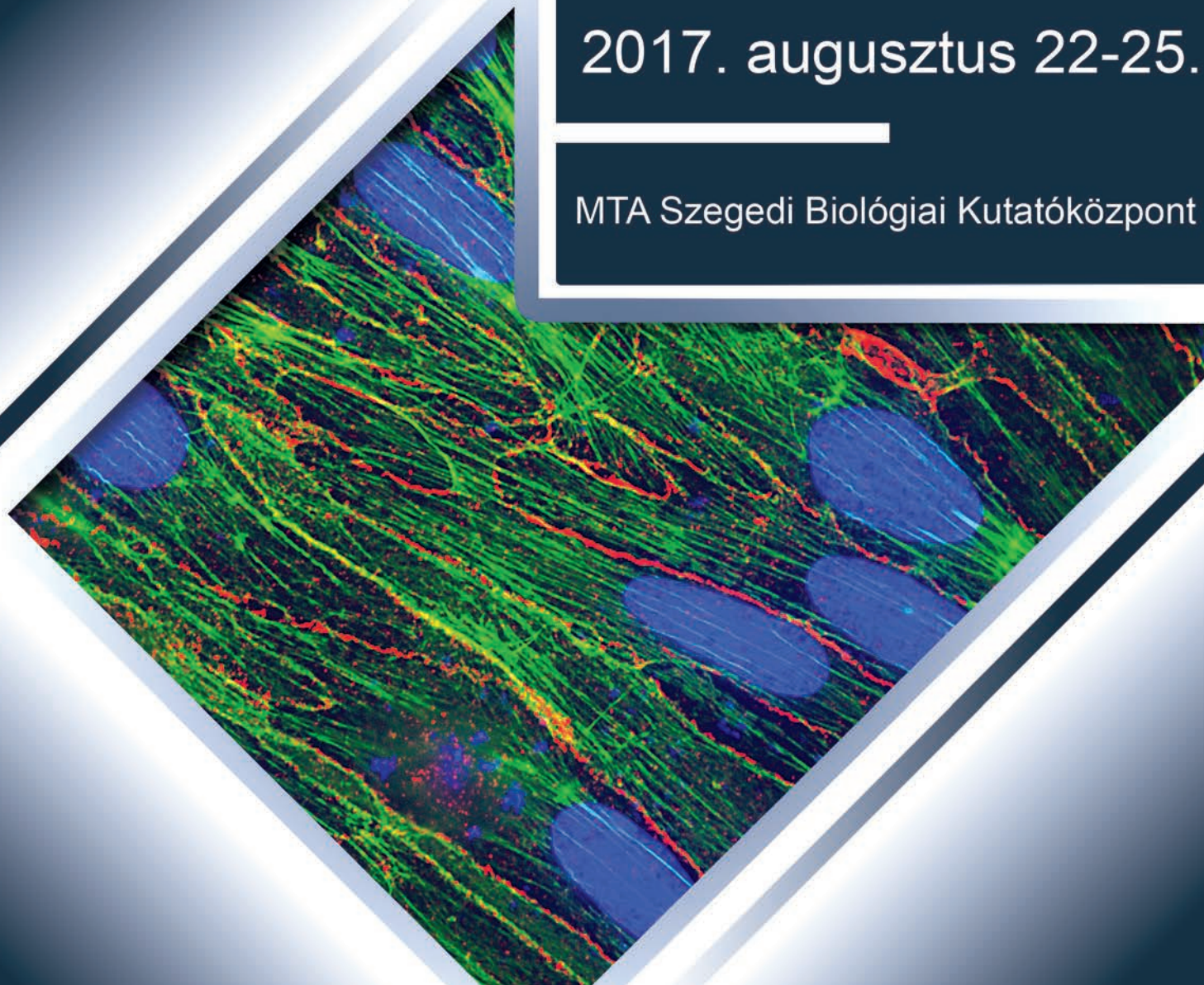


2017. augusztus 22-25.

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont



A MAGYAR BIOFIZIKAI TÁRSASÁG XXVI. KONGRESSZUSA

www.mbft.hu/kongresszus2017/



TÁMOGATÓK



Magyar Biofizikai Társaság



Magyar Tudományos
Akadémia



MTA Szegedi Biológiai
Kutatóközpont



ELI-ALPS Lézeres
Kutatóközpont



Szeged Megyei Jogú Város
Önkormányzata



ABL&E-JASCO
Magyarország Kft.



Auro-Science Consulting Kft.



Biocenter Kft.



BioMarker Kft.



Biomedica Hungária Kft.



Bio-Science Kft.



Biotech Hungary Kft.



Central European Biosystems
Central European
Biosystems Kft.



FRLab Kft.
Francelab SAS



JEOL (Europe) SAS



NanoTemper Technologies



RK Tech Kft.



Supertech Kft.



UNICAM Magyarország Kft.



Carl Zeiss Technika Kft.



ZENONBio
Zenon Bio Kft.

A MAGYAR BIOFIZIKAI TÁRSASÁG XXVI. KONGRESSZUSA

SZEGED

2017. augusztus 22-25.

A kongresszus fővédnöke:

Ormos Pál, a Szegedi Biológiai Kutatóközpont főigazgatója,
a Magyar Biofizikai Társaság tiszteletbeli elnöke

Tudományos bizottság:

Mátyus László, elnök

Az MBFT szekcióelnökei:

Bóta Attila

Csige István

Csík Gabriella

Dóka Ottó

Harmat György

Nagy Péter

Panyi György

Sáfrány Géza

Az egyetemi és kutatóintézeti biofizikai műhelyek részéről:

Bugyi Beáta

Derényi Imre

Garab Győző

Kellermayer Miklós

Maróti Péter

Matkó János

Ormos Pál

Simon István

Szöllősi János

Szőkefalvi-Nagy Zoltán

Vonderviszt Ferenc

Závodszy Péter

Szervezőbizottság:

Zimányi László, elnök

Nyitrai Miklós, az MBFT főtitkára

Pusztainé Holczer Magdolna, az MBFT ügyvezető titkára

Csákvári Eszter

Galajda Péter

Grama László (honlap)

Kelemen Lóránd

Kóta Zoltán

Krizbai István

Melczer Zsófia

Köszöntő

Kedves Kollégák, kedves Barátaink!

Köszöntjük a Magyar Biofizikai Társaság XXVI. kongresszusának résztvevőit!

2003. után látogat újra Szegedre, az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpontjába a Magyar Biofizikai Társaság kétévenként, más-más helyszínen megrendezett kongresszusa. Az SZBK Biofizikai Intézete nagy lelkesedéssel vetette bele magát a kongresszus szervezésébe, és nagy örömmel várja a hazai biofizikus kutatói közösséget és diákságot.

Az idei kongresszus rekordszámú résztvevőt vonzott. Nyolc szekcióban több mint 40 előadás hangzik el a nagyelőadóban, és hetven 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 Tompa Péter, aki a rendezetlen fehérjék felfedezője és egyik legnagyobb nemzetközileg elismert szakértője, és aki az MTA Természettudományi Kutatóközpontban, illetve a brüsszeli VIB-VUB Center for Structural Biology-ban folytatja kutatásait.

Az idei konferencia különlegességét az adja, hogy az ELI-ALPS lézerközpont májusban megnyitott, statikailag, épületgépészetileg és nem utolsó sorban esztétikailag is különleges épületében, ahol elkezdődött a lézerrendszerek telepítése, látogatást teszünk és kihelyezett szekciót rendezünk az ultragyors spektroszkópia biofizikai alkalmazásairól.

Hagyományainknak megfelelően a kongresszus ünnepélyes megnyitóján vehetik át az Ernst-díjat a kuratórium által arra érdemesnek tartott fiatalok, akik rövid előadásban ismertethetik pályamunkájukat.

A remélhetőleg nagyon színvonalas tudományos program mellett igyekszünk vendégeink szegedi tartózkodását még kellemesebbé tenni a különlegesen szép Városházán rendezett fogadással és Szeged méltatlanul kevésbé ismert középkori műemlék együttese, az Alsóvárosi Ferences Templom és Kolostor meglátogatásával.

Bízunk benne, hogy a tudományos program, a társas események, a „napfény városa” és a házigazdák vendégszeretete gazdag élményekkel szolgál majd minden kedves résztvevőnek. Szeretettel várjuk a biofizika és határterületei kutatóit, művelőit és a biofizika tudományával ismerkedő hallgatókat 2017. augusztus 22-25 között Szegeden!

Mátyus László
az MBFT Elnöke

Zimányi László
a Szervezőbizottság elnöke

Információk

Helyszín: A konferencia helyszíne az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont (SZBK, Temesvári krt. 62. Szeged, 6726). Az augusztus 22-i fogadás helyszíne a Szegedi Városháza, (Széchenyi tér 10., Szeged, 6720). Az augusztus 23-i kihelyezett szekció helyszíne az ELI-ALPS Lézeres Kutatóközpont (Budapesti út 5., Szeged, 6728). Az augusztus 24-i kulturális program helyszíne az Alsóvárosi Ferences Templom és Kolostor (Mátyás király tér 26., Szeged, 6725). Térképek a könyv hátulján 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 (VGA csatlakozón keresztül).

Kihelyezett szekció: Az augusztus 23-án szerdán 15 órakor kezdődő *Az ultragyors spektroszkópia biofizikai alkalmazásai* című szekció helyszíne az ELI-ALPS Lézeres Kutatóközpont, ahová az SZBK-tól 14:30-kor különbuszok indulnak. A szekció előadásai után a Lézerközpont munkatársai körbevezetnek az épületben. A buszok 17:30-kor indulnak vissza az SZBK-ba.

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 23., 18:00 - 20:00 óra) ideje alatt a páratlan azonosítószámú, a II. Poszterszekció (augusztus 24., 14:30 - 16:30 óra) alatt pedig a páros azonosítószámú poszterek készítői legyenek a poszterek mellett.

Étkezés: A regisztráció ebédet tartalmaz az augusztus 23-25. közötti időtartamra (szerda, csütörtök, péntek). Az ebéd helye az SZBK étkezője, ebédelni a névtáblák felmutatásával lehet. Azok, akik vegetáriánus menüt igényeltek, zöld ebédjegyeket kapnak regisztrációkor. Ezekkel kérhetik az ebédlőben a vegetáriánus ételeket. Augusztus 22-én este fogadás lesz a Városházán, augusztus 24-én pedig társas vacsora lesz az SZBK-ban, a részvételhez a névtáblákat a helyszínen fel kell mutatni. Augusztus 23-án a vacsora egyénileg történik. Kávészünetekben édes és sós sütemény, kávé, tea és üdítő fogyasztható. Az SZBK-ban található büfé 7:00 és 15:00 óra között tart nyitva, itt kávé, üdítő, péksütemény, szendvics és édesség is kapható.

Társasági programok: Augusztus 22-én 19 órától a Városházán Szeged Megyei Jogú Város Önkormányzata fogadáson látja vendégül a Kongresszus résztvevőit. Köszöntőt mond Dr. Berkesi Ottó önkormányzati képviselő. Az SZBK-ból a Városházára egy 15 perces sétával, illetve tömegközlekedéssel (lásd alább) lehet eljutni.

Augusztus 24-én az Alsóvárosi Ferences Templomot és Kolostort látogatjuk meg. Az SZBK-tól 16:30-kor különbuszok indulnak a helyszínre, ahol vezetett sétán, rövid orgonakoncerten és líkórkóstolón veszünk részt. A buszok 19:00-kor indulnak vissza az SZBK-ba.

Közlekedés: Az SZBK a belvárosból a 60, 60Y, 67, 67Y, 72, 72A buszjáratokkal érhető el, a Sportcsarnok (Székely sor) megállónál kell leszállni. Az 5-ös trolibusz végállomása (Újszeged, Gyermekkorház) az SZBK-tól pár perc sétára van. Gyalog közlekedőknek fontos: a Belvárosi Híd északi oldalán levő járda kerékpárút, azt gyalog nem szabad használni. Gyalogosan csak a híd déli oldalán (Dóm felőli oldal) levő járdán lehet átmenni.

Wifi kapcsolat: Az SZBK-ban elérhető az Eduroam wifi hálózata. Ezen kívül a BRC_GUEST wifi hálózatot mindenki használhatja, a jelszó az SZBK előterében levő TV képernyőn látható.

Áttekintő Program

AUGUSZTUS 22. KEDD

- 14:00 – 16:00 Regisztráció
16:00 – 16:30 Ünnepélyes megnyitó
16:30 – 17:30 Ernst-díjasok előadásai
17:30 – 18:15 Plenáris előadás
19:00 – Fogadás a Városházán

AUGUSZTUS 23. SZERDA

- 8:30 – 10:30 I. szekció: Modern biofizikai módszerek
10:30 – 11:00 Kávészünet
11:00 – 13:00 II. szekció: Membránok, membránfehérjék biofizikája
13:00 – 14:30 Ebéd
Az MTA Biofizikai Bizottságának munkabédje az SZBK klubhelyiségében
15:00 – 17:30 III. szekció: Az ultragyors spektroszkópia biofizikai alkalmazásai: kihelyezett szekció és látogatás az ELI-ALPS Lézeres Kutatóközpontban
18:00 – 20:00 I. Poszterszekció

AUGUSZTUS 24. CSÜTÖRTÖK

- 8:30 – 10:20 IV. szekció: Molekuláris biofizika
10:20 – 11:00 Kávészünet
11:00 – 13:00 V. szekció: Elméleti biofizika
13:00 – 14:30 Ebéd
14:30 – 15:00 MBFT Elnökségi ülés az SZBK előadótermében
14:30 – 16:30 II. Poszterszekció
16:30 – 19:00 Kirándulás: Alsóvárosi Ferences Templom és Kolostor
19:30 – Társas vacsora az SZBK-ban

AUGUSZTUS 25. PÉNTEK

- 8:30 – 10:30 VI. szekció: Orvosi biofizika és sugárbiológia
10:30 – 11:00 Kávészünet
11:00 – 12:30 VII. szekció: Bioszenzorika és bio-nanotechnológia
12:30 – 14:00 Ebéd
14:00 – 15:30 VIII. szekció: Bioenergetika és fotobiofizika
15:30 – 16:00 Záróünnepség, poszterdíjak átadása

Részletes program

2017. AUGUSZTUS 22., KEDD

14:00 - 16:00 REGISZTRÁCIÓ

16:00 - 16:30 ÜNNEPÉLYES MEGNYITÓ

16:30 - 17:30 ERNST-DÍJASOK ELŐADÁSAI

Elnök: Nyitrai Miklós

17:30 - 18:15 PLENÁRIS ELŐADÁS

Elnök: Mátyus László

Tompa Péter (VIB-VUB Center for Structural Biology, Brüsszel)

Rendezetlen dipeptid repeatek fázisátmenete amiotrófiás laterálszklerózisban

E1

19:00 - Fogadás a Városházán

2017. AUGUSZTUS 23., SZERDA

8:30 - 10:30 I. SZEKCIÓ: MODERN BIOFIZIKAI MÓDSZEREK

Elnök: Kellermayer Miklós

Ormos Pál

8:30 - 8:55

Horváth Péter (MTA SZBK Biokémiai Intézet)
Élet a pixelek mögött: egysejt analitikai módszerek gépi tanulás és képfeldolgozás segítségével

E2

8:55 - 9:15

Szabó Bálint (ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék)
Egyedi sejteket kezelő robotok fejlesztése és alkalmazása

E3

9:15 - 9:35

Patkó Dániel (Department of Ecological Sciences, The James Hutton Institute, Dundee, UK)
A gyökerek és a talaj közötti kölcsönhatások vizsgálata light-sheet mikroszkópiával

E4

9:35 - 9:55

Steinbach Gábor (MTA SZBK Biofizikai Intézet)
Differenciálpolarizációs lézerpásztázó mikroszkóp (DP-LSM) biológiai alkalmazása anizotróp szerkezetek feltárásában

E5

9:55 - 10:15

Galajda Péter (MTA SZBK Biofizikai Intézet)
Antibiotikum rezisztencia gyors evolúciója heterogén környezetben

E6

10:15 - 10:30

Franck Charles (JEOL EUROPE SAS)
New JEOL developments for High Resolution studies using Field Emission Scanning Electron Microscopes

E7

10:30 - 11:00 Kávészünet

11:00 - 13:00	II. SZEKCIÓ: MEMBRÁNOK, MEMBRÁNFEHÉRJÉK BIOFIZIKÁJA Elnök: Bóta Attila Panyi György	
11:00 - 11:20	Garab Győző (MTA SZBK Növénybiológiai Intézet) A lipidfázisok polimorfizmusa kloroplasztizok tilakoidmembránjaiban	E8
11:20 - 11:40	Török Zsolt (MTA SZBK Biokémiai Intézet) Plazmamembrán nanostruktúrák szerepe a hőérzékelésben	E9
11:40 - 12:00	Deák Róbert (MTA TTK Anyag- és Környezetkémiai Intézet) Modellvezikuláktól az exoszómákig	E10
12:00 - 12:20	Liliom Károly (SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet) A lizofoszfatidsav mint másodlagos hírvívő kölcsönhatása jelátviteli fehérje-doménekkel	E11
12:20 - 12:40	Tarapcsák Szabolcs (DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet) A P-glikoprotein (ABCB1) katalitikus ciklusának vizsgálata A-loop és Walker B mutáns fehérjék segítségével	E12
12:40 - 13:00	Varga Zoltán (DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet) A sejtmembrán szterol tartalmának hatása feszültség-függő ioncsatornák kapuzására	E13

13:00 - 14:30 Ebédszünet

13:00 - 14:30 Munkaebéd az MTA Biofizikai Bizottságának az SZBK klubhelyiségében

14:30 - Utazás busszal az ELI-ALPS kutatóközpontjába

15:00 - 17:30	III. SZEKCIÓ: AZ ULTRAGYORS SPEKTROSKÓPIA BIOFIZIKAI ALKALMAZÁSAI kihelyezett szekció az ELI-ALPS Lézeres Kutatóközpontban Elnök: Groma Géza Osvay Károly	
15:00 - 15:20	Pirisi Katalin (PTE ÁOK Biofizikai Intézet) Fotolízis mutánsok vizsgálata ultragyors spektroszkópiai módszerekkel	E14
15:20 - 15:40	Groma Géza (MTA SZBK Biofizikai Intézet) Fényindukált intramolekuláris energiavándorlás a NADH koenzim különböző konformációs állapotaiban	E15
15:40 - 16:00	Lambrev Petar (MTA SZBK Növénybiológiai Intézet) Probing ultrafast photosynthetic energy transfer and charge separation kinetics by coherent two-dimensional electronic spectroscopy	E16
16:00 - 16:30	Franck Lépine (ELI-ALPS) State-of-the-art ultrashort pulses: perspectives in molecular sciences	E17

16:30 - Vezetett látogatás az ELI-ALPS lézerközpontban

17:30 Indulás vissza a konferencia helyszínére

18:00 - 20:00 **I. POSZTERSZEKCIÓ** (páratlan sorszámú poszterek)

2017. AUGUSZTUS 24., CSÜTÖRTÖK

8:30 - 10:20	IV. SZEKCIÓ: MOLEKULÁRIS BIOFIZIKA Elnök: Galajda Péter Nyitrai Miklós	
8:30 - 9:05	Csúcs Gábor (Scientific Center for Optical and Electron Microscopy, ETH Zürich) Melyik szuper-rezolúciós módszert válasszam?	E18
9:05 - 9:25	Mártonfalvi Zsolt (SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet) Erőkifejtés a titin gombolyodása során	E19
9:25 - 9:45	Telek Elek (PTE ÁOK Biofizikai Intézet) A miozin 16 C-terminális domén interakciói és funkciói	E20
9:45 - 10:05	Murvai Nikoletta (MTA TTK Enzimológiai Intézet) Az ERD14 rendezetlen chaperon fehérje folyadék-folyadék fázisátalakulása fehérje-DNS/RNS kölcsönhatás révén	E21
10:05 - 10:20	Jakub Nowak (NanoTemper Technologies) Microscale thermophoresis and nanoDSF as advanced methods in life science research	E22

10:20 - 11:00 Kávészünet

11:00 - 13:00	V. SZEKCIÓ: ELMÉLETI BIOFIZIKA Elnök: Derényi Imre Simon István	
11:00 - 11:20	Smeller László (SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet) Fehérjék kooperatív felgombolyodása: Folding superfunnel	E23
11:20 - 11:40	Szilágyi András (MTA TTK Enzimológiai Intézet) Entrópiakülönbségek számítása konformációs sokaságokból Gauss-keverék függvények segítségével	E24
11:40 - 12:00	Leitgeb Balázs (MTA SZBK Biofizikai Intézet) Asperelinek térszerkezeti és folding sajátosságainak tanulmányozása	E25
12:00 - 12:20	Násztor Zoltán (MTA SZBK Biofizikai Intézet) A Collins szabály és a fehérjék	E26
12:20 - 12:40	Szöllősi Gergely (ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék) Rocks, clocks and genes from other species	E27
12:40 - 13:00	Tibély Gergely (ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék) Neutrális-e a tumorevolúció?	E28

13:00 - 14:30 Ebédszünet

14:30 - 15:00 MBFT Elnökségi ülés a nagyelőadásban

14:30 - 16:30 II. POSZTERSZEKCIÓ (páros sorszámú posztterek)

16:30 - 19:00 Kirándulás: Alsóvárosi Ferences Templom és Kolostor

19:30 - Társas vacsora az SZBK-ban

2017. AUGUSZTUS 25., PÉNTEK

8:30 - 10:30	VI. SZEKCIÓ: ORVOSI BIOFIZIKA ÉS SUGÁRBIOLÓGIA Elnök: Krizbai István Sáfrány Géza	
8:30 - 8:50	Lőrinczy Dénes (PTE ÁOK Biofizikai Intézet) A ciklofoszfamid biológiai hatásainak termikus analitikai vizsgálat	E29
8:50 - 9:10	Neagu Adrian (Victor Babes Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Temesvár) Az emberi test összetételének vizsgálatára szolgáló fizikai módszerek: összehasonlító és megbízhatósági tanulmány	E30
9:10 - 9:30	Menyhárt Ákos (SZTE ÁOK, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet) A terjedő depolarizációkkal járó interstitiális káliumhullám	E31
9:30 - 9:50	Végh Attila Gergely (MTA SZBK Biofizikai Intézet) Melanóma – endotél adhézió dinamikája: kritikus lépés az agyi metasztázis kialakulásához	E32
9:50 - 10:15	Lumniczky Katalin (OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság) Az extracelluláris vezikulák a sugárzás szomszédsági hatásának közvetítői	E33
10:15 - 10:30	Kis Enikő (OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság) Immunológiai és gyulladásos kapcsolódó szolubilis markerek vizsgálata sugárterápiával kezelt fej-nyak tumoros betegek plazmájában	E34

10:30 - 11:00 Kávészünet

11:00 - 12:30	VII. SZEKCIÓ: BIOSZENZORIKA ÉS BIO-NANOTECHNOLÓGIA Elnök: Horváth Róbert Vonderviszt Ferenc	
11:00 - 11:25	Kellermayer Miklós (SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet) Vírus DNS ekekcio nanobiofizikája	E35
11:25 - 11:45	Deli Mária (MTA SZBK Biofizikai Intézet) Biológiai gátrendszerek tenyészetes lab-on-a-chip modelljei	E36
11:45 - 12:00	Kovács Boglárka (MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet) Genetikailag módosított flagellin rétegeken élő sejtek adhéziójának nyomon követésére jelölésmentes optikai bioszenzorokkal	E37
12:00 - 12:15	Péter Beatrix (MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet) Zöld tea polifenol (EGCg) és a sejtadhéziós mátrix kölcsönhatásainak vizsgálata jelölésmentes optikai bioszenzorokkal	E38

12:15 - 12:30	Kertész Krisztián (MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet) Lepkeszárnyak színének változása a természetben és az alkalmazásban	E39
---------------	--	-----

12:30 - 14:00 Ebédszünet

14:00 - 15:30	VIII. SEKCIÓ: BIOENERGETIKA ÉS FOTOBIOFIZIKA Elnök: Csík Gabriella Garab Győző	
14:00 - 14:20	Páli Tibor (MTA SZBK Biofizikai Intézet) Natív forgó ATPáz működése oszcilláló elektromos térben	E40
14:20 - 14:40	Böddi Béla (ELTE TTK Növényismereti Tanszék) Fotoszintézis a talajban a hajtásban vezetett fénnel	E41
14:40 - 15:00	Maróti Péter (SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet) A fotoszintetizáló baktériumok fluoreszcenciájának kinetikai összetevői	E42
15:00 - 15:15	Magyar Melinda (MTA SZBK Növénybiológiai Intézet) Fényindukált konformáció-változások igazolása a második fotokémiai rendszer reakciócentrumában klorofill fluoreszcencia tranziensek mérésével	E43
15:15 - 15:30	Akhtar Parveen (MTA SZBK Növénybiológiai Intézet) Fluorescence quenching in transmembrane light-harvesting complexes measured in single proteoliposomes	E44

15:30 - 16:00 ZÁRÓÜNNEPSÉG, POSZTERDÍJAK ÁTADÁSA

Előadások

PLENÁRIS ELŐADÁS (E1).....	10
MODERN BIOFIZIKAI MÓDSZEREK (E2 – E7).....	11
MEMBRÁNOK, MEMBRÁNFEHÉRJÉK BIOFIZIKÁJA (E8 – E13)	17
AZ ULTRAGYORS SPEKTROSKÓPIA BIOFIZIKAI ALKALMAZÁSAI (E14 – E17)	23
MOLEKULÁRIS BIOFIZIKA (E18 – E22)	27
ELMÉLETI BIOFIZIKA (E23 – E28).....	32
ORVOSI BIOFIZIKA ÉS SUGÁRBIOLÓGIA (E29 – E34).....	38
BIOSZENZORIKA ÉS BIO-NANOTECHNOLÓGIA (E35 – E39).....	44
BIOENERGETIKA ÉS FOTOBIOFIZIKA (E40 – E44)	49

E1

Rendezetlen dipeptid repeatek fázisátmenete amiotrófiás laterálszklerózisban

TOMPA PÉTER^{1,2}, STEVEN BOEYNAEMS³, ELKE BOGAERT³, KOVÁCS DÉNES¹ ÉS LUDO VAN DEN BOSCH³

¹MTA TTK Enzimológiai Intézet, Budapest

²VIB-VUB, Center for Structural Biology, Brussels, Belgium

³VIB Vesalius Research Center, KU Leuven, Leuven, Belgium

A rendezetlen fehérjék (IDPk) nagy gyakorisággal fordulnak elő eukarióta sejtekben, ahol fontos jelátviteli és szabályozási funkciókat látnak el [1]. A közelmúlt nagy visszhangot kiváltó felfedezése volt, hogy számos alacsony komplexitású, prion-szerű domént tartalmazó IDP (pl. TIA-1, Ataxin-2, FUS, TDP-43, hnRNPA1, ...) folyadék-folyadék fázisátalakuláson (liquid-liquid phase separation, LLPS) megy keresztül, majd patológias aggregátumokká rendeződik [2]. Az LLPS sejtekben sok esetben membránnal nem körülhatárolt (membraneless) sejtorganellumok (pl. nukleolusz, Cajal testek, RNS processzáló testek) kialakulásához vezet, és így a sejtbiológia egy új paradigmáját jelenti.

Amiotrófiás laterálszklerózisban (ALS) ehhez egy további érdekes jelenség társul, betegekben a C9orf72 gén intronikus régiójának hexanukleotid szakasza expandál (akár 1000 repeatet is elérhet), ami az mRNS intronikus transzlációja révén az érintett sejtekben rendezetlen dipeptid repeatek (DPRek) megjelenéséhez vezet. A DPRek közül a GRn és PRn rendkívül toxikus, és hozzájárul az ALS kialakulásához. Eredményeink szerint a PR20 és PR30 peptidek RNS jelenlétében pufferben hatékonyan mennek át LLPS fázisátmeneten, illetve sejtextraktban más LLPS-kapcsolt fehérjéket kötnek magukhoz [3]. A kialakuló folyadékfázis rendkívül dinamikus, benne az alkotó IDPk megőrzi szerkezeti rendezetlenségüket. A fázisátmenet sejtekben overexpresszált peptidek esetében is kimutatható, ahol felborítja a sejt normális stresszválaszát.

Eredményeink rámutatnak az ALS egy lehetséges mechanizmusára, és új irányt jelölnek ki a biofizikai kutatásoknak, amelyben polimerkémiái, biokémiai, szerkezeti biológiai és sejtbiológiai vizsgálatokkal együttműködve hozzájárulhatnak egy új sejtbiológiai jelenség részletesebb megismeréséhez.

Irodalom

- [1] Guharoy, M., Pauwels, K. and Tompa, P. (2015) Intrinsic structural disorder. *Cell* 161: 1230–1230.e1
- [2] Brangwynne, C. P., Tompa, P., Pappu, R. V. (2015) Polymer physics of intracellular phase transitions. *Nature Physics* 11: 899–904
- [3] Boeynaems, S. et al. (2017) Phase separation of C9orf72 dipeptide repeats perturb stress granule dynamics. *Mol. Cell* 65: 1044–1055

JEGYZETEK

E2

Élet a pixelek mögött: egysejt analitikai módszerek gépi tanulás és képfeldolgozás segítségével**HORVÁTH PÉTER^{1, 2}**¹ *Biological Research Centre of the Hungarian Academy of Sciences, Synthetic and Systems Biology Unit*² *Institute for Molecular Medicine, University of Helsinki, Finland,*

Előadásomban áttekintést adok nagyléptékű fénymikroszkópos kísérletek egysejt szintű feldolgozásának számítástechnikai lépéseiről [1, 2]. Először egy új mikroszkópos képkorrekciós eljárást mutatok be, mely kijavítja a vignettálásból és nem egyenletes megvilágításból származó képi hibákat [3]. Ezután egy új egysejt szegmentálási algoritmust ismertetek, mely egy energia minimalizációs módszer segítségével képes egymáshoz tapadó vagy akár egymás tetején átfedésben lévő sejtek elkülönítésére [4]. Bemutatom az Advanced Cell Classifier (ACC) (www.cellclassifier.org) gépi tanulási szoftvert melyet azért fejlesztettünk, hogy a képi jellemzőkből származó információ felhasználásával sejtes fenotípusok azonosítását végezze. Az ACC egy olyan interaktív felületet biztosít a felhasználónak, mely segítségével hatékonyan képes intelligens algoritmusokat tanítani sejtek automatikus fenotipizálására [1, 5]. Azon esetekre amikor nem lehetséges diszkrét fenotípus kategóriákat létrehozni, mert a sejtek folytonos morfológiai változásokon mennek keresztül, bemutattunk egy multi-parametrikus regresszió alapuló elemző eljárást.

A fejlesztett módszerek kombinációit felhasználva különböző egysejt kinyerési stratégiákat mutattunk be. Ismertetem a frissen elért sikeres eredményeinket egysejt DNS, RNS és célzott elektrofiziológiai elemzések területén.

Referenciák

[1] Piccinini, F., ..., Horvath, P. ACC: Discovery software for phenotypic image analysis.

Cell Systems 2017

[2] Horvath, P., ... , Carragher, N. ; Screening out irrelevant cell-based models of disease

Nature Reviews Drug Discovery 2016

[3] Smith K., Li Y., Piccinini F., Csucs G., Balazs C., Bevilacqua A., Horvath, P. ; CIDRE: an illumination-correction method for optical microscopy.

Nature Methods 2015

[4] Molnar, Cs., ..., Horvath, P. ; Accurate Morphology Preserving Segmentation of Overlapping Cells based on Active Contours

Scientific Reports – 2016

[5] Banerjee, I., Miyake, Y., Nobs, S. P., Schneider, C., Horvath, P., Kopf, M., Matthias, P., Helenius, A., Yamauchi, Y.; Influenza A virus uses the aggresome processing machinery for host cell entry.

Science 2014

JEGYZETEK

E3

Egyedi sejteket kezelő robotok fejlesztése és alkalmazása

UNGAI-SALÁNKI RITA¹, ORGOVÁN NORBERT^{2,5}, FRANCZ BARBARA¹, SÁNDOR NOÉMI³, FÜRJES PÉTER⁴, HOLCZER ESZTER⁴, HORVÁTH RÓBERT⁵ ÉS SZABÓ BÁLINT²

¹ CellSorter Kft

² ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Fizika Tanszék

³ MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoport

⁴ MTA Energiatudományi Kutatóközpont, MFA MEMS Laboratórium

⁵ MTA Energiatudományi Kutatóközpont, MFA Nanobioszenzorika Laboratórium

Az egyedi élő emlős sejtek automatizált kezelése komoly kihívás. Erre a feladatra képes robot fejlesztését és kísérletes alkalmazását tűztük ki célul néhány évvel ezelőtt. Munkánkat az motiválta, hogy a közelmúltban lehetővé vált az egyedi sejtek teljes DNS és/vagy RNS állományának kiolvasása (szekvenálása), amely egy új, „Single cell analysis” néven ismert tudományág megjelenését eredményezte [1]. Az egyedi sejtek genetikai és transzkripció vizsgálatával a rákos betegségek korai diagnózisa, a rákos szövet fejlődésének és a gyógyszeres kezelésekkel szemben mutatott ellenállásának jobb megértése válhat lehetővé. Ezek mellett olyan fundamentális kérdésekre is választ kaphatunk, mint hogy mi a szövet molekuláris definíciója, és hogyan alakulnak ki a specializálódott sejtek az őssejtekből. Ugyanakkor a szekvenálást megelőző lépés, az egyedi sejtek izolálása legtöbbször manuálisan történik, ezért rendkívül időigényes, körülményes feladat. Az általunk fejlesztett eljárás számítógépes látásra épül. A jelenleg félautomata robotunk képes akár nagy sejtsűrűségű sejtszuspenzióból egyedi sejteket izolálni mikroszkóp és mikropipetta segítségével [2]. Módszerünket több nemzetközi laborban alkalmazzák. A sejtek izolálása mellett műszerünk képes egyedi sejtek adhéziónak erejének gyors mérésére is [3]. Az új technikát összehasonlítottuk optikai bioszenzorokkal [4]. Humán primer immunsejtek adhéziójának vizsgálatából új információkat nyertünk a sejtfelszíni komplement receptorok szerepéről [5]. Lemértük a sejt-sejt adhéziónak erő MASP-1 proteáztól való függését endotél és neutrofil sejtek közt [6]. Legutóbbi kísérleteinkben a mikrofluidikai AFM-mel (FluidFM-mel) mérhető sejtadhéziónak erőt és energiát vetjük össze a mikropipettával kapott eredményekkel.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az MTA Lendület Program, a K104838 számú OTKA pályázat, a Bolyai Ösztöndíj és a MedInProt pályázat támogatta.

Irodalom

- [1] Wang D, Bodovitz S (2010): Trends in Biotechnology 28(6): 281-290.
- [2] Ungai-Salánki R *et al.* (2016): Nature Scientific Reports 6: 20375.
- [3] Salánki R *et al.* (2014): PLoS One 9(10): e111450.
- [4] Orgován N *et al.* (2016) Biointerphases 11: 031001.
- [5] Sándor N *et al.* (2016) PLoS ONE 11(9): e0163120.
- [6] Jani PK *et al.* (2016) Molecular Immunology 75: 38–47.

JEGYZETEK

E4

A gyökerek és a talaj közötti kölcsönhatások vizsgálata light-sheet mikroszkópiával

PATKÓ DÁNIEL¹, YANGMINGHAO LIU², LADMIRAL VINCENT³, AMEDURI BRUNO³, MACDONALD MIKE² AND DUPUY LIONEL¹

¹ *Department of Ecological Sciences, The James Hutton Institute, Invergowrie, Dundee, Egyesült Királyság*

² *Division of Physics, School of Engineering, Physics and Mathematics, University of Dundee, Dundee, Egyesült Királyság*

³ *Ingénierie et Architectures Macromoléculaires, Institut Charles Gerhardt, Montpellier, Franciaország.*

A növényi gyökerek egészséges és hatékony működése elengedhetetlen a növény növekedéséhez, és ezáltal az élelmiszer termeléshez. A különböző ásványi anyagok és a víz felvételéhez egy sor fizikai, biológiai és kémiai reakciónak kell játszódnia a gyökerek, a talaj és a talajban található mikroorganizmusok között. Ezek a kölcsönhatások összetettek, és megfigyelésük nehézkes, mert nem állnak rendelkezésre megfelelő eszközök. Kutatócsoportunk kifejlesztett egy Nafion® alapú átlátszó táptalajt, melyben a növények és a gyökereik hasonlóan viselkednek, mint normál talajban [1]. A módszer nagy előnye, hogy a gyökerek és környezetük közvetlenül, invazív módon vizsgálhatóak fénymikroszkópos technikákkal. Az új táptalaj, szemben az általánosan használt átlátszó médiumokkal (például fitagél és agar), a normál talajhoz hasonló tulajdonságokkal rendelkezik, ezáltal lehetővé teszi a növények természeteshez közeli körülmények közt történő megfigyelését. További lehetőséget rejt magában festési eljárások alkalmazása, melyekkel növelni lehet a kontrasztot, valamint a képek kvantitatív elemzése is lehetővé válik.

Előadásomban bemutatok egy light-sheet mikroszkópot (LSM), melyet a talaj és a gyökér közti kölcsönhatás megfigyelésére fejlesztettünk ki [2,3]. A konfokális mikroszkópokkal szemben az LSM alkalmazásakor a mintának csak az éppen tanulmányozott szelete van megvilágítva, így nem kell tartanunk a nem megfigyelt területek kifakulásától. Fluoreszcens festékeknek köszönhetően a gyökér környezetében zajló egyéb folyamatok is megfigyelhetők (például mikorrhiza, vagy baktériumokkal való szimbiózis). A mérési módszer lehetővé teszi, hogy 3D-ben jeleníthessük meg és időben követhessük a gyökér sejtjeinek, a talajszemcséknek, a gombáknak vagy a rizoszféra egyéb elemeinek mozgását és változásait.

A felépített rendszer része egy négy hullámhosszt tartalmazó lézerforrás, mely fluoreszcens méréseket tesz lehetővé, valamint egy nagy érzékenységsű CMOS kamera. A gyökerek képét egy nagy munkatávolságú, nagy numerikus apertúrájú objektívvel képezzük le. Egy automatizált, kéttengelyes mintatartót, valamint egy új küvettát is kialakítottunk a rendszerhez, a hozzá tartozó fluidikával együtt. Mindezek a fejlesztések lehetővé teszik a növények hosszú távú (többnapos, -hetes), a természetes körülményekhez hasonló környezetben történő megfigyelését, amire eddig nem volt lehetőség.

Köszönetnyilvánítás

A támogatást köszönjük az Európai Kutatási Alapnak (ERC SENSOILS-647857).

Irodalom

- [1] H. Downie, N. Holden, W. Otten, A.J. Spiers, T.A. Valentine, L.X. Dupuy, Transparent Soil for Imaging the Rhizosphere, PLoS One. 7 (2012) 1–6. doi:10.1371/journal.pone.0044276.
- [2] Z. Yang, H. Downie, E. Rozbicki, L.X. Dupuy, M.P. MacDonald, Light Sheet Tomography (LST) for in situ imaging of plant roots, Opt. Express. 21 (2013) 16239. doi:10.1364/OE.21.016239.
- [3] S.L. Reidt, D.J. O'Brien, K. Wood, M.P. MacDonald, Polarised light sheet tomography, Opt. Express. 24 (2016) 11239. doi:10.1364/OE.24.011239.

JEGYZETEK

E5

Differenciálpolarizációs lézerpásztázó mikroszkóp (DP-LSM) biológiai alkalmazása anizotróp szerkezetek feltárásábanSTEINBACH GÁBOR¹, SIPKA GÁBOR² ÉS GARAB GYÖZÖ²¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet² MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

Biológiai minták között gyakoriak a rendezett, komplex molekuláris szerkezetek, azonban a fénymikroszkópos vizsgálatuk a limitált felbontóképesség miatt problémákba ütközik. A Szegedi Biológiai Kutatóközpontban kidolgozott differenciál-polarizációs mérési technika (DP-LSM) együttműködve a konfokális lézerpásztázó mikroszkóppal lehetővé teszi, hogy egyszerre élvezhessük fénymikroszkópos minta-előkészítés egyszerűségét, a konfokális fluoreszcens leképezés nyújtotta térbeli információt és minőségét a dikrográfok által biztosított molekuláris szerkezeti vizsgálatok előnyével. A fénypolarizáció nagyfrekvenciás modulálásán-demodulálásán alapuló, képpontról-képpontra történő leképezés hatékonyan alkalmazható akár élő sejtes, akár fixált környezetben is. A bemutatandó alkalmazások között cellulózsálak [1,2], lipid raftok [3] és önszerveződő aggregátumok [4] is előfordulnak. Az ilyen struktúrák esetében a fluoreszcens molekulák polarizált fénnel történő kölcsönhatást felhasználva más módszerekkel csak nehezen kinyerhető információkat kaphatunk a minta anizotróp szerkezetéről.

Tekintve, hogy a DP kiegészítő alkalmazása lényegében nem módosítja a mikroszkóp belső szerkezetét, optikai és elektronikai összehangolást követően hozzákapszolható az eredeti berendezéshez. A konfokális mikroszkópok DP-kiegészítővel felszerelve alkalmassá válnak a molekuláris rendezettségű mikroszkopikus minták anizotrópiás szerkezeti tulajdonságainak mérésére és ezek 2D illetve 3D feltérképezésére.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 és a GINOP-2.3.2-15-2016-00058 pályázatok pénzügyi támogatását.

Irodalom

- [1] Savić A, Mitrović A, Donaldson L, Simonović Radosavljević J, Bogdanović Pristov J, Steinbach G, Garab G, Radotić K (2016) *Microscopy and Microanalysis* 22: 361-367.
- [2] Djikanović D, Devečerski A, Simonović J, Matović B, Garab G, Steinbach G, Kalauzi A, Radotić K (2016) *Wood Science and Technology* 50: 547-566.
- [3] Steinbach G, Pawlak K, Pomozi I, Tóth EA, Molnár A, Matkó J, Garab G (2014) *Methods and Applications in Fluorescence* 2: 015005 (9pp)
- [4] Chappaz-Gillot C, Marek PL, Blaive BJ, Canard G, Bürck J, Garab G, Hahn H, Jávorfí T, Kelemen L, Krupke R, Mössinger D, Ormos P, Malla Reddy C, Roussel C, Steinbach G, Szabó M, Ulrich AS, Vanthuyne N, Vijayaraghavan A, Zupcanova A, Balaban TS (2012) *Journal of the American Chemical Society* 134:944-954.

JEGYZETEK

E6

Antibiotikum rezisztencia gyors evolúciója heterogén környezetben

NAGY KRISZTINA, DUKIC BARBARA, ÁBRAHÁM ÁGNES ÉS GALAJDA PÉTER

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A különböző környezeti faktork a mikrobák természetes élőhelyein általában erősen heterogén térbeli eloszlást mutatnak. Ennek jelentős hatása lehet az egyes sejtek, vagy egész populációk és közösségek különböző biológiai folyamataira. Mégis a laboratóriumi kísérletek legtöbbször homogén környezeti feltételek mellett vizsgálják a mikrobákat (pl. kevert lombikban). Különösen kevés az olyan kutatás, amely stresszfaktork, illetve a szelekciós nyomást okozó környezeti feltételek inhomogén eloszlását venné figyelembe.

Munkánk során antibiotikumok heterogén térbeli eloszlásának hatását vizsgáltuk *E. coli* baktériumokra. Ehhez kidolgoztunk egy mikrofluidikai eszközt, melynek segítségével lineáris kémiai koncentrációgradienst tudunk előállítani folyadékáramlás nélkül. Az eszköz segítségével vizsgáltuk a baktériumok térbeli eloszlásának dinamikus változását különböző antibiotikumok kémiai gradienseiben. A sejtfal szintézisét gátló penicillin típusú szerek mellett a fehérjetermelést gátló antibiotikumokat használtunk. Kimutattuk, hogy az bizonyos antibiotikum gradiensek kemotaxis választ indukálnak.

Az antibiotikumok által okozott stressz illetve szelekciós nyomás egy kémiai gradiensben úszó sejt számára időben változó mértékű. Ez befolyásolja a hosszabb távú adaptációs és evolúciós folyamatokat is. Megmutattuk, hogy már a gradiens pusztá jelenléte is igen hamar, 10-12 óra alatt rezisztens sejtek megjelenését és elszaporodását okozza, ami a mikrofluidikai eszközünkben jól nyomonkövethető.

Eredményeink általánosságban rámutatnak arra, hogy bizonyos, természetes körülmények között lejátszódó mikrobiális folyamatok pontos vizsgálatához és megértéséhez elengedhetetlenül szükséges heterogén kémiai környezet kísérleti reprodukciója.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az NKFIH K 116516 és PD 112509 azonosítószámú 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.

JEGYZETEK

E7

New JEOL developments for High Resolution studies using Field Emission Scanning Electron Microscopes

FRANCK CHARLES

JEOL (EUROPE) SAS

Since 1949, JEOL's legacy has been one of the most remarkable innovations in the development of instruments used to advance scientific research and technology. JEOL has 60 years of expertise in the field of electron microscopy, more than 50 years in mass spectrometry and NMR spectrometry, and more than 40 years of e-beam lithography leadership.

This presentation is focused on the new JEOL developments of high resolution instruments. The first part will be devoted to the description of the particular electron optical design developed for this purpose of Ultra-High Resolution Scanning Electron Microscopes (UHR SEM). In the second part of this presentation several examples will show this technology applied to imaging (In Lens SE images at low kV), SE and BSE imaging and analytical samples application with EDS and EBSD.

JEOL (EUROPE) SAS – Espace Claude Monet – 1 Allée de Giverny – 78209 Croissy-sur-Seine (France)
Tel: +33130153737 Email: charles@jeol.fr

JEGYZETEK

E8

A lipidfázisok polimorfizmusa kloroplasztiszok tilakoidmembránjaiban

GARAB GYŐZŐ^{1,2}, UGHY BETTINA¹, PIETER DE WAARD³, PARVEEN AKHTAR¹, UROŠ JAVORNIK⁴, CHRISTOS KOTAKIS¹, PRIMOŽ ŠKET^{4,5}, VÁCLAV KARLICKÝ², ZUZANA MATEROVÁ², VLADIMÍR ŠPUNDA², JANEZ PLAVEC^{4,5,6}, HERBERT VAN AMERONGEN^{7,8}, VÍGH LÁSZLÓ⁹, HENK VAN AS^{3,7} ÉS PETAR H. LAMBREV¹

¹MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet, Szeged Temesvári krt. 62

²Department of Physics, University of Ostrava, CZ-710 00 Ostrava – Slezská Ostrava, Czech Republic

³Wageningen NMR Centre, Wageningen University & Research, 6708 WE Wageningen, The Netherlands

⁴Slovenian NMR center, National Institute of Chemistry, Hajdrihova 19, Ljubljana, Slovenia

⁵EN-FIST Center of Excellence, Trg OF 13, Ljubljana, Slovenia

⁶Faculty of Chemistry and Chemical Technology, Ljubljana, Slovenia

⁷Laboratory of Biophysics, Wageningen University & Research, 6708WE Wageningen, The Netherlands

⁸MicroSpectroscopy Centre, Wageningen University & Research, 6708WE Wageningen, The Netherlands

⁹MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Szeged, Temesvári krt. 62,

A fotoszintézis fényreakciói – cianobaktériumokban, algákban és növényekben - a tilakoidmembránban játszódnak le. Az ATP szintézis során hasznosuló elektrokémiai potenciálgrádiens felépülését tilakoidokban – és valamennyi energiakonvertáló biológiai membránban – a membránok kettősréteg (*bilayer*) szerkezete teszi lehetővé, lévén impermeábilis vízre, ionokra és vízben oldott molekulákra. Ennek tükrében nehezen értelmezhető, hogy ezekben a membránokban a legnagyobb mennyiségben előforduló lipidek önmagukban nem képesek kettősréteg (lamelláris) szerkezetbe szerveződni; erre ezen membránok lipidtartalmának csak mintegy fele képes. Az irodalomban található membránmodellek egy része számításba veszi ugyan a nem-bilayer lipidek jelenlétét, de megegyezik abban, hogy nem-lamelláris fázisok azokban nem, vagy csak tranzienzen fordulnak elő, és a nem-bilayer lipidek szerepe a membránba ágyazott fehérjék működési feltételeinek szabályozásában és a membránok fúziójában keresendő. Korábbi ³¹P-NMR vizsgálatokkal megmutattuk, hogy izolált intakt növényi tilakoidmembránok a lamelláris fázis mellett tartalmaznak egy izotróp, nem-bilayer lipidfázist [1]. A dielektromos állandó változásaira és így a lipidfázisokra érzékeny lipofil festék, a Merocyanin 540 (MC540), fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálataival is igazoltuk a lipidfázisok heterogenitását [2]. Érzékenyebb módszereket használva és a minták egy nagyobb halmazát vizsgálva, most megerősítjük és jelentős mértékben kiterjesztjük korábbi megállapításainkat: ³¹P-NMR méréseink a lamelláris fázis mellett két izotróp és egy inverz-hexagonális fázis jelenlétét mutatják. Időben-bontott MC540 fluoreszcenciás adataink négy lecsengéssel asszociált emissziós (DAES) komponens jelenlétét jelzik. Megmutatjuk azt is, hogy a különböző lipidfázisok érzékenyek a közeg ion- és ozmotikus erősségére, pH-jára valamint a lipidek zsírsavláncainak telítettségére. Saját és irodalmi adatok alapján javaslatot teszünk a különböző fázisokhoz köthető szerkezeti elemek mibenlétére. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a tilakoidmembránokban megfigyelt lipid polimorfizmus jelentős szerepet játszik a membránok szerkezeti dinamikájának biztosításában és egyes regulációs folyamatokban.

