pályázatban, részben a TÁMOP-4.2.6-15/1-2015-000 támogatja.

Mágneses nanorészecskéken alapuló rákterápia módszertanának vizsgálata és fejlesztése (E44)

Gresits Iván^{1,2}, Thuróczy György¹, Sági Olivér², Homolya István², Bagaméry Gergő³, Gajári Dávid³, Babos Magor³, Major Péter³, Márkus Bence Gábor³ és Simon Ferenc².

¹Nemzeti Népegészségügyi Központ, Nem-Ionizáló Sugárzások Osztálya,

²Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Fizika Tanszék;

³Mediso KFT

A mágneses nanorészecskék egyik fontos alkalmazási területe a daganatterápia egyik ága a termoterápia, melynek a lényege, hogy a nanorészecskéket a rákos sejtekhez juttatva, és aztán felmelegítve gyengíti vagy pusztítja a melegebb amúgy is érzékenyebb tumorsejteket.

Kutatásunk célja egy olyan módszer kidolgozása, mellyel a nanorészecskék által a külső váltakozó mágneses térből elnyelt teljesítmény mérhető a testszövetben szonda közvetlen jelenléte nélkül is.

Az elnyelt teljesítmény mérésének a lényege, mérő rezgőkör jósági tényezőjét (Q) mérjük anyaggal és a nélkül. Az anyag elhangolja a rezgőkört, csökkenti annak Q-ját. Az elnyelt teljesítmény a két Q ismeretében határozható meg.

A méréseket egy MRI (Mágneses rezonancia alapú képalkotás) konzollal végeztük. A konzollal rövid pulzusokkal gerjesztjük a rezgőkört, és a pulzusok utáni lecsengést (tranziens) mérve Q lényegesen pontosabban határozható meg, mint egyéb módszerekkel (pl. frekvenciapásztázás – frequency sweep).

Irodalom

<https://arxiv.org/abs/1904.02360>

Gresits et al. Sci. Rep. 8, 12667 (2018))

Neurovaszkuláris egység sejtjes elemeinek rugalmasság térképezése gyulladásos mediátorok jelenlétében (E45)

Végh Attila Gergely, Molnár Kinga, Fazakas Csilla, Wilhelm Imola és Krizbai István

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A központi idegrendszert érintő rosszindulatú sejtburjánzások többsége metasztatikus eredetű. Az áttétek kialakulásának és terjedésének komplex folyamata nem teljesen tisztázott. A rosszindulatú tumorok agyi áttétei igen rossz prognózissal és korlátozott terápiás lehetőséggel bírnak. A modern, tudományos alapokon nyugvó orvoslás ellenére, a központi idegrendszert érintő patológiás kórképek gyakran eredményeznek komoly életminőség-rontó neurológiai tüneteket. A központi idegrendszer homeosztázisának fenntartásában meghatározó szerepet tölt be a neurovaszkuláris egység. Az agyszövet sikeres kolonizációjában aktívan részt vesznek a tumor sejtek mikrokörnyezetének sejtjes elemei melyek közül a periciták szerepe nem teljesen tisztázott. Ebben a soklépésű folyamatban a neurovaszkuláris egység kiemelt szerepet játszik, mely gyakran gyulladásos mediátorok jelenlétében sérülékenysége miatt csak részben képes megakadályozni a tumor sejtek bejutását az agyba. Az endotél sejtek és periciták mechanobiológiája, fokozott mechanikai igénybevételnek való kitettségük miatt, kiemelkedő jelentőséggel bír. Ezen jelenségek ok – okozati összefüggései nagyrészt feltáratlanok.

A neurovaszkuláris egységet alkotó sejtek közül agyi endotélsejtek valamint periciták gyulladásos mediátorok indukálta strukturális, morfológiai valamint nanomechanikai vizsgálatához kapcsolódó legfrissebb eredményeink kerülnek bemutatásra.

Köszönetnyilvánítás

Jelen munkát az OTKA FK128654, K116158, PD121130, FK124114, GINOP-2.3.2-15-2016-00001 programok támogatták. Wilhelm Imola munkáját az MTA Bolyai János Ösztöndíj programja (BO/00334/16/8) támogatta.

POSZTEREK

Sejtanalitika biofizikai megközelítéssel

Kelidonin hatása a STAT3 transzkripció faktor tirozin és szerin foszforilációjára humán uveális melanóma sejteken (P1)

Csomós István, Szoták Evelin, Filep Csenge, Nizsalóczki Enikő, Mátyus László, Bodnár Andrea

Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A STAT3 transzkripció faktor számos, a sejtciklus szabályozásában, a sejtproliferációban, túlélésben és migrációban kritikus gén átíródását váltja ki, így a tumorelles terápia ígértes célpontja. Egyik fontos aktivátora az IL-6, melynek emelkedett szintjét több daganatos kórképben, így uveális melanómában is leírták. A STAT3 aktiválódását tirozin (Y705) oldalláncon történő foszforilációja váltja ki, melyet dimerizáció és magi transzlokáció követ. A STAT3 szerin (S727) oldalláncon is foszforilálódhat, akár stimuláció hiányában is. Ennek pontos funkciója még nem ismert, de feltételezik szerepét a STAT3 működés finomhangolásában.

Kísérleteinkben a benzofenantridin alkaloidok közé tartozó kelidonin hatását vizsgáltuk az IL-6R/STAT3 jelátviteli útvonalra humán uveális melanóma sejteken. Korábban több tumoreredetű sejt esetén kimutatták a kelidonin proliferáció gátló és sejthalál indukáló hatását, emellett gátolja a mikrotubulus polimerizációt, befolyásolja a sejt ciklust.

A vizsgált fehérjék expressziós szintjét és lokalizációját immunfluoreszcenciás jelzést követően áramlási citometriával, illetve konfokális mikroszkópiával vizsgáltuk.

Kelidonin hatására a sejtek egy jelentős részében megnőtt az alap pS-STAT3 szint, amelyet az IL-6 stimuláció már nem emelt tovább. A megemelkedett pS-STAT3 szintet a tirozin foszforiláció és magi transzlokáció gátlása kísérte. A kétfajta foszforilációra gyakorolt hatás közötti korreláció időfüggést mutatott: a pY-STAT3 szint csökkenése időben késleltetett volt a pS-STAT3 szint emelkedéséhez képest. Az IL-6Rα és a STAT3 expresszió nem változott, ugyanakkor megjelent egy csökkent gp130 expresszióval rendelkező sejt populáció. Adataink alátámasztják az IL-6R/STAT3 útvonal szerepét a kelidonin hatásmechanizmusában. A kelidonin STAT3 aktiválhatóságra gyakorolt hatásához a gp130 expresszió csökkenése, illetve a bazális szerin foszforilációs szint megemelkedése egyaránt hozzájárulhat.

Szterolok és többszörösen telítetlen zsírsavak dipólpotenciálra gyakorolt hatásának vizsgálata új áramlási citometriás módszerrel (P2)

Szabó Máté, Zákány Florina, Cs. Szabó Bence, Varga Zoltán, Nagy Péter, Kovács Tamás¹

¹DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A dipólpotenciál (DP) +300 mV-os intramembrán potenciál, amely jelentősen befolyásolja a transzmembrán fehérjék konformációját és funkcióit. A membrán szterol tartalmának emelése növeli a DP nagyságát, így hiperkoleszterinémiában (HC), illetve Smith-Lemli-Opitz szindrómában (SLOS), ahol a membrán koleszterin, illetve 7-dehidrokoleszterin (7DHC) tartalma emelkedik, várható a DP patofiziológiai jelentőséggel bíró növekedése. A DP mérésére a legelterjedtebb módszer a di-8-ANEPPS fluorofórt alkalmazó spektrofluoriméteres vagy mikroszkópos excitációs aránymérés, melynek alkalmazhatósága azonban erőteljesen korlátozott, így célunk volt egy hatékony DP mérési módszer fejlesztése és tesztelése a fenti betegségek membránbiofizikai modelljeiben.

Munkánk során kidolgoztunk egy F66 feszültség-szenzitív fluorofórt alkalmazó, emissziós aránymérésen (R_{em}) alapuló áramlási citométeres technikát a DP mérésére, összevetve eredményeinket spektrofluorimetriás referenciaméréseink adataival. Ismert DP-t módosító kezelések (phloretin, 6-ketocholestanol) használatával bizonyítottuk módszerünk alkalmazhatóságát, az F66 R_{em} negatív korrelációt mutatott a DP nagyságával (szenzitivitás: kb. -15%/100 mV). Ezután JY és THP-1 sejtvonalakon és humán PBMC-ken létrehoztuk a fenti betegségek modelljeit és meghatároztuk a DP nagyságát új módszerünkkel.

A HC, illetve SLOS modelljében kimutattuk, hogy a membrán koleszterin, illetve 7DHC tartalmának növelése a megfelelő metil-béta-ciklodextrin/szterol komplexekkel dóziszfüggő módon növelte a DP nagyságát ($\Delta R_{em,max}$ -14%, illetve -8%). A HC terápiájában kiegészítésként használt magas telítetlen zsírsav tartalmú diéta hatásának vizsgálata során omega-3 zsírsav alkalmazása dóziszfüggően csökkentette, míg omega-6 zsírsav növelte a DP-t ($\Delta R_{em,max}$ +10%, illetve -5%).

Új áramlási citometriás módszerünk alkalmazható nagyszámú élő sejt DP-jának gyors, egyszerű és megbízható mérésére és a sejtmembrán összetételének megváltozásával járó betegségek vizsgálatára.

Molekurális biofizika

Multimer glikoprotein AFM vizsgálata: elektrosztatikus kölcsönhatások szerepe (P3)Csányi Csilla¹, Feller Tímea¹, Kellermayer Miklós¹, Hársfalvi Jolán¹¹ Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A vérkeringés legnagyobb multimer glikoproteinje, a von Willebrand faktor (VWF). A globuláris VWF érsérüléskor, nagy sebességgradiensű helyeken kinyúlik, kriptikus kötőhelyek válnak szabaddá a szubendoteliális kollagén pozitív- és a trombocita GPIIb/IIIa receptor negatív helyeihez való kötődésre, így közvetíti a trombocita adhéziót. Patológiás esetben intakt endotélhez is közvetíti az adhéziót heparán szulfáthoz kötődve.

Célom atomi erő mikroszkóppal (AFM) vizsgálni, hogy különböző elektrosztatikus tulajdonságú felszínekhez kötött VW multimer morfológiája eltérő-e.

Módszer: plazma készítményből tisztítottam a VWF-t heparin affinitás kromatográfiával. 7,4 vagy 6,0 pH-jú PBS-sel 1ng/ul-re hígított oldatából 10ul-t cseppentettem negatív töltésű csillámpalára vagy pozitív töltésű poli-L-lizinnel (PLL) bevont csillámpalára. 1 percig inkubáltam, 18 MΩ*cm tisztaságú vízzel mostam, N₂-vel szárítottam. Cypher AFM-mel, AR14 programmal, AC módban analizáltam a felszíneket.

A VW multimerek PLL felszínen gyöngyhalmaz, csillám felszínen a gyöngysor struktúrát mutattak. A struktúrák (n~1000) alakját területük körterülethez viszonyított arányával (kör-arány) számszerűsítettem. Minél közelebb van egyhez a szám, a gyöngyhalmaz annál inkább kör területű. Minél közelebb van nullához a szám, a gyöngysor annál fonálszerűbben terül el. Eredményeim táblázatba foglalva:

	Csillámpala		PLL	
	pH 7,4	pH 6,0	pH 7,4	pH 6,0
Kör-arány medián (IQD)	0,48 (0,33-0,67)	0,51 (0,36-0,67)	0,60 (0,43-0,76)	0,66 (0,50-0,79)

Az AFM képek alapján a VW multimer a negatívan töltött csillámpalán fonálszerű, míg a pozitív töltésű PLL-en inkább körszerű struktúrát vesz fel pH 7,4-en. Ismert, hogy a Golgiban (pH 6,0-on) a VW multimer kompakt szerkezetű. Ilyen pH-jú oldatból a VW multimer morfológiája csillámpalán hasonló a pH 7,4-en látszóhoz, míg PLL-en kompaktabb körszerű. Csillámpala és pH 7,4 megfelelőbb a multimer vizsgálatára.

Köszönetnyilvánítás

Nemzeti Szívprogram NVKP-16-1-2016-0017

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

Aktív RalF azonosítása és vizsgálata a Molecular Dynamics with Excited Normal Modes módszer segítségével (P4)

Dudás Bálint^{1,2}, Francois Perous³, Jacqueline Cherfils³, David Perahia³, Balog Erika¹

¹ Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest

² Pázmány Péter Katolikus Egyetem, ITK, Budapest

³ Laboratoire de Biologie et de Pharmacologie Appliquée, Ecole Normale Supérieure Paris-Saclay, Párizs

Az Arf GTPázok a lipid- és membránforgalom legjelentősebb szabályozói. A nyugalmi állapotban lévő sejtben GDP-kötött állapotukban találhatóak meg. A sejt agonista gerjesztésének hatására GEFek (guanin kicserélő faktorok) közreműködésével a kötött GDP GTP-re cserélődik. Ennek eredményeként az Arf aktivált membránkötött konformációt ölt és specifikusan további effektorokkal hat kölcsön.

A célsejt meghódítása érdekében és annak megsemmisítése ellen a bakteriális károsítók effektor fehérjét injektálnak a gazdasejt citoszoljába, melyek sokszor kis GTPázok eltérítő szabályozóiként működnek. A *Legionella pneumophila*, a baktérium, mely súlyos tüdőgyulladást okoz (Legionárius betegség) nagy mennyiségű effektort injektál a célsejtbe. Ezek átalakítják a membránforgalmat és létrehoznak egy vakuólumot (membránnal határolt üreget), ahol a baktérium elrejtőzhet és osztódhat. Egyik ilyen effektor a RalF fehérje, amely eltéríti a gazdasejt Arf1 fehérjéjének normális működését.

A citoszolban a RalF fehérje autoinhibált állapotban van jelen és jelentős szerkezeti változáson kell átesnie, hogy elérje a membrán-kötött aktivált konformációt. Az MDeNM (Molecular Dynamics with Excited Normal Modes) módszer alkalmazásával prezentáljuk a RalF autoinhibációból való feloldásának mechanizmusát és membrán-kötött aktivált konformációját.

A mechanizmust az MDeNM módszerrel való konformációs feltérképezés, majd ennek az eredményének kísérleti adatokon alapuló szűrése révén fedjük fel. Kutatásunkban megjelenik a RalF két aktivációs állapotának összehasonlítása, az aktivációban kulcs fontosságú aminosavakat beazonosítjuk.

A GEF-szerű RalF és kis GTPáz Arf1 fehérjék közötti kölcsönhatási minta is feltárássra kerül, mindkét félben a kulcsfontosságú aminosavak beazonosításával.

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

Membrán nanocsövek transzport tulajdonságainak vizsgálata szuperrezolúciós mikroszkópiával (P5)

Halász Henriett¹, Ghadaksaz Ali Reza¹, Madarász Tamás¹, Nyitrai Miklós^{1,3}, Matkó János²
és Szabó-Meleg Edina^{1,3}

¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi kar, Biofizikai Intézet

² Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Intézet,

³ Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont

A membrán nanocsövek (NT) aktin vezérelt, „csőszerű” sejtnyúlványok. Kulcsfontosságú szerepet töltenek be a távoli sejtek közötti gyors és hatékony anyagtranszport folyamatokban. Feladatukat, felépítésüket és biológiai szerepüket tekintve rendkívül sokszínűek. Az NT-k sejtorganellumok (mitokondrium, lizoszóma), nukleinsavak (DNS, RNS) szállítása mellett szerepet játszanak baktériumok és vírusok terjesztésében. Továbbá tumorok progressziójában, kemoterápiás szerekek szembeni rezisztencia továbbadásában, illetve idegrendszeri eredetű betegségek (pl.: Alzheimer-kór) kialakulásáért felelős fehérjék szállításában is részt vesznek. Az NT-k kialakulását számos sejttypusban leírták *in vitro*, de egyre több adat áll rendelkezésünkre *in vivo* előfordulásukról is. Habár az NT-k sejtek közötti kommunikációban betöltött szerepe többé-kevésbé jól ismert, az ezeket a folyamatokat irányító mechanizmusok és az anyagtranszportban részt vevő motorproteinek nem ismertek.

Munkánk során az adaptív humorális immunválasz kialakításában fontos, antigén prezentáló tulajdonságokkal is rendelkező B-limfociták NT-inek transzport tulajdonságait vizsgáltuk strukturált megvilágítású mikroszkóp alkalmazásával, ugyanis a B sejtek közötti NT-k fontos jelentőséggel bírhatnak a hatékony immunválasz kialakításában. Először az NT-ken keresztül megvalósuló vezikuláris transzportot, és az abban részt vevő motorfehérjéket jellemeztük. Továbbá megvizsgáltuk a CD86 kostimulátor fehérje NT-ben való transzportját [1, 2].

Eredményeink alapján a B sejtek NT-i által közvetített erőteljes vezikuláris transzport aktin-miozin rendszer függő, és a sejtek képesek immunkostimulátor fehérjék NT-ken keresztül történő átadására, amely serkentheti az immunrendszer működését.

Vizsgálataink hozzájárulhatnak az NT-k terápiás célú alkalmazását célzó kísérletek eredményéhez.

Irodalom

[1] Osteikoetxea –Molnar A et.al. (2016) *Cell Mo Life Sci* 73: 4531-4545.

[2] Halász H et.al (2018) *Methods Appl Fluoresc* 6(4):045005.

Glikált kollagén fibrillumok atomierő-mikroszkópiás vizsgálata (P6)

Haluszka Dóra¹, Hársfalvi Jolán¹ és Kellermayer Miklós¹

¹ Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A biológiai szövetekben az I-es típusú kollagén a leggyakoribb szerkezeti fehérje, az extracelluláris mátrix legfőbb építőköve. Különösen nagy mennyiségben fordul elő a bőrben, csontokban, ínokban és az erek falában. Szerkezetére hierarchikus felépítés jellemző. Általánosságban a kollagének tropokollagén alegységekből épülnek fel, amelyekből három egymás köré csavarodva tripla helikális konformációt vesz fel, és ezek összetettebb szerkezetű rostokat hoznak létre.

Munkánk során egy gyakori, a kollagén szerkezeti deformációját okozó patofiziológiai folyamatra, a glikációra fókuszáltunk. A glikáció nem-enzimatis, több lépésben zajló, végül irreverzibilissé váló folyamat, amely a redukáló cukrok (glükóz, fruktóz, ribóz) és fehérjék aminocsoportjai között játszódik le, majd előrehaladott glikációs végtermékek (AGE) képződéséhez vezet. Korábbi kísérletünkben a másodharmonikus keltés módszerével (SHG) igazoltuk, hogy a szöveti glikáció a kollagén rostok degradációját okozza, azonban rejtve maradt, hogy a glikáció befolyásolja-e a kollagénszálak szerkezetét és mechanikai tulajdonságait [1].

Kísérleteinkben humán placentából izolált I-es típusú kollagén fibrillumok glikációját vizsgáltuk atomierő-mikroszkópiával (AFM). A glikációt 0,5 M ribóz oldattal indukáltuk 37 °C-on 5, 10 és 15 napon keresztül. Az egyedi fibrillumok topológiai szerkezetének vizsgálatát az AFM non-kontakt módjában végeztük, majd az egyedi szálak rugalmassági modulusát nanoindentációs erőgörbék felvételével határoztuk meg. Eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a hiperglikémiás körülmények a kollagén fibrillumok szerkezeti és mechanikai tulajdonságainak szignifikáns változásához vezetnek.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával készült (Nemzeti Szívprogram NVKP-16-1-2016-0017)

Irodalom

[1] Haluszka D, Lőrincz K, Kiss N, Szipőcs R, Kuroli E, Wikonkál NM (2016) *Biomed Opt Express* 7: 4480-4489.

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

BRAF szerepe az endotél sejtek mechanikájában (P7)

Hollósi Anna¹, Pásztty Katalin¹, Debreczeni Márta², Cervenak László², Kellermayer Miklós¹,
Manuela Baccarini³, Guillaume Charras⁴, Varga Andrea¹

1 Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest

2 Semmelweis Egyetem, III. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

3 Bécsi Egyetem, Max. F. Perutz Laboratories

4 Londoni Nanotechnológiai Központ, London

A vérerek falát alkotó endotél sejtek számos módon hozzájárulnak a tumorok fenntartásához. A tumor metasztázis képzése során a véráramba bekerülő tumorsejtek az endotél sejt-sejt kapcsolatok megbontásával jutnak el a metasztázis képzés helyére. E folyamat molekuláris mechanizmusa kevésbé ismert. Korábbi, endotél BRAF knockout egerekkel végzett kísérleteink rámutattak e fehérje endotél sejt-sejt kapcsolatok dinamikájában betöltött szerepére: BRAF hiányában a sejtkapcsolatok megerősödnek, amely együtt jár a permeabilitás csökkenésével, valamint a melanoma sejtek kisebb mértékű transzmigrációjával *in vitro* és extravazációjával *in vivo*. Az endotél sejtek nemcsak biokémiai, hanem mechanikai hatásoknak is kitéttek. A rákos sejtek áthaladását az érfalon az endotél sejtek sejtfelszíni adhéziós molekulái érzékelik és ez specifikus biológiai választ vált ki bennük. Kutatásunk során célul tűztük ki az endotél sejtek különböző nagyságú mechanikai erők által kiváltott biológiai válaszában jellemzését. Célunk megvalósításához egy speciális módszert alkalmazunk, amely lehetővé teszi az endotél sejtréteg megnyújtását. A sejtréteg megnyújtása hatására bekövetkező aktin citoskeleton átrendeződésével járó folyamatok jellemzésére a cofilin és a miozin könnyű lánc foszforilációjának megváltozását követtük a sejtréteg 20 és 30%-os megnyújtásánál. Aktin és miozin könnyű lánc fluoreszcens jelölésével valós időben is követtük a megnyújtás hatására bekövetkező lokalizációs változásokat. A kísérleteket elvégeztük BRAF csendesített sejtrétegen is. Eredményeink alapján a miozin könnyű lánc foszforilációja már kisebb megnyúlásoknál bekövetkezik, míg a cofilin foszforilációja csak nagyobb mértékű megnyúlásnál növekszik jelentős mértékben. Megnyújtás hatására az aktin és a miozin könnyű lánc átrendeződése következik be, amely a megfeszülő sejt-sejt kapcsolatok stabilizálását célozza.

