



MAGE
Sejt- és
Fejlődésbiológiai
Tagozat

25. Sejt-, Össejt- és Fejlődésbiológiai Konferencia

Program- és Absztraktfüzet

2025. október 17.

Debreceni Egyetem
Általános Orvostudományi Kar
Élettudományi Központ

Szervezőbizottság:

*Matta Csaba, Hajdú Tibor, Juhász Krisztián,
Kovács Patrik, Takács Roland, Vágó Judit*

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

A konferencia támogatói

Fő támogatók



Kiemelt támogatók



További támogatók

Bentley Labor Kft.

Central European Biosystems Kft.

Sartorius Hungária Kft.

Kedves Kollégák!

Sok szeretettel köszöntjük a **25. Sejt-, Őssejt- és Fejlődésbiológiai Konferencia** résztvevőit.

A konferenciasorozat hagyományai egészen az 1990-es évek elejéig nyúlnak vissza, amelyet még Sejt- és Fejlődésbiológia Napok néven szervezett Prof. Módos László és Prof. Fésüs László Debrecenben. Az új számozással és kibővült témakörökkel, Sejt-, Őssejt- és Fejlődésbiológiai Konferencia néven 2017-ben ugyancsak Debrecenből indult útjára a jelenlegi rendezvénysorozat, amely idén ismét ebben a városban kerül megrendezésre.

A fejlődésbiológia, sejt- és őssejtbiológia területén az utóbbi években robbanásszerű fejlődésnek lehetünk szemtanúi. Az idei konferencia programja is ezt tükrözi, amelyben a makrofágok szerepétől kezdve a régóta alkalmazott gyógyszerek újrapozicionálásán át az embrionális fejlődés molekuláris szabályozásáig, továbbá pluripotens őssejtmodellek és regeneratív terápiák bemutatásáig számos aktuális és izgalmas téma szerepel. Kiemelt helyet kapnak továbbá az extracelluláris mátrix szerepének kutatásai, az idegrendszeri fejlődés és az organoid modellrendszerek alkalmazása is.

Konferenciánk hagyományosan lehetőséget biztosít a hazai kutatóközösség – különösen a fiatal kutatók – számára eredményeik bemutatására, interdiszciplináris tudományos párbeszédre és új együttműködések kialakítására. A konferencián való részvételével a fiatal generáció aktív szerepvállalása biztosítja a magyar sejt-, őssejt- és fejlődésbiológia jövőjét.

Célunk, hogy megőrizzük és folytassuk a magyarországi sejt- és őssejtkutatás hagyományait, gazdagítsuk ismereteinket a mikroszkópia és az embrionális kutatások legújabb eredményeivel, valamint elősegítsük az innovatív kutatási irányok és terápiás megközelítések fejlődését. Bízunk benne, hogy az itt elhangzó előadások és a személyes találkozások egyaránt hozzájárulnak a hazai kutatói közösség sikerességéhez.

A konferencia szervezői, a Magyar Genetikusok Egyesülete Sejt- és Fejlődésbiológiai Tagozat nevében sikeres és inspiráló szakmai munkát kívánunk minden résztvevőnek.

Debrecen, 2025. október 13.

Dr. Matta Csaba
a Szervezőbizottság elnöke

25. Sejt-, Össejt- és Fejlődésbiológiai Konferencia

09:00–10:00 **Regisztráció (DE Élettudományi Központ, 3. fészű)**

10:00–10:20 **Konferencia megnyitó:** Csernoch László (*DE Tudományos Rektorhelyettes*), Matta Csaba (*DE ÁOK, Debrecen*)

10:20–12:05 **Sejtbiológia, össejtbiológia I.**

Üléselnök: Szabó Gábor (*DE ÁOK, Debrecen*)

10:20–10:50 **Plenáris előadás:** Nagy László (*Johns Hopkins University School of Medicine, USA; DE ÁOK, Debrecen*)
A makrofág a szervezet svájci bicskája

10:50–11:05 **Oláh Attila** (*DE ÁOK, Debrecen*)
Régi gyógyszerek új trükkökkel: A fluoxetin bőrgyógyászati hatásainak vizsgálata

11:05–11:20 **Szőcs Emőke** (*SE ÁOK, Budapest*)
Enterális idegi össejtek transzplantációs hatékonyságának növelése kondroitin-szulfát proteoglikánok módosításával kísérletes Hirschsprung-kór modellben

11:20–11:35 **Kaczur Bettina** (*SE ÁOK, Budapest*)
30B6: egy új ősvarsejtspecifikus monoklonális ellenanyag karakterizálása

11:35–11:50 **Czimmerer Zsolt** (*HUN-REN SZBK, Szeged*)
Az IL-4 és IFN γ ellentétes makrofág polarizációs szignálok közti szinergisztikus kölcsönhatások transzkripciós és epigenetikai alapjai

11:50–12:05 **Wiener Zoltán** (*SE ÁOK, Budapest*)
A rossz túlélésű vastag- és végbélrák alcsoport modellezése betegekből származó organoidokkal

12:10–12:30 Villám előadások (Flash talks)

Üléselnök: Hajdú Tibor (*DE ÁOK, Debrecen*)

Előadók: Baráth Benjámin Regő, Hajdu Péter Béla, Maczelka Hédi
Nóra, Bakos Lilla Jázmin, Parthasakha Giri, Jurenka Csenge
Lili, Huber Emese, Geiszelhardt Eszter, Burján Tímea, Khloud
Gamal Abdelsalam

12:40–14:00 Ebédszünet és poszterszekció (13:00–14:00 között poszterek értékelése)

14:00–15:25 Sejtbiológia, őssejtbiológia II.

Üléselnök: Dinnyés András (*BioTalentum Kft, Gödöllő*)

14:00–14:30 **Plenáris előadás: Dinnyés András (*BioTalentum Kft.*)**
A humán pluripotens őssejt alapú modellek és regenerációs
terápia fejlesztések nemzetközi és hazai fejlődése és
kihívásai

14:30–14:45 **Gócza Elen (*MATE GBI, Gödöllő*)**
Fejlődés-specifikus mikroRNS-ek kimutatása és azonosítása
nyúlembriókból és tenyésztő-médiumukból: biomarker-
alapú megközelítés az embrióminőség értékeléséhez

14:45–15:00 **Ádám-Nagy Dorottya (*DE ÁOK, Debrecen*)**
Egyes TRPM csatornák szerepének vizsgálata humán
sebocitákon

15:00–15:15 **Sinka Rita (*SZTE TTIK, Szeged*)**
Tesztisz-specifikus protein komplexek szerepe a poszt-
meiotikus sejtszervecske változásokban

15:15–15:25 **Támogatói előadás: Hegyi Zoltán (*Bio-Science Kft.*)**
Dimenzióváltás a mikroszkópiában: hogyan nyerjünk
betekintést 3D sejtenyészetekbe?

15:25–15:50 Kávészünet, posztterek eltávolítása

15:50–17:35 Fejlődésbiológia, sejtbiológia

Üléselnök: Zákány Róza (*DE ÁOK, Debrecen*)

15:50–16:20 Plenáris előadás: Nagy Nándor (*SE ÁOK, Budapest*)
Extracelluláris mátrix–kemokin kölcsönhatások a B-sejt ontogenezisében

16:20–16:35 Varga Máté (*ELTE TTK, Budapest*)
Egy kis friss levegő: a paradicsomhalak légzési stratégiáinak fejlődése és evolúciója

16:35–16:50 Károlyi Dorottya (*ELTE TTK, Budapest*)
A zsírsavszintézis meghatározó szerepe a TORC1 aktivitás fenntartásában rosszindulatú tumorokban

16:50–17:05 Kovács Patrik (*DE ÁOK, Debrecen*)
A podocalyxin és a ciliaris neurotrophikus faktor receptor a chondrogenikus surfaceome új komponensei

17:05–17:20 Szatmári István (*DE ÁOK, Debrecen*)
RUNX3 vezérelt embrionális sejtfejlődés

17:20–17:35 Bogyó Stefánia Zsófia (*SE ÁOK, Budapest*)
A bursa Fabricii dendritikus sejtálózatának ontogenetikai és immuncitokémiai karakterizálása csirkében

17:35–17:50 Díjak átadása, a konferencia zárása



BIO-SCIENCE

A magyar tudomány szolgálatában.

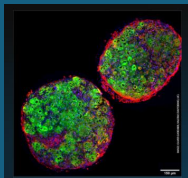
AKCIÓK

Reagensek, műszerek, fogyóeszközök kedvezményes áron!

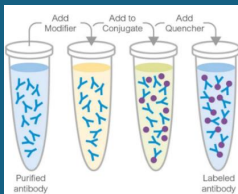
2025. december 15-ig

Hivatkozzon a **BIOŐSZ10 kódra!**

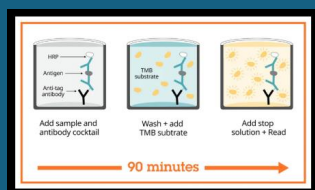
ÚJ! QKINE: rekombináns
fehérjék, citokinek,
növekedési faktorok
2D és 3D sejtenyésztéshez
15% kedvezménnyel!



ABCAM akció
konjugációs kitek
15% kedvezménnyel!



ABCAM
SimpleStep
ELISA® kit akció
50% kedvezménnyel!



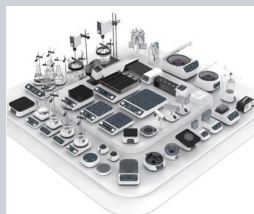
Fluoreszcens és
átesőfényes élősejt-
monitorozó mikroszkóp
30% kedvezménnyel!



IDT: gBlocks - kettős szálú
DNS fragmentum szintézis
20-50% kedvezménnyel!



JOANLAB kisműszerek és
pipetták **-20%-al** a
raktárkészlet erejéig!



PROMEGA Taq polimerázok
kedvezményes áron
azonnal raktárról!



THERMO FISHER SCIENTIFIC
pipetták és pipettahegyek
rendkívül kedvező áron!



GENFOLLOWER
E-series pipettahegyek
20% kedvezménnyel!



További információért **keresse munkatársainkat** a bio-sci@bio-science.hu címen,
vagy **kattintson a QR kódra**, ahol részletesebb Akciós kiadványunkat találja!

Bio-Science Kft. 1119 Budapest, Fehérvári út 79. Tel.: 06-1-619-8321 / 06-1-619-8316



BIO-SCIENCE

www.bio-science.hu

3D

SEJT TENYÉSZTÉS

THINCERT® 6-96 WELL SEJT TENYÉSZTŐ INZERTEK

ALKALMAZÁS:

- / Nagy áteresztőképességű transzport vizsgálatok és kokultúrák
- / Kemotaxishoz és inváziós vizsgálatok
- / Levegő-folyadék interfész (ALI) modellezés

M3D 6-1536 WELL MÁGNESES SEJT TENYÉSZTŐ RENDSZEREK

ALKALMAZÁS:

- / Sceening /toxiciás vizsgálatok
- / Daganat kutatás
- / Szövet modellezés
- / Össejt kutatás
- / Szövet rekonstrukció

TOVÁBBI
INFORMÁCIÓÉRT
KERESSE
KOLLÉGÁINKAT
AZ ALÁBBI
ELÉRHETŐSÉGEKEN:

/ Észak-Kelet Magyarország
Bajzáthné Kalóczkai Kata
+36 30 361 7291
Kata.Kaloczka@gbo.com

/ Dél-Kelet Magyarország
Merva László
+36 30 321 5190
Laszlo.Merva@gbo.com

/ Nyugat Magyarország
és Budapest
Dr. Jancsó András
+36 30 498 9689
Andras.Jancso@gbo.com



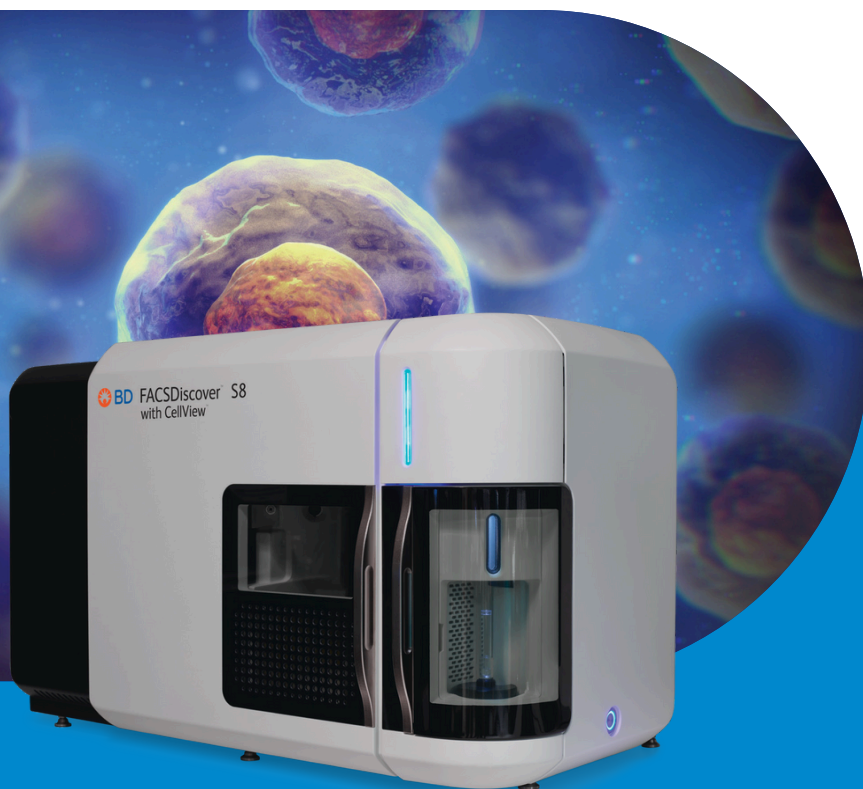
Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany
PHONE +49 7022 948-0 / FAX +49 7022 948-514 / E-MAIL info@de.gbo.com

Greiner Bio-One is a global player.
Find the contact details of your local partner on our website.