Köszönetnyilvánítás

Támogatók: OTKA 118688; GINOP -2.3.2-15-2016-00058 and 01211/2016/RRC (OU).

Irodalom

[1] Krumova és mtsai (2008) *BBA – Biomembranes* 1778:997-1003

[2] Krumova és mtsai (2008) *Ibidem* 1778: 2823-2833.

JEGYZETEK

E9

Plazmamembrán nanostruktúrák szerepe a hőérzékelésben

GOMBOS IMRE¹, BEGÜM PEKSEL¹, PÉTER MÁRIA¹, TISZLAVICZ ÁDÁM¹, MARIO BRAMESHUBER²
BALOGH GÁBOR¹, GERHARD SCHÜTZ², HORVÁTH IBOLYA¹, VÍGH LÁSZLÓ¹ ÉS TÖRÖK ZSOLT¹

¹ MTA, Szegedi Biológiai Központ, Biokémiai Intézet

² Institute of Applied Physics – Biophysics, TU Wien, Vienna

A sejt szintű stresszválasz vizsgálata alapvető fontosságú annak megértéséhez, hogy a sejtek miképpen reagálnak és alkalmazkodnak a környezet különböző változásaihoz, különösen patológiás körülmények között. A klasszikus elképzelés szerint a hő sokk (stressz) válasz a fehérjedenaturáció következménye. A hő sokk fehérje (Hsp) molekuláris chaperonok azonban olyan körülmények között is indukálódnak, amikor fehérje denaturáció nem figyelhető meg. Mára számottevő bizonyíték gyűlt össze az ún. "membrán szenzor" hipotézis alátámasztására, amely szerint a plazmamembrán specifikus módosulásai is képesek megváltoztatni a Hsp-k expresszióját. A plazmamembrán jelképző, hő indukálta szerkezeti változásainak azonosítása céljából ultraszenzitív mikroszkópia, lipidomika és sejtbiológia kombinációjával tanulmányoztuk a hőérzékelés és a membrán nanostruktúra kapcsolatát és annak egysejt szintű variabilitását. Multidiszciplináris vizsgálataink CHO sejtekben feltártak egy új enyhe, a láz tartományába eső hőmérséklet tartományt, ahol a hőstressz membrán szerkezetre kifejtett hatását a sejtek még képesek kivédeni a stresszfehérjék szintézisének indukciója nélkül. A plazmamembrán és a sejt homeosztázisának fenntartásában kulcsszerepet játszik a sejtek lipidprofiljának átszabása és a stresszhatást megelőzően jelen lévő stresszfehérjék sejten belüli átrendeződése, mely egyben növelte a sejtek termotoleranciáját is. A membránhoz köthető stresszérzékelés és a hozzá kapcsolódó jelátviteli utak megértéséhez nélkülözhetetlen a membránok tranziens domén szerveződését érintő nanoszerkezeti változások és a jelátvitel összefüggéseinek feltárása. E célból a részletes lipidomikai analízissel párhuzamosan képalkotáson alapuló fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiát (imFCS) alkalmaztunk, melynek segítségével dózis függő membrán átrendeződéseket figyelhettünk meg. Amíg a sejtek képesek voltak az enyhe hő (40°C) hatását teljesen kivédeni, addig az ennél erősebb (>42.5°C) stressz a membrán koleszterinben és szfingolipidekben gazdag "raft" régióját jelölő GPI-mGFP laterális diffúzióját jelentősen növelte miközben a membrán domén szerkezetében a két dózis egymással ellentétes irányú átrendeződést eredményezett. A hőhatás közben fellépő membrán szerkezeti változások azonosítása és a sejt szintű stresszválaszok korai eseményeinek feltérképezése közelebb vezethet bennünket a membránban lokalizált stressz szenzor(ok) azonosításához és egyben új, membrán lipid terápiai farmakológiai alkalmazások alapjául szolgálhat.

Köszönetnyilvánítás

OTKA ANN112372, GINOP-2.3.2-15-2016-00001

JEGYZETEK

E10

Modellvezikulától az exoszómáig

DEÁK RÓBERT, MIHÁLY JUDITH, SZIGYÁRTÓ IMOLA CSILLA, WACHA ANDRÁS, VARGA ZOLTÁN ÉS
BÓTA ATTILA

*MTA Természettudományi Kutatóközpont, Anyag és Környezetkémiai Intézet,
Biológiai Nanokémia Kutatócsoport*

A sejtekből származó extracelluláris vezikulák (EVk) – apoptotikus testek, mikrovezikulák és exoszómák – vizsgálata az utóbbi években egyre nagyobb jelentőségű [1]. A vezikulák mennyisége és összetétele a kibocsátó sejtek fiziológiás illetve patológiás állapotainak függvényében változik, amely lehetőséget nyújt diagnosztikai felhasználásukra, kommunikációs szerepük pedig felveti nanohordozóként való alkalmazásuk lehetőségét.

A vezikulás minták gyakorlatban alkalmazott rutin vizsgálatai közé elsősorban biokémiai és molekuláris biológiai vizsgálatok tartoznak, mely módszerek pontos beállítása és kiértékelése szükségessé teszi megfelelő modellanyagok bevezetését. Egy biológiai membrán eredetű, struktúrájában és morfológiájában az EVkhez hasonló modellanyag továbbá közelebb juttathat minket biokompatibilis, természetesen stabilizált nanohordozók előállításához és későbbi felhasználásához is.

Előadásomban egy biológiai eredetű, összetételét tekintve könnyen módosítható vezikulás nanorendszer előállítását ismertetem. Bemutatom a komplex, biofizikai vizsgálatokat, amelyekkel az extracelluláris vezikulákat és modellanyagukat, a vörösvértest membrán (ghost) eredetű nanoerythrozmákat jellemeztük [2-3].

Köszönetnyilvánítás

Munkánk az „NVKP-16-1-2016-0007 Anyagtudományi kutatás és fejlesztés az extracelluláris vezikula alapú orvosi diagnosztika megvalósításához” program keretei között részesült támogatásban. M.J. munkáját az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatta.

Irodalom

- [1] The number of EV-related articles published each year (http://student4.postech.ac.kr/evpedia2_xe/xe/source/images/20150206_EVpedia_figure_collection.pdf)
- [2] Róbert Deák, Judith Mihály, Imola Cs. Szigyártó, András Wacha, Gábor Lelkes, Attila Bóta, Physicochemical characterization of artificial nanoerythroosomes derived from erythrocyte ghost membranes, *Coll.Surf.B: Biointerfaces* 135. (2015) 225-234.
- [3] Judith Mihály, Róbert Deák, Imola Csilla Szigyártó, Attila Bóta, Tamás Beke-Somfai, Zoltán Varga, Characterization of extracellular vesicles by IR spectroscopy: Fast and simple classification based on amide and C-H stretching vibrations, *Biochimica et Biophysica Acta* 1859 (2017) 459–466

JEGYZETEK

E11

A lizofoszfatidsav mint másodlagos hírvivő kölcsönhatása jelátviteli fehérjedoménekkel**LILIAM KÁROLY***Semmelweis Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet*

A lizofoszfatidsav (LPA) a természetben előforduló legegyszerűbb szerkezetű foszfolipid. A lipid metabolizmusban az összetettebb foszfolipidek felépítésének prekursora. Az elmúlt közel három évtizedben világossá vált, hogy fiziológiás összetevője a vérplazmának, emelkedett koncentrációja indikatív emlő, prosztatata és egyéb daganatok jelenlétére és korrelál azok áttétképző hajlamával. Jelátvivő, anti-apoptotikus faktornak tekinthető, mert aktiválja a sejtek túlélési folyamatait. A rákos sejtek az LPA-t termelő enzimet választanak ki, amely autokrin/parakrin módon fokozza a rákos sejtek motilitását, migrációját. Oxidatív stressz körülmények között az LPA acillánc-összetétele megváltozik, miáltal gyulladásos faktorként viselkedik, pozitív visszacsatolási folyamatokon keresztül elősegítve saját maga és egyéb gyulladásfokozó citokinek termelődését. Egészen a legutóbbi évekig úgy gondoltuk, hogy ezeket a hatásokat kizárólag az LPA-ra szelektív G-fehérjékkel kapcsolt receptorok közvetítik. A hat azonosított receptor felelős valóban a fiziológiás és patológias működések jelentős részéért, azonban az is világossá vált, hogy az LPA képes a magi elhelyezkedésű PPAR γ receptorok direkt aktiválására, ezáltal az érelmeszesedésre súlyosbítására. Tudjuk azt is, hogy sejtfelszíni receptorok fiziológiás vagy patológias működésének hatására LPA keletkezik a sejtmembrán belső, intracelluláris rétegében membrán-gömbületi stresszt indukálva. A belső membránfelben keletkező és időlegesen felgyülemelő LPA az indukált membrán-gömbület révén új kötőfelületeket alakít ki, amelyekhez szelektíven kapcsolódhatnak a jelátviteli folyamatokban szereplő fehérjék egyes doménjei. Ezek a dinamikus karakterű kötőhelyek módosíthatják a fiziológiás vagy patológias fehérje-fehérje kölcsönhatásokat. Kísérleteinkben megvizsgáltuk a Caskin-1 állványfehérje SH3 doménjének, az Nck-1 SH2 doménjének, valamint a Grp-1 PH doménjének a kötődését LPA-t tartalmazó liposzómákhoz, illetve a gömbült felületet mimikáló micellákhoz fluoreszcencia spektroszkópia, kvarckristály mikromérleg, izotermális titrációs kalorimetria, termoforézis, ATR-FTIR és NMR technikákkal. Jellemeztük a kötődés szelektivitását szerkezetileg és funkcionálisan rokon lipidekkel összehasonlítva, valamint az LPA-kötés affinitását és sztöchiometriáját. Eredményeink alátámasztják az elképzelésünket, hogy az intracelluláris membránfelben keletkező LPA a fehérjedoménekhez kötődve befolyásolhatja a jelátviteli folyamatok dinamikáját.

JEGYZETEK

E12

A P-glikoprotein (ABCB1) katalitikus ciklusának vizsgálata A-loop és Walker B mutáns fehérjék segítségévelTARAPCSÁK SZABOLCS¹, TÜRK DÓRA², SZABÓ GÁBOR¹, SZAKÁCS GERGELY² ÉS GODA KATALIN¹¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet² Magyar Tudományos Akadémia, Enzimológiai Intézet

A P-glikoprotein (Pgp, ABCB1) az ATP-kötő kazettás (ABC) transzporterek fehérjecsaldájának tagja. A Pgp két transzmembrán doménből (TMD) és két nukleotid-kötő doménből (NBD) épül fel. A TMD-k felelősek a szubsztátok megkötéséért, míg az NBD-k ATP kötése és hidrolízise biztosítja az energiát a transzporthoz. Az ismert ABC transzporter kristályszerkezetek alapján feltételezhető, hogy a Pgp egy nagy szubsztát affinitású a citoplazma felé nyitott és egy alacsony affinitású az extracelluláris tér felé nyitott konformáció között alternál. Az UIC2 konformáció-érzékeny antitest szelektíven, nagy affinitással kötődik a „befelé-nyitott” konformerhez. A fehérje szerkezetére és működésére vonatkozó adatok bősége ellenére sem ismert pontosan, hogy az NBD-k ATP kötése és hidrolízise hogyan kapcsolódik a TMD-k konformáció változásaihoz. Munkacsoportunk az UIC2 antitest felhasználásával olyan Pgp molekulák transzport ciklusát vizsgálja, melyekben az ATP kötésben szerepet játszó szekvencia motívumok mutációt hordoznak egyik vagy mindkét NBD-ben (1).

Habár az NBD-k konzervált aminosavait érintő mutációk (pl. a Walker B (D555A/D1200 vagy E556Q/E12001Q) vagy az A-loop (Y401A/Y1044A)) a katalitikus ciklus különböző lépéseit érintik, korábbi vizsgálatok alapján mind az egy- és kétoldali mutáns fehérjék inaktívnak bizonyultak heterológ expressziós rendszerekben kifejezve vagy tisztított fehérjék alkalmazása esetén. Kísérleteinkben emlős sejtvonalakat hoztunk létre, melyek nagy mennyiségben fejezik ki a mutáns fehérjéket és így természetes membrán környezetükben vizsgálhattuk működésüket.

Calcein-AM akkumulációs és citotoxicitási vizsgálatokkal kimutattuk, hogy az egyoldali A-loop mutáns fehérjék részleges drog transzport aktivitással rendelkeznek, míg a kétoldali A-loop mutáns és valamennyi Walker B mutáns inaktív. Az A-loop mutánsok intakt sejtekben elsősorban az UIC2 reaktív konformációban találhatók, hasonlóan a D555N/D1200N egy- és kétoldali Walker B mutánsokhoz, azonban nukleotidok vagy ATP és foszfát-analógok jelenlétében átbillennek az UIC2-t nem kötő konformációba. Ezzel szemben az E556Q/E1201Q egy- és kétoldali Walker B mutánsok, a vad-típusú fehérjéhez hasonlóan, intakt sejtekben UIC2-t nem-kötő állapotban vannak, és modulátorok jelenlétében váltanak az UIC2-reaktív konformációba. Eredményeink azt mutatják, hogy habár a vizsgált egyoldali mutáns fehérjék mindegyike képes konformáció változtatásra, egyedül az egyoldali A-loop mutánsok képesek drog transzportra.

Köszönetnyilvánítás

TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001; PD75994 and K72762 OTKA pályázatok; TÁMOP 4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0023 "VÉD-ELEM" project és MTA Lendület pályázat (Szakács Gergely)

Irodalom

1. Barsony, O. és mtsai. A single active catalytic site is sufficient to promote transport in P-glycoprotein. *Scientific reports* **6**, 24810, doi:10.1038/srep24810 (2016).

JEGYZETEK

E13

A sejtmembrán szterol tartalmának hatása feszültség-függő ioncsatornák kapuzásáraVARGA ZOLTÁN^{1,2}, PAPP FERENC^{1,2}, ZÁKÁNY FLORINA² ÉS PANYI GYÖRGY²¹MTA NAP Ioncsatorna funkcionális szerkezetvizsgáló laboratórium, MMKK, Debreceni Egyetem²Debreceni Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A feszültség-függő ioncsatornákat a membránpotenciál változása aktiválja, és az akciós potenciál kialakítása mellett szerepet játszanak számos sejtfunkcióban nem-ingerelhető sejtekben is, mint például az aktiváció, proliferáció vagy az apoptózis. A membránpotenciál dinamikusan változik számos sejtfunkció során, és szorosan kapcsolódik a feszültség-függő membránfehérjék aktivitásához. Ezért alapvető fontosságú annak megértése, hogy a membránpotenciál változása hogyan vezet konformáció-változásokon keresztül specifikus fehérje-funkciókhoz.

A feszültség-függő ioncsatornában a feszültség-érzékelő domén (VSD) elmozdulása áttevődik a pórusdoménre (PD), ami a csatorna nyitását eredményezi és lehetővé teszi az ionáramlást. Ez a csatolás nem feltétlenül a két domén közötti közvetlen merev intramolekuláris kapcsolat révén valósul meg, erősségét befolyásolhatják például membrán-lipidek is. Ismert, hogy a sejtmembránt alkotó lipidek mind direkt kölcsönhatásokon (fehérje-lipid), mind pedig indirekt hatásokon (membrán fluiditás, -vastagság, stb.) keresztül képesek befolyásolni számos ioncsatorna kapuzását. Munkacsoportunk is leírta a membrán koleszterin és 7-dehidrokoleszterin tartalmának hatását a Kv1.3 feszültség-függő K⁺ csatorna kapuzására. A továbbiakban a lipidek támadáspontját kerestük, nevezetesen, hogy a lipidkörnyezet változása a VSD-re hatva közvetve, vagy a pórusra hatva közvetlenül módosítja a pórus kapuzását.

Ennek vizsgálatára alkalmas a feszültség-zár fluorometria (VCF) technika, melynek során a fehérje egy aminosavát ciszteinre cserélve, ahhoz egy molekuláris környezetre érzékeny fluorofórt kapcsolunk, és a fluoreszcencia intenzitásának változásával követjük nyomon a fehérje konformációjának változását. A méréseket *Xenopus* oocitákon végezzük, melyek heterológ módon fejezik ki a vizsgált csatornát. A VSD-hez kapcsolt fluorofórral annak mozgását, míg két-elektrodás feszültségzárral a csatornán átfolyó áram mérésével a PD állapotát követhetjük nyomon egyidejűleg. A két jel összevetéséből értékes információ nyerhető a két domén közötti kapcsolatról és az azt befolyásoló tényezőkről.

A VSD és a PD aktivációjának feszültség-függését összehasonlítva több Kv csatornán, különböző lipid környezetek mellett, eltérő hatásokat figyeltünk meg a két doménen. Eredményeink alapján a növelt szterol tartalom közvetlenül a pórusra hatva stabilizálja annak zárt állapotát, míg a VSD-t egyes csatornákon nem befolyásolja, más csatornán pedig segíti az aktivációját.

Köszönetnyilvánítás

A projektet a Nemzeti Agykutató Program támogatta, KTIA_NAP_13-2-2015-0009

JEGYZETEK

E14

Fotoliáz mutánsok vizsgálata ultragyors spektroszkópai módszerekkel

PIRISI KATALIN, PASITKA JONATÁN, GRAMA LÁSZLÓ, NYITRAI MIKLÓS ÉS LUKÁCS ANDRÁS

Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Biofizikai Intézet

A fotoliázok és a kriptokrómok egyaránt a fotoaktív flavoproteinek családjához tartoznak, amelyek esetében a fehérjék funkciója fényabszorpció következtében valósul meg.

A két fehérje nagy fokú homológiát mutat, ennek ellenére a funkciójuk teljesen eltérő: a fotoliázok az UV-indukált DNS hibák javítását, a kriptokrómok viszont a cirkadián ritmus vagy a madarak mágneses tájékozódásáért felelős^{1–3}. Kiinduló hipotézisünk szerint a funkcióban megtalálható különbségért elsősorban egy aminosav a felelős, közel a fehérje által nem kovalensen kötött FAD kofaktorhoz: a kriptokrómok esetében az FAD N5 atomjával átellenben ugyanis egy aszparginsav, a fotoliázban ugyanebben a pozícióban egy aszpargin található.

Tekintettel arra, hogy növényi kriptokrómokban ebben a pozícióban egy aszpartát van, rovarokban pedig cisztein, két olyan mutánszt hoztunk létre, amelyben az említett aminosavat aszpartátra illetve ciszteinre cseréltük.

Az új mutánsok transziens abszorpció, valamint transziens fluoreszcencia méréseket végeztünk a látható tartományban egy saját fejlesztésű femtoszekundumos és pikoszekundumos transziens abszorpció spektrométeren, valamint egy szintén saját fejlesztésű Kerr-kapuzott fluoreszcencia spektrométerrel⁴. A mutánsokon végzett kísérleteink arra utalnak, hogy a fotoliáz fotociklusa jelentősen megváltozott és várakozásainknak megfelelően a kriptokrómokéhoz lett hasonló. Nagy különbség mutatkozott azonban abban az esetben amikor aszpartátra illetve amikor ciszteinre cseréltük az eredeti (aszpargin) aminosavat. Az előbbi esetben a fényabszorpció hatására a fotoliáz mutáns flavin kofaktora anionos gyök állapotba került⁵, a második mutáns esetében ez nem valósult meg.

Irodalom

- [1] A. Sancar, "Structure and Function of DNA Photolyase and Cryptochrome Blue-Light" *Chemical Reviews* (2003).
- [2] A. Lukacs et al., "Electron hopping through the 15 Å triple tryptophan molecular wire in DNA photolyase occurs within 30 ps.," in *Journal of the American Chemical Society* **130**(44), pp. 14394–14395
- [3] C. a Dodson, P. J. Hore, and M. I. Wallace, "A radical sense of direction: signalling and mechanism in cryptochrome magnetoreception.," *Trends Biochem. Sci.* **38**(9), 435–446, Elsevier Ltd (2013)
- [4] Lapténok S., Nuernberger P., Lukacs A., Vos M.H. Subpicosecond Kerr gated spectrofluorometry in., "Fluorescence Spectroscopy and Microscopy," Y. Engelborghs and A. J. W. G. Visser, Eds., Humana Press, Totowa, NJ (2014)
- [5] L. Grama et al., "Photochemistry of Wild Type and N378D Mutant E. coli DNA Photolyase with Oxidized FAD Cofactor Studied by Transient Absorption Spectroscopy, *CHEMPHYSICHEM*: 17:(9) pp. 1329-1340. (2016)

JEGYZETEK

E15

Fényindukált intramolekuláris energiavándorlás a NADH koenzim különböző konformációs állapotaibanHEINER ZSUZSANNA¹, THOMAS ROWLAND², JÉRÉMIE LEONARD², STEFAN HAACKE² ÉS **GROMA GÉZA**¹¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet² University of Strasbourg, CNRS, Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg

A NAD⁺/NADH koenzim fehéjéhez kötött állapotában általában nyitott konformációt vesz fel, ezzel szemben vizes oldatban nyílt és zárt struktúrák egyensúlyával jellemezhető. Régóta ismeretes, hogy zárt konformációban az adenin gyűrű fénnel történő gerjesztésének hatására egy hatékony energiavándorlás (EV) zajlik le a nikotinamid csoport irányába [1, 2], a folyamat a mechanizmusa azonban felderítetlen maradt. Jelen munkánkban az EV kinetikai jellemzésének céljából ultragyors abszorpciókinetikai vizsgálatokat hajtottunk végre a NADH molekulán, oly módon, hogy annak konformációs állapotait metanol hozzáadásával szabályoztuk. A kísérletileg nyert kinetikai adatokat a kompartment analízis módszerével [3] értékeltük ki. Megállapítottuk, hogy a tényleges EV extrém gyors, ~ 60 fs-os időállandóval jellemezhető. Ez a nagy sebesség (legalábbis formailag) jól leírható egy Förster-típusú mechanizmussal [4], amelyet egyrészt az adenin speciális fotofizikai tulajdonságai, másrészt a két gyűrű szub-nm-es távolsága tesz lehetővé. A gyors EV egy elektronikus és vibrációs is gerjesztett állapotot hoz létre a nikotinamid csoporton. A vibrációs relaxáció 1.7 ps, az elektronikus pedig 650 ps időállandóval következik be.

Köszönetnyilvánítás

A bemutatott kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 projekt támogatásával történt.

Irodalom

- [1] Weber G (1957) *Nature* 180: 1409-1409.
- [2] Hull RV, Conger PS, Hoobler R.J (2001) *Biophys Chem* 90: 9-16.
- [3] van Stokkum IHM, Larsen DS, van Grondelle R. (2004) *Biochim Biophys Acta* 1657: 82-104.
- [4] Lakowicz JR (2006) *Principles of fluorescence spectroscopy* Third ed. Springer: New York, pp. 443-475.

JEGYZETEK

E16

Probing ultrafast photosynthetic energy transfer and charge separation kinetics by coherent two-dimensional electronic spectroscopyPETAR H. LAMBREV¹, PARVEEN AKHTAR¹, CHENG ZHANG², HOWE-SIANG TAN²¹ Hungarian Academy of Science, Biological Research Centre² Nanyang Technological University, School of Physical and Mathematical Sciences, Singapore

The efficiency of photosynthesis, especially under light-limiting conditions, depends on the ability of the photosynthetic apparatus to transfer the captured solar energy to the photochemical reaction centres without losses. Photosystem I (PSI) is a superb example of a robust and highly efficient solar engine [1]. PSI in plants and algae contains up to 200 light-absorbing chlorophyll (Chl) molecules – about 100 in the core complex and the remaining in the peripheral antenna (LHCI) – and virtually every absorbed photon's energy is utilized in a photochemical reaction. Resolving the ultrafast kinetics of photosynthetic energy and electron transfer is a challenging experimental task. Two-dimensional electronic spectroscopy (2DES) has proven to be a powerful technique for mapping energy transfer pathways with high spectral and temporal resolution [2]. We have recently measured the excited-state dynamics in light-harvesting complex II from subpicosecond to nanosecond time range by room-temperature 2DES [3]. We have shown the advantage of 2DES in resolving bidirectional (uphill and downhill) exciton equilibration pathways. Here we have, for the first time, applied room temperature 2DES in partially collinear pump-probe geometry to probe the energy and electron transfer kinetics of a significantly larger and more complex system – plant PSI. We compared the 2DES kinetics and picosecond-time resolved fluorescence (TCSPC) kinetics of PSI-LHCI supercomplexes with isolated core complexes from *Pisum sativum*. Global lifetime analysis of the 2DES and TCSPC data resulted in very similar lifetimes and decay-associated spectra in the ps–ns region, confirming that the 2DES data are free from artifacts like singlet-singlet annihilation. In addition, the 2DES clearly showed exciton equilibration (uphill and downhill) on subpicosecond time scale. According to the most plausible kinetic model, three processes have almost equal contribution to the overall de-excitation lifetime – equilibration between bulk and low-energy Chl forms in the peripheral antenna, energy transfer between the peripheral and core antenna, and trapping in the reaction centre.

Acknowledgements

The work was supported by grants from the Singapore Ministry of Education Academic Research Fund (Tier 2 MOE2015-T2-039), the Hungarian Ministry for National Economy (GINOP-2.3.2-15-2016-00001) and Campus Hungary (TÁMOP 4.2.4B/2-11/1-2012-0001).

Irodalom

[1] Nelson N, Junge W (2015) *Annu Rev Biochem*. 84: 659-683.

[2] Fuller FD, Ogilvie JP (2015) *Annu Rev Phys Chem* 66: 667-690.

[3] Akhtar P, Zhang C, Do TN, Garab G, Lambrev PH, Tan H-S (2017) *J Phys Chem Lett* 8: 257-263.

JEGYZETEK

E17

State-of-the-art ultrashort pulses: perspectives in molecular sciencesLÉPINE, FRANCK^{1,2}¹ *Institut Lumière Matière, CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1, F-69622, VILLEURBANNE, France*² *ELI-ALPS, ELI-Hu Kft., Dugonics tér 13, H-6720 Szeged Hungary*

State-of-the-art light sources promise to access ultrashort timescales where electrons and nuclei can be observed on their natural timescale. For molecular science, this opens new opportunities to investigate the most fundamental aspects of molecular functioning. Recently, proof of principal experiments have been performed on model systems, demonstrating that the study of electron correlation, non-Born-Oppenheimer dynamics and reaction control using quantum coherence are becoming possible with attosecond (10^{-18} s) accuracy [1]. However, laser performances have limited the development of such experiments on more general topics, confining the addressed questions to specialists of the field. Breaking this boundary will become possible with the ELI-ALPS thanks to unprecedented laser performances available. This will allow to address new questions for instance in chemistry and biochemistry, in a multidisciplinary approach. This presentation, will present recent results in the field of XUV/attosecond molecular science and perspectives at ELI-ALPS.

Reference

[1] Lépine F et al. (2014) Nature Photonics, 8:195-204 2014

JEGYZETEK

E18

Melyik szuper-rezolúciós módszert válasszam?

CSÚCS GÁBOR, DOROTHEA PINOTSI, JOACHIM HEHL ÉS TOBIAS SCHWARZ

Scientific Center for Optical and Electron Microscopy (ScopeM), ETH Zurich

Előadásomban a manapság elterjedt szuper-rezolúciós technikákat (SIM, STED, PALM/STROM) hasonlítom össze, lehetséges felhasználási területeikre illetve előnyeikre/hátrányaikra koncentrálni. Emellett ismertetnék egy érdekes új módszert, az „Super-Resolution Radial Fluctuations - SRRF”-t [1], amely különösen az élősejtes felhasználások területén hozhat áttörést és bemutatom az illető módszerrel elért első eredményeinket.

Irodalom

[1] Gustafsson (2016) *Nature Communications* DOI: 10.1038/ncomms12471.

JEGYZETEK

E19

ERŐKIFEJTÉS A TITIN GOMBOLYODÁSA SORÁN

MÁRTONFALVI ZSOLT, PASQUALE BIANCO, NAFTZ KATALIN, FERENCZY GYÖRGY ÉS
KELLERMAYER MIKLÓS

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

Relaxált harántcsíkolt izomban megnyújtáskor passzív erő ébred, melynek kialakításáért a szarkomereket áthidaló rugalmas titinmolekulák felelősek. A szarkomer nyújtásakor a titinmolekulák az eltérő rugalmasságú szakaszaik miatt hierarchikusan nyúlnak, miközben során a titin egyes globuláris doménjei kitekeredhetnek. Az, hogy a kitekert domének gombolyodása és ezáltal a titinmolekulák rövidülése befolyásolja-e az izom összehúzódását, jelenleg még erősen vitatott.

A titin mechanikailag vezérelt feltekeredési folyamatainak vizsgálatára egyedi molekulákat nyújtottunk meg majd relaxáltunk nagyfelbontású erővisszacsatolt lézercsipesszel. Az előzetesen kitekert molekulákra ható erő hirtelen lecsökkentésekor (<10 pN) a molekula vég-vég hossza fluktuált, és a domének progresszív gombolyodásával járó diszkrét rövidülési lépések nem jelentek meg. Alacsony relatív megnyúlási értékeknél tartva az előzetesen kitekert molekulát, a fluktuációk mellett a titin néhány pN erőt fejtett ki a másodperces időskálán. Az erőkifejtés a feltekeredő domének különböző szerkezeti állapotok közötti dinamikus átmenteivel magyarázható. Mivel a domén kitekeredés valószínűsége elenyésző ebben az erőtartományban, a fluktuációk arra utalnak, hogy a domének feltekeredése a natív szerkezetbe a kitekertből egy kompaktabb, molten-globule állapoton keresztül történik, aminek révén a molekula erőkifejtésre képes. A molten-globule állapotnak kedvező denaturáló ágens (4 M urea) alkalmazásakor az erőfluktuációk szintén kimutathatók voltak, ami arra utal, hogy ez intermedier állapot a molekula gombolyodási folyamatában. Ezzel szemben az erőnövekmény az urea hatására teljesen eltűnt, vagyis a domének natív szerkezetbe történő konszolidációja gátolt. Monte-Carlo szimulációban reprodukáltuk, illetve molekula dinamikai szimulációkban igazoltuk kísérleti eredményeinket.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük az NKFI támogatását (OTKA PD 116558).

JEGYZETEK

E20

A miozin 16 C-terminális domén interakciói és funkciói

TELEK ELEK^{1,2}, KENGYEL ANDRÁS^{1,2} ÉS NYITRAI MIKLÓS^{1,2,3}¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet² Szentágotthai János Kutató Központ³ MTA-PTE Nukleáris-Mitokondriális Interakciók Kutató Csoport

A miozin 16 (Myo16) egy nemrégiben felfedezett nem-konvencionális motorfehérje, mely fontos szerepet játszhat a sejtciklus szabályozásban, valamint az idegrendszer fejlődésében. Korábbi kísérletekben kimutatták a Myo16 megnövekedett expressziós szintjét skizofréniában [1], illetve a Myo16 gén delécióját autizmusban [2].

A Myo16 monomer motorfehérje négy szerkezeti alegységből épül fel: tartalmaz egy motor domént, egy könnyű lánc kötő IQ motívumot, egy ankyrin ismétlődéseket tartalmazó N-terminális domént (Myo16Ank) és egy, a miozinok között egyedülálló, rendezetlen szerkezetű, prolinban gazdag C-terminális farki domént (Myo16Tail). Ez utóbbi képes lehet profilint kötni, illetve foszforilációja az IP3 jelátviteli útvonalon keresztül aktiválhatja a WAVE-complexet, ezáltal szabályozva az aktin citoskeleton átrendeződést [3]. Célunk ennek a rendezetlen szerkezetű Myo16Tail doménnek az előállítás és interakcióinak jellemzése volt.

Kísérleteinkben az IQ motívumot is tartalmazó Myo16Tail domént bakulovírus/Sf9 rendszerben expresszáltuk, denaturáló körülmények között tisztítottuk, majd sikeresen renaturáltuk. Fluoreszcens spektroszkópai módszerekkel vizsgáltuk a Myo16Tail kölcsönhatásait profilin, Myo16Ank, vázizom miozin motor domén és aktin fehérjékkel, valamint a Myo16Tail hatását az aktin polimerizációra. A lehetséges könnyűláncok kötődését az IQ motívumhoz pull down esszével vizsgáltuk.

Habár a Myo16Tail és a profilin között koimmunprecipitációs kísérletek alapján interakciót feltételeztünk [4], steady-state és időfelbontásos anizotrópia (TCSPC) kísérleteinkkel nem igazoltuk a kötődést. A Myo16Tail és Myo16Ank között gyenge interakciót mértünk ($K_D \sim 13 \mu M$). A Myo16Tail és az aktin, illetve a vázizom motor domén között nem volt kötődés.

Eredményeink szerint a Myo16Tail nem köt a profilinhez és közvetlenül nem befolyásolja az aktin polimerizációt, viszont az N-terminális Myo16Ank doménnel való gyenge kapcsolata egy „backfolding” (visszahajló) típusú szabályozási mechanizmust valószínűsít a Myo 16 motorfehérje esetén. A „pull down” esszé alapján feltételezzük, hogy a regulatórikus könnyűlánc kapcsolódhat a Myo16-hoz.

Köszönetnyilvánítás

OTKA K 112794, Molecular Mechanisms Underlying the Function of Myosin 16b

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] Yokoyama et al. (2011) *EMBO J*. 30(23):4739-54
- [4] Cameron, R.S ,et al. (2007). *Cell Motil Cytoskeleton*. 64: 19–48

JEGYZETEK

E21

**Az ERD14 rendezetlen chaperon fehérje folyadék-folyadék fázisátalakulása
fehérje-DNS/RNS kölcsönhatás révén**

MURVAI NIKOLETTA¹, TANTOS ÁGNES¹, SZABÓ BEÁTA¹, SZEDER BÁLINT¹, KOVÁCS DÉNES² ÉS TOMPA PÉTER^{1,2}

¹ MTA Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet, Budapest, Magyarország

² VIB Department of Structural Biology, Vrije Universiteit Brussel, Brüsszel, Belgium

Sejten belül a különböző biokémiai reakciók lejátszódásához gyakran olyan sajátos körülményekre van szükség, melynek feltétele, hogy az egyes lépések térben szeparálva legyenek. Erre egy alternatív stratégia lehet a membránmentes, fehérje alapú organellumok képzése. Többek között ilyen képződmény a sejten belül a nukleolusz [1], a PML-testek [2], a Cajal-testek [3], a P-testek, de a stressz-, illetve germinális granulák is ide tartoznak. Ezen sejtes struktúrák, mint koacervátumok lettek leírva és optikailag kis gömbalakú mikronméretű cseppekként lehet őket jellemezni [4]. A körülvevő membrán hiánya lehetővé teszi a környezeti változások, az intracelluláris szignálok hatékony követését és a gyors válaszreakciót, mely kritikus a sejt integritásának és homeosztázisának megőrzésében [5]. Egy meglepő funkciója a membránmentes organellumoknak, hogy a főleg fehérje alapú belső tér kizárja a vizes fázis nagy részét és ezáltal folyadék-folyadék fázisok kialakítására képesek a sejten belül [6, 7].

Az ERD14 (Early Response to Dehydration 14) egy, az *Arabidopsis thaliana*-ban fellelhető növényi stresszfehérje, amely abiotikus stressz (hideg, szárazság és magas sótartalom) hatására valamennyi növényi szövetben nagy mennyiségben expresszálódik és az összfehérje mennyiség közel 4%-át is kiteheti. Az ERD14 chaperon aktivitása *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokban is igazolt. A védőhatás pontos mechanizmusa azonban még nem ismert. Ennek feltérképezése és a szerkezet-funkció közti összefüggések megismerése kutatásunk célja.

Megfigyeléseink alapján a fehérje képes nukleinsavakkal kölcsönhatásba lépni és megfelelő körülmények között vizes közegben fázisátalakulást indukálni. Az így létrejövő folyadékcseppek dinamikus struktúrák, a környezeti változásokra gyorsan reagálnak, feloldódnak vagy éppen nagy mennyiségben jelennek meg. A képződött organellumok elektrosztatikus interakciókon keresztül stabilizálódnak, melyhez elengedhetetlen a megfelelő töltöttségi mintázattal rendelkező fehérje szekvencia. A cseppek differenciáltan szolubilizálják az egyes nukleinsavakat, az ERD14 fehérje főleg RNS-sel képes a fázisátalakulásra. Az ERD14 *in vitro* és *in-cell* NMR mérések alapján nagymértékű szerkezeti rendezetlenséggel jellemezhető, csupán néhány konzervált régiója vesz fel tranziensen másodlagos struktúrát (K-szegmensek), melyek nagy valószínűséggel vehetnek részt a partner fehérjék kötésében, illetve a fehérje-DNS/RNS cseppek létrehozásában, ezáltal a védőhatás kifejtésében.

Irodalom

- [1] Montgomery, T.S. (1898). *J. Morphol.* 15: 265–582.
- [2] de Thé', H., Chomienne, C., Lanotte, M., Degos, L., and Dejean, A. (1990) *Nature* 347: 558–561.
- [3] Cajal, S.R.y. (1903) *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 2: 129–221.
- [4] Hyman, A.A., and Brangwynne, C.P. (2011) *Cell* 121: 14–16.
- [5] Brangwynne, C.P., Eckmann, C.R., Hyman, A.A. et al. (2009) *Science* 324: 1729–1732.
- [6] Brangwynne, C.P., Mitchison, T.J., and Hyman, A.A. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108: 4334–4339.
- [7] Boeynaems, S., Tompa, P., Van Den Bosch, L. et al. (2017) *Molecular Cell*, 65,6: 1044 – 1055.
- [8] Szalaine Agoston, B., Kovacs, D., Tompa, P. & Perczel, A. (2011) *Biomol NMR Assign* 5: 189-193.

JEGYZETEK

E22

Microscale thermophoresis and nanoDSF as advanced methods in life science research

JAKUB NOWAK

NanoTemper Technologies GmbH, Munich, Germany

The analysis of bio-molecular interactions, such as protein-protein, protein-nucleic acid or protein-small molecule, not only helps to develop therapeutics or diagnostics techniques, but it also provides important insights into cellular processes. Here we present MicroScale Thermophoresis (MST) for the investigation of affinities of biomolecular interactions. MST analyzes the directed movement of molecules in optically generated microscopic temperature gradients. This thermophoretic movement is determined by the entropy of the hydration shell around the molecules. Almost all interactions and any biochemical process relating to a change in size, charge and conformation of molecules alters this hydration shell and is thus detectable by MST. Measurements can be performed with purified molecules as well as in close-to-native conditions (lysate, serum). The readout of the method is fluorescence, derived either from fluorescently labeled interaction partners (via chemical dyes or fluorescent fusion proteins) or from intrinsic protein fluorescence.

The presentation will cover biophysical backgrounds of the technology, highlighting benefits of the MicroScale Thermophoresis platform, followed by specific examples of its application in characterizing biomolecular interaction in various scenarios.

The fluorescence of tryptophans in a protein is strongly dependent on its close surroundings. By following changes in fluorescence, chemical and thermal stability can be assessed in a truly label-free fashion. The dual-UV technology by NanoTemper allows for rapid fluorescence detection, providing an unmatched scanning speed and data point density. This yields ultra-high resolution unfolding curves which allow for detection of even minute unfolding signals. Furthermore, since no secondary reporter fluorophores are required, protein solutions can be analyzed independent of buffer compositions, and over a concentration range of 150 mg/ml down to 5 µg/ml. In addition, information on protein aggregation can be recorded in parallel, providing insight into colloidal stability of the sample. Therefore, nanoDSF is the method of choice for easy, rapid and accurate analysis of protein folding and stability, with applications in membrane protein research, protein engineering, formulation development and quality control.

The presentation will cover biophysical concepts of the technique showing benefits of the nanoDSF technology platform, and will be followed by specific examples of nanoDSF applications towards various experimental systems.

Keywords: biomolecular interactions, complex buffer systems, protein stability, aggregation

NanoTemper Technologies sp. z o.o., Krakow, Poland
E-mail: jakub.nowak@nanotemper.de

JEGYZETEK

E23

Fehérjék kooperatív felgombolyodása: Folding superfunnel**SMELLER LÁSZLÓ***Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet*

A fehérje folding leírására született tölcser modell (folding funnel) jól leírja a fehérje útját, amelyen keresztül a natív állapotba eljut [1]. Azonban a fehérjék nagyon sokszor egymással kölcsönhatva veszik fel a rájuk jellemző háromdimenziós térszerkezetet. Az eredeti tölcser modellben a fehérje kölcsönhatásai nem szerepeltek, holott pl. a chaperon fehérjék hatásánál, a fehérjeaggregátumok kialakulása során és egyáltalán a sejtek belsejében jelenlevő nagy koncentrációjú, ún. makromolekulárisan zsúfolt környezetben is meghatározó a fehérje-fehérje kölcsönhatás.

A kölcsönható fehérjék kooperatív foldingjának tárgyalásához egy ún. folding szupertölcser vezettem be, amelyen nyomon követhető a kölcsönható rendszer által a kollektív energiefelszínen bejárt út [2]. A bevezetett szupertölcser (folding superfunnel) segítségével a fehérjék feltekeredése jól leírható számos olyan szituációban, ahol a kölcsönhatás meghatározó jelentőségű a folding szempontjából.

Három ilyen esetet tárgyalok részletesen: A első a chaperon hatás, amikor a frissen szintetizált fehérje egy dajkafehérjével való kölcsönhatás útján jut el a natív állapotába.

A második az intermolekuláris kölcsönhatás szerepe a rendezetlen fehérjék esetén (intrinsically disordered proteins), amelyek önmagukban nem vesznek fel egy meghatározott natív szerkezetet, de ha célfehérjékhez kötődnek jól definiált struktúrát vesznek fel.

Az harmadik tárgyalt eset a fehérjék aggregációja, amely számos konformációs betegségben (köztük neurodegeneratív betegségekben) játszik szerepet.

A szupertölcser mindhárom esetben a lehető legkevesebb külső paraméter bevitelével, ill. minimális feltételezésekkel definiálom. A szupertölcser modell jól és szemléletesen írja le a fehérje feltekeredését mindhárom fentebb vázolt esetben.

Köszönetnyilvánítás

A munkát a Turchányi kutatói ösztöndíj támogatta.

Irodalom

[1] Bryngelson JD, Onuchic JN, Succi ND, Wolynes PG. (1995) *Proteins* 21:167–195.

[2] Smeller, L. (2016) *Proteins* 84:1009-1016.

JEGYZETEK

E24

Entrópiakülönbségek számítása konformációs sokaságokból Gauss-keverék függvények segítségével

SZILÁGYI ANDRÁS, GYIMESI GERGELY ÉS ZÁVODSZKY PÉTER

MTA TTK Enzimológiai Intézet

Az entrópia alapvető termodinamikai mennyiség, melynek változása egy folyamat során betekintést nyújt a folyamat fizikai mechanizmusába. Az elmúlt évtizedekben azonban főleg a szabadenergiák számítására irányultak az erőfeszítések, s ennek egyik fontos komponensét, a konformációs entrópiát gyakran elhanyagolják, mert ennek számítása a teljes konfigurációs tér fölötti integrálást igényel. Bár a konformációs entrópiák számítására is több módszert fejlesztettek ki, ezek vagy pontatlanok, vagy bonyolultak, lassúak, és nehezen elérhetők. Ezért célul tűztük ki egy új, hatékony, alapelvében egyszerű módszer kifejlesztését egy molekuláris rendszer két (általában molekuladinamikai szimulációval előállított) konformációs sokasága közötti entrópiakülönbség kiszámítására.

Módszerünk, melyet GMENTROPY-nak neveztünk el [1], a klasszikus, ún. kváziharmonikus módszer továbbfejlesztése. A módszer a rendszer teljes dimenziós valószínűségi sűrűség-függvényét egy Gauss-keverék függvénnyel becsli. A becslésre egy hatékony mohó tanulási algoritmust használ, mely egyesével növeli az illesztett Gauss-komponensek számát, amíg a szükséges pontosságot el nem érjük. Megállási kritériumként egy keresztvalidáció alapú megoldást alkalmazunk, amely hatásosan kiküszöböli mind a túl-, mind az alulillesztést. A módszer célszerűen torziós szögek sokaságaira alkalmazandó. A számított entrópia abszolút, de egy additív konstans erejéig meghatározatlan, ezért csak két sokaság közötti entrópiakülönbségnek van fizikai értelme.

Öt kis peptidrendszer alállapotainak megfelelő konformációs sokaságokon kiértékelve a módszert, kiváló egyezést találunk a teljes enumerációval kapott egzakt entrópiakülönbségekkel. A kváziharmonikus módszerrel és két további, újabb módszerrel összehasonlítva a Gauss-keverék módszer pontosabb eredményeket szolgáltat kisebb mintaméretek mellett is. A módszer teljesítőképességét két komolyabb számítással illusztráljuk: kiszámítjuk az entrópiakülönbséget egy 17 aminosavból álló antimikrobiális peptid, a tachyplesin diszulfidkötött és diszulfidhíd-mentes állapota, továbbá az 58 aminosavas szarvasmarha pankréasz tripszin inhibitor natív sokaságának két alállapota között.

A GMENTROPY módszert Python/Numpy programozási nyelven implementáltuk, s a programot szabadon elérhetővé tettük a <http://gmentropy.szialab.org> címen.

Köszönetnyilvánítás

A projektet az OTKA K105415 sz. pályázatból finanszíroztuk.

Irodalom

[1] Gyimesi G, Závodszky P, Szilágyi A (2017) *J Chem Theor Comput* 13: 29-41.

JEGYZETEK

E25

Asperelinek térszerkezeti és folding sajátságainak tanulmányozása

BLANÁR ESZTER¹ ÉS LEITGEB BALÁZS^{1,2}¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet² Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék

Az asperelinek a rövid szekvenciával rendelkező peptaibol molekulák csoportjának reprezentatív tagjai. Ezeket a 10 aminosavból álló peptideket a *Trichoderma asperellum* gombából izolálták, és a peptaibolok többségéhez hasonlóan ezek a molekulák is mikroheterogén elegyként szintetizálódnak [1,2]. A különböző aspereline peptidek térszerkezeti és folding sajátságait molekuladinamikai (MD) módszerek alkalmazásával vizsgáltuk. A peptidek esetén tanulmányoztuk a molekulagerinc konformációkat, és megvizsgáltuk a különböző másodlagos szerkezeti elemek (β -turn-ök és helikális struktúrák) előfordulását a peptidek teljes szekvenciája mentén. Emellett tanulmányoztuk azokat az intramolekuláris H-kötéseket, amelyek hozzájárulnak a különféle konformációs állapotok és másodlagos szerkezeti elemek stabilizálásához. A szimulált anellációból kapott eredmények alapján megállapítottuk, hogy az asperelinek esetében megjelentek az I, III és III' típusú β -turn struktúrák, illetve az ezeket stabilizáló $i \leftarrow i+3$ H-kötések. Ugyanakkor a különböző β -turn-ök mellett megfigyelhetők rövidebb, hosszabb helikális szerkezetek is a konformációs állapotokra vonatkozóan. Az MD szimulációk alapján azt vizsgáltuk, hogyan változnak az idő függvényében az aspereline peptidek jellegzetes térszerkezeti tulajdonságai. Az eredmények arra engedtek következtetni, hogy az asperelinek valamilyen helikális szerkezettel (3_{10} -, illetve α -hélix) jellemezhetők. Mindemellett az MD trajektóriák analízise alapján azt a megfigyelést tettük, hogy az aspereline peptidek nemcsak a jobbmenetes, hanem a balmenetes helikális struktúrát is képesek felvenni. Az általunk elvégzett térszerkezet-vizsgálat alapján átfogóan jellemeztük az asperelinek konformációs sajátságait, illetve azonosítottuk ezen rövid szekvenciával rendelkező peptaibol molekulák karakterisztikus térszerkezeti és folding tulajdonságait.

Köszönetnyilvánítás

Leitgeb Balázs publikációt megalapozó kutatása a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Irodalom

- [1] Ren J, Xue C, Tian L, Xu M, Chen J, Deng Z, Proksch P, Lin W (2009) *J Nat Prod* 72: 1036-1044.
[2] Ren J, Yang Y, Liu D, Chen W, Proksch P, Shao B, Lin W (2013) *J Chromatogr A* 1309: 90-95.

