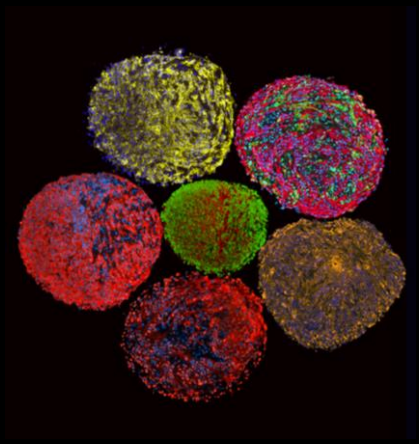
VI. Sejt-, Fejlődés- és Őssejtbiológia Konferencia
ABSZTRAKTFÜZET



2024. november 8.
Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Szervezőbizottság:
Nagy Nándor, Dóra Dávid
Fejszák Nóra, Kocsis Katalin

MAGE
Magyar Genetikusok Egyesülete

MAGE
Sejt- és
Fejlődésbiológiai
Tagozat

Támogatóink:

VWR International Kft.

Auroscience Kft.

Biocenter Kft.

Bio-Science Kft.

Biomarker Kft.

Biomedica Hungária Kft.

Izinta Kft.

Merck Life Science Kft.

Per-Form Hungária Kft.

Unicam Magyarország Kft.

ZEISS Magyarország

Zenon Bio Kft.

Bio-Kasztel Kft.

Köszöntő

Tisztelt Kollégák!

A szervezőbizottság nevében sok szeretettel köszöntjük a VI. Sejt-, Fejlődés- és Őssejtbiológia konferenciájának resztvevőit. A konferenciasorozat eredetileg Sejt- és Fejlődésbiológia Napok formában az 1990-es évek elején indult és a XVIII. számú rendezvényt 2015-ben Egerben tartottuk. 2017-ben Sejt-, Fejlődés- és Őssejtbiológia Konferencia néven és új számozással Debrecenből indult útjára a mostani konferenciasorozat. Az idei konferenciának a Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Karának, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézete (Budapest-1094, Tűzoltó utca 58) ad otthont.

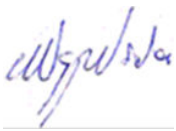
A **fejlődésbiológia**, vagy más néven kísérletes embryológia, az élő szervezetek fejlődésével és növekedésével foglalkozó tudományág. Az utóbbi években valóban robbanásszerű fejlődésen ment keresztül, köszönhetően a **sejtbiológia, őssejtbiológia** és a genetika területén elért eredményeknek. Nemcsak a kutatásban, hanem a természettudományos és orvosi oktatásban is egyre nagyobb hangsúly helyeződik az őssejtekre, sejtdifferenciálódásra, miniatűr szervekre (organoidok készítése, szövetépítés), molekuláris szövettanra, fejlődésbiológiára. A veleszületett betegségek felismerésének száma egyre gyarapszik. A klinikum részéről nagy az igény hatékony őssejtterápiák kifejlesztésére. Transzplantálható szervekre, szövetekre, őssejtekre van szükség, ami a személyre szabott **regeneratív medicina alapja**it teremtheti meg.

A konferencia hagyományos tartalmi célkitűzései a sejt-, őssejt és fejlődésbiológia hazai helyzetének bemutatása, bemutatkozási lehetőség biztosítása a fiataloknak. A résztvevők több mint kétharmada fiatal kutató. Reményeink szerint közülük kerülnek ki a közeljövő meghatározó kutatóegyéniségei. Kiemelt célunk, hogy: 1.) tovább vigyük a magyarországi sejtbiológia-, és őssejtkutatás hagyományát, 2.) kiegészítsük a mikroszkópia és a kísérletes embryológia legújabb eredményeivel, valamint 3.) ne csak megosszuk új kísérletes eredményeinket, hanem új tudományos kapcsolatokat is létesítsünk. A közös gondolkozás, az eredmények megvitatása hozzájárul ahhoz, hogy a hazai kutatócsoportok az eddigiekhez képest is nagyobb eredményeket érjenek el.

A kongresszus szervezői, a Magyar Genetikus Egyesület Sejt- és Fejlődésbiológiai Szakosztály nevében sikeres szakmai munkát kívánunk.

Budapest. 2024. november 4.

Szívélyes üdvözlettel,



Prof. Nagy Nándor
a szervezőbizottság elnöke

VI. Sejt-, Fejlődés- és Őssejtbiológia Konferencia programja

09:00 - 10:00 Regisztráció

10:00 - 10:05 Konferencia megnyitó

10:05 - 12:00 Sejtbiológia

Üléselnök: *Nagy Nándor (SE, ÁOK, Budapest)*

10:05 - 10:40 **Plenáris előadás: Kellermayer Miklós** *(SE, ÁOK, Budapest)* A képzelőerő határai: egyedi molekulák és sejtek manipulálása.

10:40 - 10:55 **Pircs Karolina** *(HCEMM, SE, Budapest)* Distinct post-translational dysregulation present in Huntington's disease patient-derived induced neurons.

10:50 - 11:05 **Tárnok Krisztián** *(ELTE, TTK, Budapest)* Autizmus Petri-csészében: a Kleefstra-szindróma a neuronok gyorsított érését eredményezi.

11:05 - 11:20 **Lenzinger Dorina** *(SE, ÁOK, Budapest)* „Torn Bag", egy új kis EV kibocsátási útvonal

11:20 - 11:35 **Matta Csaba** *(DE, ÁOK, Debrecen)* A surfaceome vizsgálata differenciálódó porckultúrákban.

11:35 - 11:50 **Lele Zsolt** *(HUNREN, KOKI, Budapest)* Spongiform encephalopathy and male sterility in the Gde1-/- mice

11:50 - 11:55 **Röpke prezentáció (Flash talk): Szabó Dóra Julianna** *(SZTE, ÁOK, Szeged)* A szindekán-4 szerepe humán rhabdomioszarkómában.

11:55 - 12:00 **Röpke prezentáció (Flash talk): Kókity Lilla** *(HUNREN, BRC, Szeged)* Investigating the role of RYBP in mesoderm formation and axial elongation of gastruloids in vitro.

12:00 - 13:30 Ebédszünet és Poszter szekció

13:30 - 15:10 Őssejtbiológia

Üléselnök: *Gócza Elen (MATE, GBI, Gödöllő)*

13:30 - 14:05 **Plenáris előadás: Gócza Elen** *(MATE, GBI, Gödöllő)* Állati őssejtek alkalmazási lehetőségei in vitro modellrendszerként toxikológiai vizsgálatokban.

14:05 - 14:20 **Ecker András** *(MATE, GBI, Gödöllő)* FUCCI transzgénikus házityúk ősivarsejtek létrehozása a sejtciklus vizsgálatára.

14:20 - 14:35 **Vörös Kinga** *(HCEMM, SE, Budapest)* Felodipin hatékonyságának tesztelése a Huntington-kórban FELL-HD klinikai vizsgálat résztvevőiből származó indukált neuronokon.

14:35 - 14:50 **Zsiros Viktória** *(SE, ÁOK, Budapest)* BMP-indukálta jelátviteli útvonalak szerepe a mesothel sejtek gyulladást követő regenerációjában

14:50 - 14:55 **Röpke prezentáció (Flash talk): Ványi Ildikó** *(SE, ÁOK, Budapest)* Stem cell- and scaffold-based tissue engineering approaches for disease modelling.

14:55 - 15:10 **Kiállítói előadás**: **Kolozsvári Bernadett** *(Bio-Science)*. Szferoidok és Organoidok- Új innovatív 3D sejttenyészetek jelentősége és alkalmazása a kutatásban.

15:10 - 16:00 Kávészünet, Poszterszekció

16:00 - 17:45 Fejlődésbiológia

Üléselnök: *Balogh Péter (PTE, ÁOK, Pécs)*

16:00 - 16:35 **Plenáris előadás: Balogh Péter** *(PTE, ÁOK, Pécs)* Zsírszövet-asszociált nyirokszövetek – egy furcsa pár.

16:35 - 16:50 **Szőcs Emőke** *(SE, ÁOK, Budapest)* Extracelluláris „csiki-csuki": a B sejtek migrációját irányító CXCL12 és Tenascin-C kölcsönhatása a fejlődő bursa Fabricii follikulusaiban.

16:50 - 17:05 **Czimer Dávid** *(ELTE, TTK, Budapest)* Zebrafish as a model for Pseudoxanthoma elasticum preclinical studies.

17:05 - 17:20 **Gecse Zsanna** *(SE, ÁOK, Budapest)* A colon mucosalis SOX10+ gliasejtek ontogenezisének nyomon követése embryomanipulációs és transzgenikus módszerekkel.

17:20 - 17:35 **Imre László** *(DE, ÁOK, Debrecen)* A H2A.Z hiszton variáns C-terminálisának epigenetikai szabályozó szerepe.

17:35 -17:45 Díjak átadása, konferencia zárása

BIOCENTER

SARTORIUS

IncuCyte – ÉLŐSEJT-ANALÍZIS KÖZVETLENÜL AZ INKUBÁTORBAN!

Az IncuCyte előnyei

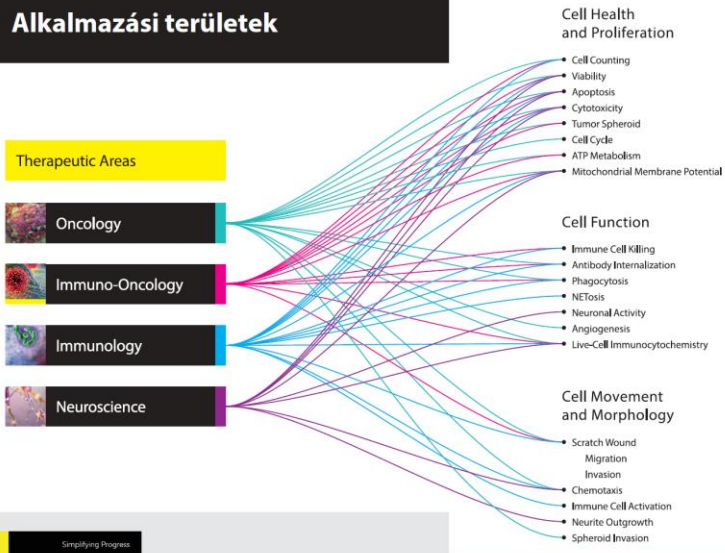
Egyszerű és összetett kérdések megválaszolása egyetlen rugalmas platformmal. Élősejtvizsgálat HD fáziskontraszt és a akár öt fluoreszcens csatorna használatával.

Vizsgálat közben a sejtek háborítatlanul maradnak az inkubátorban. Jelölésmentes vizsgálatok és speciális összetételű reagensek használatával megőrizzük a sejtek életképességét.

Valósidejű élősejt-analízis: A sejtek folyamatos monitorozásával nem marad ki adatpont. Sejttípus-specifikus és időfüggő biológiai aktivitásmérés.

Hatékonyságnövelés: egyszerre több felhasználó által indított kísérletek, és akár hat különböző plate vizsgálata egyidejűleg. Élőben követhető kísérletek a hálózatra kapcsolt számítógépekről, korlátlan számú felhasználóval.

Alkalmazási területek



Az IncuCyte készüléket bemutató film letölthető:
https://bit.ly/sartoriusvideo

Bővebb információ a gyártó honlapján:
https://bit.ly/sartoriusinfo

Érdeklődjön: **info@biocenter.hu**

ELŐADÁSOK

10:05 - 10:40 E-1

A képzelőerő határai: egyedi molekulák és sejtek manipulálása.

Kellermayer Miklós

10:40 - 10:55 E-2

Distinct post-translational dysregulation present in Huntington's disease patient-derived induced neurons

Danics Lea(1, 2), Muralidharan Chandramouli(3), Sőth Ármin(1, 2), Varga Ágnes(1, 2), Jamniczky Dorina(1, 2), Abbas A. Anna(1, 2), Rezeli Melinda(3), Gil Jeovanis(3), Field Sophie (4), Barker A. Roger(4), Róna Gergely(5), Markó Varga György(3), Jakobsson Johan(3), Pircs Karolina(1, 2, 3)

(1) Semmelweis Egyetem, Transzlációs Medicina Intézet (2) HCEMM-SE Neurobiológiai és neurodegeneratív betegségek kutatócsoport, Semmelweis Egyetem (3) Lundi Egyetem, Lund, Svédország (4) John van Geest Centre for Brain Repair, Cambridgei Egyetem, Klinikai idegtudományok, Cambridge, Egyesült Királyság (5) HUN-REN, DNS Hibajavítás Kutatócsoport

A Huntington-kór (HD) egy örökletes, gyógyíthatatlan, halálos neurodegeneratív betegség. A kórt a Huntingtin gén CAG-ismétlődése okozza, ami fehérjeaggregációhoz vezet. A humán öregedést imitáló modellrendszerek hiánya miatt a HD kísérletes tanulmányozása napjainkban is korlátozott. Csoportunk a HD-t egy új, humán fibroblasztok direkt átprogramozásával történő indukált neuronális (iN) modellben vizsgáljuk. Az iN-ok egyedülálló módon, betegekből származó in vitro neuronok, amelyek tartalmazzák a donor genetikai és epigenetikai, kori jellemzőit. Az autofágia károsodása kritikus szerepet játszik a HD neuronokban. Az autofág folyamatok megváltozásának pontos sejtélettani hatásai a HD-ban máig ismeretlenek.
A projekt során egy HD betegekből származó-iN modellben a HD proteomikai károsodásait tanulmányoztuk, különös tekintettel az autofágiára. 7 HD és 7 egészséges donorból származó iN-on végeztünk tömegspektrometriát (MS) és foszfo-MS-t (P-MS). A HD-iN-ok jelentős eltérést mutattak a foszforilációban. 1493 foszfo-fehérjét azonosítottunk, amelyek közül 71 szignifikánsan több, 106 pedig kevésbé foszforilált abundanciát mutatott a HD-iN-ban. Továbbá 26 olyan ON/OFF fehérjét azonosítottunk, amelyek teljes mértékben defoszforiláltak voltak a HD-iN-ban. 6 kinázt azonosítottunk, amelyek az ON-OFF fehérjéket foszforilálták. Ezek a kinázok leginkább az öregedésben, az autofágiában, a sejtek sebezhetőségében és a vezikuláris transzportban játszottak szerepet. Korábbi eredményeink alapján ezek a folyamatok poszt-transzkripciósan diszreguláltak a HD-iN-ban. Ezeknek az ON/OFF fehérjéknek a radikális eltérése kritikus szerepet játszhat a HD patomechanizmusában. Jelenleg az eddig ismeretlen, kulcsfontosságú, HD-ben diszregulált fehérje célpontok vizsgálatára fókuszálunk, amelyek potenciális jövőbeni terápiás stratégiák alapjául szolgálhatnak.

10:50 - 11:05 E-3

Autizmus Petri-csészében: a Kleefstra-szindróma a neuronok gyorsított érését eredményezi

Geiszelhardt Eszter (1), Gazdik Melinda (1), Maissa Ben Mahmoud (1), Danics Lea (1,2), Szűcs Attila (1), Schlett Katalin (1), Tárnok Krisztián (1)

(1) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Élettani és Neurobiológiai Tanszék, Budapest
(2) HCEMM-SE Neurobiológiai és Neurodegeneratív Betegségek Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem, Budapest

A Kleefstra-szindróma (KS) egy ritka idegi fejlődési rendellenesség, mely értelmi fogyatékossággal, hipotóniával, diszmorfikus jellemzőkkel és autizmus spektrum zavarral (ASD) jár. Kialakulásának hátterében a heterokromatin szervezésében kulcsfontosságú EHMT1 gén mutációi állnak. Bár a szinaptikus plaszticitás, a szinaptikus egyensúly zavara, valamint tanulási és memória folyamatok mind érintettek a szindrómában, eddig még ismeretlen, hogy az EHMT1 funkcióvesztése pontosan hogyan befolyásolja az emberi idegi hálózatok fejlődését és érését.
Vizsgálatainkban egy fiatal felnőtt neurotipikus női donor (NT), illetve egy fiatal női Kleefstra-szindrómás beteg (KS-ASD) átprogramozott perifériás vérsejtjeiből származó neurális progenitor sejtek (NPC) differenciációs képességét és neuronális érését hasonlítottuk össze, in vitro körülmények között. A tenyészetek fejlődését hetente teljes sejtes patch clamp mérésekkel követtük nyomon, 9 héten keresztül. Az elemzésekből kiderült, hogy a KS-ASD kultúrákban a neuronok már az indukció első, ill. második hetében érettebb és aktívabb fenotípust mutattak, és az elektromosan aktív neuronok a negyedik hétig nagyobb számban voltak jelen, mint az NT kultúrákban. Az aktív membrántulajdonságok (nagy amplitúdójú és gyors akciós potenciálok, "kink") már az első héttől kezdve kimutathatók voltak a KS-ASD neuronokban, míg az NT neuronokban ezek megjelenése a harmadik hétig késett. Az axon iniciális szegmentum (AIS) fejlődését ankyrin G immunfestéssel követtük nyomon. A KS-ASD neuronok az első héttől kezdve proximálisabb AIS-lokalizációt mutattak, míg az NT neuronoknál az AIS az érés első 3 hete alatt fokozatosan került közelebb a szómához. A patch clamp vizsgálatokkal összhangban MEA méréseink is az első hónap során mutattak ki a KS-ASD kultúrákban az NT tenyészetekhez képest markánsabb hálózati aktivitást. Fontos megfigyelésünk, hogy a KS-ASD kultúrák idegi aktivitása az érés ötödik hetét követően csökkent.
Morfológiai és elektrofiziológiai vizsgálataink alapján a Kleefstra-szindróma egyértelműen felgyorsítja az idegi érést, ugyanakkor a neuronális hálózat aktivitásának gyorsabb csökkenéséhez is vezet, ami arra utal, hogy a korai vagy túlzott neuronális érés akadályozhatja a hálózat további integratív működését.
A projekt kutatásait a Richter Gedeon Nyrt. 4700236468/2022 sz. támogatása (T.K.), valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal VEKOP-2.3.3-15-2016-00007 sz. támogatása (S.K.) segítette.