DEBRECENI
EGYETEM

www.gbo.com



BD FACSDiscover™ S8 Cell Sorter with BD CellView™ Image Technology and BD SpectralFX™ Technology

Get deeper insights with real-time imaging,
spectral flow cytometry

www.kromat.hu
bio@kromat.hu

2045 Törökbálint, Hosszúrét u. 1.



kvalitex

25. SEJT-, ÖSSEJT- ÉS FEJLŐDÉSBIOLOGIAI (SFB) KONFERENCIA

2025 OKTÓBER 17.
DEBRECEN

LÁTOGASS MEG
MINKET!



DEBRECENI
EGYETEM



Get Your Free
New Student Starter Pack



A BioTech Hungary Kft.

**termékportfóliója kibővült
a Takara enzimekkel és reagensekkel!**

A Takara sikere az iparág vezető restrikciós enzimjeihez és PCR-polimerázaihoz kötődik, beleértve az olyan jelenlegi termékeket, mint a Takara Ex Taq, Takara LA Taq és PrimeSTAR GXL.

Bővebb információért keresse kollégáinkat!

ibiotech.hu



A DNS-TŐL A REAL-TIME EREDMÉNYEKIG





MIRAVA POLYSCOPE

IMAGING FROM MILLIMETERS DOWN TO 3.2 nm



UNICAM

1144 Budapest, Kőszeg utca 29.
Telefon: +36 1 221 5536
E-mail: unicam@unicam.hu
Web: www.unicam.hu

The ZEISS logo is located in the top right corner, consisting of the word "ZEISS" in white capital letters on a blue rectangular background.

ZEISS

Scale Up Your Image Analysis

Explore ZEISS LSM Solutions

Carl Zeiss Technika Kft.

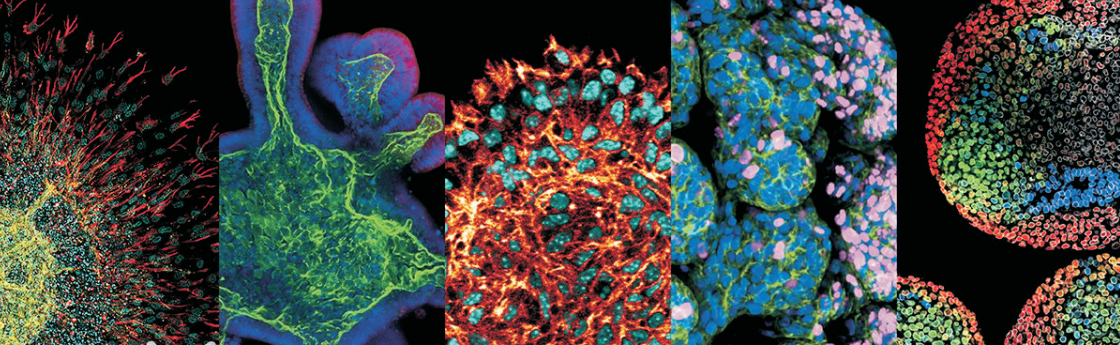
+36 23 802 800

info.microscopy.hu@zeiss.com

zeiss.hu/microscopy

Further Information





cells in focus



- 3D sejtenyésztés és 3D flow assay
- Szferoidok, organoidok
- Perfúzió hosszú távú tenyésztéshez
- 3D mátrixok

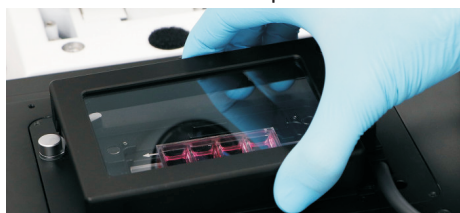
Páratlan képminőség.
Tegye próbára!



ibidi.com/freesample

ibidi incubation system

Gyártófüggetlen tárgyasztal inkubátor
minden inverz mikroszkóphoz



- Élő sejt mikroszkópizálás fiziológiai körülmények között
- 35 mm csészékhez, tárgylemezekhez, 96well plate-hez
- CO₂ és O₂ koncentráció szabályozás
- precíz, aktív páratartalom szabályozás
- kiváló hőmérséklet pontosság
- kivételes XYZ stabilitás
- egyszerű telepítés és használat
- kipróbálási lehetőség



Zenon Bio Kft.
Maros utca 40
6721 Szeged

+36 62 424 290
@ info@zenonbio.hu
www.zenonbio.hu

Az előadások absztraktjai

Sejtbiológia, őssejtbiológia 1.

E-01

A makrofág a szervezet svájci bicskája

Nagy László^{1,2}

¹ Johns Hopkins University School of Medicine, USA

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen

A szövetek regenerációját a makrofágok irányítják, amelyek eltávolítják a sérült sejteket és elősegítik az ún. regeneratív gyulladást. Hogyan alkalmazkodnak a makrofágok térben és hogyan diverzifikálják funkcióikat az aktívan regenerálódó szövetek szerveződésének és igényeinek támogatására, az továbbra is ismeretlen. Vizsgálataink során rekonstruáltuk az akut sérüléssel és korai stádiumú dystrophiás izmokból izolált mieloid sejtek dinamikus funkcionális átalakulását. Azonosítottuk a monociták/makrofágok és a DC-k divergens alcsoportjait, és validáltuk a meghatározott funkcionális állapotokkal kapcsolatos markereket és transzkripciós szabályozókat. A dystrophiás izomban a speciális javítással kapcsolatos alcsoportok jellegzetes makrofág-diverzitást és csökkent DC-heterogenitást mutattak. A térbeli transzkriptomikai elemzések és az immunfluoreszcencia integrálásával feltártuk az alpopulációk rendezett anatómiai eloszlását és a többrétegű regeneratív gyulladással zónákat (RIZ-ek), ahol a jellegzetes makrofág-alcsoportok a sérült izomrostok körüli funkcionális zónákban szerveződnek, támogatva a regeneráció minden fázisát. Fontos, hogy a glükokortikoidkezelés tönkreteszi a RIZ-eket. Eredményeink arra utalnak, hogy a makrofág altípusok közvetítik a regeneratív szövetek rendkívül rendezett felépítésének kialakulását, feltárva a strukturált, mégis dinamikus természetű regeneratív gyulladás elveit, amelyek specifikus célzása támogatják a hatékony szövetjavítást.

Kulcsszavak:

makrofág, gyulladás, szöveti regeneráció

E-02

Régi gyógyszerek új trükkökkel: A fluoxetin bőrgyógyászati hatásainak vizsgálata

Ádám Dorottya ¹, Tóth Kinga Fanni ¹, Arany József ¹, Pólska Szilárd ², Váradí Judit ³, Hanna Niehues ⁴, Ellen H van den Bogaard ⁴, Yesid A. Ramirez ⁵, Jennifer I. Drake ⁶, Oláh Attila ¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Laboratórium

³ Debreceni Egyetem, GyTK, Gyógyszertechnológiai Tanszék

⁴ Department of Dermatology, Radboudumc, Nijmegen, Hollandia

⁵ Design and Applied Sciences, School of Applied Sciences and Sustainable Industry, Department of Pharmaceutical and Chemical Sciences, Faculty of Engineering, Universidad Icesi, Cali, Valle del Cauca, Kolumbia

⁶ Eurofins Discovery, St. Charles, Missouri, USA

Bevezetés és célkitűzés: A klinikai gyakorlatban évtizedek óta biztonságosan alkalmazott, a szelektív szerotonin visszavételezést gátló szerek közé tartozó antidepresszáns fluoxetin (FX) ígéretes gyulladásgátló hatást mutatott egyes állatmodellekben, ezért célunk a FX biológiai hatásainak feltérképezése volt humán bőrben.

Módszertan: Immortalizált (HaCaT) és primer humán keratinociták (NHEK) 2D és 3D tenyészeit változatos sejt- és molekuláris biológiai módszerekkel (MTT, CyQUANT, RT-qPCR, RNA-Seq, ELISA, citokin array, IHC, IF) vizsgáltuk; kísérleteinket in silico kötődésvizsgálattal, direkt enzimaktivitás assay-vel, valamint biológiaiaktivitás-profil vizsgálattal egészítettük ki.

Eredmények: Kimutattuk, hogy a 14 µM-os koncentrációban alkalmazott FX hatékonyan csökkentette a poliinozin-policitidilsav [p(I:C)] által kiváltott gyulladásos választ és endotelin-felszabadulást humán epidermális keratinocitákban. A FX biológiaiaktivitás-profiljának vizsgálata, RNA-Seq analízis, in silico kötődésvizsgálat, valamint direkt enzimaktivitás méréseink tanúsága szerint a hatás valószínűleg a foszfatidilinozitol-3-kináz (PI3K)-útvonal közvetett gátlásán keresztül alakult ki. Mivel a PI3K-útvonalnak nemcsak a gyulladásos válaszok közvetítésében van szerepe, hanem a proliferáció pozitív regulátora is, így a következőkben megvizsgáltuk, hogy a FX milyen hatással van a humán epidermális keratinociták proliferációjára, differenciálódására és barrierformálási képességére. Megállapítottuk, hogy a FX hosszabb távú kezelések során antiproliferatív hatást fejt ki az epidermális keratinocitákban, de nem befolyásolja az epidermisz vastagságát, és az általunk vizsgált differenciációs markerekre sem volt szignifikáns hatással, illetve nem károsította a hámsejtek barrierformálási képességét sem.

Következtetés: Eredményeink alapján a FX 14 µM-ban alkalmazva gyulladáscsökkentő és lehetséges viszketéscsillapító hatása mellett a humán epidermális keratinociták proliferációját is gátolhatja anélkül, hogy negatívan befolyásolná differenciációjukat és barrierformáló képességüket, így topikálisan alkalmazva ígéretes adjuváns terápiás eszköz lehet a gyulladás és viszketés kísért hiperproliferatív betegségek (pl. pikkelysömör) kezelésében.

Támogatók: EKÖP-25-4-I-DE-225"

Kulcsszavak: epidermisz, fluoxetin, gyulladás, keratinocita, proliferáció

E-03

Enterális idegi őssejtek transzplantációs hatékonyságának növelése kondroitin-szulfát proteoglikánok módosításával kísérletes Hirschsprung-kór modellben

Szűcs Emőke¹, Jessica Mueller², Tóth Réka Borbála¹, Soós Ádám¹, Halasy Viktória¹, Jurenka Csenge¹, Allan M. Goldstein², Nagy Nándor¹

¹ Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet

² Department of Pediatric Surgery, Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA

Bevezetés: A bélidegrendszer a ganglionlécből származó multipotens őssejtek hozzák létre, amelyek az embrionális fejlődés során a bélcső mesenchymájában cranio-caudalisan vándorolnak és ganglionokká differenciálódnak. A bélcső mesenchymális környezetében a sejt vándorlást számos növekedési faktor és extracelluláris mátrix molekula együttes hatása irányítja. Az enterális ganglionléc-sejtek (ENCC) migrációjának zavarai olyan veleszületett neurointesztinális betegségek kialakulásához vezetnek, mint a Hirschsprung-kór, amely a vastagbél változó hosszúságú ganglionmentességével jár. In vitro tenyésztett enterális idegi őssejtek (ENSC) Hirschsprung-állatmodellekbe történő transzplantációja alacsony migrációt és proliferációt mutat, amely nem elegendő a bélmotilitás helyreállításához.

Célkitűzés és módszertan: 1) ENSC differenciálódás és a migrációt gátló ECM-molekulák eloszlásának részletes immunhisztokémiai karakterizálása, 2) kondroitin-szulfát-proteoglikánok (CSPG) kísérletes módosítása in vitro szervtenyésztetben, 3) ENSC-k transzplantálása embriómanipulációs módszerekkel.

Eredmények: A ganglionléc-sejtek kolonizációjával egyidőben, az embrionális fejlődés 5-10. napjai között, a CSPG-k dinamikus expressziója figyelhető meg az utóbél mesenchymájában. In vitro sejt migrációs kísérletek igazolják, hogy a CSPG-k gátolják az enterális ganglionléc-sejtek migrációját. Ez a gátló hatás enzimatisz kondroitináz-ABC (chABC) kezeléssel hatékonyan visszafordítható. In vitro függesztett szervtenyésztetben alkalmazott 1 U/ml chABC kezelés megzavarja az ENCC-k migrációs mintázatát és a fejlődő bélidegrendszer radiális szimmetriáját. Enterális idegi őssejt aggregátumok utóbélbe történő transzplantációja során a neurális őssejtek korlátozott migrációs képességet mutatnak. A rekombináns utóbeleak 1 U/ml chABC kezelése fokozza a transzplantált sejtek integrációs és migrációs képességét.