Köszönetnyilvánítás

A munkát a Semmelweis Egyetem Elméleti és Transzlációs Orvostudományok Doktori Iskola (H.A.), Semmelweis Egyetem Start-up Grantje (2018, V.A.) és a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatta (Nemzeti Szívprogram NVKP-16-1-2016-0017).

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

A Flightless-I (Fli-I) szerepe az aktin citoszkeleton szerveződésében (P8)

Gaszler Péter¹, Vig Andrea Teréz¹, Pintér Réka¹, **Huber Tamás¹**, Buggy Beáta¹

¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet

A Flightless-I (Fli-I) egy viszonylag újonnan felfedezett fehérje, melynek szekvenciája leucinban gazdag ismétlődéseket és gelsolin homológia doméneket (GH1-6) ötvözt. A Fli-I szöveti előfordulása igen széleskörű, legnagyobb mértékben váz-, szívizom és idegsejtekben található meg. A Fli-I a sejtmagban egy hormonálisan szabályozott magi receptor koaktivátoraként működik. Szérum jelenlétében a Fli-I áthelyeződik a magból a citoplazmába, ahol a sejtmigráció negatív regulátora, mely révén gátolhatja a sebgyógyulást és a szöveti regenerációt. Mivel a Fli-I és aktin közötti citoplazmatikus folyamatok nem teljesen ismertek, célul tűztük különböző, rekombináns technikával előállított Fli-I konstruktok és az aktin közötti kölcsönhatások *in vitro* vizsgálatát fluoreszcencia spektroszkópiai és TIRF mikroszkópos módszerekkel.

Eredményeink alapján a Fli-I kölcsönhat az aktin monomerekkel és filamentumokkal is, melynek révén multifunkcionális aktivitásokkal bír (*de novo* nucleáció és sapkázás). A gelsolintól eltérő módon, a Fli-I és aktin közötti kölcsönhatások kalcium függetlenek, ami a konzervált II-es típusú kalciumkötő helyek hiányával magyarázható. A kis aktinkötő fehérje, a profilin a Fli-I aktin aktivitásainak finomhangolója; míg a *de novo* nukleációt gátolja, addig a Fli-I filamentumvég sapkázó aktivitását nem befolyásolja.

Eredményeinket összefoglalva, citoplazmatikus környezetben az aktin filamentum végeken a Flightless-I a monomerek beépülésének gátlásával befolyásolja az aktin citoszkeleton dinamikáját. Így, a sejtmigrációra gyakorolt negatív hatása megmagyarázhatja szerepét a sebgyógyulás és a szöveti regeneráció folyamataiban.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-2-1 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült (GP). Köszönjük Mihály Józsefnek (MTA, Szegedi Biológiai Kutatóközpont), hogy rendelkezésünkre bocsátotta a *D. melanogaster* Flightless-I plazmid konstrukciókat.

DNS-porfirin kötődés folyamatának vizsgálata egyedi molekula erőspektroszkópiás módszerekkel (P9)

Kretzer Balázs¹, Kellermayer Miklós¹

¹ Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest

A porfirineket és azok származékait régóta nagy tudományos érdeklődés övezi a fotodinamikus terápiában (PDT) betöltött szerepük miatt. Megfelelő hullámhosszúságú fénnel gerjesztve a molekulákat reaktív oxigénradikálok és egyéb szabadgyökök keletkeznek. Továbbá a kationos származékok – például a tetrakis(4-N-metil)piridil-porfirin – DNS-hez való kötődése potenciálisan gátolhatja a replikációs folyamatot.

A DNS-porfirin kölcsönhatások részletesebb leírására fontos lenne meghatározni a DNS nanomechanikai változásait, amiket a porfirin bekötődése okoz.

A porfirinmentes és a porfirinkötött DNS-komplexek nanomechanikai tulajdonságainak mérésére konfokális mikroszkópiával kiegészített optikai csipeszt használtunk. Továbbá kialakítottunk egy módszert a DNS-ben bekövetkező változások vizsgálatára.

Kimutattuk a porfirin molekulák okozta megnyúlást kettős szálú DNS esetében. Ezenkívül koncentráció-gradiens mentén vizsgáltuk a kötődést jellemző reakciósebességeket. A mért reakciósebességek olyan nagynak bizonyultak – a vizsgált porfirinmolekula kis mérete és nagy fajlagos töltése miatt –, hogy a koncentráció-gradiens sebességkorlátozó tényezőnek minősült.

A hosszú távú célunk a DNS-porfirin komplexben bekövetkező nanomechanikai változások koncentrációfüggésének vizsgálata. A mérések kivitelezésére optikai csipesz az optimális eszköz, továbbá az így kapott eredményeket atomi erő mikroszkópiás (AFM) kísérletekkel lehet alátámasztani. Ezen túlmenően olyan módszer kidolgozására törekszünk, amellyel mérhetővé válik a kötődés kinetikája. Ezáltal képesek leszünk a DNS kis molekulákkal történő kölcsönhatásainak molekuláris mechanizmusát feltérképezni egyedi molekula erőspektroszkópiás módszerekkel.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával készült (Nemzeti Szívprogram NVKP-16-1-2016-0017)

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

Kalmodulin konformereinek azonosítása tirozin aminosavainak fluoreszcencia élettídm mérésével (P10)

Liliom Károly¹, Schay Gusztáv¹, Arian Jafari¹ és Juhász Tünde²

¹ Semmelweis Egyetem, ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

² MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag és Környezetkémiai Intézet

A kalmodulin (CaM) – az eukarióta sejtek intracelluláris Ca^{2+} -szenzor fehérjéje – 148 aminosavból épül fel, amelyek két doménbe rendeződnek. Az N- és C-terminális domének mindegyike két-két Ca^{2+} -szelektív kötőhelyet tartalmaz („EF-kéz” motívumok). A kalcium-ionok kötődésének hatására a CaM konformációja megváltozik, a két domént összekötő hélix-hurok-hélix szerkezet iniciációs pontjainál hidrofób felszínek nyílnak meg, együttesen lehetővé téve a CaM célfehérjéhez kötődését. Nem-aktivált sejtekben az intracelluláris Ca^{2+} -koncentráció ~100 nM, amely aktivált sejtekben ~10 mM, esetenként ennél is magasabb értéket vehet fel. Rendkívül változatos azonban a Ca^{2+} -jelek időbeli és térbeli mintázata a tranziens lefutású jelektől (~0,1-100 s) a Ca^{2+} -hullámokig (~0,1–10 Hz). A CaM közvetítésével több száz effektor-fehérje is aktiválódhat, azonban adott sejtben az aktivációt kiváltó mechanizmustól függően tipikus jelátviteli útvonalak kapcsolnak be néhány, talán tucatnyi CaM effektort érintve. Felmerül a kérdés, hogy milyen mechanizmusok biztosítják az aktiváció-specifikus CaM-effektorfehérje komplexek kialakulását?

Hipotézisünk szerint ebben szerepe lehet a CaM Ca^{2+} -jelalak-függő konformációs szelekciónak. Módszert dolgoztunk ki a CaM konformációs állapotainak detektálására a CaM két tirozin aminosava saját fluoreszcenciájának követésével. A konformációra legérzékenyebb a fluoreszcencia élettídm mérése, amely adatokra multiexponenciális függvényt illesztve azonosíthatjuk a különböző konformereket. Módszerünkkel négy komponenset tudunk azonosítani, amelyek élettideje és a teljes fluoreszcencia-intenzitásbeli részarányuk érzékenyen változik a Ca^{2+} -koncentrációval, amit a 0 – 10 μM tartományban változtattunk 5 μM állandó CaM koncentráció (20 μM Ca^{2+} -kötőhely) mellett, elkerülve a CaM teljes Ca^{2+} -telítését.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával készült (Nemzeti Szívprogram NVKP-16-1-2016-0017)

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

A22 alter the polymerization properties of the bacterial actin-like MreB (P11)

Beáta Longauer¹, Szilvia Barkó^{1,2}, Dávid Szatmári¹, Zoltán Ujfalusi¹,
and Miklós Nyitrai^{1,2,3}

¹Department of Biophysics, Medical School, University of Pécs

²Szentágothai Research Centre, University of Pécs, Hungary

³MTA-PTE Nuclear-Mitochondrial Interactions Research Group, Pécs, Hungary

The MreB protein is an actin orthologue in bacteria and similarly to actin it has essential role in the maintenance of cell shape. It is a crucial component of the cell growth, division and cell wall synthesis. Another common property of MreB and actin is the ability of binding and hydrolysing ATP[1]. A22 (S-(3,4-dichlorobenzyl)isothiourea) is the first chemical compound which was found to inhibit directly the MreB function *in vivo*. The mechanism of inhibition is not clear yet. Because this drug does not have any cytotoxic and genotoxic effects on eukaryotic cell lines, it could be a novel antibiotic agent against multidrug-resistant bacteria [2].

We studied the polymerization properties of *Leptospira interrogans* MreB (Li-MreB) protein in the presence of A22. Our spectroscopic data showed that A22 has significant effect on the ATP hydrolysis of MreB. By the help of fluorescent microscopy measurements we observed that the macroscopic conformation of the evolved filaments differs significantly in the presence and absence of A22. In case of GFP expressing *E. coli* cells, the A22 causes round cell shape (as it was described before) but MreB filaments did not dissociate to monomeric level.

We assume that in normal physiological circumstances the MreB molecules bind ATP or ADP-Pi, build long, stable filaments. In the presence of A22 the shortening of MreB filaments can be observed and although the relative amount of MreB filaments does not change, this conformation is not able to maintain the normal cell shape. Consequently, this MreB sensitive drug could be a good candidate in the war against antibiotic resistant bacteria.

Acknowledgment:

OTKA-107776: An anchor biological systems characteristics: the structural and functional properties of bacterial filaments.

References:

[1] Esue, O. et al. (2005). *J. Biol. Chem.* 280: 2628–35.

[2] Bonez, P. C. et al. (2016). *Microbial Pathogenesis*, 99, 14–18.

Kalcium hatása a titin rugalmasságára (P12)

Mártonfalvi Zsolt¹, Bánkuti Stefánia¹, Guy Ben-Arie¹ és Kellermayer Miklós¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet*

A titin a harántcsíkolt izom rugalmasságát meghatározó szarkomerikus óriásfehérje, mely egyetlen polipeptidláncként a teljes félszarkomert áthidalja a Z-lemeztől az M- csíkiig. Habár elsősorban a megnyújtott szarkomerekben ébredő passzív izomerő kialakításában játszik fontos szerepet, feltételezhető, hogy a kontraktilis apparátus aktivációja dinamikusán változtatja a titinnanomechanikai tulajdonságait. Korábbi kísérletek rámutattak, hogy a titin PEVK doménjének glutaminsavban gazdag polyE szekvencia motívumai nagy affinitással kötik a kalciumot. Feltételezhető, hogy a kalcium ionok a PEVK domén glutaminsav oldalláncait keresztkötik, ezzel lerövidítik és mechanikai értelemben passziválják, vagyis nyújthatatlanná teszik a domén egyes motívumait. Annak vizsgálatára, hogy ezen kalcium kötő szekvenciák milyen módon befolyásolják a titin rugalmasságát, egyedi titinmolekulákon végeztünk nyújtási kísérleteket lamináris áramlási folyadékcellában lézercsipesszel. A kísérleti elrendezésben a csapdázott molekulát körülvevő puffer kalcium koncentrációja gyorsan változtatható volt, miközben ismétlődő ciklusokban nyújtás-visszaengedési kísérleteket végeztünk. Mikor a molekulákat magas koncentrációjú (pCa 3) pufferben nyújtottuk, a titin látszólagos perzisztenciahossza csökkent. Ennek következményeként a titinmolekulák egy kompaktabb szerkezetet vettek fel, ami a csapdázott polipeptidlánc rövidülését okozta. Eredményeink arra utalnak, hogy a titin egy kalcium érzékeny rugalmas fehérje, következésképp a szarkomerben ébredő passzív erő kifejtés kalcium jelenlétében nagyobb, mint relaxált állapotban.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük az NKFI Fiala kutatói téma pályázat, MTA Bolyai János Kutatói Ösztöndíj és az EMMI Új Nemzeti Kiválóság Program támogatást.

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

G-quadruplex szerkezetek stabilitása és kölcsönhatásai (P13)

Smeller László, Adányi Mónika, Pfalzgraf Frederik, Végh András, Gál Róbert és Somkuti Judit

Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A guaninban gazdag DNS szekvenciák a hagyományos dupla szálú elrendeződés mellett más, egzotikus struktúrába is szerveződhetnek. Ezek a négyszálú tetraplex (másként quadruplex) szerkezetek különleges figyelmet kaptak, amikor kiderült, hogy jelen vannak a DNS telomér régiókban, ill. egyes onkogének promóter régiókban. Ez a struktúra úgy alakul ki, hogy egy síkban négy guanin bázis kapcsolódik össze, ún. Hoogsteen féle kölcsönhatásokkal. Egy G-quadruplexet (GQ) tipikusan kettő vagy három ilyen sík alkotja.

A GQ szerkezetek fent említett régiókban való jelenléte fontos gyógyszer-célponttá tette őket. A telomér GQ-k stabilizálása a rákkutatás egyik iránya. Kísérleteinkben a GQ-k stabilitását mértük különböző környezeti paraméterek mellett, ill. GQ-hoz kötődő molekulák hatására. A nyomásstabilitás ill. a hőstabilitás nyomásfüggése egy eddig elhanyagolt terület volt, pedig ezekből a mérésekből jelentős térfigati információk kaphatóak.

Méréseinkben főleg kétféle aptamert használtunk, a 15 bázisból álló trombin-kötő aptamert (TBA), és a humán telomér régió tipikus szekvenciáját (Htel). A fluoreszcens mérésekhez a DNS szakaszok végeihez fluoreszcens jelölőket kapcsolunk, amelyek FRET párt alkottak. Az infravörös (FTIR) mérésekhez jelöletlen mintát használtunk.

Meghatároztuk a TBA és a Htel p-T fázisdiagramját, széles koncentráció-tartományban. Ezt az infravörös és fluoreszcens mérések kombinálása tette lehetővé. Míg a spektroszkópiai mérések nagy része híg oldatokban történik, a sejt belsejében a makromolekulák koncentrációja a 30-40%-ot is eléri. A koncentrációfüggés tehát nem *l'art pour l'art* jelenség, hanem rávilágít arra, hogy a makromolekuláris zsúfoltság jelentősen befolyásolhatja a makromolekulák térszerkezetének stabilitását. Ez már fehérjék esetén bebizonyosodott [1], és jelen méréseink szerint ez nincs másképp a nukleinsavak esetén sem.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást az NKFI K-124697 pályázat támogatta.

Irodalom

[1] Somkuti és mtsai (2017) *Biophys Chem.* 231:125-134

G-quadruplexek vizsgálata infravörös spektroszkópiával (P14)

Somkuti Judit és Smeller László

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A DNS molekula a kettős hélix szerkezet mellett számos más egzotikus struktúrát vehet fel. Ezek egyike a G-quadruplex szerkezet, amelyben guanin bázisok szerveződnek planáris struktúrába. Négy guanin bázis kapcsolódik Hoogsteen féle kölcsönhatásokkal egymáshoz és ezekből a síkbeli négyesekből tipikusan kettő vagy három van egymás fölött.

A quadruplexek jelentőségét növelte, amikor felfedezték, hogy a DNS lánc végén elhelyezkedő telomér régió szekvenciája olyan, hogy benne a G-quadruplex szerkezetek könnyen megjelenhetnek. Ugyancsak találtak quadruplex struktúrákat egyes onkogének és protoonkogének promóter szekvenciáiban. A G-quadruplex térszerkezet gátolhatja ezek kifejeződését, illetve a telomér régióban gátolja a telomeráz aktivitást.

Kísérleteinkben a trombin kötő aptamert (TBA) és a humán telomér régióban előforduló szekvenciát (Htel) használtuk. A szerkezeti változásokat Fourier transzformációs infravörös spektroszkópiával (FTIR) követtük egy gyémánt cellában, különböző nyomás, hőmérséklet és zsúfoltsági körülmények között.

A G-quadruplexek kitekeredése több infravörös rezgést is befolyásol, amiket követni tudtunk. Ezek közül a legjellegzetesebb az 1537 cm^{-1} -nél található sáv, ami a guanin bázisok közötti Hoogsteen féle hidrogénkötésre jellemző [1].

A Htel szerkezete sokkal nagyobb hőstabilitást mutatott, ami azzal magyarázható, hogy a humán telomér háromszintű G-quadruplexet alkot, a TBA-ban pedig csak két egymással párhuzamos G-tetrád jelenik meg.

Nagyobb nyomáson mindkét aptamer hőstabilitása növekedett. Htel esetén 10 kbar-on az átalakulási hőmérséklet több mint 10 °C -ot emelkedett. A nyomás és hőstabilitást különböző koncentrációknál vizsgáltuk. A nagyobb koncentráció növelte a stabilitást a molekuláris zsúfoltság hatásai miatt.

Köszönetnyilvánítás

K-124697 NKFI pályázat

Irodalom

[1] Mondragón-Sánchez JA, Liquier J, Shafer RH, Taillandier E (2004) *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 22:365-373

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

A rendezetlen miozin 16 C-terminális szerkezeti karakterizálása (P15)

Telek Elek^{1,4}, Kengyel András^{1,2,4}, Karádi Kristóf^{1,2}, Kardos József³, Bugyi Beáta^{1,2}, Nyitrai Miklós^{1,2,4} és Lukács András^{1,2,4}

¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet

² Szentágothai János Kutató Központ

³ Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék

⁴ MTA-PTE Nukleáris-Mitokondriális Interakciók Kutató Csoport

A miozin 16 (Myo16) egy nem-konvencionális motorfehérje, mely főként emlős idegsejtekben expresszálódik. Korábbi kísérletekben kimutatták szerepét neurodegeneratív kórképekben, úgymint a Myo16 expresszió szint növekedése skizofréniában [1], Myo16 gén delécio autizmusban [2], valamint szerepet játszhat a bipoláris szindrómában [3].

A Myo16 monomer motorfehérje négy szerkezeti alegységből épül fel: tartalmaz egy ankyrin ismétlődéseket tartalmazó N-terminális domént, egy motor domént, egy könnyű lánc kötő IQ motívumot, és egy, a miozinok között egyedülálló, rendezetlen szerkezetű C-terminális domént (Myo16Tail), mely feltételezett szerepet játszik a neuronális foszfoinozítid-3 kináz jelátvitelben [4].

Célunk a rendezetlen Myo16Tail szerkezetének karakterizálása bioinformatikai és spektroszkópiai módszerekkel.

Kísérleteinkben az IQ motívumot is tartalmazó Myo16Tail szekvenciát vizsgáltuk bioinformatikai módszerekkel, úgymint fehérje rendezetlenségi predikciók (VLXT, VL3-BA, VSL2b, Ronn és IUPRED), szerkezeti flexibilitás (DynaMine), valamint foszforilációs hely predikció (PhosphositePlus). Továbbá triptofán fluoreszcencia (steady-state és időfelbontásos anizotrópia, valamint fluoreszcencia kioltás) és CD spektroszkópiai módszereket alkalmaztunk a Myo16Tail szerkezetének jellemzéséhez.

Eredményeink szerint a Myo16Tail nagymértékben tartalmaz rendezetlen fehérje régiókat (44%), a másodlagos szerkezeti elemek mellett. A rendezetlenség jelenléte hozzájárulhat a Myo16 biológiai funkciójának megértéséhez.

Köszönetnyilvánítás

OTKA K 112794, Molecular Mechanisms Underlying the Function of Myosin 16b, OTKA K 120391, KH 125597, Szerkezetvizsgáló módszer fejlesztése a rendezetlen fehérjék szerkezetének és kölcsönhatásainak vizsgálatára (K. J.)

Irodalom

- [1] Rodriguez-Murillo L, et al. (2014) *Neuropsychopharmacology* 39(4):934-43
- [2] Liu YF, et al. (2015) *PLoS One*. 10(4):1-18
- [3] Kao, C. et al. (2016) *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 19: 1-11
- [4] Yokoyama et al. (2011) *EMBO J.* 30(23):4739-54

Röntgen/CT kontrasztanyagok hatása az aktin polimerizációs dinamikájára (P16)

Gárdos András Gergő, Hild Gábor, Ujfalusi Zoltán

PTE ÁOK Biofizikai Intézet, 7624 Pécs, Szigeti út 12.

Bizonyos szövetekről készített felvételek a legtöbb képalkotási eljárás esetében valamilyen mértékben kontrasztszegények. Már az 1800-as évek végén felmerült az igény különböző kontrasztanyagok használatára. Sok toxikus anyag nem humán alkalmazása után az áttörés 1923-ban jött el, mikor egy véletlennek köszönhetően felfedezték a jódtartalmú vegyületek nagyon jó röntgen-elnyelő képességét és humán diagnosztikában várható lehetséges előnyeit. Innentől már felgyorsultak az események és a cél az egyre nagyobb biztonsággal adható, kevesebb mellékhatással rendelkező kontrasztágensek kifejlesztése lett, így az ionos, nagy ozmolalitású vegyületeket nem ionos, a jódot kovalensen kötő, alacsonyabb ozmolalitású kontrasztanyagok váltották fel. Napjainkban egy radiológus szakorvos igen sokféle kontrasztanyag közül választhat, mind röntgen/CT, mind MRI vizsgálatokhoz.

A vonatkozó irodalom áttekintéséből kitűnik, hogy a klinikumban jelenleg rutinszerűen alkalmazott kontrasztanyagok aktin citoszkeletonra közvetlenül gyakorolt molekuláris hatásmechanizmusa egyáltalán nem ismert. Így célul tűztük ki a kontrasztanyagok szöveti sejtekre, bennük az aktin sejtváza és annak kötőfehérjéivel való kapcsolatára kifejtett hatásainak vizsgálatát. A fehérje preparálási protokollt, alkalmazandó koncentrációkat és pufferkörnyezetet sikeresen optimalizáltuk. Eddigi kutatásaink során két jódtartalmú (Iomeron 300, ill. Xenetix 350) kontrasztanyaggal végeztünk kísérleteket. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy az általunk vizsgált kontrasztanyagok közvetlenül befolyásolják az aktin fehérje működését, polimerizációs dinamikáját.