JEGYZETEK

E26

A Collins szabály és a fehérjék

NÁSZTOR ZOLTÁN¹, HORVÁTH JÁNOS¹, DÉR ANDRÁS¹ ÉS BOGÁR FERENC^{2,3}¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet² Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet³ MTA-SZTE Szupramolekuláris és Nanoszerkezetű Anyagok Kutatócsoport

Már tíz éve, hogy Collins és munkatársai nagy jelentőségű munkát közöltek [1], amiben összekapcsolták az anion-kation párok vizes oldatban tapasztalt párképzési hajlandóságát a Hofmeister aktivitásukkal. Ezzel egyúttal egy atomi szintű, fenomenologikus interpretációját is adták a Hofmeister effektusnak. A Collins nevéhez kötődő szabály („law of matching water affinities”) alkáli halogenidek vizsgálata alapján kimondja, hogy hasonló oldhatóságú ionok nagyobb hajlandóságot mutatnak a párképzésre mint azok amelyek oldhatósága jelentősen eltér egymástól. Az első csoportba tartoznak kozmotróp-kozmotróp és a kaotróp-kaotróp ionpárok, míg a másodikba az eltérő Hofmeister aktivitású (kozmotróp-kaotróp) párok. Collins szerint az ionok affinitása a vízhez, azaz a hidratációjuk erőssége szintén összekapcsolható Hofmeister aktivitásukkal. Nevezetesen a kaotróp ionok gyengén a kozmotrópok erősen hidratáltak [2,3]. Ez a koncepció általánosítható fehérjék kölcsönhatásaira is és hozzásegíthet nem csak a fehérje-ion és fehérje víz kölcsönhatások, de a fehérjén belüli ionos kölcsönhatások jobb megértéséhez is. A fehérjéket alkotó csoportok többsége gyengén hidratált és így kaotróp (pl. a protonált guanidinium és amino vagy a semleges amid, vagy szénhidrogén csoportok) a Collins osztályozás szerint. Csupán egyetlen erősen hidratált (kozmotróp) csoport fordul elő, a karboxilát. A Collins szabály alapján így a fehérjékben előforduló, víznek kitett sóhidak (pl. Asp-Arg) nem lesznek stabilak. Felvetődik a kérdés, hogy létezik-e olyan kémiai módosítás, amivel ezek a sóhidak stabilabbak lesznek.

Ezt a kérdést vizsgáljuk meg molekuladinamikai szimulációk segítségével a 20 aminosavból felépülő Trp kalitka miniproteint használva tesztrendszerként. Ezt a minifehérjét már korábban is használtuk a Hofmeister effektus határfelületi feszültségen alapuló fenomenologikus magyarázatának alátámasztására [4]. Jelen számolásaink során az Asp⁹ aminosav oldalláncát kaotróp fejcsoporttal kiegészítve vizsgáljuk a sóhid Asp⁹-Arg¹⁶ stabilitás változását és ennek a minifehérje szerkezetére gyakorolt hatását.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a NIIF-nek a szükséges számítástechnikai kapacitás rendelkezésünkre bocsájtását a szegedi és debreceni központokban.

Irodalom

- [1] Collins KD, Neilson GW, Enderby JE (2007) *Biophys Chem* 128: 95-104.
- [2] Collins KD (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92: 5553-5557.
- [3] Collins KD. *Biophys Chem* (2012) 167: 43-59.
- [4] Bogár F, Bartha F, Násztor Z, Fábián L, Leitgeb B, Dér A (2014) *J Phys Chem B* 118: 8496-8504.

JEGYZETEK

E27

Rocks, clocks and genes from other speciesSZÖLLŐSI GERGELY JÁNOS¹²¹ Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Fizika Tanszék² MTA-ELTE „Lendület” Evolúciós Genomika Kutatócsoport

A genetikai szekvenálás feltűnésével a rokon szekvenciákból génfákat rekonstruáló molekuláris filogenetika zsákutcába került. A megoldatlan kérdések megválaszolása helyett az új genomok megismerése régi vitákat szított fel. Világos, hogy a génfák nem fafák, hanem mindegyik génfa evolúciós események sorozatának egyedi következménye. Ugyanakkor, ha különbségeiket egy közös fajfa kontextusában modellezzük, a génevolúciót és a fajok diverzifikációját érintő, hihetetlenül gazdag információhoz is hozzáférünk, mely hagyományos módszerekkel nem lenne elérhető. Például horizontális géntranszfer (HGT) kizárólag egyidejűleg létező fajok között fordulhatott elő, tehát a fajképződés időbeli sorrendjéről hordoz információt. Ezekkel a módszerekkel nyitott evolúciós kérdésekre próbáljunk választ adni: az egyik ilyen, hogy HGT eseményeket „molekuláris fossziliaként” használva megoldjuk a mikrobiális evolúció időrendiségével kapcsolatos dilemmákat, a Föld történetével összefüggésben is. Utóbbi esetében az elérhető fossziliák száma igen szűkös határok közé szorítja a molekuláris kormeghatározó módszerek használatát.

JEGYZETEK

E28

Neutrális-e a tumorevolúció?**TIBÉLY GERGELY¹, DERÉNYI IMRE² ÉS SZÖLLŐSI GERGELY¹**¹ *ELTE Biológiai Fizika Tanszék / MTA-ELTE Evolúciós Genomika kutatócsoport*² *ELTE Biológiai Fizika Tanszék / MTA-ELTE Biofizika kutatócsoport*

A rák egy szomatikus evolúciós folyamat eredménye. A tumor növekedésével ugyanakkor a tumoron belül az evolúció folyik tovább, újabb mutációk keletkeznek, a tumor egyre több és több részre tagolódik. Felmerül a kérdés, hogy az egyes szubklónok egyforma dinamikával növekednek-e, vagy esetleg közrehatnak szelekciós folyamatok is, amelyek hatására némelyik szubklón jobban elterjed, mások visszaszorulnak. Friss eredmények szerint számos esetben nincs különbség a szubklónok között szelekció szempontjából, a szubklónok azonos rátával növekednek. Mint az előadásból látni fogjuk, alaposabb szemrevételezéssel azonban komoly kérdések vetődnek föl az eredmények szignifikanciáját illetően, egyáltalán az elméleti előrejelzések kísérleti igazolhatóságával kapcsolatban, figyelembe véve a jelenlegi és közeljövőbeli technológiák határait. Ugyanakkor a felhasznált empirikus adatok között szerepel egy, a szubklónok szelekciója szempontjából kevésbé jelentős mennyiség: a tumoron belüli gyakori mutációk száma. Ennek empirikus értékei nehezen egyeztethetőek össze a szomatikus mutációk keletkezéséről alkotott szokásos képpel. A jelen előadásban vázolom a lehetséges alternatívákat és a belőlük levonható következtetéseket.

JEGYZETEK

E29

A ciklofoszfamid biológiai hatásainak termikus analitikai vizsgálatFARKAS PÉTER¹, KÖNCZÖL FRANCISKA² ÉS LŐRINCZY DÉNES³¹Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvosi Kar Radiológiai Klinika, ²Igazságügyi Orvostani Intézet és ³Biofizikai Intézet

Munkánk kiindulási alapjául egy 40 éves, tumor eltávolításon átesett, kemoterápiásan utókezelt nőbeteg igazságügyi szakértői vizsgálata szolgált. Tengeri malac n. ischiadicus-t és m. gastrocnemius-t hasonló kemoterápiás dózisnak kitéve, dóziszfüggő elváltozásokat mértünk az állatból preparált mintákon, amely a női páciens általános, kemoterápiás kezelést követő idegi és mozgásszervi problémái hátterét magyarázhatták [1]. A kemoterápiás beavatkozások mellékhatásainak irodalmi adatai alapján célszerűnek láttuk megemelt mintaszámmal, a kezelés során érintett fontosabb célobjektumok (ideg, izom, bal kamra, vérplazma és vvt) differenciál pásztázó kalorimetriás (DSC) vizsgálatát. A dóziszfüggő hatás minden mintánál igazolható volt [2-4]. Ideg és vázizom minták esetén szignifikáns különbséget találtunk a jobb és baloldali minták között is [2], amelynek célszerű további humán vizsgálata. Vérplazma esetén a humán mintákhoz hasonlóan az albumin mutatott nagyobb érzékenységet a dózissra. Vörös vértestek esetén már a DSC görbék alakja és lefutása is (a denaturációs paraméterek mellett) egyértelmű dóziszfüggést mutatott. A kemoterápiás kezelés tehát a teljes szervezet elleni támadást jelenti, így eredményeink a fokozottabb kontrol és egyénre szabott terápia fontosságára is felhívják a figyelmet.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetüket fejezik ki Dömse Angélnak a kísérleti állatok kemoterápiás kezeléséhez adott technikai segítségéért. A Setarm Micro DSC-II beszerzése az OTKA CO-272 (L.D.) pályázatból történt. Jelen munkánkkal a Pécsi Egyetem alapításának 650. évfordulója előtt tisztelgünk.

Irodalom

- [1] Könczöl F, Wiegand N, Nöt LG, Lőrinczy D (2014) *J Thermal Anal Calorim* 115:2239-43.
- [2] Farkas P, Könczöl F, Lőrinczy D (2016) *J Thermal Anal Calorim* 126:47-53.
- [3] Farkas P, Könczöl F, Lőrinczy D (2017) *J Thermal Anal Calorim* 127:1181-5.
- [4] Farkas P, Könczöl F, Lőrinczy D (2017) *J Thermal Anal Calorim* 127:1239–1243.

JEGYZETEK

E30

**Az emberi test összetételének vizsgálatára szolgáló fizikai módszerek:
összehasonlító és megbízhatósági tanulmány**NEAGU MONICA¹, MUNTEANU OANA¹, PUPĂZAN VASILE¹, HORHAT RALUCA¹ ÉS NEAGU ADRIAN^{1,2}¹ *Department of Functional Sciences, Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania*² *Department of Physics & Astronomy, University of Missouri, Columbia, U.S.A*

Az egészséges életmód nem jár feltétlenül alacsony testtömeggel. Kiegyensúlyozott étrend és rendszeres sport útján izomtömeggyarapodás érhető el, amely hosszú távon segít az egészség megőrzésében. Következésképpen, az egészségi állapot kiértékelésénél a testtömegindex mellett érdemes az egyén testösszetételét is figyelembe venni. Ennek meghatározására több közvetett módszert dolgoztak ki, amelyek nagy része fizikai elveken alapszik.

Munkánkban három módszert alkalmaztunk a felnőtt emberi test zsírarányának (per cent body fat, % BF) meghatározására: (i) a test által kiszorított levegő pletizmográfiáját (BOD POD, Cosmed, USA) [1], (ii) a többfrekvenciás bioelektromos impedancia mérését [2] és (iii) az ultrahangos antropometriát [3]. Az eredmények összehasonlítására, valamint a különböző technikák megbízhatóságának jellemzésére, Bland-Altman grafikonokat használtunk [4].

Sikeres gyakorlati alkalmazásai ellenére a BOD POD jelenleg is tudományos kutatás tárgya, ugyanis a vizsgálat alanyát körülvevő levegő termodinamikai állapotváltozásai számos tényezőtől függenek, befolyásolván az eredmények megbízhatóságát. Valóban, páros mérések 3%-ában valószínűtlenül nagy különbségeket figyeltek meg az egymást követő tesztek eredményei között [5]. Tanulmányunkban kimutatjuk, hogy a műszert kezelő személy nem befolyásolja az eredményeket, viszont a vizsgált személy testhelyzete jelentős hibák forrása lehet. Továbbá felmérjük egy többszörös tesztelésre alapuló metodika értékét [6]: ha két egymás utáni tesztből származó zsírarány különbsége több mint 1% BF, egy harmadik tesztet is végrehajtunk, és az egymáshoz közelebb eső két értéket vesszük figyelembe. Megmutatjuk, hogy ezáltal a mérési hiba 53%-kal lesz kisebb mint egyéni tesztek esetében.

Tanulmányunk szerint a vizsgált technikák mérési eredményei néhány % BF-el térnek el egymástól; ezért testösszetételt időben követni egy bizonyos módszerrel érdemes. Komplexitása ellenére a BOD POD kényelmes és megbízható, különösen akkor, ha két (esetleg három) egymás utáni teszt alapján határozzuk meg a test zsírarányát.

Irodalom

- [1] Dempster P, Aitkens S. (1995) *Medicine & Science in Sports & Exercise* 27: 1692-1697.
- [2] Kafri MW, Potter JF, Myint PK. (2014) *European Journal of Clinical Nutrition* 68: 677-682.
- [3] Wagner DR (2013) *Journal of Obesity* 280713: 1-9.
- [4] Bland MJ, Altman DG (1986) *The Lancet* 327: 307-310.
- [5] Noreen EE, Lemon PWR (2006) *Medicine & Science in Sports & Exercise* 38: 1505-1509.
- [6] Tucker LA, Lecheminant JD, Bailey DW (2014) *Perceptual and Motor Skills* 118: 563-570.

JEGYZETEK

E31

A terjedő depolarizációkkal járó interstitiális káliumhullám erősszehúzódást indukál egér agykéregben

MENYHÁRT ÁKOS¹, FARKAS ELEK ATTILA², VARGA DÁNIEL PÉTER¹, TÓTH RÉKA¹, BÁLINT ARMAND RAFAEL¹, KRIZBAI ISTVÁN² ÉS FARKAS ESZTER¹

¹ Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

² MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

Az idegszövetben az extracelluláris kálium szintjének mérsékelt emelkedése (<20 mM) vazodilatátor hatású, míg a káliumszint markáns emelkedése (>20 mM) az agyi erek összehúzódását okozza. A terjedő depolarizáció (spreading depolarization, SD), mely a sérült agyban kialakuló pathofiziológiai jelenség, a kálium-koncentrációt a vazokonstriktív tartományba emeli, de ennek szerepe az SD-t követő hemodinamikai válasz kialakításában nem tisztázott.

Célul tűztük ki, hogy az SD-vel járó kálium-felszaporodás vazoaktív hatását azonosítsuk.

Hím, altatott (1,5-2 5 izoflurán, vagy 4 mg/kg Avertin) C57BL/6 egerek parietális kérge felett két koponyaablakot alakítottunk ki. A kaudális ablakban 1 M KCl topikális rámosásával váltottunk ki SD-eket. Az SD-k megjelenését a rostrális ablakban a helyi mezőpotenciál elvezetésével igazoltuk, az extracelluláris kálium szintjének változását ionszelektív mikroelektródával, a vérátáramlási választ lézer-doppleres áramlásméréssel mértük (n=6). Az SD-vel járó káliumhullámot egy kálium-szenzitív fluoreszcens festékkel (APG-2) tettük láthatóvá in vivo két-foton mikroszkópia segítségével (n=5). A preparátumban az érátmérők értékelését segítette az erek feltöltése vörösen fluoreszkáló rhodamin dextránnal.

Az SD-k megjelenését a DC potenciál tranziens, negatív kitérése jellemezte (16.18 ± 5.15 mV). Az SD-vel járó fokozatos, tranziens (66.63 ± 29.69 s) káliumszint-emelkedés (38.01 ± 10 mM) időben egybeesett az agyi vérátáramlás markáns csökkenésével (23.22 ± 6.91 %). A káliumhullám megjelenését az APG-2 fluoreszcencia-intenzitásának erősödése jelezte, melynek hullámfrontján a mikroerek látványosan összehúzódtak.

Eredményeink azt bizonyítják, hogy SD-vel az extracelluláris káliumszint erőteljes növekedése a mikroerek vazokonstriktációját és a helyi vérátáramlás csökkenését okozza, mely alátámasztja az SD-re kialakuló, szövetkárosító, domináns hipoperfúziós komponenst tartalmazó áramlási válaszok kialakulását a stroke-on vagy zárt koponyasérülésen átesett emberi agyban.

Köszönetnyilvánítás

A poszter elkészítését a következő támogatók segítették: a Nemzeti Kutatásfejlesztési és Innovációs Hivatal (K111923 és K120358); az EFOP-3.6.1-16-2016-00008 azonosítójú, EU társfinanszírozású projekt, és a GINOP-2.3.2-15-2016-00048 számú, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával megvalósuló projekt.

JEGYZETEK

E32

Melanóma – endotél adhézió dinamikája: kritikus lépés az agyi metasztatízis kialakulásához

VÉGH ATTILA GERGELY¹, DOMOKOS RÉKA ANITA^{1,2}, VARGA BÉLA^{1,3}, FAZAKAS CSILLA¹,
WILHELM IMOLA^{1,4}, KRIZBAI ISTVÁN^{1,4}, SZEGLETES ZSOLT¹ ÉS VÁRÓ GYÖRGY¹

¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Temesvári Krt. 62, H-6726 Szeged, Magyarország

² Babes-Bolyai Tudományegyetem, Fizika Kar, Mihail Kogalniceanu 1, RO-400084 Kolozsvár, Románia

³ Charles Coulomb Laboratórium, UMR 5221 CNRS- Montpellier Tudományegyetem, Place Eugen Batallion CC074 Bat. 21, 34095 Montpellier, Franciaország

⁴ Élettudományi Intézet, Vasile Goldis Nyugati Tudományegyetem, Liviu Rebreanu 86, RO-310045, Arad, Románia

Az elsődleges daganatok áttétképzésének okai és feltételei körül sok még a nyitott kérdés, például milyen szelekció alapján dől el a metasztatízis kialakulása, vagy mi állhat a háttérben egyes tumorok fokozott metasztatizálásának. Az agyi metasztatizisok a rák legrettegettebb komplikációi közé sorolhatók, mivel igen rossz prognózissal bírnak [1]. Klasszikus nyirokkeringés hiányában, a központi idegrendszerbe való áttétképzés folyamatában kulcsszerep jut a hematogén útvonalnak [2]. Ennek a többlépcsős folyamatnak az első és döntő lépése a véráramban sodródó tumorsejtek megfelelő tapadásának kialakulása az endotél sejtréteghez, mely a vér-agy gát első védvonalát [3].

Az intercelluláris dinamika fontos nanomechanikai aspektusokat hordozhat, ezért kiemelkedő jelentőséggel bír a közvetlen intercelluláris kapcsolatok nagy pontosságú vizsgálata [4], [5]. Egy atomerő mikroszkóp erőspektroszkópiai módszereinek alkalmazásával három melanóma sejttípus (WM35, A2058 és A375) és egy agyi mikropilláris endotél sejtréteg (hCMEC/D3) közötti kölcsönhatás adhéziós tulajdonságát és dinamikáját vizsgáltuk. Az egyes sejtek között kialakult adhéziós erő többlépcsős és több szereplős molekuláris kapcsolódástól függ, ahol egyes szereplők nehezen azonosíthatók.

Egyszerű mechanikai megfontolások alapján három különböző metasztatikus potenciállal rendelkező melanóma sejtek konfluens endotél sejtréteghez való tapadását jellemeztük és hasonlítottuk össze. A látszólagos mechanikai tulajdonságok, mint például a relatív rugalmasság, a maximális adhéziós erő, az egyedi szakadási események száma, mérete és távolsága a kialakult kapcsolat lenyomatának tekinthetők sejt-specifikus eltéréseket mutatva. Eredményeink azt mutatják, hogy a nanomechanikai tulajdonságok és a sejtek metasztatikus potenciálja összefüggnek. Az erősebb tapadási tulajdonság invazívabb jellegre mutat, amelyet részben a kihúzó membrán nanocsövek dinamikája közvetít.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást a Nemzeti Tudományos Alap OTKA K116158, PD115697, PD121130, valamint a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 / 00020 / 00034 és GINOP-2.3.3-15-2016-00030 programok támogatták. Wilhelm Imola (BO/00334/16/8) és Véghe Attila Gergely (BO/00598/14/8) MTA Bolyai János kutatási ösztöndíjban részesültek.

Irodalom

- [1] J. Paluncic és mtsai., *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.*, vol. 1863, no. 4, pp. 770–784, Apr. 2016.
- [2] M. Batus és mtsai., *Am. J. Clin. Dermatol.*, vol. 14, no. 3, pp. 179–194, Jun. 2013.
- [3] I. Wilhelm és mtsai., *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 14, no. 1, pp. 1383–1411, 2013.
- [4] A. G. Vegh és mtsai., *Eur. Biophys. J. EBJ*, vol. 41, no. 2, pp. 139–145, 2012.
- [5] B. Varga és mtsai., *J. Mol. Recognit. JMR*, Dec. 2016.

JEGYZETEK

E33

Az extracelluláris vezikulák a sugárzás szomszédsági hatásának közvetítői

LUMNICZKY KATALIN, SZATMÁRI TÜNDE, KIS DÁVID, KIS ENIKŐ, PERSA ESZTER, KIS ENIKŐ ÉS
SÁFRÁNY GÉZA

*Országos Közegészségügyi Intézet, Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztály, Sugárorvostani Osztály,
Budapest*

A sugárzás szomszédsági (bystander) hatásai a sugárexpozíciót közvetlenül nem kapott sejtekben nyilvánulnak meg. A szomszédsági hatás kiváltásában szerepet játszó mechanizmusok nem teljesen ismertek, a közvetlenül sugártalálalatot szenvedett sejtek által kibocsátott szolubilis szignáloknak fontos szerepük van ebben a folyamatban. Az extracelluláris vezikulák (EVk) olyan membránnal határolt struktúrák, amelyeknek a komplex tartalma alkalmassá teszi őket a bystander szignál közvetítésére.

Munkánk célja az volt, hogy megvizsgáljuk az EVk szerepét a sugárzás szomszédsági hatásának a közvetítésében, illetve hogy a sugárzás milyen hatással van az EVk belső összetételére.

C57Bl/6 egereket különböző dózisu egésztest besugárzásnak vetettünk alá. A csontvelőből és a plazmából EVt izoláltunk. A csontvelői EVk egy részét nem besugarazott egerek farokvénájába oltottuk, egy másik részből, valamint a plazma eredetű EVk-ből mikroRNS-eket izoláltunk. A közvetlenül besugarazott és EV-oltott egerekben nyomon követtük a DNS károsodás mértékét a csontvelőben és a lépben, a különböző csontvelői összejt populációk, valamint lépsejt alpopulációk számbeli és fenotípusbeli változását.

A DNS károsodásra utaló jelátviteli útvonal a közvetlenül besugarazott sejtekben dóziszfüggő aktivációt mutatott. A csak EVk-kel kezelt állatokban szintén jelen volt, de nem dóziszfüggően. Az EV kezelés hatására jelentősen módosult a különböző csontvelői összejt populáció, valamint limfocita alpopuláció számbeli összetétele, proliferációs kinetikája és aktivációs státusza. Olyan sugárzás hatására specifikus mikroRNS panelt sikerült beazonosítani a csontvelőből izolált EVk-ben, amelyek a DNS károsodás javításában és különböző immun folyamatok szabályozásában vesznek részt.

Összefoglalva, elmondhatjuk, hogy az EVk képesek a sugárzás szomszédsági hatását közvetíteni és mikroRNS összetételük alapján alkalmasak lehetnek a sugárexpozíció markereiként szolgálni.

Támogatás: DoReMi és OPERRA EU-FP7 pályázat és NKFI Alap által finanszírozott VKSZ_14-1-2015-0021 pályázat.

JEGYZETEK

E34

**Immunológiai és gyulladásos kapcsolódó szolubilis markerek vizsgálata
sugárterápiával kezelt fej-nyak tumoros betegek plazmájában**KIS ENIKŐ¹, PIOTR WIDLAK², SÁFRÁNY GÉZA¹ ÉS LUMNICZKY KATALIN¹¹ OKI-OSSKI, Budapest² Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch (COG)

Bevezető: Az ionizáló sugárzás hatására a genetikai sérülések mellett immunológiai változások és gyulladásos folyamatok is kialakulnak, amelyek markerei lehetnek akár a sugárexpozíciónak, akár sugárterápiával kezelt daganatos betegek esetében előre jelezhetik a terápiára adott választ, illetve a kialakuló sugárterápiához kapcsolódó szövődmények kockázatát. Munkánk célja a gyulladásos folyamatok kialakulásában résztvevő citokinek és egyéb gyulladásos faktorok változásának vizsgálata volt sugárterápiával kezelt fej-nyak tumoros betegekben.

Módszerek: Sugárterápiával kezelt fej-nyak tumoros betegektől származó plazma mintákon végeztünk citokin array vizsgálatokat (Proteome Profiler Antibody Arrays, Human XL Cytokine Array Kit, R&D Systems, #ARY022B). A betegmintákat a Gliwicei Onkoradiológiai Központban gyűjtötték közvetlenül a sugárkezelés előtt, a kezelést követően illetve egy hónappal később. Egészséges kontrollként megfelelő korú és nemű személyekből származó plazmát használtunk. Betegenként 350 µl plazmát vittünk fel az array membránokra, majd biotinilált detektáló antitest koktéllal sztreptavidin-HRP és chemiluminescens detektáló reagensekkel való inkubálást követően filmre (CL-XPosure Film, 34088, Thermo Scientific) exponáltuk az eredményeket. A kiértékelést ImageJ szoftverrel végeztük. (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html> 2016.11.07)

Eredmények: A 105 kimutatható fehérje közül összesen harminchat volt értékelhető minden plazma mintában. Előzetes eredményeink alapján két fehérje, a Complement Component C5/C5a ($p=0,013$, 95%CI: 0,04295-0,2030) és a Trombospondin ($p=0,0346$, 95%CI: 0,02241-0,3061) változott szignifikánsan egy hónappal a kezelést követően a kezelés előtti mintához képest. Az IGFBP-3 és a Lipocalin2 a sugárkezelést követően azonnal is, az egy hónappal későbbi mintákban pedig öt további fehérje, az Apolipoprotein A-I, Endoglin, IGFBP-3, Lipocalin2, és a PF4 változása pedig közel szignifikáns értékeket mutatott. A fenti fehérjék változásának ELISA-val történő validálása folyamatban van.

Következtetés: Sikertelt beazonosítanunk több olyan fehérjét, amelyek sugárkezelt fej-nyak tumoros betegekben a sugárkezelés után konzekvens változást mutattak. Ezek a fehérjék potenciálisan alkalmasak lehetnek akár bioindikátorokként a sugárexpozíció kimutatására, akár prognosztikai és/vagy prediktív markerekként a terápiára adott válasz, illetve a késői mellékhatások kockázatának becslésében, és így célpontjai lehetnek későbbi molekuláris epidemiológiai vizsgálatoknak.

Támogatás:

OPERRA EU FP7 projekt (604984)

JEGYZETEK

E35

Vírus DNS ejekció nanobiofizikája

KELLERMAYER MIKLÓS, VÖRÖS ZSUZSANNA, CSÍK GABRIELLA ÉS HERÉNYI LEVENTE

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A vírusok genetikai anyagot tartalmazó nanoméretű fehérjekapszulák. A dsDNS vírusok parányi méretük és relatív egyszerűségük ellenére bámulatos nanogépezetek: a kapszid méreténél mintegy ezerszer hosszabb dsDNS molekulát képesek becsomagolni a kapszidba; ehhez a jelenleg ismert legerősebb mechanoenzimet (vírus portális motor) fejezik ki és használják; és genetikai anyagukat bonyolult és kifinomult molekuláris injekciós szerkezettel juttatják be a megfertőzött gazdasejtbe. Jóllehet a vírusok szerkezetét és működését egyre pontosabban ismerjük, továbbra sem ismert az a jelátviteli mechanizmus, amelynek hatására a DNS kilökődése a gazdasejt felismerését követően beindul.

Kísérleteinkben 40 kbp genomális dsDNS-t tartalmazó érett T7 bakteriofágokat vizsgáltunk. A felületre adszorbeált fág partikulumok topográfiai szerkezetét, nanomechanikai tulajdonságait és erővezérelt szerkezeti változásait nagyfelbontású atomerőmikroszkóppal (AFM) vizsgáltuk [1]. A kapszid gyengéd mechanikai tapogatása meglepő módon a genomális DNS hirtelen kilökődését, ejekcióját váltotta ki. A DNS a vírus farok komplexén keresztül, vagyis a fertőzéskor szokásos útvonalon löködött ki. Mindebből arra következtetünk, hogy a mechanikai erőhatás a DNS ejekciót beindító kapcsolóként működik. Számításaink szerint az alkalmazott erő a kapszidban uralkodó mintegy 60 atm nyomást csak kis mértékben, mintegy 0,1-0,2%-kal növelte. A kapcsolási sebesség exponenciálisan nőtt az alkalmazott átlagos erő függvényében. Erőfüggő méréseink szerint a kapcsolási reakciókoordináta mentén a kiindulási állapottól 1.2 nanométerre egy 23 kcal/mol nagyságú aktivációs energiát helyezkedik el. A kilökődött DNS alakjából arra következtetünk, hogy propulziós erőnek volt kitéve. A propulziós erő, amely elsősorban a kapszidban levő nyomás eredménye, feltehetően segít a DNS kilökődési reakció beindításában, illetve az ejekcióért felelős, nem pontosan ismert szerkezetű fehérjekomplex előfeszítésében. Ebben az előfeszített állapotban kismértékű külső erőhatás is elegendő ahhoz, hogy mintegy kapcsolószerűen beindítsa a DNS ejekció folyamatát. A mechanikai kapcsoló szerkezete és szerkezetváltozásai nem ismertek. Nagyfelbontású AFM felvételeink azonban arra utalnak, hogy a T7 farok komplex és a karokként működő rostfehérjék egymáshoz viszonyított térbeli elhelyezkedése szerepet játszhat a kapcsoló funkcióban.

Irodalom

[1] Vörös Z, Csík G, Herényi L and Kellermayer MSZ. (2017) *Nanoscale* 9: 1136-1143.

JEGYZETEK

E36

Biológiai gátrendszerek tenyésztés lab-on-a-chip modelljei

DELI MÁRIA, ANA RAQUEL PATO SANTA MARIA, KINCSES ANDRÁS, WALTER FRUZZSINA, HORÁNYI NÓRA, LIPKA DÓRA, VALKAI SÁNDOR ÉS DÉR ANDRÁS

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

Az orvosbiológiai és gyógyszerfejlesztési kutatásokban a biológiai gátak vizsgálatánál előtérbe kerültek az új, integrált és miniaturizált modellrendszerek. Ezek az új eszközök lehetővé teszik a gátrendszerek valós idejű vizsgálatát, alkalmasak gyógyszerhatóanyagok átjutásának tesztelésére, sejt-kölcsönhatások tanulmányozására és kórállapotok modellezésére. A Biológia Barrierék és a Biomolekuláris Elektronika kutatócsoportok együttműködése során olyan az eddigénél több funkciót integráló mikrofluidikai eszközt állítottunk elő, amely alkalmasnak bizonyult a vér-agy gát, a bél- és a tüdőhám sejttenyésztésére és komplex vizsgálatára. Az egymástól közepesen porózus membránnal elválasztott csatornákat és az ellenállás méréshez aranyelektrodákat tartalmazó biochip eszközt ultraibolya fényre megszilárduló PDMS polimerből alakítottuk ki két üveg tárgylemez között. A biochip lehetővé teszi két és három sejttípus együtt tenyésztését, a tápfolyadék áramoltatását, a teljes sejtréteg mikroszkópos vizsgálatát, a sejtréteg elektromos ellenállásának valós idejű követését, és permeabilitási méréseket [1]. Az új lab-on-a-chip eszközre szabadságot nyújtottunk be.

A jelenleg folyó kutatás célja, hogy a biochip segítségével új, humán sejten és sejtvonalakon alapuló modelleket fejlesszünk ki a vér-agy gát, a choroid plexus, a légúti és a bélhám tanulmányozására. Francia partnereinkkel együttműködésben humán köldökzsinórvér őssejtekből differenciáltotott endotélsejteket használunk a vér-agy gát tenyésztés modelljéhez [2], amelyet elsőként vizsgálunk a lab-on-a-chip eszközben. Az új eszköz segítségével az eddigieknél jobb, az élettanhoz közelebb álló modelleken tanulmányozhatjuk az emberi gátrendszereket.

Köszönetnyilvánítás

OTKA 101821, EU H2020 keretprogram „European Training Network Brain Barriers Training” 675619 projekt, GINOP-2.3.2-15-2016-00001.

Irodalom

[1] Walter FR, Valkai S, Kincses A, Petneházi A, Czeller T, Veszélka S, Ormos P, Deli MA, Dér A (2016) *Sens Actuators B Chem* 222: 1209-1219.

[2] Cecchelli R, Aday S, Sevin E, Almeida C, Culot M, Dehouck L, Coisne C, Engelhardt B, Dehouck MP, Ferreira L (2014) *PLoS One* 9: e99733.

JEGYZETEK

E37

Genetikailag módosított flagellin rétegeken élő sejtek adhéziójának nyomon követésére jelölésmentes optikai bioszenzorokkal

KOVÁCS BOGLÁRKA^{1,2}, SZÉKÁCS INNA¹, KAKASI BALÁZS³, KURUNCZI SÁNDOR¹, VONDERVISZT FERENC^{2,3}, HORVÁTH RÓBERT¹

¹ Vegyészmérnöki- és Anyagtudományok Doktori Iskola, Pannon Egyetem

² Nanobioszenzorika Lendület Kutatócsoport, MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet

³ Bio-nanorendszerek Kutatólaboratórium, Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet, Pannon Egyetem

A sejt-anyag kölcsönhatások tanulmányozása során a legfontosabb lépés a felületi bevonatok tulajdonságainak kialakítása. Munkánk során az volt a célunk, hogy költséghatékony, egyszerűen előállítható és hangolható felületi réteget hozzunk létre, amellyel befolyásolni tudjuk élő sejtek adhézióját. Az általunk előállított flagellin variánsok segítségével képesek voltunk kialakítani sejttaszító ill. erősen adhezív felületeket is.

Korábbi munkánkban megmutattuk, hogy a vad típusú flagellin orientált és sűrű monoréteget alkot hidrofób felületeken, úgy, hogy a flagellin D3 doménje az oldat irányába néz [1]. Azt feltételezzük, hogy ez a nanostrukturált réteg a bakteriális flagelláris filamentum felszínét utánozza, és sejttaszító tulajdonsággal rendelkezik. Emellett a flagellint hordozó molekulaként is felhasználtuk és sejtheadhéziót indukáló peptid szekvenciákat építettünk bele. A fehérje D3 doménjét kicseréltük különböző linker párok segítségével egy vagy több RGD (Arg-Gly-Asp) motívumra. A különböző linker párok eltérő hozzáférhetőséget és flexibilitást biztosítanak a sejtek számára. A módosított flagellinek felhasználásával olyan bevonatokat tudunk létrehozni, amelyeken kiválóan tudtuk tanulmányozni a sejtek adhézióját. A fehérjék adszorpciót és a sejtheadhéziót jelölésmentes optikai bioszenzorokkal monitoroztuk, emellett mikroszkóppal is vizsgáltuk a sejteket. Eredményeink azt mutatták, hogy a vad típusú fehérje réteg meggátolja a sejtek adhézióját, ellenben az RGD motívumot kifejező variánsok eltérő mértékű sejtheadhéziót indukálnak. Ennek köszönhetően a genetikailag módosított fehérje variánsokból hangolható felületi bevonatokat tudunk létrehozni [2].

Köszönetnyilvánítás

Jelen munkát az MTA Lendület programja, az NKFIH ERC_HU projektje, a BIONANO_GINOP-2.3.2-15-2016-00017 projekt és az NN117849 OTKA pályázat támogatta.

Irodalom

- [1] N. Kovacs, D. Patko, N. Orgovan, S. Kurunczi, J.J. Ramsden, F. Vonderviszt, et al., Optical anisotropy of flagellin layers: in situ and label-free measurement of adsorbed protein orientation using OWLS, *Anal. Chem.* 85 (2013) 5382–9.
[2] B. Kovacs, D. Patko, I. Szekacs, N. Orgovan, S. Kurunczi, A. Sulyok, et al., Flagellin based biomimetic coatings: from cell-repellent surfaces to highly adhesive coatings, *Acta Biomater.* 42 (2016) 66–76.

JEGYZETEK

E38

Zöld tea polifenol (EGCg) és a sejtadhéziós mátrix kölcsönhatásainak vizsgálata jelölésmentes optikai bioszenzorokkal

PÉTER BEATRIX¹, FARKAS ENIKŐ^{1,2}, FORGÁCS ENIKŐ¹, SAFTICS ANDRÁS^{1,3}, KOVÁCS BOGLÁRKA^{1,2}, KURUNCZI SÁNDOR¹, SZÉKÁCS INNA¹, CSÁMPAI ANTAL⁴, BŐSZE SZILVIA⁵ ÉS HORVÁTH RÓBERT¹

¹ MTA EK MFA

² Pannon Egyetem Vegyészmérnöki és Anyagtudományok Doktori Iskola

³ BME Oláh György Doktori Iskola (Kémia és Vegyészmérnöki tudományok)

⁴ ELTE Kémiai Intézet

⁵ MTA-ELTE Peptidkémiai Intézet

A zöld tea polifenol epigallokatekin-gallát (EGCg) pozitív hatásai már régóta ismertek. A szakirodalomban a szerzők leggyakrabban jelöléses technikákat alkalmaztak, így a zöld tea polifenol vizsgálata jelölésmentes módszerekkel új perspektívákat nyithat meg [1]. Munkánk során optikai jelölésmentes bioszenzorokat alkalmaztunk a kivonat élő sejtekre (HeLa sejtvonal) és kopolimer bevonatokra gyakorolt hatásának vizsgálatára. Az általunk kialakított multikomponens rendszernek köszönhetően a polimer bevonat készítése, kezelése kis molekulákkal (EGCg és oxidált EGCg), és e kezelt bevonatokra történő sejtadhézió vizsgálata ugyanazon bioszenzor felületen valósulhatott meg, több párhuzamos méréssel, valós időben, így reprezentatív kinetikai adatokat kaptunk a végbemenő folyamatokról. Eredményként egy új modellt állítottunk fel az EGCg és a sejtadhéziós mátrix kölcsönhatásának leírására [2].

Irodalom

[1] Beatrix Peter, Szilvia Bosze, Robert Horvath. Biophysical characteristics of proteins and living cells exposed to the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCg): review of recent advances from molecular mechanismsto nanomedicine and clinical trials. *European biophysics Journal*, 46 (1) 1-24. 2017

[2] Beatrix Peter, Eniko Farkas, Eniko Forgacs, Andras Saftics, Boglarka Kovacs, Sandor Kurunczi, Inna Szekacs, Antal Csampai, Szilvia Bosze, Robert Horvath. Green tea polyphenol tailors cell adhesivity of RGD displaying surfaces: multicomponent models monitored optically. *Scientific Reports*, 7:42220 | DOI: 10.1038/srep42220. 2017.

JEGYZETEK

E39

Lepkeszárnyak színének változása a természetben és az alkalmazásban

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

Bizonyos lepkék szárnyának színét két összetevő határozza meg: festékanyagok (kémiai eredetű) és a szárnypikkelyekben található fotonikus kristályszerkezet fizikai színe [1]. A pikkelyek változatosságából eredő mintázat az adott faj életében meghatározó: a párválasztásban, védekezésben, környezethez való alkalmazkodásban lehet szerepe.

A szerkezeti szín függ a nanoszerkezet periodikusságától és jellemző méreteitől, valamint az azt felépítő anyagok törésmutatójától. A törésmutató kis változása a megjelenő szín spektrométerrel kimutatható változását okozza. Ezt a tulajdonságot felhasználhatjuk a lepkeszárnyat körülvevő gáz/gőz-környezet meghatározására fényvisszaverési mérések segítségével [2]. Boglárkalepkék szárnyán [3] két módszert is bemutattunk a színi eltérések elemzésére: főkomponens-analízist, és ezen lepkék szemének érzékenységi függvényén alapuló színingerteres ábrázolást [4]. Megmutattuk továbbá, hogy az érzékelés a gőzöknek a szerkezetben való kondenzálódása alapján, kapilláris kondenzáció elvén működik [5]. Újabb vizsgálatainkban különböző lepkék eltérő pikkelyszerkezetén mérhető optikai jelek változását hasonlítjuk össze. A detektált jelek sokfélesége megfelelő adatfeldolgozással növeli a gázérzékelés szelektivitását.

Mivel az érzékelők esetében nagyon fontos a felhasznált anyagok állandó minősége és a megismételhetőség, elvégeztük nagy számú azonos fajú lepke négy szárnyának dorzális oldalán a fotonikus nanoarchitektúrától eredő fényvisszaverés összehasonlítását. Gyors, merőleges roncsolásmentes [6] méréseket hasonlítottunk össze a lassabb, de átlagoló eredményt adó integráló gömbös mérésekkel [7]. Összehasonlítottuk különböző földrajzi területekről származó populációk színeinek változását. A külső körülmények színre gyakorolt hatásának elemzésére elvégeztünk egy kísérletsorozatot, melyben a báb állapotban levő lepkék hosszú idejű hűtésének (egészen 62 napig) befolyását vizsgáltuk [8]. Az eredményeket külön tárgyaltuk a szárnyak dorzális és ventrális oldalán, külön a hímek és nőstények esetén. Optikai spektroszkópos és szerkezeti (elektronmikroszkópos) vizsgálatokat végeztünk az előálló változások hűtési időtől való függésének bemutatására.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat támogatja az OTKA K 111741 és az OTKA K 115724.

Irodalom

- [1] Biró LP, Vigneron JP (2011) *Laser Photon Rev* 5: 27.
- [2] Potyrailo RA, Ghiradella H, Vertiatchikh A, Dovidenko K, Courmoyer J, Olson E (2007) *Nat Photonics* 1: 123-128.
- [3] Bálint Zs, Kertész K, Piszter G, Vértessy Z, Biró LP (2012) *JRS Interface* 9: 1745-1756.
- [4] Piszter G, Kertész K, Vértessy Z, Bálint Zs, Biró LP (2014) *Opt Exp* 22: 22649.
- [5] Kertész K, Piszter G, Jakab E, Bálint Zs, Vértessy Z, Biró LP (2013) *Appl Surf Sci* 281: 49-53.
- [6] Bálint Zs, Wojtusiak J, Piszter G, Kertész K, Biró LP (2010) *Genus* 21: 163-168.
- [7] Piszter G, Kertész K, Bálint Zs, Biró LP (2016) *PLoS ONE* 11: 0165857.
- [8] Kertész K, Piszter G, Horváth ZsE, Bálint Zs, Biró LP (2017) *Sci Rep* 7: 1118

JEGYZETEK

E40

Natív forgó ATPáz működése oszcilláló elektromos térben

FERENCZ CSILLA-MÁRIA, PETROVSZKI PÁL, DÉR ANDRÁS, SEBŐKNÉ NAGY KRISZTINA, KÓTA ZOLTÁN ÉS PÁLI TIBOR

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A membrán-kötött bio-makromolekuláris komplexeknek van egy olyan osztálya, amelynek kulcsszerepe van számos normál életfolyamatban és betegségekben, és az ide tartozó fehérjekomplexek működése során azok alegységeinek egy csoportja forgó mozgást végez a komplex többi részéhez képest [1,2]. E forgó enzimekben zajló forgás sebességének megmérése korábban csak az enzim genetikai, kémiai és fizikai módosításával volt lehetséges. Továbbá, minden ilyen tanulmányban az enzimet el kellett távolítani natív membrán környezetéből, sőt legtöbbször bizonyos alegységeit leválasztották [3-6]. Ezen beavatkozások következményeinek elkerülése érdekében mi más módon közelítettük meg a problémát. Méréseinkben olyan, élesztő vakuólumból készített lipid vezikulákat használtunk, amelyek nagy koncentrációban tartalmaztak vakuoláris proton-ATPázt (V-ATPázt), mégpedig megfelelő orientációban, vagyis a katalitikus domén a vezikulák külső oldalán volt. A V-ATPáznak az ATPáz aktivitását specifikus gátlóanyag segítségével határoztuk meg [7]. Azt vizsgáltuk – a V-ATPáz esetében elsőként –, hogy oszcilláló transz-membrán elektromos tér hogyan befolyásolja a V-ATPáz enzimatis aktivitását. Az aktivitásnak az elektromos tér frekvenciájától való függéséből elsőként sikerült meghatároznunk a forgó mozgás sebességét natív V-ATPázban, és egyúttal új adatokat kaptunk az enzimatis forgó mechanizmus modelljének javításához [8].

Köszönetnyilvánítás

A kutatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (K 101633, K 112716) és részben a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 program támogatta.

Irodalom

- [1] Nishi T, Forgac M. (2002) *Nat Rev Mol Cell Biol* 3: 94-103.
- [2] Zhao J, Benlekbir S, Rubinstein JL (2015) *Nature*, 521: 241-245.
- [3] Stock D, Gibbons C, Arechaga I, Leslie AG, Walker JE (2000) *Curr Opin Struct Biol* 10: 672-679.
- [4] Noji H, Yasuda R, Yoshida M, Kinosita K (1997) *Nature* 386: 299-302.
- [5] Yasuda R, Noji H, Yoshida M, Kinosita K, Itoh H (2001) *Nature* 410: 898-904.
- [6] Diez M, Zimmermann B, Borsch M, König M, Schweinberger E, Steigmiller S, Reuter R, Felekyan S, Kudryavtsev V, Seidel CA, Graber P (2004) *Nat Struct Mol Biol*, 11: 135-141.
- [7] Ferencz C, Petrovszki P, Kóta Z, Fodor-Ayaydin E, Haracska L, Bota L, Varga Z, Dér A, Marsh D, Páli T (2013) *Eur Biophys J*, 42: 147-158.
- [8] Ferencz Cs-M, Petrovszki P, Dér A, Sebők-Nagy K, Kóta Z, Páli T (2017) *Scientific Reports* 7: 45309, doi: 10.1038/srep45309.

JEGYZETEK

E41

Fotoszintézis a talajban a hajtásban vezetett fénnel

BÖDDI BÉLA¹, KAKUSZI ANDREA¹, BÓKA KÁROLY¹, SÁRVÁRI ÉVA², SOLTÍ ÁDÁM², HUNYADI-GULYÁS ÉVA³, CZÉGENY GYULA⁴ ÉS HIDEG ÉVA⁴

¹ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Növény szervezettani Tanszék

²ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Növényélettani és Növényi Molekuláris Biológiai Tanszék

³MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet

⁴Pécsi Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Növénybiológiai Tanszék

Az előző konferencián beszámoltunk arról, hogy sikerült kimutatni a bab üreges szárában és hipokotiljában történő fényvezetést, illetve megmértük a hajtás talajfelszín alatti régiójába vezetett fény spektrális összetételét [1]. E munka folytatásaként kimutattuk, hogy a külső fénytől teljesen elzárt, talajszint alatti hajtásrégiókban kloroplasztiszok jelennek meg, klorofill szintézis folyik – ami fényaktivált folyamat – és olyan klorofill-protein komplexek alakulnak ki, amelyek a növény föld feletti hajtásrészeiben is megtalálhatók. Ezek arányai viszont alacsony fényintenzitáshoz adaptálódott fotoszintetikus apparátus jellegzetességeit mutatják. Klorofill-tartalomra normálva, az LHC-II mennyisége és az LHC-II/PS-II arány is nagyobb volt, ugyancsak magasabb értéket adott a PS-II szuperkomplex aránya is a talajszint alatti régióban, mint a talaj feletti szövetekben. Alacsony fényintenzitáción ($10\text{--}55\ \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$) a talajszint alatti és feletti hipokotil régiók fotokémiai hozama hasonló volt, magasabb fényintenzitásánál azonban a föld alatti részeken, főleg a PS II reakció centrumok inaktiválódása következtében csökkent az elektrontranszport. Sikerült kimutatnunk a tilakoidokban egy PIP típusú aquaporin fehérjét is, ami csak a talajszint alatti régiók jellegzetessége [2], és feltehetően az esetleges túl nagy fényintenzitás hatására (pl. a talaj megrepedésekor) keletkező H_2O_2 -t távolítja el a tilakoidokból.

Mindezek az eredmények azt mutatják, hogy alacsony fényintenzitáshoz adaptálódott, de aktív fotoszintetikus apparátus alakulhat ki az üreges szárú növények talajszint alatti régióiban, ami a hajtás fényvezetése következtében tud működni. Módosítani kell tehát azt az általános elvet, hogy a talajszint alatti szöveteket csak a hajtásból származó fotoszintetikumok táplálják.

Irodalom

[1] Kakuszi A, Böddi B (2014) *J. Photochem Photobiol B: Biol* 140: 1-7.

[2] Kakuszi A, Sárvári É, Solti Á, Czégény Gy, Hideg É, Hunyadi-Gulyás É, Bóka K, Böddi B (2016) *J. Photochem Photobiol B: Biol* 161: 422-429.

JEGYZETEK

E42

A fotoszintetizáló baktériumok fluoreszcenciájának kinetikai összetevői

SIPKA GÁBOR^{1,2}, KIS MARIANN¹ ÉS MARÓTI PÉTER¹¹ Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet² MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

Ha a fotoszintetizáló bíbor baktériumok (*Rba sphaeroides*, *Rvx. gelatinosus*) tenyésztését egységugrás időprofilú inzenzív (2 W/cm², 808 nm) lézerdíóda fényével gerjesztjük, akkor a baktérioklorofilok fluoreszcencia (920 nm) hatásfoka jellegzetes tranziens kinetikát (fluoreszcencia indukciót) mutat: kb. 1 ms-ig több fázisban emelkedik, majd ezután csökken, és végül a másodperc-perc időtartományban (esetleg némi hullámlás után) állandósult értéket vesz fel ([1]-[4]). A kinetikai összetevők a baktériumban fényel indukált (elsősorban) elektron-állapot változásokkal hozhatók összefüggésbe [5]. Az egyes fázisok kialakításában 1) a fotokémiának (elsődleges töltésszétválasztásnak), 2) a festékek (elsősorban a karotenoid és a baktérioklorofilok) fény-indukált triplett állapotainak, 3) a reakciócentrumból való töltésexportnak (redukált kinolok és oxidált citokrómok leválásának/cseréjének) és 4) a reakciócentrumot valamint a citokróm *bc₁* fehérjekomplexeket magában foglaló ciklikus elektrontranszport-láncnak van meghatározó szerepe. Az előadásban ismertetem a baktérioklorofil fluoreszcencia hatásfokának általunk alkalmazott mérési módszereit (indukció és relaxáció), a kinetikák szelektív módosítására bevezetett genetikai, kémiai és fizikai eljárásokat, és végül kísérletet teszek az egyes kinetikai fázisokhoz rendelhető elektronállapot-változások azonosítására, és egyszerű modell alapján történő szimulálására.