Következtetés: Feltételezzük, hogy a CSPG-k fokozott expressziója gátolja az enterális idegi őssejtek migrációját, integrációját a bél falban és elengedhetetlenül szükséges az enterális ganglionok radiális szimmetria mentén történő fejlődéséhez. Eredményeink szerint, a CSPG típusú ECM molekulák célzott módosítása a poszt-natális ECM környezetben elősegítheti a neurointesztinális betegségek őssejtes transzplantációjának hatékonyságát.

Kulcsszavak:

bélidegrendszer, ganglionléc, embryo, neurosphere

E-04

30B6: egy új ősvarsejtspecifikus monoklonális ellenanyag karakterizálása

Kaczur Bettina¹, Pecsénye-Fejszák Nóra¹, Szócs Emőke¹, Halasy Viktória¹, Nagy Nándor¹

¹ Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet

Az ősvarsejtek (primordiális ivarsejtek, PGC-k) a csírasejtvonal korai prekursorai, amelyek alapvető szerepet játszanak az ivarsejtek kialakulásában és a genetikai információ továbbörökítésében. A PGC-k pontos azonosítása és embrionális vizsgálata elengedhetetlen a fejlődésbiológia, génmegőrzés és reprodukciós kutatások szempontjából. Munkám célja egy új egér-monoklonális ellenanyag (klón név: 30B6) karakterizálása volt, amelyet eredetileg B-sejtek embrionális azonosítására fejlesztett kutatócsoportunk. Előzetes immunitokémiai jelölések során felismertük, hogy az ellenanyag nemcsak a csirke embrió bursa Fabricii telepében található korai B-sejteket jelöli, hanem a PGC-ket is specifikusan felismeri. A PGC-k megbízható elkülönítése madarakban csak többféle ellenanyag kombinációjával lehetséges, mivel a kereskedelembe elérhető markerek közül egyik sem jelöli egységesen a különböző fejlettségű PGC csoportokat. Hipotézisünk szerint a 30B6 ellenanyag érzékenyebb és specifikusabb marker a PGC-k kimutatására, mint a jelenleg elérhető markerek, és szélesebb körben alkalmazható lesz a különböző gerinces fajokban és fejlődési stádiumokban.

Első lépésben immunhisztokémiai és immunfluoreszcens festési módszerekkel vizsgáltuk a különböző fejlődési stádiumú csirkeembriók és nyirokszerveik ellenanyag kötődési jellemzőit és specifitását. Eredményeink azt mutatják, hogy a 30B6 ellenanyag már korai stádiumban, specifikusan jelöli a PGC-ket madarakban, az egy napos embrió csírafélhold régiójában intenzív immunreaktivitást mutat. A 30B6 szebben jelöli a gonádtelpekben található PGC-ket, mint a kereskedelembe elérhető DAZL és SSEA-1 ellenanyagok. Ezenkívül, a 30B6 felismeri a bélhámot borító kehelysejteket madarakban, emlősökben és hüllőkben, ami alátámasztja széleskörű specifitását.

Összefoglalva: a 30B6 monoklonális ellenanyag egy új, sokoldalú ellenanyagnak bizonyult, amely elősegítheti a PGC-k pontosabb azonosítását és hozzájárulhat az ősvarsejtek hatékonyabb izolálásához, embrionális fejlődésük nyomon követéséhez.

Kulcsszavak:

gyöngytyúk, primordiális őssejt, monoklonális ellenanyag

E-05

Az IL-4 és IFN γ ellentétes makrofág polarizációs szignálok közti szinergisztikus kölcsönhatások transzkripció és epigenetikai alapjai

Varga Zsófia ^{1,*}, Poscher Anna Zsófia ^{1,2,*}, Váradi Eszter Anna ^{1,2,*}, Cinege Gyöngyi ¹, Izsán Antal ¹, Erdős Edina ¹, Benyhe-Kis Bernadett ^{1,2}, Tihanyi Anna Zsuzsanna ^{1,2}, Petros Tzerpos ³, Bene Krisztián ³, Tóth Márta ⁴, Pólska Szilárd ³, Walter Jolán ⁴, Szebeni Gábor ⁵, Csörgő Bálint ⁶, Nagy László ^{3,7,8,9}, **Czimmerer Zsolt** ^{1,#}

¹ HUN-REN, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Makrofág Polarizáció Csoport, Szeged

² Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Biológia Doktori Iskola, Szeged

³ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen

⁴ Division of Allergy Immunology, Department of Pediatrics, University of South Florida at Johns Hopkins All Children's Hospital, Florida 33701, USA

⁵ HUN-REN, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Funkcionális Genomikai Laboratórium, Szeged

⁶ HUN-REN, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Lendület Génebbeszeti Módszertan Kutatócsoport, Szeged

⁷ Department of Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, St. Petersburg, Florida 33701, USA

⁸ Department of Biological Chemistry, Johns Hopkins University School of Medicine, St. Petersburg, Florida 33701

⁹ Institute for Fundamental Biomedical Research, Johns Hopkins All Children's Hospital, St. Petersburg, Florida 33701

* A szerzők egyenlő mértékben járultak hozzá.

Levelező szerző.

Bevezetés és célkitűzés: A makrofágok a veleszületett immunrendszer heterogén komponensei, melyek fenotípusos és funkcionális sokféleségét a molekuláris mikrokörnyezetük nagymértékben meghatározza. A különböző citokinek, metabolitok illetve patogén eredetű molekulák által kiváltott makrofág polarizáció két végpontja az interleukin-4 (IL-4)-indukált alternatív és az interferon (IFN) γ -aktivált klasszikus polarizáció. Ezekben a folyamatokban a szignálfüggő transzkripció faktorok (TF-ok), köztük az IL-4-aktivált STAT6 és az IFN γ -aktivált STAT1, valamint az általuk indukált transzkripció faktor kaszkádok kulcsszerepet játszanak a célgénjeik aktiválása vagy gátlása révén. Az ellentétes hatásuk ellenére jól ismert az IL-4 és IFN γ együttes jelenléte számos patológiás állapotban (köztük komplex fertőzésekben, súlyos asztmában és tumorokban). Azonban a köztük lévő kölcsönhatások csak részben feltártak, jelenlegi ismereteink az egymást kölcsönösen gátló sajátosságaikra korlátozódnak. Mindezek miatt célul tűztük ki az IL-4 és az IFN γ közötti lehetséges szinergisztikus interakciók azonosítását és a háttérben álló transzkripció és epigenetikai szabályozási mechanizmusok feltérképezését.

Módszertan: Munkánk során az IL-4 és az IFN γ közötti lehetséges szinergisztikus interakciókat egész csontvelő eredetű makrofágokban (BMDM-ekben) a génkifejeződés (RNS szekvenálás), az epigenetikai módosulások (ChIP és ATAC szekvenálás), valamint a sejtfelszíni (áramlási citometria)

és szekretált fehérje szintek (ELISA) mérésén alapuló módszerekkel, valamint CRISPR genomszerkesztési technológia alkalmazásával vizsgáltuk.

Eredmények: Az IL-4 és IFN γ citokinekkal történő kostimulációt követően több, mint 600 szinergisztikusan aktivált gént (SAG-ot) azonosítottunk a BMDM-ekben, köztük a nagy immunológiai jelentőséggel bíró *Clec7a/Dectin1*, *Edn1*, *Ccl24* és *Pdcd1lg2/Pdl2* géneket. A SAG-ok 86%-ához annotálható volt legalább egy STAT6-STAT1 együttes kötődéssel és szinergisztikusan indukált H3K27Ac-val asszociált genomi szabályozó régió. A STAT6 és a STAT1 TF-ok hiányában, valamint az ezen faktorokat kötő DNS motívumok célzott kiütését követően a kiválasztott SAG-ek IL-4 és IFN γ kostimuláció függő indukciója jelentősen csökkent. Végül kimutattuk, hogy a fenti TF-okon kívül a szinergisztikus génaktiváció szabályozásában az IFN γ indukálta IRF1 TF szintén fontos szabályozó szerepet játszik.

Következtetés: Összességében elmondható, hogy IL-4 és az IFN γ közötti kölcsönhatások a makrofágokban nem korlátozódnak a kölcsönös antagonizmusra, hanem köztük szinergisztikus kölcsönhatások is létrejönnek. Ezen kölcsönhatásokban a STAT6, STAT1 és IRF1 TF-ok kulcsszerepet játszanak.

Kulcsszavak:

makrofág polarizáció, IL-4, IFN γ , transzkripció szabályozás, szinergisztikus kölcsönhatás

E-06

A rossz túlélésű vastag- és végbélrák alcsoport modellezése betegekből származó organoidokkal

Idan Carmi ¹, Orosz Adrián ¹, Hajdó Szabolcs ¹, Zeöld Anikó ¹, Tölgyes Tamás ², Wiener Zoltán ¹

¹ Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

² Uzsoki utcai Oktató Kórház, Általános és Onkosebészeti Osztály

Bevezetés és célkitűzés: A vastag- és végbélrák (CRC) vezető tumortípus a fejlett országokban, jelentős inter- és intratumorális sejt heterogenitással. A transzkriptomikai alapú CRC-osztályozás azonosított egy epiteliális-mezenchimális átmenettel (EMT), a fibroblasztok (CAF) felhalmozódásával és rossz prognózissal jellemezhető betegcsoportot (CMS4). Bár a HTR2B szerotonin receptor az agresszív CMS4 alcsoport egyik epiteliális markere, pontos szerepe a CRC tumorigenezisben még nagyrészt ismeretlen. Munkánkban a CMS4 állapot jellemzésére, valamint a HTR2B szerepére fókuszáltunk.

Módszerek: Online adatokat bioinformatikai eljárásokkal elemeztünk, valamint betegekből származó organoidokat (PDO) használtunk, amely 3D in vitro rendszer, megtartja a kiindulási szövet sejt heterogenitását, így a humán tumorok vizsgálatának egyik fontos módszere.

Eredmények: A CMS4-re jellemző paraméterek, mint ko-kultúra CAF-okkal és a kollagén-I felhalmozódása az extracelluláris mátrixban (ECM) megnövelte a HTR2B+ sejtek számát. Míg a HTR2B stimulálásának normál körülmények között nem volt hatása a PDO-kra, kedvezőtlen körülmények között csökkentette a sejtek túlélését. Ezzel szemben a szerotonin csak a HTR2B+ tumorsejtek invázióját indukálta kollagénben, amely permisszív ECM a sejtmigráció szempontjából. A HTR2B+ sejtek a NOTCH3 receptort és a NOTCH célgéneket magasabb szinten expresszálták, mint a HTR2B alacsony sejtek. A HTR2B+ organoidokhoz hasonlóan az NOTCH3+ PDO-k is emelkedett EMT és HTR2B- expressziót mutattak. A NOTCH aktivitás blokkolása gátolta továbbá a szerotonin által kiváltott inváziót.

Következtetés: a CMS4 marker HTR2B szerotonin receptor egy fokozott proliferatív kapacitással, invázív potenciállal és részleges EMT-vel rendelkező CRC-sejtpopulációt jelöl, és átfed a NOTCH3+ sejtekkel. Eredményeink rávilágítanak az ECM kritikus szerepére a szerotonin CRC-ben betöltött hatásának alakításában.

Támogatás: K137554, Tématerületi Kiválósági Pályázat (TKP2021-EGA-24), 2024-1.2.3-HU-RIZONT-2024-00003 (NKFI Hivatal). Etikai engedély: TUKEB 2015 51323-4/2015/EKU.

Kulcsszavak:

organoid, tumorsejtbiológia, invázió, kollagén

E-07

A humán pluripotens őssejt alapú modellek és regenerációs terápia fejlesztések nemzetközi és hazai fejlődése és kihívásai

Dinnyés András^{1,2}, Suchitra Muenthaisong¹, Laura Colar Zanjko^{1,2}, Balogh Andrea¹, Kistamás Kornél¹, Zana Melinda¹

¹ BioTalentum Kft., Gödöllő

² Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és Takarmányozástani Intézet, Élettani és Állategészségügyi Tanszék, Kaposvár

Humán indukált pluripotens őssejt (hiPSC) alapú modellek és terápiaik fejlesztése új távlatokat nyit meg a betegségek modellezésében és a regeneratív orvoslás területén. A gén- és sejtterápiaik klinikai alkalmazása egyre nagyobb lendületet vesz, és már több jóváhagyott terápia is megvalósult. A fejlődés azonban számos országban és régióban jogi, szabályozási és társadalmi tényezők, valamint a jelenlegi technológiák műszaki hiányosságai és biológiai korlátai miatt akadályokba ütközik. Az előadás áttekinti a megoldandó kihívásokat, a lehetséges akadályokat és a legjobb gyakorlatokat, amelyek elősegíthetik a továbblépést. Külön hangsúlyt kap a 1-es típusú cukorbetegség, a szívelégtelenség és a Parkinson-kór klinikai vizsgálatainak aktuális helyzete. Bemutatásra kerülnek a saját kutatási eredmények is, különösen a hiPSC-ből előállított béta-sejt organoidok és éretté váló hiPSC-kardiomiociták fejlesztése, nanoterápiás epilepszia kezelési eljárások neuro- és immun-toxicitásának tesztelése, ultraritka betegségekre irányuló antiszensz oligonukleotid (ASO)-terápiák létrehozása és tesztelése. Emellett ismertetésre kerül az első egészségügyi IPCEI projekt (Med4Cure), amelynek célja a fejlett terápiás gyógyszerkészítmények (Advanced Therapy Medicinal Products - ATMP-k) klinikai alkalmazásának előmozdítása. Összefoglalva, áttekintést adunk arról, hogy Magyarország milyen szerepet tölthet be az ATMP-k klinikai bevezetéséért folyó éles nemzetközi versenyben.