11:05 - 11:20 E-4

„Torn Bag”, egy új kis EV kibocsátási útvonal

Lenzinger Dorina (1), Koncz Anna (1,2), Bárkai Tünde (1), Kelsey Fletcher (1), Németh Krisztina (1,2), V. Vukman Krisztina (1), Cserép Csaba (3), Lőrincz Péter (4), Valcz Gábor (1,5), Dénes Ádám (3), Buzás Edit I. (1,2,6), Visnovitz Tamás (1)

(1) Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest
(2) HUN-REN-SE Transzlációs Extracelluláris Vezikula Kutatócsoport, Budapest
(3) HUN-REN-KOKI Neuroimmunológia Kutatócsoport, Budapest
(4) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék, Budapest
(5) 3DHISTECH Ltd, Budapest
(6) HCEMM-SE Extracelluláris Vezikula Kutatócsoport, Budapest

Az utóbbi évek kutatási eredményei jelentősen megváltoztatták az extracelluláris vezikulák (EV-k) biogenezisérőI, szervezetünkben betöltött funkcióiról alkotott képünket. A kezdetben elkülönített három EV csoportot mára több igen változatos és sokszínű EV populáció váltotta fel azok keletkezése és funkciója alapján. Előzetes kutatásainkban egy új, tumoros sejtek által kibocsátott, kis méretű vezikulákat intraluminálisan tartalmazó nagy (500-3000 nm átmérőjű) EV-ket figyeltük meg. Munkánk során ezekkel a multivezikuláris, nagy méretű EV-kkel (MV-lEV) foglalkoztunk. Vizsgálataink fő célja a kibocsátásuk univerzalitásának és jellemző specifikus markereinek meghatározása volt, melyekhez konfokális, szuper-rezolúciós és transzmissziós elektronmikroszkópiát, valamint Western blot analízist alkalmaztunk.
A lefűződő és kibocsátott EV-k megfelelő tanulmányozásához egy új in situ fixálási rendszert fejlesztettünk ki. Az MV-lEV-k eredetének meghatározása klasszikus (CD63, CD81, ALIX, TSG101) és nem konvencionális (TSPAN4, LC3) EV markerekkel történt. Az MV-lEV szekréció mértékét különböző sejtvázelemek gátlásával, az endo-lizoszómális rendszer és az autofágia befolyásolásával mértük.
Az MV-lEV-k kibocsátását minden általunk vizsgált sejttípusban (sejtvonalakban és szöveti környezetben) sikerült megfigyelnünk. A vizsgált vezikulákat elkülönítettük a migraszómák populációjától. Igazoltuk az MV-lEV-k amfiszóma eredetét, mely alapján amfiektoszómáknak neveztük el őket. Kimutattuk, hogy az amfiektoszómák határoló membránjának felszakadásakor a kis méretű intraluminális vezikulák „torn bag” mechanizmussal kiszabadulnak az extracelluláris térbe.
Az eredményeink alapján kidolgozott modellünk szerint az amfiszóma kialakulása során az autofagoszómák belső membránja fragmentálódik, a membrándarabok LC3-pozitív intraluminális vezikulákká zárulnak. Ezek a multivezikuláris test eredetű exoszómákkal együtt jutnak az extracelluláris térbe.
Felfedezésünkkel egy új, eddig ismeretlen kis EV (40-200 nm) kibocsátási útvonalat azonosítottunk, amely jelentősen eltér az eddig ismert mechanizmusoktól.
A projekt megvalósíttatást támogatták: ÚNKP-23-3-I-SE-2, NVKP_16-1-2016-0004 (NKFIH), VEKOP-2.3.2-162016-00002, VEKOP-2.3.3-15-2017-00016, TKP2021-EGA-23, RRF-2.3.121-2022-00003, 2019-2.1.7-ERA-NET-2021-00015, Horizon 2020 (739593) valamint a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj.

11:20 - 11:35 E-5

A surfaceome vizsgálata differenciálódó porckultúrákban

Kovács Patrik(1), Brázda Péter(2), Hajdú Tibor(1), Clare Coveney(3), David J. Boocock(3), Matta Csaba(1,*)

(1) Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Debrecen, Magyarország
(2) Princess Máxima Center for Pediatric Oncology, Utrecht, The Netherlands.
(3) School of Science and Technology, Nottingham Trent University, Nottingham, United Kingdom

A porcszövet kialakulása során a porcprogenitorsejtek által termelt extracellularis matrix (ECM) dinamikus átalakuláson megy keresztül. A fejlődés során az ECM változó összetétele befolyásolja a sejtek felszínén található molekulák expresszióját. A sejtek fenotípusának és identitásának meghatározásában döntő szerepet játszó sejtfelszíni fehérjék a proteom külön alcsoportját képezik, melyet surfaceome-nak nevezünk. Ezek a fehérjék számos folyamatban töltenek be fontos szerepet, így szabályozzák a sejt-matrix kölcsönhatásokat, a receptorok jelátviteli útvonalait, valamint ionok és egyéb molekulák transzportjában is részt vesznek. A surfaceome kvantitatív és kvalitatív összetétele a porcdifferenciáció során jelentősen átalakul, de erről egyelőre kevés ismerettel rendelkezünk. Munkánk során ezért a differenciálódó porcsejtek sejtfelszíni fehérje-összetételét kívántuk feltérképezni. Kísérleteinket 4 napos csirkeembriók végtagtelepeiből előállított, spontán porcosodó micromass kultúrákon végeztük. A 15 napig fenntartott differenciálódó kultúrákból a porcfejlődés szempontjából kritikus napokon (1, 3, 6, 10. és 15. napon) izoláltuk a sejtfelszíni fehérjéket. A fehérjéket először aminooxi-biotinnal jelöltük, majd NeutrAvidin-tartalmú agarózgyöngyökkel tisztítottuk meg. A tripszines emésztést és szárítást követően mintáinkat nagy áteresztőképességű shotgun LC-MS/MS módszerrel elemeztük. A fehérjék elhelyezkedését, illetve funkcióit a gene ontology (GO) adatbázis alapján határoztuk meg.
A módszer segítségével definiáltuk a kondrogenikus sejtek surfaceome kvalitatív és kvantitatív összetételét, és olyan fehérjéket azonosítottunk, amelyeket korábban még nem írtak le a chondrogenesis során. Az azonosított fehérjék közül a podocalyxin (PODXL) és a ciliary neurotrophic factor receptor (CNTFR) a surfaceome korábban ismeretlen összetevőiként jelentek meg. A PODXL, a szialomucin család tagja, a sejtadhézióban és a migrációban betöltött szerepe miatt ismert, míg a CNTFR a neuronális túlélést támogatja.
Munkánk során sikeresen dúsítottuk a differenciálódó kondrociták sejtfelszíni fehérjéit, ami lehetővé teszi új, klinikailag releváns biomarkerek kiválasztását. Az újonnan azonosított fehérjéknek a chondrogenesis folyamatában való részvétele izgalmas új kutatási és potenciális terápiás alkalmazási lehetőségeket kínál a porc regenerációjában.

11:35 - 11:50 E-6

Spongiform encephalopathy and male sterility in the Gde1-/- mice

Z. I. László1, C. Miskolczi2, B. Barti, L. Bíró2, D. Nagy1, Z. K. Varga2, B. Bruzsik2, H. Szebik2, M. Tóth2, C. Cserép3, F. Mógor1, M. Baranyi4, F. Gölöncsér4, K. Nagy5, I. Kacskovics5, G. Simon6, B. Cravatt6, K. Kovács7, B. Sperlágh4, Á. Dénes3, É. Mikics2, István Katona1 , Z. Lele1

1 Momentum Laboratory of Molecular Neurobiology, HUN-REN Institute of Experimental Medicine, Budapest, Hungary
2 Translational Behavioral Neuroscience Laboratory, HUN-REN Institute of Experimental Medicine, Budapest, Hungary
3 Momentum Laboratory of Neuroimmunology, HUN-REN Institute of Experimental Medicine, Budapest, Hungary
4 Laboratory of Molecular Pharmacology, HUN-REN Institute of Experimental Medicine, Budapest, Hungary
5 ImmunoGenes Ltd, Budapest, Hungary
6 Department of Chemistry, The Scripps Research Institute, La Jolla CA, USA
7 Laboratory of Molecular Neuroendocrinology, HUN-REN Institute of Experimental Medicine, Budapest, Hungary

Extensive vacuolization is one of the main characteristics of many neurodegenerative diseases including transmissible spongiform encephalopathies or prion diseases. The exact molecular and cellular events behind this process and its causal connection to the extensive cell death found in these diseases are still only partially understood therefore heavily debated.
Previously, GDE1 a glycerophosphodiester phosphodiesterase has been proposed by several labs to be involved in an alternative synthesis pathway of the endocannabinoid anandamide downstream of ABHD4, a PLA2-type serine hydrolase. Here however, we present direct and indirect evidence to demonstrate that GDE1 does not play a role in this pathway. Instead, loss of GDE1 evokes a severe but spatially restricted vacuolization in the mouse CNS. We provide a thorough anatomical, physiological and behavioral description of the Gde1-/- mice where remarkably, we also found that heavy vacuolization is not accompanied by neuronal loss. Furthermore, functionality of the affected brain areas is also preserved, which makes this animal an interesting model to study the process of vacuolization without the interference of other processes like elevated cell death or heavy inflammatory response. Cellular processes potentially involved in vacuolization will also be discussed.

13:30 - 14:05 E-7

Állati őssejtek alkalmazási lehetőségei in vitro modellrendszerként toxikológiai vizsgálatokban

1,2Gócza Elen, 1,2,4Lázár Bence, 1,2Ecker András, 1,2Tóth Arnold, 1,2Tóth Roland, 1,2Urbán Martin, 3Ferenczi Szilamér, 1,2Szőke Zsuzsanna, 1,2Bodrogi Lilla

1Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet, Állatbiotechnológia tanszék, Gödöllő

2Agrár-biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszerbiztonságért Nemzeti Laboratórium

3HUN-REN, Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest

4Nemzeti Biodiverzitás-, és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézet, Gödöllő

Az éghajlatváltozás kedvez a penészgombák elterjedésének. A penészgombák által termelt mikotoxinok szennyezhetik a gabonaféléket, diófféléket és feldolgozott élelmiszereket. Ez állati takarmányban és emberi táplálékban is problémát okoznak, mivel a mikotoxinok felhalmozódva komoly egészségügyi kockázatot jelentenek.

Az állati őssejtek in vitro toxikológiai vizsgálatokhoz új lehetőséget kínálnak, mivel biológiailag releváns és etikus alternatívát jelentenek az állatmodellek helyett, elősegítve az állatkísérletek számának csökkentését.

Az AGRI-BIOTECH Nemzeti Laboratórium pályázat keretében mikotoxinok, illetve mikotoxin kombinációk együttes hatását vizsgáljuk nyúl, illetve házityúk embriók fejlődésére, valamint nyúl embrionális fibroblaszt, illetve házityúk ősivarsejt tenyészeteket alkalmazva. Különböző toxin oldatok (5 ng/µL T-2, 20 ng/µL ZEA, illetve 5 ng/µL T-2 és 20 ng/µL ZEA kombináció) hatását vizsgáltuk az embriók fejlődésére, illetve a sejtek esetében azok proliferációs rátájának változására. Embriók esetében a fejlődési potenciáljukat, fejődési rendellenességeket, toxin felhalmozódási területeket kerestünk különböző szervekben, vizsgáltuk a toxin kezelés hatására fellépő génexpresszió változásokat. Kontroll és NOX4 génkiütött nyúlból alapított embrionális fibroblaszt tenyészetek toxin kezelését követően, RNSt izoláltunka a sejtekből, majd az RNS szekvenálást követően összehasonlítottuk a kezelt és kezeletlen sejtek expressziós mintázatát. Létrehoztunk olyan FUCCI (Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator) vektort tartalmazó házityúk ősivarsejt tenyészetek is, amelyek lehetővé tették a sejtciklus során periodikusan expresszáló fehérjék monitorozását, megteremtve ezzel egy olyan in vitro őssejtekre alapuló detektálási rendszert, mely segítségével a toxinok együttes hatása gyorsan, egyben érzékenyen tanulmányozható.

Távlati célunk az, hogy az általunk létrehozott állati őssejt-alapú modellrendszerek genomika és proteomika analízisével átfogó képet kapjunk a toxinok hatásra létrejövő molekuláris változásokról.

A kutatásokat a TKP2020-NKA-24 (2020-4.1.1-TKP2020), NETPOULSAFE (H2020-RUR-101000728), ÚNKP-21-4-I-MATE/19 és a RRF-2.3.1-21-2022-00007 pályázatok támogatták.

14:05 - 14:20 E-8

FUCCI transzgénikus házityúk ősivarsejtek létrehozása a sejtciklus vizsgálatára

Ecker András(1,2), Lázár Bence(1,2,3), Tóth Roland(1,2), Urbán Martin(1,2), Hoffmann Orsolya(1,2), Fekete Zsófia(4), Barta Endre(5), Uher Ferenc(6), Matula Zsolt(6),Várkonyi Eszter(3), Gócza Elen(1,2)

(1) Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet
(2) Agrár-biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszerbiztonságért, Nemzeti Laboratórium
(3) Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat-génmegőrzési Intézet
(4) Department of Environmental and Biological Sciences, University of Eastern Finland
(5) Debreceni Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet
(6) Dél-Pesti Centrum Kórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet

Az ősivarsejtek (primordial germ cells, PGC) madárfajok esetében sokrétű eszközként szolgálnak a biológiai kutatásokban. Potenciális alkalmazásuk kiterjed a génmegőrzésre, hatékony vektorként funkcionálnak a transzgenezis során, és in vitro modellként fontos szerepet töltenek be az ivardeterminációmechanizmusainak vizsgálatában. A PGC-k, mint az ivarsejtek prekurzorai, a fejlődésük során végbemenő egyedi vándorlásuk révén könnyen hozzáférhetőek, így madarak esetében a legfontosabb embrionális sejttípusnak tekinthetők és számos biotechnológiai módszer kiindulópontjai. Nagy sejtméretük elősegíti a megfigyelésüket, valamint megfelelő tápoldatban hosszú távon fenntarthatóak.
A fluoreszcens ubikvitináció-alapú sejtciklus indikátor (FUCCI) egy rendkívül hasznos transzgén szerkezet, mely a sejtciklus változásait egy ciklus-specifikus fehérjékhez kötött riportergén struktúra segítségével színváltozással jelzi. Ez az eszköz remek lehetőséget nyújt a sejtek osztódásának megfigyelésére, ezzel a különböző külső tényezők sejtciklusra gyakorolt hatásainak vizsgálatára. Egyebek mellett olyan betegségek működésének megértésére használták, mint az Alzheimer-kór vagy a rák, valamint szövetregenerációs kutatásokban is szerepet játszott. Eddig több fajra adaptálták a technikát, köztük humán, egér, zebradánió, zsákállat és axolotl sejtekre, de madarakra még nem. Kísérleteim során sikeresen hoztam létre mindkét ivarból származó transzgénikus FUCCI házityúk-ősivarsejt tenyészeteket, amelyekből egysejt alapú sejtvonalakat állítottam elő. A stabil sejttenyészeteket részletesen jellemeztem, beleértve génexpressziós profiljuk és immunhisztokémiai tulajdonságaik vizsgálatát, valamint beépülési potenciáljukat recipiens embriókba. Sikeresen hoztam létre ivarszervi kimérákat is. Kromoszómaanalízissel bizonyítottam, hogy a kariotípus nem változott sem az elektroporáció, sem a hosszú távú tenyésztés hatására. DNS-szekvenálással igazoltam a transzgén jelenlétét a nőivarú sejtek 27-es kromoszómáján, illetve a hímivarú sejtek 2-es és 12-es kromoszómáin. A transzgénikus sejtvonalakban a FUCCI rendszer működését toxinkezeléssel, médiumcsere elhagyásával és automatizált mikroszkópos time-lapse elemzéssel vizualizáltam. Hosszabb médiumcsere nélküli időszak során és toxinhatásokra is mindkét tenyészetben megfigyeltem a G1 fázisban lévő, piros fluoreszcenciát mutató sejtek arányának növekedését.

14:20 - 14:35 E-9

Felodipin hatékonyságának tesztelése a Huntington-kórban FELL-HD klinikai vizsgálat résztvevőiből származó indukált neuronokon

Vörös Kinga(1), Dimitris Apostolopoulos(2), Souha Klibi(3), Abbas A. Anna(1), Kis Balázs(1), Zsoldos Roland(1), Danics Lea(1), Shaline Fazal(2), Kerepesi Csaba(3), Roger A. Barker(2), Pircs Karolina(1,4)

(1) Transzlációs Medicina Intézet, HCEMM-Semmelweis Egyetem, Budapest
(2) Cambridge Egyetem, Cambridge, UK
(3) HUN-REN SZTAKI, Budapest,
(4) Lundi Egyetem Kísérleti Orvostudományi Tanszékén Lund, Svédország

A Huntington-kór (HD) egy gyógyíthatatlan neurodegeneratív betegség, amelynek tünetei leggyakrabban 30-40 éves korban jelentkeznek. A betegség genetikai hátterében a huntingtin (HTT) gén mutációja áll, amely toxikus fehérje felhalmozódást okoz a neuronokban. Az autofágia, egy létfontosságú fehérjelebontó folyamat, HD esetén gátolt, így a mutáns HTT eltávolítása nem megfelelő. A Felodipin egy L-típusú kalciumcsatorna blokkoló, amely állatkísérletekben fokozza az autofágiát, eltávolítva a toxikus fehérjéket és csökkentve a neurodegenerációt.
A projekt során a FELL-HD klinikai vizsgálat résztvevőinek fibroblasztjaiból indukált neuronokat (iN) hoztunk létre a felodipin tesztelésének céljából. Az iN-ok megőrzik a donor epigenetikai korát, így lehetővé téve az öregedés tanulmányozását és a HD specifikus mechanizmusainak jobb megértését. 18 korai HD beteg és 7 hasonló életkorú egészséges donor fibroblasztját programoztuk át iN-ká, majd immunfestést követően TAU neuronális markerrel, azonos konverziós hatékonyságot és neuronális tisztaságot találtunk automatizált mikroszkópiával. A FELL-HD páciensek öregedésének mértékét több epigenetikai óra segítségével határoztuk meg DNS metiláció arrayt követően. A bazális autofágiát és a felodipin kezelésre adott választ a TAU+ neuronális sejtekben két időpontban és két koncentrációban vizsgáltuk, LC3, p62 és LAMP1 autofág markerekkel. A huntingtin expressziójának változását a kezelés hatására qPCR segítségével határoztuk. Eredményein k alapján 3 csoportot különböztethetünk meg: egy kontrol szerű, egy HD specifikus és egy megnövekedett öregedést mutató HD-specifikus csoportot. Az eltérő csoportokban a felodipin más hatást mutatott, bizonyos páciensekben csökkentve a HTT expresszióját és menekítve a neuronális és autofág eltéréseket egyaránt. A preklinikai adatok összegzése után célunk korrelációs analíziseket végezni a klinikai eredményekkel, hogy átfogó képet kapjunk a gyógyszer hatékonyságáról és az azt befolyásoló mechanizmusokról.
Kísérleteink során valós időben tudjuk összehasonlítani a Felodipin hatására betegekben létrejött motor és kognitív változásokat a betegekből származó iN-okban megfigyelt hatásokkal. Ennek eredményeként az iN preklinikai modellünk prediktív információt nyújthat arról, hogy kinél működhet vagy kinél nem egy gyógyszer, ami új dimenziót nyit meg a klinikai kísérletek optimalizálása és a személyre szabott medicina terén.