Köszönetnyilvánítás

GINOP-2.3.2-15-2016-00001, OTKA-K 112688 (G.S) és K-17(P.M.), COST (CM1306), EFOP-3.6.2 és Photosynthesis - Life from Light (G.S).

Irodalom

- [1] Asztalos E, Sipka G, Maróti P (2015) Fluorescence relaxation in intact cells of photosynthetic bacteria: donor and acceptor side limitations of reopening of the reaction center, *Photosynth Res* **124**(1):31–44.
- [2] Kis M, Sipka G, Asztalos E, Rázga Z, Maróti P (2015) Purple non-sulfur photosynthetic bacteria monitor environmental stresses, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **151**:110–117.
- [3] Maróti P (2016) Induction and Relaxation of Bacteriochlorophyll Fluorescence in Photosynthetic Bacteria. In „*Handbook of Photosynthesis*” (ed. M. Pessarakli), third edition, 846 pages, CRC Press, chapter 25, pp 463–483.
- [4] Kis M, Sipka G, Maróti P (2017) Stoichiometry and kinetics of mercury uptake by photosynthetic bacteria, *Photosynth Res* **132**:197–209.
- [5] Sipka G, Kis M, Smart J, Maróti P (beküldve) Fluorescence induction of photosynthetic bacteria, *Photosynthetica*

JEGYZETEK

E43

Fényindukált konformáció-változások igazolása a második fotokémiai rendszer reakciócentrumában klorofill fluoreszcencia tranziensek mérésével

MAGYAR MELINDA¹, SIPKA GÁBOR¹, KOVÁCS LÁSZLÓ¹, UGHY BETTINA¹, QINGJUN ZHU², GUANGYE HAN², VLADIMÍR ŠPUNDA³, PETAR H. LAMBREV¹, JIAN-REN SHEN^{2, 4} ÉS GARAB GYÖZŐ¹

¹MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet, Szeged

²Photosynthesis Research Center Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, China

³Faculty of Science, University of Ostrava, Ostrava, Czech Republic

⁴Photosynthesis Research Center, Okayama University, Japan

Az oxigénfejlesztésért felelős ún. második fotokémiai rendszer (PSII) reakciócentrumának (RC) működését, a töltés-szétválasztás és stabilizálódás folyamatait és a rekombinációs útvonalakat jól ismerjük [1]; ezek az atomi felbontású kristályszerkezet keretein belül értelmezhetők [2]. Femtoszekundumos krisztallográfiai vizsgálatok arra is fényt derítettek, hogy a RC működése során konformáció-változások következnek be [2]. Ez felveti a kérdést, hogy a PSII jellemzésére általánosan használt változó klorofill fluoreszcencia (indukció) kizárólag az elsődleges, stabil kinon-akceptor (Q_A) redukcióját tükrözi, ahogy azt az irodalomban legszélesebb körben vélik [3], vagy ezek a fluoreszcencia tranziensek részben a RC szerkezetváltozásainak köszönhetők, ahogy azt korábban javasoltuk [4]. Kísérleteinkben egyszeri töltésszétválasztást kiváltó telítési fényfelvillanásokkal (STSFs - single-turnover saturating flashes) gerjesztettük a DCMU-val kezelt mintákat. A DCMU gátolja a Q_A és a Q_B közötti elektrontranszfert és így csak egyetlen stabil töltésszétválasztást tesz lehetővé. A 170 és 300 K között elvégzett méréseink egyöntetűen azt mutatják, hogy az első STSF az F_0 -ról csak az F_1 szintig növeli a fluoreszcencia hozamot, és - ellentétben a Q_A modell alapján vártakkal -, a maximális F_m fluoreszcencia csak további gerjesztéssel érhető el. Az inkrementum, $(F_m - F_1)/(F_m - F_0)$, nagysága nagy mértékben függ a hőmérséklettől: szobahőmérsékleten körülbelül 15%, 170 K-on több mint 50%. Az F_1 és F_m szintek relaxációja komplex módon függ a hőmérséklettől: az F_1 relaxáció csak -40 °C felett figyelhető meg; ez a Q_A^- rekombinációs folyamataihoz rendelhető. Ezen hőmérséklet alatt csak az inkrementum relaxálódik; ennek élettideje a perces tartományban mozog. Dupla-STSF kísérleteink azt is megmutatták, hogy a fluoreszcencia hozam növekedését az STFS-gerjesztések közti sötét-intervallumok is döntően befolyásolják. Mindezek alapján megállapíthatjuk, hogy a PSII sötét-fény átmenetét kísérő klorofill-a fluoreszcencia indukcióban a Q_A redukcióját követő lassabb folyamatok – jelen adataink szerint – konformáció-változások meghatározó szerepet játszanak.

Köszönetnyilvánítás

Támogatók: GINOP-2.3.2-15-2016-00058, OTKA-K 112688 and PD 121225; 01211/2016/RRC (OU).

Irodalom

- [1] Cardona és mtsai. (2012) *Biochim Biophys Acta*, 1817, 26–43.
- [2] Suga és mtsai. (2015) *Nature*, 517, 99–103.
- [3] Govindjee & Stirbet (2012) *Photosynth Res*, 113, 15-61.
- [4] Schansker és mtsai. (2011) *Biochim Biophys Acta*, 1807, 1032-1043.

JEGYZETEK

E44

**Fluorescence quenching in transmembrane light-harvesting complexes
measured in single proteoliposomes**

**PARVEEN AKHTAR¹, MARIJONAS TUTKUS², GEDIMINAS TRINKŪNAS², DANIELIS RUTKAUSKAS² ÉS
PETAR H. LAMBREV¹**

¹ *Hungarian Academy of Sciences, Biological Research Centre*

² *Centre for Physical Sciences and Technology, Institute of Physics, Vilnius, Lithuania*

Photosynthetic organisms are well adapted to work in naturally varying light intensities. One aspect of this flexibility is the non-photochemical fluorescence quenching (NPQ), i.e. regulated dissipation of the excess absorbed light energy in the photosynthetic light harvesting complexes [1]. In plants, NPQ primarily occurs in the light-harvesting complex II (LHCII) and involves conformational changes and changes in the supramolecular organization of LHCII in the thylakoid membranes [2, 3]. Here we investigate the role of LHCII interactions in the membranes on the properties of NPQ. We employ a combination of single-molecule fluorescence microscopy and of transmembrane protein reconstitution into liposomes. This combined method enables measurements of the fluorescence of individual proteoliposomes, anchored onto glass surfaces via Biotin-Neutravidin link. The liposomes further contain fluorescent labels that by the use of co-localisation help to identify successfully reconstituted LHCII, isolate non-reconstituted proteins or liposomes without protein and test the effects of vesicle size, curvature and protein density. Proteoliposomes displayed a high degree of heterogeneity with respect to size, protein density and fluorescence yield, even after separation into fractions by density gradient ultracentrifugation. This complicates the interpretation of results from traditional bulk (macroscopic) measurements. The results also confirmed that the fluorescence of LHCII is very sensitive to the supramolecular organization of the protein in the membrane. Plants exploit this sensitivity of LHCII to regulate the thermal dissipation of the excess absorbed energy.

Acknowledgements

The work was supported by grants from the Singapore Ministry of Education Academic Research Fund (Tier 2 MOE2015-T2-039) and the Hungarian Ministry for National Economy (GINOP-2.3.2-15-2016-00001)

References

- [1] Demmig-Adams B, Garab G, Adams III W (2014) Non-photochemical quenching and energy dissipation in plants, algae and cyanobacteria, Springer.
- [2] Ruban AV (2016) Plant Physiol 170: 1903-1916.
- [3] Dall'Osto L, Cazzaniga S, Bressan M, Paleček D, Židek K, Niyogi KK, Fleming GR, Zigmantas D, Bassi R (2017) Nat. Plants 3: 17033.

JEGYZETEK

Poszterek

MODERN BIOFIZIKAI MÓDSZEREK (P1 – P9).....	55
MEMBRÁNOK, MEMBRÁNFEHÉRJÉK BIOFIZIKÁJA (P10 – P18)	64
MOLEKULÁRIS BIOFIZIKA (P19 – P32).....	73
ELMÉLETI BIOFIZIKA (P33 – P40)	87
ORVOSI BIOFIZIKA ÉS SUGÁRBIOLÓGIA (P41 – P48)	95
BIOSZENZORIKA ÉS BIO-NANOTECHNOLÓGIA (P49 – P57)	103
BIOENERGETIKA ÉS FOTOBIOFIZIKA (P58 – P67)	112
AZ SZBK BIOFIZIKAI INTÉZETE ÚJ NAGYMŰSZEREINEK BEMUTATÁSA (P68 – P70)	122

P1

Egyes baktériumsejtek és utódaik mikrofluidikai csapdázása öregedés és fenotípus heterogenitás vizsgálatára

ÁBRAHÁM ÁGNES, NAGY KRISZTINA, KELEMEN LÓRÁND ÉS GALAJDA PÉTER

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

Jól ismert, hogy a baktériumok kettéosztódással (bináris hasadás) szaporodnak, mely során két genetikailag azonos utódsejt jön létre. Fontos azonban megjegyezni, hogy ennek ellenére, egy klonális populáción belül mégis kialakulhatnak fenotípusbeli különbségek, melyek a populáció túlélése és a környezethez való alkalmazkodás szempontjából kulcsfontosságúak lehetnek. A jelenség biológiailag meghatározó szerepére utal az is, hogy hasonló, fenotípusbeli heterogenitás nem csak baktériumoknál hanem emlős sejteknél is megfigyelhető. Habár egy ismert és többszörösen megfigyelt jelenségről van szó, magáról a kialakulási folyamatról nem sokat tudunk.

Laboratóriumunkban kifejlesztettünk egy mikrofluidikai eszközt, mely alkalmas egy kiválasztott és csapdázott "anyasejt" utódsejtjeinek időbeli nyomon követésére. Az eszköz segítségével lehetővé válik a heterogenitás kialakulásának részletesebb megismerése. A mikroszatornában több generáción keresztül csapdázhatók a sejtek és mikroszkópiával mérhető karakterisztikus tulajdonságaik. A csapdázott anyasejt osztódik, majd miután leválik róla az utódsejt, felhasználva a folyadékáramlást belesodródik a következő csapdába. Több osztódást követően az összes csapda feltöltődik az utódokkal, így módon lehetőség nyílik a sejtek leszármazási viszonyainak nyomon követésére is. Ezzel az eszközzel vizsgálni tudunk olyan fenotípusbeli jellemzőket, mint a sejt mérete, alakja, osztódási rátája vagy génexpressziója egy akár több száz generáción át szaporodó populációban. Az adatok elemzésével feltárhatjuk az alapvető elveket és folyamatokat, melyek egy adott sejttől származó populációban a fenotípusbeli heterogenitás kialakulását eredményezik.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az NKFIH K 116516 és PD 112509 azonosítószámú 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.

JEGYZETEK

P2

Multimodal localization based super-resolution microscopy with efficient photon collection

GAJDOS TAMÁS, NOVÁK TIBOR, CSERTEG ZSÓFIA ÉS ERDÉLYI MIKLÓS

Department of Optics and Quantum Electronics, University of Szeged, Szeged, Dóm tér 9., 6720 Hungary

A new imaging arrangement for localization based super-resolution microscopy was developed and tested. The proposed optical setup provides multiple modalities (3D, polarization, spectral detection), but leaves the lateral localization precision unaffected and applies all the emitted photons.

Single-Molecule Localization Microscopy (SMLM) presents a powerful solution to resolve biological problems smaller than the diffraction limited spatial resolution limit. The image quality obtainable by super-resolution critically depends on the acquired number of photons, which then can be translated to localization precision [1]. Among all modalities (3D, polarization and spectral information) introduced for SMLM imaging the key problem remains, a sacrifice has to be made to encode the additional information into the point spread function [2]. This results in the loss of lateral localization precision. To overcome this undesirable effect we developed a unique imaging system to make multi-modal SMLM imaging.

The secondary optical system was built atop a Nikon TI-E frame using an additional high NA oil immersion objective. The optical system was modeled and optimized using the OSLO optical design software. The image acquisition was done using a single Andor EMCCD camera. Our localization software, rainSTORM [3] was used for data processing with additional tools for image registration, z-calculation, polarization degree and 3D visualization. Actin filaments (and cell cultures) were imaged using TIRF and EPI illumination modes.

We found that using the proposed setup for volumetric imaging the lateral localization precision remains unchanged when using bi-plane or astigmatism modalities. The setup also works for fluorophore orientation measurements.

Our approach enables users to make the best-quality images and also simultaneously acquire information regarding fluorophore axial position and orientation. The optical setup does not require the modification of the detector path or the introduction of a second detector, and can be extended to enable other modalities.

References

- [1] Thompson, Russell E., Daniel R. Larson, and Watt W. Webb. *Biophysical journal* 82.5 (2002): 2775-2783.
- [2] Deschout, Hendrik, et al. *Nature methods* 11.3 (2014): 253-266.
- [3] Rees, Eric J., et al. *Optical Nanoscopy* 1.1 (2012): 12.

P3

Indirekt optikai mikromanipuláció alkalmazása élő sejtek 3D fluoreszcens megfigyelésére

VIZSNYICZAI GASZTON¹, BUZÁS ANDRÁS², BARDI L. AEKBOTE³, FEKETE TAMÁS², GREXA ISTVÁN², ORMOS PÁL², KELEMEN LÓRÁND²

¹ *Dipartimento di Fisica, Sapienza Università di Roma, Olaszország*

² *MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet*

³ *Center for Soft and Living Matter, Ulsan National Institute of Science and Technology, Korea*

Élő sejtek optikai módszerekkel történő mikromanipulációját egyre több helyen alkalmazzák az alapkutatásban és a diagnosztikában különböző, sejtekkel kapcsolatos jelenségek vizsgálatára, ahol a módszer igen gyakran fejlett képalkotási eljárásokhoz is kapcsolódik. A sejtek direkt optikai csapdázásakor fellépő fotokárosodást a csapdázó lézer hullámhosszának gondos megválasztásával szokás csökkenteni. Ennek alternatívája lehet az, amikor a sejtekhez tapasztott mikroméretű tárgyakat, pl. mikrogöngyöket használunk egyfajta fogantyúként. Ekkor a károsodás gyakorlatilag eliminálható, valamint stabilabb csapdázás is elérhető a tárgyak és a víz közötti megnövelt törésmutató kontraszt miatt. Ebben a munkában megmutatjuk, hogy élő sejteket lehetséges indirekt optikai manipulációval csapdázni speciálisan, kétfotonos lézeres polimerizációval kialakított és a sejtekhez tapasztott mikroméretű objektumok segítségével, melyeket holografikus optikai csipesszel mozgatunk. Ennek a technikának köszönhetően a sejtek és a csapdázó fókuszfoltok közötti távolság több mikrométerre növelhető, és egyszerűen megvalósítható a sejtek gyors, 6 szabadsági fokú mozgatása. A módszer adta lehetőségeket a sejtek 3D fluoreszcens leképezésén keresztül mutatjuk be. A kísérletek során egyedi sejtekről készítettünk 3D felvételeket izotóp optikai felbontással a sejtek több irányú megfigyelésével. Az egyes megfigyelési irányokat a sejteknek az optikai tengelyre merőleges tengely körül, az optikai csipesszel való forgatásával értük el. A bemutatott eszköz és a sejtek manipulációs módozatai többféle optikai mikroszkópos technikában alkalmazhatók.

Köszönetnyilvánítás

A bemutatott munkát a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 és a GINOP-2.3.3-15-2016-00040 programok, valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NN 114692), továbbá az Európai Unió Horizon 2020 Laserlab-Europe 654148 azonosítószámú kutatási és innovációs programja támogatta.

JEGYZETEK

P4

Sejtek rugalmasságának mérése optikai csipesszel

GREXA ISTVÁN, MOLNÁR JUDIT, KRIZBAI ISTVÁN, ORMOS PÁL ÉS KELEMEN LÓRÁND

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A sejten belüli folyamatok nagy részének megértéséhez sok esetben előnyös megismerni a sejtek mechanikai tulajdonságait, mivel számos folyamat ezek által szabályozott vagy legalábbis hozzájuk köthető. Ilyen tulajdonság például a sejtek deformálhatósága vagy azok elaszticitása. Az elsőre példaként említhetők a vörösvértestek, amiknek a kapillárisokon való áthaladáskor erősen megváltozik az alakjuk. Az elaszticitás fontos mechanikai jellemzője például az endotél sejteknek, amelyek főképpen a kapillárisok falát alkotva folyamatosan mechanikai stimulusnak vannak kitéve. Az elaszticitást jellemző Young-modulust a sejtmembránra egy adott erővel alkalmazott behatás által kiváltott deformáció mértékéből lehet kiszámolni. Ezt a jellemzőt tipikusan atomerő mikroszkóppal (AFM) szokás mérni, amivel néhány tíz pN-tól a nN-ig terjedő nagyságrendű erőkkel tesztelhető a sejt [1]. Amennyiben ennél kisebb erőkre van szükség, az optikai csipesz lehet egy hatékony alternatíva, amellyel a fN-tól a néhány száz pN-ig terjedő tartományon lehetséges erőket alkalmazni.

Ebben a munkában egy optikai csipeszen alapuló módszert mutatunk be, amely alkalmas sejtek felszínén, jól lokalizáltan a rugalmasság mérésére. A lokalizált erő kifejtéshez egy komplex mikroeszközt készítettünk kétfotonos polimerizációval, amely állt egyrészt az optikai csipesz által megragadható mikrogöngyökből, másrészt pedig a sejttel kölcsönható, kis görbületi sugarú próbarészből. A mikroeszköz helyzetének pontos meghatározásához egy képanalízisen alapuló, kb. 30nm pontossággal működő pozíció-detektálási eljárást alkalmaztunk. Agyi endotél sejteken végzett kísérletekkel az irodalomban található rugalmassági tényezőkkel azonos nagyságrendű (1.4kPa) értékeket mértünk. A mikromanipuláción alapuló módszer igazán azokban az esetekben előnyös, ha a rugalmasságot az atomerő mikroszkóppal elérhetőnél kisebb (<pN nagyságrendű) erőkkel szükséges mérni. A módszer további előnye, hogy a sejteket nem világítja meg az optikai csipesz intenzív fénye, illetve laterálisan nagyobb erő érhető el.

Köszönetnyilvánítás

A bemutatott munkát a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 és a GINOP-2.3.3-15-2016-00040 programok, valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal NN 114692 programja támogatták. This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement no 654148 Laserlab-Europe.

Irodalom

[1] Végh AG, Fazekas Cs, Nagy K, Wilhelm I, Krizbai IA, Nagyörsi P, Szegletes Zs, Váró Gy (2011) *J Mol Recognit* 24: 422–428.

JEGYZETEK

P5

Kémiai gradiensek hatása baktériumpopulációkra

NAGY KRISZTINA, SIPOS ORSOLYA, VALKAI SÁNDOR, ORMOS PÁL ÉS GALAJDA PÉTER

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A mikroba közösségek életében fontos szerepe van a kémiai heterogenitásnak, amihez a baktérium sejtek által termelt jelmolekulák és a különféle tápanyag és toxin gradiensek egyaránt hozzájárulnak. Laborunkban kifejlesztettünk egy mikrofluidikai eszközt, mellyel ez az összetett környezet jól modellezhető.

A mikrotechnológia segítségével jól meghatározott, pontos kémiai koncentráció eloszlásokat tudunk kialakítani. Az eszköz két nagy kamrából és egy központi csatornából áll, melyeket egy porózus membrán választ el egymástól. A lineáris gradiens a molekulák membránon keresztül történő diffúziója révén alakul ki. A mikrocsatornában a baktériumok szabadon úszhatnak egy statikus, ám kémiai heterogén környezetben. Ez a kísérleti elrendezés számos előnnyel bír a korábbi technológiákkal szemben.

- (1) A gradiens kialakulása csupán néhány percet vesz igénybe és hosszú távon (> 24 h) fennmarad.
- (2) Fluoreszcencia mikroszkópia segítségével az eszközben populáció szinten a baktériumok térbeli eloszlása, egyes sejtek szintjén pedig a mozgás pontos útvonala is meghatározható.
- (3) Nagyfokú érzékenysége révén kemoeffektorok széles körének tesztelésére alkalmas.

A csatornában kialakuló gradiens nagyságát, időbeli lecsengését fluoreszcens festékkoldattal jellemeztük. Hatékonyságát és érzékenységét *E. coli* baktériumok számára jól ismert, illetve eddig ismeretlen kemoeffektor potenciállal rendelkező aminosavakkal és kommunikációs jelzőmolekulákkal bizonyítottuk. [1] Kivételes lehetőség, hogy amennyiben a kamrákat baktériumtenyésztésre használjuk, az eszköz alkalmassá válik fizikailag elkülönített, de kémiai csatolt populációk kölcsönhatásának vizsgálatára is. Eszközünkkel sikerült kimutatnunk szomszédos *E. coli* és *P. aeruginosa* populációk egymásra gyakorolt hatását. [2]

Nagyfokú érzékenysége révén ez a módszer értékes információkkal járulhat hozzá a hagyományos mikrobiológiai módszerekkel szerzett eddigi ismeretekhez. A hosszú távon fennmaradó kémiai koncentráció gradiens többek között olyan fontos biológiai problémák újszerű megközelítésére adhat lehetőséget, mint az antibiotikum rezisztencia heterogén környezetben történő gyors evolúciója.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az NKFIH K 116516 és PD 112509 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.

Irodalom

- [1] Nagy K et al. (2015) *Biomicrofluidics* 9: p044105.
[2] Nagy K et al. (2014) *Chem Biochem Eng Q* 28: 233-240.

JEGYZETEK

P6

A quorum érzékelés dinamikája *Pseudomonas aeruginosa* baktériumban

NAGY KRISZTINA, ZSIROS VANDA, CSÁKVÁRI ESZTER ÉS GALAJDA PÉTER

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A baktériumok egyik kommunikációs jelrendszere az úgynevezett quorum érzékelés. A jelenség alapja, hogy a baktériumok képesek bizonyos jelmolekulák kibocsátására és érzékelésére. Ha a jelmolekula koncentrációja meghalad egy küszöbértéket, a sejtek az úgynevezett quorum állapotba kerülnek, mely génexpressziós változásokkal is jár (például exoenzimek, virulencia faktorok termelődnek). A rendszer segítségével a baktériumok speciális gének átíródását képesek szabályozni a populáció denzitásának függvényében.

Laboratóriumunkban a *Pseudomonas aeruginosa* baktérium quorum érzékelési hálózatát, azon belül is a las rendszer működését vizsgáljuk, olyan mutáns baktérium törzs segítségével, mely nem képes a rendszer aktiválásához szükséges 3-oxododekanoil-homoszerin lakton jelmolekula termelésére. Így a baktériumok csak abban az esetben kerülnek quorum állapotba, ha exogén jelmolekulát adunk a rendszerhez. A folyamatot egy riporter plazmid segítségével, illetve fluoreszcens fehérje quorum függő termelésének mikroszkópiás követésével tudjuk tanulmányozni.

Kísérleteink középpontjában a quorum érzékelés dinamikájának vizsgálata áll, mind populáció mind pedig egyedi sejtek szintjén. A jelenség részletes megismeréséhez egy mikrofluidikai elrendezést használunk mely segítségével könnyen változtathatók a baktériumpopulációkat érő fizikai-kémiai hatások. Vizsgáljuk a médium tápanyag tartalmának, áramlási sebességének és a jelmolekula koncentrációjának hatását a quorum állapot be- és kikapcsolásának dinamikájára, illetve a populáció növekedésére. Kísérleteink alapján megállapítottuk, hogy a sejtek a jelmolekula hozzáadása után 1-2 órán belül elérnek egy „maximális quorum állapotot”, mely hosszú távon fennmarad még a jelmolekula kimosása után is. Megfigyeltük, hogy a jelmolekula jelenléte és a médium áramlása visszafogja a populáció növekedését, illetve az AHL hatására nő a sejtek mozgékonyasága. Bár a quorum érzékelés alapvetően populáció szintű folyamat, egyedi sejteken végzett mérési eredményeink arra utalnak, hogy a sejtszintű változatosság szerepe is jelentős.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az NKFIH K 116516 és PD 112509 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.

JEGYZETEK

P7

Fluoreszcens festék kötődésének hatása az antitest affinitására és a festékek fotofizikai tulajdonságaira

SZABÓ ÁGNES¹, SZATMÁRI TÍMEA², RÁDI ILDIKÓ², UJLAKY-NAGY LÁSZLÓ¹, SZÖLLŐSI JÁNOS^{1,2}, ÉS NAGY PÉTER²

¹ MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátvitel Kutatócsoport, Debreceni Egyetem

² Debreceni Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Bevezetés: Fluoreszcens festékekkel jelölt antitesteket széleskörűen alkalmazunk sejtek jelölésénél. A jelölési arány (festék/protein arány) a festékmolekuláknak csak az átlagos számát adja meg egy antitesten, ezért vannak antitestek melyek kevesebb, míg mások több festékmolekulát tartalmaznak.

Módszerek: Monoklonális antitestekhez konjugáltunk AlexaFluor647 vagy AlexaFluor546 festékeket, majd sejtfelszíni receptorokat jelöltünk meg különböző jelölési aránnyal (F/P=1-5) rendelkező antitestekkel. A fluoreszcencia emissziós spektrumokat rögzítettük, hogy meghatározzuk az eltérő jelölési arányú antitestek relatív fényességét. Ezzel párhuzamosan áramlási citométeren meghatároztuk az ugyanazzal az antitesttel megjelölt sejtek fluoreszcencia intenzitását. A receptorhoz kötött antitesteket protein G-vel immunprecipitáltuk, majd meghatároztuk a fluoreszcencia anizotrópiáját az antitestek törzsoldatainak, valamint az immunprecipitált, kötött antitestek oldatainak. Emellett meghatároztuk, hogyan változik a fluoreszcencia élettartama a különböző jelölési arányú antitestek törzsoldatainak.

Eredmények: Az antitestek törzsoldatainak fluoreszcencia intenzitása nem növekedett egyenes arányban a jelölési aránnyal, ami arra utal, hogy a festékek egymást kioltják. Azonban a fluoreszcencia élettartam csökkenés elmaradt a fluoreszcencia intenzitás jelölési aránnyal való lineáris növekedésétől való lemaradásától. A kötött antitestek intenzitásának változása a jelölési arány függvényében nem úgy változott, mint az antitestek törzsoldatainak intenzitása, ami arra utal, hogy csökken az antitest antigénhez való affinitása, ha nagyobb az antitest F/P értéke. Ebből a szempontból szisztematikus különbséget figyeltünk meg az AlexaFluor546 és az AlexaFluor647 festékekkel jelölt antitestek között. Fluoreszcencia anizotrópia mérésekkel is alátámasztottuk, hogy a sejthez kötődött antitestek jelölési aránya alacsonyabb, mint az antitestek törzsoldatainak F/P értéke. Modellszámításokkal bebizonyítottuk, hogy a különböző festékekkel jelölt antitestek kvantumhatékonyságának és affinitásának jelölési aránytól való eltérő függése okozhatja a két festék eltérő viselkedését.

Konklúzió: Méréseink alapján megállapíthatjuk, hogy a kisebb jelölési arányú antitesteknek jobb az affinitása. Következésképpen ezt a jelenséget figyelembe kell vennünk, amikor fluoreszcensen jelölt antitestet választunk a kísérleteinkhez, vagy amikor a fluoreszcencia intenzitásokat korrigáljuk a jelölési arányhoz.

JEGYZETEK

P8

Az újabb jobb is? FRET-hez használt fluoreszcens festékek fényessége és fotostabilitása biológiai mintákban

UJLAKY-NAGY LÁSZLÓ^{1,2}, SZÖLLÖSI JÁNOS^{1,2} ÉS VEREB GYÖRGY^{1,2}

¹ Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

² MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport

A fluoreszcencia-alapú áramlási citometriás és mikroszkópós alkalmazások megbízható fluoreszcens próbákat igényelnek, amelyek fotofizikai tulajdonságaik ismertek, magas kvantumhatékonyság és fotostabilitás jellemzi őket. A fluoreszcenből származtatható Alexa Fluor, és a merevebb szerkezettel rendelkező Atto próbákat a fluoreszcein és indokarbocianin festékek alternatívájaként fejlesztették, a nagyobb fényesség és fotostabilitás, valamint csökkent pH szenzitivitás ígéretével. Munkánk célja az volt, hogy ezen festék-családok jellemzőit a látható, Förster rezonancia energiatranszfer (FRET) alkalmazás szempontjából releváns spektrumban, a legáltalánosabban alkalmazott fluoreszcenciás jelölésen alapuló technikákkal (konfokális mikroszkópia, mikroszkóp-alapú sejtf fluoriméter (LSC), és áramlási citometria) összehasonlítsuk egy jól reprodukálható biológiai rendszeren.

SK-BR-3 emlőtumor sejtek felszínén a sejtenkénti ~800000 HER2 receptort specifikus antitesttel, a humanizált trastuzumabbal jelöltük, melyhez a következő fluorofórokat konjugáltunk: fluoreszcein; a fluoreszcein-származék Alexa Fluor 488, 546 és 555; az indokarbocianin Cy3 és Cy5; valamint az előbbiektől merevebb szerkezettel bíró Atto 488, 546 és 647N. A fluoreszcens festékek áramlási citométerben és LSC-ben mért fényességét, mikroszkópos fotoelhalványítási időállandóját, illetve az ebből származtatható teljes mérhető foton-emisszióját hasonlítottuk össze. A mikroszkópos alkalmazások esetén vizsgáltuk különféle beágyazó médiumok hatását is.

A zölden emittáló festékek között az Alexa Fluor 488 nem, de az Atto488 a fluoreszceinnél nagyobb fényességet és mérhetően nagyobb fotostabilitást mutatott. Ugyanakkor a csoport minden tagjainál tapasztalható, egymáshoz nagyon hasonló, gyors fotoelhalványulás, mely kettős exponenciális csökkenéssel jellemezhető, mikroszkópos FRET kísérletekben való alkalmazhatóságuk körét szűkíti. A vörösben emittáló festékek között az Alexa Fluor 546 volt a legkevésbé stabil. Az Atto546 esetén tapasztalt mérsékelt stabilitás ugyanakkor csökkent abszolút fényességgel párosult. Fotoelhalványítási görbéik jellemzői alapján FRET mérésekben alkalmasak lehetnek mind akceptornak mind donornak. A távoli vörösben emittáló festékek a legkevésbé stabilak, de emiatt fotoelhalványításos FRET kísérletben akceptornak jól alkalmazhatók. Ez alól kivéve az Atto647N, mely lényegesen stabilabbnak mutatkozott, de megvilágítás hatására kezdetben növekvő emissziót mutatott.

A Mowiol szerepe elhanyagolható volt a fotoelhalványítás és nyerhető fotonszám tekintetében. A glicerolnak kedvezőtlen kezdeti kioltó, valamint a fotoelhalványítást fokozó hatása volt az Alexa Fluor és indokarbocianin festékek esetében.

Fixált biológiai mintákon végzett méréseink alapján az újabb fluoreszcein alapú és rigid festékek többsége nem mutat lényeges különbségeket és előnyöket hagyományos társaival szemben fotostabilitás és fényesség tekintetében. Az elhalványulást gátló beágyazó médiumok hasznossága is vitatható. A változatos fotokémiai jelenségek miatt a sikeres FRET mérésekhez a mérési módszer helyes megválasztása és a megfelelő kontrollok tervezése esszenciális.

JEGYZETEK

P9

A DAAM (Disheveled-Associated Activator of Morphogenesis) formin szerepe az aktin-mikrotubulus dinamika koordinációjában

FÓRIZS JUDIT VIKTÓRIA, PINTÉR RÉKA, VIG ANDREA TERÉZ, HUBER TAMÁS, BUGYI BEÁTA

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet

Az aktin és a mikrotubulus sejtváza funkcionális koordinációja meghatározó szerepet játszik számos sejtfunkcióban, mint például a sejtmozgás, sejtosztódás, sejtadhéziók és intracelluláris transzportfolyamatok. A két citoskeletális polimer szerkezeti és dinamikai sajátosságainak precíz térbeli és időbeli összehangolását asszociált fehérjék végzik, azonban a háttérben álló molekuláris elemek és mechanizmusok még nem teljesen ismertek.

A Disheveled-Associated Activator of Morphogenesis (DAAM) a multidomén szerkezetű formin fehérjék családjához tartozik, amelyeket a kanonikus Formin Homológia (FH) domének alapján azonosíthatunk. Korábbi munkánk során leírtuk, hogy az FH1-FH2 domén katalizálja az aktin filamentumok nukleációját és aktin polimeráz aktivitása révén elősegíti azok növekedését. Az FH1-FH2 domének aktinnal kialakított kölcsönhatásait az N-, és C-terminálison található domének hangolják. *In vivo* vizsgálatok arra engednek következtetni, hogy a DAAM nem csupán az aktin, de a mikrotubulus sejtváza funkciójában, valamint a két polimer hálózat működésének koordinációjában is meghatározó lehet.

Munkánk során a DAAM formin lehetséges szerepét vizsgáltuk az aktin és mikrotubulusok dinamikájának szabályozásában *in vitro* biofizikai és biokémiai módszerekkel.

Eredményeink szerint a DAAM képes mind az aktin filamentumokat, mind pedig a mikrotubulusokat magasabb rendű polimerkötegekbe szervezni. Ugyanakkor a DAAM rendelkezik keresztkötegelő aktivitással is, amely révén a két polimert inhomogén hálózatokba szervezi. Azonosítottuk a DAAM kötegelő és keresztkötegelő funkcióiért felelős szakaszait is. Az FH2 domén szükséges és elegendő az aktin filamentumok kötegeléséhez, azonban a mikrotubulusokat nem képes kötegekbe rendezni. A mikrotubulusok kötegelésében, és a két polimer rendszer összekapcsolásában az FH2 domén és a C-terminális régió közötti kooperatív kölcsönhatás alapvető fontosságú.

Eredményeink a DAAM formin egy új szerepét fedik fel, melyek szerint az aktin és a mikrotubulus sejtváza funkcionális koordinációját irányító mechanizmusok molekuláris elemeként azonosítható.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg. A kutatás Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-16-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

JEGYZETEK

P10

Sztirol-maleinsav (SMA) kopolimerek mint biomembránt szolubilizáló detergens

BÉRCZI ALAJOS¹, DOMOKOS RÉKA¹, DEÁK ÁGOTA², SZEGLETES ZSOLT¹, JANOVÁK LÁSZLÓ²,
DÉKÁNY IMRE² ÉS ZIMÁNYI LÁSZLÓ¹

¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

² Szegedi Tudományegyetem, TTIK, Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék

A fehérjék több mint egyharmada igen szoros kapcsolatban áll a sejtekben megtalálható különböző membránokkal. Ezen membrán-kötött fehérjék tanulmányozásához előbb el kell különítenünk a vizsgált fehérjét az összes többi fehérjétől. Ennek a folyamatnak az első lépése az, amikor a biológiai membránt oly módon bontjuk alkotó elemeire, hogy azok lehetőleg megtartsák biológiai aktivitásukat. A membránokon keresztül nyúló, ún. *transz*-membrán fehérjék elkülönítése a többi membrán-kötött fehérjétől egy olyan lépéssel kezdődik, amelyben valamilyen segédanyag (detergens) hozzáadásával megbontjuk a biológiai membránok szerkezetét és mesterséges környezetbe visszük a fehérjéket. Az utóbbi években az eddig megszokott és klasszikus detergens mellett megjelentek olyan új anyagok is, amelyekről azt tartják, hogy az integráns membrán fehérjéket a közvetlen lipid környezetükkel együtt vonják ki a membránokból, ezáltal is biztosítva a biológiai funkció megmaradását *in vitro* környezetben is. Ilyen új anyagok a sztirol-maleinsav (SMA) kopolimerek [1,2]. Két ilyen kopolimer néhány alapvető szolubilizálási tulajdonságát mutatjuk meg egy élesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) sejtekben kifejezett, rekombináns citokróm *b561* (CYB561) fehérjének a szolubilizálásán keresztül.

Az élesztő sejteket üveggolyós malomban (bead-beater) összetörtük, majd a kapott homogenátumból differenciál centrifugálással elkülönítettük az ún. nehéz membrán és mikroszómális membrán frakciót [3]. Mindkét frakció esetében megpróbáltuk szolubilizálni (oldatba vinni) az integráns membrán fehérjéket SMA(2:1) és SMA(3:1) kopolimerekkel. Összehasonlításként az általánosan használt dodecil-maltozid (DDM) detergenssel kapott eredmények szolgáltak. UV/Vis spektroszkópiai, dinamikus fényszórási, atomerő-mikroszkópos és transzmissziós elektronmikroszkópos mérések eredményei alapján azt mondhatjuk, hogy

- a SMA(2:1) kopolimer a DDM-al azonos hatékonyságban képes szolubilizálni a CYB561 fehérjéket, de
- a SMA(n:1) kopolimerek - a magas lineáris negatív töltéssűrűségük miatt - jelentős mértékben korlátozzák a negatív töltésű szubsztrát molekulák kölcsönhatását/hozzájutását a SMA(n:1) kopolimerrel szolubilizált fehérjékkel/fehérjékhez, valamint
- a különböző mérés technikákkal kapott eredmények a szolubilizálás végtermékeként kapott részecskék méretének magas fokú inhomogenitására utalnak.

Köszönetnyilvánítás

A jelen munkákat a GINOP (2.3.2-15-2016-00001 és 2.3.2-15-2016-00060) valamint az OTKA (K 108697 és K 116323) támogatta.

Irodalom

- [1] Jamshad M. et al. (2015) *Bioscience Reports* 35(2): 1–10.
- [2] Pardo J.J.D. et al. (2017) *European Biophysics Journal* 46: 91–101.
- [3] Bérczi A. et al. (2005) *Archives Biochemistry and Biophysics* 443: 82–92.

JEGYZETEK

P11

ABC fehérjék 3D atlasza

CSIZMADIA GEORGINA^{1,2}, TORDAI HEDVIG¹, SPAGINA ZOLTÁN^{1,3} ÉS HEGEDŰS TAMÁS^{1,2}

¹ Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

² MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport

³ Pázmány Péter Katolikus Egyetem Információs Technológiai és Bionikai Kar

Az ABC (*ATP Binding Cassette*) fehérjék különböző anyagok transzportját valósítják meg a membránon keresztül. Számos fiziológiai folyamatban játszanak fontos szerepet, hibás működésük pedig olyan betegségek kialakulásához vezethet, mint a cisztás fibrózis, a 2-es típusú cukorbetegség vagy a rákos sejtek multidrog rezisztenciája. Az ABC fehérjékkel összefüggésben lévő betegségek terápiájának tervezését jelentős mértékben elősegíti nagy felbontású szerkezetük ismerete. Ugyanakkor, mivel nagyméretű, hidrofób membránfehérjék, szerkezetük atomi szintű megismerése hagyományos nagyfelbontású módszerekkel komoly kihívást jelent. Azonban a cryo-elektron mikroszkópia és az XFEL (*X-ray Free-Electron Laser*) technológiai fejlesztésének köszönhetően az elmúlt évben számos membránfehérje, többek között ABC fehérje szerkezetet publikáltak. Munkánk során az újabb és a korábbi módszerekkel, eltérő konformációban meghatározott ABC fehérje szerkezetek összehasonlítását tűztük ki célul, amelyhez különféle bioinformatikai eszközöket és számítási biológiai algoritmusokat használunk. A domének egymáshoz képest történő elhelyezkedésének leírásához meghatározzuk a transzmembrán hélixek egymással, és a membrán normálisával bezárt szögét, és ezekhez viszonyítva a két nukleotidkötő domén helyzetét. Jellemezzük továbbá a membránba történő beágyazódásukat transzmembrán régiót becsülő módszerekkel és durva szemcsés (*coarse grain*) modellel végzett molekuláris dinamikai szimulációkkal. Eredményeink hozzájárulnak az új ABC szerkezetek minőségellenőrzéséhez, stabil konformációs állapotok azonosításához, és egy átfogó kép kialakításához az ABC fehérjék strukturális sajátosságairól.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük az MTA Bolyai ösztöndíj és NKIFH K 111678 (H.T.) támogatását.

JEGYZETEK

P12

A membránkörnyezet és a fehérje konformáció hatása epidermális növekedési faktor receptor ligandkötésére

HAJDU TÍMEA, KOVÁCS TAMÁS ÉS NAGY PÉTER

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A receptor tirozin-kinázok csoportjába tartozó epidermális növekedési faktor (EGF) receptorok fontos szerepet töltenek be az élő szervezetben, hatással vannak a sejtek növekedésére, a sejt differenciációs folyamatokra és az intracelluláris jelátviteli utakra. Munkám során azt tanulmányoztam, hogy a sejtek EGF-kötésében megfigyelhető-e valamilyen jellegű kooperativitás, illetve, hogy az milyen tényezőktől függ.

Kísérleteimhez tetrametilrodaminnal konjugált EGF-et használtam, amelyből hígítási sort készítettem, majd ezen oldatokhoz adtam a sejteket. A fluoreszcencia intenzitásokat FACS Aria III áramlási citométeren mértem. Eredményeimet a Hill-egyenlettel illesztettem, amelyben a Hill-koefficiens érték (n) jellemzi a kötődés kooperativitását, amennyiben ez 1 felett alakul, akkor pozitív, ha 1-nél kisebb, akkor negatív kooperativitás áll fenn.

A legtöbb vizsgált sejtvonal EGF-kötődése pozitívan kooperatív, kontroll esetben (A431: $n=1,26$; A431-EGFR-GFP: $n=1,46$), míg egy EGFR-GFP-t stabilan kifejező CHO sejtvonal (CHO-EGFR-GFP) esetében a Hill-koefficiens 0,96 volt.

A431 sejteket latruncullinnal kezeltem, amely meggátolja az aktin polimerizációját. A toxinnal kezelt sejtek EGF-kötési kooperativitása lecsökkent a kontrollhoz képest, itt a Hill-koefficiens 1,04-nek adódott.

Annak tanulmányozására, hogy az EGFR megfelelő glikoziláltsága befolyásolja-e a ligandkötést, tunicamycin kezelést végeztem, amely glikoziláció gátló hatásáról ismert. A kezelés hatására a Hill-együttható 0,71-re csökkent A431 sejteken.

Vizsgáltam, hogy a sejtek felszínén kifejeződő EGF receptor mennyisége hatást gyakorol-e a ligandkötés kooperativitására, így RNS interferenciával csökkentettem a sejtekben az EGFR expresszióját. Mivel ezen kísérletekhez EGFR-GFP-vel stabilan transzfektált A431 sejtvonalat használtam, a GFP intenzitásból következtethetünk az expresszió csökkenésére. A legalacsonyabb GFP intenzitással rendelkező populációk koefficiense 1,25-nek adódott.

Felmerült, hogy a jelölések ideje alatt az EGF internalizálódik-e, illetve, hogy az hatással van-e a ligandkötés kooperativitására. A431 sejteket jelöltem a fluoreszcens EGF-fel kétféleképpen: 1 és 24 órán át jégen. Az utóbbi esetben a Hill-koefficiens 1,02-nek adódott.

Összességében elmondható, hogy az EGFR glikozilációja, citoskeletonhoz való kihorgonyozása vagy aktin filamentumok általi korlátozott diffúziója szükséges a pozitívan kooperatív EGF-kötődéshez. Emellett az EGFR expressziós szintje, illetve az EGF internalizációja is döntően befolyásolja a ligandkötés kooperativitását.

JEGYZETEK

P13

***Rubrivivax gelatinosus* sejtek higanyfelvételének kinetikája és sztöchiometriája**

KIS MARIANN¹, SIPKA GÁBOR^{1,2} ÉS MARÓTI PÉTER¹

¹ Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

² MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

Az emberi tevékenységek hatására a környezetbe egyre nagyobb mennyiségű és egyre többféle nehézfém kerül, és dúsul fel mind a vizekben, mind a szárazföldeken. A nehézfém-szennyezés az egyik legfőbb környezeti kockázat a vízi környezetben élő baktériumok számára [1]. A mikroorganizmusok részt vesznek a környezetükbe található fémek átalakításában a fémionokhoz kapcsolt anyagszállítási folyamatok révén. Fontos szerepet játszanak a fémionokhoz kapcsolt transzportfolyamatok felderítésében, illetve a sejtekben akkumulálódó nehézfém ionok toxikus hatásainak megfigyelésében.

A higany bioakkumulációjának fizikai-kémiai tulajdonságai a *Rubrivivax gelatinosus* fotoszintetizáló baktériumban kémiai analitikai módszerrel (dithizon), fényindukált abszorpcióváltózással és bakterioklorofill fluoreszcencia indukcióval vizsgálható. A higanyfelvételtől a következők állapíthatók meg. 1.) Kinetikailag egy gyors (perc alatti időskála) és egy lassabb (1-30 min) lépésből áll. A gyors fázis passzív bioszorpció, amely reverzibilis, nem specifikus a fémekre nézve és független a sejt metabolizmusától. A lassú fázis az aktív folyamatokat tükrözi, és függ a sejtek metabolizmusától [2]. 2.) A higanyionok kation csatornákat is használnak az átjutáshoz, ami gátolható 50 μM Ca^{2+} koncentrációval és Ca^{2+} csatorna blokkolókkal. 3.) Neutrális pH-n a leghatékonyabb (acidikus tartományban a protonokkal versengnek, alkalikus tartományban pedig HgO csapadék keletkezik). 4.) Energiafüggő, ami aktiválható fénnel és gátolható protonofórral.

Ezek a baktériumok képesek felhalmozni saját tömegüknél jóval nagyobb mennyiségű (10^5) higanyt biofilmes életmódjuknak köszönhetően. Biofilmben a sejtek hozzáférhetősége megváltozik: 1.) a biofilmben meredek kémiai gradiens alakul ki, 2.) a sejtek köré diffúz réteg képződik, és 3.) a higany adszorbeálódik a biofilm mátrixban.

Két eltérő kötőhelyet figyelhetők meg: egy erős és egy gyenge $1 (\mu\text{M})^{-1}$ illetve $1 (\text{mM})^{-1}$ egyensúlyi kötési állandókkal. Az erős kötőhely a szulfhidril csoportoknak tulajdonítható, amelyek blokkolhatók szulfhidril módosító szerekkel, de ezeknek a száma jóval (két nagyságrenddel) kisebb, mint a gyenge kötőhelyek száma. Annak ellenére, hogy a kötőhelyek száma és affinitása hatalmas, a kötőhelyek egymástól függetlenek, vagyis a betöltöttségi állapotuk nem befolyásolja a szomszéd kötőhely kötési tulajdonságait [3].

Köszönetnyilvánítás

GINOP-2.3.2-15-2016-00001, OTKA-K 112688 (G.S) és K-17(P.M.), COST (CM1306), EFOP-3.6.2 és Photosynthesis - Life from Light (G.S).

Irodalom

- [1] Kis M, Sipka G, Asztalos E, Rázga Z, Maróti P (2015) Purple non-sulfur photosynthetic bacteria monitor environmental stresses, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **151**:110–117.
- [2] Maróti P (2016) Induction and Relaxation of Bacteriochlorophyll Fluorescence in Photosynthetic Bacteria. In „*Handbook of Photosynthesis*” (ed. M. Pessarakli), third edition, 846 pages, CRC Press, chapter 25, pp 463–483.
- [3] Kis M, Sipka G, Maróti P (2017) Stoichiometry and kinetics of mercury uptake by photosynthetic bacteria, *Photosynth Res* **132**:197–209.

JEGYZETEK

P14

Új antituberkulotikumokat tartalmazó liposzómás készítmények *in vitro* és *in vivo* stabilitásának vizsgálata

KÓSA NIKOLETTA¹, HEGEDŰS NIKOLETT³, SZIGETI KRISZTIÁN³, BÖCSKEI-ANTAL BARNABÁS¹,
HORVÁTI KATA², HERÉNYI LEVENTE¹, BÖSZE SZILVIA² ÉS VOSZKA ISTVÁN¹

¹ Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

² MTA – ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport

³ Semmelweis Egyetem Nanobiotechnológiai és *in Vivo* Képző Központ

Bevezetés: A liposzómák rendkívül sokoldalú nanorészecskék, amelyek speciális szerkezetüknek köszönhetően ígéretes gyógyszer szállító rendszerek.

A *Mycobacterium tuberculosis* által előidézett TBC világszerte az egyik legelterjedtebb fertőző betegség, amely évente körülbelül 1 millió ember halálát okozza. Számos próbálkozás történt a betegség eradikációjára, de főleg a hosszú terápia során kialakuló rezisztens törzseknek köszönhetően (MDR, XDR) mindeddig sikertelenül.