A bemutatott projektek az EU Horizon 2020 programja keretében kaptak támogatást (No.953138 (EMAPS-Cardio), No.101099579 (Synmech)), valamint az EU Horizon Europe Marie Skłodowska-Curie Action ITN No.101120256 (MMM), SE No.101131087 (WhyNotDry), COST Action CA21151 (HAPLO-iPS), CA21113 (GenE-Humdi), CA21117 (IMMUPARKNET) és a 2020-1.1.5.-GYORSÍTÓSAV-2021-00016 és 2023-1.2.1-ERA_NET-2023-00001 (EPI-3E) számú projektek keretében, amelyet a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap finanszírozott. A Med4Cure/CARDIABETTER IPCEI projekt magyar (Nemzetgazdasági Minisztérium, NKFIH) és EU forrásból részesül majd támogatásban.

Kulcsszavak:

iPSC; ATMP; regenerációs medicina; diabetesz; szívizom; neurális

E-08

Fejlődés-specifikus mikroRNS-ek kimutatása és azonosítása nyúlembriókból és tenyésztő-médiumukból: biomarker-alapú megközelítés az embrióminőség értékeléséhez

Gócza Elen¹, Maria Teresa Salinas Aponte¹, Tokodyné Szabadi Nikolett¹, Dévai Gréta¹, Urbán Martin¹, Tóth Arnold¹, Lázár Bence¹, Bodrogi Lilla¹, Nemes Annamária², Fancsovits Péter²

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

² Semmelweis Egyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Asszisztált Reprodukciós Osztály, Budapest

A mikroRNS-ek (miRNS-ek) rövid, nem kódoló RNS-molekulák, amelyek a transzkripció utáni génkifejeződést és géncsendesítést befolyásolva döntő szerepet játszanak különböző biológiai folyamatok szabályozásában. Munkánk során nyúlembriókat használtunk modellrendszerként az emberi embrió fejlődésével kapcsolatos potenciális biomarkerek vizsgálatához.

Az embriótenyésztésben azonosított miRNS-eket vizsgáltunk biomarkerként, elemezve azok expressziós szintje és a nyúl embriók 4. és 6. napon mért fejlettsége közötti korrelációt. Előzetes analízist követően végül hét fejlődésspecifikus miRNS (miR-24-3p, miR-28-3p, miR-103a-3p, miR-181a-5p, miR-191-5p, miR-320a-3p, miR-378a-3p) expresszióját vizsgáltuk 4 és 6 napos nyúl embriókban, valamint tenyésztőmédiumukban. Eredményeink jelentős különbségeket mutattak ki ezeknek a mikroRNS-eknek a expressziós szintjében a 4 napos és a 6 napos embriók között. Az egyenként tenyésztett embriók tenyésztőmédium mikroRNS-kifejeződési profiljainak elemzése lehetővé tette az rosszabb minőségű embriók azonosítását.

Ezen miRNS-ek kimutatása az embrió tenyésztőmédiumból megbízható mutatóként szolgálhat a jó minőségű blasztociszta azonosításához. Ezeknek a miRNS-eknek expressziós profilja az embrió fejlődési állapotától, illetve minőségétől függően eltérőek, ezáltal tükrözve a fejlődés legfontosabb mérföldköveit. Összeségében elmondható, hogy sikerült kifejlesztenünk egy nem invazív tesztet a beágyazódás és a terhesség kimenetelének előrejelzésére, amely panel új diagnosztikai lehetőségeket kínál a humán reprodukív medicinában is.

A kutatásokat az "Agrár-biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszerbiztonságért" RRF-2.3.1-21-2022-00007 azonosító számú pályázat támogatta.

Kulcsszavak:

mikroRNS, blasztociszta, IVF, embrió-életképesség biomarker

E-09

Egyes TRPM csatornák szerepének vizsgálata humán szebocitákon

Ádám Dorottya¹, Arany József¹, Pető Orsolya¹, Pólska Szilárd², Christos C. Zouboulis³, Oláh Attila¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Laboratórium

³ Departments of Dermatology, Venereology, Allergology and Immunology, Dessau Medical Center, Brandenburg Medical School Theodor Fontane, Dessau, Németország

Bevezetés és célkitűzés: Ismert, hogy egyes tranziens receptorpotenciálú (TRP) ioncsatornák (TRPV1, -3 és -4) a faggyúlipid-termelés potens negatív regulátorai, a TRPV3 aktivációja pedig jelentős gyulladásos választ vált ki humán szebocitákon. Jelen projektünk során a célunk az volt, hogy megvizsgáljuk két eddig nem vizsgált TRP csatorna (TRPM2 és TRPM5) kifejeződését és funkcionális szerepét humán szebocitákon.

Módszertan: A TRPM5 ioncsatornát két aktivátor (2-heptanon és 2,5-dimetilpirazin) és egy antagonist (trifenilfoszfin-oxid [TPPO]), a TRPM2-t pedig egy agonista (GEA 3162) és egy antagonist (ACA) segítségével vizsgáltuk humán immortalizált SZ95 szebocitákon. Végpontként életképességet (MTT-assay), lipidszintézist (Nile Red jelölés), génexpressziót (RT-qPCR, Western blot) és mediátor-felszabadulást (ELISA) vizsgáltunk, valamint RNS szekvenálást, foszfokináz array-t és siRNS-transzfekciót is végeztünk.

Eredmények: Bár a TRPM5 nem fejeződik ki funkcionálisan aktív formában humán szebocitákon, a TPPO jelentősen fokozta a faggyúlipid-termelést az Akt jelpálya és az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) közvetítésével és a diacilglicerin-O-aciltranszferáz (DGAT)-2 Akt-függő up-regulációja révén. Emellett a TPPO összetett módon befolyásolta a szebociták immunfenotípusát, hiszen EGFR- és p38 α MAPK-függő módon fokozta az interleukin (IL)-6 expresszióját, valamint csökkentette az IL-8 felszabadulását és több gyulladásos citokin mRNS-szintű kifejeződését is. Az RNS szekvenálás révén nyert, majd RT-qPCR és Western blot segítségével megerősített eredményeink mellett arra utalnak, hogy a TRPM2 is kifejeződhet a humán szebocitákon; szelektív agonistája pedig jelentősen fokozta a faggyúlipid-termelést.

Következtetés: A valóban specifikus TRPM5 modulátorok alkalmazása valószínűleg nem befolyásolja a faggyúmirigyek biológiai folyamatait, a TPPO és funkcionális analógjai azonban mérsékelt lipogén és gyulladáscsökkentő hatást fejthetnek ki. Eddigi eredményeink alapján a TRPM2 a faggyúlipid-termelés pozitív regulátora lehet.

Támogató: EKÖP-25-4-I-DE-225

Kulcsszavak:

TRPM2, TRPM5, szebocita, bőr, faggyúmirigy

E-10

Tesztisz-specifikus protein komplexek szerepe a poszt-meiotikus sejtservecske változásokban

Sinka Rita¹, Németh Dóra¹, Lepár Dávid¹, Vedelek Viktor¹, Nagy Olga², Vágvölgyi Anna³, Zádori János², Tóth Viktória¹, Lipinszki Zoltán⁴

¹ Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar, Genetika Tanszék

² Szegedi Tudományegyetem, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika

³ Szegedi Tudományegyetem, Belgyógyászati Klinika

⁴ HUN-REB, SZBK, Biokémiai Intézet, Szeged

A *Drosophila melanogaster* kiváló modellszervezetként szolgál a különböző szövetekben és egyedfejlődési szakaszokban előforduló sejtservecskék differenciálódásának vizsgálatához. Bár jelentős előrelépések történtek a spermatidák megnyúlásában, a mitokondriumok szerkezetében és a fehérjék lebontásában szerepet játszó gének azonosításában, ezeknek a folyamatoknak a molekuláris mechanizmusai még nem tisztázottak.

Kutatásunk célja a *Drosophila* spermatogenezisében jelenlévő sejtservecskék szerveződésében és felépítésében szerepet játszó fehérjekomplexek vizsgálata. Transzkriptomikai adataink rámutattak, hogy a poszt-meiotikus stádiumokban több tesztisz-specifikus fehérjekomplex is jelen van, bár ezek konkrét szerepe, összetétele és lokalizációjuk még nem ismert. A 26S proteaszóma alegységeinek több mint egyharmada rendelkezik tesztisz-specifikus paralóggal. A spermatoproteaszóma funkciójáról csak korlátozott ismeretek állnak rendelkezésre magasabbrendűekben. Jellemeztük a tesztisz-specifikus proteaszóma alegységeket és leírtuk a meiózis utáni nukleáris átrendeződésben és megnyúlásban betöltött szerepét, valamint a különböző alegységek sokoldalú lokalizációját a spermatogenezis szakaszaiban.

A tesztisz-specifikus mikrotubulus-szervező központok (MTOC) közül a bazális testen kívül leírtuk alternatív mikrotubulus-szervező központokat a sejtmag apikális csúcsán és a mitokondriumok felszínén. Az MTOC-k részletes molekuláris összetétele és azok szerepe még mindig nem megfelelően jellemzett. A kanonikus és a tesztisz-specifikus γ -tubulin gyűrűkomplexek szerepét vizsgálva megállapítottuk, hogy a tesztisz-specifikus γ -TuRC fehérjék kizárólag a meiózist követően lokalizálódnak. Jellemeztük a komplextagok hiányában kialakuló fenotípusokat, transzgének segítségével vizsgáltuk a komplexek szubcelluláris lokalizációját és biokémiai módszerekkel az alternatív γ -tubulin gyűrűkomplexek összetételét. Megfigyeltük, hogy a kanonikus γ -TuRC tag Grip163 a centroszómához és a bazális testhez lokalizálódik, míg a γ -TuSC tag Grip84 változatos lokalizációs mintázattal rendelkezik a korai és a késői spermiumfejlődési szakaszokban.

Kutatásunk rávilágít a különböző γ -TuRC-k funkciójára a spermatogenezis során és azok lehetséges szerepére a poszt-meiotikus stádiumokban lezajló változatos sejtservecske átalakulásokban.

Kulcsszavak:

Drosophila, spermatogenezis, proteaszóma, gamma-tubulin gyűrűkomplex

E-11

Extracelluláris mátrix–kemokin kölcsönhatások a B-sejt ontogenezisében

Nagy Nándor¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómia, Szövettan és Fejlődéstan Intézet, Budapest*

A nyirokszervek organogenezisét célzó vizsgálatok az extracelluláris mátrix (ECM) és a lymphomyeloid őssejtek mozgását irányító kemokinek közötti kölcsönhatások különleges szerepére hívják fel a figyelmet. Kutatócsoportunk több évtizede foglalkozik a nyirokszervek fejlődésével és kísérletes modellként madár embryokat használunk. In ovo és in vitro igazoltuk, hogy a CXCL12-CXCR4 jelátvitel meghatározza a B-sejtek bursa Fabriciibe (madarakra jellemző primer B sejt nyirokszerv) történő betelepülését, de a B-sejtek perifériára történő kivándorlásába is fontos, kiemelve ennek a folyamatnak az evolúciós konzerváltságát a gerincesekben. Embryomanipulációs és in vitro kísérletekkel kimutattuk, hogy a szolúbilis és a tenascin-C-hez-kötött CXCL12 kemokin eltérő módon szabályozza a fejlődő bursa Fabricii-ben a CXCR4+ B-sejt prekurzorok migrációját. Korai embryóban a bursa mesenchymális primordia CXCL12-t szekretál, ami biztosítja a B-sejt prekurzorok folyamatos betelepülését. Későbbi stádiumban elindul a tenascin-C expressziója, aminek hatására a bursa kolonizációja megszűnik. Ezt igazolja, hogy a tenascin-C kísérletesen fokozott expressziója gátolja a lymphoid folliculusok kialakulását. Felnőtt korban a CXCL12-tenascin-C kölcsönhatás a folliculus kompartmentek elkülönülését határozza meg és biztosítja az érett B-sejtek kivándorlását a primer nyirokszervből. A lymphoid folliculusok fejlődésének karakterizálása során egy korábban ismeretlen EIV-E12+ lymphoid szövet-indukáló sejtet is azonosítottunk, amely a bursa folliculusbimbókat kolonizálja a B- és myeloid sejtvonalak előtt, és elindítja a primer lymphoid szövet képződését. Összefoglalva, kísérleti eredményeink azt mutatják, hogy a nyirokszervekre jellemző stromális mikrokörnyezet (ECM, kemokin szekréció) molekuláris összetételének dinamikus változása irányítja a B-sejtek fejlődését, migrációját és a lymphoid kompartmentek elkülönülését a madarakban. Ezen fejlődésbiológiai mechanizmusok tanulmányozása nemcsak a komparatív fejlődésimmunológia szempontjából alapvető, hanem hozzájárulhat a B-sejtek fejlődését meghatározó stromális mikrokörnyezet megismeréséhez és hatékony B-sejt tenyészetek létrehozásához.