Ligand-induced conformational rearrangements regulate the switch between functions of ROCK2 (P17)

István Hajdú¹, András Szilágyi¹, Barbara Végh¹, András Wacha² Éva Grácz¹, Dániel Györffy¹, Márk Somogyi¹, Péter Závodszky¹

¹*Institute of Enzymology, RCNS, HAS, Budapest,*

²*Institute of Materials and Environmental Chemistry. RCNS, HAS, Budapest*

Rho-associated protein kinase 2 (ROCK2) is a membrane-anchored, long, flexible, multidomain, multifunctional protein. Its functions can be placed into two categories: membrane-proximal and membrane-distal ones. A recent study concluded that membrane-distal functions, e.g. regulatory myosin light chain (RMLC) phosphorylation requires a fully extended conformation, and this conclusion was supported by electron microscopy. The present solution small angle X-ray scattering (SAXS) study revealed that ROCK2 population is a dynamic mixture of folded and partially extended conformers. We have shown that the predicted, auto-inhibited, folded conformation of ROCK2 exists in solution, and is stabilized by weak non-covalent interactions between the N- and C-termini. Binding of RhoA to the coiled-coil domain shifts the equilibrium towards the partially extended state. The binding of natural protein substrates (e.g. LIMK1) to the kinase domain breaks up the interaction between the N-terminal kinase and C-terminal regulatory domains, but smaller substrate analogues do not. The present studies reflect the dynamic behaviour of this long, dimeric molecule in solution, and our structural model provides a mechanistic explanation for a set of membrane-proximal functions, while allowing for the existence of an extended conformation in the case of membrane-distal functions.

Membránok, membránfehérjék biofizikája

A Gaucher betegség in vitro modell sejtjeinek megnövekedett számú nanocső és extracelluláris vezikulum képzése (P18)

Batta Gyula^{1,2}; Malta Neri Lara Chrystina²; Visnovitz Tamás³; Visnovitzné Vukman Krisztina³; Buzás Edit³, Nagy Péter²

¹Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Genetikai és Alkalmazott Mikrobiológiai Tanszék

²Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

³Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Az örökletes Gaucher betegség egy olyan lizoszómális tárolási betegség, amelyben glikozilceramid és egyéb szfingolipidek felhalmozódnak a sejtekben, ami a glükocerebrozidáz enzim hibás működésének köszönhető. A betegség különböző megjelenési formákat mutat, melyek súlyossága tág határok között mozog. Bizonyos esetekben a diagnózis csak felnőtt korban történik meg, míg más típusai korai elhaláláshoz vezetnek. A betegség során fellépő tüneteket klasszikusan elsősorban a megemésztetlen szubsztrátok lizoszómális felhalmozódásának tulajdonítják, ugyanakkor korábban sikerült bebizonyítanunk, hogy a plazmamembrán számos biofizikai és sejtbiológiai tulajdonsága is megváltozik, ami szintén hozzájárulhat a betegség tüneteinek kialakulásához.

A vizsgálatokhoz fluoreszcens mikroszkópot és „Tunable Resistive Pulse Sensing” (TRPS) mérésére alkalmas műszert alkalmaztunk. A Gaucher betegséget modellező makrofágok THP-1, illetve U937 monocita sejtvonalból származtak, melyekben a glükocerebrozidáz enzim működését CBE-vel (conduiról B epoxide) gátoltuk, és a differenciáltatást PMA-val (phorbol 12-myristate 13-acetate) indukáltuk.

A szfingolipidekben gazdag membránokban a raftszerűen rendezett membrándomének megnövekedése tapasztalható, ami a TNT-k („tunneling nanotube”) képzésének emelkedésével járt. Továbbá, méréseink alapján sikerült azt is kimutatni, hogy az extracelluláris vezikulumok (EV) képzése is megemelkedik a Gaucher modell makrofágok tenyésztése során. Ezeket az eredményeinket összevetve a korábbi eredményeinkkel, azt az előzetes következtetést vonhatjuk le, hogy a megnövekedett szfingolipid mennyiség a pozitív görbület kialakításának irányába tereli membránt (TNT és EV képzés), viszont ez magával vonzza az endocitózis csökkent hatékonyságát is.

Rekombináns peptid toxinok előállítása *Escherichia coli*-ban (P19)

Csóti Ágota¹, Dorothy Wai² Raymund S. Norton² és Panyi György¹

¹ Debreceni Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² Monash University (Australia), Monash Institute of Pharmaceutical Sciences

A „peptides to drugs” nemzetközi trenddel összhangban számos ioncsatorna gátló peptid terápiás hatását ismertük meg a közelmúltban, pl. az autoimmun betegségek esetén a nagy affinitású és szelektivitású Kv1.3 K⁺ csatorna gátló skorpió toxinokét. Egy toxin farmakológiai karakterizálásához, illetve a szerkezet-funkció összefüggés megismeréséhez nagy mennyiségű peptidre van szükség, de az állatokból nyerhető toxin mennyisége limitált. Célom olyan eljárás kidolgozása, ami lehetővé teszi a 3-4 diszulfid híddal rendelkező peptidek natív szerkezetben történő előállítását bakteriális expressziós rendszerben.

A peptid-toxinok rekombináns termelésével a peptidet nagy mennyiségben és költséghatékonyan lehet előállítani. Gondot jelet azonban a 3-4 diszulfid híd kialakítása, amihez speciális redukzív környezet kell. Az eljárást az Anuroctoxin (AnTx, 35 aminosavból álló peptid toxin) előállítására optimalizáltam, mely toxin részletes farmakológiai vizsgálatát laboratóriumunk végezte el. Kísérleteink során az anuroctoxint tioredoxin címkével ellátott fúziós fehérjeként állítottuk elő. A tioredoxin címke jelentősen hozzájárult a peptid „folding” mechanizmusához, biztosítva a folyamathoz szükséges redukzív környezetet. Ezt követően N¹⁵ jelölésre módosított eljárással NMR szerkezetvizsgálatra alkalmas peptidet kívánok előállítani. [1]

Végeredményben olyan toxin molekulát állítottunk elő, mely megfelel az elvárásoknak mind gazdasági és biológiai szempontok alapján, továbbá kiemelkedő biológiai azonossággal és kémiai tisztasággal jellemezhető, illetve képes helyettesíteni a vad típusú toxin molekulát.

Irodalom

[1] Chang, Shih Chieh, et al. „N-terminally extended analogues of ShK as potent and selective blockers of the voltage-gated potassium channel Kv1.3.” The FEBS journal 282.12 (2015): 2247.

A BK béta alegységek feltérképezése U-87 MG sejteken (P20)

Fehér Ádám

Debreceni Egyetem, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A glioblasztóma az agy leggyakoribb primer rosszindulatú daganata, mely esetén az átlagos túlélési idő nem éri el a 15 hónapot. A glioblasztóma inváziójához bizonyítottan hozzájárul a feszültség- és Ca^{2+} -függő BK ioncsatorna, ami a tumorsejtekben túlexpresszálódik és kórosan aktívvá válik a nyugvó gliasejtekhez képest. A BK csatorna sejtfelszíni expresszióját, illetve biofizikai paramétereit többek között a járulékos béta alegységek befolyásolják. Kísérleteinkkel célunk volt annak kiderítése, hogy a BK béta alegységek kifejeződése hogyan alakul a sejtciklus során, ami lehetővé tenné tumorsejteken a BK csatorna béta alegység mintázattól függő, specifikus gátlását. Kísérleteinkhez az U87-MG glioblasztóma sejtvonalat használtuk. Az M fázisba kolhicinnel, az S fázisba aphidicolinnal, a G0 fázisba pedig éheztetéssel szinkronizáltuk a sejteket, melynek sikerességét áramlási citometriával igazoltuk. Ezután patch-clamp technikával, teljes sejtes konfigurációban mértük a glioblasztóma sejtek ionáramát beleértve a csúcsáramot és áramsűrűséget, valamint vizsgáltuk a béta alegységeken specifikusan ható farmakonok (arachidonsav, litokólsav) ionáram moduláló hatását, és ezeket összehasonlítottunk a különböző populációk közt.

Eredményeink alapján sikeres szinkronizációt követően a kolhicinnel kezelt M fázisú sejtek csúcsárama és felületegységre normált áramsűrűsége is szignifikánsan nagyobb volt a kontroll populációhoz képest, ellenben a G0 és S fázisú sejtek biofizikai adataival.

A farmakológiai mérések során mind a négy populáció hasonló eredményeket mutatott, miszerint az arachidonsav nem, de a litokólsav jelentősen megemelte a sejtek csúcsáramát. Ezek alapján nincs eltérés a béta alegység expresszióban a sejtciklus különböző fázisaiban, így az M fázisú sejteknél mért eltéréseket egy ismeretlen ionáram adja, mely azonosítását követően M fázis-specifikus farmakológiai célpont lehet.

Az IRSp53 fehérje membrán nanocsövek képződésében betöltött szerepe (P21)

Madarász Tamás^{1,2}, Brunner Brigitta⁴, Türmer Katalin¹, Matkó János³, Nyitrai Miklós^{1,2}
Szabó-Meleg Edina^{1,2}

¹ Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai Intézet

² Pécsi Tudományegyetem Szentágothai János Kutatóközpont

³ Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar Immunológiai Tanszék

⁴ Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Kar Biológiai Intézet

A sejtek közötti kapcsolat a felszínükön megjelenő membrán kitüremkedések, sejtnyúlványok (lamellipódiumok, filopódiumok, sejtfelszíni fodrozódások) közreműködésével valósul meg. Megfigyelések szerint ezek képződésének mechanizmusa nagyon hasonló. A membrán nanocsövek – mint filopódium-szerű sejt- sejt hidak – 2004-ben történt felfedezésével a sejtek közötti kommunikáció és anyagtranszport új formáját ismerhettük meg. Ezek a vékony membrán kitüremkedések fizikailag is összekötnek két sejtet. A membrán nanocsövek kialakulásának egyik feltételezett módja szerint azok aktin-függő membrán kitüremkedésekként, irányított, filopódium-szerű nyúlványokból fejlődnek ki. Ismert, hogy az inzulin receptor szubsztrát fehérje (IRSp53) elősegíti a filopódiumok kialakulását, ezért megvizsgáltuk annak membrán nanocsövek képződésének mechanizmusában betöltött szerepét.

Munkánk során különböző mikroszkópai eljárásokkal (LSCM, SIM, TIRF) vizsgáltuk meg mind a teljes hosszúságú IRSp53 fehérje, mind a fehérje N-terminális részén található I-BAR domén filopódiumok, illetve nanocsövek kialakulására és morfológiájára gyakorolt hatását Cos7 sejtekben. Az alaktani vizsgálatok mellett az említett fehérjék aktin fehérjére gyakorolt hatását is feltérképeztük.

Az IRSp53 fehérje túlexpresszállása szembetűnő morfológiai változást okoz a sejteken: jelentős mértékben növeli a filopódiumok számát, illetve az aktin citoszkeletonra gyakorolt hatásának következtében figyelemre méltó eltéréseket eredményez mind a membrán nanocsövek hosszúságában, mind azok vastagságában.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy bár a membrán nanocsövek több tekintetben mutatnak hasonlóságot a filopódiumokkal, kialakulásuk alapvető mechanizmusában eltérnek azoktól.

Támogatás: GINOP-2.3.2-15-2016-00036, EFOP-3.6.1-16-2016-00004 projekt.

Az IL-9R és IL-2R térbeli kapcsolatának kvantitatív analízise humán T limfóma sejteken (P22)

Nizsalóczki Enikő¹, Nagy Péter¹, Mocsár Gábor¹, Szabó Ágnes¹, Csomós István¹, Thomas A. Waldmann², Vámosi György¹, Mátyus László¹, Bodnár Andrea¹

¹ DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² Lymphoid Malignancies Branch, National Institutes of Health, Bethesda, USA

Az interleukin-9 (IL-9) egy multifunkcionális citokin, amelynek a T sejtek onkogenezisében betöltött szerepére egyre több adat utal. A heterodimer IL-9R komplexet a citokin-specifikus α -lánc és a közös γ c alegység alkotja. Ez utóbbi alegység más citokinreceptorok, így a T sejt funkció szabályozásában központi szerepet betöltő IL-2R felépítésében is részt vesz. Konfokális mikroszkópiás képek Pearson-féle korrelációs analízisével korábban feltártuk az IL-9R és IL-2R kettős térbeli viszonyát humán T limfóma sejteken: míg a sejtek egy részében a két receptorfajta közös klaszterek kialakításában vesz részt, más sejtekre szegregált membrándoménokban történő elhelyezkedésük a jellemző. Jelen vizsgálatainkban tovább elemeztük a két receptorfajta térbeli kapcsolatát a Kit225/IL-9R humán T limfóma sejtvonalon. A konfokális mikroszkópiás képek elemzése során a Pearson-féle korrelációs együttható meghatározását kiegészítettük a Manders-féle co-occurrence (együttes előfordulás) analízissel. Kimutattuk, hogy az IL-9 és IL-2 receptorok egy minimális, ám a véletlen által generálttól szignifikánsan magasabb hányadának ko-lokalizációja az összességében negatív korrelációt mutató (a két receptorfajta döntően elkülönülő membránterületeken kifejező) sejteken is megfigyelhető. FRET kísérleteink igazolták az IL-9/IL-2R rendszer elemeinek molekuláris szintű (1-10 nm) közelségét, azaz az alegységek közös klasztereinek jelenlétét. IL-9 kötődés hatására a FRET hatásfokok módosultak, ami az IL-9/IL-2R rendszer elemeinek konformáció változására és/vagy a receptor alegységek térbeli átrendeződésére utalhat. Hipotézisünk szerint az IL-9R és IL-2R általánosan előforduló klaszterei az IL-9/IL-9R jelátvitelhez szükséges „hot spot”-ként szolgálhatnak, amely elősegíti a közös receptor alegységek és jelátviteli molekulák optimális felhasználását és a megfelelő receptor komplexek összeszerelődését.

Podocin egy lehetséges szerepe a glomeruláris résmembrán működésében (P23)

Kétszeri Máté, Antal Violetta, Karancsiné Menyhárd Dóra, **Schay Gusztáv**, Tory Kálmán

Semmelweis Egyetem Biofizikai Intézet

A podocin egy membrán-lokalizált fehérje, a glomeruláris résmembrán alkotóeleme. Szteroid-rezisztens nephrosis szindrómában (SRNS) szenvedő betegek egy részében a podocint kódoló NPHS2 gén mutációját lehet kimutatni mint kóroki tényezőt. Korábban igazoltuk, hogy a podocin teljes mértékben a C-terminális helikális régióján keresztül létesített kötések segítségével képes oligomerizálódni. Eredményeink alapján a kóros oligomerizáció áll a háttérben variáns-társulások váratlan patogenitásának. Bizonyos patogén és nem patogén variánsok transz-asszociációja ugyanis patogén, mely autoszomális recesszív betegségekben szokatlan. A kóros oligomerizáció ezen esetekben a membrán-transzportot károsítja. Felmerül, hogy az oligomerizáció gátlása ezen esetekben terápiás lenne. Nem ismert azonban a podocin-oligomerizáció élettani jelentősége. Ismert, hogy a podocin a résmembrán kulcsfontosságú alkotóelemével, a nephrinhez kapcsolódik. Felmerül ezért, hogy a podocin oligomerizációja a nephrin oligomerizációját is befolyásolja. A podocin nephrin-oligomerizációra gyakorolt hatását tranziensen transzfektált HEK293 sejteken vizsgáltuk meg. Két, FRET-párt alkotó fluoreszcens festékkel jelölt nephrint és különböző podocin-variánsokat expresszáltunk, és a nephrin-nephrin távolságot mértük a podocin-variánsok függvényében. A podocin mutáció függvényében eltérő nephrin-oligomerizációt tudtunk kimutatni.

Köszönetnyilvánítás:

"A kutatás a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával készült (Nemzeti Szívprogram NVKP-16-1-2016-0017)"; MTA-SE Lendület (LP2015-11/2015); NKFI/OTKA K109718, K116305, KH125566, MedinProt Synergy

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

Exoszómák és mikrovezikulák leképezése atomerő-mikroszkóppal (P24)

Szegletes Zsolt¹, Harmati Mária², Gyukity-Sebestyén Edina², Dobra Gabriella² és Buzás Krisztina^{2, 3}

1 MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

2 MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet

3 Szegedi Tudományegyetem, Fogorvostudományi Kar

Az exoszómák és a mikrovezikulák különböző sejttípusok által kiválasztott néhányszor tíz nm-es membránvezikulák. Különböző molekulákat, így fehérjéket és nuklein savakat is tartalmazhatnak. Fontos szerepük van a tumorok fejlődésében, metasztatikus aktivitásában. Elektronmikroszkóppal és száraz mintán atomerő-mikroszkóppal nehéz a valós átmérőjüket meghatározni, ezért kifejlesztettünk egy olyan módszert, ahol csillám felszínhez kötve meg tudtuk határozni az exoszómák és a mikrovezikulák átmérőjét folyadékban.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük az UNKP Bolyai Plusz Kutatási Ösztöndíj, a “Bolyai János” Kutatási Ösztöndíj, a GINOP-2.3.2-15-2016-00015, 2017-2022 és a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 pályázat biztosította támogatást.

A fluorofór szaturáció hátrányos hatásának csökkentése FRET mikroszkópos mérések során (P25)

Szendi-Szatmári Tímea¹, Szabó Ágnes^{1,2}, Szöllősi János^{1,2}, Nagy Péter¹

¹Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

²MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli kutatócsoport

A Förster rezonancia energia transzfer a világon széles körben elterjedt, és alkalmazott biofizikai mérő módszer. Méréseink során vizsgáltuk a fluorofór szaturáció hatását az intenzitás alapon számolt FRET hatékonyságra. Konfokális mikroszkópiában a magas numerikus apertúrájú objektív fókuszpontjában a gerjesztő fény intenzitása olyan magas, hogy a fluorofórok fluoreszcenciája szaturálódik. Tehát levonható az a következtetés, hogy az emittált fény intenzitása nem nő egyenesen arányosan a gerjesztő fény intenzitásával. Ez a jelenség megkérdőjelezi a kvantitatív fluoreszcenciás vizsgálatok pontosságát, illetve a FRET hatékonyság félrebecsléséhez vezethet. Azért, hogy bizonyítsuk a szaturáció hatását, sejteket jelöltünk olyan antitestekkel, amik az ErbB2 sejtfelszíni fehérje két különböző epitópjára specifikusak. A jelölést követően a különböző lézerintenzitások mellett felvett mikroszkópos képeken hetero-FRET értékeket számoltunk. Az eredményeink azt mutatták, hogy a FRET értékek csökkentek a donor gerjesztő lézer növekvő intenzitásainak függvényében. Munkánk során bemutatunk egy olyan módszert, ami megszünteti a FRET hatékonyság magas gerjesztő fénytől való függését, és hozzájárul a fehérje-fehérje kölcsönhatások megbízható és műszerfüggetlen vizsgálatához.

Ioncsatorna expressziós eltérések vizsgálata *in vitro* polarizált T-sejteken (P26)

Tajti Gábor¹, Szántó G. Tibor¹, Csóti Ágota¹, Rácz Gréta¹, Bagosi Adrienn¹, Paholcsek Melinda², Tolnai Emese², Panyi György¹

¹ Debreceni Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² Debreceni Egyetem ÁOK, Humánagenetikai Tanszék

A T-sejtek memória funkciójuk szerinti ioncsatorna (Kv1.3, KCa3.1) expressziós különbségei régóta ismertek [1], azonban az kevésbé ismert, hogy a T-helper-Treg altípusok között milyen eltérések fedezhetők fel. Állatkísérletes adatok utalnak különbségekre [2], humán vizsgálatok eddig azonban nem ismertek. Révén, hogy számtalan betegség patofiziológiájában kiemelt szerepük egyes T-sejt altípusok, célul tűztük ki ezen sejtek ioncsatorna expressziójának jellemzését, esetleges terápiás célpontok azonosítása céljából.

Vizsgálatainkhoz egészséges önkéntesek véréből CD4⁺ T-sejteket izoláltunk, melyeket polarizáló citokin-aktivátor környezetben Th1 és Treg irányba differenciáltattunk. A sejtpopulációkat tovább dúsítottuk mágneses bead alapú eljárásokkal, majd patch-clamp és Kalcium imaging technikákkal jellemeztük azok ioncsatornáit, továbbá génexpressziós vizsgálatokat végeztünk (RT-qPCR).

Előzetes eredményeink alapján a Kv1.3 funkcionális expressziója szignifikánsan magasabb a Th1 sejtekben a Treg-hez viszonyítva (914/sejt vs. 260/sejt), a KCa3.1 szintje nem mutatott ilyen különbségeket (62/sejt vs. 42/sejt). A Kv1.3 csatorna biofizikai paraméterei (aktivációs és inaktivációs időállandók, $V_{1/2}$, stb) nem különböztek. Génexpressziós szinten is felfedezhetők különbségek, a Th1 esetén a T-bet, míg a Treg esetén a FOXP3 transzkripció faktorok a várt emelkedett expressziót mutatják, azonban az ioncsatorna gének jellemzése további adatelemzést kíván.

További terveink között szerepel a kalcium imaging mérések elemzése, mellyel a kalcium homeosztázis különbségeit kívánjuk jellemezni, valamint további T-sejt altípusok vizsgálata (Th2, Th17). Eddigi eredményeink alapján felfedezhetők expressziós különbségek a T-sejt altípusok ioncsatorna repertoárjában, mely lehetőséget adhat azok terápiás kihasználására.

Köszönetnyilvánítás

GINOP-2.3.2-15-2016-00015 I-KOM TEAMING.

Irodalom

[1] Wulff et al., J.Clin.Invest., 2003, 111:1703-1713

[2] Di et al., PNAS., 2010, 107(4), 1541-1546.

