

OSZTEOKLASZTOK VIZSGÁLATA FLUORESZCENS MÓDSZERREL

Pánczél Áron, Erdélyi András, Nagy Simon, Győri Dávid, Mócsai Attila
Gyulladásélettani Laboratórium, Élettani Intézet

Az oszteoklasztok a csonthomeosztázis fenntartásának központi szereplői, melyek érett formája egymagvú előalakok sejtfúziója útján jön létre. Célunk a sejtfúzióra specifikus, hatékony in vitro oszteoklaszt vizsgáló módszer kifejlesztése volt.

Módszerünk alapja az mTmG egér: ezen állat sejtjeinek genomjában olyan konstrukció található, melyről egy piros fluoreszcens fehérje génje fejeződik ki. Ez a gén azonban cre-rekombináz hatására törölődhet a DNS-ből, mely törlés egyszersmind egy zöld fluoreszcens fehérje kifejeződését aktiválja. Cre-rekombináz hatására tehát zöld fluoreszcencia megjelenését tapasztaljuk a rendszerben. Olyan oszteoklaszt-tenyészeteket létrehozva, melyekben a sejtek fele mTmG egérből származott, másik fele pedig cre-rekombináz termelt, a létrejövő sejtfúzió lehetőséget teremtett a cre-mediált hasításra és a zöld fluoreszcencia megjelenésére. A zöld fluoreszcencia detektálása tehát rendszerünkben lezajlott sejtfúzió bizonyítéka.

Módszerünk segítségével a foszfolipáz (PL) $Cy2$ oszteoklaszt-fejlődésben játszott szerepét is vizsgáltuk. Az enzim teljes hiányában munkacsoportunk és mások korábbi eredményei alapján sokmagvú oszteoklasztok egyáltalán nem alakulnak ki. Ennek megfelelően, ha mind az mTmG, mind a cre-termelő sejtek PLC $\gamma2$ -hiányos mutánsok voltak, zöld fluoreszcenciát nem detektáltunk. Azon sejt kultúrákban, ahol vagy csak az mTmG, vagy csak a cre-expresszázó sejtekből hiányzott az enzim, a zöld szincíciumok csökkent képződését tapasztaltuk a vad típushoz képest.

Összefoglalva elmondható, hogy sikerült egy olyan új módszert beállítanunk, mely egyszerűen és pontosan kvantifikálható alapokra helyezi az in vitro oszteoklaszt-fejlődés vizsgálatát. Az ismerten oszteoklaszt-érési defektussal járó PLC $\gamma2$ -génhiány rendszerünkben is a várt fluoreszcens fenotípust eredményezte. A módszer a jövőben egyéb mutációk vagy farmakológiai ágensek oszteoklaszt-fejlődésre kifejtett hatásának vizsgálatához is segítséget nyújthat.