Kulcsszavak:

nyirokszerv fejlődés, organogenezis, kemokin, ECM

E-12

Egy kis friss levegő: a paracanthodon légzési stratégiáinak fejlődése és evolúciója

Varga Máté¹, Szabó Nóra¹, Josef Bryja², Viktória Parobková³, Fodor Erika¹, Petra Čermáková², Markéta Tesařová³, Szabó Kata¹, Czimer Dávid¹, Peter Fabian²

¹ Eötvös Loránd Tudományegyetem, Genetikai Tanszék

² Masaryk Egyetem, Kísérleti Biológia Tanszék

³ Central European Institute of Technology (CEITEC), Computed Tomography Laboratory,

Az oxigénigény a Metazoa evolúció egyik fő mozgatórugója volt. A komplex, többsejtű élőlények először vízi környezetben jelentek meg, de a légköri oxigén megjelenése fontos katalizátora lett a légzési stratégiák ismételt evolúciójának, hiszen a levegő hasznosítása hozzáférést biztosított ehhez a bőséges és viszonylag stabil oxigénforráshoz. A legújabb kutatások azt sugallják, hogy a levegő-légzés a halakban több mint 80 alkalommal egymástól függetlenül fejlődött ki. A paracanthodon (*Macropodus opercularis*) egyike a levegőt hasznosító édesvízi halfajoknak, amelynek jellegzetes labirintus szerve (LO) képes oxigént kivonni a levegőből, ezáltal segítve a felnőtt halakat a hipoxiás környezetben való túlélésben. Ennek az evolúciós újításnak a megjelenése az anabantoid halak csoportjában egyéb anatómiai változásokhoz is vezetett, és hozzájárult a fajspecifikus viselkedések, például a szülői gondoskodás kialakulásához is. Bár a zoológusokat már a 20. sz. elején is foglalkoztatta a LO szerkezete és működése, a megfelelő molekuláris eszközök hiánya miatt ez a kutatási program elhalt. Az utóbbi évtizedek technológiai fejlesztései azonban lehetőséget adnak, hogy újra megvizsgáljuk az LO megjelenésével kapcsolatos kérdéseket, és feltárjuk, milyen molekuláris- és sejtszintű innovációk vezettek ennek az evolúciós újításnak a megjelenéséhez. Munkánk során klasszikus szövettani módszereket kombináltunk újgenerációs transzkriptomikai megközelítésekkel (pl. egy-sejt szekvenálás), valamint mikro-CT-alapú képalkotási eljárásokkal. Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a LO megjelenése új sejtípusok kialakulásához köthető, amelyek részben meglevő fejlődési programok "újrahasznosítás" révén alakultak ki.

Kulcsszavak:

paracanthodon, légzés, evodevo, fejlődésbiológia

E-13

A lipidanyagcsere szerepe a tumornövekedés szabályozásában *Drosophila* modellben

Károlyi Dorottya¹, Takáts Szabolcs¹

¹ Eötvös Loránd Tudományegyetem, Anatómiai, Sejt- és Fejlődésvirológiai Tanszék

A lipidek bioszintézise szigorúan szabályozott és összetett folyamat, amely elengedhetetlen a sejtek normál működési folyamataihoz. Ugyanakkor a megfelelő mennyiségű lipid ellátottság a rosszindulatú daganatok fejlődéséhez is alapvető fontosságú. Jelentősége ellenére a lipidszintézis egyes lépéseinek szerepe a tumornövekedés során, illetve ezek kölcsönhatása a sejten belüli jelátviteli útvonalakkal még nem teljesen ismert.

Vizsgálatunk célja a lipidanyagcsere daganatokban betöltött funkciójának feltérképezése volt egy RasV12, Scribble-hiányos *Drosophila* karcinóma modell alkalmazásával. Tumorspecifikus genetikai szűrés során több, a neutrális lipidek szintézisében szerepet játszó enzim működését gátoltuk RNS-interferencia segítségével. Ennek eredményeként megfigyeltük, hogy a zsírsav- és diacilglicerid-szintézis kulcsenzimeinek elvesztése jelentősen csökkentette a tumornövekedést.

Különösen az acetyl-coenzim-A karboxiláz (ACC) – a zsírsavsztézis első lépését katalizáló enzim – hiánya gátolta a tumorok késői növekedését, ami fokozott apoptózissal járt együtt, míg a korai tumorfejlődést nem befolyásolta. Ezt a jelenséget a TORC1 (Target of Rapamycin Complex 1) aktivitás csökkenése és az autofágia aktivációja kísérte. Emellett kimutattuk, hogy a TORC1 aktivitása nem állítható helyre sem az inzulin/PI3K jelátviteli út hiperaktiválásával, sem az AMPK (AMP-aktivált kináz) gátlásával ACC-hiányos tumorsejtekben. Ugyanakkor az ACC-hiányos tumorokba kívülről bevitt olajsav önmagában is képes volt javítani a TORC1 aktivitást, és ezáltal elősegíteni a tumornövekedést.

Eredményeink alátámasztják, hogy a de novo zsírsavsztézis nem csupán a tumorok fokozott membrán- és energiaszükségletének kielégítéséhez fontos, hanem aktívan befolyásolja a sejtnövekedés szabályozását, így potenciális terápiás célpontokat is azonosítanak.

Kulcsszavak:

Drosophila, tumor, lipidszintézis, TOR aktivitás

E-14

A podocalyxin és a ciliaris neurotrophikus faktor receptor a chondrogenikus surfaceome új komponensei

Kovács Patrik¹, Brázda Péter², Hajdú Tibor¹, Juhász Krisztián¹, Takács Roland¹, Vágó Judit¹, Zhangzheng Wang¹, Clare Coveney³, David J. Boockvar³, Matta Csaba¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet

² Princess Máxima Center for Pediatric Oncology, Utrecht, Hollandia

³ Trent University, School of Science and Technology, Egyesült Királyság

A chondrogenesis a porcképződést irányító folyamat, amely alapvető jelentőségű a porcregenerációs stratégiák kifejlesztése és az osteoarthritis (OA) kezelésének előmozdítása szempontjából. Bár a sejtmembránhoz kapcsolódó proteom (surfaceome) fontos szerepet játszik az érett chondrocyták anyagcseréjében, proliferációjában és differenciációjában, a porcképződésben betöltött funkciója kevésbé ismert.

Tanulmányunkban a chondrogenikus sejtek surfaceome-jának első átfogó kvantitatív elemzését mutatjuk be egy in vitro csirke embryo modell segítségével. A felszíni fehérjék szialinsav-célzott dúsítását nagy áteresztőképességű tömegspektrometriával kombinálva azonosítottuk a podocalyxin (PODXL) és a ciliaris neurotrophikus faktor receptor (CNTFR) fehérjéket, mint a surfaceome új komponenseit. Expressziójukat és funkciójukat western blot, immunocitokémia és átmeneti géncsendesítés segítségével igazoltuk.

A CNTFR és PODXL gátlása eltérő transzkripció hatást mutatott a COL1A1 gén esetében, amely a hyalinporc mátrixának negatív minőségi markere, jelezve, hogy e fehérjék ellentétes módon szabályozzák az extracelluláris mátrix összetételét és a chondrocyta identitást. A CNTFR jelenléte a neurotrophikus faktorok potenciális szerepére utal a chondrogenesisben és a porcjavításban, míg a PODXL – sejt-mátrix kapcsolatokhoz kötődő sialomucinként – hozzájárulhat a korai chondrocyta fenotípus fenntartásához és a jelátvitel közvetítéséhez.

Következtetésként a PODXL és CNTFR szintjének csökkenése korai OA biomarkerekként szolgálhat, lehetővé téve a porcdegeneráció nyomon követését és a terápiás válasz értékelését. Továbbá ígéretes terápiás célpontok lehetnek a porcregeneráció elősegítésére.

A Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-25-4-I-DE-14 kódszámú Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

Kulcsszavak:

chondrogenesis osteoarthritis proteomika surfaceome biomarker

E-15

RUNX3 vezérelt embrionális sejtfejlődés

Szatmári István¹, Chahra Fareh¹, Pólska Szilárd¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

A RUNX3 transzkripció faktor részt vesz a vérképző sejtek korai fejlődésében, továbbá kitüntetett szerepe van a különféle immunsejtek kialakulása során is. Korábban megfigyeltük, hogy a RUNX3 bekapcsolása növeli az embrionális őssejtekből származó dendritikus sejtek (ES-DC) immunogenitását. Annak érdekében, hogy jobban megértsük ezen transzkripció faktor hatását a vérképző és immunsejtekre fejlődésére, globális génexpressziós vizsgálatokat végeztünk a differenciáció különböző fázisaiban.

Vizsgálatainkhoz single-cell és bulk RNS szekvenálásokat végeztünk 8, 12 és 19 napig ex vivo differenciáltatott egér embrionális sejtekből létrehozott progenitorokon és ES-DC-en. Ezen mérésekhez kémiai indukálható, RUNX3-t expresszálni képes egér sejteket használtunk.

Transzkriptomikai eredményeink szerint a 8 napig differenciáltatott sejtek között a Myb+ hemopoetikus progenitorok aránya jelentősen megemelkedett RUNX3 jelenlétében. Ezt igazolni tudtuk áramlási citometriai mérésekkel is, mely szerint c-Kit/CD41 dupla-pozitív sejtek aránya több független mintasorozatban is megemelkedett a RUNX3-al programozott sejtekben. Továbbá megfigyeltük, hogy a fejlődés előrehaladott fázisában (12. napon) a myeloid sejteken az MHC II expresszió magasabb volt RUNX3 jelenlétében. Vizsgálataink szerint az MHCII pozitív myeloid sejtek a Myb+ vérképző sejtekből tudtak létrejönni. Végezetül megfigyeltük, hogy a terminálisan differenciáltatott ES-DC-k is megőrizték a fokozott MHCII expressziót még abban az esetben is, ha csak korai fázisban volt indukálva a RUNX3 transzgen.

Összefoglalva, eredményeink azt mutatják, hogy az egér embrionális sejtfejlődés korai fázisában az emelkedett RUNX3 expresszió pozitívan modulálja a hemopoetikus őssejtek és progenitor sejtek kialakulását. Továbbá megfigyeltük, hogy az így létrejött a Myb+ vérképző sejtek immunogén potenciállal rendelkező myeloid dendritikus sejtekké képesek átalakulni, melyek a jövőben immunterápiás célból is tesztelhetők.

E-16

A bursa Fabricii dendritikus sejthálózatának ontogenetikai és immuncitokémiai karakterizálása csirkében

Bogya Stefánia Zsófia¹, Szöcs Emőke¹, Soós Ádám¹, Gáspár-Halasy Viktória¹, Nagy Nándor¹

¹ Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet

Bevezetés és célkitűzés: A bursa Fabricii (BF) madarakra jellemző primer nyirokszerv, ami nélkülözhetetlen szerepet játszik a B-limfociták differenciálódásában. A BF dió nagyságú 10-12 redőkből álló szerv, lumene a kloaka üregével kommunikál. A redőket limfoid folliculusok alkotják, amelyek szövettanilag jól elkülöníthető mezodermális kéregállományból és ektodermális eredetű velőállományból állnak. A velőállományban található retikuláris hámsejtek és szekréciós dendritikus sejtek (BSDC) hozzák létre a bursa specifikus mikrokörnyezetet, amely kulcsszerepet tölt be a B-limfocita prekurzorokérésében. A támasztó szerepet betöltő hámsejtekkel ellentétben a BSDC-k ontogeneze és immuncitokémia tulajdonsága csak részben ismert. Célunk a felnőtt csirke bursa Fabricii folliculusokat alkotó lymphoid és myeloid sejtek karakterizálása és fejlődésének nyomonkövetése immuncitokémiai módszerekkel.

Módszertan: Kísérletünk első lépésében embryo-ból (n=9) és felnőtt állatból (n=12) származó BF folliculusokat immuncitokémia módszerekkel, fluoreszcens-, és konfokális-, elektronmikroszkópiával hasonlítottuk össze.

Eredmények: Az immuncitokémiai módszerekkel olyan markereket kerestünk, amelyekkel megbízhatóan azonosítani lehet a BSDC-ket. Kimutattuk, hogy az E-cadherin+ hámsejtek, chB6+ B limfociták és TIM4+ makrofágok mellett, a CSF1R szelektíven jelöli a BSDC-ket embryonális és felnőtt BF-ben. Továbbá, kettős immunfluoreszcens festéssel igazoltuk, hogy a CSF1R+ BSDC-k CD11d-t, p75-neurotrophin receptort és alphaVbeta3 integrint expresszálnak. Ezeket a felszíni molekulákat korábban még nem írták le madár dendritikus sejteken.

Következtetés: A BSDC specifikus membránmolekulák azonosítása lehetőséget nyújt a sejtek fluoreszcens sejtstorterrel történő hatékony izolálására, amely elengedhetetlenül szükséges a dendritikus sejtek molekuláris karakterizáláshoz és in vitro tenyésztéséhez.