A *Pterinophilus murinus* venom hatása feszültség függő nátrium és kálium ioncsatornákra (P27)

Török Ferenc¹, Tanya Kushwahaa^{1,2}, Török Enikő³, Papp Ferenc^{1,2}, Panyi György², Hajdu Péter^{1,2}

¹ Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² Debreceni Egyetem FOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

³ Debreceni Egyetem ÁOK, Humángenetika Tanszék

Az elmúlt pár évtizedben a gyógyszertervezés során előtérbe kerültek az állatfajok (kígyók, skorpiók, pókok) által szekretált peptidek, mint lehetséges templátok. Jelen projektünkben a kenyai Usambara-hegységben elterjedt *Pterinophilus murinus* madárpók által termelt mérge (PMCV) ioncsatornákra kifejtett farmakológiai hatását vizsgálatuk meg.

A vizsgálatok során kb. 20 darab, 3-4 éves egyed került havi szinten fejésre, ezzel biztosítva számukra a megfelelő exkreciós időtartamot. A mérge kinyerése TENS készülékkel történt, majd a mérget liofilizáltuk és felhasználásig -20 °C-on tároltuk. Az ioncsatornák áramát patch-clamp technikával teljes-sejt vagy outside-out konfigurációban határoztuk meg. Az ioncsatornákat HEK-293 sejteken expresszáztattuk.

Eredményeink azt mutatták, hogy a 0.1 mg/ml koncentrációban alkalmazott PMCV az Nav1.3 és Nav1.5 nátrium ioncsatorna inaktivációs kinetikáját lassította, viszont az áramamplitúdót nem módosította. Továbbá az Nav1.4 csatornát működését nem befolyásolta a PMCV. Ezzel szemben a Kv2.1 kálium csatorna áramát gátolta a PMCV, viszont a kapuzási paramétereket nem befolyásolta.

Jövőbeni terveink között szerepel a mérge HPLC-n történő frakcionálása, majd az aktív frakciók azonosítása. Funkcionális vizsgálataink során a toxinok akciós potenciálra kifejtett hatását fogjuk meghatározni.

Köszönetnyilvánítás:

NKFIH-K128525, ÚNKP-18-DE-149 és Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (H.P.), NKFIH-K119417 (P.Gy.), EFOP-3.6.1-16-2016-00022 (P. F. és T.F.)

Az Orai1 ioncsatorna immunológiai szinapszisba történő berendeződésének molekuláris háttere (P28)

Vörös Orsolya¹, Panyi György¹, Hajdu Péter²

¹ Debreceni Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

² Debreceni Egyetem, FOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

A CRAC csatornáknak kiemelt szerepe van a T-limfocita aktivációhoz szükséges Ca^{2+} jel kialakításában. A CRAC csatorna két szerkezeti egységből épül fel: az ER membránjában található STIM1-ből és a plazmamembránbeli Orai1-ből; melyek a T-sejt APC-vel történő találkozása során kialakuló immunológiai szinapszisban (IS) felhalmozódnak. Továbbá ismert, hogy aktin-kötő fehérjék (HS1/WASp/WAVE2) - melyek felelősek lehetnek az ioncsatornák IS-beli kihorgonyzásáért - az IS-ben feldúsulnak, valamint géncsendesítésük gátolja az IS kialakulását és a Ca^{2+} -függő jelátviteli útvonalat a T sejtben. Ezek alapján feltételezzük, hogy az aktin-kötő fehérjék részt vesznek a CRAC csatorna kihorgonyzásában az IS-ben, mely fontos a megfelelő Ca^{2+} -jel kialakításához a T-sejt aktiváció során.

GST affinitás kromatográfiát alkalmazva kimutattuk, hogy a HS1, amely egy aktin-regulátor fehérje, képes kötődni az Orai1 csatorna N-terminálisához. Az mGFP-vel jelölt, vad típusú illetve különböző N-terminális deléciós mutáns (Orai1- Δ N1-74: 1-74, Orai1- Δ N2-88: 1-88) csatornákat stabilan expresszáló Jurkat T sejteket CD3-CD28 beaddal konjugáltatva immunológiai szinapszist hoztunk létre, majd különböző időpillanatokban (1, 5, 15, 30, 60 perc) meghatároztuk az Orai1 és a HS1 IS-beli feldúsulását és kolokalizációját. Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy hasonlóan a vad típusú Orai1 csatornához, az Orai1 N-terminális rövidebb szakaszának eltávolítása (Orai1- Δ N1-74) esetén az Orai1 továbbra is képes a HS1-gyel kolokalizálódni az IS-ben a T sejtekben, azonban a feldúsulás mértéke alacsonyabb illetve lassabb kinetikát mutat a vad típusú csatornához képest. Az N-terminális nagyobb részének eltávolítása (Orai1- Δ N2-88) során az Orai1 IS-beli feldúsulása elmaradt, és nem mutatott HS1 kolokalizációt.

Ezek az adatok azt mutatják, hogy az Orai1-HS1 interakció szerepet játszik az Orai1 csatorna IS-beli kihorgonyzásában amely befolyásolhatja a Ca^{2+} -jel kialakulását a T-sejt aktivációja során.

Köszönetnyilvánítás

Ezt a munkát az NKFIH-K128525, ÚNKP-18-DE-149, NKFIH-K119417, GINOP-2.3.2-15-2016-00044, EFOP-3.6.2-16-2017-00006, EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 támogatta.

Ioncsatornák Gaucher-kórban megfigyelhető funkcionális eltéréseinek vizsgálata a betegség in vitro modellrendszerében (P29)

Zákány Florina¹, Székelyhidi Virág¹, Panyi György¹, Kovács Tamás¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Számos makrofág funkcióban (citokin szekréció, migráció, fagocitózis, NO szintézis) felvetették ioncsatornák (így a Kv1.3, BK, KCa3.1, Hv1 vagy TRPM2) funkcionális szerepét, illetve ismert, hogy a sejtmembránban található lipidek befolyásolják az ioncsatornák működését. Így feltételezhető, hogy az elsősorban a makrofágok kóros működésével, valamint a lizoszomális béta-glükocerebrozidáz enzim deficienciája révén a glikozilceramid felhalmozódásával jellemezhető Gaucher-kórban az ioncsatornák eltérései jelentősek lehetnek a betegség patomechanizmusában, amelyet korábban még nem vizsgáltak. Ezért célunk egy olyan modell kialakítása, amellyel a későbbiekben vizsgálni tudjuk, hogy Gaucher-kórban milyen, ioncsatornákkal összefüggésbe hozható makrofág funkciók sérülnek.

Modellünk kialakítása során THP-1 monocitákat, belőlük differenciáltatott M0, illetve klasszikus (M1), alternatív (M2a) és regulatórikus (M2r) útvonalakon aktivált makrofágokat kezeltünk a betegségben deficiens enzim irreverzibilis gátlószerével, konduritol-B-epoxiddal (CBE), amelynek hatására a szubsztrát glikozilceramid felhalmozódása figyelhető meg előbb a lizoszómák, majd egyéb intracelluláris organelumok membránjában, illetve a sejtmembránban. A különböző koncentrációkban alkalmazott CBE hatására kialakuló enzimgátlás mértékét kolorimetriás módszerrel határoztuk meg, majd áramlási citometria és megfelelő antitestek segítségével meghatároztuk a CBE kezelés hatására a sejtmembrán ceramid és glikozilceramid tartalmában bekövetkező eltérések nagyságát, validálva modellrendszerünket a későbbi funkcionális mérések számára. Differenciációs és aktivációs protokolljaink áramlási citometriával történő tesztelése és optimalizálása után megvizsgáltuk különböző ioncsatorna gátlószerek (TEA, Vm24, paxilline, TRAM-34, ClGBI és flufenamát sav) hatását az eltérő útvonalakon aktivált makrofágok életképességére. Kísérleteinket a fenti ioncsatornák szerepének vizsgálatával folytatjuk különféle makrofág funkciók esetén.

Köszönetnyilvánítás

ÚNKP-18-3-IV-DE 54

Ciklodextrinek membránbiofizikai és Kv1.3 ioncsatornára kifejtett direkt hatásainak karakterizálása (P30)

Zákány Florina¹, Kovács Tamás¹, Sohajda Tamás², Sente Lajos², Nagy Péter¹, Panyi György¹, Varga Zoltán¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² CycloLab Cyclodextrin R & D Laboratory Ltd., Budapest

A ciklodextrinek (CD) hat (α CD), hét (β CD), illetve nyolc (γ CD) alfa-D-glükopiranoz-egységből álló ciklikus oligoszacharidok. Alakjuk belül üreges, hidrofób csanakú, így képesek gyógyszermolekulákkal és különböző lipidekkel komplexeket képezni. Széles körben alkalmazzák őket gyógyszerekben semleges vivőanyagként, illetve a kutatásban a membrán koleszterintartalmának szelektív csökkentésére (metil- β -ciklodextrin; M β CD). A ciklodextrinek ioncsatornára kifejtett direkt hatásait korábban nem vizsgálták. Mivel a feszültéskapuzott káliumcsatornák (Kv) számos biológiai folyamatot kontrollálnak, a CD-ek ezen csatornára gyakorolt direkt hatásai révén szerepet játszhatnak számos gyógyszer ismert mellékhatásainak kialakításában (pl. immunszuppresszió).

Célunk az M β CD, valamint három különböző inverz (hat, hét vagy nyolc 3,6,-anhidroglükózból álló, belül hidofil, kívül hidrofób) ciklodextrin ($i\alpha$ CD; $i\beta$ CD; $i\gamma$ CD) direkt ligand hatásainak karakterizálása Kv1.3-on, illetve annak alátámasztása, hogy ez a ligand hatás független a CD-ek koleszterin depletáló és/vagy membránbiofizikai paramétereket módosító képességétől.

A direkt hatások vizsgálatához a patch-clamp méréseket Kv1.3 ioncsatornával és EGFP-vel kotranszfektált CHO sejteken végeztük. A CD-ek 1 és 5 mM-os koncentrációban részben reverzibilisen gátolták a Kv1.3 ionáramot (M β CD < $i\alpha$ CD < $i\gamma$ CD), kivéve az $i\beta$ CD, aminek nem volt ilyen hatása. A membránbiofizikai mérések során 1 órás inkubációt követően megvizsgáltuk a CD-k hatását a membrán fluiditásra, hidrációra, rendezettségre, illetve kolorimetriásan meghatároztuk a koleszterin kivonás abszolút mértékét. A CD-k közül egyedül az M β CD-nek volt koleszterin depletáló és membránfizikai hatása, az i CD-knek nem.

Ezek alapján elmondható, hogy a CD-knek a membrán koleszterintartalom módosításától független, eddig le nem írt direkt gátló hatással is bírnak a Kv ioncsatornára, amelynek fontos szerepe lehet a belőlük készült gyógyszerek mellékhatásainak kialakításában.

A fotoszenzibilizáció membránkárosító hatásának vizsgálata atomierő-mikroszkóppal (P31)

Zolcsák Ádám, Bozó Tamás, Kósa Nikolett, Böcskei-Antal Barnabás, Csík Gabriella, Voszka István, Herényi Levente

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológia Intézet

A fotodinamikus terápia (PDT) jelenleg már az első vonalban szereplő terápiák között is megtalálható kezelési lehetőség. Az eljárás alapját az alkalmazott fényérzékenyítők (leggyakrabban porfirinek) besugárzására képződő reaktív oxigén származékok (ROS) sejtkárosító hatása jelenti. A ROS több helyen okozhat károsodást a sejteken belül, így a membránlipidekben is. A károsító hatás eléréséhez az egyik alapfeltétel az, hogy az alkalmazott fényérzékenyítő molekula a kívánt sejtekben feldúsuljon. Ha ez megtörtént, akkor szelektív hatás érhető el a megfelelő hullámhosszú megvilágító fény és szöveti oxigén jelenlétében.

Modelrendszerként DPPC és DOPC lipidek keverékéből felületasszociált kettősréteget hoztunk létre csillámfelületen kis unilamelláris liposzómák inkubációjával. Fényérzékenyítőként pedig mezoporfirin-dimetil észtert alkalmaztunk. Az így nyert membránrendszert atomerő-mikroszkóppal (AFM) vizsgáltuk fehér fénnel történő megvilágítás előtt és után.

Elsőként mintáink topológia változásait tanulmányoztuk AFM képalkotás segítségével. A kettősrétegek mechanikai tulajdonságainak változásait pedig „erőspektroszkópiai” mérésekkel követtük nyomon. Ezeket a méréseket szintén AFM-el végeztük. A méréseinkhez kontrollként csak DPPC-t tartalmazó kettősrétegeket alkalmaztunk, amelyekben korábbi tapasztalataink szerint a ROS képződés ellenére sem történik károsodás.

Az AFM képeken jól észlelhető különbségeket figyelhettünk meg: míg a telített lipidmembránok megvilágítás után is intaktak maradtak, a telítetlen lipideket is tartalmazó mintáinkban kisméretű lyukak keletkeztek. A „erőspektroszkópia” során a membránok nanomechanikai ujjlenyomatának tekinthető átszakadási erőket rögzítettük. Első eredményekként azt kaptuk, hogy a DPPC és DOPC lipidek keverékéből készített membránokban az átszakadási erők a megvilágítás hatására szisztematikusan csökkentek.

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

Bioszenzorika és bio-nanotechnológia

Fotoszintetikus reakciócentrum/grafén optoelektronika (P32)

Nagy László¹, Radmila Panajotović,² Jasna Vujin², Tijana Tomašević-Ilić², Ieva Bagdanavičiūtė³, Greta Urbonaitė³, Szabó Tibor^{1,4}, Csekő Rihárd¹, Váró György⁵ és Rinyu László⁴

¹ Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

² Institute of Physics, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

³ Faculty of Natural Sciences, Vytautas Magnus University, Kaunas, Lithuania

⁴ MTA Atommag kutató intézet, Hertelendi Ede Környezetanalitikai Laboratórium

⁵ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

Fotoáramot mértünk fotoszintetikus reakciócentrum(RC)/grafén nanohibrid rendszerek gerjesztésével. A RC-ot Rhodobacter spheroides R-26 bíborbaktériumból tisztítottuk, és „liquid exfoliation” módszerrel üveglapra, vagy SiO₂/Si felületre készített grafén rétegre szárítottuk. Fénnyel való gerjesztéssel fotoáramot tudtunk mérni mindkét kísérleti elrendezésben. Az üveglapra szárított minta lehetőséget adott arra, hogy elkülönítsük egymástól a fotoáram lokális hőmérséklet változása miatt bekövetkező megváltozását (amely a gerjesztéssel szükség szerint együtt jár) a grafén és a RC közötti elektronikus kölcsönhatás miatti megváltozástól. A SiO₂/Si felületre készített minta egy lehetséges FET elrendezésben lehetőséget ad arra, hogy az elektromos térerő (Si és grafén közötti gate (G)) fotoáramra (grafén rétegen áthaladó IS-D) gyakorolt hatását megmutassuk a RC jelenlétében, illetve anélkül. Ezek az eredmények hasznos információt adhatnak egy szén (grafén) alapú nagy hatékonyságú, környezetbarát biohibrid bio-fotonikus rendszer megalkotásához.

Köszönetnyilvánítás

A munka a GINOP-2.3.2.-15-2016-00009 ‘IKER’, valamint az EFOP-3.6.2-16-2017-00005 “Ultragyors fizikai folyamatok atomokban, molekulákban, nanoszerkezetekben és biológiai rendszerekben” projekt támogatásával készült.

E. coli sejtek dielektroforetikusan erősített detektálása integrált optikai bioszenzorral (P33)

Petrovszki Dániel¹, Valkai Sándor¹, Gora Evelin¹, Tanner Martin¹, Bányai Anita², Fürjes Péter² és Dér András¹

¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

² MTA Energiatudományi Kutatóközpont, Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet

Manapság az orvosi diagnosztikában egyre nagyobb teret kap a bioszenzorok alkalmazása. Ezen érzékelők legérzékenyebb konstrukciói általában valamilyen (pl. fluoreszcens) jelöléstechnikán alapulnak, ami megnöveli az eszközök költségét és válaszidejét. Napjainkban ezért fejlődésnek indult a gyorsabb, olcsóbb, jelölésmentes technikák alkalmazása is, különösen a betegség melletti diagnosztikában. Az optikai elven működő rendszereket e kategórián belül is a legígéretesebbek közé sorolják. Kutatásaink során egy integrált optikai érzékelő rendszert alkottunk meg baktériumsejtek jelölésmentes detektálására. A létrehozott konstrukcióban a mikrofluidikai csatornában elhelyezkedő hullámvezető struktúra környezetébe dielektroforetikus gyűjtésre alkalmas felszíni elektródarendszert [1] helyeztünk el annak érdekében, hogy minél nagyobb számú célobjektumot detektálhassunk. Az érzékelő eszköz hatékonyságának teszteléséhez kvantitatív vizsgálatokat végeztünk a hullámvezető környezetében elhelyezkedő E. coli baktériumsejteken a hullámvezetőből kiszóródott fény detektálásával. Ezzel az új rendszerrel 10^4 CFU/ml nagyságrendű kimutatási határt értünk el, amely összemérhető a vizeletben található jellemző patogén-koncentrációval. Terveink közt szerepel a dielektroforetikus sejtgyűjtő módszernek az alkalmazása más, érzékenyebb integrált optikai szenzor konstrukciókban is, létrehozva egy betegség melletti diagnosztikában is alkalmazható eszközt.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a téma kutatása során nyújtott segítségét Borbíró Andrásnak, Varga Máténak, Kunstár Károlynak, Charalambous Dafninak, a 77 Elektronika Kft. munkatársainak. A kutatás létrejöttét a VEKOP-2_2_1-16-2017-00001, illetve a NKFI-6 124922 kódú pályázat támogatta. Köszönettel tartozunk Dr. Galajda Péternek és kutatócsoportjának a számunkra biztosított laboratóriumi eszközök használatáért.

Irodalom

[1] Dastider SG, Abdullah A, Jasim I, Yuksek NS, Dweik M, and Almasri M (2018) Rev. Sci. Instrum. 89: 125009

Fotoszintetikus reakciócentrum fehérje alapú valós idejű bioszenzor (P34)

Szabó Tibor^{1,2}, Csekő Richárd², Égerházi László², Szabó Anna³, Janovics Róbert¹, Túri Marianna¹, Futó István¹, Rinyu László¹, Hernádi Klára³ és Nagy László²

¹ MTA Atommag kutató intézet, Hertelendi Ede Környezetanalitikai Laboratórium

² Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

³ Szegedi Tudományegyetem, Alkalmazott és Környezeti kémiai Tanszék

Különböző dimenziójú szén alapú nanoanyagok állíthatók elő (1-3D, csövek, kötegek, filmek, szivacsok, grafén lapok), melyek elkészítési módja és tulajdonságaik az irodalomban széles körben tárgyaltak. Egyedülálló tulajdonságaiknak köszönhetően, ezek az anyagok igen ígéretesnek bizonyultak nemcsak laboratóriumi körülmények között, de akár iparban történő alkalmazásra is. A fehérje alapú bio-nanoanyagok, melyeket a „jövő anyagainak” tekintenek, forradalmi változást hozhatnak az integrált optika (pl.:optikai kapcsolók, mikroképző és mikroképző rendszerek, szenzorok, telekommunikációs technológiák, energiatermelés) területén.

Munkánk során számos szén alapú hordozó anyagot állítottunk elő, melyek között voltak tisztán szén alapú és egyéb atomokkal (nitrogén, kén) adalékolt anyagok is. Mindemellett teszteltük a különböző fém katalizátorok hatását a CVD szintézissel előállított szén nanocsövek tulajdonságaira. A beépült heteroatomok mennyiségét radiokémiai és izotópanalitikai módszerek segítségével határoztuk meg, ezt követően összevetettük a kapott anyagok fizikai és kémiai tulajdonságait. A heteroatomok szerkezetre gyakorolt hatását elektronmikroszkópiás eljárásokkal vizsgáltuk.

Az előállított hordozó anyagaink felhasználásával fehérje alapú bio-nanokompozitokat hoztunk létre. C14 tartalom meghatározásával megállapítottuk a fehérje (fotoszintetikus membránban elhelyezkedő reakciócentrum fehérje (RC)) arányát a kompozitban, így annak ismeretében az abszolút enzimaktivitás is kiszámítható.

A kialakított kompozit anyagok bioszenzorként alkalmazhatóak, herbicidek kimutatására és koncentrációjuk meghatározására alkalmasak. Ennek érdekében egy mikrofluidikai cellát terveztünk és készítettünk el 3D nyomtatásos technológia segítségével, mellyel áramlásos körülmények között valós idejű mérésekre van lehetőség.

A munka a GINOP-2.3.2.-15-2016-00009 ‘IKER’ projekt támogatásával készült.

Bioenergetika és fotobiofizika

A fotoszintézis inaktiválása az antenna szintjén: az LHCII érzékenysége közvetlen fotokárosodásra (P35)

Lingvay Mónika^{1,2}, Akhtar Parveen^{1,3}, Sebőkné Nagy Krisztina⁴, Páli Tibor⁴ és Lambrev Petar¹

¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

² Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Fizika Doktori Iskola

³ ELI-ALPS, ELI Nonprofit Kft.

⁴ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A fotoszintetikus apparátus egyik kulcsfontosságú jellemzője a fénykárosodással szembeni ellenállóképessége és aktív védelme, mely funkciók a teljes rendszer összehangolt működését feltételezik. Ismeretes, hogy a II. fotokémiai rendszer magas fényintenzitás mellett hajlamos fénygátlásra / fotoinhibícióra, de még vitatott, hogy a II. fénybegyűjtő komplex (LHCII) lehet-e célpontja elsődleges fénykárosodásnak. A fénykárosodás egyik lehetséges mechanizmusa a triplett gerjesztett állapotú klorofilok (Chl) keletkezése, amelyek kölcsönhatásba lépve az oxigénnel, szingulett oxigént és más reaktív oxigén formákat képezhetnek; habár ismeretes, hogy az LHCII-ben kötött karotinoidok hatékonyan kioltják a triplett állapotokat.

A kutatás célja izolált LHCII fénykárosodásra való hajlamának, ennek a molekuláris környezettől való függésének és a fizikai mechanizmusainak tanulmányozása. Ennek érdekében, borsó tilakoidmembránokból tisztított LHCII-t fehérje-aggregátumokként szuszpendáltuk, detergens micellákban szolubilizáltuk, illetve különböző lipidösszetételű rekonstituált membránokba ágyaztuk. A nagy fényintenzitás hatásait ezen in vitro modellekre biofizikai és biokémiai vizsgálatokkal elemeztük.