Célok: Új antituberkulotikus hatóanyagokat tartalmazó liposzómás készítmények formulálása, az előállított készítmények stabilitásának, valamint *in vitro* hatékonyságának és *in vivo* biodisztribúciójának vizsgálata.

Módszerek: Kétféle liposzómát készítettünk vékonyréteg hidratációs technikával: LIPO I.: dipalmitoil-foszfátidilkolinból (DPPC) álló liposzóma; LIPO II.: dioleoil-foszfátidiletanolamint (DOPE), koleszteril-hemiszkínátot (CHEMS) és polietilén-glikolhoz kapcsolt disztearoil-foszfátidiletanolamint (DSPE-PEG) 5:4:1 arányban tartalmazó liposzóma. Kis unilamelláris vezikulákat (SUV) extrudálással állítottunk elő. A liposzómák méreteloszlását dinamikus fényszórásméréssel követtük nyomon több héten keresztül. A liposzómás készítmények *in vitro* sejtbejutását és citotoxicitását MonoMac6 humán monocita sejteken, áramlási citometriával vizsgáltuk. Továbbá tanulmányoztuk a készítmények *in vitro* hatását *H37Rv M. tuberculosis* kultúrával fertőzött MonoMac6 humán monocita sejteken (intracelluláris baktérium modell).

Az előállított liposzómás készítmények *in vivo* biodisztribúcióját fluoreszcens módszerrel (FOBI) vizsgáltuk egér modellen.

Eredmények: A LIPO II. típusú liposzómák lényegesen stabilabbak voltak a LIPO I. liposzómáknál, továbbá általánosan elmondható, hogy a hatóanyagokat tartalmazó vezikulák stabilitása a tárolási hőmérséklettől nagymértékben függött. *In vitro* a liposzómás készítmények sejtbejutása hatékonyabb a szabad hatóanyag sejtbejutásánál. A liposzómás készítmények gátolják az intracelluláris baktériumok szaporodását, míg a szabad hatóanyagoknak nem volt hatásuk a fertőzött MonoMac-6 sejteken.

MDR: MultiDrug Resistant

XDR: Extensively Drug Resistant

FOBI: Fluorescence labeled Organism Bioimaging Instrument

JEGYZETEK

P15

Az IL-9 és IL-2 receptorok térbeli viszonyának biofizikai analízise humán T limfóma sejteken

NIZSALÓCZKI ENIKŐ, NAGY PÉTER, CSOMÓS ISTVÁN, VÁMOSI GYÖRGY, MÁTYUS LÁSZLÓ ÉS
BODNÁR ANDREA

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A heterodimer IL-9 receptor az IL-9 specifikus α láncból és a γ_c alegységből áll, amely több más citokin receptorának is alkotóeleme. Az IL-9 α lánc expressziója elsősorban a heterotrimer IL-2R-t is kifejező T sejteken figyelhető meg, ahol az IL-2 fontos szabályozó szerepet tölt be. Miután az IL-2 és IL-9 receptorok közös jelátvivő γ_c alegységgel rendelkeznek, felmerül a kérdés, hogy vajon a két receptor egymástól függetlenül működik-e vagy közös receptor komplexet kialakítva fejtik ki hatásukat, illetve, hogy a receptor alegységek kapcsolatát hogyan befolyásolja a citokinek kötődése.

Konfokális mikroszkópiás vizsgálataink alapján az IL-9R és IL-2R részben közös membrán doménekben helyezkedik el humán T-limfóma sejtek felszínén, ugyanakkor – akár egyazon sejt felszínén is – a két fehérje egymástól különálló (szegregált) membránrégiókban is megtalálható. IL-2 mentes médiumban tenyésztett sejteken az IL-9 α és IL-2 α átfedésének mértéke csökkent, ami az IL-2 szabályozó szerepére utalhat az IL-9R sejtfelszíni eloszlásának kialakításában. Rövidtávú IL-9 kezelés hatására a két receptor doménszintű elrendeződése nem változott, ugyanakkor az egyes alegységek között detektálhat FRET hatásfoka módosult. Ez utóbbi eredmény arra utalhat, hogy az IL-9 kötődése az IL-2/9R komplex konformációjának megváltozását és/vagy a receptor alegységek nanométeres távolságskálán történő laterális átrendeződését okozza.

JEGYZETEK

P16

Erős fény elleni védelem intakt fotoszintetizáló baktériumokban: hogyan oltják ki a bakterioklorofill fluoreszcenciát a karotenoid tripletek?

SIPKA GÁBOR^{1,2} ÉS MARÓTI PÉTER¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

²MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

A fotoszintetikus baktériumok intenzív fénygerjesztése során a pigmentek különböző triplett állapotai felhalmozódhatnak, ami káros hatásokhoz vezethetnek [1,2]. Kísérleteinkben a fény-indukált karotenoid tripletek (³Car) keletkezését és élettartamát a bakterioklorofill (BChl) fluoreszcencia megfigyelésével vizsgáltuk különböző fotoszintetikus baktériumokban, köztük *Rvx. gelatinosus* (anaerob és semianaerob) [3], *Rsp. Rubrum*, *Thio. Roseopersicina*, *Rba. Sphaeroides* 2.4.1 valamint karotenoid és citokróm módosított mutánsokkal: *Rba. Sphaeroides* Ga, R-26 és *cycA*.

A következőkben az eredmények kaptuk:

- (i) A BChl fluoreszcencia intenzitás ³Car általi kioltását figyeltünk meg a fotokémiai emelkedés alatt és nem csak azt követően, ez arra enged következtetni, hogy a reakciócentrumban (RC) a töltéssztévalasztás és a karotenoid triplett keletkezése nem egymást követő, hanem párhuzamos folyamat.
- (ii) A ³Car fotoprotektív funkciója nem korlátozódik kizárólag csak a RC-ra, és leírható egy olyan modellel, amelyben a karotinoidok a BChl pigmentek által meghatározott pigmentrendszerben (tő-rendszerben) oszlanak el.
- (iii) Az intakt sejtekben a ³Car megfigyelt élettartama a bakteriális törzsben különböző számú konjugált kettős kötással előforduló karotenoidok élettartamainak súlyozott átlaga.
- (iv) Fénygerjesztés alatt mért ³Car élettartama lényegesen rövidebb (1-2 µs), mint a fény-indukció után (sötétben) mért ³Car élettartama (2-10 µs). Ez az eltérő viselkedés a ³Car dinamikájának fontosságát mutatja a relaxáció előtt [4].

Az eredményeket nemcsak a ³Car energiaszintjei, hanem a karotenoid gerjesztett triplett állapotában lévő különböző alsóbb szintek közötti átmenetek kinetikájának szempontjából is tárgyalom.

Köszönetnyilvánítás

GINOP-2.3.2-15-2016-00001, OTKA-K 112688 (S.G.) és K-17(M.P.), COST (CM1306), EFOP-3.6.2 és Photosynthesis - Life from Light (S.G.).

Irodalom

- [1] Asztalos E, Sipka G, Maróti P (2015) *Photosynth Res* 124(1):31–44.
- [2] Maróti P (2016) In „Handbook of Photosynthesis” (ed. M. Pessarakli), 3rd edition, ch. 25, pp 463-483.
- [3] Kis M, Sipka G, Asztalos E, Rázga Z, Maróti P (2015) *J Photochem Photobiol B: Biology* 151:110–117.
- [4] Sipka G és Maróti P (beküldve) *Photosynth Res*.

JEGYZETEK

P17

Tilakoidmembránok szerkezeti rugalmasságának követése kisszögű neutronszerzés segítségével fiziológiai körülmények között

ÜNNEP RENÁTA¹, SZÉKELY NOÉMI KINGA², SUMAN PAUL³, ZSIROS OTTÓ⁴, KOVÁCS LÁSZLÓ⁴,
NAGY GERGELY^{1,2}, ALFRED R. HOLZWARTH³ ÉS GARAB GYÖZÖ⁴

¹ Wigner Fizikai Kutatóközpont, Szilárdtestfizikai és Optikai Intézet

² Jülich Centre for Neutron Science, Forschungszentrum Jülich GmbH, Germany

³ Max-Planck-Institute for Chemical Energy Conversion, Germany

⁴ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológia Intézet

⁵ Laboratory for Neutron Scattering and Imaging, Paul Scherrer Institute, Switzerland

Oxigéntermelő fotoszintetikus szervezetekben a fényreakciók a tilakoidmembránban játszódnak le. Ezek a membránok tartalmazzák az energiaátalakító apparátus szinte minden alkotórészét. Az elmúlt évtizedekben ismereteink a kulcsfontosságú fotoszintetikus fehérje komplexek szerkezetéről és funkciójáról nagymértékben gazdagodtak. Ugyanakkor kevesebbet tudunk a multilamelláris tilakoidmembrán-rendszer makro-szerveződéséről és azokról a mechanizmusokról, amelyek különböző regulációs mechanizmusokban vesznek részt, finomhangolva a fotoszintetikus apparátust az általában széles tartományban változó környezeti körülményekhez. A kérdéskör vizsgálatában nem-invazív szerkezetvizsgáló módszerek, mint pl. kisszögű neutronszerzés (SANS), nagy segítséget nyújtanak. A SANS technika fiziológiailag releváns körülmények között pontos szerkezeti információt szolgáltat a membránrendszerrel és lehetővé teszi kinetikai mérések elvégzését; eredményeinket az alábbiakban összegzem.

Összefüggést találtunk az intakt levélben található tilakoidmembrán-rendszer és a SANS jel között. Többek között ez az összefüggés vezetett rá arra, hogy az izolált tilakoidmembránról származó Bragg csúcs eredete a gránum, és nem a sztróma tilakoid, mint ahogyan korábban feltételezték. Megmutattuk, hogy a széles körben alkalmazott izolálási módszer, amiben ozmotikumként szorbitolt használnak, megváltoztatja a tilakoidmembrán natív szerkezetét, illetve a helyette ozmotikumként használt NaCl sokkal jobban megőrzi az *in vivo* szerkezetet és a dinamikai sajátosságokat [1]. Vad típusú és mutáns *Chlamydomonas reinhardtii* zöldalga sejteken megmutattuk, első alkalommal *in vivo*, hogy a széles körben tanulmányozott kromatikus adaptációs mechanizmus, az ún. state tranzíció módosítja a tilakoidmembrán ultrastrukturáját. Ezek az eredmények a state tranzíció újszerű modelljének megalkotásához vezettek [2]. Az ún. energiafüggő fényvédő mechanizmus (qE NPQ) működése a tilakoidmembrán belső vizes fázisának savasodásától függ, ezért megvizsgáltuk alacsony pH hatását izolált tilakoidmembrán-rendszeren. Ezt összefüggésbe tudtuk hozni *Monstera* leveleken végzett, fényindukált reverzibilis SANS és fluoreszcencia (NPQ) kísérleteink eredményeivel.

Irodalom

[1] Ünnepe R. és mtsai. (2014) *Biochim Biophys Acta-Bioenergetics* 1837: 1572-1580.

[2] Nagy N. és mtsai. (2014) *P. Natl Acad Sci USA* 111: 5042-5047.

[3] Ünnepe R. és mtsai. (2017) *Biochim Biophys Acta-Bioenergetics* 1858: 360-365.

JEGYZETEK

P18

A Kv1.3 ioncsatorna C-terminális függő membránlokalizációja és kapuzása

VÖRÖS ORSOLYA¹, BALAJTHY ANDRÁS¹, SZILÁGYI ORSOLYA¹, PANYI GYÖRGY¹, HAJDU PÉTER^{1,2}

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

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

A Kv1.3 ioncsatorna számos sejtben, így az immunsejtekben, köztük a T limfocitában is expresszálódik. A Kv1.3 részt vesz a membránpotenciál szabályozásában, amely a megfelelő Ca^{2+} jelátvitelhez, és ezáltal a T sejtek aktivációjához és proliferációjához nélkülözhetetlen. A Kv1.3 ioncsatorna kijutása a sejtmembránba elengedhetetlen a megfelelő adaptív immunválaszhoz, melyet az eddigi feltételezések szerint a csatorna C-terminálisa irányít.

Kísérleteink során a membránlokalizáció meghatározására két Kv1.3 pontmutánst alkalmaztunk: az A413V mutáns extrém gyors inaktivációs kinetikával rendelkezik a vad-típusú csatornához képest, míg a H399K mutáció egy tetraetil-ammónium inszenzitív fenotípust eredményez. Kimutattuk, hogy mindkét pontmutáns csatorna a C-terminális delécióját követően képes kijutni a membránba (A413V- Δ C és H399K- Δ C konstruktok), valamint a rajtuk mérhető áram sajátságai megegyeznek a teljes C-terminálissal rendelkező csatornákéval (A413V-FL ill. H399K-FL).

Ha az S6 transzmembrán hélix után közvetlenül elhelyezkedő "HRET" szekvenciát - melyről korábban kimutatták, hogy meghatározza, ill. szabályozza a sejtfelszíni expressziót/funkciót bizonyos Kv csatornáknál - a C-terminális további részével együtt eltávolítottuk (A413V-NOHRET és H399K-NOHRET) egy nem funkcionális, de a membránlokalizációt mutató Kv1.3 variáns jött létre. Továbbá a NOHRET mutánsok nem mutattak kapuzási töltés elmozdulást (gating-charge) depolarizáció során, így feltételezhető, hogy a HRET és az S4-S5 linker közötti kölcsönhatás hiánya miatt a csatorna aktivációs kapuzása sérül.

A HRET(E) szekvencia szerepének tisztázása végett a vad-típusú Kv1.3 csatorna HRETE régióját eltávolítottuk (WT-XHRETE), vagy a helyére öt irreleváns alanint illesztettünk (WT-polyA) a C-terminális további részét meghagyva. Eredményeink azt mutatták, hogy a HRETE szekvencia e két módosítása a teljes hosszúságú C-terminálissal rendelkező, vad-típusú csatorna biofizikai sajátságaival megegyező ioncsatorna fenotípusokat eredményezett.

Eredményeink alátámasztják azon hipotéziseinket, hogy a Kv1.3 csatorna C-terminálisa nem vesz részt a membránba történő kijutásban, valamint a HRET(E) szekvencia sem játszik kitéüntetett szerepet a csatorna működésében.

JEGYZETEK

P19

A rádiófrekvenciás sugárzás biológiai hatásának vizsgálata emlős sejtekben

BANKÓ CSABA¹, DOMJÁN BRIGITTA¹, KOLLÁR ERNŐ², SZOMBATHY CSABA³ ÉS BACSÓ ZSOLT¹

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvosi Kar Biofizika és Sejtbiológia Intézet; ²Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Villamosmérnöki és Informatikai Kar, Elektronikus Eszközök Tanszéke; ³Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Villamosmérnöki és Informatikai Kar, Szélessávú Hírközlés és Villamosságtan Tanszék.

Bevezetés: Az ionizáló sugárzások direkt DNS károsító hatása jól ismert. A mobiltelefonia által használt rádiófrekvenciás (RF) sugárzások káros biológiai hatásai ugyanakkor nem egyértelműek. A vezeték nélküli kommunikáció robbanásszerű terjedése miatt, közérdeklődésre tart számot az RF sugárzások biológiai hatásainak pontosabb megismerése.

Anyagok és módszerek: A kísérleteinkben Jurkat-sejtvonalon Halo-esszét alkalmaztunk, ami a DNS fizikai töréseire specifikus módszer. Mivel ezzel a módszerrel nem tudtunk különbséget kimutatni az RF kezelt és kontroll sejtek között, ezért egy érzékenyebb módszert kerestünk a DNS-ben történő esetleges változások kimutatására. A H2AX foszforiláció (γ -H2AX) a DNS kétszál törés egyik legkorábban azonosítható jelátviteli lépése a DNS kijavításnak. A H2AX, a H2A hisztonfehérje egyik módosulása. Indirekt immun fluoreszcens esszével γ -H2AX intenzitásbeli változást vizsgáltunk HeLa és HEK sejteken lézer-szkennig citométer (LSC) segítségével. Továbbá áramlási citométer segítségével ugyanezen sejtvonalakon hőmérsékletfüggést vizsgáltunk.

Eredmények: Az általunk használt RF sugárzás a tenyésztő edény területeit különböző mértékben melegítette. Infravörös kamerás felvételtől látható, hogy besugárzás hatására Hotspot és No Hotspot területek jelentek meg. Ezek között a területek között félvezető termisztor hőmértékkel meghatároztuk a pontos hőmérséklet különbséget és azt is láttuk, hogy a médium mennyisége is befolyásolja a melegedés mértékét. Szobahőmérsékleten és 37 °C-os inkubátorban is megvizsgáltuk az RF sugárzás közben fellépő hőmérsékletváltozás γ -H2AX változtató hatását. LSC-vel mérve nem sikerült γ -H2AX aktivitást mérnünk, csak 37 °C-ról indulva HEK sejteken. Áramlási citometria alkalmazásával (FACS ARIA) összefüggést találtunk a hőmérsékletemelkedés és a γ -H2AX aktivitás között. A γ -H2AX intenzitásokban a két sejtvonalon különbség figyelhető meg.

Konklúzió: Eredményeinket összegezve elmondható, hogy az RF sugárzás nem okoz DNS károsodást. Az RF kezelés képes emelni a hőmérsékletet. A szobahőmérsékletről történő besugarazásnál nem sikerült γ -H2AX intenzitásbeli változást kimutatni sem HeLa sem HEK sejtekben, 37 °C-ról viszont HEK sejtekben igen. A hőmérséklet változtatásával 0-45 °C között sikerült hőmérsékleti mintázatot kimutatnunk, ami azt mutatja, hogy a hőmérséklettel arányosan változik a γ -H2AX.

JEGYZETEK

P20

Flightless I fehérje szerepe az aktin sejtvázszerveződésében

FÓRIZS JUDIT VIKTÓRIA, PINTÉR RÉKA, HUBER TAMÁS, VIG ANDREA TERÉZ, TÓTH MÓNICA
ÁGNES ÉS BUGYI BEÁTA

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet

A Flightless I egy viszonylag újonnan azonosított fehérje, amely egyedi felépítésével két fehérjecsalád; a leucine-rich-repeat (LRR) és gelsolin homológ (GH) fehérjék szerkezeti jellemzőit ötvözi. A GH fehérjék eddig azonosított tagjai az aktin sejtvázszerveződésében játszanak szerepet. A Flightless I széleskörű szöveti eloszlást mutat, legnagyobb mértékben a váz-, és szívizom, valamint az idegsejtekben fordul elő. A Flightless I egyrészt a sejtmagban fejeződik ki, ahol hormon-aktivált nukleáris receptor ko-aktivátorként funkcionál. Szérum hatására a fehérje citoplazmatikus transzlokációja figyelhető meg. A citoplazmában a sejtmigrációhoz kapcsolódó képletekhez asszociált, amelyen keresztül a sebgyógyulás és szöveti regeneráció folyamatának negatív szabályozója lehet.

Munkánk során elsőként a Flightless I citoplazmatikus biológiai funkciójának háttérében álló molekuláris mechanizmusok vizsgálatát tűztük ki célul. Ennek érdekében a fehérje, valamint egyes szakaszainak aktinnal kialakított kölcsönhatásait tanulmányoztuk *in vitro* rendszerekben.

Eredményeink szerint a Flightless I GH1-6 szakasza kölcsönhat az aktin a filamentumokkal, amely révén sapkafehérjeként gátolja azok elongációját. A GH1-3 régió ezen kívül képes az aktin monomerekhez is kötődni, és ezen keresztül a filamentumok nukleációját elősegíteni. Ezt az aktivitást a profilin gátolja, aminek háttérében a két fehérjének az aktinhoz való kompetitív kötődése állhat. A GH4-6 régió valamint a LRR nem befolyásolja az aktin dinamikáját. A gelsolinnal ellentétben a Flightless I aktin aktivitásai nem Ca^{2+} -szabályozottak, ami azzal magyarázható, hogy a legfőbb Ca^{2+} -kötő helyek nem konzerváltak a két fehérjében.

Az eredményeink alapján felállított modell szerint a Flightless I sapkázó aktivitásán keresztül gátolhatja az aktin filamentumok növekedését, ezáltal negatív módon befolyásolhatja a sejtmigrációt, amely kulcsfontosságú a sebgyógyulás és szöveti regeneráció folyamatában.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg. A kutatás Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-16-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

JEGYZETEK

P21

A von Willebrand faktor axiális szerkezete és kollagén kötő képessége

CSÁNYI MÁRIA CSILLA, FELLER TÍMEA, BOZÓ TAMÁS, KELLERMAYER MIKLÓS S. Z. ÉS
HÁRSFALVI JOLÁN

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A von Willebrand faktor (VWF) konkatamer glikoprotein, amely méretfüggően közvetíti a trombociták adhézióját, aggregációját és prokoaguláns aktivitását az érsérülés helyén. Aktivitásuk nyíróerő függő. A VW konkatamer azonos egységekből felépülő, lineáris glikoprotein. A VW monomer C-terminális diszulfid kötésekkel dimerizálódik, majd N-terminális diszulfid kötésekkel különböző dimer számú konkatamerek képződnek. Molekulatömegük a keringésben 0,5-20 MDa [1]. A VW konkatamerek hosszúság eloszlása fehérjeszintézis és processzálas során, illetve a vérkeringésben is szabályozott. A nagy molekulatömegű konkatamerek hiánya vérzéses (VW betegség), többete trombotikus eseményekhez vezethet [2].

Biofizikai és biokémiai vizsgálataink célja a VW konkatamerek aktivitása, molekulatömege és morfológiai jellemzői közötti összefüggések megállapítása.

VW konkatamereit molekulatömeg vagy heparin affinitás szerint frakcionáltuk (Sephacrose CL2B vagy HiTrap Heparin HP), terápiás készítményből. A VWF koncentrációt (VWF:Ag) és kollagén kötő aktivitást (VWF:CB) szirárdfázisú enzim immuno módszerrel határoztuk meg. A konkatamerek molekulatömeg szerinti eloszlását SDS-agaróz elektroforézis, immunoblot és denzitometria alkalmazásával határoztuk meg [3]. A hosszúság szerinti eloszlást atomerő mikroszkóppal (AFM) vizsgáltuk. A csillámpala felszínhez rögzített VW konkatamerek kontúrhosszait manuálisan mértük az AFM képeken. A számításokhoz, statisztikai analízisekhez MS Excel és GraphPad Prism programokat használtunk.

Eredményeink szerint a VW konkatamerek 2410-100 nm hosszú, 15-30 nm-es globuláris egységek ismétlődéséből felépülő láncok. A hosszabb és a rövidebb láncok frakciói szerint a VWF:CB/VWF:Ag arány 1,5 – 0,5 között, a molekulatömeg felső 25%-os határa (M_{MW25}) 8,6 – 3,1 MDa között van. Jó korrelációt találtunk a VWF:CB/VWF:Ag és VWF hossz ($r=0,9$, $p<0,001$), valamint a VWF:CB/VWF:Ag és M_{MW25} ($r=0,9$, $p<0,001$) között.

A mérések nehézsége, hogy a nagy konkatamerek könnyen eltűnnek a mintákból, mivel a VWF krioglobulin. A tárolási körülmények (hőmérséklet, puffer és ionerő, kaotropikus molekulák) hatásának vizsgálata folyamatban van.

Eredményeink jelentősége, hogy méréseink a VWF axiális szerkezetéről és molekulatömegéről számszerű adatokat szolgáltatnak. Az adatok a méretfüggő tulajdonságok közötti összefüggések folytonos változókkal való kifejezései. Ezek statisztikai analízise hozzájárulhat betegségállapotok bizonyítékán alapuló jellemzéséhez.

Irodalom

- [1] Springer TA, (2014) *Blood*, 124(9): 1412-25.
- [2] Stockschlaeder M, Schneppenheim R, Budde U, (2014) *Blood Coagul Fibrinolysis*, 25(3): 206-16.
- [3] Udvardy ML, Szekeres-Csiki K, Harsfalvi J, (2009) *Thromb Haemost*, 102(2): 412-7.

JEGYZETEK

P22

A teljes hosszúságú humán K-Ras4B fehérje konformációs állapotainak feltérképezése

DUDÁS BÁLINT^{1,2}, MERZEL FRANCI³, PERAHIA DAVID⁴ ÉS ERIKA BALOG¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest*

² *Pázmány Péter Katolikus Egyetem, ITK, Budapest*

³ *Laboratory for Molecular Modelling, National Institute of Chemistry, Ljubljana*

⁴ *Laboratoire de Biologie et de Pharmacologie Appliquée, Ecole Normale Supérieure de Cachan, Párizs*

A Ras fehérjék napjaink rákkutatásának élvonalában helyezkednek el. Az elmúlt évtizedek intenzív kutatásainak ellenére sem sikerült ez idáig hatékony Ras inhibitorot felfedezni. Ez két fő okra vezethető vissza. Egyrészt, nehéz a Rast közvetlen támadni, mert az onkogén mutáns fehérje aktív állapotában rögzül (GTP kötött állapot). A sejt belsejében található magas GTP koncentráció és a fehérje eredendően alacsony belső GTPáz aktivitása szinte lehetetlenné teszi az ez irányú törekvéseket. Másrészt, nem találtak megfelelő kis molekula kötőhelyet a fehérje felületén. Ezek alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a Ras allosztérikusan sem gátolható.

Az utóbbi években egyre elfogadottabbá válik az a megközelítés, mely szerint eddigi képünk a Ras szerkezetéről és működési mechanizmusáról leginkább statikus szerkezeten alapul és míg működésének megértéséhez figyelembe kellene venni a konformációs dinamikát és az allosztérikus hatásokat.

A kutatásunk célja, hogy feltérképezzük a GDP kötött inaktív és GTP kötött aktív fehérje konformációs terét, kimutassuk a HVR (hiper-variábilis régió) és a katalitikus domain közötti kölcsönhatásokat és felfedezzük a két aktivációs-állapot közötti hasonlóságokat, különbségeket.

JEGYZETEK

P23

Az autoinhibált Ralf aktivációs mechanizmusa

BALOG ERIKA¹, DUDÁS BÁLINT^{1,2}, FRANCOIS PEROUS³, DAVID PERAHIA³ ÉS JACQUELINE
CHERFILS³

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 de Cachan,
Párizs*

Kis GTPázok a sejtben belüli jelátadást valamint a membrántranszportot szabályozzák. Molekuláris kapcsolóként működnek: nyugalomban lévő sejtben a citoszolban GDP-kötött inaktív állapotuk, ill. a sejt stimulációja következtében GTP-kötött, membránhoz csatolt aktív állapotuk között váltakoznak. A GDP/GTP kicserélődés a guanin nukleotid kicserélő faktorok (GEF) által szabályozott, amelyek katalizálják az önmagában lassú GDP/GTP átalakulást. Aktív állapotban a kis GTPázok membránhoz kötött konformációja kölcsön tud hatni a jelátviteli folyamatban szerepet játszó effektorokkal.

A célsejt meghódítása és annak megsemmisítése ellen a bakteriális károsítók fehérjét injektálnak a gazdasejt citoszoljába, melyek a kis GTPázok szabályozóiként fognak működni. A Ralf fehérje a *legionella pneumophila* baktérium (mely súlyos tüdőgyulladást okoz) egyik GEF-je, mely 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. Ennek mechanizmusa nem ismert. Jelen munkánkban a Ralf autoinhibációból való feloldásának mechanizmusát és membrán-kötött aktivált konformációját térképezzük fel MDeNM (Molecular Dynamics With Excited Normal Modes) módszer alkalmazásával.

JEGYZETEK

P24

Glikált kollagén fibrillumok strukturális és mechanikai tulajdonságainak vizsgálata másodharmonikus keltés módszerével és atomerő mikroszkópiával

HALUSZKA DÓRA, KISPETIK KATALIN, HÁRSFALVI JOLÁN ÉS KELLERMAYER MIKLÓS

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A kollagén egy extracelluláris kötőszöveti fehérje, különösen nagy mennyiségben fordul elő a bőrben, csontokban, ínokban és az erek falában. Szerkezetére általánosságban jellemző, hogy a tropokollagén alegységekből felépülő triplahélixek összetettebb szerkezetű rostokat alkotnak.

A kollagénhez köthető megbetegedések közül a genetikai mutációk a szintézis különböző lépéseiben okoznak hibákat, amelyek a rostok deformitását, ezáltal a kötőszövetek szakítószilárdságának gyengülését eredményezik. Az örökletes kötőszöveti betegségek előfordulása azonban ritka. Ennek ellenére számos olyan élettani folyamat ismert, amely a kollagén fibrillumok töredezését, deformációját okozza. Nem-enzimatis glikációnak nevezzük azt a több lépésben zajló, egy idő után irreverzibilissé váló folyamatot, amely redukáló cukrok (glükóz, fruktóz, ribóz) és fehérjék aminocsoportja között játszódik le. Fiziológias körülmények között a kollagén rostok kovalens kötéssel kapcsolódnak egymáshoz, azonban a glikáció során olyan merev keresztkötések jönnek létre, amelyek a rostok összetapadását okozzák, így azok elvesztik rugalmasságukat. Bár a normál I-es típusú kollagén szerkezete és mechanikája aránylag jól ismert, az hogy a fibrillumok mechanikája hogyan változik glikáció hatására, még nem vizsgált kellő részletességgel [1 – 3].

Munkánk során *ex vivo* egér hát bőr dermális kollagén glikációját vizsgáltuk a másodharmonikus keltés módszerével (SHG) és atomerő mikroszkópiával (AFM). A kollagén glikációját ribózzal indukáltuk [4]. Az *ex vivo* mintákon a 0. 9. 19. és 32. napon végeztünk SHG méréseket, majd a kísérlet végén atomerő mikroszkópiával erőterképet vettünk fel, valamint meghatároztuk a szöveti rugalmasságot. Az SHG felvételek alapján azt tapasztaltuk, hogy a glikáció időtartamával arányosan az SHG intenzitás csökken, ami a megváltozott kollagén szerkezet következménye. A mechanikai tulajdonságokat illetően a glikált minta nagyfokú szöveti merevedését tapasztaltunk.

Irodalom

- [1] Vesentini S, Redaelli A, Gautieri A (2013) *Muscles Ligaments Tendons J* 3: 23-34.
- [2] Varma S, Orgel JP, Schieber JD (2016) *Biophys J* 111: 50-6.
- [3] Argyropoulos AJ, Robichaud P, Balimunkwe RM, Fisher GJ, Hammerberg C, Yan Y, Quan T (2016) *PLoS One* 11: e0153806.

JEGYZETEK

P25

TR100 hatása a membrán nanocső hálózatokra

HENCZ ALEXANDRA JÚLIA¹, NYITRAI MIKLÓS^{1,2}, BUGYI BEÁTA^{1,2}, MADARÁSZ TAMÁS¹, HALÁSZ HENRIETT¹, TÜRMEK KATALIN¹, PETER GUNNING³, MATKÓ JÁNOS⁴, SZABÓ-MELEG EDINA^{1,2}

¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar Biofizikai Intézet

² Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont

³ School of Medical Sciences, UNSW Sydney, NSW, 2052 Ausztrália

⁴ Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar Immunológiai Tanszék

Az egysejtű és többsejtű organizmusok számára a sejtek között létrejövő kommunikáció alapvető fontosságú az összetett fiziológiai folyamatok szabályozásában, így például meghatározó jelentőségű a morfogenezisben, a homeosztázisban és az immunválaszban is. Az intercelluláris jelátvitelnek egyik lehetséges módját képezik a membrán nanocsövek (TNT). E vékony, F-aktin alapú tubuláris kapcsoló struktúrák nagyobb távolságon belül is képesek fizikai összeköttetést kialakítani a sejtek között. Funkcionális szempontból nagyfokú heterogenitás jellemzi őket, ugyanis nem csak a szignál transzferben játszanak szerepet, hanem mellette számos anyag (pl. nukleinsavak, fehérjék, vezikulumok, mitokondriumok, endoplazmatikus retikulum) transzportját is lehetővé teszik, valamint a vírusok, a baktériumok és a prionok intercelluláris terjedéséhez is hozzájárulhatnak. Továbbá a sejt-sejt kölcsönhatásnak e formája az *in vitro* kísérletek alapján elősegíti a rákos sejtek metasztázisát és migrációját, illetve a kemoterápiás szerekek szembeni rezisztencia továbbadásának gyors és hatékony útvonalát képviseli. A malignus tumorsejtek osztódásának és terjedésének gátlására a kemoterápiában korábban már számos vegyületet kifejlesztettek, azonban ezek jelentős része súlyos mellékhatásokkal bír és gyakori jelenség, hogy a rezisztencia korán kialakul velük szemben, valamint a variábilis ráktípusok gyakran érzéketlenek e hatóanyagokra. Ezeknek a kiküszöbölésére ideális lehetőséget nyújthat a jövőben az anti-tropomiozinok alkalmazása, amely vegyületek a tumorsejtek aktin citoskeletonját szabályozó, overexpresszált Tpm3.1/2 citoskeletális tropomiozin izoformákra fejtik ki hatásukat.

Az anti-tropomiozinok közé sorolható TR100 az aktin filamentum depolimerizációjának fokozásán keresztül rendkívül tumorspecifikus módon képes a rákos sejteket elpusztítani. A klinikai fázisban levő inhibitornak egyik nagy előnye más anti-aktin szerekekkel szemben, hogy a kardiális struktúrában és annak funkciójában nem okoz károsodást. Vizsgálataink során strukturált megvilágítású mikroszkópiás (SIM) képalkotó eljárással kívántuk vizualizálni a TR100 TNT hálózatra, illetve azok aktin citoskeletonjára gyakorolt hatását. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a kezelés során a sejtek TNT formáló képességében változás állt be.

JEGYZETEK

P26

A Disheveled-Associated Activator of Morphogenesis (DAAM) formin szerepe az aktin dinamikájában

PINTÉR RÉKA, FÓRIZS JUDIT VIKTÓRIA, **HUBER TAMÁS**, VIG ANDREA TERÉZ, BUGYI BEÁTA

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet

A DAAM a „Diaphanous-related” forminok (DRF) családjába tartozó fehérje, amely az aktin citoskeleton szabályozásán keresztül számos biológiai folyamat nélkülözhetetlen szereplője. A DAAM szerepet játszik a tracheasejtek apikális felszíne alatti aktin kábelek szerveződésében, elősegíti a filopódiumok képződését az axon növekedési kúpjában, valamint esszenciális a szarkomerogenezisben is. A DAAM két konzervált formin homológia (FH1 és FH2) domént tartalmaz, melyeket N- és C-terminális régiók vesznek közre.

A DAAM változatos biológiai funkcióinak hátterében álló molekuláris folyamatok megismerésének érdekében elsőként célul tűztük ki az egyes domének fiziko-kémiai karakterizálását.

Eredményeink szerint az FH2 domén kölcsönhat az aktinnal és nukleációs aktivitása révén elősegíti az aktin filamentumok összeszerelődését, de sapkafehérje-szerű módon gátolja azok növekedését. Az FH1 – profilin kölcsönhatás molekuláris kapcsolóként szolgál a DAAM működésében; a sapkafehérje-szerű funkciót az elongációt processzív módon elősegítő aktin polimeráz aktivitássá alakítja. Az FH1-FH2 aktivitásait az N-terminális „Diaphanous inhibitory” (DID) és a C-terminális „Diaphanous autoregulatory” (DAD) domének közötti autoinhibíciós kölcsönhatás szabályozza. Munkánk során azonosítottunk egy új, aktin-kötő szakaszt a DAAM legvégső C-terminális régiójában (CT), amely a bioinformatikai elemzések alapján rendezetlen szerkezettel rendelkezik (intrinsically disordered region, IDR). Annak ellenére, hogy az izolált CT régió képes az aktin monomerek kötésére, önmagában nem befolyásolja az aktin dinamikát. Az FH2 domén jelenlétében azonban képes a DAAM nukleációs aktivitásának és a filamentum vég-kölcsönhatásának hangolására.

Eredményeinket összefoglalva, a DAAM FH2 doménje nélkülözhetetlen az aktinnal kialakított kölcsönhatásban, jóllehet biológiai aktivitását intrinzik (FH1, DID, DAD, CT régiók) és extrinzik (profilin, sapka fehérje) faktorok is szabályozzák.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a TAMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TAMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg. A kutatás Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-16-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

JEGYZETEK

P27

Tirozinát fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálata az AppA nevű fotoaktív fehérjében

KAPRONCZAI RÓBERT, PASITKA JONATÁN, KARÁDI KRISTÓF, SZEKERES GÁBOR, GRAMA LÁSZLÓ,
NYITRAI MIKLÓS ÉS LUKÁCS ANDRÁS

Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Biofizikai Intézet

A triptofán, tekintettel arra, hogy jól detektálható a fluoreszcenciája és a legtöbb fehérjében előfordul, évtizedek óta kedvelt fluorofór a fehérjedinamikai vizsgálatok során. Intrinsic markerként nagyon népszerű azokban a spektroszkópiai vizsgálatokban, amelyek során a fehérje funkcionális dinamikáját fluoreszcencia kioltással [1], FRET-tel [2] vagy anizotrópia lecsengés segítségével [3] vizsgálják. Tekintettel arra, hogy a triptofán abszorpciós csúcsa és a szintén fluoreszcens tirozin csúcsa eltér, az esetek jelentős többségében szelektív gerjesztéssel (295 nm) el lehet kerülni a tirozin gerjesztését. A tirozin fluoreszcencia járuléka azzal is kiküszöbölhető, ha a fluoreszcencia emissziót 350 nm felett mérjük, alapesetben ebben a régióban a tirozinnek nincs jelentős járuléka, mivel a tirozin protonált alakjának az emissziós maximuma közel van a 300 nm-hez. A tirozinnek alapesetben a pK-ja 10 körül van, a mérések túlnyomó többségében tehát teljesül az, hogy az aminosav protonált alakban legyen. Az azonban, hogy ez a fehérjében is megvalósul-e ellenőrzésre szorul. A.G. Szabo még a nyolcvanas években beszámolt olyan esetekről, amelyekben a tirozin pK-ja 7 és 8 között volt. Ez azért fontos, mert a tirozin deprotonált alakjának (tirozinát) fluoreszcenciája teljesen egybevág a triptofánéval.

Az itt bemutatott munka során az AppA nevű fotoaktív fehérjén végzett vizsgálatainkról kívánunk beszámolni [4]. Az AppA esetében a tirozin pK-ja 8.5, a triptofán fluoreszcenciájának vizsgálata esetében ezzel tehát számolni kell.

Referenciák

- [1]E. Bódis, K. Raics, M. Nyitrai, Z. Majer, A. Lukács, Fluorescence lifetime distributions report on protein destabilisation in quenching experiments, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 129 (2013) 108–14.
- [2]M. Nyitrai, G. Hild, E. Bódis, a Lukács, B. Somogyi, Flexibility of myosin-subfragment-1 in its complex with actin as revealed by fluorescence resonance energy transfer, *Eur. J. Biochem.*, 267 (2000) 4334–8.
- [3]Z. Ujfalusi, M. Kovács, N.T. Nagy, S. Barkó, G. Hild, A. Lukács, M. Nyitrai, B. Bugyi, Myosin and tropomyosin stabilize the conformation of formin-nucleated actin filaments, *J. Biol. Chem.*, 287 (2012) 31894–904.
- [4]M. Unno, R. Sano, S. Masuda, T.-A. Ono, S. Yamauchi, Light-induced structural changes in the active site of the BLUF domain in AppA by Raman spectroscopy, *J. Phys. Chem. B*, 109 (2005) 12620–6.

JEGYZETEK

P28

Hazai mézek botanikai és földrajzi eredetének meghatározása analitikai és spektroszkópiai módszerekkel

KASZAB TÍMEA¹, BODOR ZSANETT², BENEDEK CSILLA², VOZÁRY ESZTER¹, KOVÁCS ZOLTÁN¹

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

² Semmelweis Egyetem Egészségtudományi Kar, Dietetikai –és Táplálkozástudomány Tanszék

A méz ősidők óta használt szer és értékes piaci termék a benne lévő hasznos tápanyagok miatt, úgy, mint mikrotápanyagok, szerves savak és antioxidánsok. Ezen tulajdonságai és magas ára miatt hamisítási eljárások célpontjává vált, amire nagyon sokféle módszer létezik a különböző országok mézkeverékeinek előállításától a cukorsziruppal való dúsításig. Az évente ismétlődő mézbotrányok rávilágítottak a magyar mézek védelmének fontosságára. Ezért szükség van olyan gyors módszerek kidolgozására, mellyel a különböző eredetű mézek beazonosíthatók. A közeli infravörös (NIR) spektroszkópia egy olyan gyors és roncsolásmentes mérési módszer, amely kielégíti ezen kívánalmakat. Munkánk célja a hazai mézek tulajdonságainak átfogó vizsgálatán túl az egyes összefüggések keresése, elsősorban a botanikai, esetleg földrajzi eredet meghatározásának céljából.

A tanulmányban 79 különböző botanikai besorolású és földrajzi eredetű mézmintát elemeztünk. A mézeket főként helyi termelőktől szereztük be, és összehasonlításként néhány kereskedelemben kapható terméket is megvizsgáltuk. A 60 hazai mézminta mellett mértünk olasz, görög és erdélyi mézeket is. Mérésink során a NIR spektroszkópiás vizsgálatokon túl teljes polifenol-tartalom, hamutartalom, törésmutató, pH és elektromos vezetőképesség került meghatározásra. Ezeket a fiziko-kémiai paramétereket az International Honey Commission leírása alapján, míg a polifenol-tartalom meghatározását Folin-Ciocalteu módszerrel végeztük. A fenti paraméterek mérése mellett Konica Minolta CR410 típusú színmérő készülékkel vizsgáltuk a mézek színtulajdonságait. A NIR abszorpciós spektrumokat Spectralyzer PCM1025 típusú spektrofotométerrel vettük fel 1000 és 2500 nm között 2 nm-es felbontással.

A kutatás során összefüggéseket találtunk a színtulajdonságok és polifenoltartalom között: negatív kapcsolatot találtunk a mézek világossága és polifenoltartalma között, valamint pozitív kapcsolatot a mézek vörössége és polifenoltartalma között.

A legalább öt különböző mintát tartalmazó fajtamézek esetében botanikailag 75%-ban, míg a földrajzi eredet esetében az elkülönítés 86%-ban volt sikeres. Ez alapján elmondható, hogy a NIR spektroszkópia alkalmas lehet a mézek botanikai és földrajzi eredetének azonosítására.

Köszönetnyilvánítás

Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP 16-2-1 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának, valamint a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatói Ösztöndíjának támogatásával.

JEGYZETEK

A miozin 16 ankyrin domén hatása az aktomiozin rendszerreHOLLÓ ALEXANDRA¹, VÉKONY ZSÓFIA¹, KENGyel ANDRÁS^{1,2} ÉS NYITRAI MIKLÓS^{1,2,3}¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet²Szentágotthai János Kutató Központ³MTA-PTE Nukleáris-Mitokondriális Interakciók Kutató Csoport

A miozin motorfehérje-család egyik kevésbé ismert tagja a nem-konvencionális miozin 16, amely a citoplazmában és a sejtmagban egyaránt megtalálható és feltételezések szerint a sejtciklus és a proliferáció szabályozásában játszhat szerepet. A miozin 16-ot legnagyobb mennyiségben a központi idegrendszer szöveteiben mutatták ki, elsősorban az idegfejlődés időszakában. Érintettsége humán kórképek, pl. a skizofrénia és az autizmus kialakulásának hátterében is valószínűsíthető. A miozin 16 fehérjék szerkezeti sajátossága a fehérje N-terminális részén található, 8 ankyrin ismétlődést tartalmazó domén (My16Ank). Korábbi vizsgálataink kimutatták, hogy a My16Ank kötődik a nehéz meromiozinhoz (HMM) és fokozza annak ATPáz aktivitását [1].

A motor funkció szabályozása kulcsfontosságú a miozin fehérjék működése szempontjából. Vizsgálatainkkal arra kerestük a választ, hogy a My16Ank a HMM melyik részéhez kapcsolódva fejti ki a hatását, illetve az ATPáz ciklus melyik lépését tudja befolyásolni. Vizsgálatainkhoz steady-state anizotrópia illetve ATPáz aktivitás mérést, valamint *in vitro* motilitási próbát használtunk, teljes belső visszaverődés fluoreszcencia mikroszkóp (TIRFM) segítségével. Kísérleteinket vázizom aktomiozin modell rendszeren végeztük.

Eredményeink azt mutatták, hogy a My16Ank a vázizom HMM-en belül közvetlenül a motor doménhez, az úgynevezett S1 fragmentumhoz képes kötődni ($KD \sim 7,01 \mu M$) és közvetlenül fokozza az S1 ATPáz aktivitását. Az *in vitro* motilitási próba során megfigyeltük, hogy a My16Ank jelenléte koncentráció függő módon fokozza az aktin filamentumok motilitási sebességét. Mivel a My16Ank közvetlenül nem képes aktint kötni, a hatás feltételezhetőleg a motor domén ADP kibocsátásának fokozásán keresztül valósulhat meg. Különböző ATP koncentrációkon elvégezve a mérést azt tapasztaltuk, hogy a My16Ank jelenlétében a motor domén alacsonyabb ATP koncentráción éri el a maximális reakciósebességet.

Eddigi eredményeink alapján a My16Ank egyik lehetséges intramolekuláris szerepe a miozin 16 motor aktivitásának szabályozása lehet, mégpedig a motor aktivitás közvetlen fokozásán keresztül.

Köszönetnyilvánítás

Az Emberi Erőforrások Minisztériuma UNKP-16-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült

Irodalom

[1] Kengyel et. al. (2015) Eur Biophys J 44(4): 207–18.

P30

SALS, egy rendezetlen fehérje szerepe a szarkomerogenezis során

PINTÉR RÉKA¹, FÓRIZS JUDIT VIKTÓRIA¹, HUBER TAMÁS¹, VIG ANDREA TERÉZ¹, TÓTH MÓNICA ÁGNES¹, KALMÁR LAJOS^{2,3} ÉS BUGYI BEÁTA¹

¹Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai Intézet

²Enzimológiai Intézet, Természettudományi Kutatóközpont, Magyar Tudományos Akadémia

³Department of Veterinary Medicine, University of Cambridge

A Sarcomere length short (SALS) egy aktin-kötő, Wiskott-Aldrich szindróma homológ (WH2) doméneket tartalmazó fehérje, amely alapvető szerepet játszik a szarkomer aktin filamentumainak összeszerelődésében és szerkezeti rendezettségének kialakításában. Hiányában az aktin filamentumok megrövidülnek, rendezettségük megbomlik, ami izomműködési problémákhoz vezethet, embrionális korban pedig letális. A WH2 motívum sok más aktin sejtvázas működését szabályozó fehérjecsaldában is megtalálható. A WH2 domén fehérjék sajátossága, hogy funkcionális szempontból rendkívül sokoldalúak. A SALS funkciójának pontosabb megértése érdekében, már korábban is végeztünk vizsgálatokat, melynek során a SALS két WH2 doménje és az aktin közötti kölcsönhatásokat tanulmányoztuk (SALS-WH2). A vizsgálatok kiderítették, hogy a SALS-WH2 az aktin monomerhez kötődve meggátolja azok filamentummá szerveződését, valamint a filamentumokkal való kölcsönhatása révén segíti azok szétesését. Ezek az aktivitások azonban nem rekonstruálják a fehérje biológiai funkcióját, amelyek arra engednek következtetni, hogy belső – további domének – és/vagy külső – más szarkomerikus fehérjék – is nélkülözhetetlenek a SALS megfelelő működéséhez.