14:35 - 14:50 E-10

BMP-indukálta jelátviteli útvonalak szerepe a mesothel sejtek gyulladást követő regenerációjában

Zsiros Viktória 1, Dóczi Nikolett 1, Petővári Gábor 2, Pop Alexandra 1, Erdei Zsófia 1, Sebestyén Anna 2, L Kiss Anna 1

(1) Semmelweis Egyetem Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet
(2) Semmelweis Egyetem Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

Laboratóriumunkban évtizedek óta zajlanak kísérletek a patkányok hashártyájának mesothel sejtjeivel kapcsolatban. Korábbi munkáinkban bizonyítottuk, hogy a Freund adjuváns kiváltotta peritonitis során az epitheliális-mesenchymális átalakulásnak (EMT) a gyulladás kezdeti szakaszában, míg a mesenchymális-epitheliális transzformációnak (MET) a gyulladás utáni regenerációban van fontos szerepe. Mindkét átalakulás folyamán megváltozik a mesothel sejtek morfológiája, fehérjekészlete és sejtalkotóik száma, amely az új fenotípussal kialakuló funkciók betöltéséhez elengedhetetlen. Előzőleg azt is kimutattuk, hogy a hashártyagyulladásból történő felépülés (MET) egy nagyon intenzív autofágia révén megy végbe a mesothel sejtekben. Jelen vizsgálatainkban elsőként a MET folyamatát indukáló faktorokat, jelátviteli folyamatokat tanulmányoztuk hím Sprague-Dawley patkányok mesenteriális mesothel sejtjeiben. Munkánk során a szakirodalomból ismert, MET-et indukáló BMP-család két faktorára, a BMP4-re és a BMP7-re, valamint receptoraikra (BMPR1A, BMPR2) és az általuk indukált jelátviteli folyamatokra fókuszáltunk. Vizsgálatunk további célja az autofágia gyulladás utáni regeneratív szerepének bizonyítása volt, melyhez egy specifikus inhibitort, bafilomycin A1-et (BafA1) alkalmaztuk intraperitoneálisan. Immuncitokémiai, biokémiai és statisztikai eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a BMP4 expresszió már a gyulladás 3. és 5. napján jelentősen megnőtt a mesothel sejtekben. Ugyanakkor a BMP7 intracellulárisan szignifikánsan kisebb mértékben fejeződött ki, mint a BMP4, annak ellenére, hogy szintje igen magas volt a hasűri folyadékban. A BMPR1A és BMPR2 expresszió szintén megnőtt a gyulladás során. A TGFβ-aktivált kináz (TAK1) és a c-Jun NH2-terminális kinázok (JNK1-JNK2) expressziója szignifikánsabb volt, mint a p-SMAD1/5-é, amely megerősíti, hogy a BMP-k nem kanonikus útvonala érvényesül modellrendszerünkben. A B-sejtes limfóma-2-n (Bcl-2) keresztül történő JNK jelátvitel pedig hozzájárulhat a Beclin-1 aktiválásához és normál körülmények között az autofágia indukálásához. Az autofágia gátlásával kapcsolatban azt találtuk, hogy a BafA1 kezelés csökkentette az LC3B expresszióját, és a sejthalál morfológiai jeleit eredményezte a gyulladt mesothel sejtekben, mely arra utal, hogy ha az autofágia gátlás alá kerül, a regeneráció sejthalálba fordul, és ennek következtében a mesothel sejtek caspase-független úton elhalnak.

16:00 - 16:35 E-11

Zsírszövet-asszociált nyirokszövetek – egy furcsa pár

Balogh Péter, Jia Xinkai

Pécsi Tudományegyetem, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

Bár az emlős szervezetek kötőszöveti állományának jelentős részét alkotják a különböző típusú zsírszövetek, ezek immunológiai vizsgálata az utóbbi időkig nem terjedt ki a nyirokszövetekkel való kapcsolataik feltárására. Az elsődleges nyirokszövetek (thymus, csontvelő) az életkortól és számos egyéb tényezőtől függően tartalmaznak zsírszövetet, ugyanakkor az adaptív immunvédekezésben kulcsszerepet játszó perifériás nyirokszövetek és a zsírszövetek kapcsolata jórészben feltáratlan volt. Az utóbbi időben azonban mind fejlődésbiológiai összefüggések, mind funkcionális kapcsolódás kimutatható volt a nyirokcsomók, illetve a hasüregi (zsigeri) zsírszövetek és az ott elhelyezkedő különböző nyirokszöveti formációk között. Az előadás célja ezen kapcsolatok ismertetése, valamint a zsírszövet-asszociált nyirokszövetek fejlődéstani, szerkezeti, és a limfocita-megoszlás szabályozásában betöltött szerepének bemutatása.

16:35 - 16:50 E-12

Extracelluláris „csiki-csuki”: a B sejtek migrációját irányító CXCL12 és Tenascin-C kölcsönhatása a fejlődő bursa Fabricii follikulusaiban.

Szőcs Emőke, Soós Ádám, Halasy Viktória, Nagy Nándor

Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Őssejt és Kísérletes Embriológia Laboratórium, Budapest

A madarak specializált primer nyirokszerve a bursa Fabricii, ahol a B-sejtek érése során intenzív sejtmigráció és az immunglobulin gének diverzifikációjának zajlik. Habár a B-sejtek korai fejlődéséhez szükséges follikuláris velőállomány részletesen karakterizált, az ontogenezis során később megjelenő kortikális régió szöveti és molekuláris összetétele, a sejtmigrációt irányító molekuláris folyamatok nem ismertek.

A bursa follikulus kéregállományának sejtszintű és molekuláris elemzését immunhisztokémiai módszerekkel, in vitro B-sejt tenyészetek és embryomanipulációs kísérletek alkalmazásával végeztük. A kortikális sejtek jellemzése során kimutattuk, hogy a cortex szélén BAFFR+/chB6+/IgM-/CXCR4high B-sejtek találhatók, míg a kéreg-velő határ mentén, kiemelten a kapillárisok körül, CXCR4low/dim B-sejtek koncentrálódnak. Kimutattuk, hogy a lympho-myeloid sejtekben gazdag kéregállomány alapvázát dezmint és vimentint kifejező retikulumsejtek alkotják, amelyek kollagén (I-, III-, IV-, VI típusú), glikoprotein (laminin, fibronektin, fibrillin, tenascin-C), illetve proteoglikánokban gazdag ECM hálózatot termelnek. Az ECM részletes karakterizálása során azt találtuk, hogy a tenascin-C expresszió fordított grádienst mutat a CXCR4 expresszióval; a tenascin-C kifejezetten a CXCR4low/dim kortikális régióra volt jellemző. Míg az ECM komponensek többsége kifejeződik a korai embryonális bursa mesenchymájában, addig a tenascin-C expressziója jóval később, csak a kéregállomány kialakulásakor jelenik meg. A tenascin-C funkciójának in vitro vizsgálata azt igazolta, hogy a CXCR4high embryonális B-sejtek migrációja szempontjából gátló környezetet képvisel. Ezt a felvetést az is bizonyítja, hogy in vivo RCAS-Shh retrovírus indukált ektopikus tenascin-C expresszáltatás gátolja a fejlődő lymphoid follikulusok B-sejtes kolonizációját. Összefoglalva, embryomanipulációs kísérleti eredményeink szerint a bursa follikulusok CXCR4+ B-sejtes kolonizációjához elengedhetetlen a tenascin-C mentes mesenchymális környezet. Továbbá, immuncitokémiai és in vitro adatok alapján feltételezzük, hogy a felnőtt lymphoid follikulusok kéregállományára jellemző tenascin-C és CXCL12-CXCR4 molekulák komplementer, időben és térben kontrollált expressziós mintázata határozza meg az érett B-sejtek velő-kéreg irányú migrációját, a bursa Fabriciiből történő kivándorlását, és teszi lehetővé a perifériás nyirokszervek B-sejtes kolonizációját.

16:50 - 17:05 E-13

Zebrafish as a model for Pseudoxanthoma elasticum preclinical studies

Dávid Czimer(1), Luca Kamilla Li(1), Panna Kaluzsa(1), Krisztina Fülöp(2), Viola Pomozi(2), András Váradi(2), Máté Varga(1)

(1) Department of Genetics, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary
(2) Institute of Enzymology, Research Center for Natural Sciences, Hungarian Research Network, Budapest, Hungary

Pseudoxanthoma elasticum (PXE) is a rare, monogenic disorder caused by the ectopic calcification of elastic fibers in connective tissues at various sites in the body. Symptoms generally appear in early adulthood and mostly affect the subcutaneous connective tissue, the vascular walls and the Bruch's membrane of the eye. The disease is caused by a biallelic mutation of the ABCC6 gene, which encodes a cell membrane transporter protein. ABCC6 is an important player in the physiological calcification process, by regulating the transport of pyrophosphate into the blood. Its loss of function leads to the disruption of the inorganic phosphate (Pi) – pyrophosphate (PPi) ratio in the blood, resulting in the appearance of hydroxyapatite crystal deposits in essentially non-calcifying tissues. Zebrafish has proved to be a particularly suitable model for this disease, as the mutant animals show a well-characterized phenotype that can be traced even at an early stage of development. Our primary goal is to use our abcc6a mutant zebrafish line for testing potential drug candidates, using mainly synthetic pyrophosphate analogues. In addition, we would like to create a humanized transgenic fish line in which the sequence of the zebrafish abbc6a gene is partially replaced by the human orthologous sequence. We plan to use this fish strain in the future to get a better understanding of the molecular and environmental background of the disease.

17:05 - 17:20 E-14

A colon mucosalis SOX10+ gliasejtek ontogenezisének nyomon követése embryomanipulációs és transzgenikus módszerekkel.

Gecse Zsanna, Kegyes Noémi, Soós Ádám, Szőcs Emőke, Halasy Viktória, Nagy Nándor

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómia, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Bevezetés: A bélidegrendszer (ENS) normál fejlődését a dúcléc eredetű őssejtek (ENCC) vándorlása, a bélfal mesenchymájának kolonizációja, és a neuron vagy glia irányú differenciálódás biztosítja. A rendellenes kolonizáció a veleszületett colorectalis ganglionmentességgel jellemezhető Hirschsprung-kórt okozza. Az ENS karakterizálás során a korábbiakban leírt ganglionmentes és egészséges bél közötti eltérések egyike, a neuron és glia markeret kifejező neuroglia-szerű sejt jelenléte a kóros bél mucosájában, amelynek embryonális származása és a funkciója sem ismert

Célkitűzés: ENCC-k jellemzése során azt találtuk, hogy a késői csirke embryok utóbelében a neuronokra jellemző beta-III tubulint (TUJ1) expresszáló mucosalis sejtek SOX10 transzkripciós faktort (SOX10: őssejt és gliamarker) is kifejeznek. Munkám célja az volt, hogy: karakterizáljam a SOX10+ mucosalis sejteket embryonális és posztnatális colonban és meghatározzam a SOX10+ sejtek embryonális eredetét.

Módszer: 6-18 napos csirke embriók utóbelének (n=6), valamint 1-4 hetes csirkék vékony- és vastagbél (n=4) metszeteit kettős dúcléc/glia (SOX10)- és neuron (TUJ1)-specifikus immunfluoreszcens festéssel tanulmányoztuk, majd konfokális mikroszkóppal vizsgáltuk. Komparatív immunjelöléseket Wnt1:tdT egér és újszülött humán colon metszeteken is elvégeztünk. A sejtek embryonális eredetét chorioallantois (CAM) membrán transzplantációval határoztuk meg.

Eredmények: A kettős pozitivitást a 15. embryonális naptól kezdve tudtuk kimutatni az utóbél lamina propria mesenchymájában, és minél közelebb volt az embryo a kikelés stádiumához, annál több kettősen pozitív sejtet találtunk. Az ENS többi részében a TUJ1+ neuronok nem fejezik ki a Sox10-et. Kimutattuk, hogy a disztális colon területén nagyobb számú SOX10+/TUJ1+ sejt figyelhető meg, mint a duodenumban. ENCC mentes utóbelek CAM transzplantációjával (n=9) a SOX10+/TUJ1+ sejtek dúcléc eredetét bizonyítottuk.

Következtetések: Eredményeink szerint a SOX10+/TUJ1+ sejtek nem csak egy tranziens sejtpopuláció, hanem a lamina propria rezidens elemeit képzik. A colonra jellemző nagyszámú mucosalis SOX10+ neuronokról feltételezzük, hogy az extrinsic beidegzésében szerepet játszó lumbosacralis dúclécsejtek származéka. Ennek igazolására további kísérleteket tervezünk.

17:20 – 17:35 E-15

A H2A.Z hiszton variáns C-terminálisának epigenetikai szabályozó szerepe.

Imre László (1), Nánási Péter (1), Szabó Gábor (1)

(1) DE, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

A H2A.Z tartalmú nukleoszómák megtalálhatóak mind az eukromatinban, mind a heterokromatinban. Ezen nukleoszómák eltérő kromatin környezetben betöltött szerepét eddig nem tudták összefüggésbe hozni a stabilitási jellemzőikkel. Egy in situ nukleoszóma stabilitás mérésére alkalmas módszer, valamint a H2A.Z módosított formáit expresszáló DT40 sejtvonalak felhasználásával kimutattuk, hogy a H2A.Z tartalmú perifériás heterokromatinra jellemző nukleoszómákról a hiszton dimerek a kanonikus hiszton dimerekhez képest szokatlanul magas sókoncentrációnál válnak le, míg a C-terminális végi 9 aminosav hosszúságú deléciót hordozó H2A.Z-nukleoszómákra (H2A.ZΔC) ez a megnövekedett stabilitás nem jellemző. A H2A.ZΔC-nukleoszómákat kifejező sejtek sejtmagjában nem csak a H2A.Z-t, hanem a H3K9me3-at hordozó nukleoszómák átrendeződését figyeltük meg, valamint a teljes kromatin nukleáz érzékenységének növekedését tapasztaltuk. Ezek a C-terminális függő változások megfigyelhetőek voltak permeabilizált HeLa sejtmagokon, a H2A.Z C-terminális végével megegyező szintetikus peptiddel (C9) történő kezelés hatására is. Fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia segítségével kimutattuk, hogy a szintetikus C9 peptid képes kötődni rekonstituált nukleoszómákhoz, a C9 peptid élő sejtekbe juttatása pedig a kromatin átrendeződéshez, általános H2A.Z nukleoszóma-destabilizációhoz, a teljes genom nukleáz érzékenységének növekedéséhez és génexpressziós változásokhoz vezetett. Mindezek alapján a H2A.Z-nukleoszómák C-terminális vég-függő módon határozzák meg a globális kromatin szerkezetet, és azt a C-terminális peptid élő sejtekbe történő bejuttatásával módosítani is lehet.

Pályázati támogatás: OTKA K138524, K128770

POSZTEREK

P-01

3D primary endothelial model for toxicology and personalized drug development

Bakos LJ., Ványi IM., Mihály Zs., Sótonyi P., Orsolits B. & Földes G.

Heart and Vascular Center, Semmelweis University, Budapest, Hungary

One of the most significant challenges in the study of cardiovascular diseases (CVD) is the limited availability of viable vascular tissue. In particular, unraveling the cellular mechanisms underlying pathological endothelial functions would facilitate the precise characterization of CVDs and, consequently, the development of targeted treatments. A protocol has been developed by our research group for the generation of three-dimensional (3D) spheroids of patient-specific arterial endothelial cells (EC).

Primary arterial ECs were isolated from 44 patients with carotid artery stenosis undergoing reconstruction surgery. The cells were initially cultured in two-dimensional (2D) conditions prior to the generation of 3D spheroids. Spheroids were generated by transferring either 50 000 cells into low-attachment V-bottom plates for 48 h or placing suspensions of varying cell densities into anti-adherence treated Aggrewell plates for 48 h resulting in spheroids consisting of 3000 to 5000 cells. Afterwards, the spheroids were moved to Matrigel-coated wells in EGM2 medium for further maintenance.

We noted that long-term maintenance and passaging of 2D EC cultures leads to endothelial-to-mesenchymal transition (endoMT), that increases with each passage, as identified by decreased CD31/VE-cadherin expression and increased Vimentin/FSP1 expression. We found that 3D models were more effective than 2D cultures for creating in vivo-mimicking conditions. The emergence of endothelial networks after 2 days was observed in our group following maintenance of primary ECs in 3D spheroid cultures of 50 000 cells, suggesting their classification as organoids. In spheroids of 3000-5000 cells, however, ECs were seen in the core of the sphere instead of spread out.

Vascular organoids could elucidate the cellular mechanisms of CVDs, therefore offer a platform for disease modelling in cardiovascular research, since 3D culture has higher fidelity and thus represents a native-like human vascular system. Furthermore, these could be used for toxicological drug screening as well as personalized drug development in preclinical studies.

P-02

The ncPRC1 dependent regulation of Pax6 during in vitro neural differentiation of mouse embryonic stem cells

Emese Belai (1,2), Melinda Katalin Pirity (1)

(1) Institute of Genetics, BRC, Szeged
(2) Faculty of Science and Informatics, University of Szeged, Szeged

Ring1 and Yy1 Binding Protein (RYBP) and YY1 Associated Factor 2 (YAF2) are core members of the Non-canonical Polycomb Repressive Complex 1s (ncPRC1s), which are essential epigenetic regulators of mammalian cell lineage commitment. Our laboratory has previously reported that Rybp null mutant (Rybp -/-) mouse embryonic stem (ES) cells form fewer terminally differentiated neural cells in vitro, which coincided with an increased neural progenitor pool formation and with the elevated levels of the neural progenitor marker gene Pax6 (Paired Box 6) mRNAs. Increased Pax6 expression is essential for neural progenitor formation, while this elevated expression hinders terminal differentiation.

Our aim was to shed light on the regulatory functions of ncPRC1s during in vitro neural differentiation of mouse embryonic stem cells. For this purpose, we determined whether the ncPRC1.1 could regulate the Pax6 P1 promoter and whether it can interact with Paupar, an Upstream Antisense RNA, which is located in the Pax6 locus, to regulate Pax6 expression. It had been previously established that Paupar works together with RYBP in order to repress the Pax6 gene expression but the possible gene regulatory circuits including Paupar, YAF2 and RYBP have not yet been studied. We also compared the expression kinetics of Pax6 and Paupar during in vitro neural differentiation in the presence of ncPRC1 core members (wild type) and in the absence of both Rybp and Yaf2 (Rybp KO /Yaf2 KO).