Eredményeink azt mutatták, hogy az LHCII in vitro sugárzással szembeni ellenállóképessége erősen környezetfüggő, és hogy az LHCII jobban kitett a fény káros hatásának lipid-környezetben. Kimutattuk, hogy a fotokárosodás oxigén-függő, és különböző antioxidánsok fotoprotektív hatását is bizonyítottuk. A malondialdehid-tiobarbitursav reaktivitási teszt kimutatta, hogy a megvilágítás a membránlipidek LHCII által közvetített peroxidációját eredményezi. A szingulett oxigén képződését és kölcsönhatásait a fény által kitett LHCII környezetekben kvantitatívan vizsgáltuk az elektronspin-rezonancia spektroszkópia módszerével, spincsapdák és -jelölők segítségével.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a Nemzetgazdasági Minisztérium GINOP-2.3.2-15-2016-00001 pályázatának és az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-17-3-I kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (NKFIA) K 112716 pályázatának részleges támogatásával készült.

Temperature-dependent energy transfer in LHCII probed by 2D electronic spectroscopy (P36)

Parveen Akhtar^{1,2}, Thanh Nhut Do³, Adriana Huerta-Viga³, Pawel Nowakowski³, Howe-Siang Tan³, Petar H. Lambrev¹

¹ Biological Research Centre HAS, Plant Biology Institute

² ELI-ALPS, ELI Nonprofit Ltd.

³ Nanyang Technological University, School of Physical and Mathematical Sciences, Singapore

The efficiency of photosynthetic light energy conversion depends on the ability of the photosynthetic apparatus to harvest the solar energy and transfer to the photochemical reaction centres without losses. Excitonic interactions between chlorophylls in LHCII, the main light-harvesting antenna of Photosystem II, provide a way for fast and efficient directional excitation energy transfer (EET) in a less than 100 femtoseconds to picoseconds. Despite the wealth of data about the kinetics of EET, the presently existing models report different kinetics of EET in LHCII. Two-dimensional electronic spectroscopy (2DES) is a powerful technique for mapping EET pathways. We studied EET in LHCII by 2DES at various temperatures from 77 K to 293 K under conditions free from singlet-singlet annihilation. Global lifetime analysis revealed that spectral equilibration occurs over distinct timescales – from < 200 fs to 5 ps at 293 K, as previously published [1]. However, slower timescales are observed at lower temperatures – up to tens of picoseconds at 77 K. A clear temperature dependence of uphill energy transfer processes is also discerned, which follows the detailed-balance condition. We applied phenomenological model fitting to resolve exciton states and microscopic rates of energy transfer. The experimental and modeling results at 77 K are generally in good agreement with existing exciton models of LHCII, but specific differences especially in the slow picosecond relaxation kinetics suggest the need for model refinement. Protein motions substantially improve the efficiency of light harvesting at physiological temperature.

Acknowledgements

The work was supported by grants from the Singapore Ministry of Education Academic Research Fund (Tier 2 MOE2015-T2-039), the Hungarian Ministry of Finance (GINOP-2.3.2-15-2016-00001), and the National Research, Development and Innovation Office (NKFIH NN 124904; 2018-1.2.1-NKP-2018-00009). The ELI-ALPS project (GINOP-2.3.6-15-2015-00001) is supported by the European Union and co-financed by the European Regional Development Fund.

References

[1] Akhtar P, Zhang C, *et al* (2017) J Phys Chem Lett 8: 257–263

OaPAC fehérjén végzett vizsgálatok TA spektroszkópia segítségével (P37)

Pirisi Katalin, Yin Li, Sofia Kapetanaki, Lukács András

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet

A cAMP másodlagos hírvivő molekulaként fontos szerepet játszik a sejten belüli jelátviteli folyamatokban. Részt vesz például a glükagon és adrenalin hormonok hatásának kiváltásában. A jelátviteli molekulát a BLUF domént tartalmazó OaPAC fehérje termeli kék fény hatására.

A BLUF domén fehérjék a fényérzékeny flavoproteinek egy fontos családját alkotják, amelyekben a fotoaktiváció során strukturális átrendeződés megy végbe. BLUF domén található például az *Euglena gracilis* ostoros egysejtűben, illetve a jól ismert *Rhodobacter Sphaeroides*, vagy az *Oscillatoria Acuminata* baktériumban is.

Jelen munkában ez utóbbi baktériumból származó OaPAC (*Oscillatoria Acuminata*, fotoaktivált adenilát cikláz) nevű fehérjén (és így az általa termelt cAMP-n) végeztünk vizsgálatokat tranziens abszorpciós spektroszkópia segítségével.

Méréseink eredményeként kapott kinetikák az OaPAC egy gyors, néhány pikoszekundumos és egy hosszabb (szintén pikoszekundumokban mérhető) relaxációját feltételezik, a jelenlévő két különböző állapotnak megfelelően.

Irodalom

Structural insight into photoactivation of an adenylate cyclase from a photosynthetic cyanobacterium, Mio Ohki et al. PNAS 2016

EFOP-3.6.2-16-2017-00005

Fény által kiváltott konformáció-változások jellemzése és azok dinamikájának feltárása Thermosynechococcus vulcanus PSII komplexben (P38)

Sipka Gábor^{1*}, Stefano Santabarbara², Pavel Müller³, Klaus Brettel³, Magyar Melinda¹, Qingjun Zhu⁴, Yanan Xiao⁴, Guangye Han⁴, Petar H. Lambrev¹, Jian-Ren Shen^{4,5}, Garab Győző^{1,6}

¹Biological Research Centre, Hungarian Academy of Sciences, Szeged, Hungary

²Photosynthetic Research Unit, National Research Council of Italy, Milano, Italy

³Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France.

⁴Photosynthesis Research Center, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China

⁵Photosynthesis Research Center, Okayama University, Okayama, Japan

⁶Faculty of Science, University of Ostrava, Ostrava 1, Czech Republic

A második fotokémiai rendszernek (PSII) kiemelkedő szerepe van a fotoszintézis folyamatában, hiszen egyedül ez a szuperkomplex képes a víz bontására, és így a légköri oxigén termelésére. Korábban, DCMU-kezelt PSII reakciócentrum-core komplexek (RC-CC) STSF-indukált változó klorofill-*a* fluoreszcencia (Fv) kinetikájának vizsgálatával azonosítottunk egy sebességkorlátozó lépés-sort [1] (STSF, egyszeres telítési-gerjesztő fényimpulzus): megállapítottuk, hogy – az irodalomban legáltalánosabban elfogadott modellel ellentétben – a primér kinon akceptor (Q_A) redukciója (egyetlen STSF-el) nem emeli a minimális Fo szintről a maximális Fm értékre, hanem csak egy Fo < F1 < Fm szintre, és Fm csak további STSF sorozattal érhető el jelentős – hőmérsékletfüggő – várakozási idővel a fényimpulzusok között. Nanoszekundumos tranziens abszorpcióváltozás mérésekkel megállapítottuk, hogy ez a lépés-sor nem vezethető vissza a primér töltés-szétválasztás – *a priori* nem kizárható - kapuzására; megerősítettük azt is, hogy DCMU jelenlétében csak egyetlen stabil töltés-szétválasztás keletkezik (az első STSF gerjesztés hatására); ezt követően csak ~2 ns élettartamú P680⁺Pheo⁻ tranziensek generálhatók [2]. Mélyhőmérsékleten (80 – 120 K) végzett fluoreszcencia emissziós tranziens spektroszkópiai méréseink azt mutatták, hogy az Fo-F1 és az F1-Fm tranziens állapotokhoz, azaz a Q_A-Q_A⁻-hoz és a töltésszétválasztott-fényadaptált állapotokhoz, más-más spektrumok társíthatók. A különbségeket főként a 685 nm-es emissziós sávon figyeltük meg minden kriogén hőmérsékleten, ahol a két emissziós sáv, az F685 és az F695, feloldható. A megfigyelt változásokat okozhatja a Q_A⁻ erős helyi elektromos mezőjére szuperponált P680⁺Pheo⁻ erős lokális tranziens tere és/vagy egy, a töltésszétválasztást követő, termális tranziens. Ezek módosíthatják a RC-CC dielektrikum szerkezetét / konformációs állapotát és így az energiatranszfer Shibata és mtsai [3] által korábban feltárt útvonalaikat. Mélyhőmérsékleten ezek az addicionális konformációs állapotváltozások tehetők felelőssé az Fv(=Fm-Fo) emelkedés legnagyobb hányadáért (80 K-n ~90%-áért). Eredményeink azt mutatják, hogy PSII két állapota, a nyitott (sötét-adaptált) és zárt (stabil töltésszétválasztást követő) állapotai mellett számolnunk kell annak fényadaptált állapotával is, amely a stabil-töltésszétválasztást követően, megvilágítás hatására alakul ki. Ennek fiziológiai jelentősége még nem ismert.

Irodalom

[1] M. Magyar, G. Sipka, L. Kovacs, B. Ughy, Q.J. Zhu, G.Y. Han, V. Spunda, P.H. Lambrev, J.R. Shen, G. Garab (2018) Rate-limiting steps in the dark-to-light transition of Photosystem II - revealed by chlorophyll-*a* fluorescence induction, *Scientific Reports*, 8.

[2] G. Sipka, P. Müller, K. Brettel, M. Magyar, L. Kovacs, Q. Zhu, Y. Xiao, G. Han, P.H. Lambrev, J.R. Shen, G. Garab (2019) Redox transients of P680 associated with the incremental chlorophyll-*a* fluorescence yield rises elicited by a series of saturating flashes in diuron-treated photosystem II core complex of *Thermosynechococcus vulcanus*, *Physiol Plant*, 166:22-32.

[3] Y. Shibata, S. Nishi, K. Kawakami, J.R. Shen, T. Renger (2013) Photosystem II does not possess a simple excitation energy funnel: time-resolved fluorescence spectroscopy meets theory, *J Am Chem Soc*, 135:6903-6914.

Elméleti biofizika

The structure of hierarchical tissues that minimize somatic evolution (P39)**Demeter Márton Csaba¹, Derényi Imre² és Szöllősi Gergely³**^{1,2,3} ELTE-MTA „Lendület” Evolúciós Genomika kutatócsoport

Self-renewing tissues of multicellular organisms produce cells using hierarchical differentiation. Such hierarchically organised tissues suppress somatic evolution and thus delay aging and the emergence of tumours at two levels of the evolutionary process. At the level of selection, even mutations that provide a proliferative advantage can be "washed out" as a result of differentiation [2], while at the level of mutation accumulation hierarchical organization can limit the number of cell divisions, and as a result the mutational burden of maintaining tissues [1].

Here we explore the structure of hierarchical tissues that minimize somatic evolution. We introduce a generic quantity, the self-renewal potential, which quantifies the ability of cells to avoid being "washed out" and determines their fitness at a hierarchical level. Using the self-renewal potential, which in healthy tissue is negative for non stem cells, the critical number of mutations, necessary for triggering neoplastic progression at a certain hierarchical level can be obtained. We are able to analytically estimate the probability of neoplastic progression in hierarchical tissues using the theory of birth death processes and the statistical characteristics of the cell-lineage tree. We find that in general there is a trade off between mutation accumulation and the proliferative disadvantage of cells in the hierarchy leading to an evolutionary optimum in the probability of neoplastic progression.

In particular we find that in tissues with physiologically realistic parameters the division rate of stem cell is higher than the extremely low rates required to minimize mutation accumulation alone. The resulting optimum induced by selection is characterized by a relatively large number of stem cell divisions, with the consequence that the majority of the driver mutations can accumulate within stem cells.

Irodalom

[1] Hierarchical tissue organization as a general mechanism to limit the accumulation of somatic mutations, Imre Derényi, Gergely J Szollosi Nature Communications volume 8, Article number: 14545 (2017) <https://doi.org/10.1038/ncomms14545>

[2] Nowak, Michor, Isawa, The linear process of somatic evolution. PNAS 2003

In hierarchical tissues small compartments lead to a selective threshold below which mutations cannot persist (P40)

Grajzel Dániel^{1,3}, Derényi Imre^{1,2} és Szöllősi Gergely^{1,3}

¹ Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Fizika Intézet

² MTA-ELTE Statisztikus és Biológiai Fizika Kutatócsoport

³ MTA-ELTE Lendület Evolúciós Genomika Kutatócsoport

Cancer is a genetic disease fuelled by somatic evolution. Hierarchical tissue organisation can slow somatic evolution by two qualitatively different mechanisms: by cell differentiation along the hierarchy “washing out” harmful mutations [1][2](Nowak 2003, Werner 2013) and by limiting the number of cell divisions required to maintain a tissue [3] (Derényi and Szöllősi 2017). Here we explore the effects of differences in compartment size on somatic evolution in hierarchical tissues by considering cell number regulation that acts on cell division rates such that the number of cells in the tissue has the tendency to return to its desired homeostatic value.

Introducing mutants with a proliferative advantage we demonstrate the existence of a third fundamental mechanism by which hierarchically organised tissues are able to slow down somatic evolution. We show that tissue size regulation in hierarchically organized tissues leads to the emergence of a threshold proliferative advantage, below which mutants cannot persist. We find that the most significant determinant of the threshold selective advantage is compartment size, with the threshold being higher the smaller the number of cells in the compartment.

Our results demonstrate that in sufficiently small compartments even mutations that confer substantial proliferative advantage cannot persist, but are expelled from the tissue by differentiation along the hierarchy. The resulting selective barrier can significantly slow down somatic evolution and reduce the risk of cancer by limiting the accumulation of mutations that increase the proliferation of cells.

Irodalom

[1] Nowak M, Michor F, Iwasa Y (2003) The linear process of somatic evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:14966-14969.

[2] Werner B, Dingli D, Traulsen A (2013) A deterministic model for the occurrence and dynamics of multiple mutations in hierarchically organized tissues. *Journal of The Royal Society Interface* 10:20130349-20130349.

[3] Derényi I, Szöllősi G (2017) Hierarchical tissue organization as a general mechanism to limit the accumulation of somatic mutations. *Nature Communications* 8:14545.

The hierarchical structure of the hematopoietic system can explain chronic myeloid leukaemia progression. (P41)

Pérez Jiménez Mario¹, Derényi Imre² and Szöllősi Gergely³

¹ Eötvös Loránd University, Department of Biological Physics

² Department of Biological Physics, ELTE-MTA 'Lendület' Biophysics Research Group

³ Department of Biological Physics, ELTE-MTA 'Lendület' Evolutionary Genomics.

Chronic myeloid leukaemia (CML) is one of the most studied and well-known cancer types. It was the first known human cancer that can be initiated by a single chromosomal abnormality, this translocation is known as the BCR-ABL1 fusion gene [1]. CML progression is divided into three phases, these can be distinguished with a bone marrow biopsy or a blood smear test. These two methods provide clear criteria for each one of the stages [2].

The initial chronic phase is characterized by a long constant evolution estimated between 5 and 7 years. This initial phase is defined by an increased number of white blood cells (WBC) and the limited presence of immature blasts cells in the blood. Despite the presence of blast cells in the blood, the full spectrum of mature cells is still present. At this point, a cytogenetic analysis will conclude that BCR-ABL1 mutated cells have replaced healthy cells.

Transition to more advanced stages of the disease is characterized by an increased amount of blast cells in the blood (above 20%). Mature cells cannot be found in blood samples anymore. Tumour heterogeneity is also common in advanced phases. Resistance to treatment and unresponsive high WBC count are stereotypic of the final stage of the disease.

A model of hierarchical differentiation [3] is used to simulate the hematopoietic system in silico. We perform simulations about the dynamics of the BCR-ABL1 mutants in a two-compartment system. Terminally differentiated cells can migrate from the bone marrow to the bloodstream in healthy conditions. The chronic phase is in agreement with increased cellularity in the bone marrow and the initial leaking of progenitor cells to the bloodstream. In the simulation, new mutations increase self-renewal and stop the differentiation capacity of cells.

Our results show that CML development can be explained based on the hierarchical structure of blood formation. The model provides a mathematical picture of CML progression, while the simulations provide with a quantitative and accurate description. Our results provide insight about cancer dynamics, from the initial mutation to final irreversible cell growth.

References

- [1] Provan, Drew & Gribben, John. (2018). Molecular hematology.
- [2] Junia V. Melo & David J. Barnes. Nature Reviews Cancer ,7 441453 (2007).
- [3] Derényi Imre & Szöllősi Gergely J. Nature Communications, 8 14545 (2017).

Hierarchical tissues that minimize somatic evolution (P42)

Demeter Márton ², Grajzel Dániel ², Derényi Imre ¹, Szöllősi Gergely ^{1,2}

¹ *Biológiai Fizika Tanszék, ELTE*

² *MTA-ELTE "Lendület" Evolúciós Genomika Kcs.*

Cancer development is a somatic evolutionary process where cells must divide and as a result mutations that can ultimately lead to neoplastic progression may accumulate. Hierarchically organized tissues can slow down somatic evolution by reducing the number of cell divisions along cell lineages thus limiting mutation accumulation [1] and by "washing out" mutations even if they confer a proliferative advantage [2].

Here we explore the structure of hierarchical tissues that minimize somatic evolution. We derive the critical number of mutations, necessary for triggering neoplastic progression as a function of dynamical parameters of the hierarchy. Using this results we are able to analytically estimate the probability of neoplastic progression based on statistical characteristics of the cell-lineage tree. We find a trade off between mutation accumulation and the proliferative disadvantage of cells in the hierarchy leading to an evolutionary optimum in the probability of neoplastic progression.

In particular we find that in tissues with physiologically realistic parameters the division rate of stem cells is higher than the extremely low rates required to minimize mutation accumulation [1]. The resulting optimum induced by selection is characterized by a relatively large number of stem cell divisions, with the consequence that the majority of the driver mutations can accumulate within stem cells.

References:

[1] Derényi & Szollosi, Hierarchical tissue organization as a general mechanism to limit the accumulation of somatic mutations.

Nature Communications 2017

[2] Nowak, Michor, Isawa, The linear process of somatic evolution. PNAS 2003

Szubklonális szerkezet tumorokban (P43)

Tibély Gergely^{1,2}, Szöllősi Gergely^{1,2} és Derényi Imre^{1,3}

¹ ELTE Biológiai Fizika Tanszék

² MTA-ELTE Evolúciós Genomika kutatócsoport

³ MTA-ELTE Statisztikus és Biológiai Fizika kutatócsoport

A tumoron belüli heterogenitás a tumorsejtek osztódása során bekövetkező tökéletlen DNS másolás következtében jelenik meg, egy szomatikus evolúciós folyamathoz vezetve. Az utóbbi években megjelent kutatások alapján a szubklonális mutációk száma jóval nagyobbak tűnik, mint ami a humán szomatikus mutáció ráta ismert becslései alapján várható, neutrális mutációkat feltételezve [1,2]. Feltételezhető, hogy a magas mutációs számot vagy egy, az irodalminál szignifikánsan magasabb mutációs ráta okozza, vagy gyakori sejthalál, amely a sejtek leszármazását sok generációval hosszabbá teszi, ezáltal minden sejt több osztódáson megy keresztül.

A bemutatott kutatás keretében eszközöket fejlesztünk különböző mutációs ráta-halálozási ráta paraméterértékekkel rendelkező generatív modellek valószínűségének becslésére. A modell a szekvenálási hibákat is képes figyelembe venni, amelyek a gyakorlatban az empirikus adatok mutáns readjeit dominálják. A teszteredmények alapján a valós paraméterértékek visszanyerhetőek, a sejthalál és a mutációs ráta hatásai szeparálhatóak.

Irodalom

[1] Williams M J, Werner B, Barnes C P, Graham T A, Sottoriva A. Identification of neutral tumor evolution across cancer types. Nat Genet 2016; 48:238-244.

[2] Martincorena I, Campbell P J. Somatic mutation in cancer and normal cells. Science 2015; 349:1483-1489.

Modern biofizikai módszerek

Baktériumok fenotípusbeli variabilitásának vizsgálata mikrofluidikai sejtcsapdákkal (P44)Ábrahám Ágnes¹, Nagy Krisztina¹, Csákvári Eszter¹, Dér László¹ és Galajda Péter¹¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

Változó környezetben a sejtek közti fenotípusbeli és viselkedésszerű különbségek kulcsszerepet játszanak a sejtek túlélésében, a környezethez való alkalmazkodásukban, illetve a baktérium populációk evolúciójában.

Ennélfogva az egysejt szintű megfigyelések alapvető fontosságúak a baktérium populációk fejlődésének és működésének megértéséhez.

Jelenleg egy olyan mikrofluidikai eszköz kifejlesztésén dolgozunk, amely mikrofluidikai egysejt csapdák sorozatából áll. Ezzel az eszközzel vizsgálni tudjuk a quorum sensing folyamat során kialakuló sejt-sejt változatosságot, a növekedés- és osztódásbeli különbségeket, továbbá a környezeti stresszhatásokra adott válaszreakciókat.

Egy módosított „mother machine” eszközzel képesek vagyunk egyetlen sejt utódsejtjeinek csapdázására és megfigyelésére több generáción keresztül. Ez lehetővé teszi számunkra a sejtek közti variabilitás vizsgálatát, illetve úgy véljük, többet megtudhatunk arról, hogy a fenotípus- és viselkedésszerű variabilitás hogyan függ össze a leszármazási viszonyokkal és a sejttöredéssel.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az NKFIH K 116516 és PD 124889 kutatási pályázatait, illetve a GINOP-2.3.2-15-2016-00001, a GINOP-2.3.2-15-2016-00026 és a GINOP-2.3.2-15-2016-00037 pályázatok támogatásával valósult meg.

Phalloidin as a bacterial actin-labeling agent (P45)

Szilvia Barkó^{1,5}, Beáta Longauer¹, Emőke Bódis¹, Dávid Szatmári¹, Zoltán Ujfalusi¹, Robert C. Robinson^{2,3} and Miklós Nyitrai^{1,4,5}

¹Department of Biophysics, Medical School, University of Pécs, Szigeti str. 12, Pécs, H-7624, Hungary

²Research Institute for Interdisciplinary Science, Okayama University, Okayama 700-8530, Japan.