Kulcsszavak:

bursa Fabricii, BSDC, immuncitokémia

E-17

A Gtf2i génkópiaszám-változásainak struktúrális hatása az idegrendszer fejlődésére transzgenikus egérmodellekben és humán agyi organoidokban

Mészár Zoltán¹, Szücs Péter¹, Kis Gréta¹, Szarvas Vera¹, Varga Angelika¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet

A génkópiaszám-változások (CNV-k) jelentős szerepet játszanak az idegrendszer fejlődési rendellenességeiben, amelyek gyakran pszichiátriai kórképekben vagy értelmi fogyatékosságban manifesztálódnak. Ilyen a transzkripciós komplexeket alkotó Gtf2i gén, amelynek kópiaszám-változásai a Williams-Beuren szindrómához és a 7q11.23 duplikációs szindrómához (7Dup) kapcsolódnak. Ezek a CNV-k epigenetikai egyensúlyzavart idéznek elő a neuronokban, megváltoztatva a fejlődési és működési szabályozási mechanizmusokat.

Kutatásunk célja, hogy feltárja azokat a struktúrális elváltozásokat, amelyek a molekuláris diszregulációk mögött állhatnak.

Multidiszciplináris megközelítéssel vizsgáltuk a Gtf2i CNV transzgenikus egérmodelleket, valamint Williams-Beuren szindrómás és 7Dup diagnózissal rendelkező betegek indukált pluripotens őssejtekből származó agyi organoidjait. A minták morfológiai elemzését szövettani és ultrastruktúrális szinten, EM array tomográfiával végeztük az embrionális fejlődési szakaszoktól a fiatal felnőttkorig, illetve organoidok esetében 25–120 napos időintervallumban. A vizsgálatok az extracelluláris mátrix (ECM) komponenseire – különösen a hialuronsavra és kondroitin-szulfát proteoglikánokra –, valamint szinaptikus fehérjékre terjedtek ki.

Fény- és elektronmikroszkópos elemzéseink a dendritfejlődés diszorganizációját mutatták ki mind az egérmodellekben, mind a humán organoidokban. E szerkezeti rendellenességek új mechanisztikus összefüggésekre világítanak rá az idegrendszeri fejlődési betegségek patofiziológiájában, különös tekintettel az ECM dinamikájára, a dendritikus szerveződésre és az epigenetikai egyensúlyhiányra.

Kulcsszavak:

CNV, Williams-Beuren szindróma, Extracelluláris mátrix

A poszterek absztraktjai

P-01

3D Human Endothelial Models for Dilated Cardiomyopathy: ECM Remodelling and Impaired Angiogenesis

Lilla Jázmin Bakos¹, Hédi Nóra Maczelka¹, Ildikó Mária Ványi¹, Zsuzsanna Mihály¹, Péter Sótónyi¹, Tamás Radovits¹, Gábor Földes¹, Barbara Orsolits¹

¹ Heart and Vascular Centre, Semmelweis University, Budapest, Hungary

Background. Dilated cardiomyopathy (DCM) is the third most common cause of heart failure globally. Disease progression is linked to endothelial cell (EC) dysfunction, contributing to extracellular matrix (ECM) remodelling and fibrosis. Ex vivo analyses of DCM tissues have revealed increased ECM deposition and capillary rarefaction. To investigate these alterations in vitro, 2D and 3D models were established using hiPSC-derived ECs (hiPSC-ECs) and human primary ECs (pECs). The aim was to clarify vascular contributions to DCM pathophysiology using a disease-specific 3D model.

Methods. Macrovascular pECs were isolated from patients, microvascular pECs were isolated from explanted heart tissue. Ex vivo heart samples underwent immunohistochemistry, while cell cultures were analysed via immunocytochemistry. Quantification was conducted employing the integrated density relative to area measurement. Spheroid formation occurred through cell aggregation, subsequent embedding in ECM, and cultivation in low-attachment U-bottom plates. ECM deposition and angiogenic capacity were systematically assessed.

Results. Cardiac tissues from DCM patients were compared with control samples. DCM tissues and cells showed significantly increased ECM deposition. Ex vivo capillary rarefaction was observed in DCM samples. In vitro, DCM-associated hiPSC-ECs exhibited reduced angiogenic potential, demonstrating a clear functional impairment. Distinct ECM production patterns were detected between hiPSC-ECs and pECs which serve to underscore the pivotal role of cell source in disease modelling.

Conclusions. The 3D endothelial model developed and utilised in this study has been successfully aligned between hiPSC-ECs and both macro- and microvascular pECs. This model appears to be an excellent way to faithfully capture vascular pathologies associated with DCM in vitro.

Keywords: Disease modelling, DCM, ECM, angiogenesis

P-02

A Copine fehérjecsalád expressziós különbségeinek vizsgálatai daganatos és egészséges humán pigmentsejtekben

Balogh Lili Fruzsina¹, Kovács Patrik¹, Minh Ngoc Nguyen¹, Huber Emese¹, Matta Csaba¹, Hajdú Tibor¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

A Copine-ok (CPNE-k) kalcium függő, foszfolipid kötő fehérjék, amelyek oldott vagy membrán kötött formában találhatók meg a sejtekben. Kulcsfontosságú szerepük van a jelátvitelben és a transzmembrán transzportban. A fehérjecsalád kilenc tagból áll, amelyek közül nyolcat (CPNE2-9) azonosítottunk a sejtfelszíni fehérjék komparatív tömeg-spektrometriai vizsgálatával melanocitákban és melanóma sejtekben. Amíg a Copine-ok expressziójával kapcsolatos információk az UniProt adatbázis adataira és szakirodalmi forrásokra korlátozott melanociták esetén, addig a Copine-ok expressziójáról nincs adatunk melanóma sejtekben. Kísérletsorozatunk célja az volt, hogy jellemezzük a Copine fehérjék expresszióját és szubcelluláris elhelyezkedését melanocitákban és melanóma sejtekben.

Ehhez preputumból izolált primer melanocita sejt kultúrákat, illetve WM35 és A2058 melanóma sejt vonalakat használtunk. A Copine-ok mRNS expressziós profiljait RT-qPCR-al határoztuk meg. Az egyes sejt típusokban a Copine-ok expressziójában számos eltérést tapasztaltunk. A teljes sejt lízátumokon végzett Western blot analízis mindegyik sejt kultúrában megerősítette a CPNE3, 6, és 7 jelenlétét fehérje szinten is. A konfokális mikroszkópos vizsgálatok erősebb immunfestődést mutattak melanóma sejtekben a CPNE3, 6, és 7 esetében is. Meglepő módon mindhárom vizsgált Copine sejt magi jeleket mutatott melanóma sejtekben, azonban nukleáris szignálok a melanocitákban nem voltak detektálhatóak.

Kísérletsorozatunk elsőként igazolta a Copine fehérjék kifejeződését humán melanóma sejtekben, és számos megközelítésből, átfogóan és komparatívan elemezte az egyes Copine-ok expressziós profiljai közti különbségeket melanocitákban és melanóma sejtekben.

Kísérleteink eredményei alapján a Copine-ok a jövőben potenciálisan a klinikumban felhasználható biomarkerek lehetnek, a melanóma diagnózisában, kezelésében és követésében.

Kísérleteinket EKÖP-24-2-DE-103, A Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap-ból a Kulturális és Innovációs Minisztérium által meghirdetett Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Program támogatja.

Kulcsszavak: Melanóma, melanocita, biomarkerek

P-03

Humán Hofbauer-sejtek, trofoblasztok és azok anyai-magzati határfelületet hangoló kölcsönhatásának jellemzése

Baráth Benjámin Regő^{1,2,3}, Bojcsuk Dóra¹, Bene Krisztián^{1,3}, Marissa McGilvrey³, Szebeni Gábor János⁴, Alexander Schroeder³, João Carlos Ramalho de Freitas³, Deli Tamás⁵, Martin Trapecar³, Nagy László^{1,3}

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

² Molekuláris, Sejt- és Immunbiológiai Doktori Iskola

³ Johns Hopkins University, All Children's Hospital, Institute for Fundamental Biomedical Research

⁴ HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Funkcionális Genomika Laboratórium

⁵ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szülészeti és Nőgyógyászati Intézet

A Hofbauer-sejtek (HB-sejtek) a méhlepény magzati eredetű szöveti rezidens makrofágjai, melyek hozzájárulnak a placenta antimikrobiális védelméhez, szöveti szerkezetének kialakításához és metabolikus szabályozásához. Bár a HB-sejtek jelentőségét egyre jobban felismerjük, pontos funkcióik, más méhlepényi sejtekkel való interakcióik, egyedi génexpressziójuk, illetve az ezeket szabályozó mechanizmusok még számos ponton ismeretlenek. Projektünk célja az volt, hogy karakterizáljuk a harmadik trimeszteri, egészséges várandósságból származó HB-sejtek transzkriptomikai és epigenetikai jellemzőit. ATAC-seq (assay for transposase-accessible chromatin using sequencing) és bulk RNA-seq használatával elsőként jellemeztük részleteiben a HB-sejtek egyedi kromatinnyitottsági és génexpressziós profilját. Eredményeink alapján a HB-sejtekben az NR4A magreceptorok, a glükokortikoid receptor és az RFX transzkripció faktor család tagjai koordinált szabályozó hálózatot képeznek. Génexpressziós profiljuk alátámasztja az angiogenezisben, illetve a szöveti mikrokörnyezet finomhangolásában betöltött szerepük jelentőségét, illetve kirajzolja antimikrobiális funkciójuk hiányosságát. A CyTOF (cytometry by time of flight) vizsgálat alapján éretlen, átmeneti és érett alpopulációkat ismertünk fel a HB-sejteken belül.

Jelenleg is zajló kísérleteink során transzwell ko-kultúrákon keresztül a HB-sejtek és trofoblasztok interakcióját nem stimulált és (transzplacentáris vírusfertőzést mimikáló) Poly(I:C) (Polyinosinic:polycytidylic acid) stimulált körülmények között vizsgáljuk.

Kulcsszavak: méhlepény, Hofbauer-sejt, trofoblaszt, génexpresszió, epigenetika

Burján Tímea^{1,2}, Varga Virginia Beatrix^{1,2}, Lehocki Aliz¹, Varga Máté³, Vellai Tibor^{1,4}, Kovács Tibor¹

¹ Genetikai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest

² Biológia Doktori Iskola, ELTE TTK Biológiai Intézet, Budapest

³ Genetikai Tanszék, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest

⁴ HUN-REN-ELTE Genom Stabilitás Kutatócsoport, Budapest

Az autofágia egy sejten belüli lizoszómális lebontó folyamat, mely segít a homeosztázis fenntartásában. Egyik speciális formája a mitofágia, ami a mitokondriumok szelektív, lizoszómális lebontását jelenti. Azonban az autofágia (és mitofágia) hatékonysága az életkor előrehaladtával fokozatosan lecsökken, amely komoly időskorhoz kapcsolható betegségek kialakulásához is vezethet. Az autofágiának a sejtes homeosztázis fenntartása mellett egyedfejlődési és differenciációs szerepe is van.

Korábbi kutatásunkban az autofágia és a regeneráció egy formája a dedifferenciáció között találtunk kapcsolatot. Modellünkben a lecsökkent a csírvonal őssejtek (GSC) számának pótlását lehet tanulmányozni, ami a spermatogóniumok (SG) dedifferenciációjával valósul meg. Eredményeink alapján a mitofágia a Drosophila melanogaster hímek csírvonal regenerációjában is fontos szerepet játszik. Regenerációs esszé közben a membrán fúziós események gátlásakor egy nem várt jelenségre, a mitokondriumok alakváltozására (fánk alak megjelenése) lettünk figyelmesek.

Hipotézisünk szerint a Drosophila csírvonalában mitokondriumhoz kötött anyagcsere lecsökkentésére több útvonalon is létrejöhet: (1) lebontás mitofágia révén, (2) vagy alak változással történő inaktivációval. Célunk ezen útvonalak alaposabb vizsgálata és a folyamatok molekuláris hátterének megértése.

Ezen molekuláris szabályzás megismeréséhez RNS szekvenálással vetettük össze kontroll, regenerációs és regenerációs – lizoszóma fúzió gátolt kondíciókat. Több potenciális szabályozási pontot találtunk, amelyek alapján eltér a két vizsgált regenerációs állapot. A jövőben ezen fehérjék funkcióját kívánjuk alaposabban tanulmányozni regenerációs és mitokondrium lebontási zavarhoz kapcsolható betegségek modelleken.

Kulcsszavak: regeneráció, autofágia, csírvonal, mitokondrium, Drosophila

P-05

A LAT-1 aminosav transzporter csendesítése csökkenti a humán adipociták hőtermelésének cAMP-általi indukcióját ex vivo

Enyedi Nóra¹, Arianti Rini¹, Póliska Szilárd¹, Győry Ferenc², Csősz Éva¹, Fésüs László¹, Kristóf Endre Károly¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Intézet

A barna zsírszövet mitokondriumaiban az UCP1 az elektrontranszport-lánc és az ATP-szintézis szétkapcsolásával hőt termel, így fokozza az energiafelhasználást, ami potenciális célpont az elhízás és a diabétesz kezelésében. Az SLC7A5 gén kódolta LAT1 főként esszenciális aminosavak sejtbe juttatásáért felel. Előzetes eredményeink szerint nyaki humán barna adipociták db-cAMP által kiváltott adrenerg stimuláció során fokozottan vették fel a ciszteint, glicint és elágazó láncú aminosavakat, miközben nőtt a LAT1 és heterodimer partnere, a 4F2hc expressziója. Vizsgálatunk célja volt a LAT-1 jelentőségének megismerése a nyaki eredetű adipociták termogenikus aktivációja során.