We found that in the double-knockout cell line the expression of Pax6 remains low during in vitro neural differentiation, while the expression of Paupar highly increases. We also showed that YAF2 and RYBP regulates the Pax6 P1 promoter via different mechanisms and established a regulatory circuit of YAF2, RYBP and Paupar in this context. Our results shed new light on the regulatory functions of ncPRC1s during mammalian neural lineage commitment.

P-03

Sejtciklus változás monitorozása hőkezelés hatására, házityúk PGC alapú transzgenikus FUCCI sejtvonalakon

Bognár Júlia(1), Tóth Roland(1), Ecker András(1), Gócza Elen(1), Tóth Arnold(1)

(1) MATE GBI Állatbiotechnológia Tanszék

A baromfiágazat kiemelkedő jelentőségű, mivel a baromfi az egyik legelterjedtebb állati fehérje forrás, hiszen az előállítása viszonylag olcsó más állati eredetű fehérjékhez képest, fogyasztásához nem kapcsolódik semmilyen vallási eredetű korlátozás és a tojása teljes biológiai értékű táplálék. A globális felmelegedés hatására fellépő éghajlatváltozás okozza a baromfitenyésztésben az egyik legsúlyosabb stresszhatást világszerte.

A vizsgálat célja, a hőkezelés hatására fellépő sejtciklus változások monitorozása volt. Házityúk embriókból izolált vérből létrehozott, a FUCCI vektort stabilan integrálódva tartalmazó FCF5 és FCM5 ősivarsejt tenyészeteket alkalmaztunk kísérletünkben (Ecker és mtsai, 2024). Három órán keresztül 40°C, 41°C, 42°C, 43°C-on hőkezelt sejtek sejtciklusában bekövetkező változásokat hasonlítottuk össze a 38°C-on tartott kontroll sejtek esetében kapott adatokkal. A sejtciklus változását 2 napon keresztül követtük PICO automata mikroszkóp segítségével. A kapott adatok feldolgozását megkezdtük, az előzetes eredmények alapján elmondható, hogy a hőkezelés mindkét sejtvonal esetében hatással volt a sejtproliferációra és a sejtciklus fázisainak hosszára, a G1, M, G2 fázisban található sejtek arányára.

P-04

Egy optimális ischaemias retinopathia egérmodell kialakítása és az oxigénhiány következményeinek vizsgálata

Bosnyák Inez (1), Farkas Nelli (2), Molitor Dorottya (1), Mérész Balázs (1), Patkó Evelin (1), Atlasz Tamás (3), Váczy Alexandra (1), Reglődi Dóra (1)

(1) Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai Intézet
(2) Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet
(3) Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Sportbiológia Tanszék

A jelen közlemény alapjául szolgáló kutatást a Nemzeti Orvosbiológiai Alapítvány Nemzeti Tudósképző Akadémia Programja támogatta a Kulturális és Innovációs Minisztérium pénzügyi hozzájárulásával (FEIF/646-4/2021- ITM_SZERZ).

Az oxigénhiány-okozta szembetegségek hamar látásromláshoz vezetnek és ezen állapotok előfordulása egyre nő, ezért az ischaemias retinpathiák új terápiás célpontjainak és kezelései lehetőségeinek feltérképezése a kutatási érdeklődés középpontjában áll. Ezen túlmenően e betegségek patomechanizmusa sem teljesen ismert és számos kérdés továbbra is megoldatlan az oxigén-anyagcserével kapcsolatban is.
Kutatásunk célja egy optimális ischaemias retinopathia egérmodell kialakítása volt végleges egyoldali (UCCAO) vagy átmeneti kétoldali (BCCAO) közös nyaki verőér elzárással, és a hypoxia következményeinek morfológiai módszerekkel történő, időfüggő vizsgálata.
Az egereket a következő kísérleti csoportokra osztottuk: BCCAO 10- (n=16), 13- (n=18), 15- (n=18) vagy 20 percig (n=21), végleges UCCAO (n=29) és áloperált csoport (n=14). A retina rétegeinek morfológiai elemzését optikai koherencia tomográfiával (OCT) végeztük el a műtét előtt, valamint 3,7,14,21 és 28 nappal később. 24 órával a műtétek után a retinák egy részét izoláltuk és Western blot analízist végeztünk. Teljes retina preparátumokat is készítettünk egy hónappal később és Brn3a elődleges antitesttel a ganglionsejteket, GFAP-val pedig a Müller sejteket jelöltük. A statisztikai elemzéseket R statisztikai szoftverrel végeztük.
Összesen 412 OCT-mérést végeztünk a kísérleti időszak alatt, és 5188 adatot elemeztünk. A retina teljes vastagsága a 20 perces BCCAO és az UCCAO csoportokban csökkent a legjelentősebben ($p<0,01$). Az idegrostréteg szignifikánsan csökkent a 10 perces, 15 perces és 20 perces BCCAO és az UCCAO-csoportokban ($p=0,034$; 0,041; 0,016 és 0,011). Az UCCAO okozta a legnagyobb csökkenést az idegrostrétegben ($p<0,001$). Az OCT-mérések ezenkívül az ischaemia időtartamával arányosan növekvő károsodást mutattak a fotoreceptor réteg esetében. A pigmenthám vastagsága szignifikánsan csökkent az UCCAO csoportban ($p=0,008$). A ganglionsejtek száma szignifikánsan kevesebb volt a 20 perces BCCAO ($p=0,013$) és az UCCAO ($p=0,001$) csoportokban a kontrollokhoz képest. A GFAP expressziójának szignifikáns növekedését figyeltük meg az UCCAO csoportban a kontrollokhoz képest ($p=0,006$).

Eredményeink alapján a 20 perces BCCAO alkalmas modell az oxigénhiány hosszabb távú hatásainak tanulmányozására és a különböző sejttípusok érzékenységének vizsgálatára. Az UCCAO pedig súlyosabb retinaszöveti károsodást okoz a CD1-IGS egerekben, így ez a módszer felhasználható potenciális új gyógyszerek tesztelésére.

P-05

Rab2-t szabályozó GAP enzimek vizsgálata Drosophila modellrendszerben

Falcsik Gergő (1,2), Keresztes Fanni (1,2), Balog Tünde Mónika (1), Kovács Tibor (1)

(1) Budapest, Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE), Genetikai Tanszék
(2) Budapest, Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE), Biológia Intézet, Biológia Doktori Iskola

Az autofágia sejtjeink egy nélkülözhetetlen homeosztázist fenntartó folyamata, mely azonban az öregedés során veszít hatékonyságából. E csökkent aktivitás különösen veszélyes lehet olyan pótolhatatlan sejtekre nézve, mint az idegrendszer sejtjei, ahol a káros anyagok felhalmozódása neurodegeneratív betegségek kialakulásával járhat.
Kutató csoportunk korábbi eredményei szerint a Rab2 kis-GTPáz (kis-G) fehérje – mely nélkülözhetetlen a savas lebontó útvonalak vezikuláinak fúziójához – konstitutívan aktív formája fokozza az autofágia hatékonyságát öreg állatokban, továbbá növeli azok élethosszát és mászási képességét. A kis-G fehérjéket GAP-ok (GTPase-activating proteins) gátolják azok inaktiválásával, így közvetetten csökkenthetik az autofágia hatékonyságát, azonban Rab2 specifikus GAP-ok még nem ismertek az irodalomban. Kutatási célom volt olyan Rab2 fehérjét szabályozó GAP-okat találni, melyeknek gátlása képes fokozni a lizoszómális lebontási útvonalakat és ezáltal növelni az autofágia hatékonyságát az idegrendszerben. Ezen fehérjék jó célpontjai lehetnek a jövőben gátló hatású gyógyszer molekuláknak.
12 GAP gén RNS-interferencia (RNSi) csendesítését végeztük Drosophilában, melyek potenciálisan részt vehetnek a Rab2 szabályozásában. Ezek közül 5 lett kiválasztva részletesebb vizsgálatokra. Mind idegrendszerben, mind zsírtestben sikerült több olyan GAP gént találni, melyek csendesítése képes volt megnövelni az aktív Rab2-pozitív vezikulumok számát a sejtekben. Egyes csendesítések képesek voltak az autofág-lizoszómális lebontó útvonalak aktiválására (pl: CG42795-RNSi), ezzel csökkentve a lebontásra megjelölt anyagokat az állatok idegsejtjeiben. Bizonyos GAP-ok csendesítése szignifikáns növekedést okozott a Drosophilák élethosszában és pozitív hatással voltak a mászási képességre.
Feltételezhetjük tehát, hogy egyes GAP fehérjék gátlása valóban alkalmas lehet a lizoszómális lebontási útvonalak aktiválásához, így ezeknek a fehérjéknek a további vizsgálata releváns új terápiás célpontokat nyújthat a neurodegeneratív betegségek elleni küzdelem során.

P-06

Vérsejt differenciálódás vizsgálata Drosophila melanogasterben immunaktivációt követően és leukémia modellekben

Gábor Erika(1), Bihari Bence(1,2), Csapó Enikő(1), Bakné Drubi Andrea(1), Bayan Kharrat(1,2), Benyhe-Kis Bernadett(1,2,3), Czimmerer Zsolt(3), Vedelek Balázs(4), Honti Viktor(1)

(1) HUN-REN SZBK, Genetikai Intézet, Drosophila Vérsejt Differenciálódás Csoport, Szeged
(2) Szegedi Tudományegyetem, Szeged
(3) HUN-REN SZBK, Genetikai Intézet, Makrofág Polarizáció Csoport, Szeged
(4) HUN-REN SZBK, Genetikai Intézet, Aktin Sejtváz Szabályozási Csoport, Szeged

Mivel a vérsejtdifferenciálódást szabályozó jelátviteli útvonalak, transzkripciós- és epigenetikai faktorok evolúciósan konzerváltak, az ecetmuslica (Drosophila melanogaster) tökéletes modell a leukémiás elváltozások- és a vérsejt transzdifferenciálódás vizsgálatára. Transzdifferenciálódás során egy már funkcióval rendelkező sejttípus alakul át más funkcióval bíró sejtté; a lárvális hemociták (vérsejtek) esetén a fagocitáló plazmatociták differenciálódnak tokképző lamellocitákká.
A plazmatocita-lamellocita átalakulás vizsgálatára mesterséges intelligencián alapuló komplex módszert dolgoztunk ki, melynek segítségével plazmatocitákat és transzdifferenciálódással kialakuló lamellocitákat izoláltunk ex vivo hemocita kultúrákból, majd azokon RNS szekvenálást végeztünk. Eredményeinket összehasonlítottuk az irodalomból elérhető egysejt-szekvenálási (scRNSseq) eredményekkel, majd újra-analizáltuk azokat, hogy jobban megérthessük a lamellociták sokféleségét. Kísérleteink során a lamellociták sokféleségének vizsgálatára alkalmas markereket azonosítottunk, majd megvizsgáltuk az ezek által meghatározott lamellocita csoportokat immunindukciót követően, valamint tumoros mutánsokban.
A vérsejtképződés evolúciós konzerváltságának köszönhetően eredményeink hozzájárulhatnak a gerincesekben zajló vérsejtképződés, illetve a vérsejt eredetű tumorok kialakulásának részletesebb megismeréséhez.
Kutatásaink az OTKA K-131484 (HV), a 2022-2.1.1-NL-2022-00008 (Biotechnológiai Nemzeti Laboratórium) és a Short Term EMBO Fellowship pályázatok támogatásával valósultak meg.

P-07

GTPáz aktiváló fehérjék szerepének vizsgálata az anterográd transzportban

Gáliková Ramóna(1), Balog Tünde Mónika(1), Keresztes Fanni(1,2), Kovács Tibor(1)

(1) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Genetikai Tanszék, Budapest
(2) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológia Doktori Iskola, Budapest

Az autofágia egy lizoszomális lebontó folyamat, amely a sejtekben felhalmozódó káros anyagok lebontásáért felelős. Amelynek az életkor előrehaladtával csökken az aktivitása, főként a lebontási szakasza sérül, ami toxikus fehérjék felhalmozódásához, reaktív oxigéngyökök felszabadulásához és neurodegeneratív betegségek kialakulásához vezethet. Új terápiás megközelítésként a lizoszóma exocitózis serkentését terveztük vizsgálni, ahol a lizoszóma tartalma az extracelluláris térbe távolítódik el. A lizoszómák mikrotubulusok mentén mozognak anterográd transzport révén a plazmamembrán felé. Az Arl8 egy kis GTPáz fehérje, mely elősegíti a lizoszóma más membránokkal való fúzióját, összeköti a lizoszómákat a kinesin-1 motorfehérjével, így fontos szerepet játszik az anterográd transzportban is. Az Arl8 GTP-kötött formában aktív, GDP-kötötten inaktív. A GAP-ok (GTP-áz aktiváló fehérjék) a GTP hidrolízisét serkentve gátolják a kis GTPázokat. Elméletünk szerint specifikus GAP-ok gátlásával serkenthető lehet az Arl8 aktivitása és ez által fokozható a lizoszóma transzport és exocitózis. Az eredményeink alapján elmondható, hogy GAP-ok csendesítésével fokozható a Arl8 membránhoz kötött, aktív formáinak mennyisége. A GAP csendesítés hatására növekedett az Arl8-pozitív vezikulumok, savas struktúrák struktúrák mennyisége. Kimutattuk, hogy a az Arl8-at gátló GAP-ok hiányában a lizoszomómáka sejtmembránhoz közel jelennek meg. Eredményeink az anterográd transzport fokozódására utalnak.

P-08

Kleefstra-szindróma eredetű humán iPSC-neuronok többszempontú funkcionális jellemzése

Geiszelhardt Eszter (1), Gazdik Melinda (1), Maissa Ben Mahmoud (1), Danics Lea (1,2), Kai Kummer (3), Szűcs Attila (1), Schlett Katalin (1), Tárnok Krisztián (1)

(1) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Élettani és Neurobiológiai Tanszék, Budapest
(2) HCEMM-SE Neurobiológiai és Neurodegeneratív Betegségek Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem, Budapest
(3) Medical University of Innsbruck, Division of Physiology, Innsbruck, Ausztria

A Kleefstra-szindróma egy idegi fejlődési rendellenesség, mely autizmus spektrum zavarral, értelmi fogyatékossággal, hipotóniával jár. Hátterében az EHMT1-gén mutációja áll, mely elősegíti a heterokromatin kialakulását, így szabályozva a génexpressziót. Bár ismert, hogy idegsejtekben szerepet játszik a szinaptikus plaszticitás kialakulásában, a tanulásban és az emlékezetben, azonban kérdéses, hogy pontosan hogyan befolyásolja az idegi hálózatok kialakulását.
Vizsgálatainkban neurotipikus (NT) és fiatal Kleefstra-szindrómás (KS) páciensből származó iPSC-neuronokon modelleztük a idegi érést és hálózatképződést, in vitro körülmények között. A NT és KS-eredetű tenyészetek szinaptikus kapcsolatainak vizsgálatához 9 héten át hetente voltage clamp méréseket végeztünk. A KS-eredetű sejtek spontán serkentő posztszinaptikus áramokat (sEPSC) mutattak már a fejlődés 1. hetétől, míg a NT-tenyészetekben ezek csak a 3. héttől jelentek meg. Az érés során az AMPA események domináltak, az éréssel azonban nőtt a GABA események aránya mindkét tenyészetben. A tenyészetekben kialakuló hálózatok fejlődési, érési dinamikáját Ca-imaging technikával is vizsgáltuk, a fejlődés első 4 hetében. A KS-tenyészetek ez esetben is már az első héten aktívnak bizonyultak, majd az érés során végig azonos aktivitást mutattak. Az NT-tenyészetekben ezzel szemben aktivitás növekedést figyeltünk meg, és a KS-tenyészetekhez hasonló aktivitási szintet a fejlődés 4. hetére érték el. A kialakuló hálózatok további vizsgálatára az idegi érés első 6 hetében multielektród-tömb (multielectrode array, MEA) méréseket végeztünk. A KS-tenyészetekben már az indukció első hetétől itt is megnövekedett hálózati aktivitást tapasztaltunk, melyet mind a tüzelést mutató elektródák magasabb száma, mind a burst-oszcillációk előfordulása jelzett. Érdekes megfigyelés, hogy a KS-tenyészetekben az aktivitás a vizsgált periódus végére lecsökkent.
Eredményeink alapján a Kleefstra-szindróma befolyásolja az idegsejtek hálózatképzési sajátságait. A KS-tenyészetekben korábban kialakult hálózati aktivitás, mely összefüggésben lehet az ASD-ben megfigyelhető hálózatképzési rendellenességekkel.

A jelen munkát a Richter Gedeon Nyrt. T.K.- nak nyújtott 4700236468/2022 sz. támogatása, valamint a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal S.K.-nak nyújtott VEKOP-2.3.3-15-2016-00007 sz. támogatása segítette.

P-09

Coecum: a kritikus organizátor régió a colorectum bélidegrendszerének embryonális fejlődésében

Halasy Viktória1#, Kovács Tamás1#, Soós Ádám1, Szőcs Emőke1, Pascal De Santa Barbara2, Sandrine Faure2, Rhian Stavely3, Allan M. Goldstein3, Nagy Nándor1

1 Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Általános Orvostudományi Kar, Semmelweis Egyetem
2 PhyMedExp, University of Montpellier, INSERM, CNRS, Montpellier, France
3 Department of Pediatric Surgery, Pediatric Surgery Research Laboratories, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

The enteric nervous system (ENS) is principally derived from vagal-level neural crest cells that migrate caudally along the entire length of the gastrointestinal tract, giving rise to neurons and glial cells in two ganglionated plexuses. Incomplete migration of enteric neural crest cells (ENCCs) leads to Hirschsprung disease (HD), a congenital disorder characterized by the absence of enteric ganglia along variable lengths of the distal intestine. Our recent data strongly suggests that the avian ceca, present at the junction of midgut and hindgut, play an important role in hindgut ENS development, since ablation of the cecal buds leads to incomplete ENCC colonization of the hindgut. Besides GDNF, EDN3 and WNT11, bone morphogenetic protein-4 (BMP-4) is also highly expressed in the cecal mesenchyme, leading us to hypothesize that cecal BMP-4 is critically important for normal ENCC colonization of the developing hindgut. To test this, we modulated BMP-4 activity using RCAS virus infection and multiple embryonic intestinal organ culture techniques. Our results support the essential role of cecal BMP4 signaling in promoting normal ENCC migration and patterning of the hindgut ENS.
(Grant: NFKI K-124740, K-138664; TKP2021-EGA-25) Bevezetés: Az enterális idegrendszer (ENS, enteric nervous system) a gerincvelő vagus szakaszának ganglionléc sejtjeiből származik, amelyek caudalisan vándorolnak a gasztrointesztinális traktus teljes hosszában és létrehozzák a neuronokból és gliasejtekből álló plexus myentericust és plexus submucosust. Az enterális ganglionléc sejtek (ENCC, enteric neural crest cell) migrációjának zavara egy veleszületett fejlődési rendellenességhez, a Hirschsprung-kór kialakulásához vezet, amit a colorectum változó hosszúságú ganglionmentessége jellemez. Előzetes eredményeink határozottan azt sugallják, hogy a középbél és az utóbél találkozásánál található coecum fontos szerepet játszik az utóbél bélidegrendszerének fejlődésében, mivel a coecum-primordiumok mikrosebészeti ablációja az colorectalis aganglionózishoz vezet. Tovább erősíti a feltételezést, hogy az ENCC-k craniocaudalis vándorlása során a sejtek proliferációs szintje akkor éri el a legmagasabb szintet, amikor a migrációs hullámfront keresztülhalad a coecumon. Felmerült bennünk a kérdés, hogy a sikeres utóbél kolonizációja érdekében a coecalis környezet milyen molekuláris mechanizmusokkal szabályozza az áthaladó ganglionléc sejtek vándorlását, proliferációját és differenciálódását.