³VISTEC, Thailand

⁴MTA-PTE Nuclear-Mitochondrial Interactions Research Group, Szigeti str. 12, Pécs, H-7624, Hungary

⁵Szentágotthai Research Center, University of Pécs, Hungary

The visualization of subcellular objects by microscopy is one of the most important tools in biological studies. Some subcellular objects, due to their smallness in size, can challenge the physical barrier of resolution for microscopy. Although this area of biophysics is rapidly evolving limitations remain. The internal organization of eukaryotic cells is becoming better characterized due to the wealth of visualization probes that are available. Prokaryotes are smaller and their internal cellular organization has been resolved to a lesser extent. One recent study highlights one problem that there are only very few optical compounds that can be applied to visualize components of bacterial cells. The visualization of cytoskeletal components has a long history. For example, eukaryotic actin F-actin has been visualized in many studies by fluorescently conjugated phalloidin. This peptide is a toxin from the mushroom *Amanita phalloides*, which specifically binds to F-actin. However, in order to visualize F-actin *in vivo*, the cell membrane must be permeabilized because phalloidin is a membrane-impenetrable compound consequently it cannot enter the cell.

Two decades ago, phalloidin was reported to bind to bacterial actin-like proteins. At that time, microscopy technology had not developed sufficiently to solve the fine structure of the fluorescently-labelled cytoskeleton organization, and only low resolution images were obtained. Here, we used fluorescently-conjugated phalloidin to visualize MreB *in vitro*, and determine the *in vivo* localization of MreB in Gram positive and Gram negative cells. We tested the effects of phalloidin on the dynamics of MreB and on the viability of bacterial cells. By contrast to the harmful effects of phalloidin on actin dynamics and eukaryotic cell viability, phalloidin did not affect MreB dynamics of bacterial growth rates, however it did induce a morphology change to longer cell chain lengths.

Acknowledgement

OTKA-107776: An anchor biological systems characteristics: the structural and functional properties of bacterial filaments.

***Lactobacillus bulgaricus* növekedésének követése joghurtban elektromos impedanciával (P46)**

**Bodor Zsanett¹, Zaukuu John-Lewis Zinia¹, Kaszab Tímea¹, Lambert-Meretei Anikó¹,
Rashed Mahmoud S.¹, Kovács Zoltán¹, Mohácsi-Farkas Csilla² és Vozáry Eszter¹**

¹ Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Fizika-Automatika Tanszék

² Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

A joghurt tejből készül tejsavas erjedéssel a tejsav baktériumok, pl. a *Lactobacillus Bulgaricus* közreműködésével. Számos faja ismert, amelyeknek különböző a fermentációs aktivitása és a szaporodó képessége. Egyre nagyobb az igény az egyes fajok pontos ismeretére, mivel élettani szempontból jelentősek. A klasszikus sejtszámlálási módszer nagyon időigényes és képzett szakembert kíván. Gyors módszerre van szükség a baktériumok szaporodás követésére. Az elektromos impedancia spektroszkópia alkalmas lehet a kémiai környezetváltozás és a baktérium szám növekedés követésére. Jelen munkákban a tejsav baktériumok szaporodásának követésére a joghurt elektromos impedancia paramétereinek a változását használtuk.

A *Lactobacillus Bulgaricus* néhány fajtát használtuk joghurt készítésére. Ultra-magas hőmérsékleten kezelt (UHT) 1,5 % zsírtartalmú tejet oltottunk be a tejsav baktériumokkal. A sejt számot MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) agaron öntés technológiával határoztuk meg 12 órán keresztül óránként 37 °C hőmérsékleten. Az elektromos admittancia valós (vezetés) és képzetes (szuszeptancia) részét mértük 12 órán keresztül 37 °C hőmérsékleten 50 Hz – 800 kHz frekvencia tartományban egy HP4384A precíziós LCR mérővel. A baktérium sejt szám 10^3 -ról 10^7 -re (CFU/ml) nőtt. A baktériumszám növekedése és a szuszeptancia növekedése közötti összefüggésre készített regressziós modell jól írja le a sejtszám növekedést. A pontos kísérleti módszer kidolgozásával a szuszeptancia alkalmas lehet a baktérium szaporodás követésére.

Köszönetnyilvánítás

A Szent István Egyetem Élelmiszer tudományi Doktori Iskolája, az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005 Európai Alapítvány és az MTA Bolyai ösztöndíj támogatta ezt a munkát

A sejtmembrán szterol tartalmának változtatása módosítja a Kv1.3 ioncsatorna lipidtutajok és egyéb membrán mikrodomének közötti megoszlását (P47)

Cs. Szabó Bence, Szabó Máté, Zákány Florina, Varga Zoltán, Nagy Péter, Kovács Tamás

Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológia Intézet

A limfociták aktivációjában szerepet játszó Kv1.3 ioncsatornáról ismert, hogy preferenciálisan a lipidtutajokban helyezkedik el. A lipidtutajokban található jelátviteli környezet szerepet tölthet be az ioncsatorna működésének szabályozásában. Munkacsoportunkban korábban kimutatták, hogy a membrán szterol tartalmának szelektív növelése megváltoztatja a Kv1.3 elektrofiziológiai jellemzőit. A töltések során bevitt szterolok és a csatorna kölcsönhatásának pontos mechanizmusa azonban nem ismert.

Célunk volt a membrán szterol tartalmának szelektív manipulálása után a Kv1.3 és a lipidtutajok közötti kolokalizáció vizsgálata. Ehhez HEK-293 sejtekben a koleszterin vagy 7-dehidrokoleszterin (7DHC) mennyiségét növeltük a megfelelő szterol/metil-béta-ciklodextrin (MBCD) komplexekkel, illetve koleszterint vontunk ki a sejtek membránjából MBCD alkalmazásával. Ezután jelöltük a sejtekbe transzfektált Kv1.3-FLAG csatornákat anti-FLAG antitesttel és a lipidtutajokat koleratoxin B alegységével, majd konfokális, illetve stimulált emisszió kioltás (STED) mikroszkóp segítségével felvételeket készítettünk. Kvantitatív képanalízis során meghatároztuk a Kv1.3, illetve tutaj jelölők intenzitásai közötti Pearson-féle korrelációs koefficiens értékét.

Méréseink alapján a kontrollhoz ($0,416 \pm 0,013$, $n=27$) képest a membrán koleszterin, illetve 7DHC tartalma növelésének hatására a Kv1.3 tutajokkal történő kolokalizációja szignifikánsan ($p < 0,05$) növekedett (koleszterin esetén $0,492 \pm 0,013$, $n=34$; 7DHC mellett $0,500 \pm 0,015$, $n=32$), míg MBCD kezelés után szignifikánsan csökkent ($0,338 \pm 0,014$, $n=30$). Konfokális mikroszkópos eredményeinket a nagyobb feloldóképességgel bíró STED mikroszkópiával is megerősítettük (kontroll: $0,274 \pm 0,025$, $n=25$; koleszterin: $0,361 \pm 0,019$, $n=32$; 7DHC: $0,366 \pm 0,019$, $n=28$; MBCD: $0,219 \pm 0,022$, $n=24$).

Kísérleteink során kimutattuk, hogy a Kv1.3 membrán mikrodomének közötti megoszlása függ a sejtmembrán szterol tartalmától, ami mediálhatja a szterolok ioncsatornákra kifejtett hatásait.

Measuring binding force between glutathione-functionalized microtools and blood brain barrier cells with optical tweezer (P48)

Tamás Fekete, Mária Mészáros, Gergő Porkoláb, Szilvia Veszélka, Mária Deli, Lóránd Kelemen

Institute of Biophysics, Biological Research Centre of the Hungarian Academy of Sciences, Temesvári krt. 62, H-6726 Szeged, Hungary

In this work functionalized and optically actuated microstructures are used to study the adhesion between cell membrane-associated proteins and their ligands. Literature indicates that such proteins from the solute carrier transporter family can be effectively used in the active transport of drugs to the brain through cells forming the blood brain barrier (BBB). Mészáros and co-workers found if transporter protein ligands, such as alanine, D-glucose or glutathione are mounted on the surface of niosomes encapsulating the drug to be delivered, the uptake rate into the BBB cells increases (Mészáros et al. 2018). In this study we characterize ligand binding by measuring the force between these ligands, immobilized covalently on the optically actuated microstructures and the BBB's component cells. The complex-shaped microstructures (Aekbote et al 2016) were made by two-photon polymerization and equipped with a flat end of variable surface area that interacts with the cell membrane. The ligand-coated structures are pressed against the cells, grown on a vertical support, and when retracted, the rupture force is measured. Since optical tweezers can exert lower forces than an AFM cantilever, these experiments can elucidate finer interactions responsible for the ligand binding to the BBB cells surface.

References

- Mészáros M, Porkoláb G, Kiss L et al. *Niosomes decorated with dual ligands targeting brain endothelial transporters increase cargo penetration across the blood-brain barrier*, Eur J Pharm Sci, 123:228–240, 2018, doi.org/10.1016/j.ejps.2018.07.042
- Aekbote BL, Fekete T, Jacak J, Vizsnyiczai G, Ormos P, and Kelemen L, *Surface-modified complex SU-8 microstructures for indirect optical manipulation of single cells*, Biomed Optics Express, 7:45-56, 2016, doi.org/10.1364/BOE.7.000045

Extracelluláris vezikula koncentráció meghatározása humán vérplazmában és szérumban on-line fluoreszcenciás detektálással kombinált méretkizárásos kromatográfiával és mikrofluidikus ellenállás impulzus méréssel (P49)

Kitka Diána¹, Mihály Judith¹, Varga Zoltán¹

¹ Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont, Anyag-és Környezetkémiai Intézet

Az élő sejtek közötti kommunikáció egyik újonnan felfedezett útvonala az ún. extracelluláris vezikulákon (EVken) keresztüli információcsere, amely az elmúlt évtizedben a kutatások középpontjába került. Az EVk olyan, a sejten kívüli térben található, kettős foszfolipid membránnal határolt, sejt eredetű (nano)struktúrák, amelyek számos információt hordoznak a kibocsátó sejt állapotáról. Az EVk mennyisége és fajtái nagyban függenek az adott egyén fiziológiás és patológiás állapotától, így betegségek korai EV-alapú diagnosztizálása is lehetségessé válhat. A vér az egyik legnagyobb intermedier közeg és egyben a legfontosabb biomarker forrás, ugyanakkor EVk izolálása, detektálása és jellemzése ebből a komplex mátrixból számos nehézségbe ütközik.

Munkánk célja humán vérből izolált EVk meghatározása és jellemzése olyan újszerű technikákkal, mint az on-line fluoreszcenciás detektálással kombinált méretkizárásos kromatográfia (Flu-SEC) és a mikrofluidikus ellenállás impulzus mérés (MRPS).

A kísérletekhez egészséges önkéntesektől gyűjtöttünk vért szérum (szérum aktivárok) és plazma (K3EDTA, ACD-A) vérvételi csövekbe. A sejt elemek eltávolítása két centrifugálási lépéssel történt (2x 2500 x g), majd az EVket méretkizárásos kromatográfiával izoláltuk. Az nCS1 MRPS készülékkel (Spectradyn LLC, USA) történő részecskeszám meghatározás a 65 nm – 250 nm és 250 nm – 2000 nm közötti mérettartományban történt. A Flu-SEC mérések egy FP-2020 fluoreszcenciás detektorral összekapcsolt HPLC rendszerrel (Jasco, Japan) történtek egy 4 mL CL-2B géllal töltött méretkizárásos oszlop használatával. A EV minták fluoreszcens jelöléséhez PE-CD61, PE-CD81 és AF488-CD41 antitesteket használtunk.

Az MRPS mérések alapján a szérumban jelentősen magasabb EV koncentráció volt tapasztalható (10¹⁰ illetve 7x10⁷ részecske/mL) mint a plazmában (4-6x10⁹ illetve 1-2x10⁷ részecske/mL). A két technika kombinációjával a vérlemezke és az extracelluláris vezikula specifikus fluoreszcens antitestekkel jelölt EVk mértékét is meg tudtuk határozni.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást az NKFIH PD 121326 és NVKP_16-1-2016-0007 pályázatok anyagi támogatásával végeztük. V.Z. munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

Kis molekulák és nanorészecskék élő sejtekre gyakorolt hatásának vizsgálata jelölésmentes bioszenzorral (P50)

Péter Beatrix¹, Székács Inna¹, Hideyuki Nakanishi², Lagzi István³, Bősze Szilvia⁴, Horváth Róbert¹

¹ MTA EK MFA Nanobioszenzorika Lendület Kutatócsoport

² Kyoto Institute of Technology (KIT), Japán

³ BME TTK Fizika Tanszék

⁴ MTA-ELTE Peptidkémiai Intézet

A jelölésmentes bioszenzorok- és képalkotó technikák robbanásszerű fejlődésen mentek keresztül az utóbbi években; alkalmazásuk a biológiai alap kutatásokban csak most kezdődött el, a műszerek egyre érzékenyebbek, használatuk új utakat nyithat meg a biotechnológiai alkalmazásokban is. Az említett módszerek fontos előnye, hogy a méréseket valós időben, jelölő anyagok, festékek nélkül tudjuk megvalósítani, így ezek nem befolyásolják a vizsgált mintákat.

Kísérleteinkben Epic BT (RWG) jelölésmentes optikai bioszenzort alkalmaztunk a kis molekulájú epigallokatekin-gallát (EGCG, zöld tea polifenol) élő sejtekre (HeLa sejtvonal) gyakorolt hatásának vizsgálatára kopolimer bevonatokon, valós időben. Különös figyelmet fordítottunk az EGCG – szakirodalomban alig részletezett – oxidált formájára, és feltártuk, hogy ez az oxidált forma hogyan befolyásolja a sejtadhéziós bevonatok tulajdonságát, ezáltal a sejtek működését, adhézióját és morfológiáját közvetett módon. A módszer nagy előnye, hogy a kis molekulák és a sokkal nagyobb sejtek egyszerűen, nagy érzékenységgel vizsgálhatók egyazon kísérletben [1]. A polifenol közvetlen hatását is megfigyeltük úgy, hogy a sejteket előkezeltük a hatóanyaggal, és ezután figyeltük meg a sejtek adhéziós kinetikáját [2].

Az orvostudomány többek között nanoméretű részecskék segítségével igyekszik megoldást nyújtani a hatóanyagok kizárólag a célsejtekbe történő bejuttatására. Ezen irányvonalat felvéve pozitívan töltött TMA-funkcionalizált arany nanorészecskék HeLa sejtekbe hatolását kísértük figyelemmel a már említett bioszenzor segítségével valós időben [3].

A fenti eredményeinkkel először mutattuk meg, hogy a bioszenzoros mérések hozzájárulhatnak a természetes hatóanyagokat szállító nanorészecskék felületi rétegének az optimalizálásához is, a minél hatékonyabb hatóanyag-bejuttatás érdekében.

Köszönetnyilvánítás

Ez a munka a Lendület, ERC_HU és a KH_17 (NKFIH), K104275 és a MedinProt támogatásával készült.

Irodalom

[1] Peter B, Farkas E, Forgacs E, Saftics A, Kovacs B, Kurunczi S, Szekacs I, Csampai A, Bosze Sz, Horvath R (2017) *Sci. Rep.* 7: 42220.

[2] Peter B, Ungai-Salánki R, Szabó B, Nagy AG, Szekacs I, Bősze Sz, Horvath R (2018) *ACS Omega* 3: 3882–3891.

[3] Peter B, Lagzi I, Teraji S, Nakanishi H, Cervenak L, Zámbo D, Deák A, Molnár K, Truszka M, Szekacs I, Horvath R (2018) *ACS Appl. Mater. Interfaces* 10: 26841–26850.

A szarkomerikus M-komplex nanosebészeti analízise (P51)

Sziklai Dominik¹, Kellermayer Miklós¹ és Mártonfalvi Zsolt¹

¹ Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest

Az izomszarkomer, állandó erőhatás ellenére megtartja szerkezetét, integritását. Ebben fontos szerepet játszik a középvonalában húzódó M-csík, mely miozin filamentumok centrális régióiból, a titin átlapoló szakaszaiból és asszociált fehérjékből felépülő struktúra. Feltételezzük, hogy az M-csík szerkezeti egysége a vastag filamentumhoz asszociált titinmolekulák fej-fej irányú oligomerizációjából kialakuló M-komplex. Kutatásunkban az M-komplex szerkezeti és nanomechanikai feltárását végeztük. Az M-komplexet oligomerizálódott titinmolekulákon vizsgáltuk. A titint nyúl hátizomból izoláltuk, fehérje-extrakciós, kicsapási, centrifugálási és kromatográfiás lépésekkel. Az M-komplexeket csillámfelületre adszorbeálást követően atomi erőmikroszkóppal (AFM) vizsgáltuk. Az M-komplex a pontszimmetrikus titin oligomér centrális, ~40 nm átmérőjű globuláris eleme, melyhez leggyakrabban 12, sugárirányból kapcsolódó titinmolekula asszociálódott, összhangban a modellel, miszerint egy miozin vastag filamentum mindkét végéhez 6-6 titin kapcsolódik. Az oligomerizálódott titinmolekulák hosszát 500 nm-nek mértük, a titin monomerek hosszát 782 nm-nek. A szerkezetet és nanomechanikát molekuláris nanosebészeti módszerrel tártuk fel: az AFM tűt ~1 nN erővel az M-komplexbe nyomtuk, majd azt a tű mozgásával szétszálaztuk. Változtattuk a tű mozgásának irányát (1-360°), sebességét (5-100 nm/sec) és amplitúdóját (10-300 nm). Az M-komplexekből ~0,3 nm átmérőjű, 50-200 nm kontúrhosszú, filamentális képleteket húztunk ki, amely arra utal, hogy a komplexben extenzibilis molekuláris rezervoár található. A túlnyújtott szálak 2-3x-os megnyúlás után szakadtak el. Az M-komplex nanosebészeti beavatkozás előtti és utáni térfogatait összehasonlítva átlagosan 50%-os növekedést tapasztaltunk, miszerint nem csupán rugalmas alakváltozás, hanem szerkezetváltozás, fehérje-kigombolyodás lépett fel. A nanosebészettel sikerrel tártuk fel a bonyolult szerkezetű M-komplex néhány nanofizikai tulajdonságát.

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

Don't be a fool, use a microtool: Biophotonic toolbox for single cell studies (P52)

Gaszton Vizsnyiczai¹, Tamás Fekete¹, Mária Mészáros¹, András Búzás¹, Gergely Iványi¹,
Ádám Apró¹, Pál Ormos¹, Rebeca Martínez Vázquez² and Lóránd Kelemen¹

¹ *Biological Research Centre, Institute of Biophysics, Hungarian Academy of Sciences, Temesvári krt. 62, 6726 Szeged, Hungary*

² *Institute for Photonics and Nanotechnologies, National Research Council, Piazza Leonardo da Vinci, 32, 20133 Milan, Italy*

Microfluidics has revolutionized biological research due to its capabilities that enables measurements in extremely small volumes in a highly parallelized and integrated manner, for a relatively low cost. Considering cell studies in a microfluidic system, engineered microenvironments can add extra possibilities to the experiments: besides the plain walls, geometrical or chemical modifications, or even microdevices can be created inside the microfluidic channels. Here we introduce an assortment of microstructures and tools we have created, tested and offer for single cell studies in microchannels. These include channel-attached as well as mobile devices which can be actuated with optical tweezers, as follows.

We fabricated microslits with sub-micrometer opening to study cancer cell migration through confined spaces.

An integrated whispering-gallery mode detector was made inside a microchannel and the presence of protein was detected with it in micromolar concentration in a selective way.

The overall deformability of a single cell can be measured with a two-arm micro lever that can multiply the force the optical tweezers exerts.

Local cell deformability and its Young-modulus were obtained with an optically actuated microtool that can make small indentation on the cell membrane.

A similar tool with functionalized surface is used to test adhesion forces of various ligands to their corresponding membrane-bound receptors.

Multiview microscopic imaging of single cell was performed using microtools that are attached to the cells enabling their indirect optical manipulation; in cases when attachment is not possible, two manipulators can be used to grab and move a cell.

We plan to extend our fluorescent microscopic system which is outfitted with the optical trap towards light sheet excitation to improve image equality and data collection speed. One of our planned biological applications is to study single cell interactions between various fungi species and immune cells.

Acknowledgements

This work was supported by funding received from the CONCERT-Japan Photonic Manufacturing Joint Call (FEASIBLE project), GINOP-2.3.2-15- 2016-00001, GINOP-2.3.3-15-2016-00040 and the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Programme under grant agreement No. 654148 Laserlab-Europe.

Melegítés hatása a magyar akácmézek dielektromos tulajdonságaira (P53)

Vozáry Eszter¹, Bodor Zsanett¹, Ignác Kinga¹, Gillay Bőborka¹ és Kovács Zoltán¹

¹ Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar Fizika-Automatika Tanszék

A méz természetes, egészséges táplálék, amely gazdag biológiai aktív vegyületekben. A mézet a kaptárból történő kinyerésekor, valamint csomagolásakor felmelegítik. A melegítés hőfoka a feldolgozás során nem lehet magas -50-60 °C – a méz fajtájától függően, mert magas hőmérsékleten károsodnak a biológiailag hatékony anyagok. A melegítés során a méz természetes mikrokristályos szerkezete megolvad, majd a visszahűtés esetén más kristályos szerkezet (nagyobb kristály méretek) alakul ki. A korábbi felmelegítés kimutatására eddig általában kémiai módszereket használtak, amelyek lassúak és anyagigényesek. Várható, hogy a méz melegítése és visszahűtése során létrejövő szerkezet változás miatt a nem melegített méz elektromos impedancia spektruma különbözik a felmelegített és visszahűtött méz spektrumától.