Bioinformatikai elemzésünk felderítette, hogy a SALS nem rendelkezik jól meghatározott 3D szerkezettel, azaz egy rendezetlen fehérje (intrinsically disordered protein, IDP). Kutatásaink célja a SALS fehérje bakulovírus rendszerben történő előállítás, a fehérje rendezetlen szerkezetének a vizsgálata és fluoreszcencia spektroszkópia, DSC valamint biokémiai módszerrel történő alátámasztása. Továbbá vizsgáljuk, hogy a SALS rendezetlen szerkezete milyen módon járul hozzá az aktin filamentumok szabályos szerveződéséhez, a SALS egyes régiói és az aktin, valamint a SALS és más szarkomerikus fehérjék közötti kölcsönhatásokat és azok hatásait a SALS biológiai funkciójára.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg. A kutatás Az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-16-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

JEGYZETEK

P31

Diszkerin mutációk in vivo és in vitro jellemzése

BALOGH ESZTER⁴, SCHAY GUSZTÁV^{2,7}, TORY KÁLMÁN^{4,5}, KARANCSINÉ MENYHÁRD DÓRA⁶,
FERENCZY GYÖRGY¹, KISS DÓRA JUDIT¹ ÉS VARGA MÁTÉ^{3,4}

¹ MTA Természettudományi Kutatóközpont, Gyógyszerkémiai Kutatócsoport

² Semmelweis Egyetem, Biofizikai Intézet

³ Eötvös Loránd Tudományegyetem, Genetikai Tanszék

⁴ MTA-SE Lendület Nephrogenetikai Kutatócsoport

⁵ Semmelweis Egyetem, I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Genetika Munkacsoport

⁶ MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport és Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium

⁷ MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport

A diszkerin (dkc1) molekula az eukarióta sejtek egyik legfontosabb RNS modifikációját, a pszeudouridilációt katalizálja, melynek pontos szerepe a sejt működésében nem teljesen tisztázott. Irodalmi adatok sejtetik hogy a riboszomális RNS-ek pszeudouridilációja a riboszóma működésében lehet elengedhetetlen, így elégtelen pszeudouridiláció a riboszomális komplex működésének zavarát okozhatja, ami klasszikus riboszomopátiás kórtünet formájában jelentkezhet. A riboszomopátiák patogenezise viszonylag ismeretlen terület, így a diszkerin működésének feltárásával fontos ismereteket szerezhetünk ezen a téren. Munkánk során targetált genomszerkesztéssel zebadánióban létrehoztunk több nullmutációt illetve hipomorf allélt a dkc1 génben. Bizonyítottuk, hogy a dkc1 hiánya nagyon jellegzetes fejlődési rendellenességeket okoz, amelyek közül számos a sejtek differenciációjának elmaradásával hozható összefüggésbe. A molekula-komplexek in-vitro nyomásperturbációs fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a dkc1 egy hipomorf mutációja révén – meglepő módon – erősebb komplexeket alakít ki a partner fehérjével, (pl. a NOP10-el) mint a vad típus, majdnem egy nagyságrendi csökkenést mutat a K_d (disszociációs állandó), míg ezzel párhuzamosan a kötőfelszín nagysága csökken. Ebből arra tudunk következtetni, hogy az eddig vizsgált mutációk mindegyike jelentősen átrendezi a komplex összetartásáért felelős kölcsönható felszíneket. A diszkerint tartalmazó box H/ACA pszeudouridin szintáz komplex által katalizált uridin-pszeudouridin átalakulás reakciómechanizmusának tisztázásra kvantum kémiai számításokkal vizsgálunk releváns modellrendszereket. Az így azonosított lehetséges mechanizmusokra pontosabb, vegyes kvantummechanikai/molekulamechanikai számításokat végzünk. Ezek a mutációk és a komplex elemeinek kötődése, valamint a pszeudouridin képződés katalízise közötti összefüggésre adnak információt.

Köszönetnyilvánítás

OTKA-K116305

OTKA-111862

MTA-SE Lendület LP2015-11/2015

OTKA-K109718

JEGYZETEK

P32

A zsúfoló ágens alacsony koncentrációja destabilizálja a fehérjéket

SOMKUTI JUDIT¹, TÖRÖK ZSÓFIA², PFLAZGRAF FREDERIK² ÉS SMELLER LÁSZLÓ²

¹ MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport

² Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A sejten belül nagyon magas a makromolekulák koncentrációja, ami befolyásolhatja a fehérjék működését és ezáltal a létfontosságú biológiai folyamatokat. Ezt a jelenséget nevezik makromolekuláris zsúfoltságnak.

Mivel a makromolekuláris zsúfoltság legfontosabb hatása a kizárt térfogaton alapszik, ezért nyomáskísérleteket végeztünk, ahol a térfogat (mint a nyomással konjugált paraméter) kulcsfontosságú tényező. Borjú szérum albumin és lizozim fehérjék nyomás- és hő stabilitását vizsgáltuk különböző koncentrációjú és típusú zsúfoló ágenssek (dextrán, ficoll és maga a lizozim) jelenlétében.

Az általános nézet szerint a zsúfolt környezet stabilizálja a natív konformációt, mivel lecsökkenti az elérhető térfogatot az ún. kizárt térfogat effektus révén. A zsúfolt környezet ezért a kompaktabb konformációt preferálja. Eredményeink azonban részben ellentmondanak az így várható stabilizáló hatásnak, ugyanis zsúfoló ágenssek jelenléte alacsonyabb koncentrációnál csökkentette a fehérjék nyomással szembeni stabilitását. Magasabb (kb 20% fölötti) koncentrációnál azonban újra stabilizáló hatás jelentkezett.

A destabilizáló hatást a zsúfolt környezetben lecsökkent hidratációs térfogatváltozással magyarázzuk. Részletesen kitérünk a fehérje parciális térfogata és a fehérje által befolyásolt térfogat közötti, valamint ezek kapcsolatát a molekulárisan zsúfolt környezet által kizárt térfogat közötti különbségekre, amelyek létfontosságúak a kísérleti eredmények megértéséhez [1].

Köszönetnyilvánítás

A munkát a Turchányi kutatói ösztöndíj támogatta.

Irodalom

[1] Somkuti J, Török Z, Pfalzgraf F, Smeller L (2017) Low crowding agent concentration destabilizes against pressure unfolding, *Biophysical Chemistry* (in press.) DOI: 10.1016/j.bpc.2017.04.013

JEGYZETEK

P33

A szimmetrikus osztódás és differenciáció közti egyensúly szerepe hierarchikusan szerveződő szövetek homeosztázisának fenntartásában

DEMETER MÁRTON, DERÉNYI IMRE ÉS SZÖLLŐSI GERGELY

ELTE TTK, Biológiai Fizika Tsz., ELTE-MTA „Lendület” Evolúciós Genomika kutatócsoport

A rák kialakulása egy szomatikus evolúciós folyamat, mely során a szövetekben lévő sejtek osztódásaik során véletlenszerűen mutációkat gyűjtenek be, amik elősegíthetik a daganatok kialakulását.

Hogyan érheti el egy soksejtű élőlény, hogy hosszú évekig működőképes szervrendszereket tart fent, mely során rengeteg sejt elpusztul illetve pótlódik, miközben a rák kialakulásának kockázatát is az élete döntő hányadában relatíve alacsonyan tudja tartani?

Korábbi eredményeink már megmutatták [1], hogy a hierarchikusan szerveződött szövetek felépülése és homeosztázisa során a rendszer osztódási terhe (a sejtvonalak osztódási száma), mely által a mutációk száma, és egyben a rák kialakulás kockázata is hatékonyan minimalizálható.

Itt most ennek a modellnek a mutációkkal ellátott sztochasztikus implementációját mutatjuk be, ahol a három lehetséges mikroszkopikus esemény (aszimmetrikus osztódás, szimmetrikus osztódás és szimmetrikus differenciáció) közül, főleg a szimmetrikus osztódás és differenciáció közti kényes egyensúlyt tárgyaljuk.

Megállapítjuk, hogy modellünkben a rák kialakulásához mind a hierarchikus szintek méretét növelő szimmetrikus osztódások túlzott mértéke mind a szintek méretét csökkentő szimmetrikus differenciációs események alacsony száma is ugyanúgy vezethet.

Definiálunk egy küszöbértéket, mely egy adott szerkezetű és dinamikájú hierarchikus szöveti struktúrában a szelekció erősségének azt az értéket jelenti, ami alatt az *in silico* szövet még nagy valószínűséggel képes fenntartani a homeosztázist, illetve ami felett a sejtpopuláció mérete várhatóan divergál.

Mivel kiderül, hogy ez a küszöbérték explicit módon függ a sejtek mutációs számától, így egyben implicit módon függ a mutációs ráta (μ) nagyságától is.

Bináris fákon modellezve jó közelítést tudunk adni arra, hogy egy adott hierarchikus rendszerben a mutációs ráta (μ) és a szelekció mértékének (s) függvényében, adott rendű mutánsoknak mekkora az előfordulási valószínűsége, amelyet a $P(\mu, s)$ eloszlással írunk le. A $P(\mu, s)$ eloszlás segítségével végül megérthetjük a szimulációkból kimért küszöbértékek változását a mutációs ráta függvényében.

Irodalom

[1] Imre Derényi, Gergely J Szöllősi Hierarchical tissue organization as a general mechanism to limit the accumulation of somatic mutations, bioRxiv 098129; doi: <https://doi.org/10.1101/098129> *Nature Communications* doi: 10.1038/ncomms14545.

JEGYZETEK

P34

Denzitásfüggő sejtosztódás hierarchikusan szerveződött szövetekben

GRAJZEL DÁNIEL, DERÉNYI IMRE ÉS SZÖLLŐSI GERGELY

ELTE TTK, Biológiai Fizika Tsz., ELTE-MTA „Lendület” Evolúciós Genomika kutatócsoport

Életünk során a szövetekben lévő sejtek számos osztódáson mennek keresztül, amelyek alatt véletlenszerű mutációkat gyűjtenek be, ezek pedig hozzájárulhatnak daganat kialakulásához a szervezetünkben. Felmerül a kérdés, hogy egy soksejtű élőlény miképp képes élete nagy részében fenntartani szervrendszereinek megfelelő működését és emellett elegendően alacsonyan tartani a rákos megbetegedés kockázatát. Korábbi eredményeink szerint [1] a hierarchikusan szerveződött szövetek esetén az egyes sejtvonalak osztódási száma azaz a rendszer osztódási terhe megfelelő hatékonysággal minimalizálható, ezáltal a begyűjtött mutációk száma és a rák kialakulásának esélye is csökkenthető.

Az említett hierarchikus modellt bővítjük a sejtek közti kölcsönhatás figyelembevételével, olyan módon, hogy az egyes osztódási típusok (aszimmetrikus osztódás, szimmetrikus osztódás és szimmetrikus differenciálódás) gyakorisága függ a rendszer egyes differenciációs szintjein található sejtek számától. Azt vizsgáljuk, hogy az így bevezetett denzitásfüggés miként változtatja az alapmodellben megfigyelt jelenségeket, és hogyan változik a rendszer osztódási terhe különböző paraméterek mellett. Ezen túlmenően pozitív hatású (az adott osztódási típus gyakoriságát növelő) mutációk bevezetésével meghatározzuk a rák kialakulásának feltételeit egy ilyen sejtszámfüggő rendszer esetén is.

Irodalom

[1] Imre Derényi, Gergely J Szöllősi,
Hierarchical tissue organization as a general mechanism to limit the accumulation of somatic mutations
bioRxiv 098129; doi: <https://doi.org/10.1101/098129>
Nature Communications doi: 10.1038/ncomms14545.

JEGYZETEK

P35

Vak vezet világtalant: hogyan lesz rendezetlen peptidekből rendezett komplex

GYÖRFFY DÁNIEL, ZÁVODSZKY PÉTER ÉS SZILÁGYI ANDRÁS

MTA Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet

A rendezetlen fehérjék szerepét számos betegségben kimutatták, különös tekintettel daganatos megbetegedésekre, amelyek mögött a fehérjék kölcsönhatásaira is épülő jelátviteli hálózatok zavarai állnak. A rendezetlen fehérjék közötti kölcsönhatások kialakulásának részletes megértése elengedhetetlen a jelátviteli folyamatok működésébe való beavatkozáshoz. A komplexképződés során gyakran a szabad állapotban rendezetlen fehérjék rendezett szerkezetű komplexet hoznak létre. Nem tisztázott azonban, hogy a kötődéshez kapcsolt felgombolyodás során hogyan követik egymást a rendeződési és kötődési események. Makromolekuláris rendszerekben zajló folyamatok *in silico* az ún. Markov állapothálózat segítségével vizsgálhatók. A több rendezetlen fehérjéből álló rendszerek állapottere azonban rendkívül nagy méretű, jelentős részben a láncok relatív pozícióinak és orientációinak nagy száma miatt, ami kezelhetetlen méretű hálózathoz vezet még két kisméretű lánc esetén is. A fehérje homodimerek képződésének vizsgálatára általunk definiált kétrétegű hálózat segítségével az állapottér mérete nagymértékben lecsökkenthető, azáltal, hogy minden konformációpárhoz mindössze egy asszociált és egy disszociált állapot tartozik. A kétrétegű hálózatot a Wako–Saito–Muñoz–Eaton modell, egy szerkezet-alapú sokaságmodell segítségével definiált mikroállapotokra építettük föl. Az átmenetiútvonalelmélet segítségével meghatároztuk négy olyan fehérjére a homodimerképződés domináns mechanizmusát, amelyekről korábban kísérletesen igazolták, hogy míg szabad állapotban rendezetlenek, addig a komplexben rendezett szerkezetet vesznek föl. Az eredményeink azt mutatják, hogy egy adott fehérje esetében a három lehetséges mechanizmus közül: merev dokkolás, konformációkiválasztás és indukált felgombolyodás, egyik mechanizmus sem kizárólagosan jellemző, de hol az egyik, hol a másik mechanizmus domináns. A rendezetlen fehérjék lokálisan rendezett elemeket tartalmaznak az asszociáció pillanatában, azonban a rendezett részek bizonyos esetekben nem felelnek meg a fehérje-fehérje kölcsönhatási felszínnek.

JEGYZETEK

P36

Kvantumkémiai protokoll kidolgozása a különbözőképpen metilezett foszfát- és ammóniumionok paraméterezéséreNÁSZTOR ZOLTÁN¹, BOGÁR FERENC², PARAGI GÁBOR² ÉS HORVÁTH JÁNOS¹¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet² MTA-SZTE Szupramolekuláris és Nanoszerkezetű Anyagok Kutatócsoport

Biológiai rendszerekben a fehérjék metilációja egy reverzibilis poszt-transzlációs módosítás, aminek fontos szerepe van a génexpresszió szabályozásában. Fehérje-metiláció jellemzően az arginin vagy a lizin aminosavak töltött oldalláncain történik, és jelentős szerepe van a fehérje-fehérje kölcsönhatások szabályozásában. Az arginin metilációja gátolhatja vagy elősegítheti a protein-fehérje kölcsönhatásokat a típusától függően. A lizin metilációja pedig fontos szerepet játszik a hisztonok és a fehérjék közötti kölcsönhatásban. A DNS metilációja során a metilcsoportok a DNS-t alkotó bázisokhoz (főleg a guaninban és a citozinban gazdag szekvenciákhoz, leggyakrabban az 5-ös helyzetű szénatom metilálódik), vagy a cukor-foszfát főlánc foszfát ionjához kapcsolódnak, mindez fontos szerepet játszik génregulációban és az önfelismerésben.

A lizin oldallánc- és DNS főlánc metiláció legegyszerűbb szimulációs modellje az ammónium- és foszfátion metilációja. Ezért fontos e két ionkülönböző mértékű metiláltságának a vizsgálata. Azonban jelenleg nincsenek általánosan elfogadott és felhasználható molekulamechanikai paraméterek a különböző számú metilcsoportokkal rendelkező foszfátionok esetében. Ennek a munkának az a célja, hogy meghatározza a különböző számú metilcsoporttal ellátott foszfát- és ammónium-ion származékok molekuladinamikai számításokhoz alkalmazható kvantumkémia alapú paraméterezési protokollját.

Vizsgálatunk során mind az ammónium, mind a foszfát ionhoz különböző számú metilcsoportot kapcsoltunk, majd e rendszereken kvantumkémiai számításokat végeztünk Gaussian 09 programcsomaggal, a Hartree-Fock és B3LYP módszerek, különböző bázisokban és különböző töltésszámítási eljárásokkal. A vizsgált molekulák szerkezetét a számítások előtt optimalizáltuk. Az atomi töltések meghatározását a RESP - módszerrel végeztük. A diéderes szög értékeket a GAFF erőteréből, míg a többi paramétert kvantumkémiai eljárásból származtattuk, annak érdekében, hogy a molekuladinamikai (MD) szimulációk stabilitása javuljon. A kapott paraméterek validálását metilezett hidrogén-foszfát ionra végeztük 50 ns hosszú MD futtatások során. A vizsgált rendszer még egy nátrium iont és megközelítőleg 800 vízmolekulát tartalmazott. A víz molekulák az anion egyes oxigén atomjai körüli radiális eloszlására kapott eredményeink hasonlítottak össze QM/MM adatokkal. A legjobb egyezést a B3LYP módszerrel, 6-311G bázissal és jól megválasztott töltésszámítási beállításokkal kaptuk.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a NIIF-nek a szükséges számítástechnikai kapacitás rendelkezésünkre bocsátását a szegedi és debreceni központokban.

JEGYZETEK

P37

Térben meghatározott szövetek osztódási terhének közel optimális redukálása heterogén osztódási rátákkal

KISS MÁTÉ, DERÉNYI IMRE ÉS SZÖLLŐSI GERGELY

ELTE TTK Biológia Fizika Tanszék, ELTE-MTA Lendület Biofizikai Kutatócsoport

A rák kialakulása egy szöveti evolúciós folyamat, melyet nagyrészt a sejtek osztódásaiból származó mutációk hajtanak. Emiatt a megújuló szövetek, melyeknek a szervezet élettartama alatt folyamatosan nagy mennyiségű sejtet kell legyártaniuk, különös kockázatnak vannak kitéve. Ezzel szemben a szöveti Peto paradoxonként ismert jelenség ami szerint a rák kialakulásának kockázata független a szövet által az élet során létrehozott sejtek számától. Ez alapján léteznie kell olyan mechanizmusoknak melyek a sejtek adott leszármazási ágaira jutó osztódásainak számát alacsonyan tartják.

Korábbi kutatásunk során egy megújuló szövet differenciálódási szintjeit és a rajtuk megtalálható sejtek dinamikáját vizsgáltuk egy hierarchikus matematikai modellel [1]. Ez a rendszer elegendő differenciálódási szint bevezetésével és az egyes szinteken található osztódási ráták segítségével valóban képes megközelíteni a szövetben definiálható osztódási teher elméleti minimumát és ezáltal minimalizálni a rák kialakulásának kockázatát.

Ebből kiindulva a mostani kutatásban létrehoztunk egy új modellt, amelyben a szövet térbeliségének szerepét vizsgáltuk. Itt az előzővel ellentétben a sejtek osztódási rátája kizárólag struktúra alján található őssejtől mért távolságuk függvénye. Ezen kívül a szövet geometriája itt rögzített, melyben a sejtek egymást tolva képesek mozogni. Az új modell is képes redukálni szövet osztódási terhét, valamint magyarázatot adhat a nagyméretű, folyamatosan növvő szervezetek rákkal szembeni védelmére.

Irodalom

[1] Derenyi I, Szollosi GJ (2017) Hierarchical Tissue Organization as a General Mechanism to Limit Somatic Evolution Biophysical Journal 112(3) doi: 10.1016/j.bpj.2016.11.1536

JEGYZETEK

P38

Citokróm b561 fehérjék és szubsztrátjaik közötti kölcsönhatások vizsgálata elméleti módszerekkelLEITGEB BALÁZS^{1,2}, BÉRCZI ALAJOS¹ ÉS ZIMÁNYI LÁSZLÓ¹¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet² Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék

A citokróm b561 (CYB561) fehérjék hat transzmembrán hélix-szel és két b-típusú hemmel rendelkező, elektron-transzportáló membránfehérjék, amelyek jelenlétét változatos állati és növényi membránokban kimutatták már, és amelyek jelentősen különböznek a mitokondrium belső membrán vagy a kloroplasztisz tilakoid membrán két b-típusú hemet tartalmazó transzmembrán fehérje komplexeitől [1,2]. A CYB561 fehérjék működéséhez C-vitamin (aszorbát) jelenlétére van szükség, és ezek a membránba ágyazódott fehérjék elektronokat szállítanak a citoplazmában lévő aszorbát molekulákról a nem-citoplazmatikus oldalon található szubsztrát molekulákra [1]. Munkánk során azt vizsgáltuk, hogyan hatnak kölcsön az aszorbát (ASC) és monodehidro-aszorbát (MDA) szubsztrátok különböző CYB561 fehérjékkel. Az *Arabidopsis thaliana*-ból izolált, de pontosabban még nem lokalizált CYB561 fehérje (At_CYB561B2) kristályszerkezete és további három CYB561 fehérje (a marha mellékvesekéreg kromaffin granuláiban található (Bt_CYB561A1), a növények vakuoláris membránjában lévő (At_CYB561B1), valamint az egérben található, tumor szuppressziós tulajdonságokkal rendelkező fehérje (Mm_CYB561D2)) homológia modelljei esetén végeztünk elméleti számolásokat. A fehérje-szubsztrát kölcsönhatásokat dokkolási számításokkal tanulmányoztuk a CYB561 fehérjék citoplazmatikus és nem-citoplazmatikus oldalára vonatkozóan egyaránt. A fehérje-szubsztrát dokkolások eredményei alapján meghatároztuk az ASC és MDA molekulák lehetséges kötődési helyeit. Ennek során a dokkolt szubsztrát molekulákra végrehajtott klaszter analízisek segítségével reprezentatív szerkezeteket azonosítottunk, amelyekre vonatkozóan meghatároztuk a fehérjék és az ASC, illetve MDA molekulák között kialakuló stabilizáló, intermolekuláris kölcsönhatásokat. Minden esetben két vagy több lehetséges kötődési helyet figyeltünk meg. A kristályszerkezet és a három homológia modell esetén kapott eredményeket összehasonlítva jellemeztük a CYB561 fehérjék citoplazmatikus és nem-citoplazmatikus oldalán azonosított, lehetséges kötődési helyeket, illetve az ASC és MDA molekulák kötődési konformációit, valamint a szubsztrátok és a hem kofaktorok közötti lehetséges elektrontranszfer útvonalakat, illetve hatékonyságot.

Köszönetnyilvánítás

Jelen munkát a GINOP (2.3.2-15-2016-00001) és az OTKA (K-108697) támogatta.

Irodalom

- [1] Asard A, Barbaro R, Trost P, Bérczi A (2013) *Antioxid. Redox Signal.* 19: 1026-1035.
[2] Bérczi A, Zimányi L (2014) *Curr Prot Peptide Sci* 15: 745-760.

JEGYZETEK

P39

Tigerinin peptidek sztereoizomereinek összehasonlító konformáció-analíziseBLANÁR ESZTER¹ ÉS LEITGEB BALÁZS^{1,2}¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet² Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék

A *Rana tigerina* béka bőrváladékából izolált tigerininek 11-12 aminosavból álló ciklikus peptidek, amelyek széles-spektrumú antimikrobiális hatással jellemezhetők [1]. A tigerinin peptidek, illetve ezek sztereoizomerei esetén egy átfogó konformáció-analízist, valamint összehasonlító térszerkezeti jellemzést végeztünk el elméleti módszerek alkalmazásával. A másodlagos szerkezeti elemek vizsgálata során különböző típusú β -turn és γ -turn struktúrák előfordulását tanulmányoztuk a tigerininek összes lehetséges tetrapeptid, illetve tripeptid szakaszára vonatkozóan. Ezek az eredmények azt mutatták, hogy a peptidek sztereoizomereinek adott tetrapeptid szakaszai esetén megjelentek az I és III típusú β -turn-ök, míg adott tripeptid szakaszok esetében inverz γ -turn-öket azonosítottunk. Továbbá meghatároztuk azokat a karakterisztikus intramolekuláris H-kötéseket ($i \leftarrow i+3$ és $i \leftarrow i+2$ H-kötések), amelyek fontos szerepet játszanak a fent említett β -turn és inverz γ -turn struktúrák stabilizálásában. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a különféle másodlagos szerkezeti elemek előfordulásával összhangban vannak a kialakuló intramolekuláris H-kötések. Mindemellett az aminosavak oldalláncai esetében azonosítottuk a preferált rotamer állapotokat is. A tigerinin peptidek sztereoizomerei esetén összehasonlítottuk a különböző térszerkezeti tulajdonságokat, és az eredmények az alábbi megfigyelésekre vezettek. Egyrészt a különféle sztereoizomerek jellegzetes konformációs sajátosságokkal rendelkeznek, másrészt pedig nemcsak különbségek, hanem hasonlóságok is megfigyelhetők a sztereoizomer peptidek háromdimenziós térszerkezetét illetően. Mivel az irodalomban eddig csak nagyon kevés adat állt rendelkezésre a tigerinin peptidek térszerkezeti tulajdonságait illetően, így az általunk elvégzett konformáció-analízisből nyert térszerkezeti adatok és konformációs tulajdonságok mindenképpen fontosak, és hozzájárulhatnak ahhoz, hogy ezen peptidek biológiai hatását jobban megérthessük.

Irodalom

[1] Sai KP, Jagannadham MV, Vairamani M, Raju NP, Devi AS, Nagaraj R, Sitaram N (2001) *J Biol Chem* 276: 2701-2707.

JEGYZETEK

P40

Grafén rétegek közé szorított víz tulajdonságainak változása Hofmeister-aktív sók hatására

NÁSZTOR ZOLTÁN¹, HORVÁTH JÁNOS¹, BOGÁR FERENC^{2,3} ÉS DÉR ANDRÁS¹

¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

² Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet

³ MTA-SZTE Szupramolekuláris és Nanoszerkezetű Anyagok Kutatócsoport

Az utóbbi évtized során a különböző nanométeres geometriák közé beszorított folyadékok tulajdonságainak a vizsgálatát jelentős figyelem kísérte, a különféle nanotechnológiai alkalmazások széles köre miatt. A beszorítást létrehozó térbeli kényszerek gyakran hidrofób felszínek formájában jelennek meg, mint például szén nanocsövek, egyéb anyagú pórusok, vagy párhuzamos grafén- illetve grafén-oxid rétegek. A hidrofób felszíneknek és az ezekkel történő kölcsönhatásoknak jelentős szerepük van szerteágazó biológiai (mint például ionszűrők átvezetőképessége, protein stabilitás) és kémiai folyamatokban. A térbeli kényszerek méreteitől, az azt biztosító anyagok fajtájától, felületétől, továbbá a nyomástól és a hőmérséklettől függően a beszorított víz állapota és fizikai tulajdonságai széles határok között változnak és lényegesen eltérnek a tömbfázisú vízre jellemzőktől. Ezen módosulások valószínűleg a vízmolekulák és a határoló rétegek közötti gyenge, főként van der Waals típusú kölcsönhatásból és az ebből fakadó hidrogénhid-kötés hálózat kényszerű átrendeződéséből erednek. Ugyanakkor ismeretes, hogy a vízben jelenlévő ionok (oldott „Hofmeister-aktív sók”) lokálisan ugyancsak jelentősen átalakítják vízszerkezetet. Érdekes tudományos kérdés ezért, hogy ezek a hatások miként érvényesülnek térbeli kényszerek jelenléte esetén. A számítógépes szimulációk kézenfekvő eszközként szolgálnak a beszorított víz és ionokat tartalmazó folyadékok tanulmányozására, mivel mikroszkopikus szintű képet nyújtanak a lejátszódó folyamatokról.

Jelenlegi szimulációs vizsgálataink két egymással párhuzamos grafén réteg közé szorított vízmolekulák tulajdonságainak, illetve a hozzáadott Hofmeister-aktív sók által kiváltott változásoknak a feltérképezésére irányulnak. A szimulációs rendszereket két 10x10 nm nagyságú, egymástól maximálisan 10 nm távolságra elhelyezett grafén rétegek határolják, az oldáshoz a TIP4P/2005 vízmodellt használtuk, a vízmolekulák maximális száma megközelítőleg 32000 volt. A tiszta vizes eset mellett kozmotróp és kaotróp anionok nátrium sóit adtuk a rendszerhez, 1 mólos koncentrációban. A kiértékelés során megvizsgáltuk a vízmolekulák sűrűségfluktuációját mind az ionok jelenlétében, mind azok hiányában. Továbbá a vízmolekulákat a határoló rétegektől mért távolságuk alapján több csoportra osztottuk. Megvizsgáltuk a grafén rétegekhez közeli és a távolabbi vízszerkezetet, a kialakult hidrogénhid-kötés hálózatot, illetve az ionok által kiváltott módosításokat.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 pályázat támogatásával készült. Továbbá köszönjük a NIIF-nek a szükséges számítástechnikai kapacitás rendelkezésünkre bocsátását a szegedi és debreceni központokban.

JEGYZETEK

P41

Radon a Mátraderecskei Szén-dioxid Gyógygázfürdőben

CSIGE ISTVÁN¹, SÓKI ERZSÉBET² ÉS GYILA SÁNDOR³

^{1,2}MTA Atomki, 4026 Debrecen, Bem tér 18/c

²Debreceni Egyetem – MTA Atomki Környezetfizikai Kihelyezett Tanszék, 4026 Debrecen, Bem tér 18/c

³Dr. Benedek Géza Szívkórház, Kovászna, Eminescu u. 160. Románia

A vulkáni utóműködéshez köthető, főként szén-dioxidot tartalmazó gázfeltörést, továbbá a rá telepített gázfürdőket is mofettának nevezzük. A szén-dioxid mellett előforduló radon egyrészt nyomjelzője a mofettagázok transzportjának, másrészt a szárazfürdőkben szolgálatot teljesítő személyzet szempontjából egészségügyi kockázati tényező is. Ebben a munkában a Mátraderecskei Széndioxid Gyógygázfürdő légtérben vizsgáltuk a ²²²Rn-aktivitáskoncentráció térbeli és időbeli változását Radamon típusú maratottonyom-detektorral és Dataqua típusú fűlvezető detektoros radondetektorokkal.

A 10 évet felölelő méréseink azt bizonyítják, hogy a ²²²Rn forrása a medencehelyiségekben a medence aljáról feltörő gyógygáz. A ²²²Rn-aktivitáskoncentrációja a medencék alján, a szén-dioxid belépésénél 150-200 kBqm⁻³, időben nem változik jelentősen. A ²²²Rn-aktivitáskoncentrációja a medence aljától a medence tetejéig jelentősen csökken, a medence felszínén átlagosan 2-20 kBqm⁻³ közötti, és itt jelentős időbeli változásokat mutat. A medencehelyiségben 1-2 m magasságban pedig jellemzően kevesebb, mint 1 kBqm⁻³. Ezt a jelenséget a mofettagázok levegővel történő keveredése eredményezi.

A medencék közepén létesített elszívórendszerrel olyan áramlási teret sikerült kialakítanunk, amely biztosítja azt, hogy a betegek térdmagasságában kellően nagy (60-80%), míg a belégzési magasságban csupán néhány % legyen a CO₂ szintje. A Mofetta épületének további helyiségeiben mért (0,3 – 0,8 kBqm⁻³) átlagos ²²²Rn-aktivitáskoncentráció értékek nagyobbak, mint a szabályos körülmények mellett tartósan fennálló sugárterhelések esetében alkalmazandó 0,3 kBqm⁻³ vonatkoztatási szint, az itt dolgozók védelme érdekében további beavatkozásokra van szükség.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást részben az Európai Unió és Magyarország támogatta az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásában a GINOP-2.3.2-15-2016-00009 azonosítószámú 'IKER' pályázatban.

JEGYZETEK

P42

A kehelysejtek szerepe a belélegzett radonleányelemek biológiai hatásának csökkentésében

DROZSDIK EMESE ÉS MADAS BALÁZS GERGELY

MTA Energiatudományi Kutatóközpont, Környezetfizikai Laboratórium

A lakosság természetes sugárterhelésének több mint fele a radontól és annak alfabomló leányelemeitől származik, így a radon a dohányzás után a második legfontosabb tüdőrákot okozó tényező. Azonban a radon által okozott tüdőrák kialakulásának mechanizmusa még kevésbé ismert.

Az alfabomló leányelemek a tüdőben rendkívül egyenetlenül ülepednek ki. A hörgők elágazásaiban akár nagyságrendekkel több részecske ülepedhet ki, mint a hörgőkben átlagosan. A kehelysejtek irritáció hatására képesek nyákot elválasztani, amely elősegíti a légutak tisztulását. Az elválasztott nyákrétegre tekinthetünk úgy is, mint egy védőrétegre, amely a hámszövet és a csillós réteg felett helyezkedik el.

Azt feltételezzük, hogy a sugárzás hatására rövidtávon a kehelysejtek megnövekedett nyák termeléssel válaszolnak, hosszútávon pedig a kehelysejtszám megemelésével megnövekedhet a hámszövet vastagsága és az elválasztott nyákréteg vastagsága is. A megnövekedett kehelysejtszám okozta szövetvastagodás mikrodozimetriai következményeinek meghatározásához létrehoztuk a hámszövet egy matematikai modelljét. A sugárterhelés hatásának jellemzéséhez létrehoztunk egy mikrodozimetriai modellt, amellyel meghatároztuk a sejtdózist, a sejtmagokat eltaláló alfa-részecskék számát és a szövetdózist.

Az eredmények azt mutatják, hogy a nyákréteg megnövekedése csökkenti az átlagos bazális sejtdózist, az átlagos sejtmag-találatszámot és az átlagos szövetdózist. A kehelysejtek számának növekedésére és a nyákréteg megvastagodására tekinthetünk úgy is, mint egy szövetszintű sugáradaptációs válaszra, hasonlóan ahhoz, amit korábban számoltunk a bazális sejtszám növekedésekor [1]. A megnövekedett bazális sejtszám következményeivel összehasonlítva arra következtethetünk, hogy a mikroszkópikus dózisok esetén a megnövekedett kehelysejtszám lokálisan hatékonyabban képes csökkenteni a radon leányelemek által okozott sugárterhelést.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást támogatta a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (VKSZ 14-1-2015-0021).

Irodalom

[1] Madas, Balázs G. "Radon Induced Hyperplasia: Effective Adaptation Reducing the Local Doses in the Bronchial Epithelium." *Journal of Radiological Protection* 36, no. 3 (September 2016): 653–66. doi:10.1088/0952-4746/36/3/653.

JEGYZETEK

P43

Lázterápiában használatos mágneses nanorészecskék vizsgálataihoz szükséges eszközök készítése

GRESITS IVÁN^{1,2}, SIMON FERENC¹ ÉS THURÓCZY GYÖRGY²

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Természettudományi Kar, Fizika Tanszék

² Országos Közegészségügyi Intézet, Nemionizáló Sugárzások Osztálya

Napjaink egyik legsúlyosabb betegsége a rák, melyben emberek millió hálnak meg világszerte. Számos hagyományos és újkori módszer áll az emberiség rendelkezésére e betegség gyógyítására, ennek ellenére általánosan bevált gyógymód jelenleg nincs, éppen ezért nagy szükség van további módszerek kifejlesztésére.

Az egyik ilyen az egydoménes mágneses nanorészecskékkel történő lázterápia (hipertermia), melyet az elmúlt 10-15 évben kezdtek el intenzíven kutatni. Lényege, az egyes részecskék a mágneses momentumuk révén kölcsönhatnak a külső mágneses térrel, így ezeket a daganathoz juttatás után váltakozó mágneses térbe helyezve (tipikusan néhány 100 kHz), azok energiát vesznek fel a külső mágneses térből, ezáltal a hőmérsékletük megemelkedik. Az eljárás előnye, hogy a melegeedés kis kelyen és jól szabályozott körülmények között történik, továbbá mélyen fekvő tumorok esetén is alkalmazható.

A rákos sejtek érzékenyebbek a nagyobb hőmérsékletre, mint az egészségesek, ezáltal lehet őket elpusztítani, vagy meggyengíteni, és így sugár-, vagy kemoterápia együttes alkalmazásával az eljárások hatékonyabbnak tűnnek, mint külön-külön.

Jelen munka célja –mely egyben a doktori munkám része- olyan laboratóriumi eszközök kifejlesztése, melyekkel a nanomágneses részecskék különböző fizikai tulajdonságai mérhetőek, például a nanomágneses hiszterézis, amely a fent említett kölcsönhatás egyik fontos következménye. [1],[2]

Irodalom

1. Garaio E., Collantes J.M., Plazaola F., García J.A., Castellanos-Rubio I.: A multifrequencyelectromagnetic applicator with an integrated AC magnetometer for magnetic hyperthermia experiments, (2014) Measurement and Science Technology
2. Connord V., Mehdaoui B., Tan R.P., Carrey J., Respaud M.: An air-cooled Litz wire coil for measuring the high frequency hysteresis loops of magnetic samples –A useful setup for magnetic hyperthermia applications, (2014), Review of Scientific Instruments

JEGYZETEK

P44

Szomszédsági sugárhatás vizsgálata egér csontvelősejtekben

KIS DÁVID, SZATMÁRI TÜNDE, BOGDÁNDI ENIKŐ NOÉMI, BENEDEK ANETT, PERSA ESZTER,
SÁFRÁNY GÉZA ÉS LUMNICZKY KATALIN

Országos Közegészségügyi Intézet – Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztály

A sugárbiológiában szomszédsági hatásnak, azaz bystander effektusnak nevezzük, ha olyan sejtekben is megnyilvánul a sugárhatás, amelyeket direkt sugárzás nem ért. A bystander effektus kimutatása szemléletváltozást hozott a sugárvédelemben, mivel a személyeknek diagnosztikai vagy terápiás céllal leadott dózis nem feltétlenül tükrözi a kiváltott biológiai hatást. Az utóbbi években több *in vitro* kutatás is tudományosan bizonyította, hogy ezen hatás a sejtek közötti kommunikáció révén valósul meg, amelynek a mediátorai között az extracelluláris vezikulumok (EV-k) és miRNS-ek is megtalálhatóak. Azonban az erre irányuló *in vivo*, állatmodellben való kutatások még hiányosak.

Vizsgálataink során *in vivo* tanulmányoztuk az EV-k szerepét a sugárzás-indukálta szomszédsági hatás közvetítésében. Összehasonlítottuk a direkt besugarazott és bystander állatok csontvelősejtjeinek fenotipikus profilját.

Kísérletünkben kis- (0.1Gy; 0.25Gy) és nagy (2Gy) dózisú Röntgen-sugárzást alkalmaztunk. 9-12 hetes hím C57BL/6 egerek csontvelői őssejtjeinek és progenitorjainak mennyiségi változását vizsgáltuk az egésztest-besugárzás után 24 órával. A direkt besugarazott egerek csontvelőjéből izolált extracelluláris vezikulumokat beoltottuk egészséges egerek farokvénájába. Őket nevezzük bystander állatoknak. EV-k beoltása után 24 órával vizsgáltuk a bystander egerek csontvelői őssejtjeinek és progenitorjainak mennyiségi változását.

A vizsgálatunk az egér csontvelősejtek közül a hematopoetikus őssejtekre (Lin⁻ Sca1⁺CD117⁺), limfocita progenitorokra (CD45⁺CD90.2⁺), granulocita-monocita előalakokra (CD11b⁺Gr1⁺), eritrocita prekurzorokra (CD71⁺Ter119⁺) és megakariocita sejtekre, illetve előalakjaikra (CD41⁺CD61⁺) terjedt ki.

Kimutattuk, hogy direkt besugárzás után 24 órával szignifikánsan csökkent a sugárérzékeny limfocita progenitorok és hematopoetikus őssejtek száma. Bystander állatokban csak a 0.25Gy és 2Gy dózissal besugarazott egerek csontvelőjéből izolált EV-k közvetítettek bystander hatást. Ez a hatás a hematopoetikus őssejtek mennyiségét csökkentette a csontvelőben. Az eritrocita prekurzorok, granulocita-monocita előalakok és megakariociták, valamint előalakjaik mennyisége szignifikánsan nem változott 24 órával a besugárzás és az EV-k beoltása után sem.

Támogatta: DOREMI EU-FP7 projekt

JEGYZETEK

P45

Hiperszenzitivitás kis sugárdózisoknál – matematikai modellezés

MADAS BALÁZS GERGELY

MTA Energiatudományi Kutatóközpont, Környezetfizikai Laboratórium

Számos sejtvonal besugárzása esetén a sejtek kolóniaképző képessége nem monoton csökken a dózis növekedésével, hanem megfigyelhető egy lokális minimum néhány száz mGy-nél. Másképpen fogalmazva létezik olyan dózistartomány, ahol a dózis növekedésével nő a sejtek kolóniaképző képessége. Ezt a jelenséget hiperszenzitív sugárválasznak nevezik. Korábban megmutattuk [1], hogy ha a sejtek a mutációk számát szövetszinten igyekeznek minimalizálni, és minden sejt előtt ismert minden más sejt olyan sérüléseinek száma, mely mutációhoz vezethet, akkor ez az optimalizáció megfelelő paraméterek mellett lokális minimumokat eredményez a kolóniaképző képesség-dózis összefüggésben. Az azonban nem várható, hogy a sejtek valóban ismerik a környezetükben lévő valamennyi sejt sérülésszámát.

Ezért azt vizsgáltuk meg, hogy ha a sejtekről azt feltételezzük, hogy egy sérülésszámukkal arányos jelet bocsátanak ki, melyet érzékelnek is, akkor a környezetük sérülésszáma átlagának ismeretében a mutációk számának minimalizálása magyarázhatja-e a hiperszenzitivitás jelenségét. Ehhez feltételeztük, hogy a sejtekben a mutagén sérülések száma Poisson-eloszlást követ. A sejtek kicsiny környezetében (8-26 sejt) meghatároztuk az átlagos sérülésszámot. A modellben a sejt akkor képez kolóniákat, ha a saját sérülésszáma kisebb, mint a környezeti átlag és az osztódásonként keletkező mutációk összege.

Az eredmények azt mutatják, hogy megfelelő paraméterek mellett a mutációk számának előbbi módon történő minimalizálása lokális minimumot eredményez a kolóniaképző képesség dóziszfüggésében. Ez megerősíti, hogy a hiperszenzitivitás jelensége mögött is állhat a mutációk számának, és ezáltal a rák kockázatának minimalizálása hasonlóan a szöveti hierarchiához [2].

Köszönetnyilvánítás

A kutatást támogatta a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (VKSZ 14-1-2015-0021).

Irodalom

- [1] Madas BG, Hanusovszky L, Drozsdik E (2016) *Magyar Tudomány* 177: 62-67.
[2] Derényi I, Szöllősi GJ (2017) *Nature Communications* 8:14545

JEGYZETEK

P46

Az ionizáló sugárzás hatása a dendritikus sejtek aktivációjára egérben

PERSA ESZTER, SÁFRÁNY GÉZA ÉS LUMNICZKY KATALIN

Országos Közegészségügyi Intézet, Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztály

A dendritikus sejtek (DC-k) az immunrendszer antigén prezentáló sejtjei közé tartoznak. A sejt immunválasz elindításában és fenntartásában a T-sejtekkel való kapcsolódásuk és citokintermelésük révén aktívan vesznek részt. Így a daganatellenes immunválasz kialakításában is kulcsfontosságú szerepük van a tumorsejtekből származó antigének felvételével és bemutatásával. A sugárterápia során a tumorsejtek pusztulása következtében felszabaduló ún. veszélyszignálok a DC-k aktivációjára hatással lehetnek.

Kutatásunk célja az volt, hogy meghatározzuk, hogyan hat a sugárzás azokra a fenotípusos és funkcionális paraméterekre, amelyek a DC-k tumorellenes immunválasz aktiválására hatással vannak.

A DC-k sugárzás hatására bekövetkezett fenotípusos változásának vizsgálatához különböző dózisu (0; 0,1; 0,25; 2 Gy) röntgensugárzással sugaraztunk be egereket, majd a lépsejteken áramlásos citométerrel mértük a DC-k sejt típusra jellemző sejt felszíni markereit. A T-sejtek aktiválásában szerepet játszó kostimulációs molekulák közül a CD40, CD80, CD86, a gátló szerepű koinhibíciós molekulák közül a B7-H1 (PD-1L), a veszélyszignálok hatására aktiválódó TLR-4 molekulát, és az antigénfelvételben szerepet játszó DEC205 fehérje kifejeződésének változásait követtük nyomon. A funkcionális teszteket lépből izolált DC-ken végeztük. Az antigén felvétel és antigén bemutatás vizsgálatához fluoreszcensen jelölt OVA peptidet használtunk, és a jelet áramlásos citométerrel detektáltuk. A DC-k citokin génkifejeződésének vizsgálatát valós idejű qPCR módszerrel végeztük.

Eredményeink alapján a kis dózisu sugárzás indukálta változás a DC-k fenotípusában kismértékű, a 2 Gy viszont jelentősebb változást okozott a CD40, CD80, CD86, TLR-4 és DEC205 sejt felszíni kifejeződésében a lépben. A B7-H1 molekula expressziója nem változott jelentős mértékben. A 2 Gy besugárzás hatása a funkcionális tesztekben is mérhető volt a DC-ken. A sejtek citokin génkifejeződésének vizsgálata folyamatban van.

Eddigi eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy a 2 Gy besugárzás hatására fokozódik a lép DC-k aktivációja, ennek megfelelően a daganatellenes immunválaszban való részvétele is fokozódhat. Reményeink szerint vizsgálataink hozzájárulnak a sugárterápia és immunterápia szinergista hatásának alaposabb megértéséhez is.

JEGYZETEK

P47

Lokális mellkas besugárzás rövid és hosszú távú hatásai

SÁNDOR NIKOLETT¹, LÉNER VIOLETTA², TATAI KATA¹, KIS ENIKŐ¹, SZALMA KATALIN¹,
LUMNICZKY KATALIN¹, HEGYESI HARGITA¹ ÉS SÁFRÁNY GÉZA¹

¹ Országos Közegészségügyi Intézet, Közegészségügyi Igazgatóság, Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Főosztály

² Semmelweis Egyetem, Egészségtudományi Kar Morfológiai és Fiziológiai Tanszék

Az emlőrák terápiájában kiemelt jelentősége van a sugárterápiának. Az emlődaganatos betegek sugárterápiára adott válaszát több, egyénenként változó faktor is befolyásolhatja. Továbbá nem elhanyagolható a normál szövetek, mellkas besugárzás esetében főleg a szívet érintő károsodások kialakulásának kérdése sem. Sugárhatás magas koleszterin szinttel párosulva akut, majd tartós gyulladáshoz vezethet a szívben.

Kísérleti modellünkben a lokális mellkas besugárzás néhány következményét jártuk körbe, többek között a metabolikus folyamatokért felelős mitokondriumok károsodását a szívizomban, az esetleges érkárosodások regenerációjában részt vevő endotél progenitor sejtek mennyiségi változását, a szívkárosodás markereként is számon tartott GDF-15 citokin és lncRNS-p21 mennyiségi változásait.

A vizsgálatokhoz érszűkületre genetikailag hajlamos (ApoE génhiányos, ApoE KO) egérmodellt választottunk. Az állatokat szívtájékon ólomtakarás segítségével lokálisan besugarztuk 16 Gy röntgen-sugárzással. Egy nappal, egy héttel és hat hónappal a kezelést követően vizsgáltuk a sugárzásra bekövetkező molekuláris és sejtszintű változásokat. A csontvelőből és a vérből áramlási citométerrel mértük az endotél progenitor sejteket. A szívszövetben lévő mitokondriális DNS törések mennyiségi változását, valamint a hosszú nem kódoló RNS-ek expressziós változását valós idejű poimeráz láncreakcióval mértük meg. Ezek mellett a kezelt állatok túlélését is figyelemmel kísértük.

Besugárzás hatására az ateroszklerózisra hajlamos egerek átlagos túlélése 37 nappal csökkent a vad-típushoz képest. A molekuláris változások tekintetében a mitokondriális DNS deléciók mennyisége 24 órával a kezeléseket után nem volt eltérő a kontrollhoz képest, de egy héttel később 18,11-szeresére nőtt, mely 6 hónapra rá még mindig magas maradt. A plazma GDF-15 fehérje mennyiségében vad típusú egereknél 3 hónapnál hosszabb sugárhatást nem találtunk, ApoE KO egerek esetében 6 hónap múlva is emelkedett értéket mutatott. lnc-p21 expresszió változásnál is a vad típusú egereknél inkább korai válasz volt jellemző, míg ApoE hiányos egereknél késleltetett hatást kaptunk. A vérben keringő endotél progenitorok mennyisége ateroszklerotikus egereknél 6 hónappal a besugárzás után feldúsultak.

Kísérleteink alapján bizonyítottuk, hogy lokális mellkas besugárzás hatására a szívben a mitokondriális DNS is károsodik, ez hozzájárulhat a metabolikus aktivitás csökkenéséhez. Ezen felül a szívben és a plazmában is megemelkedik a két vizsgált szívkárosodási marker (GDF-15 és lnc-p21) koncentrációja, mely bizonyos esetekben 6 hónap után is fennáll, így prediktív indikátora lehet a késői mellékhatások kialakulásának, illetve a korai elhalálozásnak.

JEGYZETEK

P48

SPECT képek geometriai parametrizációja májdaganatos egérmodellben

**VERES DÁNIEL SÁNDOR, SZÉKELY ANNA KRISZTINA, KISS FANNI JÚLIA, HORVÁTH ILDIKÓ,
MÁTHÉ DOMOKOS, SZIGETI KRISZTIÁN**

Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A primer és a metasztatikus daganatok egyaránt gyakori elváltozások. A klinikai gyakorlatban számos képalkotó modalitást (CT, PET, MRI, SPECT) használnak kimutatásukra. Bár a funkcionális képalkotás során a jelölés lehet akár sejtszintű is, azonban a létrehozott radiológiai képen a limitált térbeli felbontóképesség és az emberi felismerés határai miatt a képben rejlő információ - az elnyelés, eloszlás kismértékű térbeli megváltozása - csak a kép elemzésével lehetséges. Munkánk célja az volt, hogy kvantitatív képalkotás segítségével olyan megoldásokat, geometriai paramétereket találjunk, amelyek a rekonstruált képen közvetlenül még nem felismerhető daganat jelenlétét már korai stádiumban is képesek jelezni.

Kutatásunk során májdaganatokat használtunk modellnek. Három egércsoportot hasonlítottunk össze: egy dietil-nitrozamin által indukált hepatocellularis carcinoma primer daganatos (n=9), egy májmetasztázist adó humán melanoma xenograft (n=4), és egy egészséges kontroll (n=7) csoportot. Az állatok in vivo képalkotásához humán szérumból előállított Tc99m-el jelölt nanorészecskéket használtunk, amelyeket a máj fagocitái vesznek fel, amelyek relatív száma a daganatos régiókban kevesebb, mint az ép májszövetben. A radiofarmakon eloszlását annak beadását követően 2 órával NanoSPECT/CT+ segítségével határoztuk meg. A rekonstrukciót követően a máj manuális szegmentációját Otsu-algoritmus segítségével végeztük.