Módszerek: RNA-seq, in situ hibridizáció, fluoreszcens immunhisztokémia, retrovírus-injektálás in ovo embrionális béltenyészeteken, in vitro enterális ganglionléc tenyészetek.

Eredmények: A coecum és az intercoecalis régió összehasonlító transzkriptomikai elemzése azt mutatja, hogy a nem-kanonikus WNT11 és a BMP4 növekedési faktorok elsősorban a coecumban expresszálódnak magas szinten, amit a fluoreszcens immunhisztokémiával kombinált in situ hibridizációs eredmények is megerősítenek, és ez alapján feltételezzük, hogy ezeknek a morfogéneknek a coecumban való expressziója fontos az utóbél ENCC kolonizációjához. A hipotézis tesztelésére embrionális szervtenyésztési technikákkal és in ovo retrovírus 63fertőzéssel moduláltuk a BMP4

aktivitást. Kimutattuk, hogy a BMP4 fokozott expressziója vagy gátlása a coecumban megzavarja az utóbél ENS fejlődését, amelyben a glia-eredetű növekedési faktor (GDNF) fontos szabályozó szerepet játszik. Igazoltuk, hogy a coecumban zajló WNT11/BMP4 és a GDNF jelátvitel közötti kölcsönhatások zavara az utóbélben zajló gangliogenezis gátlásához vezet. Ennek megfelelően, ha a BMP4 expressziója rendellenesen megnő az utóbélben, akkor ektópiás ganglionok képződnek, és hiperganglionózis alakul ki. hasonlóképpen, amikor rekombináns BMP4 proteint adtunk a tenyésztett ENCC-khez in vitro, az idegi őssejtek nagyméretű ganglionszerű struktúrákká aggregálódtak, szemben a BMP4- és a GDNF együttes alkalmazásával, ahol ganglionképződés nem történt meg.

Következés: A BMP4 és a GDNF a bélfejlődés során először a coecumban fejeződik ki. A GDNF növekedési faktor gátolja a BMP4 ganglionképző hatását, így a coecumba vándorló EnCC-k nem differenciálódnak idő előtt enterális ganglionokká, így a proximális utóbél EnCC kolonizációja zavartalanul végbemehet.

(Grant: NFKI K-124740, K-138664; TKP2021-EGA-25)

P-10

A tiloron javítja a magas zsírtartalmú diéta által indukált steatosist egerekben

Horváth Barnabás (1)
Köhler Zoltán Márton (1), Halász Judit(2), Trencsényi György (3), Szabó Kitti (1), Tanner Norman Noel (1), Juhász László (4), Kiss András (2), Dux László (1), Rovó László (5), Keller-Pintér Anikó (1)

(1) Szegedi Tudományegyetem, Biokémiai Intézet; Szeged
(2) Semmelweis Egyetem, Patológiai, Igazságügyi és Biztosítási Orvostani Intézet; Budapest
(3) Debreceni Egyetem, Nukleáris Medicina Intézet; Debrecen
(4) Szegedi Tudományegyetem, Sebészeti Műtéttani Intézet; Szeged
(5) Szegedi Tudományegyetem, Fül- Orr- Gégészeti és Fej- Nyaksebészeti Klinika; Szeged

Napjaink egyik súlyos betegsége a nem-alkoholos zsírmáj (NAFLD), melynek kialakulása évről-évre növekszik. Kialakulásáért a túlzott zsírfelhalmozódás felelős, nem alkoholos tényezők miatt. Az elhízás miatt kialakuló NAFLD-hez kapcsolódóan a betegek körében gyakori az inzulinrezisztencia és a cukorbetegség. A szintetikus, kismolekulasúlyú tiloront először vírusellenes szerként azonosították, de képes növelni a csontmorfogenikus fehérjék (BMP) expressziós szintjét. A BMP-k kulcsfontosságú szerepet játszanak a máj homeosztázisában, a BMP9 és BMP4 pedig képes csökkenteni a máj és testtömeget. Munkánkban a tiloron metabolikus hatásait vizsgáltuk magas zsírtartalmú diéta (HFD) esetén, in vivo egérmodellben, a májszövetre gyakorolt hatására összpontosítva.
A 10 illetve 6 hétig tartó kísérleteinkhez 12-14 hetes, hím, C57BL/6 egereket alkalmaztunk (kontroll, HFD és tiloronnal kezelt HFD csoport). A tiloront (25 mg / ttkg) a 2. héttől kezdve 3 naponta injektáltuk intraperitoneálisan. Hetente mértük az állatok testtömegét és vércukorszintjét, valamint az utolsó héten glükóz tolerancia tesztet is végeztünk.
Eredményeink alapján a tiloron csökkentette a HFD hatására bekövetkező testtömeg és vércukorszint növekedést, továbbá javította a glükóztoleranciát. PET/CT vizsgálattal kimutattuk, hogy a tiloron növelte a máj, zsírszövet, vázizom és a szívizom glükózfelvételét a HFD egerekben. Szövettani vizsgálatok alapján a HFD hatására a májban diffúz, dominánsan mikrovezikuláris steatosis (S3/3) alakult ki. A tiloron kezelés képes volt ezen vezikulák méretét és a máj lipidtartalmát csökkenteni. PAS festés kimutatta, hogy a szöveti glikogén eltűnt HFD hatásra. A tiloronos kezelés azonban meg tudta növelni a máj glikogén tartalmát. A máj mitokondriális oxigénfogyasztását nagyfelbontású respirrometriával vizsgáltuk. Eredményeink azt mutatják, hogy tiloron kezelés hatására csökkent a II. komplexhez kötött oxidatív foszforiláció és a IV. komplex aktivitása.
Eredményeink kimutatták a tiloron pozitív hatásait magas zsírtartalmú diéta esetén. Ezek az eredmények felvetik a tiloron alkalmazásának lehetőségét nem alkoholos zsírmáj terápia esetén, ez azonban további vizsgálatokat igényel.

P-11

A humán egyszálú DNS-kötő fehérje (hSSB1) nukleo-citoplazmatikus relokációja a sejtes stresszválasz során

Jezsó Bálint(1,2), Németh Rita(1), Szikriszt Bernadett(3), Pálinkás János(1,2), Szüts Dávid(3), Kovács Mihály(1,2)

(1) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biokémiai Tanszék, Motorenzimológiai Kutatócsoport
(2) HUN-REN–ELTE, Motorfarmakológiai Kutatócsoport
(3) HUN-REN, TTK, Molekuláris élettudományi Intézet, Genomstabilitás Kutatócsoport

A replikáció, a transzkripció és a legkülönbözőbb DNS hibajavító folyamatok egyik közös vonása, hogy azok során hosszabb-rövidebb szakaszon egyszálú DNS (ssDNS) válik exponálttá. Ilyenkor részben a korai reanellációt megakadályozandó, részben a sokkal sérülékenyebb ssDNS káros hatásoktól való megóvása érdekében egyszálú DNS-kötő fehérjék (SSB) borítják be az érintett DNS-szakaszt. Az SSB-k az ssDNS stabilizálásán túl a DNS-metabolizmus adott folyamatában szükséges faktorok toborzásában is fontos szerepet játszanak, de szerepük lehet a sejtciklus és egyéb sejtélettani folyamatok szabályozásában is.
Hosszú ideig a heterotrimer RPA komplex volt az egyetlen ismert humán SSB. A kétezres évek végére azonban leírtak két további humán ssDNS-kötő fehérjét is: az RPA-nál jóval egyszerűbb szerkezetű hSSB1-et és hSSB2-t, amelyekről ma már ismert, hogy legalább annyira fontosak a genomstabilitás szempontjából, mint az RPA. Kutatócsoportunk eredményei nyomán felmerült, hogy a hSSB1 a már ismert, DNS-karbantartáshoz köthető funkcióin túl, egyes, a citoplazmában zajló stresszválasz folyamatokban is szerepelhet regulátorként. Kimutattuk, hogy a stresszválasz során megjelenő citoplazmatikus ribonukleoprotein kondenzátumokban, az ún. stresszgranulumokban (SG) jelen van a hSSB1 is, továbbá, hogy a hSSB1 RNS-interferencia alapú csendesítése intenzívebb SG-képződést von maga után. E jelenség mechanizmusának feltárása céljából génkiütött sejtvonalakat hoztunk létre a hSSB1-re, illetve annak egy SG-asszociált interakciós partnerére, a G3BP1-re nézve. A KO vonalakból származó eredményeink a hSSB1 a sejtmag és a citoplazma közti dinamikus relokációját tárják fel, és lehetővé teszik a hSSB1 stresszválaszban betöltött szerepének feltárását.

P-12

Modelling Endothelial Dysfunction in Response to Smoking and Nicotine Products Using Cells Derived from Human Pluripotent Stem Cells of Discordant Monozygotic Twins

Luca Anna Joó-Bors 1, Hédi Maczelka 1,2, Andrea Ágnes Molnár 1, Ildikó Mária Ványi 1, Barbara Orsolits 1, Ágota Apáti 2, Gábor Földes 1

1 Semmelweis University, Cardiovascular Centre, Budapest
2 HUN-REN, Research Centre for Natural Sciences, Budapest

Keywords: iPSC-derived endothelial cells, Nicotine exposure, E-cigarette liquid, Atherosclerosis, Patient-specific disease model

Background: Smoking is a proved risk factor for vascular health, contributing to the development of cardiovascular diseases such as coronary artery disease, stroke, and peripheral artery disease. While alternative tobacco products, including vapes, e-cigarettes, and heated tobacco products, are often marketed as safer options, emerging evidence indicates they may pose unrecognized risks to vascular function.
Methods: This study investigates the effects of nicotine and e-cigarette liquid (ECL) on endothelial cells derived from induced pluripotent stem cells (iPSCs) across three groups: healthy control cells and iPSCs derived from a pair of twins, one non-smoking and one smoking, both with diabetes mellitus. Using differentiation protocols to model capillary-like and artery-like endothelial phenotypes, we employed toxicological, morphological, and functional assays, supplemented by immunocytochemistry and high-content screening.
Results: Our findings demonstrate significant differences in endothelial cell responses, particularly in capillary-like cells, which exhibited heightened sensitivity to nicotine-containing treatments. Interestingly, endothelial cells from the smoking patient exhibited slightly reduced reactivity to nicotine compared to cells from the non-smoking twin or healthy control. Additionally, exposure to nicotine-containing ECL resulted in increased mitochondrial metabolic activity and minor changes in mitochondrial dynamics.
Conclusion: These results highlight a potential adaptive mechanism in smokers that may attenuate nicotine sensitivity in endothelial cells. The in vitro findings align with clinical observations of more severe atherosclerosis in the smoking patient, underscoring the need for further investigation into the vascular consequences of alternative tobacco product use.
Acknowledgment: Hungarian National Research, Development and Innovation Fund (RRF-2.3.1 21 2022 00003, TKP2021 EGA 23, NKFIH 146125)

P-13

Egy új Hirschsprung betegségmodell létrehozása kondroitinszulfát velőcső mellé való injektálásával korai csirke embryoban

Jurenka Csenge Lili, Kegyes Noémi, Gecse Zsanna, Szőcs Emőke, Soós Ádám, Gáspár-Halasy Viktória, Pecsenye-Fejszák Nóra, Kocsis Katalin, Nagy Nándor

Semmelweis Egyetem, Anatómia, Szövet-és Fejlődéstani Intézet

Bevezetés: A béltraktus embryonális fejlődése során a velőcső-eredetű dúcléc őssejtek (ENCC) először az előbél mesenchymáját kolonizálják, majd caudalis irányba haladva létrehozzák a teljes bélidegrendszert (ENS). Ha az embryonalis fejlődés során az ENCC-k migrációja zavart szenved Hirschsprung betegség (HD) alakul ki, amelyet 85%-ban a distalis colon ganglionmentessége jellemez. ENS-t célzó kutatások felvetik annak a lehetőségét, hogy a HD betegek vastagbelében termelt kondroitinszulfát (CSPG) típusú extracelluláris mátrix (ECM) közrejátszik a rendellenes bélidegrendszer kialakulásában.

Célkitűzés: Munkám célja egy olyan embryonális HD modell készítése volt, amely génmódosítás nélkül is ganglionmentességet mutat a disztális colorectumban, és ami alkalmas lehet idegi őssejtek béltranszplantációs modellezésére embryomanipulációs kísérletekben. Az embryomanipulációs és in vitro kísérleteket madárembryon végeztük, ami a fejlődéstan klasszikus modellszervezete, és amiben az ENS fejlődése, morfológiája hasonlít az emlősökére.

Módszer: 2 napos csirke embryoból explantált velőcsöveket 12 órán keresztül CSPG (25mikrg/ml) és fibronektin (20 mikrg/ml) felületén tenyésztettünk (n=20). Ezt követően, 0,2 ml CSPG-t injektáltuk a cervicalis szomiták és a velőcső közé az előzetesen steril tussal láthatóvá tett embryokban. Az injektált embryokat 6, illetve 8 napig inkubáltuk, majd immuncitokémiai festéseket alkalmaztunk.

Eredmények: Az in vitro eredmények szerint a CSPG a korai dúclécsejt vándorlást gátolta, ellentétben a fibronektinnel, ahol intenzív sejtmigrációt figyeltünk meg. A CSPG-vel injektált 2 napos csirke embryok inkubálás utáni túlélési aránya közel 50%-os volt. A CSPG kezelt embryok sagittális metszetén végzett immunjelölések szerint az ENCC-k kolonizációs képessége lecsökkent, a distális colon ganglionmentességet mutatott. Feltételezzük, hogy a CSPG in vivo is gátolja az ENCC-k migrációját.

Következtetések: In vitro és in vivo kísérletekkel igazoltuk a CSPG sejtvándorlásra kifejtett gátló hatását. Az ENS kialakulásának CSPG-vel történő gátlása lehetőséget nyújt a HD-t kiváltó sejtes és ECM eredetű folyamatok embryonális tanulmányozására, illetve további ECM molekulák sejtmigrációra kifejtett hatásának in vivo vizsgálatára.

P-14

Investigating the role of RYBP in mesoderm formation and axial elongation of gastruloids in vitro

Lilla Kókity (1,2), Zsolt Czimmerer (1), Gábor Steinbach (3), Zoltán Lipinszki (4,5), Melinda K. Pirity (1)

(1) Institute of Genetics, Biological Research Centre, Hungarian Research Network, Szeged, (2)Doctoral School in Biology, Faculty of Science and Informatics, University of Szeged, Szeged (3)Cellular Imaging Laboratory, Core Facility, Biological Research Centre, Hungarian Research Network, Szeged (4) Synthetic and Systems Biology Unit, Institute of Biochemistry, Biological Research Centre, Hungarian Research Network, Szeged, (5)National Laboratory for Biotechnology, Institute of Genetics, Biological Research Centre, Hungarian Research Network, Szeged

Early embryonic gastrulation is a complex process where undifferentiated cells lose their pluripotency and start to form the three germ layers. This process is regulated by transcription factors and epigenetic regulators, including non-canonical polycomb repressive complex 1s (ncPRC1s). Previously, we reported that ncPRC1-member RYBP (RING1 and YY1 binding protein) is crucial for embryonic implantation and cardiac lineage commitment in mice. However, the role of RYBP in gastrulation and mesoderm formation has not yet been defined. In this study, we used 3D in vitro model systems, to analyze the role of RYBP in mesoderm formation. In the absence of RYBP, the formation of major germ layers was disrupted, and the expression of mesoderm (Brachyury, Eomes, and Gsc) and endoderm (Sox17, Gata4) genes was significantly downregulated, while the ectoderm (Map2, Fgf5) genes were increased. We showed that RYBP can co-localize with mesoderm marker BRACHYURY and endoderm marker GATA4 in wt embryonic bodies (EBs). In the same system Rybp-/- EBs exhibit low BRACHYURY and GATA4 levels and showed altered distribution. By analysing wt and Rybp-/- gastruloids we demonstrated that RYBP is also important for axial elongation. In the absence of RYBP, gastruloids exhibited shortened tails and low BRACHYURY levels in the tailbud. Finally, we identified BRACHYURY as a novel binding partner of RYBP which suggests cooperative function of the two proteins. Together, our results demonstrate the previously unknown role of RYBP in mesoderm formation and axial elongation. We believe our findings will contribute to better understanding of the highly conserved process of gastrulation.

P-15

Complex regulation of the nuclear import of Moesin, a cytoplasmic protein

Zoltán Kovács(1,2) , Csaba Bajusz(1) , Ildikó Kristó(1) , Péter Borkúti(1) , Anikó Szabó(1) , Réka Benke(1) , Péter Vilmos(1)

(1) HUN REN, Biological Research Centre, Szeged, Hungary
(2) Doctoral School of Multidisciplinary Medical Science, University of Szeged, Szeged, Hungary

The ERM protein family, which in vertebrates consists of three very similar proteins, ezrin, radixin and moesin (ERM), is an ancient and important group of cytoplasmic actin-binding and organizing proteins. The classical cytoplasmic function of the ERM proteins is the crosslinking of the actin cytoskeleton to integral proteins of the plasma membrane, therefore anchoring the microfilament network. We have previously shown, that moesin, the only ERM protein of Drosophila melanogaster, in addition to its cytoplasmic activity, is also present in the nucleus, where it is directly involved in gene expression and mRNA export. To better understand the nuclear activity of moesin, we studied the mechanism of its nuclear transport. In our work, we investigated the dynamics and the mechanism of the nuclear import of moesin, managed to identify a nuclear localization signal (NLS) in the protein, and found, that the preferred form for nuclear entry is the monomeric form in closed-conformation. Finally, we were able to prove that, in addition to phosphorylation, cytoplasmic retention also plays a role in regulating the nuclear amount of the protein, and that this is facilitated by a cytoplasmic retention signal (CRS), found on the FERM domain of moesin.