Négy különböző akácméz elektromos impedancia spektrumát határoztuk meg melegítés előtt. Majd 35, 40, 50, 60 és 80 °C-ra melegítettük a mézeket, és 0.5, 4 és 24 órán át tartottuk magas hőmérsékleten, majd visszahűtve megint megmértük az impedancia spektrumokat. Egy minta tömege 40 g volt és fedéllel ellátott üvegedényben melegítettük fel. Az elektromos impedancia spektrumokat egy HP4384A és egy HP4385A precíziós LCR mérővel mértük meg két 1 cm távolságban levő Ag/AgCl elektróda között 1 volt feszültségnél 30 Hz - 30 MHz frekvencia tartományban. A mért spektrumokat rövidzárszakadás korrekció (szórt induktivitások és kapacitások kiküszöbölése) után egy elosztott paraméterű elem és egy ohmos ellenállás soros kapcsolatából álló modell áramkörrel közelítettük az Excel Solver funkciójával. Minden mézre a modell paraméterek közül az elosztott paraméterű elem ellenállása csökkent a melegítés és visszahűtés után. Ez a paraméter alkalmas lehet a melegítés kimutatására.

Köszönetnyilvánítás

A Szent István Egyetem Élelmiszer tudományi Doktori Iskolája, az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005 Európai Alapítvány és az Új Nemzeti Kiválósági Program UNKP-18-4 támogatta ezt a munkát

Orvosi biofizika és sugárbiológia

Humán plazma eredetű extracelluláris vezikulák izolálási módszereinek összehasonlítása (P54)

Antal Lilla¹, Balázs Katalin¹, Kis Dávid¹, Mihály Judith², Persa Eszter¹, Sándor Nikolett¹, Szatmári Tünde¹, Lumniczky Katalin¹

¹ *Nemzeti Népegészségügyi Központ, Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztály, Sugárorvostani osztály*

² *Magyar Tudományos Akadémia, Természettudományi Kutatóközpont, Anyag és Környezetkémiai Intézet, Biológiai Nanokémia Kutatócsoport*

Az extracelluláris vezikulák sejtekből származó, membránnal körülvett struktúrák. Termelődésük legalább olyan általános sejtbiológiai jelenség, mint a sejtosztódás, a sejtmozgás vagy a programozott sejthalál. Működésük lehetővé teszi a fehérjék, RNS-ek, sőt DNS-ek sejtek közötti kicserélődését. Extracelluláris vezikulákat mind az egészséges, mind a daganatos sejtek termelnek. A tumoros sejtek által termelt extracelluláris vezikulák mennyiségét és a bennük szállított mikro-RNS profilját vizsgálva a normális sejttől eltérő mikro-RNS-profilot találtak. A megnövekedett mennyiségű extracelluláris vezikula által lehetőség nyílik a tumorasszociált jelátviteli molekulák és mikro-RNS-ek célsejthez való eljutásának vizsgálatára, ami a daganatos állapotok progressziójában is valószínűsíti jelentőségüket. Az extracelluláris vezikulák vérplazmában mért mennyisége, a terápia során megfigyelt minőségi változása miatt felmerült, hogy a diagnosztikában, prognosztikában, illetve a minimális reziduális betegség monitorozásában is használhatók lehetnek.

Kutatásom célja humán prosztatarákos betegek fagyasztott plazmájából származó extracelluláris vezikulák felszíni markereinek és beltartalmának vizsgálata, azon belül mikro-RNS tartalmának jellemzése. Az említett vizsgálatokhoz megfelelő tisztaságú és mennyiségű izolált extracelluláris vezikula mintákra van szükségem. Ennek érdekében jelen tanulmányban négy különböző, a tudományos világban gyakran használt izolálási módszert hasonlítok össze: ultracentrifugálás, IZON qEV, ExoQuick ULTRA és PLUS. A módszerek összehasonlításához használt kontroll minta egészséges fagyasztott humán plazma volt. A kiválasztott módszerekkel izolált extracelluláris vezikulákat tisztaságuk, méretük és mennyiségük alapján jellemeztem. A kapott eredmények összehasonlítása alapján kiválasztottam a további vizsgálataimhoz legmegfelelőbb technikát.

Ez a munka az EU által finanszírozott CONCERT (662287) és az NKFIH által finanszírozott OTKA (124879) projektek támogatásával valósult meg.

Vérlemezék mitokondriális DNS-én végzett PCR vizsgálatok a röntgensugárzás károsító hatásának kimutatására (P55)

Deli Gábor, Pataki Ágnes, Papp Sándor és Mátyus Mária

Tudományos Kutató és Laboratóriumi intézet, Magyar Honvédség Egészségügyi Központ, Budapest

Biodozimetriai analízisre a vér különösen alkalmas, mert nagyon komplex rendszer, bonyolult az összetétele, a benne lejátszódó folyamatok gyorsan változnak és detektálhatók. Az ionizáló sugárzás DNS károsító hatása régen ismert, kimutatását hagyományosan a dicentrikus kromoszómának megjelenése alapján végezzük. A mitokondriális DNS (mtDNS) is károsodik, a lánc lineáris lesz és degradálódik. Az mtDNS gyűrűvé visszazárása megállíthatja a folyamatot, de a korábbi veszteség miatt deléció jön létre. Munkánkban a leggyakrabban előforduló deléció változatot, a common deléciót [1] vizsgáltuk

A citrátos vákumcsőbe levett vérmintákat röntgen besugárzásnak vetettük alá, 0-1 Gy tartományban, 24 óra elteltével enyhe centrifugálásával előállítottuk a vérlemezke gazdag frakciót (PRP), melyből DNS-t izoláltunk. Ilyenkor számolni kell a vérplazmában lévő szabad és a vérlemezke felszínén expresszáldó TLR9 receptorok által megkötött, más sejtekből származó mitokondriális DNS-sel is. Real time PCR mérést végeztünk, a primerpárok [2] egy, az mtDNS deléció helyén összekapcsolódott és egy delécióra kevésbé hajlamos mtDNS szakaszt sokszoroztak. A térfogategységben lévő mtDNS molekulák mennyiségének változását, valamint a common delécióval rendelkezők arányát vizsgáltuk. Megfigyeltük, hogy a 0,5 Gy alatti tartományban az értékek emelkedtek, de 1 Gy érték körül újra az alapszintet mértük. Irodalmi adatok alapján [3] feltételezzük, hogy mitofágia vagy apoptózis következtében degradálódik a deléciót tartalmazó mtDNS.

A vér a legkönnyebben hozzáférhető szövetünk, a vérlemezék molekuláris biológiai monitorozása alkalmas lehet az elszennvedett besugárzás tényének gyors megállapítására. Ennek bizonyítására további vizsgálatokra van szükség.

Irodalom

- [1] Rogounovitch, T I, et al (2002) Cancer Research 62, 7031–7041.
- [2] Schilling-Tóth, B, et al (2011) Mutation Research 716, 33– 39.
- [3] Kubli, D A and Gustafsson, A B (2012) Circ Res. 111, 1208–1221.

Kétpórusú káliumcsatornák porcképződésben betöltött szerepének vizsgálata mechanikailag ingerelt 'high density' porckultúrákban patch-clamp módszerrel (P56)

Hinnah Barbara^{1,2}, Zákány Florina¹, Szegeczki Vince², Juhász Tamás², Varga Zoltán¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

A kétpórusú káliumcsatornák (K2P) két pórusdoménnel rendelkeznek, aktivitásukat különböző ingerek (pH, hőmérséklet, mechanikai stimulus, stb.) együttes jelenléte határozza meg. Számos K2P csatorna található a porcsejteken, közülük több expressziója a porcképződési folyamat során dinamikusan változik.

Célunk a K2P csatornák sejtfelszíni jelenlétének azonosítása és expressziójának összehasonlítása patch-clamp technika segítségével kontroll, illetve mechanikailag ingerelt (MS) porckultúrákon. Szelektív gátlószert hiányában az egyes ioncsatornák elkülönítéséhez különböző pH-jú külső oldatokat alkalmaztunk, mivel ismert, hogy a különböző K2P csatornák pH érzékenysége eltérő.

Kísérleteinket 22-24. Hamburger-Hamilton-féle fejlődési stádiumban lévő csirkeembriók végtagtelepeiből izolált primer 'high-density' (HD) porckultúrákon végeztük. A MS a 2. és a 3. tenyésztési napon, míg a patch-clamp mérések teljes sejt konfigurációban a 3. napon történtek, amikor a chondroprogenitor sejtek differenciációja zajlik. A külső oldat pH-ját 7.32, 6.4 és 8.6 között változtattuk egy gravitáció által hajtott perfúziós rendszer segítségével.

A mérések során a 150 ms hosszúságú, -120 mV-tól +50 mV-ig terjedő feszültséggrámpák által kiváltott ionáramok egy feszültség-független és több feszültségfüggő komponensből tevődtek össze. Előbbi a K2P csatornákhöz tartozik, míg utóbbiak a porcsejteken jól leírt NaV és KV áramok. A K2P ionáram megfordulási potenciálja kontroll sejteken $-43,3 \pm 2,9$ mV (n=6), előzetesen mechanikailag ingerelt sejteken $-65,4 \pm 3,5$ mV (n=4) volt. A 8.6-os pH-jú oldat a K2P áram amplitúdóját szignifikánsan lecsökkentette a kontroll oldathoz (pH=7.32) képest, ami részben reverzibilisnek bizonyult, míg a 6.4-es pH-jú oldat nem okozott változást.

Mivel a fenti válasz egyedül a TREK2 K2P csatornára jellemző, PCR és Western blot segítségével tovább vizsgáljuk a TREK2 expressziójának változását a porcképződés folyamata során kontroll és mechanikailag stimulált HD porckultúrákban.

Köszönetnyilvánítás: EFOP-3.6.2-16-2017-00006 LIVE LONGER

Koleszterin és oldható tumormarkerek (CEA és szindekán-2) alkalmazása mellüregi folyadékgyülemek daganatdiagnosztikájában (P57)

Gulyás Miklós¹, Fillinger János², **Kaposi András**³ és Molnár Miklós⁴

¹ Immunology, Genetics and Pathology, Rudbeck Laboratory, Uppsala University

² Országos Korányi TBC és Pulmonológiai Intézet

³ Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

⁴ Semmelweis Egyetem, Kórélettani Intézet

A tumormarkereket 247 betegnél a mellüregi folyadékgyülemek felülúszójában mértük, amelyből 126 esetben volt a pleura rosszindulatú daganatos érintettsége.

A szindekán-2 a mesotheliomás esetekben ugyan megemelkedett koncentrációban van jelen, de a különböző kóros állapotok közötti különbségtételre alkalmatlan. Az 5 ng/mL-es határértéket meghaladó CEA-koncentrációk karcinómát jeleznek a vizsgált mintában 100%-os specificitással, viszont csak 62 %-os szenzitivitással. A koleszterin-koncentráció 1,21 mmól/L-nél nagyobb értékek esetén 99% -os érzékenységgű és 69%-os specificitású diagnosztikus marker a neopláziás pleurális esetekre. A gyenge specificitás a jóindulatú gyulladásos esetekben is megemelkedő koleszterin érték miatt van. A kombinált emelkedett CEA és a koleszterin meghatározás növelte az érzékenységet a karcinomatózis diagnosztizálására a nem egyértelmű citológiai esetekben.

Egészen kiváló diagnosztikus marker a koleszterin, ha citológia segítségével vagy áramlási citometriával elkülönítjük a gyulladásos eseteket. A megemelkedett koleszterin gyulladás nélkül 99.2 %-os szenzitivitású, 98.8 % specificitású és 99.0%-os diagnosztikus effektivitású módszert eredményez a neopláziás pleurális esetekre.

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

Hatékony képminőség javító algoritmus digitális variancia angiográfiához (P58)

Szöllősi Dávid^{1,2}, Gyánó Marcell^{1,3}, Óriás Viktor Imre^{1,3,4}, Osváth Szabolcs^{1,2}, Sótornyai Péter³, Szigeti Krisztián^{1,2}

1 Kinepict Health Kft;

2 Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet;

3 Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika;

4 Bács-Kiskun Megyei Kórház

A digitális variancia angiográfia (DVA) a kinetikus képalkotás Röntgen angiográfiás képsorozatokra való alkalmazásán alapul. A betegbiztonság és az eljárás költséghatékonyságának javítását a képminőség korlátozza: a jobb képminőség (pl.: nagyobb kontraszt/zaj arány (CNR), kevesebb műtermék) lehetőséget nyújt, hogy a beavatkozás során alkalmazott ionizáló sugárzás dózisát és a beadott kontrasztanyag mennyiségét csökkentjük.

Célunk kidolgozni egy olyan képfeldolgozó algoritmust, mely csökkenti a mozgási műtermékeket és javítja a DVA képek kontrasztját, az erek láthatóságát.

Egy időbeli differenciáláson alapuló algoritmust (DVA+) fejlesztettünk és implementáltunk Matlab-ban (Matlab 2016a, Mathworks). Az algoritmus teljesítményének felmérése céljából 30 páciens hasi és alsó végtagi Röntgen angiográfiás képsorozatából hoztunk létre DVA és DVA+ képeket. Vaszkuláris és perivaszkuláris régiókat (ROIkat) jelöltünk ki (n=3283) kézzel egy ImageJ makró segítségével. A CNR-t a kontraszt (vaszkuláris és perivaszkuláris ROI átlag intenzitásának különbsége) és a perivaszkuláris háttér ROI szórásának arányaként számoltuk ki.

A DVA képek medián CNR értéke 9.26 (Q1: 4.90, Q3:15.86) volt, míg a DVA+ képek medián CNR értéke 14.44 (Q1: 7.14, Q3: 26.00). Az azonos ROI párok CNR értékeinek medián aránya (DVA+/DVA) 1.49 (Q1: 1.12, Q3: 2.02) volt.

A DVA+ egy hatékony algoritmus a kinetikus képalkotáson alapuló Röntgen angiográfiás képek kontraszt/zaj arányának javítására.

A kutatást az Innovációs és Technológiai Minisztérium Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Programja támogatta, a Semmelweis Egyetem Terápiás célú fejlesztés tématerületi programja keretében.

NÉVMUTATÓ

A,Á
 Ábrahám Ágnes E40, P44
 Adányi Mónika P13
 Adriana Huerta-Viga P36
 Akhtar Parveen P35
 Antal Lilla P54
 Antal Violetta P23
 Apró Ádám P52
 Arian Jafari P10
 Austin Robert E40

B
 Babos Magor E44
 Bagaméry Gergő E44
 Bagosi Adrienn E10, P26
 Balázs Katalin P54
 Bálint Zsolt E24
 Balog Erika P4
 Bánkúti Stefánia P12
 Bányai Anita P33
 Barkó Szilvia P11, P45
 Bartha Ferenc E8
 Bartók Ádám E28
 Batta Gyula P18
 Beata Mysliwa-Kurdiel E31
 Bebesi Tímea E17
 Bilecz Ágnes E2
 Biró László Péter E24
 Bódis Emőke P45
 Bodnár Andrea E20, P1, P22
 Bodor Zsanett P53, P46
 Bonyár Attila E4,
 Bóta Attila E17
 Bozó Tamás E25, P31
 Bócskei-Antal Barnabás P31
 Bősze Szilvia P50
 Brennan Decker E9
 Brunner Brigitta P21
 Bugyi Beáta E12, P8, P15
 Bugyik Edina E2,
 Bukovics Péter E12
 Búzás András P52
 Buzás Edit P18
 Buzás Krisztina P24

C
 Cameron B. Lloyd E8
 Cervenak László P7
 Chen Jue E37
 Czirók András E2
 Cs
 Cs. Szabó Bence P47
 Csákvári Eszter E40, P44
 Csanády László E37
 Csányi Csilla E13, P3
 Csekő Richárd P32, P34
 Csige István E43
 Csík Gabriella P31
 Csomós István P1, P22
 Csóti Ágota P19, P26

D
 David Perahia P4
 Debreczeni Márta P7
 Deli Gábor P55
 Deli Mária P48
 Demeter Márton P42, P39
 Dér András E32, P33
 Dér László P44
 Derényi Imre E36, P42, P39, P40, P41, P44
 Dobra Gabriella P24
 Dorothy Wai P19
 Dosztányi Zsuzsanna E34
 Döme Balázs E2
 Dudás Bálint P4
 Dukic Barbara E40

E,É
 Égerházi László P34
 Eitan Reuveny E18
 Erdődi István E26
 Erdős Gábor E34
 Erik Manders E39
 Eugenia Lepera E23

F
 Farkas Enikő E14
 Fazakas Csilla E45
 Fehér Ádám P20

Fekete Tamás P48, P52
 Feller Tímea E13, P3
 Filep Csenge P1
 Fillinger János P57
 Francois Perous P4
 Francz Barbara E3
 Futó István E43, P34
 Fuxreiter Mónika E35
 Fürjes Péter P33

G
 Gajári Dávid E44
 Gál Róbert P13
 Galajda Péter E40, P44
 Garab Győző E30, E39, P38
 Gárdos András Gergő P16
 Gaszler Péter E12, P8
 Gerecsei Tamás E26
 Ghadaksaz Ali Reza P5
 Gillay Bíborka P53
 Gora Evelin P33
 Grácz Éva P17
 Grajzel Dániel P42, P40
 Greg Greetham E38
 Gresits Iván E44
 Greta Urbonaitė P32
 Groma Géza E32
 Guangye Han E30, P38
 Guillaume Charras P7
 Gulyás Márton E2
 Gulyás Miklós P57
 Guy Ben-Arie P12

Gy
 Gyánó Marcell P58
 Gyila Sándor E43
 Györffy Dániel P17
 Gyukity-Sebestyén Edina P24

H
 Hajdú István P17
 Hajdu Péter P27, P28
 Hajnóczky György E28
 Halász Henriett P5
 Haluszka Dóra P6
 Hargitai Rita E42
 Harmati Mária P24

Hársfalvi Jolán E13, P3, P6
 Hegedűs Éva E19
 Hegedűs Tamás E11, E16
 Herényi Levente P31
 Hernádi Klára P34
 Hideyuki Nakanishi P50
 Hild Gábor P16
 Hinnah Barbara P56
 Hoffka Gyula E35
 Hollósi Anna P7
 Homolya István E44
 Horváth Bence E23
 Horváth Róbert E3, E4, E14, E15, E26, P50
 Horváth Zsolt Endre E24
 Howe-Siang Tan E30, P36
 Hős Csaba E4, E26
 Huber Tamás E12, P8

I,Í
 Ieva Bagdanavičiūtė P32
 Iglói Ferenc E29
 Ignác Kinga P53
 Iványi Gergely P52
 Izhar Karbat E18

J
 Jacqueline Cherfils P4
 James Iuliano E38
 Jan Wolfgang Krieger E5
 Janovics Róbert E43, P34
 Jasna Vujin P32
 Jian-Ren Shen E30, P38
 Jinnette Tolentino E38
 Jörg Langowski E5
 Juhász Tamás P56
 Juhász Tünde P10

K
 Kanyó Nicolett E15
 Kaposi András P57
 Karádi Kristóf P15
 Karancsiné Menyhárd Dóra P23
 Kardos József P15

Kaszab Tímea P46
 Katona Tamás E8
 Kelemen Lóránd P48, P52
 Kellermayer Miklós E9, E13, E25, P3, P6, P7, P9, P12, P51
 Kenesei Ádám E19, E21
 Kengyel András P15,
 Kertész Krisztián E24
 Kétszeri Máté P23
 Kis Dávid E42, P54
 Kis Enikő E42
 Kis Mariann E29
 Kiss Balázs E13, E25
 Kiss Máté E36
 Kitka Diána E17, P49
 Klaus Brettel P38
 Kósa Annamária E31
 Kósa Nikolett P31
 Kovács Ildikó E2
 Kovács István E29
 Kovács Kinga Dóra E4
 Kovács Tamás E7, E22, P29, P30, P47
 Kovács Zoltán P46, P53
 Kretzer Balázs P9
 Krizbai István E45

L

Lagzi István P50
 Lakatos Eszter E9
 Lambert-Meretei Anikó P46
 Lambrev Petar E30, P35, P36, P38
 László Viktória E2
 Letif Mones E35
 Liliom Károly P10
 Lina Fadel E6
 Lingvay Mónika P35
 Longauer Beáta P11, P45
 Lóránd Kelemen E23
 Lucas Patty E39
 Lukács András E38, P15, P37
 Lukas Lau E5
 Lumniczky Katalin E42, P54

M

Madarász Tamás P5, P21

Magyar Melinda P38
 Major István E43
 Major Péter E44
 Malta Neri Lara Chrystina P18
 Manuela Baccarini P7
 Márkus Bence Gábor E44
 Maróti Péter E29
 Mártonfalvi Zsolt E9, P12, P51
 Matkó János P5, P21
 Mátyus László P1, P22
 Mátyus Mária P55
 Méhes Előd E2
 Mészáros Mária P48, P52
 Mihály Judith E17, P49, P54
 Mocsár Gábor E5, E20, E21, P22
 Mohácsi-Farkas Csilla P46
 Molnár Béla E8
 Molnár József E43
 Molnár Kinga E45
 Molnár Mihály E43
 Molnár Miklós P57

N

Nagy Dávid E32, E39
 Nagy Georgina E27
 Nagy Krisztina E40, P44
 Nagy László E6
 Nagy László P32, P34
 Nagy Péter P18, P22, P25, P30, P47
 Nagypál Rita E32
 Nizsalóczki Enikő P1, P22
 Novák Martin E4

Ny

Nyitrai Miklós P5, P11, P15, P21, P45

O,Ó

Orgován Norbert E14
 Óriás Viktor Imre P58
 Ormos Pál E23, P52
 Osváth Szabolcs P58
 Ounoki Roumaissa E31

P

Padányi Rita E11
 Pahalcssek Melinda P26
 Paku Sándor E2
 Palcsu László E43
 Páli Tibor P35
 Pancsa Rita E33
 Panyi György E10, E18, E22, P19, P26, P27, P28, P29, P30
 Papp Ferenc E10, P27
 Papp Lejla E27
 Papp Sándor P55
 Papp Zsombor E9
 Parveen Akhtar E30, P36
 Pászty Katalin P7
 Pataki Ágnes P55
 Pavel Müller P38
 Pawel Nowakowski E30, P36
 Pérez Jiménez Mario P41
 Persa Eszter E42, P54
 Péter Beatrix P50
 Peter J. Tonge E38
 Pethő Zoltán E10
 Petrovszki Dániel P33
 Pfalzgraf Frederik P13
 Phan Trung E40
 Pintér Réka E12, P8
 Pirisi Katalin E38, P37
 Piszter Gábor E24
 Porkoláb Gergő P48
 Pósfai Mihály E27