A szegmentált teljes májból az általunk fejlesztett programmal különböző geometriai paramétereket határoztunk meg különböző aktivitási küszöbértékeken binarizált képeket vizsgálva. Számítottuk a felszín részletezettségét leíró fajlagos felületet, fraktáldimenziót; a belső konnektivitást leíró fragmentációs indexet és diszkrét objektumszámot; a májszövettel körülhatárolt térfoglaló folyamat mennyiségét megadó bezárt és külső térrel összefüggő porozitást is. Ezeket a 3D geometriai paraméterértékeket összevetettük az aktivitás eloszlását jellemző hisztogram ferdeségével és csúcsosságával, valamint a klinikumban használt SUV értékkel is.

Több olyan paramétert találtunk, amelyek jól elkülönültek a különböző állatcsoportokban, így segíthetik a daganatok korai, objektív felismerését.

JEGYZETEK

P49

The effect of surface charge on brain endothelial permeability

ANA RAQUEL SANTA MARIA, FRUZZSINA WALTER, NÓRA HORÁNYI, ANDRÁS KINCSES, ILONA GRÓF, SÁNDOR VALKAI, ANDRÁS DÉR, MÁRIA A. DELI

Institute of Biophysics, Biological Research Centre of the Hungarian Academy of Sciences

The cell surface glycocalyx of brain capillary endothelial cells with its highly negative charge is an important element of the defence system of the blood-brain barrier (BBB). It can be exploited for drug delivery to brain via adsorptive-mediated transcytosis [1]. Despite the importance of the negative surface charge of the BBB in drug delivery this biophysical aspect of BBB models is neglected. Our aim was to measure the cell surface charge of hCMEC/D3 cells, a simplified model of the human BBB and study how it may regulate solute permeability across brain endothelial monolayers. In addition, we wanted to develop a new, improved version of the barrier chip [2] to better study paracellular barrier properties.

We have measured the surface charge of hCMEC/D3 cells with Zetasizer Nano (Malvern) and found it highly negative (-14 mV). The absolute value of this negative charge could be decreased by treating the cell layers with neuraminidase, an enzyme which cleaves glycocalyx, or with a positively charged lipid analog, TMA-DPH. The change in surface charge of the hCMEC/D3 cell layers by neuraminidase resulted in significantly increased permeability for paracellular marker dextran supporting the role of glycocalyx in BBB permeability. The cleavage of glycocalyx was visualized by wheat germ agglutinin lectin recognizing N-acetyl glucosamine and sialic acid. The enzyme treatment caused a decreased binding of the lectin to hCMEC/D3 cell surface indicating the effective removal of glycocalyx in agreement with the changes in surface charge. TMA-DPH did not change lectin binding which is consistent with its mode of action, insertion into plasma membrane.

In the improved version of the barrier chip the shape and the size of the gold electrodes were changed. Using hCMEC/D3 human brain endothelial cell line we monitored the effect of fluid flow on the electrical resistance of the cultured cell monolayers. Culture medium flow at 10 ml/min (shear-stress: 0.15 dyn/cm² or 0.015 Pa) for 24 hours significantly elevated the resistance, confirming our previous observations [2].

Acknowledgement

Supported by European Training Network H2020-MSCA-ITN-2015, Grant agreement No. 675619, Brain Barriers Training; GINOP-2.3.2-15-2016-00001.

References

- [1] Hervé F, Ghinea N, Scherrmann JM (2008) *AAPS J* 10: 455-472.
- [2] Walter FR, Valkai S, Kincses A, Petneházi A, Czeller T, Veszélka S, Ormos P, Deli MA, DéR A (2016) *Sens Actuators B Chem* 222: 1209-1219.

JEGYZETEK

P50

Kohleát membrántekercsek aggregációja és diszpergálása

BOZÓ TAMÁS¹, WACHA ANDRÁS², MIHÁLY JUDITH², BÓTA ATTILA², KELLERMAYER MIKLÓS^{1,3}

¹ Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

² MTA TTK, Biológiai Nanokémia Kutatócsoport

³ MTA-Semmelweis Egyetem, Molekuláris Biofizika Kutatócsoport

A kohleátok negatív töltésű foszfolipidekből álló liposzómák és Ca^{2+} ionok kölcsönhatásakor alakulnak ki [1]. Szerkezetük a mielinhüvelyre emlékeztet: a szőnyegszerűen feltekeredő foszfolipid kettősrétegeket a kétértékű kationok kötik egymáshoz. Számos antigén, illetve rossz biohasznosíthatóságú, kellemetlen mellékhatásprofilú farmakon (pl. amfotericin B, amikacin, raloxifen) hatékony és biztonságos alkalmazását lehetett kohleátba zárással biztosítani. A kohleát hatóanyaghordozók további fejlesztését azonban alapvetően gátolja, hogy képződésük során a részecskék aggregátumokat képeznek.

Munkánk célja az aggregált kohleátok diszpergálására alkalmas módszer kidolgozása volt. Szisztematikus vizsgálatnak vetettük alá több, kalciumkötő tulajdonságú vegyület kohleátokra kifejtett hatását. A részecskék morfológiáját fáziskontraszt- és atomerő mikroszkóppal vizsgáltuk. A belső szerkezet változásainak nyomon követésére kisszögű röntgenszórás, míg a foszfolipid fejcsoportok molekuláris kölcsönhatásainak vizsgálatára FTIR vizsgálatokat végeztünk.

Az ecetsav és borkősav nem diszpergálta a kohleátokat az alkalmazott koncentrációkban, az EDTA viszont teljesen felbontotta a tekercs szerkezetet, és hatására a kohleátok óriás liposzómákká alakultak. A citromsav megfelelő koncentrációban alkalmazva hatékonyan diszpergálta az aggregátumokat. A részecskék stabilitását a diszpergálás utáni puffercserével biztosítani tudtuk. Az optimális diszpergáló koncentrációban alkalmazott citromsav nem változtatta meg sem a kohleátok topográfiáját, sem a jellegzetes belső szerkezetüket. A citrátion hatása azon alapul, hogy a kohleátok felületének foszfolipid fejcsoportjairól eltávolítja a Ca^{2+} ionokat, de a rövid inkubációs idő során nem fér hozzá a tekercs belsejében található kalciumhoz.

Eredményeink szerint a Ca^{2+} iránt megfelelő asszociációs együtthatóval bíró anyagok (pl. citromsav) alkalmasak a kohleát aggregátumok diszpergálására [2]. Ez a technológia továbblépést jelenthet a kohleát alapú hatóanyaghordozó rendszerek fejlesztésében.

Köszönetnyilvánítás

Munkánk az NKFIÁ és az Európai Unió FP7/2007-2013 program támogatásában részesült az alábbi pályázatok keretében: OTKA K109480, VKSZ_14-1-2015-0052, HEALTH-F2-2011-278850 (INMiND) és NMP-2012-309820 (NanoAthero). Mihály Judith munkáját az MTA Bolyai János ösztöndíja támogatta.

Irodalom

[1] Zarif, L. (2002) *J Control Release* 81: 7-23.

[2] Bozó, T., et al., (2017) *Eur J Pharm Biopharm* 117: 270-275.

JEGYZETEK

P51

Trombocitadús vérplazma alvadás nanomechanikai vizsgálata

FELLER TÍMEA¹, HÁRSFALVI JOLÁN¹, DOMJÁN GYULA², GADÓ KLÁRA², VÁRNAI KATALIN² ÉS
KELLERMAYER MIKLÓS S.Z.¹.

¹ MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet,
Budapest

² I. Sz. Belgyógyászati Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

A véralvadás során olyan molekulák kerülnek vérlemezkék felületére, amelyeken alvadási faktorok lokalizálódnak és emiatt az alvadási folyamat sokszorosára gyorsul. A trombocita-katalizált folyamat mechanizmusai részleteiben nem ismertek. Kísérleteinkben nanotrombelasztográfiával (nTEG) [1] követtük a trombocita-katalizált véralvadás folyamatát normál, kumarin-kezelt, illetve patológiás (primer antifoszfolipid szindróma, APS) de kumarin-kezelt plazmamintákban.

Nanotrombelasztográfiás méréseink során az AFM rugólapkát konstans sebességgel ciklusosan (fel-le) mozgatunk a plazmamintában. Az alvadó trombusban, annak rugalmassága és viszkozitása függvényében ilyenkor erő fejlődik, amelynek időbeli változásait pontosan követjük a kalibrált rugólapka fel- és lehajlásából. Mérjük az kezdeti erő kifejlődésig eltelt időt (tF), a rugólapka fel- és lehajlása közötti maximális erőkülönbséget (ΔF), illetve az erőhiszterézist (HF). A tF a véralvadás aktiváció sebességét, a ΔF a trombus rugalmasságát, a HF pedig a viszkozitását jellemzi. Az alvadás folyamán a rugólapka egyre inkább elhajlott. Az elhajlás mértéke (ΔD) a vérlemezkék összehúzódására utalhat. Az alvadásgátolt (3,2 % Na-citrát) trombocitadús plazmában kalcium (10 mM) és trombin (1 IU/ml) hozzáadásával aktiváltuk az alvadást. Az aktiváció hatására a tF egyharmadára csökkent (~150 s) a nem aktivált mintához képest, a ΔF viszont jelentősen megnőtt (~220 nN). A HF a ΔF -nél gyorsabban növekedett, amelyből arra következtetünk, hogy az alvadás kezdetén a viszkózus komponens kifejezettebb, mint az elasztikus. Feltehetően a trombocita aktiválódását követő összehúzódás és az ebből fakadó erőteljes rugalmasság növekedés a trombusképződés későbbi fázisában érvényesül. Kumarinkezelt betegekben a tF, ΔF és HF értékek nem mutattak szignifikáns különbséget a kezeletlen mintához képest. Kumarinkezelt APS betegek mintáiban azonban a tF megháromszorozódott (mediánja 134 s helyett 338 s), a ΔD érték mediánja APS-es betegek esetén pedig 0,378 nN/s -ról 0,258 nN/s-ra csökkent. Ebből arra következtetünk, hogy APS-ben a trombociták felületén akkumulálódó antigén-antitest komplexek jelentősen gátolják a normális rugalmasságú és viszkozitású alvadék kialakulását. Eredményeink arra utalnak, hogy az nTEG módszer részletes bepillantást enged a trombocita-katalizált véralvadás finom mechanizmusába.

Irodalom

[1] Feller T., Kellermayer M., Kiss B., (2014) *Journal of Struct. Biol.* 186: 462–471

JEGYZETEK

P52

Fotoszintetikus bio-nanokompozitokon alapuló fényérzékeny elektródok

HAJDU KATA¹, FABIOLA BALDERAS², KISLÁSZLÓ KRISZTIÁN¹, VIVECHANA AGARWAL² CLAUDIA PACHOLSKI³ ÉS NAGY LÁSZLÓ²

¹ Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

² CIICAP- Universidad Autonoma del Estado de Morelos, Col Chamilpa, Cuernavaca, Mexikó

³ InnoFSPEC, Institut für Chemie, Universität Potsdam, Németország

A fotoszintézis során a fényenergia átalakítás első lépései a fotoszintetikus reakciócentrumban (RC) történnek. A fényenergia elnyelése klorofill illetve bakterioklorofill molekulák által történik, mely folyamat vége pozitív és negatív töltések szétválasztása, következésképp egy töltéspár keltése a RC-on belül. Számos kutatás irányul a reakciócentrum felhasználására fényenergia hasznosító rendszerekben, pl. speciális integrált optoelektronikai berendezések létrehozására [1].

A porózus szilícium (PSi) az egyik legígéretesebb hordozó anyag nem csak bioszenzorikai és orvosi alkalmazások esetén, de az energetika és integrált optoelektronika területén is [2]. A reakciócentrum és porózus szilícium társítása új lehetőségeket kínál a nanobionikában, a biohibrid rendszerek területén.

Rhodobacter sphaeroides bóbaktériumból izolált fotoszintetikus reakciócentrumot rögzítettünk a porózus szilícium fotonikus szerkezetében, így hozva létre egy foto- és redox-aktív hibrid rendszert. Bár a biológiai anyagok érzékenyek a környezeti változásokra, a fotoszintetikus reakciócentrum egy igen stabil, hetek elteltével is jelentős fotoaktivitást és energiaátalakító hatékonyságot mutató biológiai komponens. Az elvégzett elektrokémiai mérések bizonyították, hogy a létrejött kompozitban a RC és PSi redox kapcsolatban állnak. A mérhető fotoáram nagyban függ a hozzáadott redox komponensek mennyiségétől. A fotociklus sebességét befolyásolja a donor és akceptor oldali redox folyamatok sebessége, melyeket a porózus rendszerre jellemző diffúziós együtthatók módosítanak.

Az eredmények alapján a létrehozott biokompozit alkalmas lehet bioszenzorikai alkalmazásokhoz a későbbiekben pl. különféle redoxaktív komponensek, herbicidek detektálására.

Köszönetnyilvánítás

A munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal által finanszírozott OTKA PD116739 projekt támogatta.

Irodalom

[1] Allen, J. P., Williams, J. C. (1998) *FEBS Lett.* 438. 5-9.

[2] Sailor M. J. (2012) *Porous Silicon in Practice: Preparation, Characterization and Applications*

JEGYZETEK

P53

Bevonatok létrehozása genetikailag módosított bakteriális filamentumokból vízszennyező anyagok detektálására alkalmas érzékelőfelületekhez

NÁDOR JUDIT¹, KALAS BENJÁMIN¹, SAFTICS ANDRÁS¹, ILLÉS LEVENTE¹, CARMEN MOLDOVAN²,
MARIUCA GARTNER³, FRIED MIKLÓS¹, VONDERVISZT FERENC^{1,4} ÉS PETRIK PÉTER¹

¹ MTA Energiatudományi Kutatóközpont, Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet

² National Institute for Research & Development in Microtechnologies, Bucharest, Romania

³ "Ilie Murgulescu" Institute of Physical Chemistry of the Romanian Academy, Bucharest, Romania

⁴ Pannon Egyetem, Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet

A korszerű technológiákban egyre fontosabbá és sürgetőbbé válnak a környezetvédelemmel kapcsolatos kutatások és fejlesztések. Az egyik legaktuálisabb probléma a vízkészlet szennyezése, melynek kezelése kritikus lehet az emberiség jövője szempontjából.

Csoportunk egy nemzetközi együttműködés tagjaként vesz részt egy kutatásban, melynek célja egy olyan eszköz fejlesztése, amellyel különböző vízszennyező molekulákat, elsősorban nehézfémek határérték feletti koncentrációját tudjuk detektálni. A szenzor felületét különböző érzékelőrétegek, többek között dielektrikumok, nanostruktúrák, illetve genetikailag módosított, bakteriális eredetű fehérjeszálak, filamentumok alkotják. Utóbbiakon génmódosítás segítségével olyan kötőhelyek lettek kialakítva, melyekhez a vizsgálni kívánt molekulák specifikusan, nagy affinitással képesek kötődni. Amikor felületen rögzített filamentumokhoz hozzákapcsolódnak a célmolekulák, az eszközben mérhető erősségű vezetőképesség-változás következik be, ami a szennyezőanyag jelenlétére enged következtetni.

Csoportunk elsődleges feladata a filamentumok szenzorfelszínen történő immobilizációja, aminek a megvalósításához többféle módszert is alkalmazunk. Az egyik eljárás során olyan genetikailag módosított filamentumokat használunk, melyek felszínén tiolcsoportok találhatók bizonyos gyakorisággal, így kovalens kötésekkel képesek kialakítani az aranyfelülettel. A másik módszer esetében tiolcsoportokkal nem módosított, vad típusú filamentumokat egy kémiai keresztkötő DSP molekula (dithiobis(succinimidyl propionate)) segítségével rögzítjük a felületen. A kétféle típusú filamentum immobilizációját fehérjék kitapadását elősegítő titán-oxid alapú nanorészecskékből készült rétegeken is tanulmányozzuk.

A fehérjerétegek *in situ* vizsgálatához plazmongerjesztéssel kombinált spektroszkópai ellipszometriát, *ex situ* minősítésükhöz pedig atomerő mikroszkópiát, pásztázó elektronmikroszkópiát, valamint ellipszometriai térképezést alkalmazunk.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük az MERA.NET-WaterSafe / Nr. 39/2016, OTKA K115852 és az EU (ERDF) INFRANANOCHEM – No. 19/01.03.2009 projektek támogatását.

JEGYZETEK

P54

Szén alapú bio-nanokompozitok optoelektronikai alkalmazásának lehetőségei

SZABÓ TIBOR^{1,2}, T. TOMASHEVIC³, R. PANAJOTOVIĆ³, ABD ELAZIZ SARRAI^{1,4}, SZEGLETES ZSOLT⁵,
VÁRÓ GYÖRGY⁵, HAJDU KATA¹, MÁTHÉ BOTOND¹, SZABÓ ANNA⁶, HERNÁDI KLÁRA⁶ ÉS NAGY
LÁSZLÓ¹

1. Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

*2. Izotóp Klimatológiai és Környezetkutató Központ (IKER), Magyar Tudományos Akadémia
Atommagkutató Intézet, Debrecen*

3. Institute of Physics, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

4. Laboratory for Biomaterials and Transport Phenomena LBMPT, University Yahia Fares, Medea, Algeria;

5. Biofizikai Intézet, Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Szeged

6. Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, Szegedi Tudományegyetem, Magyarország

Funkcionális bio-hibrid nanokompozit anyagokat állítottunk elő bíborbaktériumokból tisztított fotoszintetikus reakciócentrum fehérjéből (RC) és szénalapú nanoszkópikus hordozó anyagokból (szén nanocsövekből, nanocső kötegekből, grafénből). Az így előállított anyagok optikai és elektromos tulajdonságait jellemeztük. A RC-ot sikeresen kötöttük különböző módszerekkel (fizikai szorpció és specifikus kémiai kötésekkel) a szerves hordozókhoz, és a fényindukált abszorpcióváltozást, elektromos vezetőképességváltozást mértük. A spektroszkópiai vizsgálatok azt mutatták, hogy a RC a kötődés után is fotoaktív maradt. A sötétben és fényben mért áram/feszültség karakterisztikák azt mutatták, hogy a fotoaktív biológiai és a szerves hordozó között elektrosztatikus/elektromos kölcsönhatás lehet. Az eredmények azt mutatták, hogy a fényindukált ellenállásváltozás kialakításában mind a szerves hordozóban lejátszódó gerjesztési, mind pedig a RC-ban végbemenő energiadiSSIPáció szerepet játszhat. A kapott eredmények segíthetnek újgenerációs optoelektronikai rendszerek (pl. nagy specifitású bioszenzorok, fénnel működtethető kapcsolók, fotoelektromos energiaátalakító rendszerek, mikroképző rendszerek, stb.) kialakításában.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az Emberi Erőforrások Minisztériuma Új nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült, támogatta továbbá a Svájci Hozzájárulás program (SH/7/2/20), OTKA PD116739 és OTKA NN114463, GINOP-2.3.2-15-2016-00001.

JEGYZETEK

P55

Szén alapú bio-nanokompozitok izotópanalitikai vizsgálata

SZABÓ TIBOR^{1,2}, JANOVICS RÓBERT², TÚRI MARIANNA², FUTÓ ISTVÁN², RINYU LÁSZLÓ², SZABÓ ANNA³, NÉMETH KRISZTIÁN³, HERNÁDI KLÁRA³, HAJDU KATA¹, MAGYAR MELINDA⁴ ÉS NAGY LÁSZLÓ¹

¹ Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

² MTA Atommagkutató Intézet, Izotóp Klimatológiai és Környezetkutató Központ (IKER)

³ Szegedi Tudományegyetem, Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék

⁴ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

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, mikroképzőképzési rendszerek, szenzorok, telekommunikációs technológiák, energiatermelés) területén.

Munkánk során számos szén alapú anyagot állítottunk elő, melyek között voltak tisztán szén alapú és egyéb atomokat tartalmazóak is (nitrogén, kén). 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.

C14 tartalom meghatározásával megállapítottuk a fehérje (torma peroxidáz) arányát a kompozitban, így annak ismeretében az abszolút enzimaktivitás is kiszámítható.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást az Európai Unió és Magyarország támogatta az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásában a GINOP-2.3.2.-15-2016-00009 azonosítószámú 'IKER' pályázatban, továbbá az Emberi Erőforrások Minisztériuma Új nemzeti Kivállóság Programjának és az OTKA NN114463 projektnek a támogatásával készült.

JEGYZETEK

P56

Nagy áteresztő képességű optikai bioszenzor sejttoxicitás jelölésmentes vizsgálataihoz

SZÉKÁCS INNA¹, FARKAS ENIKŐ^{1,2}, SZÉKÁCS ANDRÁS³ ÉS HORVÁTH RÓBERT¹

¹ MTA Energiatudományi Kutatóközpont, Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Nanobioszenzorika Lendület Kutatócsoport

² Pannon Egyetem, Vegyészmérnöki és Anyagtudományi Doktori Iskola, Molekuláris- és Nanotechnológiák alprogram

³ Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ, Agrár-környezettudományi Kutatóintézet

A nagy áteresztő képességű, jelölésmentes Epic BenchTop optikai bioszenzor korábbi vizsgálatainkban már hatékony eszköznek bizonyult sejtadhéziós, -kiterülési és -jelátviteli folyamatok valós idejű nyomon követésében és mennyiségi meghatározásában [1-5]. Újabb eredményeink mutatják, hogy a módszer a sejttoxicitás mérésében is új lehetőségeket nyit a sejtek és egyes xenobiotikumok kölcsönhatásainak gyors és érzékeny szűrővizsgálati technikájaként. Az Epic technológia lehetőséget teremt a szenzorfelület feletti 100-200 nm rétegben bekövetkező sejt-morfológiai és dinamikus tömeg-újraeloszlási folyamatok következtében fellépő összetett sejtválaszok érzékelésében. Ezt a jelenséget sikeresen alkalmaztuk növényvédőszer-hatóanyag, -készítmény és a formázáshoz használt adalékanyag szenzorfelületen letapadt csont eredetű (preoszteoblaszt, MC3T3E1) sejt vonalra gyakorolt koncentrációfüggő citosztatikus és citotoxikus hatásainak azonosításában. Az alkalmazott xenobiotikumok hatásainak szérumban tartalmazó és szérumban oldott sejttenyésztő folyadékban tapasztalt dózisfüggéséből meghatározott IC₅₀ értékek jó egyezést mutattak a szakirodalomban leírt adatokkal, ami igazolta az Epic BT technika szűrőmodszereként való kiváló alkalmazhatóságát. Az Epic BT kedvezőbbnek bizonyult a hagyományos áramlási citometriás módszernél, mivel nem csupán nagy áteresztő képességű, valós idejű kimutatást tesz lehetővé, de jelentősen lerövidíti a vizsgálati időt is, melynek révén a sejttoxicitás értékelését korai, jóval a sejthalál bekövetkeztét megelőző végpontokra teszi lehetővé.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást a Lendület (MTA), az ERC_HU (NKFIH) és a K109865 (OTKA) programok támogatták.

Irodalom

- [1] Fang Y, Ferrie AM, Fontaine NH, Mauro J, Balakrishnan J (2006) *Biophys J* 91: 1925–1940.
- [2] Orgovan N, Peter B, Bosze S, Ramsden JJ, Szabo B, Horvath R (2014) *Sci Rep* 4: 4034.
- [3] Orgovan N, Ungai-Salánki R, Lukácsi Sz, Sándor N, Bajtay Zs, Erdei A, Szabó B, Horvath R (2016) *Biointerphases* 11: 031001.
- [4] Kurucz I, Peter B, Prosz A, Szekacs I, Horvath R, Erdei A (2017) *Sens Actuators B Chem* 240: 528–535.
- [5] 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.

JEGYZETEK

P57

Dextrán alapú felületi rétegek előállítása sejtdhéziós kísérletekhez FluidFM módszer segítségével

TÜRK BARBARA^{1,2}, SAFTICS ANDRÁS^{1,2}, SZTILKOVICS MILÁN^{1,3}, SZÉKÁCS INNA¹, KURUNCZI SÁNDOR¹ ÉS HORVÁTH RÓBERT¹

¹ MTA Energiatudományi Kutatóközpont Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Nanobioszenzorika Lendület Kutatócsoport

² Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék

³ Eötvös Loránd Tudományegyetem, TTK Biológiai Fizika Tanszék

Jelölésmentes bioszenzorok alkalmazásánál az egyik kulcsfontosságú paraméter a felületre rögzített funkcionális réteg kialakítása. Számos vizsgált anyagi rendszer közül a dextrán bizonyult erre legalkalmasabbnak nem-specifikus adszorpció visszaszorítási képessége miatt. Ezen kívül a könnyen származékolható karboxil-csoportok révén az immobilizálni kívánt receptromolekulák száma jelentősen növelhető. Bemutatandó eredményeink korábbi munkáink folytatása [1]: ezen munka keretében dextrán rétegek sejtdhéziós tulajdonságait vizsgáltuk FluidFM módszer segítségével szervesen oxid felületeken (pl. üveg, hullámvezető dielektrikum) kialakítva.

Üveg tárgylemezek felületén karboximetil-dextránból (CMD) rétegeket hoztunk létre spin coating technikával, melyhez különböző származékoltsági fokú (DS, degree of substitution) CMD-t állítottunk elő. A kb. száz nanométeres vastagságú CMD rétegek stabilitását nátrium-trimetáfoszfát (STMP) keresztkötő ágens alkalmazásával növeltük meg. A kialakított réteget kontaktszög mérés, AFM, ellipszometria, XPS, illetve OWLS mérés technikákkal jellemeztük.

A létrehozott CMD rétegeken sejtdhéziós kísérleteket végeztünk, melyek során bizonyítottuk a réteg sejttaszító tulajdonságát. FluidFM technika segítségével a CMD rétegekre ciklikus RGD peptid motívumot mintáztunk szintén sejtdhéziós kísérletek céljából, majd egyedi sejtek kitapadását vizsgáltuk a kialakított rétegeken fáziskontraszt és holografikus mikroszkópiával, ill. meghatároztuk a sejtek adhéziós erejét.

Szerzők köszönetüket fejezik ki a támogatásért a következőknek:

MTA Bolyai Ösztöndíj – Kurunczi Sándor

MTA Lendület Pályázat, NKFIH ERC_HU – Horváth Róbert

Irodalom

[1] Saftics, A., Kurunczi, S., Szekrényes, Z., Kamarás, K., Khánh N.Q., Sulyok A., Bósze Sz., Horvath, R. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Fabrication and characterization of ultrathin dextran layers: Time dependent nanostructure in aqueous environments revealed by OWLS. 146, 861–870 (2016).

JEGYZETEK

P58

Fotoszenzibilizáció membránkárosító hatása

BŐCSKEI-ANTAL BARNABÁS¹, ZOLCSÁK ÁDÁM¹, BOZÓ TAMÁS¹, KÓSA NIKOLETTA¹, CSÍK GABRIELLA¹, VOSZKA ISTVÁN¹, TÓTH KATALIN² ÉS HERÉNYI LEVENTE¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológia Intézet*

² *Deutsches Krebsforschungszentrum, Biophysics of Macromolecule*

Az orvosi gyakorlatban már régóta ismert fotodinamikus terápia alapját fényérzékenyítők, leggyakrabban porfirin származékok, látható fénnel történő besugárzásának eredményeként képződő ROS oxidatív károsító hatása jelenti. A ROS több helyen okozhat károsodást a sejteken belül. Az utóbbi időben kutatócsoportunk a membránokhoz kötődő porfirin származékok lehetséges elhelyezkedését, a képződő ROS mennyiségét illetve ezek membránkárosító hatását vizsgálta modellrendszereken.

Legutóbbi munkánkban a ROS **közvetlen** sejtmembránt károsító hatásának vizsgálatát tűztük ki célul. Sejtmembránmodellként DPPC és DOPC lipidek keverékéből előállított kis unilamelláris vezikulákat használtunk. A korábbi tapasztalatainknak megfelelően a ROS előállítása a membránokhoz kötött MPCl és MPE segítségével történt. A megvilágítás miatt bekövetkező ROS képződés eredményeként létrejövő változásokat, nevezetesen a liposzómák méreteloszlásának a változását DLS és FCS módszerekkel mutattuk ki. Referencia mérésenként azonos összetételű liposzómákhoz különböző koncentrációban H₂O₂-t, azaz közvetlenül ROS-t adtunk, amelynek hatását DLS-méréssel követtük nyomon. A kapott eredmények a kisebb és nagyobb méretű partikulumok egyidejű megjelenését támasztották alá, ami összhangban van a liposzómák szétesésének, illetve aggregálódásának hipotézisével.

Ehhez kapcsolódik legújabb kérdésfeltevésünk is, nevezetesen: a makroszkopikusan megfigyelhető jelenségek mennyire követhetők nyomon, mikroszkopikus szinten? AFM segítségével tanulmányozzuk a membránok szerkezetét és nanomechanikai paramétereit, illetve ezeknek a ROS által okozott változásait. E célok mentén haladva felvettük a csillámpalalemezhez kitapadt felületasszociált lipid kettősréteg magasságprofilját és a membránok átszúrása során az AFM rugólapka elmozdulását, illetve a rá ható erőt, tehát az ún. erőspektroszkópiát alkalmaztuk. A magasságprofil alapján elmondható, hogy a DOPC lipidek doméneket alkotnak a kitapadt lipid kettősrétegben. Annak ellenére, hogy az új mikroszkopikus eredmények értelmezése nem egyértelmű, úgy gondoljuk, hogy mérési eredményeink jól összevethetők a korábbi makroszkopikus eredményekkel, azaz a DLS és FCS mérések során tapasztalt változásokkal.

ROS - reaktív oxigén származék

DPPC - dipalmitoil-foszfátidilkolin

DOPC - dioleoilfoszfátidilkolin

MPCl - mezoporfirin-dihidroklorid

MPE - mezoporfirin-dimetil észter

FCS - fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia

DLS - dinamikus fényszórás

AFM - atomerő-mikroszkóp

JEGYZETEK

P59

Protoporfirin tartalmú GnRH analógok tumorelles hatásának vizsgálata fotodinamikus terápiában

MEZŐ GÁBOR¹, KRAM NASSIMA¹, PETHŐ LILLA¹, MURÁNYI JÓZSEF², BÖKÖNYI GYÖNGYI²
ÉS CSÍK GABRIELLA³

¹ MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport

² MTA-SE Patobiokémiai Kutatócsoport

³ SE-ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

A fotodinamikus tumorterápia lényege, hogy a kezelés során egy fényérzékenyítő hatóanyagot (photosensitizer, PS) juttatnak a tumorba és egy bizonyos hullámhosszúságú fénnel aktiválják. Ennek eredményeként citotoxikus reaktív oxigén specieszek jönnek létre, amelyek DNS vagy fehérje károsító hatásuk folytán apoptotikus, vagy nekrotikus sejthalálhoz vezetnek. A módszer elsősorban bőr hámeredetű tumorok (pl. nem metasztatizált melanóma), illetve üreges szervek tumorai (pl. nyelőcső, garat, bronchus, húgyhólyag) esetén alkalmazhatók hatékonyan. A kezelés hatékonysága fokozható, ha a tumorlokalizációt elősegítő irányító molekulához kötve juttatják a szervezetbe a fényérzékenyítő molekulát. Ilyen irányító molekulák lehetnek a gonadotropin-releasing hormon (GnRH) analógok, mivel a legtöbb tumortípuson nagy számban kifejeződnek a GnRH receptorok, míg az egészséges sejteken nem vagy csak lényegesen kisebb mértékben fordulnak elő [1,2].

Munkánk során három GnRH decapeptid analóghoz kapcsoltunk Protoporfirin IX (Pp) közepkategóriás fotoérzékenyítő anyagot. Glp-His-Trp-Lys(Bu)-Tyr-D-Lys(Pp)-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂ ([Lys⁴(Bu),D-Lys⁶(Pp)]-GnRH-I), Glp-His-Trp-Lys(Bu)-His-D-Lys-Trp-Tyr-Pro-Gly-NH₂ ([Lys⁴(Bu),D-Lys⁶(Pp)]-GnRH-II) és Glp-His-Trp-Lys(Bu)-His-Asp(OMe)-Trp-Lys-Pro-Gly-NH₂ ([Lys⁴(Bu),Asp⁶(OMe),Lys⁸(Pp)]-GnRH-III). A konjugátumok tumorelles hatását releváns Detroit-256 humán garat tumor sejteken vizsgáltuk, amelyről korábban kimutattuk, hogy jelentős mértékben expresszálják a GnRH receptorokat és nagymértékben felveszik a GnRH származékok karboxifluoreszcein konjugátumait [3] A mintákat fehér fénnel kontrolált körülmények között besugároztuk.

A kísérlet optimalása során igazoltuk, hogy 10 perces megvilágítást alkalmazva a konjugátumok jelentős toxikus hatással rendelkeznek mikromólos tartományban. Megállapítottuk, hogy a sejtek kezelés nélküli, vagy szabad peptiddel történő kezelés utáni megvilágítása nem okozott szignifikáns toxikus hatást. A konjugátumok magasabb koncentrációban (10 µM) megvilágítás nélkül is volt némi toxikus hatásuk, ami egyezik az irodalmi adatokkal [2]. A sejtek konjugátummal történt 6 órás kezelését követően a megvilágítás hatására jelentősen növekedett a sejtpusztulás, ami tovább fokozódott, ha a citotoxicitást nem közvetlenül a megvilágítás után, hanem további 72 órás inkubálás után mértük. Ilyen körülmények között a konjugátumok már 2,5 mM koncentrációban a sejtek >95%-os pusztulását eredményezték.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást az OTKA K 104045, K 119552 és az NKFI NVKP_16-1-2016-0036 támogatta.

Irodalom

- [1] Mező G, Manea M (2010) *Expert Opin Drug Delivery* 36: 397-439.
- [2] Rahimpour S, et al. (2003) *J Med Chem* 46: 3965-3974.
- [3] Murányi J, et al. (2016) *J Pept Sci* 22: 552-560.

JEGYZETEK

P60

Az UV-A és UV-B sugárzás hatása sötétben nevelt borsó (*Pisum sativum*) epikotilra

ERDEI ANNA LAURA^{1,2}, DR. BÖDDI BÉLA¹

¹ ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia Intézet, Növény szervezettani Tanszék

² MTA Növényvédelmi Intézet Állattani Osztály

A borsó epikotilja protoklorofill-összetétele miatt látható fényre rendkívül érzékeny [1], és a látható fénnel történő megvilágítás során a protoklorofillid-pigmentek által elnyelt energia reaktív oxigénformák keletkezését idézi elő, amelyek pigmentdegradációt, lipid-peroxidációt, turgorvesztést illetve hervadást idézhetnek elő [2]. Az ultraibolya sugárzás sötétben nevelt borsó epikotiljára gyakorolt hatása a látható fénnel szemben azonban még igen kevésbé ismert.

Az UV-A és UV-B fényt az epikotil abszorbeálja, mivel a protoklorofillid, mint porfirin-vázis klorofill-előanyag, az UV-tartományban abszorpciós sávval rendelkezik. A protoklorofillid klorofillidde alakítását katalizáló enzim reakciócentrumának tirozin-oldalláncai szintén képesek elnyelni az ultraibolya-fény energiáját, ami energiatranszferrel átkerülhet a fototranszformációt és kifakulást szenzibilizáló protoklorofillid-pigmentekre.

Megvilágítási kísérleteink során jelentős kifakulást tapasztaltunk, de történt fototranszformáció is. Ezt a fluoreszcencia jel változása és a protoklorofillid/klorofill-tartalom változása is alátámasztotta. Mindkét folyamat hullámhosszfüggő; míg a klorofill-szintézis aktivitása a 290-320 nm közötti megvilágítás esetén volt a legnagyobb addig a hosszabb hullámhosszú (360 nm körüli) megvilágítás esetén a protoklorofillid degradációja került túlsúlyba.

A struktúrából és egyéb pigmentek jelenlétéből adódó fényszórás és fényabszorpció mértékét intakt növény és a növényből készült glicerines szuszpenzió fotoaktivitásának összehasonlításával vizsgáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy az ebből adódó UV-vesztesség elenyésző volt natív mintákban.

A borsó epikotiljában a kifakulás és fototranszformáció UV-megvilágításkor is egymással párhuzamosan végbemenő folyamat, amelyeket elsődlegesen a protoklorofillid közvetlen gerjesztése fotoszenzibilizál. Az L-POR fehérje tirozin-oldalláncai is képesek elnyelni az ultraibolyafényt, amely szintén fotoredukciót illetve kifakulást idézhet elő. Vizsgálataink alátámasztották, hogy az etiolált borsó epikotil az UV-A és UV-B megvilágítás klorofill-szintézisre gyakorolt hatásainak tanulmányozására ideális modell.

Irodalom

[1] Hideg É, Vitányi B, Kósa A, Solymosi K, Bóka K, Won S, Inoue Y, Ridge R, Böddi B (2010) *Physiol Plant* 138:485-492.

[2] Erdei N, Barta Cs, Hideg E, Böddi B (2005) *Plant Cell Physiol* 46:185-191.

JEGYZETEK

P61

A fotoaktív sárga fehérje fotociklusának integrált optikai tanulmányozása különböző páratartalmú környezetben

KREKIC SZILVIA, NAGY DÁVID, FÁBIÁN LÁSZLÓ, ZIMÁNYI LÁSZLÓ ÉS DÉR ANDRÁS

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

Napjaink megnövekedett telekommunikációs adatmennyisége közel van ahhoz a határhoz, amit a hagyományos elektronikus eszközökkel már nem leszünk képesek feldolgozni. A mikroelektronikai eszközök hátrányait kiküszöbölni igyekvő technológiák közt vezető szerepe van a fotonikai alkalmazásoknak, ahol mind az információ-feldolgozás, mind a -továbbítás optikai elven történik. Az integrált optikai struktúrák gyártási technológiája mára kiforrott, alapvetően megegyezik a mikroelektronikában használatos módszerekkel, így a jelenlegi kutatások főleg olyan anyagok keresésére és fejlesztésére fókuszálnak, melyek aktív, vezérlő szerepet tölthetnek be ezekben az optikai áramkörökben. A jelenleg használt nemlineáris optikai tulajdonságokkal bíró anyagok (pl. szerves és szervetlen kristályok, festékmolekulák, stb.) – bár bizonyos területeken bizonyították alkalmasságukat, – messze nem tekinthetők ideális megoldásnak.

Korábbi eredmények alapján néhány biológiai eredetű molekula integrált optikai felhasználása is intenzíven kutatott terület. Az egyik ilyen jelölt a *bakteriorodopszin* nevű fényérzékeny membránfehérje, melynek nagy fényindukált törésmutató-változását és más nemlineáris optikai tulajdonságait már több területen kiaknázzák. Egy másik lehetséges fehérje a PYP (Photoactive Yellow Protein), amely előzetes vizsgálataink szerint szintén megfelelő nagyságú fényindukált törésmutató-változással rendelkezik integrált optikai eszközökben való felhasználásához.

Látható fénnel való gerjesztés hatására a PYP kvázistabil konformációk sorozatán megy keresztül, melyek jól elkülöníthető abszorpciós spektrumokkal jellemezhetőek. A fényindukált törésmutató-változás mértékének és időbeli változásának ismerete alapvető fontosságú a fotonikai alkalmazások szempontjából. Jelenlegi munkánk során üvegfelületre szárított PYP fotociklusát tanulmányoztuk az MTA SZBK Biofizikai Intézete Biomolekuláris Elektronika csoportjában. A fény hatására bekövetkező spektrális változásokat többcsatornás optikai spektroszkópiával (OMA, Optical Multichannel Analysis) követtük, az adatok kiértékelésére pedig szinguláris érték felbontással és globális multiexponenciális illesztéssel kombinált *target testing* módszert alkalmaztunk. A kapott eredmények alapján meghatároztuk a szárított PYP-réteg fotociklusát.

Eredményeink hozzájárulhatnak a szárított PYP fotonikai felhasználását célzó eszközök optimális tervezéséhez.

JEGYZETEK

P62

Makroszkopikusan orientált II. fénybegyűjtő antennakomplex jellemzése az anizotróp cirkuláris dikroizmus módszerével

LINGVAY MÓNKA¹, AKHTAR PARVEEN¹, PAWLAK KRZYSZTOF¹, ZSIROS OTTÓ¹, JÁVORFI TAMÁS², SILIGARDI GIULIANO², HUSSAIN ROHANAH², GARAB GYÖZŐ¹, LAMBREV PETAR¹

¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Növénybiológiai Intézet

² Diamond Light Source, Didcot, Egyesült Királyság

A II. fénybegyűjtő antennakomplex (Light-harvesting complex II, LHCII) egy, a növények és zöld algák kloroplasztisz tilakoidmembránjaiban elhelyezkedő, klorofill–fehérje komplex, amely a II. fotokémiai rendszer (Photosystem II, PSII) perifériás antennájaként működik. Az LHCII-ben szorosan elhelyezkedő klorofill és xantofill molekulák átmeneti elektromos dipólusainak dinamikus csatolása részben delokalizált exciton állapotokat eredményez, amelynek eredményeképpen egy ellentétes előjelű sávpár (exciton couplet, EC) jelenik meg a cirkuláris dikroizmus (CD) spektrumban. Az exciton-csatolt cirkuláris dikroizmus (EC-CD) mára a pigment–fehérje komplexek, például az LHCII szerkezeti változásainak kimutatásának egyik legérzékenyebb eszköze. Mivel azonban az LHCII sok kromofórból áll, így sok az exciton állapot, a CD spektrumokat rendkívül nehéz értelmezni. Az egyik sajátos nehézség az, hogy a közel azonos energiájú átmenetekkel járó pozitív és negatív CD sávok kioltathatják egymást. A makroszkopikusan orientált molekulák és aggregátumok anizotróp CD-je (ACD) további információt szolgáltat ezek strukturális szervezettségéről, amelyek a rotációsán átlagolt izotróp CD-ben elvesznek [1]. Az orientált sík membránokban lévő fotoszintetikus komplexek ACD spektrumai felfedhetik az exciton átmeneti dipólusok orientálódását a membránsíkhöz, illetve a fehérje gerincéhez viszonyítva [2–3].

Bemutatjuk különböző szupramolekuláris szervezettségű lipid membránokba ágyazott LHCII monomerek és trimerek UV-Vis ACD spektrumát, melyeket összepréselt gélek vagy felületi filmrétegek formájában orientáltunk. Az ACD spektrumok drasztikusan megnövekedett intenzitást és részletességet mutatnak a megfelelő izotróp CD spektrumokhoz képest, és olyan átmeneteket fednek fel, amelyek túl gyengék ahhoz, hogy abszorpciós vagy CD spektrumokban feloldhatók legyenek. Továbbá, az átmeneti dipólmomentumok orientációjának felfedése által, az ACD strukturális korlátokat szab meg a spektrális jellemzők lehetséges hozzárendelésénél. Arra számítottunk, hogy ezek a kísérleti ACD-spektrumok beépíthetők az LHCII teljes körű és pontos szerkezetalapú exciton modelljébe.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat a Nemzetgazdasági Minisztérium GINOP-2.3.2-15-2016-00001 pályázata támogatta.

Irodalom

- [1] Kuball HG (2002) *Enantiomer* 7: 197-205.
- [2] Miloslavina Y, Lambrev PH, Jávorfí T, Várkonyi Z, Karlický V, Wall JS, Hind G, Garab G (2012) *Photosynth Res* 111: 29-39.
- [3] Nielsen JT, Kulminkaya NV, Bjerring M, Linnanto JM, Rätsep M, Østergaard Pedersen M, Lambrev PH, Dorogi M, Garab G, Thomsen K, Jegerschöld C, Frigaard NU, Lindahl M, Nielsen NC (2016) *Nat Commun* 7: 12454.

JEGYZETEK

P63

Hofmeister sók hatása a bakteriorodopszin fotociklusára

NAGY DÁVID, DÉR ANDRÁS ÉS ZIMÁNYI LÁSZLÓ

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

A bakteriorodopszin fény által hajtott protonpumpa fotociklusát vizsgáltuk kinetikus sokcsatornás abszorpciós spektroszkópiával, a 250 ns – másodperces időtartományban, a 290 nm – 760 nm hullámhossztartományban, illetve egyes jellemző hullámhosszakon. A méréseket pH 7,5-ön végeztük, elkerülendő a fotociklus pH-függő elágazásával járó komplikációkat. Összehasonlítottuk a fotociklus kinetikáját só hiányában, illetve különböző kaotróp, kozmotróp és semleges Hofmeister sók jelenlétében. A Hofmeister hatás várhatóan a fotociklus azon lépéseinek sebességét vagy egyensúlyát befolyásolja, melyek jelentősebb konformációváltozással, a vízzel határos fehérje-felületek megváltozásával járnak együtt.

Az adatok illesztésére a korábban kemometriaival (SVD-EFASM) meghatározott [1] öt intermedier spektrumot használtuk iterációs kiindulásnak, és kellően komplex funkcionális fotociklus sémát alkalmaztunk. Az illesztésből kapott fenomenológikus sebességi állandók kis mértékben, de szisztematikusan függtek a sók jelenlététől, illetve a Hofmeister sorban elfoglalt helyüktől. A molekuláris sebességi állandók értékei alapján a sók hatása csekély a fotociklus első felében, egészen az N=O intermedier-egyensúly kialakulásáig. A kozmotróp fluorid és a semleges klorid hatása a sebességi állandókra nem különbözik egymástól. A kaotróp tiocianát viszont némileg eltolja a K=L és az M=N egyensúlyt a K és az N javára. A kaotróp ionok a nyitott és zárt konformációk egyensúlyát a nyitottak javára tolják el [2], tehát az N állapot nyitottabb kell, hogy legyen, mint az M. Az a megfigyelés, hogy a (korai) K=L egyensúlyra is hatással van a kaotróp ion azt mutatja, hogy a bakteriorodopszin fotociklusának korai szakaszában már konformációváltozás történik, hasonlóan korábbi eredményünkhöz a fotoaktív sárga fehérje esetében [3].

SVD-EFASM – singular value decomposition with exponential fit assisted self-modeling

Köszönetnyilvánítás

Jelen munkát a GINOP (2.3.2-15-2016-00001) valamint az OTKA (K-108697) támogatta.

Irodalom

- [1] Zimányi L (2004) *J. Phys. Chem. B* 108: 4199-4209.
- [2] Dér A, Kelemen L, Fábián L, Taneva SG, Fodor E, Páli T, Cupane A, Cacace MG, Ramsden JJ (2007) *J. Phys. Chem. B* 111: 5344-5350.
- [3] Khoroshyy P, Dér A, Zimányi L (2013) *J. Photochem. Photobiol. B*. 120: 111-119.

JEGYZETEK

P64

Új daunorubicin-peptid konjugátumok sejtfelvétele és sejten belüli lokalizációja

OROSZ ÁDÁM¹, KISS KRISZTINA², OLÁH-SZABÓ RITA², BIRI-KOVÁCS BEÁTA¹, CSÍK GABRIELLA¹,
MEZŐ GÁBOR²

¹ Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

² ELTE-MTA Peptidkémiai Kutatócsoport

A rákos megbetegedések kemoterápiája során számos mellékhatás merülhet fel, melyek csökkentésének egyik lehetséges módja a célzott tumor terápia. Több olyan peptid receptor került azonosításra, amelyeket a különböző rákos sejtek az egészségesekhez képest nagyobb számban expresszálnak, így az ezen receptorokhoz kötődő molekulák kutatása jelentős tudományos érdeklődésnek örvend.

Kutatócsoportunk egy fág könyvtárból kiválasztott, Val-His-Leu-Gly-Tyr-Ala-Thr szekvenciájú, vastagbélrák adenocarcinoma sejtekre specifikus peptidet vizsgált. Ezt a peptidet és módosított változatait kapcsoltuk daunorubicinhez, egy jól ismert kemoterápiás antibiotikumhoz, mely a DNS-hez kötődve és a topoizoméráz II gátlása révén fejt ki hatását. A peptid konjugálása egy lizoszomális enzimre érzékeny spacer szekvencián keresztül történt, hogy a sejtbe jutást követően a hatóanyag felszabadulhasson.

Az *in vitro* hatásvizsgálatok során fény derült arra, hogy az eredeti peptidszekvencia közepén található Gly más aminosavra történő cseréjével fokozható a konjugátumok citosztatikus hatása. Ezért a jelen vizsgálat során olyan peptidkonjugátumokat szintetizáltunk ahol a Gly-t az alábbi aminosavakkal helyettesítettük: Ala (K1), Phe (K2), Ser (K3), Pro (K4).

Az új vegyületek sejtek által történő felvételét áramlási citometriával követtük nyomon HT-29 vastagbél adenocarcinoma sejteken, 3 órás inkubációt követően. A konjugátumok felvétele koncentráció függőnek bizonyult. Alacsonyabb koncentrációk esetében a K2 molekula mutatta a legnagyobb affinitást a sejtek iránt; a K1 ettől csupán némileg maradt el. A K3 viszont csak magasabb inkubációs koncentrációk hatására került be a sejtekbe, a K4 pedig a legkisebb mértékben dúsult fel.