P-16

Moesin contributes to heat shock gene response through direct binding the Med15 subunit of the Mediator complex in the nucleus

Ildikó Kristó(1), Zoltán Kovács(1), Anikó Szabó(1), Péter Borkúti(1), Alexandra Gráf(2), Ádám Tamás Sánta(2, 3, 4), Aladár Pettkó-Szandtner(5), Edit Ábrahám(6, 7), Viktor Honti(1), Zoltán Lipinszki(6, 7), Péter Vilmos(1)

(1) Institute of Genetics, HUN-REN Biological Research Centre, Szeged, Hungary
(2) HCEMM-BRC Mutagenesis and Carcinogenesis Research Group, Institute of Genetics, HUN-REN Biological Research Centre, Szeged, Hungary
(3) Doctoral School of Biology, Faculty of Science and Informatics, University of Szeged, Szeged, Hungary
(4) Delta Bio 2000 Ltd., 6726 Szeged, Hungary
(5) Proteomics Laboratory, HUN-REN Biological Research Centre, Szeged, Hungary
(6) MTA SZBK Lendület Laboratory of Cell Cycle Regulation, Synthetic and Systems Biology Unit, Institute of Biochemistry, HUN-REN Biological Research Centre, Szeged, Hungary
(7) National Laboratory for Biotechnology, Institute of Genetics, HUN-REN Biological Research Centre, Szeged, Hungary

The members of the evolutionary conserved actin-binding ERM (Ezrin, Radixin and Moesin) protein family are involved in numerous key cellular processes in the cytoplasm. In the last decades, ERM proteins, like actin and other cytoskeletal components, have also been shown to be functional components of the nucleus, however, the molecular mechanism behind their nuclear activities remained unclear. Therefore, our primary aim was to identify the nuclear protein interactome of the single Drosophila ERM protein, Moesin. We demonstrate that Moesin directly interacts with the Mediator complex through direct binding to its Med15 subunit, and the presence of Moesin at the regulatory regions of the Hsp70Ab heat shock gene was found to be Med15-dependent. Both Moesin and Med15 bind to Heat Shock Factor (Hsf), and they are required for proper Hsp gene expression under physiological conditions. Moreover, we confirmed that Moesin, Med15 and Hsf are able to bind the monomeric form of actin and together they form a complex in the nucleus. These results elucidate a mechanism by which ERMs function within the nucleus. Finally, we present the direct interaction of the human orthologues of Drosophila Moesin and Med15, which highlights the evolutionary significance of our finding.

P-17

Az ECM átépülésének szerepe a krónikus bélgyulladás során colitis ulcerosa betegségben

Mógor Fruzsina(1), Lőrincz Bence(1), Dóra Dávid(1)

(1) Semmelweis Egyetem Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet 1094 Budapest Tűzoltó utca 58.

A colitis ulcerosa betegséget tartós bélgyulladás és szövetkárosodás jellemzi. Az utóbbi években számos tanulmány rávilágított az extracelluláris mátrix (ECM) átépülésének kritikus szerepére a gyulladás fenntartásában. Kutatásunk során két ECM molekula, a dekorin és a biglikán szerepére fókuszálunk. Ezen molekulákról ismert, hogy a lebontásuk során keletkező molekula darabok gyulladási faktorokként az immunsejtek TLR2 és TLR4 receptorait aktiválják, ezzel fenntartva a gyulladást.
Colitis ulcerosa egérmodellben (DSS modell), a teljes bélszövetből származó mRNS alapján (QPCR) mind a dekorin, mind a biglikán szintje megnőtt a kontrollhoz képest. Első célunk az expressziós többlet forrásának a megtalálása volt, a dekorint és biglikánt termelő sejttípusokat azonosításával a vastagbélben.
Ehhez A DSS-szel kezelt egér vastagbél szövetén immunhisztokémia (IHC), RNAscope, valamint egysejt RNS szekvenálási adatok (SC-RNAseq) analízisét végeztük.
Az SC-RNAseq adatok analízise alapján a dekorin és biglikán termeléséért javarészt a fibroblasztok felelősek. Ahogy az ezeket bontó MMP2 mátrix-metaloproteináz, valamint az MMP2-t gátló TIMP1 enzim termeléséért is. Ebből is látszik, hogy az ECM átépülése jelentős részben a fibroblasztok feladata a vastagbélben. Azonban felmerül a kérdés, hogy milyen környezeti faktorok, illetve sejtközötti kommunikáció indítja el a fibroblasztokat az ECM bontás irányába?
A krónikusan gyulladt környezet különböző aspektusait modellezendő in vitro béltenyészeten oxidatív stresszt (paraquat-dihidrokloriddal), valamint hipoxiát (CoCl2 hozzáadásával) idéztünk elő. Mindkét kezelés hatására megnövekedett a fibroblasztok száma lamina mucosa rétegben.
A SC-RNAseq adatokon végzett CellChat analízis alkalmazásával receptor és ligand sejtspecifikus expresszióit vizsgáltam. A DSS kezelés hatására felerősödött a gyulladásban fontos szerepet játszó TGFb szignalizáció a fibroblasztok felé. Szintén felerősödött a fibronektin1 (FN1) szignalizáció, melynek névadó glikoproteinje a STRING adatbázis alapján közvetlen kapcsolatban van a dekorinnal illetve biglikánnal.
Összefoglalva a krónikus gyulladás fenntartásáért felelős DAMPok közé tartozó ECM -molekulákat, a dekorint és a biglikánt a fibroblasztok termelik, illetve bontják le a vastagbélben. A fibroblasztok számát a gyulladás következtében kialakuló oxidatív stressz és hipoxia növeli a bél lamina mucosa rétegében. A fibroblasztok gyulladásra adott válaszát a TGFb illetve a FN1 szignalizáció modulálja.

P-18

A terhesség alatti dohányzás hatása a koraszülött retinopátiára

Molitor Dorottya(1), Váczy Alexandra(1), Szabó Edina(1), Patkó Evelin(1), Mérész Balázs(1), Reglődi Dóra(1), Atlasz Tamás(1,2)

(1) Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai Intézet
(2) Pécsi Tudományegyetem, Természttudományi Kar, Sportbiológia Tanszék

Bevezetés: A fejlett neonatális ellátásnak köszönhetően nő a koraszülöttek életben maradási esélye, ugyanakkor számolnunk kell a társuló betegségek egyre növekvő számával is. Ilyen betegség a koraszülött retinopátia (ROP), ami a gyerekkori látáskárosodások vezető oka. Az oxigén indukálta retinopátia (OIR), a ROP jól bevált állatmodellje, ami vaszkuláris területek károsodását (avaszkularizáció), illetve érújdonképződést (neovaszkularizáció) eredményez. Ismert, hogy a koraszülések kiváltó oka gyakran több faktor összhatásának eredménye, köztük a terhesség alatti dohányzás. Jelenleg kevés adat áll rendelkezésre a prenatális dohányzás látórendszerre kifejtett hatásáról. Célunk különböző módszerekkel vizsgálni a terhesség alatti dohányzás hatását ROP állatmodellen.
Anyagok és módszerek: Kutatásunkhoz pigmentált C57BL/6 egértörzset alkalmaztunk. A vemhes anyák a szülésig napi kétszer, 30 percig dohányoztak. Az egereket a születésük után (PD) a hetediktől a tizenkettedik napig 75%-os oxigénen inkubátorban tartottuk, majd ezt követően 21% normoxiára kerültek. PD17 napon az egereket túlaltattuk, retinájukat izoláltuk különböző hisztológiai és biokémiai vizsgálat céljából. A minták egy részén a teljes retinális érhálózatot Isolectin GS-IB4 festéssel jelöltük, másik felét VEGF, HIF1-α, iNOS és pErk antitestek detektálásához és méréséhez használtuk fel western blot analízis alkalmazásával.
Eredmények: A retina érhálózatának szoftveres vizsgálatával számos paraméter (úgy, mint a teljes érhossz, érsűrűség, elágazási index, csomópontok száma), illetve a western blot vizsgálattal mért fehérjeexpressziók is kvantitatív változást mutattak. Két elsődleges angiogén faktor, a HIF-1α és a VEGF emelkedett szintet mutatott a maternális dohányzásnak kitett állatok retinájában, szemben a csak ROP által érintett mintákhoz képest.
Következtetések: Eredményeink alapján kimutattuk, hogy az anyai dohányzás nagyobb mértékű retinakárosodást okozott a ROP-ban, így e betegség megelőzése és szűrése alapvető fontosságúnak tekinthető a koraszülöttek ellátásában.

P-19

KDM4-dependent DNA breaks at active promoters facilitate +1 nucleosome eviction

Péter Nánási Jr.1*, László Imre1*, István Szatmári2, Endre Kókai3, Caroline A. Austin4, Lóránt Székvölgyi5, Kristian Helin6, Viktor Dombrádi3
and Gábor Szabó1

1Department of Biophysics and Cell Biology, 2Department of Biochemistry and Molecular Biology, 3Department of Medical Chemistry, Faculty of Medicine, University of Debrecen; 4Newcastle University, UK; 5Department of Molecular and Nanopharmaceutical, University of Debrecen, Faculty of Pharmacy; 6Biotech Research and Innovation Centre (BRIC), University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark

When the effect of various posttranslational histone tail modifications (PTMs) on nucleosome stability was compared in an in situ assay involving agarose-embedded nuclei, the promoter proximal H3K4me3, H3K27ac and H4K8ac positive nucleosomes exhibited relative sensitivity to intercalators as compared to bulk H3-GFP or nucleosomes carrying any of the following marks: H3K27me1, H3K27me2, H3K27me3, H3K9me1, H3K9me2, H3K9me3, H3K36me3, H3K4me0, H3K4me1, H3K4me2, H3K9ac, and H3K14ac. Nickase or DNase I treatment of the nuclei, or bleomycin treatment of live cells, did not affect the stability
of nucleosomes carrying H3K4me3 or H3K27ac, while those of the second group were destabilized upon treatment with intercalators. These observations support the possibility that the promoter proximal marks
specify dynamic nucleosomes accomodating relaxed DNA sequences due to ss DNA breaks, nicks, generated in vivo. In line with this interpretation, endogeneous, 3'OH nicks were mapped within the nucleosome free region of promoters controlling genes active in human mononuclear cells, a conclusion supported by superresolution co-localization studies. The chromatin regions harboring nicks are topologically separated from the domains containing superhelical chromatin, in support of a model where the role of nicks in transcriptional regulation and in higher-order chromatin organization are integrated. Although a significant fraction of the DNA breaks comprises TOP2-generated nicks according to the results of molecular combing experiments, the destabilized nature of the +1 nucleosomes was maintained in Top2b KO cells. On the other hand, the +1 nucleosomes were stabilized and the incidence of nicks was decreased at the promoters upon KDM4a,b,c KO induction (Pedersen et al, EMBO J, 2016) in mouse embryonic stem (mES) cells. While etoposide did not further destabilize +1 nucleosomes in control mES, their stabilized state in the KO state was reversed by the drug, suggesting the involvement of both KDM4 and Top2b in nick generation.

P-20

Az autofágia különböző lépéseinek hatása tumorfejlődésre

Neuhauser Natali Julianna (1); Takáts Szabolcs (1)

(1) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék

Az autofágia során a sejt felesleges anyagai kettős membránnal határolt vezikulákba, autofagoszómákba csomagolódnak, amelyek később lizoszómákkal fuzionálnak. Az így létrejövő autolizoszómákban az odaszállított anyag lebomlik, a felszabaduló szerves monomerek pedig újrahasznosulnak. Az autofágia tehát alapvetően egy lebontó folyamatként ismert, amely fontos a sejtek egészséges működéséhez és jelentős a szereppel bír a tumorok növekedésében is. Korábban már ismert volt, hogy az autofagoszóma képződésben részt vevő gének, például az Atg13 elvesztése gátolja a tumor növekedését, ugyanakkor az autofágia későbbi lépéseinek a tumorfejlődésre gyakorolt hatása még mindig kevéssé tisztázott. Kutatásunk során Drosophila tumor modellben megvizsgáltuk, hogy az autofagoszóma-lizoszóma fúziót segítő HOPS pányvázó komplex egyes alegységeinek hiánya milyen hatással lehet a tumorok méretére. Meglepő módon azt tapasztaltuk, hogy a Vps39 alegység hiánya, bár meggátolta az autofág lebontást, mégsem zavarta meg a tumor növekedését, amely felveti annak lehetőségét, hogy az autofágiának nem a lebontó funkciója lehet szükséges a tumorok növekedéséhez. Az autofágia működése szorosan összefügg a másik fő lizoszómális membrántranszport útvonallal az endocitózissal. Érdekes módon a HOPS pányvázó komplex egy másik alegységének a – korai endocitózisban szereplő CORVET pányvázó komplexben is résztvevő – Vps16A-nak a tumorsejt specifikus hiánya ismét a tumorok kis méretét eredményezte. A két komplex tumorfejlődésben való érintettségét tovább vizsgálva, azt tapasztaltuk, hogy a HOPS és a CORVET kettős hiánya lecsökkentette a tumorok méretét, amely összefügghetett az apoptózis fokozódásával. Ezzel párhuzamosan megállapítottuk, hogy a HOPS és a CORVET együttes hiánya következtében kóros korai endoszómák halmozódtak fel, amely – vélhetően a sejthalált szabályozó jelátviteli folyamatok, például a TNFα-JNK fokozott működésén keresztül – kiváltó oka lehet a megnövekedett apoptózisnak. Összességében tehát kimutattuk, hogy az autofágia mind az autofagoszómák képződésén, mind pedig az endolizoszómális membránforgalommal való kölcsönhatásán keresztül fontos szerepet játszik a tumor növekedésében. Ugyanakkor eredményeink alapján ehhez az autofágia kanonikus, lebontó funkciója nem szükséges, amely új megvilágításba helyezi az autofágiának a rákos folyamatokban betöltött szerepét.

P-21

CAMKIIα-GFP egértörzs, egy új lehetőség a hippokampális neuronok mikroszkópos és elektrofiziológiai vizsgálatára

Puskás Júlia(1), Tagsherer-Micska Brigitta(1), Kwakowsky Andrea(3,4), Szűcs Attila(1), Rátkai Anikó(1), Környei Zsuzsanna(2), Szabó Gábor(3), Schlett Katalin(1), Tárnok Krisztián(1)

(1) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Élettani és Neurobiológiai Tanszék, Budapest;
(2) Neuroimmunológia Kutatócsoport, HUN-REN Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest;
(3) Orvosi Géntechnológiai Részleg, HUN-REN Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Budapest;
(4) Pharmacology and Therapeutics, School of Medicine, Galway Neuroscience Centre, University of Galway, Galway, Ireland

A CaMKIIα-GFP egértörzsben a zöld fluoreszcens fehérje (GFP) a CamKIIα promóter irányítása alatt sejtspecifikusan fejeződik ki (Wang et al., 2013). Jelen projektben részletesen elemeztük az endogén CamKIIα gén és a CaMKIIα-GFP transzgén expresszióját a fejlődő embrionális egér agyban, és megvizsgáltuk, hogy a GFP hosszú távú expressziója befolyásolja-e a neuronok sejtmorfológiáját és elektrofiziológiai tulajdonságait a hippokampusz organotípusos szeletkultúrákban és a disszociált neuronális tenyészetekben. Felnőtt állatokban viselkedéstesztet is végeztük, hogy felmérjük, a genetikai módosítás okoz-e változásokat a viselkedés szintjén.
Eredményeink azt mutatják, hogy a GFP már az idegrendszeri fejlődés korai embrionális szakaszától kezdve expresszálódik, mennyisége a születés utáni harmadik hétig növekszik, majd onnantól stabilan van jelen az idegrendszerben. A legjelentősebb GFP expresszió a fejlődő nagyagykéregben és a hippokampális formációban – különösen a gyrus dentatus és CA1 régiókban - figyelhető meg. Részletes in vitro elemzésekből kiderült, hogy a GFP expresszió szelektíven a piramissejteket jelölte meg; glutaminsav dekarboxiláz (GAD65/67) – GFP kettős pozitív sejteket nem találtunk. A kontroll (CD1) egértörzsből származó tenyészetekkel összehasonlítva, a pre- és posztszinaptikus markerek jelenléte nem különbözött. Ezen túlmenően a passzív és aktív membrántulajdonságok patch clamppel történt meghatározása és elemzése a kontrollhoz hasonló elektrofiziológiai tulajdonságokat mutatott.
Az elvégzett viselkedéstesztek eredményeiből kiderült, hogy a genetikai módosítás nem befolyásolja az állatok viselkedését. A nyílt tér teszttel vizsgálva, a transzgén állatokban változatlan a spontán explorációs aktivitás, nem mutatnak megnövekedett szorongásra utaló jelet. Az új tárgy felismerési teszt eredményei pedig arra utalnak, hogy a felnőtt állatok tanulási- és memóriafunkcióira sincs szignifikáns hatása a transzgén jelenlétének.
Eredményeink szerint a CaMKIIα-GFP transzgenikus egértörzs hasznos új eszközként szolgálhat a piramissejtek jelölésére azok további elektrofiziológiai vagy anatómiai vizsgálataihoz.
Támogatta a NAP program (2017-1.2.1-NKP-2017-00002) és az NKFIH (VEKOP-2.3.3-15-2016-00007).