Primer humán szubkután és mély nyaki zsírszövet-eredetű sztróma sejteket adipocitákká differenciáltattunk 14 napon át. Az SLC7A5 expresszióját kis interferáló RNS alkalmazásával csendesítettük 48 órán keresztül. Ezt követően a sejteket 10 óráig db-cAMP-vel kezeltük. A LAT-1 és a termogenikus gének, fehérjék kifejeződését RT-qPCR és western blot módszerrel határoztuk meg. A db-cAMP kezelés előtt és után begyűjtött kondicionált médiumokból meghatároztuk az aminosav fluxust. Az adipociták oxigénfogyasztását Seahorse XF96 Extracellular Flux Analyzer készülékkel mértük.

A LAT-1 csendesítése szignifikánsan csökkentette a transzporter mRNS és fehérje szintjét a szubkután és a mély nyaki adipocitákban. Ennek hatására mérséklődött a leucin, izoleucin, valin, szerin, glutamin és arginin felvétele. Az etomoxir rezisztens és a protoncsorgásos oxigénfogyasztás mértéke csökkent a LAT-1 csendesítés következtében. Az UCP-1 és egyéb termogenikus markerek és ehhez kapcsolt génexpressziós útvonalak kifejeződése szignifikánsan alacsonyabb volt a db-cAMP által kiváltott termogén aktiváció során, az SLC7A5 knock-down adipocitákban. Eredményeink arra utalnak, hogy a LAT-1 által biztosított aminosavak fontos szerepet játszanak az aktív hőtermelő adipociták energia háztartásában, valamint a termogenikus gének transzkripció programjának szabályozásában.

Kulcsszavak: hőtermelés, LAT-1, adipocita, géncsengesítés, UCP1

Falcsik Gergő¹, Keresztes Fanni¹, Juhász Annamária¹, Orbán Tamás^{2,3}, Kolacsek Orsolya⁴, Kovács Tibor¹

¹ Department of Genetics, Eötvös Loránd University (ELTE), Budapest, Hungary

² Doctoral School of Biology, Institute of Biology, ELTE Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary

³ Gene Regulation Research Group, Institute of Molecular Life Sciences, HUN-REN Research Centre for Natural Sciences

⁴ Institute of Enzymology, Research Centre for Natural Sciences, Budapest, Hungary

Az autofágia egy ősi, konzervált sejtfolyamat, mely elengedhetetlen az eukarióta élőlények számára. Segíti sejteink megújulását a káros struktúrák és a hibás organelumok lebontásával. Kimutatták azonban, hogy e folyamat hatékonysága az életkor előrehaladtával lecsökken. Ez a hanyatlás különösen veszélyes lehet a hosszú életű sejtekre, mint például a neuronok számára, amelyeknek életünk végéig el kell látniuk a funkciójukat és pótlásuk nem lehetséges. A megfigyelések arra utalnak, hogy a káros intracelluláris struktúrák felhalmozódása a neuronokban az autofágiához kapcsolódó savas lebontási útvonalak hibáinak tudható be, és ez különféle neurodegeneratív betegségek kialakulásához vezethet. Kutatócsoportunk elsődleges célja új autofág aktivációs célpontok azonosítása, elsősorban az idegsejtekben, miáltal javíthatjuk az autofág lebontás hatékonyságát az öregedő szervezetben. Hipotézisünk szerint ez elérhető lehet a lebontó vezikulák membránfúziós eseményeinek stimulálásával a kis GTPáz enzimek aktiválásán keresztül. Ahogy korábbi tanulmányunk kimutatta, a Rab2 kis GTPáz fehérje neuron-specifikus túltermelése pozitívan befolyásolja az autofágiát. Jelen kutatásunkban RNS-interferencia segítségével vizsgáltuk, hogy a TBC1 domén családba tartozó 12 különböző GTPáz-aktiváló fehérje (GAP) gátlása milyen hatással van a Rab2, illetve az autofág aktivitására. A vizsgált GAP-ok közül a legkedvezőbb eredményeket a *Drosophila* CG42795 mutatta, melynek csendesítése növelte az aktív Rab2 fehérjék mennyiségét, emelte az autofág lebontást és növelte az állatok átlagos élethosszát. Tanulmányoztuk e GAP gén humán ortológját a TBC1D30 csendesítését HeLa sejteken. A gén csendesítése humán sejtekben is a muslicában tapasztaltakhoz hasonlóan növelte az autofág aktivitást és az aktív Rab2 fehérjék számát. A jelenlegi kutatásunk kimutatta, hogy a GAP-ok gátlása új lehetőséget biztosíthat az autofág lebontó útvonalak szelektív szabályozására.

Kulcsszavak: *Drosophila*, autofágia, Rab, GAP, neuron

Farkas Kiara Gitta^{1,2}, **Vera Deli**¹, Vincze Katalin^{1,2}, Ece İlay Özgen³, Derin Gürler³, Lilienberg Julianna¹, Erdei Zsuzsa^{1,4}, Sarkadi Balázs^{1,4}, Réthelyi János Miklós⁵, Apáti Ágota¹

¹ Molekuláris Élettudományi Intézet, HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Budapest

² Semmelweis Egyetem Doktori Iskola, Budapest

³ Department of Molecular Biology and Genetics, Bilkent University, Ankara, Turkey

⁴ Salus Ltd., Budapest

⁵ Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

A skizofrénia sejt szintű betegségmechanizmusai még nem teljesen tisztázottak, noha a betegség kezelésére már számos antipszichotikum áll rendelkezésre. Munkánk során a ZYMND11 egy de novo, skizofréniához köthető mutációját vizsgáltuk indukált pluripotens összejtekből (iPSC) származó hippokampális neurális progenitor sejteken (NPC). Négy iPSC-vonalat differenciáltunk NPC-vé: betegből származó mutáns (Pat-Mut), annak CRISPR javított változata (Pat-Wt), egészséges kontroll (Ctrl-Wt), valamint annak mutáns verziója (Ctrl-Mut). Az NPC-ket 2D és 3D sejt kultúráként, illetve háromféle antipszichotikum (Haloperidol, Risperidone, Aripiprazol) kezelés után is vizsgáltuk. A 2D kultúrákban proliferációs és sebzési tesztek, míg a 3D modellben spheroidképződést, sejt kivándorlást és korai differenciációs morfológiát elemeztünk. A 2D vizsgálatokban nem mutatkozott jelentős különbség az antipszichotikumok hatására, és a mutáció proliferációra gyakorolt hatása sem volt egyértelmű. Ezzel szemben a 3D modellekben a mutáns spheroidok nagyobb méretűek voltak, kevesebb szórt sejtet produkáltak, melyek gyengébb migrációs képességet is mutattak, mint a vad típusúak. A gyógyszeres kezelések minden vad típusú vonalban csökkentették a sejt kivándorlást és a nyúlványok méretét, a betegből származó mutáns NPC-k esetében a haloperidol magas koncentrációi szignifikánsan csökkentették a spheroidokból kivándorló sejtek számát is. Korábbi transzkriptomikai elemzések csökkent extracelluláris mátrix- és sejtadhéziós génexpressziót mutattak a vizsgált NPC vonalakban, ami összhangban áll a megfigyelt migrációs deficittel és a spheroidok méretével. Az eredményeink kiemelik a sejtadhézió szerepét a skizofrénia korai idegfejlődési folyamataiban, valamint a 3D NPC modellek fontosságát a betegségek és gyógyszerhatások vizsgálatában.

Kulcsszavak: hiPSC spheroid skizofrénia betegségmodellezés antipszichotikum

P-08

Transposon silencing on two fronts: structural and functional analysis of the Small ovary (Sov) protein in *Drosophila*

Földi Zsuzsanna¹, Jankovics Ferenc¹, Erdélyi Miklós¹, Bence Melinda¹

¹ HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Szeged

Transposon silencing in *Drosophila* is achieved through Piwi/piRNA-pathway mechanisms, which recognize nascent TE transcripts, trigger transcriptional termination, and initiate heterochromatinization. The Panx protein has a critical role in this process by recruiting the Small ovary (Sov) protein to transposon loci. While the early steps of this process are well-understood, the precise molecular mechanisms initiated by Sov and the distinct roles of its different regions have been previously underexplored.

We generated several novel sov alleles to analyze the roles of the protein domains. Based on results from a series of genetic, biochemical and cell biological experiments, Sov provides efficient TE silencing through functionally distinct mechanisms. We have found that Sov participates in transposon silencing through two independent ways: the disordered region on N-terminal is capable of initiating RNA-based silencing through RNA-degradation, while the central region has a function in DNA-based heterochromatinization linked to HP1a and SUMOylation.

Our results demonstrate that Sov is central player in the transcriptional-level suppression of transposon activity as a multifunctional regulatory protein that can simultaneously initiate both RNA- and DNA-based silencing mechanisms.

Keywords: transposon silencing, *Drosophila*, Sov

A lumbosacralis ganglionléc-eredetű összejek szerepe a colorectum beidegzésének fejlődésében: új megközelítések az enterális idegrendszer regenerációjának kutatásában

Gáspár-Halasy Viktória¹, Gecse Zsanna¹, Soós Ádám¹, Jurenka Csenge¹, Szócs Emőke¹, Kaczur Bettina¹, Nagy Nándor¹

¹ Semmelweis Egyetem Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Össejt és Kísérletes Embriológia Laboratórium, Budapest

A megközelítőleg 100 milliárd idegsejtből álló, a központi idegrendszerrel magas szintű analógiát mutató enterális idegrendszert (ENS) egy jól meghatározott összejt populáció, a ganglionléc hozza létre. Az ENS irányítja a legfontosabb gasztrointesztinális funkciókat, mint például a perisztaltikát, a szekréciót, a nyálkahártya-transzportot, az immunvédelmet és az endokrin szabályozást. Fejlődési rendellenességei a bélrendszeri diszmotilitás egyik fő okát képezik, ezek közül a Hirschsprung-kór (HSCR) az egyik legjobban jellemzett veleszületett betegség (~1:5000), amelyet a distalis vastagbél különböző hosszúságú aganglionosisa jellemez. A HSCR patogenezise elsősorban a ganglionléc-eredetű progenitorsejtek migrációjának, proliferációjának vagy differenciációjának zavarára vezethető vissza. Ugyanakkor a betegség kórélettanához az ganglionmentes bélszakaszban megfigyelhető hipertrófiás külső idegrostok is hozzájárulnak, ezek embriológiai eredete azonban mindmáig nem teljesen tisztázott. A colorectum extrinsic idegrostjai a pelvis ganglionokból származnak, amelyek a lumbosacralis ganglionléc-eredetűek. Madármodellekben ezt a hálózatot tovább egészíti ki a Remak-ideg (NoR), egy ganglionokat tartalmazó, madarakra jellemző idegi struktúra, amely kiváló kísérleti rendszert kínál a külső enterális beidegzés vizsgálatára. A lumbosacralis ganglionléc-ből származó sejtek a külső idegrostok mentén a submucosába és a lamina propriába is képesek bevándorolni, és ilyen sejteket Hirschsprung-kóros mintákban is kimutattak. A lumbosacralis ganglionléc-eredetű sejtek szerepének feltárása érdekében célunk a differenciációs dinamikájuknak a nyomon követése az ENS fejlődése és a vastagbél kolonizációja során. Emellett madár ENS-ből származó idegi sejtaggregátumokat (neurosphere) is létrehozunk, amelyek új modellrendszert biztosítanak regenerációs potenciáljuk vizsgálatához. Bár egyelőre hipotetikus, hogy ezek a sejtek képesek lehetnek-e enterális ganglionok helyreállítására az aganglionotikus bélben, megközelítésünk ígéretes kísérleti platformot kínál az összejt-alapú ENS-rekonstrukció tanulmányozásához.

Támogató: NKFI138664; EKÖP-2024-2.1.1-EKÖP-2024-00004.

Kulcsszavak: bélidegrendszer, ganglionléc, neurosphere

P-10

A colon lamina propria SOX10+ sejtek karakterizálása és ontogenezisének jellemzése embryomanipulációs és transzgenikus módszerekkel

Gecse Zsanna¹, Soós Ádám¹, Szócs Emőke¹, Halasy Viktória¹, Nagy Nándor¹

¹ Semmelweis Egyetem Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Össejt és Kísérletes Embriológia Laboratórium, Budapest

Bevezetés: A bélidegrendszer (ENS) kritikus szerepet játszik a béltraktus működésben, embryonális kialakulásának zavarai veleszületett neurocristopathiakhoz vezet. A vastagbél ENS hiánya (Hirschsprung-kor; 1:5000 előfordulás) bélelzáródást okoz, elérhető gyógymód jelenleg a ganglionmentes bélszakasz reszekciója, amit visszatérő motilitási zavar, bélgyulladás kísér. Az ENS-t 14 féle neuron és 4 féle enterális gliasejt alkotja. Az enterális glia kiemelt szerepe a neuronok támasztása és az immunrendszer-ENS közti kapcsolat fenntartása. Vizsgálatok szerint muscularis gliasejtek GDNF növekedési faktor hatására neuronokká képesek differenciálódni, ami felveti Hirschsprung-koros bélbiopsziákból származó gliasejtek őssejtterápiás lehetőségét.