A sejten belüli lokalizációt konfokális mikroszkópiával tártuk fel lizoszómákat és mitokondriumokat szelektíven jelölő fluoreszcens festékek segítségével. Egy órás inkubációt követően a konjugátumok egymáshoz hasonló, körülhatárolható pontokban való feldúsulást mutattak a HT-29 sejtekben. Fluoreszcencia jelük a lizoszóma festékkel mutatott kolokalizációt. 3 órás inkubációt követően már a magban is kimutatható volt a daunorubicin fluoreszcenciája.

Kontrollként MCF-7 emlőcarcinoma sejteken végeztünk mikroszkópos vizsgálatokat, melyek során egyik konjugátum esetében sem észleltünk számottevő daunorubicin fluoreszcenciát a sejtekben.

Köszönetnyilvánítás

Készült az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-16-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával.

JEGYZETEK

P65

Tavaszi árpa alumínium érzékenysége

SOLYMOSI KATALIN¹, BÁRÁNY ZSÓFIA² ÉS SKRIBANEK ANNA²

¹ ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Növény-szervezettani Tanszék

² ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia Tanszék

A talajok savasodása következtében nő az alumínium oldhatósága, 5-ös pH alatt az oldott alumínium felvehetővé válik, ezáltal pedig súlyos élettani és morfológiai károsodásokat szenvedhetnek a növények. Az árpa az alumínium toxicitásra egyik legérzékenyebb termesztett növényünk. Az alumínium stressz hatására a membrántranszport folyamatok gátlódnak, a transzspiráció, a klorofill tartalom, a fotoszintetikus aktivitás csökken. Az alumínium a citoplazmában vakuolizációt és az elektrondenzitás növekedését okozza, az endoplazmatikus retikulum fellazulását, a Golgi apparátus hólyagos lefűződését serkenti. Mindezen folyamatok kezdetben elsősorban a növény gyökérnövekedésének csökkenéséhez vezetnek [1].

Fiatal csíranövényeken végzett transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálataink során kémiaiilag fixált mintákban kimutattuk, hogy a gyökér merisztematikus és kaliptra sejtjeiben a vakuólumok száma és mérete valamint a bennük lévő szemcsék száma és mérete nőtt a természetben előforduló alumínium koncentráció mellett is, annak ellenére, hogy a növények látszólag épek voltak. Fiatal csíranövényeknél a 150 μM alumínium jelenléte a gyökerek növekedésére serkentő, míg a 450 μM -os kezelés gátló hatással bírt. Az alacsonyabb dózisú kezelés kezdetben (24 h) erőteljesebb vakuolizációt eredményezett, tartósabb hatás (48 óra) csak a magasabb alumínium koncentráción növelte szignifikánsan a vakuolizációt különösen a kaliptra sejtjeiben, ami arra utal, hogy az alacsonyabb koncentrációjú kezelés esetében viszonylag gyorsan megjelennek hatékony stresszvédő mechanizmusok. A morfológiai változásokat számos sejtalkotó – köztük a színtestek – membránrendszerén is tapasztaltunk. A sejtmagvakon karéjosodás volt megfigyelhető, a sejtmagvacskák száma nőtt, a Golgi készülék erőteljesen fellazult különösen magasabb koncentráció hatására. A sejtfalban lévő plazmodezmák száma és mérete az alumínium koncentráció emelésével folyamatosan csökkent. Feltételezzük, hogy ezeket a citoplazmatikus csatornákat az alumínium blokkolja. Mindennek ellenére a csíranövények leveleiben a fotoszintetikus elektrontranszportlánc működését az alumínium nem befolyásolta szignifikánsan, hasonlóan az arbuszkuláris mikorhiza-képző gombával való kölcsönhatásokhoz (melyek a hajtás fotoszintézisére nem, a gyökér plasztiszok szerkezetére azonban hatnak).

Köszönetnyilvánítás

A munkát az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatta (S.K.).

Irodalom

[1] G. Rout, S. Samantaray, P. Das. (2001) Agronomie, EDP Sciences, 21: 3-21.

JEGYZETEK

P66

Experimental design of photo-Fenton reaction for the treatment of Tylosin from aqueous solutions

ABD ELAZIZ SARRAI^{1,2,3}, SALAH HANINI¹, NACHIDA KASBADJI MERZOUK², DJILALI TASSALIT²,
TIBOR SZABÓ³, KATA HAJDU³ ÉS LÁSZLÓ NAGY³

¹ Laboratory for Biomaterials and Transport Phenomena LBMPT, University Yahia Fares, Medea, Algeria;

² Unité de Développement des Equipements Solaires, UDES/Centre de Développement des Energies
Renouvelables, CDER, Bou Ismail, W. Tipaza, Algérie;

³ Department of Medical Physics and Informatics, University of Szeged, Szeged, Hungary; Mexikó

The present study investigates the degradation of Tylosin (TYL) in aqueous solution by a photoFenton-like process. The effects of hydrogen peroxide, ferrous ion concentration and the initial pH as independent variables on the total organic carbon (TOC) removal as the response function are studied using Response Surface Methodology (RSM). The interaction effects and optimal parameters were obtained by using MODDE software. The significance of the independent variables and their interactions were tested by means of analysis of variance (ANOVA) with 95% confidence level. Results show that the concentration of the ferrous ion and pH were the main parameters affecting TOC removal, while peroxide concentration had a slight effect on the reaction. Under the optimized conditions, the removal efficiency of TYL was determined to be 97.1 %. The results were in good agreement with the one predicted by the model.

Acknowledgment

The research was supported by the New National Excellence Program of The Ministry of Human Capacities in Hungary (ÚNKP-16-3), and from the National Research, Development and Innovation (NKFI) Fund OTKA PD116739.

JEGYZETEK

P67

Vezikulumok a szintestekben – Hol, mikor és hogyan?

SOLYMOSI KATALIN¹, EMELIE LINDQUIST² ÉS HENRIK ARONSSON²

¹ ELTE Eötvös Loránd Tudományegyetem, Növény-szervezettani Tanszék

² University of Gothenburg, Department of Biological and Environmental Sciences

A citoplazmában zajló vezikuláris transzportfolyamatok viszonylag jól ismertek, zavaruk áll számos anyagcserezavar és betegség hátterében. Az endoszimbionta eredetű növényi szintestek esetében azonban máig kevésbé ismert, hogy léteznek-e ilyen vezikuláris transzportfolyamatok. Ez azért is meglepő, mivel majdnem hatvan éve feltételezik, hogy a szintestek belső membránrendszere a belső határolómembrán betűződéseiből illetve lefűződő vezikulumokból jön létre. Az egyes membránalkotóknak (pl. lipidek, fehérjék) a normális működés vagy stressz során bekövetkező lebomlása, eliminációja és pótlása is szükségessé teszi a plasztiszok határolómembránja és a belső membránrendszer közti anyagtranszportot.

Transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálataink során kémiaiilag fixált mintákban kimutattuk, hogy 50-60 nm átmérőjű perifériális helyzetű vezikulumok gyakorlatilag minden szintest típusban előfordulnak. Megtalálhatók proplasztiszokban, etioplasztiszokban, etio-kloroplasztiszokban, kloroplasztiszokban, kromoplasztiszokban, amiloplasztiszokban, leukoplasztiszokban, deszikkoplasztiszokban és öregedő kloroplasztiszokban is. Jelenlétüket különféle szervekben (gyökér, szár, levél, virágrészek és termések) és szövetekben (epidermisz, C3-as és C4-es növények mezofill és nyalábhüvely sejtjei) is igazoltuk [1]. Vezikulumok mindenféle kezelés nélkül is megjelentek, azonban különböző stresszorok – hidegkezelés (1 órás kezelés 4 °C-on), oxidatív stressz, kiszáradás illetve különféle só- és ozmotikus stressz – hatására gyakoriságuk megnövekedett. Utóbbi esetekben azonban más méretű vezikulumokat és az intratylakoidális tér duzzadását is megfigyeltünk, ezek jellemzése és elkülönítése folyamatban van. Bioinformatikai és molekuláris biológiai módszerekkel a vezikuláris transzport szempontjából fontos két fehérje komponenst sikerült azonosítanunk [2,3], melyek közül a CPSAR1 a COPII Sar1 vezikuláris fehérjéjéhez hasonlít [2], a CPRabA5e pedig a vezikuláris transzportot szabályozó Rab fehérjék közé tartozik [3]. Eredményeink arra utalnak, hogy a szintestekben fehérjék által irányított vezikuláris transzport zajlik, mely pontos működési mechanizmusa és stresszben betöltött szerepének megértése további vizsgálatokat igényel.

Köszönetnyilvánítás

A munkát az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja támogatta (S.K.).

Irodalom

- [1] Lindquist E, Solymosi K, Aronsson H (2016) *Traffic* 17: 1125-1138.
- [2] Garcia C et al. (2010) *Plant J* 63: 73-85.
- [3] Karim S et al. (2014) *Plant Mol Biol* 84: 675-692.

JEGYZETEK

P68

Újgenerációs elektronmikroszkópos technika bevezetése szerkezetkutatási alkalmazásokban

PATAI ROLAND¹, POLGÁR TAMÁS FERENC¹, NÓGRÁDI BERNÁT², MESZLÉNYI VALÉRIA² ÉS SIKLÓS LÁSZLÓ¹

¹ MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

² A Szegedi Orvosbiológiai Kutatások Jövőjéért Alapítvány, Szegedi Tudós Akadémia

A sejtbiológiai kutatások feladata az élő anyag működésének, szerkezetének, valamint ezek összefüggéseinek megértése. Ennek érdekében a szekvenálási módszerek hatalmas mennyiségű adatot generálnak —mely „omikai” adatbázisokkal való kombinálás után— alapvető folyamatok megértéséhez járulnak hozzá. A felhalmozódó molekuláris biológiai adatmennyiség strukturális relevanciájának megismerése az eredmények térbeli rekonstruálását igényli. A megcélolni kívánt szubcelluláris tartományban történő analízis nm-es skálán mozgó strukturális vizsgálatokat igényel, mely elektronmikroszkópos módszerekkel érhető el. Ezek közül az elektrontomográfiás eljárás biztosítja azt a rugalmasságot, ami a nagyfelbontású mikroszkópiát a térbeli rekonstrukcióval házasítja. Ez az új technológia néhány nm-re javítja a szokványos transzmissziós elektronmikroszkópia 50–100 nm-es z-irányú felbontását, lehetővé téve 150–250 nm mélységű térben is a mikroszkopikus objektumok szerkezeti kapcsolódásainak, a makromolekulák szerveződésének térbeli feltérképezését. A $\pm 70^\circ$ mintadöntési tartományban működő eszköz az MTA SZBK Biofizikai Intézetében 2017-ben kerül beszerzésre, s várhatóan 2018-tól lesz elérhető külső felhasználók számára. A képrögzítés 16 MP felbontású CMOS kamerákkal történik; a felbontás csaknem tetszőlegesen növelhető megfelelően választott nagyítású képek automatikus illesztésével. A képrögzítésen túl a készülék elektrongerjesztéses röntgenanalízis segítségével a 11-es rendszámú elemtől felfelé, a Mn K_α vonalának fél-érték szélességénél mérve 130 eV minimális felbontással kémiai elemanalízisre is használható, melynek alapja egy 30 mm² szilikon drift detektor.

Különböző gyártók eszközeinek tomográfiás lehetőségeit kipróbálva előzetes eredményként bemutatjuk, hogy 30–40 nm karakterisztikus méretű precipitátumok térbeli sűrűségének meghatározását mennyiben befolyásolja a Holmes effektus, illetve egy atomerő mikroszkópiával standardizált vastagságú mintasorozat segítségével kidolgozott eljárásunkat mutatjuk be, mely segítségével, a Beer-Lambert-Bouguer törvényre alapozva, a jelenség korrigálható. Továbbá, egy idegtudományi probléma során a Rtg-mikroszkopos alkalmazhatóságát is bemutatjuk.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük a Nemzetgazdasági Minisztérium (GINOP-2.3.3.-15-2016-00001) valamint a JEOL és FEI munkatársainak támogatását. Munkánkat a „A Szegedi Orvosbiológiai Kutatások Jövőjéért Alapítvány” támogatta az Emberi Erőforrások Minisztériumának anyagi támogatásával (34232-3/2016/INTFIN).

JEGYZETEK

P69

Az impulzus üzemmódú Fourier-transzformációs elektronspin paramágneses rezonancia spektroszkópia lehetőségei

SEBŐKNÉ NAGY KRISZTINA ÉS PÁLI TIBOR

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet

Az elektron paramágneses rezonancia spektroszkópia (EPR) a fémkomplexek, fémkomplex fehérjék, szabadgyökök, szabadgyökös reakciók messze legfontosabb kutatási eszköze, amely paramágneses molekulákról atomi részletességű térbeli (15-100 Å) és piko-, nanoszekundumos felbontású dinamikai adatokkal tud szolgálni. Ezen molekulák és a hozzájuk kapcsolódó biológiai, kémiai folyamatok a biológiai, biokémiai és vegyészeti kutatások élvonalában vannak. Emellett a szilárdtestfizikában, orvostudományban és az élelmiszerbiztonsággal kapcsolatos kutatásokban is fontos szerepet tölt be az EPR technika. A módszer nagyon szelektív és "tiszt", hiszen jel csak paramágneses molekulából származik. Az EPR érzékenysége az optikai módszerek és az NMR érzékenysége között van. Míg a "klasszikus" szerkezetbiológiai módszerek – az X-ray és NMR – meglehetősen jól működnek vízzeloldékony fehérjék esetén, addig a membránfehérjéről kapott szerkezetek kérdésesek a membránfehérjék kristályosítási, szolubilizálási problémái miatt.

A folytonos üzemi (continuous wave, CW) EPR állandó elektromos tér mellett pásztázza a kijelölt mágneses tér tartományt. Ezzel szemben az MTA SZBK Biofizikai Intézetébe érkező, a létező legkorszerűbb Fourier-transzformációs (FT) EPR készülék a minta mágnesezettségében mikrohullámú mágneses impulzusok hatására bekövetkező időbeli változások Fourier-transzformációjából származtatja a spektrumot és szerkezeti, dinamikai jellemzőket. Ez az új FT-EPR technika a fehérjék célzott spinjelzésével (site-directed spin labeling) kombinálva komoly rangot vívott ki a szerkezetbiológiában. A technika mentes a klasszikus szerkezetbiológiai technikák korlátaitól: nem szükséges kristályosítás, szolubilizálás, sőt a legtöbb esetben még tisztítás sem, azaz a fehérje saját natív környezetében is vizsgálható.

Köszönetnyilvánítás

A beruházás a GINOP-2.3.3-15-2016-00001 programból valósul meg. Az előkészítő munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap (K 112716) és a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 program támogatta.

JEGYZETEK

P70

Tű-erősített RAMAN spektroszkópia (TERS) biológiai minták vizsgálatában

VÉGH ATTILA GERGELY, KELEMEN LÓRÁND, SZEGLETES ZSOLT, SZALONTAI BALÁZS ÉS
ORMOS PÁL

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet, Temesvári Krt. 62, H-6726 Szeged, Magyarország

A nagy felbontású spektroszkópiai módszerek alapvető szerepet játszanak a nano-skálájú anyagok fizikai és kémiai tulajdonságainak megértésében. Pásztázó tűszondás mikroszkópián (SPM) alapuló erő-spektroszkópiai módszerekkel jellemezhetővé válik sejtek, vagy akár egyedi molekulák közötti kapcsolat pikoNewtonos felbontással [1]. Konfokális Raman spektroszkópiás képalkotás segítségével a vizsgált minta kémiai jellemzőit tárhatjuk fel pusztán fény segítségével [2].

A tű-erősített Raman spektroszkópia (TERS) a felület erősített Raman spektroszkópia (SERS) valamint a pásztázó tűszondás mikroszkópia (SPM) előnyös kombinációja, mely egyszerre szolgáltat spektrális információt diffrakciós limit alatti (akár szub-nanométeres) topográfiai felbontással a vizsgált minta felszínéről [3]. A modern készülékek számára már folyadék környezet sem akadály, ennél fogva biológiai minták vizsgálatát is lehetővé teszik.

Intézetünkbe nemrég került telepítésre egy a fenti mérési módokat biztosító konfokális Raman spektroszkóppal kombinált atomerő mikroszkóp lézercsipesszel kiegészítve (NTMDT), egy 2016-os sikeres pályázat eredményeként (GINOP2.3.315201600001). Jelen poszter keretében a készüléket valamint esetleges felhasználási lehetőségeit mutatjuk be, különös tekintettel biológiai minták vizsgálatára. A spektrális és térbeli felbontás speciális spektrum analízis módszereket is igényel, melynek lehetséges módjaira is kitérünk.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást a Nemzeti Tudományos Alap OTKA PD115697 valamint a GINOP-2.3.3-15-2016-00001 és GINOP2.3.215201600001 programok támogatták. Végh Attila Gergely (BO/00598/14/8) MTA Bolyai János kutatási ösztöndíjban részesült.

Irodalom

- [1] S. Park, J. Kim, and S.-H. Yoon, "A Review on Quantitative Measurement of Cell Adhesion Strength," *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 16, no. 5, pp. 4256–4273, May 2016.
- [2] V. Charwat *et al.*, "Potential and limitations of microscopy and Raman spectroscopy for live-cell analysis of 3D cell cultures," *J. Biotechnol.*, vol. 205, pp. 70–81, Jul. 2015.
- [3] L. Langelüddecke, P. Singh, and V. Deckert, "Exploring the Nanoscale: Fifteen Years of Tip-Enhanced Raman Spectroscopy," *Appl. Spectrosc.*, vol. 69, no. 12, pp. 1357–1371, Dec. 2015.

JEGYZETEK

Névmutató

A

Aekbote, Badri L. *P3*
 Agarwal, Vivechana *P52*
 Akhtar, Parveen *E8, E16, E44, P62*
 Ameduri, Bruno *E4*
 Aronsson, Henrik *P67*

Á

Ábrahám Ágnes *E6, P1*

B

Bacsó Zsolt *P19*
 Balajthy András *P18*
 Balderas, Fabiola *P52*
 Bálint Armand Rafael *E31*
 Bálint Zsolt *E39*
 Balog Erika *P22, P23*
 Balogh Eszter *P31*
 Balogh Gábor *E9*
 Bankó Csaba *P19*
 Bárány Zsófia *P65*
 Benedek Anett *P44*
 Benedek Csilla *P28*
 Bérczi Alajos *P10, P38*
 Bianco, Pasquale *E19*
 Biri-Kovács Beáta *P64*
 Biró László Péter *E39*
 Blánár Eszter *E25, P39*
 Bodnár Andrea *P15*
 Bodor Zsanett *P28*
 Boeynaems, Steven *E1*
 Bogaert, Elke *E1*
 Bogár Ferenc *E26, P36, P40*
 Bogdándi Enikő Noémi *P44*
 Bóka Károly *E41*
 Bóta Attila *E10, P50*
 Bozó Tamás *P21, P50, P58*
 Bócskei-Antal Barnabás *P14, P58*
 Böddi Béla *E41, P60*
 Bökönyi Gyöngyi *P59*
 Bősze Szilvia *E38, P14*
 Brameshuber, Mario *E9*
 Bugyi Beáta *P9, P20, P25, P26, P30*
 Buzás András *P3*

C

Charles, Franck *E7*
 Cherfils, Jacqueline *P23*
 Czégény Gyula *E41*

CS

Csákvári Eszter *P6*
 Csámpai Antal *E38*
 Csányi Mária Csilla *P21*
 Cserteg Zsófia *P2*
 Csige István *P41*
 Csík Gabriella *E35, P58, P59, P64*
 Csizmadia Georgina *P11*
 Csomós István *P15*
 Csúcs Gábor *E18*

D

de Waard, Pieter *E8*
 Deák Ágota *P10*
 Deák Róbert *E10*
 Dékány Imre *P10*
 Deli Mária *E36, P49*
 Demeter Márton *P33*
 Dér András *E26, E36, E40, P40, P49, P61, P63*
 Derényi Imre *E28, P33, P34, P37*
 Domján Brigitta *P19*
 Domján Gyula *P51*
 Domokos Réka *E32, P10*
 Drozsdik Emese *P42*
 Dudás Bálint *P22, P23*
 Dukic Barbara *E6*
 Dupuy, Lionel *E4*

E

Erdei Anna Laura *P60*
 Erdélyi Miklós *P2*

F

Fábián László *P61*
 Farkas Elek Attila *E31*
 Farkas Enikő *E38, P56*
 Farkas Eszter *E31*
 Farkas Péter *E29*
 Fazakas Csilla *E32*
 Fekete Tamás *P3*
 Feller Tímea *P21, P51*
 Ferencz Csilla-Mária *E40*
 Ferenczy György *E19, P31*
 Forgács Enikő *E38*
 Főrizs Judit Viktória *P9, P20, P26, P30*
 Francz Barbara *E3*
 Fried Miklós *P53*
 Futó István *P55*
 Fűrjes Péter *E3*

G

Gadó Klára *P51*
 Gajdos Tamás *P2*
 Galajda Péter *E6, P1, P5, P6*
 Garab Győző *E5, E8, E43, P17, P62*
 Gartner Mariuca *P53*
 Goda Katalin *E12*
 Gombos Imre *E9*
 Grajzel Dániel *P34*
 Grama László *E14, P27*
 Gresits Iván *P43*
 Grexa István *P3, P4*
 Gróf Ilona *P49*
 Groma Géza *E15*
 Gunning, Peter *P25*
 Gyila Sándor *P41*
 Gyimesi Gergely *E24*
 Györffy Dániel *P35*

H

Haacke, Stefan *E15*
 Hajdu Kata *P52, P54, P55, P66*
 Hajdu Péter *P18*
 Hajdu Tímea *P12*

Halász Henriett *P25*
 Haluszka Dóra *P24*
 Han, Guangye *E43*
 Hanini, Salah *P66*
 Hársfalvi Jolán *P21, P24, P51*
 Hegedűs Nikolett *P14*
 Hegedűs Tamás *P11*
 Hegyesi Hargita *P47*
 Hehl, Joachim *E18*
 Heiner Zsuzsanna *E15*
 Hencz Alexandra Júlia *P25*
 Herényi Levente *E35, P14, P58*
 Hernádi Klára *P54, P55*
 Hideg Éva *E41*
 Holczer Eszter *E3*
 Holló Alexandra *P29*
 Holzwarth, Alfred R. *P17*
 Horányi Nóra *E36, P49*
 Horhat, Raluca *E30*
 Horváth Ibolya *E9*
 Horváth Ildikó *P48*
 Horváth János *E26, P36, P40*
 Horváth Péter *E2*
 Horváth Róbert *E3, E37, E38, P56, P57*
 Horváth Zsolt Endre *E39*
 Horváti Kata *P14*
 Huber Tamás *P9, P20, P26, P30*
 Hunyadi-Gulyás Éva *E41*
 Hussain, Rohanah *P62*

I

Illés Levente *P53*

J

Janovák László *P10*
 Janovics Róbert *P55*
 Jávorfői Tamás *P62*
 Javornik, Uroš *E8*

K

Kakasi Balázs *E37*
 Kakuszi Andrea *E41*
 Kalas Benjámin *P53*
 Kalmár Lajos *P30*
 Kapronczai Róbert *P27*
 Karádi Kristóf *P27*
 Karancsiné Menyhárd Dóra *P31*
 Karlický, Václav *E8*
 Kaszab Tímea *P28*
 Kelemen Lóránd *P1, P3, P4, P70*
 Kellermayer Miklós *E19, E35, P21, P24, P50, P51*
 Kengyel András *E20, P29*
 Kertész Krisztián *E39*
 Kincses András *E36, P49*
 Kis Dávid *E33, P44*
 Kis Enikő *E33, E34, P47*
 Kis Mariann *E42, P13*
 Kiszlászó Krisztián *P52*
 Kispetik Katalin *P24*
 Kiss Dóra Judit *P31*
 Kiss Fanni Júlia *P48*
 Kiss Krisztina *P64*

Kiss Máté *P37*
 Kollár Ernő *P19*
 Kósa Nikolett *P14,P58*
 Kóta Zoltán *E40*
 Kotakis, Christos *E8*
 Kovács Boglárka *E37,E38*
 Kovács Dénes *E1,E21*
 Kovács László *E43,P17*
 Kovács Tamás *P12*
 Kovács Zoltán *P28*
 Könczöl Franciska *E29*
 Kram, Nassima *P59*
 Krekic Szilvia *P61*
 Krizbai István *E31,E32,P4*
 Kurunczi Sándor *E37, E38,P57*

L

Ladmiral, Vincent *E4*
 Lambrev, Petar *E8,E16,E43,E44,P62*
 Leitgeb Balázs *E25,P38,P39*
 Léner Violetta *P47*
 Leonard, Jérémie *E15*
 Lépine, Franck *E17*
 Liliom Károly *E11*
 Lindquist, Emelie *P67*
 Lingvay Mónika *P62*
 Lipka Dóra *E36*
 Lőrinczy Dénes *E29*
 Lukács András *E14,P27*
 Lumniczky Katalin *E33,E34,P44,P46,P47*

M

MacDonald, Mike *E4*
 Madarász Tamás *P25*
 Madas Balázs Gergely *P42,P45*
 Magyar Melinda *E43,P55*
 Maróti Péter *E42,P13,P16*
 Mártonfalvi Zsolt *E19*
 Materová, Zuzana *E8*
 Máthé Botond *P54*
 Máthé Domokos *P48*
 Matkó János *P25*
 Mátyus László *P15*
 Menyhárt Ákos *E31*
 Merzel Franci *P22*
 Merzouk, Nachida Kasbadji *P66*
 Meszlényi Valéria *P68*
 Mező Gábor *P59,P64*
 Mihály Judit *E10,P50*
 Moldovan, Carmen *P53*
 Molnár Judit *P4*
 Munteanu, Oana *E30*
 Murányi József *P59*
 Murvai Nikolett *E21*

N

Nádor Judit *P53*
 Naftz Katalin *E19*
 Nagy Dávid *P61,P63*
 Nagy Gergely *P17*
 Nagy Krisztina *E6,P1,P5,P6*
 Nagy László *P52,P54,P55,P66*
 Nagy Péter *P7,P12,P15*
 Násztor Zoltán *E26,P36,P40*
 Neagu, Adrian *E30*
 Neagu, Monica *E30*
 Németh Krisztián *P55*

Nizsalóczki Enikő *P15*
 Nógrádi Bernát *P68*
 Novák Tibor *P2*
 Nowak, Jakub *E22*

NY

Nyitrai Miklós *E14,E20,P25,P27, P29*

O

Oláh-Szabó Rita *P64*
 Orgován Norbert *E3*
 Ormos Pál *P3,P4,P5,P70*
 Orosz Ádám *P64*

P

Pacholski, Claudia *P52*
 Páli Tibor *E40,P69*
 Panajotović, R. *P54*
 Panyi György *E13,P18*
 Papp Ferenc *E13*
 Paragi Gábor *P36*
 Pasitka Jonatán *E14,P27*
 Patai Roland *P68*
 Patkó Dániel *E4*
 Pawlak, Krzysztof *P62*
 Peksel, Begüm *E9*
 Perahia, David *P22,P23*
 Perous, Francois *P23*
 Persa Eszter *E33,P44,P46*
 Péter Beatrix *E38*
 Péter Mária *E9*
 Pethő Lilla *P59*
 Petrik Péter *P53*
 Petrovski Pál *E40*
 Pflazgraf, Frederik *P32*
 Pinotsi, Dorothea *E18*
 Pintér Réka *P9,P20,P26,P30*
 Pirisi Katalin *E14*
 Piszter Gábor *E39*
 Plavec, Janez *E8*
 Polgár Tamás Ferenc *P68*
 Pupăzan, Vasile *E30*

R

Rádi Ildikó *P7*
 Rinyu László *P55*
 Rowland, Thomas *E15*
 Rutkauskas, Danielis *E44*

S

Sáfrány Géza *E33,E34,P44,P46,P47*
 Saftics András *E38,P53,P57*
 Sándor Nikolett *P47*
 Sándor Noémi *E3*
 Santa Maria, Ana Raquel *E36,P49*
 Sarrai, Abd Elaziz *P54,P66*
 Sárvári Éva *E41*
 Schay Gusztáv *P31*
 Schütz, Gerhard *E9*
 Schwarz, Tobias *E18*
 Sebőkne Nagy Krisztina *E40,P69*
 Shen, Jian-Ren *E43*
 Siklós László *P68*
 Siligardi, Giuliano *P62*
 Simon Ferenc *P43*
 Sipka Gábor *E5,E42,E43,P13,P16*
 Sipos Orsolya *P5*

Šket, Primož *E8*
 Skribanek Anna *P65*
 Smeller László *E23, P32*
 Sóki Erzsébet *P41*
 Solti Ádám *E41*
 Solymosi Katalin *P65,P67*
 Somkuti Judit *P32*
 Spagina Zoltán *P11*
 Špunda, Vladimír *E8,E43*
 Steinbach Gábor *E5*
 Suman, Paul *P17*

SZ

Szabó Ágnes *P7*
 Szabó Anna *P54,P55*
 Szabó Bálint *E3*
 Szabó Beáta *E21*
 Szabó Gábor *E12*
 Szabó Tibor *P54,P55,P66*
 Szabó-Meleg Edina *P25*
 Szakács Gergely *E12*
 Szalma Katalin *P47*
 Szalontai Balázs *P70*
 Szatmári Tímea *P7*
 Szatmári Tünde *E33,P44*
 Szeder Bálint *E21*
 Szegletes Zsolt *E32,P10,P54,P70*
 Székács András *P56*
 Székács Inna *E37,E38,P56,P57*
 Székely Anna Krisztina *P48*
 Székely Noémi Kinga *P17*
 Szekeres Gábor *P27*
 Szigeti Krisztián *P14,P48*
 Szigyártó Imola Csilla *E10*
 Szilágyi András *E24,P35*
 Szilágyi Orsolya *P18*
 Szombathy Csaba *P19*
 Szöllősi Gergely *E27,E28,P33,P34,P37*
 Szöllősi János *P7,P8*
 Szülkövics Milán *P57*

T

Tan, HowEsiang *E16*
 Tantos Ágnes *E21*
 Tarapcsák Szabolcs *E12*
 Tassalit, Djilali *P66*
 Tatai Kata *P47*
 Telek Elek *E20*
 Thuróczy György *P43*
 Tibély Gergely *E28*
 Tiszlavicz Ádám *E-9*
 Tomashevich, T. *P54*
 Tompa Péter *E1,E21*
 Tordai Hedvig *P11*
 Tory Kálmán *P31*
 Tóth Katalin *P58*
 Tóth Mónika Ágnes *P20,P30*
 Tóth Réka *E31*
 Török Zsófia *P32*
 Török Zsolt *E9*
 Trinkūnas, Gediminas *E44*
 Turi Marianna *P55*
 Tutkus, Marijonas *E44*
 Türk Barbara *P57*
 Türk Dóra *E12*
 Türmer Katalin *P25*

U

Ughy Bettina *E8,E43*
Ujlaky-Nagy László *P7,P8*
Ungai-Salánki Rita *E3*

Ü

Ünnep Renáta *P17*

V

Valkai Sándor *E36,P5,P49*
Vámosi György *P15*
van Amerongen, Herbert *E8*
Van As, Henk *E8*
Van Den Bosch, Ludo *E1*
Varga Béla *E32*
Varga Dániel Péter *E31*
Varga Máté *P31*
Varga Zoltán *E10,E13*
Várnai Katalin *P51*
Váró György *E32,P54*
Végh Attila Gergely *E32,P70*
Vékony Zsófia *P29*
Vereb György *P8*
Veres Dániel Sándor *P48*
Vig Andrea Teréz *P9,P20, P26,P30*
Vigh László *E8,E9*
Viznyiczai Gaszton *P3*
Vonderviszt Ferenc *E37,P53*
Voszka István *P14,P58*
Vozáry Eszter *P28*
Vörös Orsolya *P18*
Vörös Zsuzsanna *E35*

W

Wacha András *E10,P50*
Walter Fruzsina *E36,P49*
Widlak, Piotr *E34*
Wilhelm Imola *E32*

Y

Yangminghao, Liu *E4*

Z

Zákány Florina *E13*
Závodszky Péter *E24,P35*
Zhang, Cheng *E16*
Zhu, Qingjun *E43*
Zimányi László *P10,P38,P61,P63*
Zolcsák Ádám *P58*

ZS

Zsiros Ottó *P17,P62*
Zsiros Vanda *P6*

Résztvevők

Név	Munkahely	Email cím
Ábrahám Ágnes	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	abraham.agnes@brc.mta.hu
Akhtar, Parveen	MTA SZBK Növénybiológiai Intézet, Szeged	parvidua@gmail.com
Bacsó Zsolt	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	bacso@med.nudeb.hu
Bagyinka Csaba	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	bagyinka@vipmail.hu
Bankó Csaba	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	banko.csaba@med.unideb.hu
Bérczi Alajos	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	berczi.alajos@brc.mta.hu
Bóta Attila	MTA TTK Anyag- és Környezetkémiai Intézet, Budapest	bota.attila@ttk.mta.hu
Bozó Tamás	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	bozo.tamas@med.semmelweis-univ.hu
Bócskei-Antal Barnabás	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	bocskei.barnabas@med.semmelweis-univ.hu
Böddi Béla	ELTE TTK Növényismeret Tanszék, Budapest	bela.boddi@ttk.elte.hu
Bugyi Beáta	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	beata.bugyi@aok.pte.hu
Charles, Franck	JEOL (EUROPE) SAS	charles@jeol.fr
Csányi Mária Csilla	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	csanyicsilla90@gmail.com
Csige István	MTA Atommagkutató Intézet, Debrecen	csige.istvan@atomki.mta.hu
Csik Gabriella	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	csik.gabriella@med.semmelweis-univ.hu
Csizmadia Georgina	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	csgina@hegelab.org
Csúcs Gábor	Scientific Center for Optical and Electron Microscopy, ETH Zürich	gabor.csucs@scopem.ethz.ch
Deák Róbert	MTA TTK Anyag- és Környezetkémiai Intézet, Budapest	deak.robert@ttk.mta.hu
Deli Mária	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	deli.maria@brc.mta.hu
Demeter Márton	ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék, Budapest	domebacs931@gmail.com
Dér András	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	der.andras@brc.mta.hu
Derényi Imre	ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék, Budapest	derenyi@elte.hu
Drozdik Emese	MTA EK Energia- és Környezetbiztonsági Intézet, Budapest	drozdik.emese@energia.mta.hu
Dudás Bálint	PPKE Információs Technológiai és Bionikai Kar, Budapest	dudas.balint@ppke.hu
Erdei Anna Laura	ELTE TTK Növényismeret Tanszék, Budapest	annadebr@hotmail.com
Fekete Tamás	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	fetsaat@gmail.com
Feller Tímea	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	timea.feller@gmail.com
Gajdos Tamás	SZTE TTIK Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék, Szeged	gajdos.tamas@outlook.com
Galajda Péter	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	galajda.peter@brc.mta.hu
Galiba Gábor	Carl Zeiss Technika Kft., Budaörs	gabor.galiba@zeiss.com
Garab Győző	MTA SZBK Növénybiológiai Intézet, Szeged	garab.gyozo@brc.mta.hu
Gidáli Júlia	Országos Vérellátó Szolgálat, Budapest	gidali@freemail.hu
Grajzel Dániel	ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék, Budapest	gdaniel94@windowslive.com
Gresits Iván	OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság, Budapest	gresits.ivan@gmail.com
Grexai István	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	grexai926@gmail.com
Groma Géza	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	groma.geza@brc.mta.hu
Györffy Dániel	MTA TTK Enzimológiai Intézet, Budapest	gyorffy.daniel@ttk.mta.hu
Hajdu Kata	SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged	hajdu.kata@gmail.com
Hajdu Tímea	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	hajdu.timea@med.unideb.hu
Haluszká Dóra	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	haluszkadora@gmail.com
Hencz Alexandra Júlia	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	alexandra.hencz@aok.pte.hu
Herényi Levente	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	herenyi.levente@med.semmelweis-univ.hu
Horváth János	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	horvath.janos@brc.mta.hu
Horváth Péter	MTA SZBK Biokémiai Intézet, Szeged	h938454@gmail.com
Horváth Róbert	MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest	horvathr@mfa.kfi.hu
Huber Tamás	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	tamas.huber@aok.pte.hu
Kaposi András	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	kaposi.andras@med.semmelweis-univ.hu
Kapronczai Róbert	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	robert.kapronczai@aok.pte.hu
Kaszab Tímea	SZIE ÉTK Fizika-Automatika Tanszék, Budapest	Kaszab.Timea@etk.szie.hu
Kelemen Lóránd	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	kelemen.lorand@brc.mta.hu
Kellermayer Miklós	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	mszkellermayer@gmail.com
Kengyel András	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	andras.kengyel@aok.pte.hu

Név	Munkahely	Email cím
Kertész Krisztián	MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest	kertesz@mfa.kfki.hu
Kincses András	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	kincses.andras@brc.mta.hu
Kis Dávid	OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság, Budapest	kisd@osski.hu
Kis Enikő	OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság, Budapest	kiseniko@gmail.com
Kis Mariann	SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged	kis.mariann.m@gmail.com
Kiss Máté	ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék, Budapest	kissmateforum@gmail.com
Kósa Nikolett	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	nikole.kosa@gmail.com
Kóta Zoltán	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	kota.zoltan@brc.mta.hu
Kovács Boglárka	MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest	kovacs.boglarka@energia.mta.hu
Kovács Iászló	MTA SZBK Növénybiológiai Intézet, Szeged	kovacs.laszlo@brc.mta.hu
Krekic Szilvia	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	krekityszilvia@gmail.com
Krizbai István	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	krizbai.istvan@brc.mta.hu
Kurunczi Sándor	MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest	kurunczi.sandor@energia.mta.hu
Kutas László	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	laszlo.kutas@aok.pte.hu
Lakatos Tibor	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	tiborlakatos32@gmail.com
Lambrev, Petar	MTA SZBK Növénybiológiai Intézet, Szeged	lambrev.petar@brc.mta.hu
Leipoldné Vig Andrea	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	andrea.vig@aok.pte.hu
Leitgeb Balázs	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	leitgeb.balazs@brc.mta.hu
Lépine, Frack	ELI-ALPS	lepine.Franck@eli-alps.hu
Liliom Károly	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	liliom.karoly@med.semmelweis-univ.hu
Lingvay Mónika	MTA SZBK Növénybiológiai Intézet, Szeged	lingvay.monika@brc.mta.hu
Lőrinczy Dénes	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	denes.lorinczy@aok.pte.hu
Lumniczky Katalin	OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság, Budapest	lumniczky.katalin@osski.hu
Madas Balázs Gergely	MTA EK Energia- és Környezetbiztonsági Intézet, Budapest	madas.balazs@energia.mta.hu
Magyar Melinda	MTA SZBK Növénybiológiai Intézet, Szeged	magyarmelu@gmail.com
Maróti Péter	SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged	pmaroti@sol.cc.u-szeged.hu
Mártonfalvi Zsolt	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	martonfalvi.zsolt@med.semmelweis-univ.hu
Mátyus László	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	lmatyus@med.unideb.hu
Menyhárt Ákos	SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged	menyhartakos89@gmail.com
Murvai Nikolett	MTA TTK Enzimológiai Intézet, Budapest	murvai.nikoletta@ttk.mta.hu
Nádor Judit	MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest	nador.jutka@gmail.com
Nagy Dávid	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	ndturbo1@freemail.hu
Nagy Krisztina	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	nagy.krisztina@brc.mta.hu
Nagy László	SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged	lnagy@sol.cc.u-szeged.hu
Nagy Péter	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	nagyp@med.unideb.hu
Násztor Zoltán	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	nasztor.zoltan@brc.mta.hu
Neagu Adrian	Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Temesvár	neagu@umft.ro
Neagu Monica	Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Temesvár	maneagu@yahoo.com
Nyitrai Miklós	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	miklos.nyitrai@aok.pte.hu
Ormos Pál	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	pormos@brc.hu
Orosz Ádám	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	orosz.adam@med.semmelweis-univ.hu
Páli Tibor	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	tpali@brc.hu
Patai Roland	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	patai.roland@brc.mta.hu
Patkó Dániel	Department of Ecological Sciences, The James Hutton Institute, Dundee, UK	patko.daniel@gmail.com
Persa Eszter	OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság, Budapest	persaeszter@yahoo.com
Péter Beatrix	MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest	pbeatrix@mfa.kfki.hu
Pintér Réka	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	reka.pinter@aok.pte.hu
Pirisi Katalin	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	katalin.pirisi@aok.pte.hu
Sáfrány Géza	OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság, Budapest	safrany.geza@osski.hu

Név	Munkahely	Email cím
Sándor Nikolett	OKK Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság, Budapest	sandor.nikolett@osski.hu
Santa Maria, Ana Raquel	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	anaraquel.santamaria@brc.mta.hu
Sarlós Ferenc	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	sarlos.ferenc@brc.mta.hu
Sarrai, Abdelaziz	SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged	abdelazizsarrai19@gmail.com
Schay Gusztáv	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	schayg@gmail.com
Simon István	MTA TTK Enzimológiai Intézet, Budapest	simon.istvan@ttk.mta.hu
Sipka Gábor	MTA SZBK Növénybiológiai Intézet, Szeged	sipka.gabor.86@gmail.com
Sipos Áron	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	sipos.aron@brc.mta.hu
Smeller László	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	laszlo.smeller@eok.sote.hu
Solymosi Katalin	ELTE TTK Növényfiziológiai Tanszék, Budapest	aurinka@hotmail.com
Steinbach Gábor	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	steinbach.gabor@brc.mta.hu
Szabó Ágnes	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	szgigi1@med.unideb.hu
Szabó Bálint	ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék, Budapest	balintszabo1@gmail.com
Szabó Tibor	SZTE ÁOK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet, Szeged	tiberatosz@gmail.com
Szalontai Balázs	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	szalontai.balazs@brc.mta.hu
Székács Inna	MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest	inna.szekacs@gmail.com
Szilágyi András	MTA TTK Enzimológiai Intézet, Budapest	szilagyi.andras@ttk.mta.hu
Szöllősi Gergely	ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék, Budapest	ssolo@elte.hu
Tarapcsák Szabolcs	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	tarapcsakszabolcs@gmail.com
Telek Elek	PTE ÁOK Biofizikai Intézet, Pécs	elek.telek@aok.pte.hu
Tibély Gergely	ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék, Budapest	tibelyg@hal.elte.hu
Tompá Péter	VIB-VUB Center for Structural Biology, Brüsszel	peter.tompa@vub.be
Török Zsolt	MTA SZBK Biokémiai Intézet, Szeged	tzsolt@brc.hu
Türk Barbara	MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest	bby.turk@gmail.com
Ujlaky-Nagy László	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	lnagy@med.unideb.hu
Ünnep Renáta	MTA Wigner FK Szilárdtestfizikai és Optikai Intézet, Budapest	runnep@gmail.com
Valkai Sándor	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	valkai.sandor@brc.mta.hu
Varga Zoltán	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	veze@med.unideb.hu
Végh Attila Gergely	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	vegh.attilagergely@brc.mta.hu
Veres Dániel Sándor	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	daniel.s.veres@gmail.com
Vonderviszt Ferenc	PE Bio-nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet, Veszprém	von007@almos.uni-pannon.hu
Voszka István	SE ÁOK Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest	voszka.istvan@med.semmelweis-univ.hu
Vörös Orsolya	DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen	orsolyavoros89@gmail.com
Závodszy Péter	MTA TTK Enzimológiai Intézet, Budapest	zavodszy.peter@ttk.mta.hu
Zimányi László	MTA SZBK Biofizikai Intézet, Szeged	zimanyi.laszlo@brc.mta.hu

Tartalomjegyzék

Köszöntő	1
Információk	2
Áttekintő Program	3
Részletes program	4
Előadások	9
Poszterek	54
Névmutató	125
Résztevők	128

SUPERTECH Instruments

Engineering Creativity for Neuroscience



Instrumentation for

Electrophysiology
Brain research
Biology
Optogenetics
Vibration isolation
EEG, EMG, ECG
Multichannel recording
Laser accessories
Pharmacology
Genetics
Neurology
Neurobiology
Biophysics

superte.ch

supertechinstruments.co.uk

Three examples of our most popular product categories:

Vibration Isolation Tables

- Active pneumatic vibration isolation tables for high resolution microscopy, electrophysiology and laser research applications
- Custom-sized tables on standard price
- IVF tables: specially equipped vibration isolation tables with accessories
- Table-top vibration isolated base platforms for microscopes



In-line Solution Heaters

Temperature regulation of the incoming solution to brain slice chambers or living tissue chambers



Temperature Management in Physiology

- Noise free heating even in a shielded experimental environment. Smooth heating current, like a lead battery
- Optimized for life science applications (0 to 100 C, with 0.1 C resolution)
- Heating pads for surgery of animals
- Temp. controlled brain slice chambers

Contact Information

office@superte.ch
office@supertechinstruments.co.uk



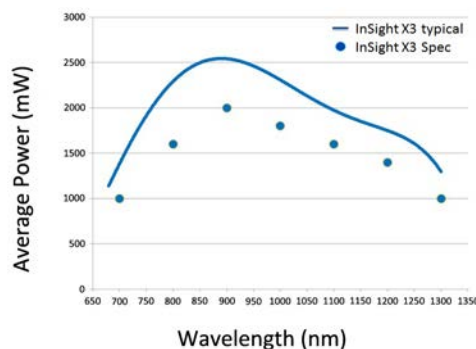
A Spectra-Physics új InSight® X3™ lézere a cég harmadik generációs, piacvezető terméke, amelyet kifejezetten a korszerű multifoton mikroszkópos és biofizikai alkalmazásokhoz fejlesztettek ki.

Az újfajta, fejlett és szabadalmaztatott technológia alapján az InSight X3 széles, 680 nm-től 1300 nm-ig terjedő folyamatos hangolást biztosít egyetlen forrásból. Ez az új hangolási tartomány közel kétszerese a régi Ti: Sapphire ultragyors lézerek hangolási tartományának. A nagyobb behatolási mélység érdekében az InSight X3 nagy átlag- és csúcsteljesítménnyel rendelkezik a teljes hangolási tartományban, beleértve az alkalmazások szempontjából legfontosabb infravörös hullámhosszakot, 900 nm felett is.

Szintén a maximális behatolási mélység, illetve a legnagyobb fluoreszcencia elérése érdekében került beépítésre a szabadalmaztatott ún. DeepSee™ diszperzió-előkompenzáló technológia. Ennek segítségével a rövid impulzusok optimálisan érkeznek a mintához, ugyanis a mikroszkóp optikáin elszorított diszperzió előre (negatív diszperzió) kompenzálásra kerül. Az InSight X3 számos előnye közül legfontosabbak az iránystabilitás, a piacon egyedülálló teljesítmény, a kivételes nyalábminőség, a kimeneti teljesítmény stabilitása, valamint a gyors hullámhossz-hangolás, így ideális a mikroszkópos vizsgálatok számára.

Opcionálisan a lézer a hangolható nyaláb mellett egy fix, 1045 nm-es nyalábbal is rendelkezik, teljes mértékben támogatva a multimodális képalkotások sokszínű igényeit. A két, szinkronizált kimenet lehetővé teszi a különböző fluoreszcenciafehérjék (pl. GFP és mCherry) és a genetikailag kódolt kalcium indikátorok (GCaMP6 és jRGECO1a), valamint az SHG / THG képalkotás és egyéb, fejlett képalkotó technikák (például a CARS és az SRS) egyszerre, egy lézerrel történő vizsgálatát, alkalmazását.

Az InSight X3 robusztus felépítése, teljesen automatizált működése manuális beavatkozás nélküli ún. hands-off használatot biztosít a felhasználók számára.



Jelentősebb paraméterek:

Hangolási tartomány: 680 -1300 nm
Átlagteljesítmény: >2.0 W at 900 nm²
Impulzushossz: <120 fs
Ismétlési frekvencia: 80 ± 1 MHz
Dual opció: 1045 nm; <200 fs; > 2 W
Nyaláb átmérő: 1.1 ± 0.2
Hangolási sebesség: 50 nm/s a teljes tartományon
Csúcsteljesítmény: >300 kW @ 900 nm

Jelentősebb alkalmazások:

Multifoton mikroszkópia
Képalkotó technológiák: CARS, SRS, SHG, THG
Nemlineáris spektroszkópia
Optogenetika
Terahertz képalkotás

Amennyiben a fenti lézer felkeltette érdeklődését, kollégáink szívesen adnak bővebb információt az alábbi elérhetőségeik valamelyikén:

Dr. Hámori Krisztián, +36-30-532-0285, hamori.krisztian@rktech.hu
Domonkos Balázs, +36-30-667-7115, domonkos.balazs@rktech.hu
www.rktech.hu

ISBN 978-963-12-9447-7

Kiadó: Magyar Biofizikai Társaság

Nyomta: E-press Nyomda Kft.
H-6724 Szeged, Kossuth L. sgt. 72/B.
<http://www.epressnyomda.hu>