P-22

A szindekán-4 szerepe humán rhabdomioszarkómában

Szabó Dóra Julianna(1), Szabó Kitti(1), Tóth Enikő(1), Xue Xiao(2), Ning Liu(2), Keller-Pintér Anikó(1)

(1)Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Biokémiai Intézet
(2)Quantitative Biomedical Research Center, Department of Population and Data Sciences, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Texas, USA

A rhabdomioszarkóma (RMS) a leggyakoribb szarkóma gyermek- és fiatalkorban, amit az izomsejtek differenciálódásának zavara jellemez. Elkülöníthetjük a PAX3/PAX7-FOXO1 fúziós fehérjét tartalmazó fúzió pozitív RMS-át (FPRMS), és a pontmutációkat tartalmazó, fúzió negatív (FNRMS) csoportot. A szindekán-4 (SDC4), heparán-szulfát proteoglikán (HSPG) hiánya a Rac1-GTP-áz aktivitását fokozza, illetve a SDC4 Ser179 foszforilációja is modulálja a Rac1 aktivációját. A trastuzumab a HER2 receptort gátló humanizált rekombináns monoklonális antitest, amely csökkenti a SDC4 expresszióját anoikis rezisztens endothel sejtekben.
Célunk volt a SDC4 szerepének meghatározása FNRMS-ben, illetve a Rac1 aktivitásmintázat vizsgálata különböző sejtvonalakban. Mivel kimutatták a SDC4 jelentőségét tumorprogresszióban, kíváncsiak voltunk a SDC4 és más heparán-szulfát proteoglikánok kópiaszám eltéréseire és mRNS expressziójára. Továbbá szerettük volna megfigyelni a trastuzumab terápia hatásait a SDC4-et ismerten magasan expresszáló RD tumorsejtekre (FNRMS).
Humán rabdomioszarkóma mintákban (n=199) a SDC családtagok, perlekán, glipikán-1 (GPC1) és agrin genomiális és mRNS adatait elemeztük. Ezek közül génamplifikációt és emelkedett mRNS expressziót a SDC1, SDC2, SDC4 és GPC1 esetén tapasztaltunk a FNRMS csoportban. Megvizsgáltuk C2C12 mioblasztokban, differenciáltatott miotubulusokban és RD sejtekben a Rac1-GTP, valamint a SDC4 és foszfo-SDC4 expresszió változását. A differenciált miotubulusokban a mioblasztokhoz képest csökkent SDC4 expresszió kíséretében megemelkedett a Rac1-GTP szintje, viszont az RD sejtekben megfigyelt magas Rac1 aktivitás magas SDC4 expresszióval társult. A foszfo-SDC4/SDC4 hányados szignifikánsan kisebb az RD sejtekben a mioblasztokhoz képest. Az RD sejteket 20 mg/ml trastuzumabbal kezeltük, amely hatására csökkent a SDC4 expressziója, valamint csökkentette a G1/S ellenőrzési pontot reguláló CiklinE és CiklinD1 expresszióját.
Eredményeink alapján a SDC4 mellett, más HSPG-ok is szerepet játszhatnak a FNRMS kialakulásában. Az RD sejtek megemelkedett Rac1 aktivitásának hátterében a SDC4 csökkent foszforilációja állhat. A trastuzumab-mediált SDC4, CiklinE és CiklinD1 expressziócsökkenés terápiás jelentőséggel bírhat.

Támogatás: NKFI-FK-134684, TKP2021-EGA-28, SZTE Interdiszciplináris Kutatásfejlesztési és Innovációs Kiválósági Központ és a Nemzeti Tudosképző Akadémia támogatta az Innovációs és Technológiai Minisztérium pénzügyi hozzájárulásával

P-23

Az Ykt6 SNARE fehérje szerepe a szekréciós granulumok szelektív lebontásában

Szenci Győző(1), Glatz Gábor(1), Rubics András(1), Takáts Szabolcs(1) , Juhász Gábor(1,2)

(1) Eötvös Loránd Tudományegyetem, Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék
(2) HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet

Az ecetmuslica lárvális nyálmirigy sejtek glue ragasztófehérjéket termelnek, amelyek kiürülve a bábok szilárd felülethez való kitapadását biztosítják. A glue fehérjék szekréciós granulumokba csomagolódnak, amelyek egy összetett érési folyamaton keresztülhaladva nyerik el az exocitózisra való képességüket. A lizoszomális rendszer kulcsfontosságú szerepet játszik a szabályozott szekréciós útvonal szabályozásában: a savas lizoszómák az éretlen szekréciós granulumokkal egyesülve elősegítik azok érését, lebontó enzimeik révén pedig a sérült vagy exocitózisra nem került granulumok szelektív lebontását képesek az autofágia mirigysejt specifikus útvonala, a krinofágia által közvetíteni. A sejten belüli membrán fúziós folyamatok során a SNARE fehérjék α-helikális SNARE motívumai egymás köré csavarodva egy transz-SNARE komplexet képeznek, elősegítve a membránok végső egyesülését. A kanonikus autofágia során az autofagoszómák és lizoszómák fúziójához a Syntaxin17-Snap-29-Vamp7 komplex szükséges, később azonban az Ykt6 szabályozó szerepére is fény derült. A krinofág szekréciós granulum-lizoszóma fúzió összetételében egy ehhez hasonló Syntaxin13-Snap-29-Vamp7 komplexre támaszkodik. E két folyamat szabályozásának hasonlósága alapján munkánk során az Ykt6 krinofágiában betöltött lehetséges szerepének vizsgálatát tűztük ki célként.
Vizsgálataink során megfigyeltük, hogy az Ykt6 a konvencionális Vamp7 SNARE fehérjéhez hasonlóan szükséges a krinofág lebontáshoz, a granulumok érését kísérő savasodásban azonban nélkülözhetőnek bizonyult. Továbbá kimutattuk, hogy az Ykt6 elsősorban a kisméretű Lamp1-szállító vezikulák felszínén helyezkedik el és ezek szekréciós granulumokkal való egyesülését képes szabályozni, míg a Vamp7 fehérje a Lamp1-pozitív és Arl8-pozitív lizoszómák granulumokkal való fúziójához egyaránt szükséges. Eredményeink alapján tehát a lizoszomális heterogenitás kulcsfontosságú szabályozó szereppel bír a szekrétum mennyiségének és minőségének ellenőrzésében: az érésben levő szekréciós granulumok először Vamp7-közvetített módon Arl8-pozitív lizoszómákkal egyesülnek, utat nyitva a későbbi, a Vamp7 mellett már az Ykt6 részvételével végbemenő Lamp1-pozitív lizoszómákkal való fúzióknak.

P-24

The role of dHip14 and Patsas palmitoyl-transferases in lysosomal function and the development of neurodegenerative diseases

Zsombor Szőke1 , Győző Szenci1 , Szabolcs Takáts 1 , Gábor Juhász 1,2

1 Eötvös Loránd University, Dept of Anatomy, Cell and Developmental Biology, Budapest, Hungary 2 Biological Research Centre, Institute of Genetics, Szeged, Hungary

Palmitoylation acts as a molecular switch to regulate proteins' – primarily regulators of signal transduction and membrane transport processes – stability, intracellular transport and localization in the cell. Accordingly, altered palmitoylation is implicated in the development of many diseases (e.g. cancer and neurodegenerative diseases). The covalent attachment of an activated palmitic acid to the substrate proteins is catalysed by palmitoyl-aycltransferases (PAT) comprising a DHHC (Asp-His-His-Cys) central motif. Among these, the HIP14 and HIP14L are unique due to their molecular structure. Both of them have an N-terminal substrate-interacting ankyrin domain. ANK PATs are localized to the Golgi apparatus where they regulate the anterograde protein sorting and are therefore key regulators of the secretory pathway. They also play a prominent role in the development of Huntington's disease. We aimed to study the role of the dHip14 and Patsas (the Drosophila orthologs of mammalian HIP14 and HIP14L) enzymes in the secretory cells of the larval salivary glands. The content of secretory granules is profoundly rearranged following the fusions with the endo-lysosomal compartment to prepare them for efficient exocytotic release. In the absence of ANK palmitoyl transferases, we observed a defect in lysosomal degradation and acidification. In addition,the post-Golgi (biosynthetic) transport and the maturation of Cathepsin-L lysosomal hydrolase were also hampered. In the absence of Patsas we have noticed a progressive decline in motor functions with age, accompanied by defective lysosomal functions in neurons in line with the salivary gland phenotypes. Altogether, the ANK palmitoyl transferases seem to be essential for proper lysosomal function pointing to a novel, but still not completely understood aspect of the pathogenesis of Huntington's disease.

P-25

Crosstalk of LKB1- and PKA-dependent signaling pathways in the regulation of hepatocyte polarity

Ágnes Telbisz, Petra Körmendi, László Homolya

Institute of Molecular Life Sciences, HUN-REN Research Centre for Natural Sciences, Budapest, Hungary

Cell polarization is an essential part of the development of a functional liver cell. The bile canaliculi begin to form on the apical side of two adjacent liver cells, then interconnect and develop into a canalicular network. The presence of a functional canalicular network is essential for most hepatic functions including bile secretion, cholesterol metabolism, detoxification, etc. Disruption of canalicular secretion can cause intrahepatic cholestasis by bile salt accumulation, which can lead to inflammation, fibrosis, or even liver failure. Hepatocyte polarization and its regulation are therefore of great medical importance. The key role of tumor-suppressor liver kinase B1 (LKB1) in hepatocyte polarization has long been known. Bile acids, such as taurocholate (TC), stimulate canalicular network formation via LKB1/AMPK-dependent signaling pathway. We have previously shown an essential role for LKB1 in the regulation of polarized trafficking of canalicular membrane proteins and have also revealed the existence of a collateral PKA-dependent signaling pathway. In the present work, we investigated whether PKA also influences canalicular network formation and whether there is a crosstalk between the two pathways. For this purpose, we monitored the in vitro repolarization process of the human hepatic model HepaRG cells and isolated rat primary hepatocytes by Western blot analysis and immunofluorescence microscopy. The cells were treated with TC, the cAMP-elevating agent forskolin, and the PKA activator 6-benzoyl-cAMP (6Bnz). Our results showed that specific activation of PKA stimulates canalicular network formation and demonstrated a crosstalk between the two signaling pathways: activation of PKA leads to phosphorylation of LKB1 and stimulation of downstream processes, such as development of bile canaliculi. LKB1 knockdown experiments clearly demonstrated the LKB1-dependence of this stimulation. Our results may help to understand the molecular mechanisms responsible for the pathogenesis of diseases involving hepatocyte polarity and thus help to identify novel therapeutic targets for the treatment of liver diseases.

P-26

Hőkezelés hatásának vizsgálata a primordiális őssejtek fagyasztására és a felolvasztás utáni markerek mintázatára

Tóth Arnold(1), Tóth Roland(1), Maria Teresa Salinas(1), Ecker András(1), Gócza Elen(1)

(1) MATE GBI Állatbiotechnológia Tanszék

A téma aktualitását az adja, hogy a baromfiágazat az élelmiszerlánc egyik kulcsfontosságú eleme, ám a globális klímaváltozás következtében emelkedő átlaghőmérsékletek jelentős hatással vannak a baromfitenyésztésre és a termelés hatékonyságára.
Vizsgálatunk célkitűzései a PGC vonalak génexpressziós változásának monitorozása mélyhűtés előtti és utáni állapotban, valamint a sejtvonalak mélyhűtésre való felkészítése hőkezelés alkalmazásával voltak. A kísérlet során Kendermagos Erdélyi Kopasznyakú embriókból izolált két hímivarú és két nőivarú ősivarsejt (PGC) vonallal dolgoztunk. Ezek a sejtvonalak újonnan lettek alapítva, és korábban még nem voltak mélyhűtve tárolva. Három vizsgálati csoportot hoztunk létre: abszolút kontroll, ahol a sejtvonalakat nem érte semmilyen kezelés; kontroll, ahol a sejtek 38°C-on, a hőkezelt csoporttal megegyező körülmények között voltak tartva; és hőkezelt csoport.
A hőkezelt csoport esetében a sejteket 3 órán át 42°C-on kezeltük. A tenyészetekből mintát tettünk el későbbi RNS expressziós vizsgálatokhoz közvetlenül a kezelések után, 48 óra elteltével, illetve 2 hét múlva is. Az összes sejtvonalat közvetlenül a kezeléseket követően mélyhűtöttük, és -150°C-on tároltuk. Az mintákból izolált RNS-ekből cDNS-t írtunk át, majd qPCR-rel elemeztük az expressziót őssejt specifikus (CVH, DAZL) és hősokkhoz kötődő (HSP70, HSP90, HSF1) gének esetében.
Eddigi eredményeink alapján elmondható, hogy a hőkezelés hatással volt a hősokkhoz kötődő gének expressziójára. A hőkezelés hatására a HSP70 expressziója szignifikánsan megemelkedett, illetve a HSP90 expressziója magasabb volt a kontroll tenyészetekben kapott értékekhez viszonyítva. A kezelést követő 48 óra elteltével már a kontroll mintákban kapott expressziós értékektől nem tértek el szignifikánsan az expressziós szintek a hőkezelt minták esetében.

A munkát az RRF-2.3.1-21-2022-00007 pályázat támogatta.

P-27

A BMP-induktor tiloron dihidroklorid antifibrotikus hatásának vizsgálata légúti fibroblasztokban

Tóth Enikő(1), Szabó Kitti(1), Vég Attila Gergely(2), Zvara Ágnes(3), Puskás László(3), Tiszlavicz László(4), Bach Ádám(5), Dux László(1), Rovó László(5), Keller-Pintér Anikó(1)

(1) SZTE SZAOK Biokémia Intézet
(2) MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biofizikai Intézet
(3) MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont Funkcionális Genomika Laboratórium
(4) SZTE Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Pathologiai Intézet
(5) SZTE Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika

A laryngeális fibrózis kialakulása a hosszan tartó intubálás súlyos szövődménye. A TGF-béta és a BMP jelátviteli útvonalai fontos szerepet játszanak az fibrotikus átépülésekben. A TGF-béta jól ismert profibrotikus molekula. Megnövekedett szintje felelős a fibroblasztok aktív fenotípusának kialakításáért, a fokozott migrációs képességért, valamint az alfa-SMA és egyéb fibrózis markerek expressziójának indukálásáért. A tiloron-dihidroklorid egy szintetikus, kis molekulatömegű vegyület, amelynek in vivo adagolása jelentősen mérsékelni tudta a tüdő- és szívfibrózist.

Kísérleteinkhez humán gégerezekcióból származó szövettani mintákat, valamint MRC5 humán légúti fibroblaszt sejtvonalat használtunk. Utóbbit 10 nM, 20 nM és 35 nM tiloronnal, illetve 5 ng/ml TGF-bétával kezeltük. Az mRNS expressziót qPCR technikával vizsgáltuk. A foszfo-Smad1/5/8 sejtmagi mennyiségét humán fibrotikus gégerezekátumokon és kontroll szövetmintákon is megvizsgáltuk. A foszfo-Smad1/5/8 sejtmagi aktivitását és az alfa-SMA expressziót fluoreszcens mikroszkópos felvételeken EpiSelector-szoftverrel mértük. Az in vitro kétdimenziós sejtmigrációs vizsgálatokat nagy áteresztőképességű élősejtes mikroszkópiával végeztük. A sorozatfelvételeken a sejtek random mozgását CellTracker képfeldolgozó programmal analizáltuk. A mátrix rugalmasságát atomerő-mikroszkópiával vizsgáltuk.

A tiloron képes fokozni a BMP jelátvitelben résztvevő BMP2, BMP4 és BMP14 molekulák mRNS szintjeit, valamint a pSMAD1/5/8 sejtmagi jelenlétét is szignifikánsan megemelte. A tiloron csökkentette a TGF-béta hatására indukálódott fokozott fibroblaszt migrációt és a TGF-béta okozta alfa-SMA expressziót, amely az aktivált fibroblasztok markere. qPCR eredményeink alapján a tiloron befolyásolta egyes mátrixkomponensek mennyiségét, csökkentette TGF-béta indukált kollagének és a fibronektin szintjeit, valamint helyreállította az extracelluláris mátrix rugalmasságát.

Eredményeink alapján a tiloron mérsékli a TGF-béta hatását légúti fibroblasztokban, mely új lehetőségeket nyithat a heges gégeszűkületek, gégefibrózis kezelésére.

Támogatások: TKP2021-EGA-28, NKFI FK 134684

P-28

Metformin- és sztatinhatás a vázizom glükózfelvételére

Dr. Tóth Éva (1,3), Dr. Trencsényi György (2), Prof. Dr. Lengyel Csaba (3), Dr. Keller-Pintér Anikó (1)

(1) SZTE SZAOK Biokémiai Intézet, Szeged, (2) DE ÁOK Nukleáris Medicina Tanszék, Debrecen, (3) SZTE SZAKK Belgyógyászati Klinika, Szeged

A világ egyik vezető halálokának számító diabétesz mellitusz (DM) napjaink egyre súlyosabb népegészségügyi problémáját jelentő komplex anyagcsere-betegsége. A kettes típusú cukorbetegség (2TDM) alapját képező inzulinrezisztenciában károsodik az inzulin jelátvitele. A glükóz a vázizomsejtekbe a GLUT4 glükóztranszporteren keresztül jut be inzulintól vagy AMP-aktiválta kináz (AMPK)-tól függő mechanizmuson keresztül. A 2TDM kezelésében a metformin érhető el, amely utóbbi fokozásával javítja a glükózfelvételt. Diszlipidémiás komorbiditás esetén az alacsony denzitású lipoprotein szintjének optimalizálására elsőként választandó gyógyszerek a sztatinok. Irodalomból ismert, hogy vázizomzatot érintő mellékhatásai mellett több ponton képesek gátolni a glükózfelvételt. A mellékhatások hátterében álló molekuláris mechanizmusok jelenleg sem ismertek, így célunk volt a sztatinkezelés, illetve a metformin és statin kombinációs kezelés cukorháztartásra gyakorolt molekuláris hatásainak vizsgálata.
Kísérleteinkhez L6 patkány mioblaszt sejteket alkalmaztunk. A sejteket a metformin mellett lipidoldékony atorvasztatinnal (10 µM, 24 óra) vagy vízoldékony rozuvasztatinnal (10 µM, 24 óra) kezeltük. A fehérjék expresszióját és foszforilációját Western-blottal vizsgáltuk és mértük a sejtek 2-[18F]fluoro-2-deoxi-β-D-glükóz (18FDG) felvételét.
Vizsgálati rendszerünkben az alkalmazott metformin koncentrációk megnövelték a foszfo-AMPK mennyiségét. Eredményeink azt mutatják, hogy a sejtek cukoranyagcseréjére a lipidoldékony atorvasztatinnak van erősebb hatása. A sejtek GLUT4 expresszióját az atorvasztatin csökkentette, melyet a metformin nem tudott kompenzálni. A rozuvasztatin kezelés viszont nem befolyásolta a GLUT4 expressziót. Mindkét sztatin szignifikánsan csökkentette a glükózfelvételt a kontroll sejtekhez képest, azonban a lipidoldékony atorvasztatin nagyobb mértékben. A terápiás dózisú metformin a jelen kísérleti elrendezésben nem tudta javítani a sztatinok hatására csökkent glükózfelvételt, ám a szuprafarmakológiás dózisú metformin az atorvasztatin esetében szignifikánsan javította azt.
Jelen alapkutatásbeli eredményeink kiemelt szereppel bírnak, hiszen a már klinikumban is széles körben alkalmazott gyógyszerek molekuláris hatásmechanizmusának minél pontosabb, részletesebb feltérképezése és egymásra való hatása a vázizomban hozzájárulhatnak a 2TDM-ban szenvedő betegek életminőségének és gyógyszerszedési compliancének javításához.