Q

Qingjun Zhu P38

R

Rác Gréta P26
 Radmila Panajotović P32
 Raghavendra Singh E28
 Rashed Mahmoud S. P46
 Rauan Sakenov E12
 Raymund S. Norton P19
 Rebeca Martínez Vázquez E23, P52
 Rebenku István E8
 Rehó Bálint E5
 Rinyu László E43, P32, P34

Robert C. Robinson P45
 Roberto Osellame E23

S

Sáfrány Géza E42
 Sági Olivér E44
 Sándor Nikolett E42, P54
 Sarlós Ferenc E32
 Sautner Éva E3
 Schay Gusztáv P10, P23
 Schütz Gerhard E20
 Sebőkne Nagy Krisztina P35
 Simon Ferenc E44
 Sipka Gábor E30, E39, P38
 Sipos Áron E32
 Smart James E29
 Smeller László P13, P14
 Sofia Kapetanaki P37
 Sohajda Tamás P30
 Sóki Erzsébet E43
 Solymosi Katalin E31
 Somkuti Judit P13, P14
 Somogyi Márk P17
 Sóti Adél E31
 Sótónyi Péter P58
 Stefano Santabarbara P38
 Steinbach Gábor E39
 Stephen R. Meech E38

Sz

Szabó Ágnes P22, P25
 Szabó Anna P34
 Szabó Bálint E3, E4, E26
 Szabó Máté P2, P47
 Szabó Tibor P32, P34
 Szabó-Meleg Edina P5, P21
 Szalóki Nikolett E19
 Szántó G. Tibor E18, P26
 Szatmári Dávid P11, P45
 Szatmári Tünde E42, P54
 Szegeczki Vince P56
 Szegletes Zsolt P24
 Székács András E14
 Székács Inna E4, E14, E15, E26, P50
 Székelyhidi Virág P29

Szendri-Szatmári Tímea P25
 Szente Lajos P30
 Szentirmai Veronika E17
 Szigeti Krisztián P58
 Szigyártó Imola Csilla E17
 Sziklai Dominik E9, P51
 Szilágyi András P17
 Szoták Evelin P1
 Szöllősi András E37
 Szöllősi Dávid P58
 Szöllősi Gergely E36, P42, P39, P40, P41, P44
 Szöllősi János P25
 Szőőr Árpád E8

T

Tajti Gábor P26
 Tanner Martin P33
 Tanya Kushwahaa P27
 Tárnoki-Zách Júlia E2

Telek Elek P15
 Thanh Nhut Do P36
 Thomas A. Waldmann E19, E20, E21, P22
 Thuróczy György E44
 Tibély Gergely P44
 Tijana Tomašević-Ilić P32
 Tolnai Emese P26
 Tompa Péter E33
 Tordai Hedvig E11, E25
 Tory Kálmán P23
 Tóth Balázs E37
 Tóth Katalin E5, E20, E21
 Török Enikő P27
 Török Ferenc P27
 Turi Marianna E43, P34
 Türmer Katalin P21

U,Ú

Ujfalusi Zoltán P11, P16, P45
 Ungai-Salánki Rita E3

V

Valkai Sándor P33
 Vámosi György E5, E6, E19, E20, E21, P22
 Varga Andrea P7
 Varga Zoltán E10, E17, E22, P29, P47, P56
 Varga Zoltán MTA P49
 Várnai Péter E21
 Váró György P32
 Végh András P13
 Végh Attila Gergely E45
 Végh Barbara P17
 Vereb György E8, E20
 Veszélka Szilvia P48
 Vig Andrea Teréz P8
 Visnovitz Tamás P18
 Visnovitzné Vukman Krisztina P18
 Vizsnyiczai Gaszton P52
 Volkó Julianna E19, E20, E21
 Vonderviszt Ferenc E27
 Voszka István P31

Vozáry Eszter P46, P53,
 Vörös Orsolya P28

W

Wacha András P17
 Wieser Stefan E20
 Wilhelm Imola E45

Y

Yanan Xiao P38
 Yin Li P37

Z

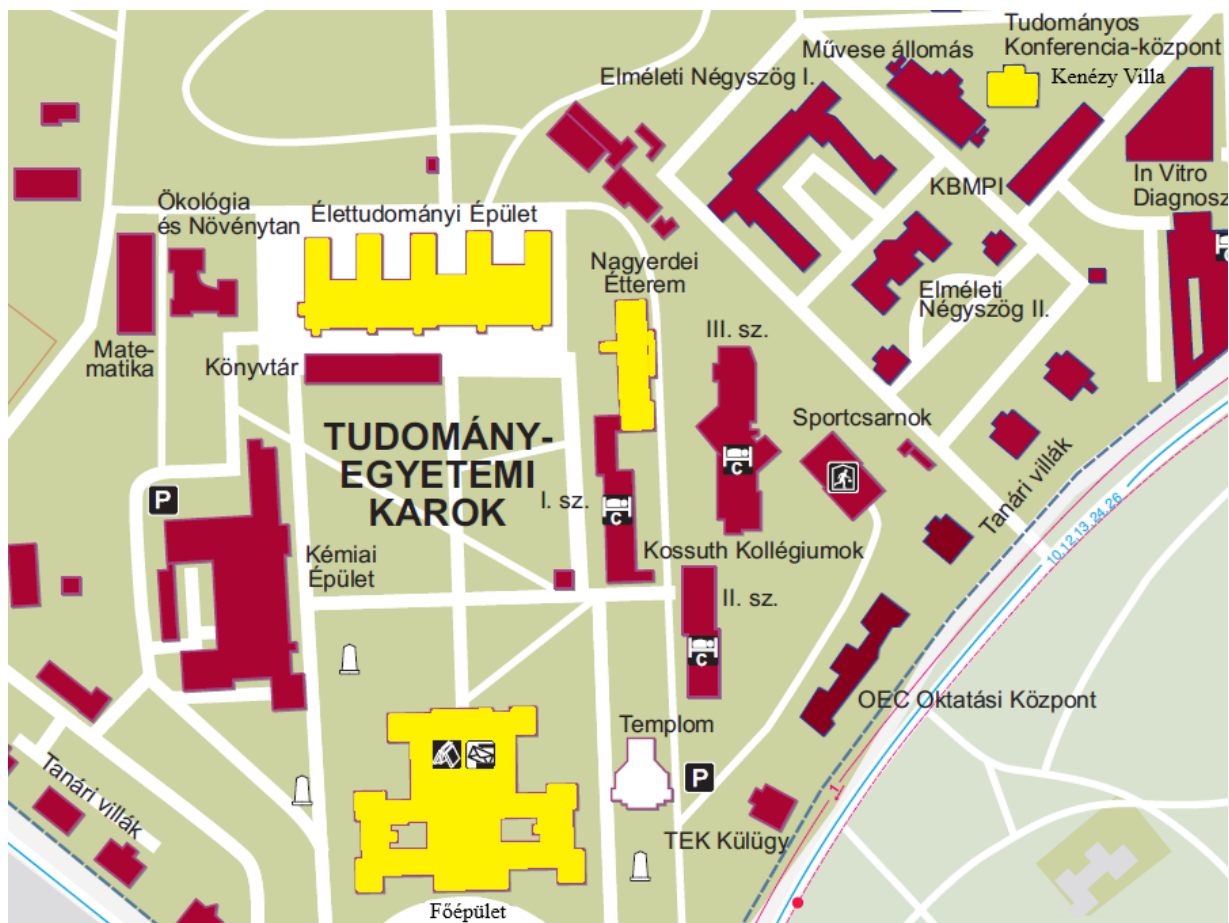
Zákány Florina E22, P29, P30, P47, P56,
 Zaukuu John-Lewis Zinia P46
 Závodszky Péter P17
 Zhang Zhe E37
 Zimányi László E32, E39
 Zolcsák Ádám P31
 Zubánics-Nagy Áron E20

TARTALOMJEGYZÉK

KÖSZÖNTŐ	4
INFORMÁCIÓK	5
ÁTTEKINTŐ PROGRAM	6
RÉSZLETES PROGRAM	7
ELŐADÁSOK	11
PLENÁRIS ELŐADÁS (E1)	11
SEJTANALITIKA BIOFIZIKAI MEGKÖZELÍTÉSSEL	11
<i>Tumorsejtek angiogenezisre gyakorolt hatásának vizsgálata, in vitro (E2)</i>	11
<i>Egyedi sejtek manipulációja piezoelektromos mikropipettával (E3)</i>	12
<i>Élő sejtek jelölésmentes vizsgálata optikai bioszenzorral áramlási térben egyidejűleg létrehozott széles áramlási sebességtartományban (E4)</i>	13
<i>Magreceptorok mobilitásának és dimerizációjának vizsgálata élő sejtekben SPIM-FCCS és FRET segítségével (E5)</i>	14
<i>Impact of agonist treatment on RXR partner selection (E6)</i>	15
<i>A dipólpotenciál mérése membránösszetétel-változással járó betegségek membránbiofizikai modellrendszereiben új áramlási citométeres módszerrel (E7)</i>	16
<i>A digitális patológia új lehetőségei: multispektrális konfokális fluoreszcenciás képalkotás (E8)</i>	17
MOLEKURÁLIS BIOFIZIKA	18
<i>A titin-miozin kölcsönhatás topológiája (E9)</i>	18
<i>A feszültség-kapuzott Hv1 protoncsatorna VCF jelének eredete (E10)</i>	19
<i>A CFTR fehérje NBD1 domén szerkezetének vizsgálata letekeredési útvonalak elemzésén keresztül (E11)</i>	20
<i>Szerkezet-funkció koordináció gelsolin homológ fehérjékben (E12)</i>	21
<i>Amiloid β-peptid hatása a fibrinháló szerkezetére és lízisére (E13)</i>	22
<i>A glyphosate gyomirtószer-hatóanyag élettani hatása MC3T3-E1 sejtek adhéziójára (E14)</i>	23
<i>Rákos sejtek adhéziójának vizsgálata optikai bioszenzorral: a glikokálix enzimatikus emésztésének hatásai (E15)</i>	24
MEMBRÁNOK, MEMBRÁNFEHÉRJÉK BIOFIZIKÁJA	25
<i>Az ABCG2 fehérje regulációjának és transzport mechanizmusának in silico felderítése (E16)</i>	25
<i>Extracelluláris vezikulák IR spektroszkópiája (E17)</i>	26
<i>Feszültségfüggő K⁺ csatornák gátlásának specifikus mechanizmusa: peptid gátlószerek és a C-típusú inaktiváció kölcsönhatása (E18)</i>	27
<i>Interleukin-15 transz-prezentáció tanulmányozása fluoreszcencia mikroszkópiával (E19)</i>	28
<i>Fehérjeklaszterek T sejtek membránjában és blebjein (E20)</i>	29
<i>Új intracelluláris jelátviteli mechanizmus? Interleukin receptor összeszerelődés az ER-ben és a Golgi-ban (E21)</i>	30
<i>Membránszterolok és -ceramidok támadáspontjának meghatározása feszültségkapuzott káliumcsatornákon voltage-clamp fluorometry (TEVCF) módszerrel (E22)</i>	31
BIOSZENZORIKA ÉS BIO-NANOTECHNOLÓGIA	32
<i>Label-free protein detection with an optofluidic lab-on-chip sensor (E23)</i>	32
<i>Színek módosítása lepkék szárnyán (E24)</i>	33
<i>Virális DNS kilökődés bakteriális membrán modellekben (E25)</i>	34
<i>Felületi kölcsönhatások erősségének egyedi-sejt szintű mérése automatizált mikropipettával (E26)</i>	35
<i>Magnetit-kötő flagelláris filamentumok kötési tulajdonságainak vizsgálata eltérő morfológiájú magnetit nanorészecskékkal (E27)</i>	36
BIOENERGETIKA ÉS FOTOBIOFIZIKA	37
<i>A MICU1 fehérje szerepe neuronok mitokondriális Ca²⁺ homeosztázisában és túlélésében (E28)</i>	37
<i>A gerjesztési energia vándorlása fotoszintetizáló baktériumok antennájában (E29)</i>	38
<i>Exciton–radical-pair equilibration in Photosystem II observed by two-dimensional electronic spectroscopy (E30)</i>	39
<i>Sóstressz illetve ozmotikus stressz hatása a fotoszintetikus apparátus kialakulására és működésére (E31)</i>	40
<i>Fényindukált komplex folyamatok kinetikai modellezése gépi tanulás módszerével (E32)</i>	41

ELMÉLETI BIOFIZIKA	42
<i>Folyadék fázisátmenet útján létrejövő biológiai kondenzátumok szerepe a sejtés folyamatok hatékonyságának növelésében (E33)</i>	42
<i>Szerkezet alapú partner predikció lineáris motívum kötő fehérjékhez (E34)</i>	43
<i>The role of conformational heterogeneity in the evolution of enzymes (E35).....</i>	44
<i>Tissue hierarchies in plants can efficiently minimize somatic evolution and act as a functional germline (E36)</i>	45
MODERN BIOFIZIKAI MÓDSZEREK	46
<i>A Nematostella vectensis TRPM2 ioncsatorna krio-elektron mikroszkópos szerkezete (E37).....</i>	46
<i>Fénnyel szabályozott adenilát-cikláz fotoaktivációjának vizsgálata ultragyors infravörös tranzienst abszorpciós spektroszkópiai módszerekkel (E38)</i>	47
<i>Anizotróp szerkezetek leképezése újrapiasztázó konfokális mikroszkóppal (RCM) (E39)</i>	48
<i>Antibiotikum- és fágresztencia evolúciója strukturált környezetben (E40).....</i>	49
ORVOSI BIOFIZIKA ÉS SUGÁRBIOLÓGIA	50
<i>Extracelluláris vezikulák szerepe rövid és hosszútávon a sugárzás szomszédsági hatásában (E42)</i>	50
<i>CO₂ és radon gázok bőrön keresztüli felvétele mofettákban (E43)</i>	51
<i>Mágneses nanorészecskéken alapuló rákterápia módszertanának vizsgálata és fejlesztése (E44).....</i>	52
<i>Neurovaszkuláris egység sejtés elemeinek rugalmasság térképezése gyulladásos mediátorok jelenlétében (E45)</i>	53
POSZTEREK.....	54
SEJTANALITIKA BIOFIZIKAI MEGKÖZELÍTÉSSEL	54
<i>Kelidonin hatása a STAT3 transzkripciós faktor tirozin és szerin foszforilációjára humán uveális melanóma sejteken (P1).....</i>	54
<i>Szterolok és többszörösen telítetlen zsírsavak dipólpotenciálra gyakorolt hatásának vizsgálata új áramlási citometriás módszerrel (P2).....</i>	55
MOLEKULÁIS BIOFIZIKA	56
<i>Multimer glikoprotein AFM vizsgálata: elektrosztatikus kölcsönhatások szerepe (P3)</i>	56
<i>Aktív Ralf azonosítása és vizsgálata a Molecular Dynamics with Excited Normal Modes módszer segítségével (P4).....</i>	57
<i>Membrán nanocsövek transzport tulajdonságainak vizsgálata szuperrezolúciós mikroszkópiával (P5)</i>	58
<i>Glikált kollagén fibrillumok atomerő-mikroszkópiás vizsgálata (P6)</i>	59
<i>BRAF szerepe az endotél sejtek mechanikájában (P7)</i>	60
<i>A Flightless-I (Fli-I) szerepe az aktin citoskeleton szerveződésében (P8)</i>	61
<i>DNS-porfirin kötődés folyamatának vizsgálata egyedi molekula erőspektroszkópiás módszerekkel (P9)...</i>	62
<i>Kalmodulin konformereinek azonosítása tirozin aminosavainak fluoreszcencia élettídméréssel (P10)...</i>	63
<i>A22 alter the polymerization properties of the bacterial actin-like MreB (P11)</i>	64
<i>Kalcium hatása a titin rugalmasságára (P12)</i>	65
<i>G-quadruplex szerkezetek stabilitása és kölcsönhatásai (P13)</i>	66
<i>G-quadruplexek vizsgálata infravörös spektroszkópiával (P14).....</i>	67
<i>A rendezetlen miozin 16 C-terminális szerkezeti karakterizálása (P15)</i>	68
<i>Röntgen/CT kontrasztanyagok hatása az aktin polimerizációs dinamikájára (P16).....</i>	69
<i>Ligand-induced conformational rearrangements regulate the switch between functions of ROCK2 (P17) .</i>	70
MEMBRÁNOK, MEMBRÁNFEHÉRJÉK BIOFIZIKÁJA.....	71
<i>A Gaucher betegség in vitro modell sejtjeinek megnövekedett számú nanocső és extracelluláris vezikulum képzése (P18).....</i>	71
<i>Rekombináns peptid toxinok előállítása Escherichia coli-ban (P19).....</i>	72
<i>A BK béta alegységek feltérképezése U-87 MG sejteken (P20)</i>	73
<i>Az IIRSp53 fehérje membrán nanocsövek képződésében betöltött szerepe (P21)</i>	74
<i>Az IL-9R és IL-2R térbeli kapcsolatának kvantitatív analízise humán T limfóma sejteken (P22)</i>	75
<i>Podocin egy lehetséges szerepe a glomeruláris résmembrán működésében (P23)</i>	76
<i>Exoszomák és mikrovezikulák leképezése atomerő-mikroszkóppal (P24).....</i>	77
<i>A fluorofór szaturáció hátrányos hatásának csökkentése FRET mikroszkópos mérések során (P25)</i>	78
<i>Ioncsatorna expressziós eltérések vizsgálata in vitro polarizált T-sejteken (P26)</i>	79

<i>A Pterinophilus murinus venom hatása feszültség függő nátrium és kálium ioncsatornákra (P27)</i>	80
<i>Az Orai1 ioncsatorna immunológiai szinapszisba történő berendeződésének molekuláris háttere (P28) ...</i>	81
<i>Ioncsatornák Gaucher-kórban megfigyelhető funkcionális eltéréseinek vizsgálata a betegség in vitro modellrendszerében (P29)</i>	82
<i>Ciklodextrinek membránbiofizikai és Kv1.3 ioncsatornára kifejtett direkt hatásainak karakterizálása (P30)</i>	83
<i>A fotoszenzibilizáció membránkárosító hatásának vizsgálata atomerő-mikroszkóppal (P31)</i>	84
BIOSZENZORIKA ÉS BIO-NANOTECHNOLÓGIA	85
<i>Fotoszintetikus reakciócentrum/grafén optoelektronika (P32)</i>	85
<i>E. coli sejtek dielektroforetikus erősített detektálása integrált optikai bioszenzorral (P33)</i>	86
<i>Fotoszintetikus reakciócentrum fehérje alapú valós idejű bioszenzor (P34)</i>	87
BIOENERGETIKA ÉS FOTOBIOFIZIKA	88
<i>A fotoszintézis inaktiválása az antenna szintjén: az LHClI érzékenysége közvetlen fotokárosodásra (P35)</i>	88
<i>Temperature-dependent energy transfer in LHClI probed by 2D electronic spectroscopy (P36)</i>	89
<i>OaPAC fehérjén végzett vizsgálatok TA spektroszkópia segítségével (P37)</i>	90
<i>Fény által kiváltott konformáció-változások jellemzése és azok dinamikájának feltárása</i>	
<i>Thermosynechococcus vulcanus PSII komplexben (P38)</i>	91
<i>The structure of hierarchical tissues that minimize somatic evolution (P39)</i>	92
<i>In hierarchical tissues small compartments lead to a selective threshold below which mutations cannot persist (P40)</i>	93
<i>The hierarchical structure of the hematopoietic system can explain chronic myeloid leukaemia progression. (P41)</i>	94
<i>Hierarchical tissues that minimize somatic evolution (P42)</i>	95
<i>Szubklonális szerkezet tumorokban (P43)</i>	96
MODERN BIOFIZIKAI MÓDSZEREK	97
<i>Baktériumok fenotípusbeli variabilitásának vizsgálata mikrofluidikai sejtcsapdákkal (P44)</i>	97
<i>Phalloidin as a bacterial actin-labeling agent (P45)</i>	98
<i>Lactobacillus bulgaricus növekedésének követése joghurtban elektromos impedanciával (P46)</i>	99
<i>A sejtmembrán szterol tartalmának változtatása módosítja a Kv1.3 ioncsatorna lipitutajok és egyéb membrán mikrodomének közötti megoszlását (P47)</i>	100
<i>Measuring binding force between glutathione-functionalized microtools and blood brain barrier cells with optical tweezer (P48)</i>	101
<i>Extracelluláris vezikula koncentráció meghatározása humán vérplazmában és szérumban on-line fluoreszcenciás detektálással kombinált méretkizárásos kromatográfiával és mikrofluidikus ellenállás impulzus méréssel (P49)</i>	102
<i>Kis molekulák és nanorészecskék élő sejtekre gyakorolt hatásának vizsgálata jelölésmentes bioszenzorral (P50)</i>	103
<i>A szarkomerikus M-komplex nanosebészeti analízise (P51)</i>	104
<i>Don't be a fool, use a microtool: Biophotonic toolbox for single cell studies (P52)</i>	105
<i>Melegítés hatása a magyar akácmézek dielektromos tulajdonságaira (P53)</i>	106
ORVOSI BIOFIZIKA ÉS SUGÁRBIOLÓGIA	107
<i>Humán plazma eredetű extracelluláris vezikulák izolálási módszereinek összehasonlítása (P54)</i>	107
<i>Vérlemezkék mitokondriális DNS-en végzett PCR vizsgálatok a röntgensugárzás károsító hatásának kimutatására (P55)</i>	108
<i>Kétpórusú káliumcsatornák porcképződésben betöltött szerepének vizsgálata mechanikailag ingerelt 'high density' porckultúrákban patch-clamp módszerrel (P56)</i>	109
<i>Koleszterin és oldható tumormarkerek (CEA és szindekán-2) alkalmazása mellüregi folyadékgyülemek daganatdiagnosztikájában (P57)</i>	110
<i>Hatékony képminőség javító algoritmus digitális variancia angiográfiához (P58)</i>	111
NÉVMUTATÓ	112
TARTALOMJEGYZÉK	115



ISBN 978-615-00-5941-9

Kiadó: Magyar Biofizikai Társaság