P-29

Sertés iPS tenyészetek kialakítása keszthelyi nagyfehér sertés fibroblaszt tenyészetek átprogramozásával

Urbán Martin1; Ecker András1; Tóth Roland1; Benedek Zsuzsanna2; Nagy Szabolcs Tamás2; Bodó Szilárd2; Gócza Elen1

1 MATE, Genetika és Biotechnológia Intézet
2 MATE, Állattenyésztési Tudományok Intézet

Mapanság egyre nagyobb kihívást jelent megfelelő modell állatok kiválasztása. Nagytestű haszonállatok méretükből adódóan, nehezen használhatók fel kutatásban, további nehézséget jelent a közvélemény nyomása, ami a kísérletekben felhasznált állatok létszámának csökkentését követeli. Ennek a problémának a megoldására szolgálhatnak a sejttenyészeti modellek, ezen belül is az indukált pluripotens őssejt tenyészetek. Előzetes kutatásaink során keszthelyi nagy fehér malacok jelölése során keletkezett füllcsipkékből hoztunk létre fibroblaszt tenyészeteket. Miután az így kialakított tenyészetek elérték a megfelelő sejtszámot, mélyhűtöttük a tenyészeteket.
Később ezekből a tenyészetekből olvasztottunk fel az átprogramozáshoz egy-egy fagyasztócsőnyi sejtet. A megfelelő sejtszám elérését követően ezekbe a sejtekbe juttattuk be a megfelelő vektorokat atNeon Elektroporátor készülék segítségével. Az elektroporálást egy hím és egy nőstény malacból származó fibroblaszt tenyészeten végeztük el, HyPbase, C3A-rtTA-adw-rbgpA és MKOS plazmidokat alkalmazva az átprogramozáshoz. Ezekkel együtt egy GFP riportergént tartalmaazó vektort is elektroporáltunk, hogy ellenőrizhessük az elektroporálás sikerességét. A sejteket KO-EM őssejt médiumban tartottuk,amit az elktroporálást követő második napon 1% Doxyciklinnel egészítettünk ki, hogy a MKOS vektorról elinduljon az átprogramozó faktorok expresszió ja. A médiumot 28 napon keresztül naponta cseréltük, illetve ellenőriztük a GFP expresszióját is. Több sejtcsoport expresszálta a GFP-t, és iPS szerű kolóniákat megjelenését is meg lehetett figyelni a tenyésztés során. A program végeztével mind a hím, mind a nőivarú tenyészeteket mélyhűtöttük.

Köszönetnyilvánítás:
A kutatás a TKP2020-NKA-24 és az RRF-2.3.1-21-2022-00007 pályázatok támogatásával valósulhatott meg.

P-30

Stem cell- and scaffold-based tissue engineering approaches for disease modelling

Ványi IM(1), Maczelka HN.(1,2), Orsolits B.(1), Sághi M.(3), Merkely BP.(1), Apáti Á.(2) és Földes G.(1)

(1) Heart and Vascular Center, Semmelweis University, Budapest, Hungary
(2) Institute of Molecular Life Sciences, HUN-REN Research Centre for Natural Sciences, Budapest, Hungary
(3) Department of Pathology and Experimental Cancer Research, Semmelweis University, Budapest, Hungary

Dilated cardiomyopathy represents the most prevalent form of cardiomyopathy. It is characterised by cardiac muscle weakness and enlargement, often initiated in the left ventricle. The majority of patients ultimately develop chronic heart failure and become eligible for a heart transplant or an assist device. The mortality rate is approximately 50% within five years.
Our research group chose to focus on patients with a mutation in the lamin A/C (LMNA) gene, which encodes intermediate filament proteins lamin A and lamin C. The mutation of the LMNA gene has been identified as a potential cause of dilated cardiomyopathy (DCM) in approximately 5-10% of cases. The precise mechanism by which lamin proteins in the nuclear membrane interact with the extracellular matrix remains unclear.
Tissue engineering facilitates our comprehension of the interrelationship between cells and extracellular matrices in terms of structure and function. In the present study, pathological and healthy human heart tissues (n=17) were employed for decellularization purposes, with a view to disease modelling. Our samples come from the Heart and Vascular Center's biobank. Decellularization protocol is designed to be sensitive and to avoid damaging the extracellular matrix, thereby ensuring suitability for subsequent recellularization. The protocol includes three cycles of freeze-thaw procedures with the digestion of DNase. The method permits a histological comparison between the healthy and disease-affected extracellular matrices. In addition to the conventional staining techniques of hematoxylin-eosin, Masson and Gömöri silver staining, the profile of several matrix proteins (fibronectin, collagen I and IV, elastin and laminin) was investigated by immunohistochemistry.
Following decellularization, the matrix is recellularized with human-induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells (hiPSC-ECs). The hiPSC-ECs were morphologically and functionally characterised by immunofluorescent staining for endothelial markers (VE-Cadherin, CD31 and von Willebrand factor). In addition to morphological characterisation, the use of hiPSC-ECs enables the detection of cellular function, viability, motility and proliferation.
This decellularized-recellularized matrix model provides a means of modelling the relationship between endothelial functions and DCM.

Keywords: dilated cardiomyopathy; endothelial cells; disease modelling; decellularization
Funding: RRF-2.3.1-21-2022-00003, TKP2021-EGA-23

P-31

Neuronális autofágia folyamatának vizsgálata az öregedés során humán fibroblasztokból direkt átprogramozott indukált neuronok segítségével

Roland Zsoldos(1), Chandramouli Muralidharan(2), Anna Anoir Abbas(1), Balázs Kis(1), Kinga Vörös(1), Ármin Sőth(1), Anikó Göblös(3), Jenny J. Johansson(2), Lajos Kemény(3), Johan Jakobsson(2), Karolina Pircs(1,2)

(1) HCEMM-Semmelweis Egyetem Neurobiológiai és Neurodegeneratív betegségek kutatócsoport, Budapest, Magyarország
(2) Molekuláris Neurogenetika kutatócsoport, Lundi Egyetem, Lund, Svédország
(3) HCEMM-Szegedi Tudományegyetem, Szeged, Magyarország

Az életkor előrehaladtával egyre gyakoribbak az agyműködésünk károsodását okozó neurodegeneratív betegségek (NDD), például az Alzheimer-kór (AD), a Huntington-kór (HD) és a Parkinson-kór (PD). Az öregedés hátterében álló molekuláris mechanizmusok és ezek szerepe az NDD-k kialakulása során még nem tisztázott. Az autofágia, ami egy a citoplazma homeosztázisát szabályozó kulcsfontosságú lebontó folyamat, fontos szerepet játszik az életkorral összefüggő NDD-kben. Projektünk célja, hogy humán dermális fibroblasztokból direkt átprogramozott neuronok segítségével tanulmányozzuk, hogyan befolyásolja az autofágia az idegsejtek egészséges és kóros öregedését. 63 fiatal és idős egészséges donoroktól származó fibroblasztokból átprogramozott indukált neuronokat (iN) fogunk vizsgálni, morfológiai szempontból (TAU-neuronális marker), illetve az autofágia folyamatának szempontjából, a folyamat különböző szakaszaiban fontos fehérjék (LC3, p62 és LAMP1) jelölésével és mennyiségük összehasonlításával. Előzetes eredményeink alapján, a direkt átprogramozással nyert iN-ok megtartják az a donor életkor specifikus jellemzőit. A DNS metiláció vizsgálatával meghatározott neuronális életkor (Horváth epigenetikai óra) erős korrelációt mutat a donor életkorával. 7 donorból származó RNS-minta tömegspektroszkópos vizsgálata alapján klaszterezni tudtunk autofágia géneket és fehérjéket életkor szerint. A találatok közül 31 gén és 18 fehérje expresszálódott különbözőképpen a fiatal és idős iN-ok között. Ezen előzetes eredmények arra utalnak, hogy az autofágia transzkripciós és poszttranszkripciós kontrollja az iN-ban az életkor előrehaladtával megváltozik. Továbbiakban vizsgáltuk az autofágia mechanizmusában bekövetkező, stressz (éheztetés) okozta változásokat. Az első eredmények alapján az autofágiában a stressz hatására kialakult folyamatok eltértek az egyes korcsoportokból előállított iN-okban. Ezen projekt lehetőséget nyújt a humán neuronális öregedés vizsgálatához, melynek során célunk az autofágia életkorfüggő változásainak feltárása és a későbbiekben ehhez kapcsolódó gyógyszercélpontok azonosítása NDD-ben szenvedő páciensek kezeléséhez.

P-32

Bowen-Conradi szindróma zebradánió betegségmodelljének jellemzése

Botyánszki-Farkas Helga Hajnalka [1], Kaszás Diána [1], Hamar Renáta [1], Pál Mónika [2], Varga Máté [1]

[1]: Eötvös Loránd Tudományegyetem, Genetikai Tanszék, Budapest, Magyarország
[2]: Babeș–Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Románia

Az EMG1 (Essential for Mitotic Growth 1) gén kódolt metiltranszferáz enzim fontos szerepet tölt be a 18S rRNS 1248-as pozíciójában található uridin hipermodifikációjában és ezáltal a riboszómák kis alegységének összeszerelésében.

Az EMG1 humán ortológjának c.257A>G pontmutációja a Bowen-Conradi szindrómát (BCS) eredményez, ami egy olyan autoszómális, recesszív betegség mely súlyos idegrendszeri rendellenességekkel jár. Jellemző még a betegségre a növekedési retardáció, ízületi fejlődési rendellenesség, mikrokefália és mikrognathia. A betegségben szenvedők átlag életkora 13 hónap, bár regisztráltak egy olyan esetet, ahol az érintett 10 évig élt. Ez a betegség az amerikai hutterita törzsben elterjedt, ahol minden 355. gyerek ezzel a betegséggel születik.

Az EMG1-nek megtalálható az ortológja az orvosbiológiai kutatások kedvelt modelljének, a zebradániónak (Danio rerio) a genomjában is. Ezt kihasználva, az ELTE Genetikai Tanszékén folytatott TDK munkám keretén belül létrehoztam és jellemeztem a BCS zebradánió betegségmodelljét. Munkám során az emg1 funkcióvesztés hatására bekövetkező fenotípusos és transzkriptom-szintű elváltozásokat összevetettem a laborunk által már korábban létrehozott, a sejtek pszeudouridilációjához kiemleten fontos dyskerin enzimet nélkülözp dkc1 mutánsokban tapasztaltakkal is.

P-33

Első- és második generációs antipszichotikumok hatásának vizsgálata humán indukált pluripotens őssejtekből származó neurális sejttenyészetekben

Botyánszki-Farkas Helga Hajnalka [1], Kaszás Diána [1], Hamar Renáta [1], Pál Mónika [2], Varga Máté [1] Farkas Kiara Gitta 1 2, Jezsó Bálint 1 3, Kálmán Sára 5, , Hathy Edit 1 5, Vincze Katalin 1 5, Kovács-Schoblocher Dzsenifer 1, Lilienberg Julianna 1, Tordai Csongor 1 5, Nemoda Zsófia 5, Homolya László 1, Apáti Ágota 1, Réthelyi János 5

1 Molekuláris Élettudományi Intézet, HUN-REN TTK
2 Semmelweis Egyetem Doktori Iskola
3 Biológia Doktori Iskola, Eötvös Loránd Tudományegyetem
4 Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Pszichiátriai Tanszék, Szegedi Tudományegyetem
5 Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinika, Semmelweis Egyetem

A felnőttkori neurogenezis egy életen át tartó folyamat. A humán agyban több neurogén régió található, ezek egyike a hippokampusz gyrus dentatus subgranuláris zónája. A hippokampális neurogenezis kulcsfontosságú többek között az emlékalkotásban és a mintaszeparációban. Ez a folyamat számos mentális betegség, például a skizofrénia és a depresszió esetében zavart szenvedhet. Egyes pszichiátriai gyógyszerek hatással lehetnek erre a folyamatra, akár elősegítve, akár gátolva az új idegsejtek kialakulását. Az indukált pluripotens őssejteken (iPSC-ken) alapuló modellek lehetőséget nyújtanak a neuropszichiátriai rendellenességek és a farmakológiai mechanizmusok sejtszintű vizsgálatára. Kutatásunk során az első generációs antipszichotikumok közé tartozó Haloperidol, valamint a második generációs Olanzapin és Risperidon hatását vizsgáltuk humán iPSC-kből létrehozott hippokampális glutamáterg szemcsesejt tenyészetekben. Eredményeink azt mutatják, hogy egyes szerek befolyásolják a neurogenezist, különösen a neuritképződést. Bár a génexpressziós vizsgálatok csak kismértékű változásokat mutattak ki a hagyományos neuronális markerek esetében, az antipszichotikumok által indukált fenotípusos változások arra utalnak, hogy ezek a gyógyszerek komplex módon modulálják a szemcsesejtek érését.

P-34

SDHB-deficiens pheochromocytoma/paraganglioma modellezése C. elegansban

Ősz Fanni[1], Farkas Zsolt[1], Szabó Nándor[1], Vellainé Takács Krisztina[1]

[1]Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Biológiai Intézet, Embertani Tanszék

A szukcinát-dehidrogenáz enzim B alegységének (SDHB) klinikailag releváns Arg230His missense, csíravonalbeli mutációja phaeochromocytoma, illetve paraganglioma (együtt: PPGL) kialakulásához vezethet, melyek ritka, neuroendokrin eredetű, örökletes tumoros megbetegedések. Csoportunk korábban létrehozta az SDHB fehérje klinikailag releváns Arg230His missense mutációjának fonálféreg megfelelőjét (Arg244His) hordozó *Caenorhabditis elegans* törzset és megkezdte a modell karakterizálását. Az Arg244His mutáció fonálféregben aberráns szukcinát-dehidrogenáz működést eredményez, melynek következtében az állatok sejtjeiben szukcinát halmozódik fel. Továbbá az Arg244His férgek Warburg-effektus szerű metabolizmussal, lassabb egyedfejlődéssel, rövidebb élethosszal és csökkent oxigénfogyasztással rendelkeznek (Saskői et al., 2020). További kutatásaink során kimutattuk, hogy az Arg244His mutáns állatokban a hipoxia útvonal aktiválódik, valamint megemelkedik a reaktív oxigéngyökök szintje.

CSR Biotech
Cell Seeking and Resolving | UNICAM

MI-SIM

See Cells Like Never Before

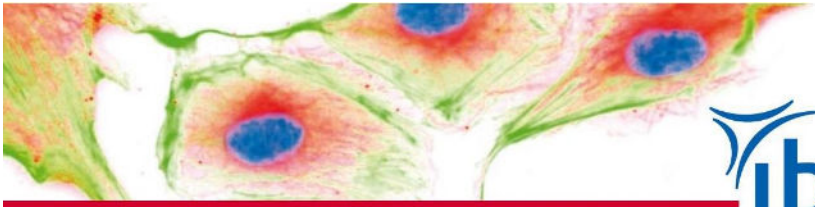
MI-SIM represents a comprehensive super-resolution microscopy solution for live cell imaging. This advanced technology was born from the collaborative efforts of an interdisciplinary team at Peking University, renowned for their groundbreaking work in biomedical imaging. As a tool of choice, MI-SIM offers exceptional capabilities for observing live cell dynamics with ultra-high spatial and temporal resolution.

Features

- Experience Real-time Structured Illumination Microscopy
- Achieve 60 nm Resolution for Unmatched Image Clarity
- Effortless Long-term Observation of Cell Dynamics
- Explore Versatility with 25 Advanced Imaging Modes
- Long-term Live-cell Tracking
- Large FOV Intelligent Stitching
- High Throughput Multi-site Imaging
- Ultrafast Multicolor Sequential Imaging, SYNER

Website

LinkedIn



ibidi®
cells in focus

Annyi well, amennyi csak kell!
ibidi Chambered Coverslips

Az ibidi µ-Slide sokoldalúan használható:

- sejttenyésztésre, élő sejtes vizsgálatokra
- immunfluoreszcens/ konfokális mikroszkópos vizsgálatokra
- nagy felbontású mikroszkópizálásra
- superresolution-ra

µ-Slide 8 Well^{high}
µ-Slide 18 Well*

POLYMER COVERSLIP

Mindennapos sejttenyésztés és fotózás

#1.5 ibidi polimer fedőlemez alj, szövettenyésztéshez kezelt (ibiTreat) és ECM bevonatokkal: optimális sejttapadás, üveggel azonos törésmutató és diszperzió, gázpermeábilis, közeli UV transzparens (pl DAPI), ragasztás nélküli gyártás

GLASS COVERSLIP

Speciális mikroszkópos alkalmazások

#1.5*H* ibidi üveg fedőlemez alj, ideális TIRF, STED/STORM, single molecule microscopy alkalmazásokra

55%

* 55%-kal költséghatékonyabb, mint a 8 mintahelyes tárgylemez

Fedezze fel innovatív megoldásainkat! ▶ ibidi.com

Használja a QR kódot ibidi termékminta igényléshez,

Live Cell Imaging • Migration Assays • Immunofluorescence
Cell Culture Under Flow • 3D Cell Culture • Angiogenesis Assay
• Chemotaxis Assay

megoldásokhoz.

További információ:
Zenon Bio Kft • info@zenonbio.hu • +36 62 424 290

ZENONBio

Global Technology.
Local **Solutions.**

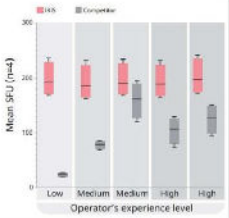
BIOMEDICA

Spot your next discovery with Biomedica & Mabtech

- Increase your understanding of immune responses
- FluoroSpot and ELISpot technology is used to quantify the secretion profile under physiological conditions
- Cells in suspension are added to the wells of a plate and the secreted proteins of each individual cell are captured by specific antibodies immediately after secretion and throughout the stimulation process.

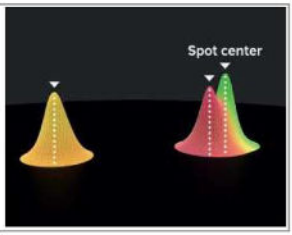
Fluorospot and ELISpot assays are best experienced with the Mabtech IRIS™ and Mabtech ASTOR™ readers

- Both readers are robust, have high throughput capabilities and are manufactured in Sweden
- Plug and play: Automated reader configuration and default analysis settings minimize user-defined subjective input and thus reduce bias of the operator
- User-friendly software: Easy to operate and train new users
- Multiplex ready: Up to 4 plex with Fluorospot
- CFR21 part 11 compliance



The secretion profile of every single cell

- By far the most striking feature of the readers is their novel spot-counting algorithm, RAWspot, which can identify spot centers with unseen accuracy
- The 3-dimensional model allows conclusions about the volume of each spot and provides a measurement for the amount of secreted analyte per cell, the relative spot volume (RSV).



Read once, adjust later

- Change count settings and experiment without affecting the originally captured RAW image data
- All signals from the spots are already recorded, so adjustments can be done off-line and you never have to re-read a plate

A new era of almost-too-easy!

Biomedica Hungaria Kft.
Hungária krt. 128-132.• 1143 Budapest • Hungary
T +36 1 225 38 50 • F +36 1 201 26 84 • office@bmgrp.hu • www.bmgrp.hu