Célkitűzés: Korábbi kísérleteimben megfigyeltük, hogy a csirke embryok intesztinális kötőszövet mucosa rétegében nagy számú SOX10+ gliasejt található. Kutatásom célja a vastagbél lamina propria rétegében található enterális glia sejtek fejlődésének, differenciálódási képességének meghatározása csirke embryomanipulációval létrehozott ganglionmentes vastagbélben és egér Hirschsprung-kór állatmodellből származó vastagbélmintákon.

Módszer: Embryonális (n=12) és postnatalis (n=8) csirkék vastagbél metszeteit SOX10 (őssejt és glia marker) és beta III-tubulin immunfluoreszcens jelöléssel vizsgáltam konfokális mikroszkóppal. Posztnatalis Wnt1:tdT;EdnrB-KO egerek vastagbélében a gliasejteket SOX10 és S100 specifikus ellenanyagokkal jelöltem. A ganglionmentes CAM graftok SOX10+ sejtek differenciálódását GDNF kezeléssel vizsgáltam.

Eredmény: A SOX10+ mucosalis glia sejtek a 15. embryonális naptól kezdve kimutathatóak a csirke embryok colon lamina propriában. A Wnt1:tdT-EdnrB mutáns egerek colon ganglionmentes lamina propriában S100+ gliasejteket azonosítottunk. Embryomanipulációval létrehozott CAM-transzplantáció eredménye szerint a mucosalis glia sejtek nem a cervicalis dúlcél eredetű őssejtekből származnak.

Következtetés: A colon SOX10+/S100+ mucosalis gliák az ENS-től független sejtforrásból származnak. Extrinsic rostok mentén kerülhetnek be a vastagbél mucosa kötőszövetébe, amit embryomanipulációs kísérletekkel bizonyítottunk. A CAM-graftok tenyésztése lehetővé teszi, hogy a mucosalis glia differenciálódási képességét meghatározzuk.

Kulcsszavak: Bélidegrendszer, mucosalis glia, SOX10, embryomanipulatio

P-11

Idegi szferoidok kialakítása automatizált módszerek segítségével

Ben Mahmoud Maissa ¹, Geiselhardt Eszter ¹, Czirók András ¹, Tárnoki-Zách Júlia ²,
Schlett Katalin ¹, Tárnok Krisztián ¹

¹ Élettani és Neurobiológiai Tanszék, Biológiai Intézet, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest

² Biológiai Fizika Tanszék, Fizikai és Csillagászati Intézet, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Budapest

Az idegi fejlődés, illetve a neurodegeneratív betegségek sejtbiológiai folyamatainak in vitro 2D körülmények között történő vizsgálata gyakran alkalmazott technika, azonban a különböző sejttípusok közötti kölcsönhatások és így a szöveti körülmények modellezése kihívást jelent. Ezekben a modellrendszerekben gyakran hiányoznak a fejlődő idegrendszerben jelen lévő humorális faktorok, fizikai és kémiai jelátviteli mechanizmusok. Ezekre a problémákra jelenthetnek megoldást az idegi sejtekből származó háromdimenziós (3D) idegi szferoidok, melyek képesek modellezni az embrionális agyra jellemző szöveti szerveződést és sejttípus-összetételt.

A spontán fejlődő rendszerek ugyanakkor magukban hordozzák a variabilitás növekedését is, ezért célunk volt, hogy növeljük az embrionális agyszövet in vitro, 3D körülmények között történő tanulmányozásának hatékonyságát. Ehhez a BioConcept Kft-vel együttműködve egy robotizált rendszer segítségével (Spheromaker3D) hoztunk létre 3D idegi szferoidokat egér neuroepiteliális idegi sejtek felhasználásával (NE-4C sejtek), melyekben az idegi indukciót 48 órás all-transz retinsav kezeléssel (10⁻⁶M) indítottuk el. A 3D struktúrák kialakítását i) függőcseppben történő vagy ii) a sejtek letapadását gátló, ún. low-adhesive mikrokörnyezetben történő tenyésztéssel érték el. A szferoidok növekedését élő sejt mikroszkópos módszerrel és méretanalízissel követtük nyomon. A robotizált rendszer segítségével végrehajtott sejtdagolás és tápfolyadék csere jól reprodukálható, kevesebb mint 5%-os méret-variabilitással rendelkező aggregátumokat eredményezett, a szferoidok elvesztése nélkül. Minden szferoid NeuN-t kifejező, β -tubulin pozitív nyúlványokkal rendelkező, differenciált neuronokat tartalmazott, jelezve, hogy a tenyésztési rendszertől függetlenül a neuronális differenciáció sikeresen megkezdődött. Kimutattuk, hogy „clearing” technológiával a szferoidok felületétől 100 μ m-re lévő neuronok is láthatóvá tehetők.

A 3D neuronális szferoidok jól reprodukálható és automatizált kialakítása és fenntartása ígéretes eszközt nyújt farmakonok idegszövethez hasonló környezetben történő preklinikai teszteléséhez, segítve a módszer további standardizálását.

Kulcsszavak: 3D szferoid-modell, automatizált sejtenyésztő rendszer

Jusztus Vivien ¹, Hajdu Péter Béla ^{1,2}

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

² Fogorvostudományi Kar, Fogorvosi Biokémiai nem önálló Tanszék

Bevezetés és célkitűzés. A CD8+ T-sejtek fontos szerepet játszanak az immunfelügyelet folyamatában, amelyen keresztül csökkenthetik a tumor növekedését. A CD8+ T-sejtek ioncsatornáit, mint például a Kv1.3 és a KCa3.1, a T-sejtek negatív membránpotenciáljának stabilizálásával biztosítják a Ca^{2+} -függő jelátvitel hajtóerejét, ami citokin/granzim termeléshez és felszabaduláshoz vezet, amely hozzájárul a tumor eliminációjához. Ezen ioncsatornák különböző expressziós mintázattal rendelkeznek különféle daganatokban. Megvizsgáltuk a Kv1.3, KCa3.1 funkcionális szintjét emlődaganatos (BC), tüdődaganatos (LC) és prosztatárakos (PC) betegek véréből izolált CD8+ T-sejtjeiben. Úgy véljük, hogy a CD8+ T-limfociták megváltozott Kv1.3, KCa3.1 aktivitásának meghatározásával új biomarkert szolgáltatathatunk a daganatos megbetegedések diagnosztikájában.

Módszertan. A PBMC izolálásához sűrűség alapú gradiens centrifugálási módszert alkalmaztunk, majd a PBMC-ket 48 órán keresztül CD3/CD28 antitesttel bevont plate-en aktiváltuk. CD8+ T-sejteket monoklonális antitest adhéziós módszerrel (panning) szeparáltuk. A KCa3.1 és Kv1.3 áramok elektrofiziológiai jellemzésére patch-clamp technikát alkalmaztunk teljes-sejt konfigurációjában. Az áramokat 200 ms-os rámpa protokollal, 15 másodpercenként váltottuk ki, -120 mV-tól +50 mV-ig terjedőleg, -70 mV tartófeszültség mellett.

Eredmények. Kísérleteink segítségével kimutattuk, hogy KCa3.1 teljes-sejt vezetőképesség alacsonyabb azokban a CD8+ T-sejtekben, amelyek emlődaganatos és tüdődaganatos, női donoroktól származnak, míg a Kv1.3 konduktancia magasabb volt prosztatadaganatos donoroktól származó CD8+ T-sejtekben, az egészséges donorokhoz képest.

Következtetés. Úgy véljük, hogy eredményeink hozzájárulhatnak a CD8+ T-sejtek működésének és ioncsatornáik tumoros betegségekben betöltött szerepének megértéséhez. Ezen adatok egyértelmű korrelációt mutatnak a daganat rosszindulatúsága és a Kv1.3/KCa3.1 konduktancia aránya között.

Támogatók: DETKA, NKFIH K128525 (HP); EKÖP-25-4 (JV).

Kulcsszavak: Kv1.3, KCa3.1, tüdődaganat, prosztatárak, emlődaganat

P-13

A septinek és a raktár vezérelt kalcium belépés szerepe melanómában

Balogh Krisztián ¹, Fodor János ², Minh Ngoc Nguyen ¹, Zhangzheng Wang ¹,
Balogh Lili Fruzsina ¹, Huber Emese ¹, Matta Csaba ¹, Csernoch László ²,
Takács Roland ¹, Hajdú Tibor ¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Debrecen

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Debrecen

A raktár vezérelt kalcium belépés (SOCE), amelyet a STIM1-ORAI1 komplex közvetít, számos sejtfuncióhoz elengedhetetlen. Szabályozási zavarai többféle betegség, köztük daganatok, például a melanóma kialakulásában is szerepet játszanak. Feltételeztük, hogy a septinek, a citoskeletális fehérjék egy családja, elengedhetetlenek a hatékony SOCE-hoz szükséges funkcionális STIM1-ORAI1 komplex kialakulásában. Hipotézisünk szerint a septinek magasabb rendű struktúráik létrehozásával és dinamikus átrendezésével járulnak hozzá ehhez a komplexképződéshez. Projektünk célja volt megvizsgálni a septinek szerepét a SOCE-ban humán melanóma sejtekben.

Vizsgálatainkhoz in situ (WM35) és metasztatikus (A2058) melanómából származó sejtvonalakat alkalmaztunk. A septin-filamentumok dinamikáját gátló forklorfenuronral (FCF; 200 μ M) történő kezelés szignifikánsan csökkentette a melanóma sejtek migrációját, invázióját és osztódását. Ezen eredmények megerősítése érdekében csendesítettük a SEPTIN7-et, amely elengedhetetlen a septin-filamentumok kialakulásához. A SEPTIN7 sikeres csendesítését mRNS- és fehérjeszintjének mindkét sejtvonalban észlelt jelentős csökkenése alátámasztotta. Intracelluláris Ca^{2+} -mérések kimutatták, hogy a SOCE amplitúdója és meredeksége is szignifikánsan csökkent a SEPTIN7-csendesített sejtekben. A SEPTIN7 csendesítése emellett jelentősen csökkentette a sejtek osztódását és migrációját. A transzkriptomikai analízis kimutatta, hogy a SEPTIN7 csendesítése az A2058 sejtekben jelentős változásokat eredményezett a citoskeletális átrendeződést és sejtmigrációt szabályozó gének expressziójában; bár a WM35 sejtekben is hasonló tendenciák voltak megfigyelhetők, ezek kevésbé voltak kifejezetek.

Eredményeink arra utalnak, hogy a septinek, a raktár vezérelt kalcium belépés közvetítésével, alapvető szerepet játszhatnak a melanóma patomechanizmusában.

Kulcsszavak: kalcium, septin, melanóma, géncsendesítés

Harsányi Boglárka¹, Zhangzheng Wang¹, Matta Csaba¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Debrecen

Az ízületek betegségei, például az osteoarthritis (OA) kezelésére szolgáló hagyományos terápiás módszerek eredményessége korlátozott. Ennek egyik oka, hogy a porcszövet kialakulását irányító molekuláris folyamatok nem kellőképpen ismertek. A semaphorinok (SEMA) számos szövet fejlődésében és működésében játszanak szerepet. Bizonyos SEMA-k OA porcsejtekben overexpressziót mutatnak. A leggyakrabban használt porcdifferenciációs modellek SEMA jelátviteli eszköztárának expressziós profiljáról, illetve ezek funkcionalitásáról azonban nem rendelkezünk információkkal.

Jelen munka célja a SEMA jelátvitel tanulmányozása volt a porcdifferenciáció molekuláris szabályozásának tanulmányozására általánosan használt kísérleti modellekben. A porcdifferenciáció tanulmányozásához két in vitro modellt használtunk. Csirke- vagy egérembriók végtagtelepeiből izoláltunk mesenchymalis sejteket, amelyekből spontán differenciálódó micromass sejt kultúrákat állítottunk elő. A porcosodó kultúrákat 1, 3, 6 vagy 10 napig tartottuk fent. A fenti napokon RNS-t izoláltunk, majd RNS- szekvenálást végeztünk, az eredményeket pedig az R platformban elemeztük. A SEMA jelátvitel tagjainak expressziós profilja alapján alacsony és magas expressziós csoportokra osztottuk a géneket, és ez utóbbi géneket választottuk ki a további analízishez. Az egér modell esetében a Plxn2 és az Nrp2 mutatta a legmagasabb expressziós szintet, ami arra utal, hogy domináns szerepet játszhatnak a porcképződésben. A Sema3a kezdetben növekvő, majd csökkenő tendenciát mutatott. Ezzel szemben a csirke modell esetében a SEMA3F és a SEMA3B magasabb expressziós szintje utalt domináns szerepükre. Ezután súlyozott gén ko-expressziós hálózatelemzést (WGCNA) végeztünk, hogy megtaláljuk a hasonlóan expresszáló géneket tartalmazó modulokat. A modulokon belül fehérje-fehérje interakciós (PPI) hálózatokat azonosítottunk, és meghatároztuk az egyes alhálózatok központigénjeit.

Analízisünk révén génexpressziós hálózatokat azonosítottunk, és meghatároztuk a primer porcdifferenciáció során a SEMA jelátvitel tagjainak átfogó jellegű, rendszerszintű profilját a két vizsgált modellben.

Kulcsszavak: Stem cell research, differentiation, chondrogenesis

P-15

A sejtszintű éhezés és a cirkadián óra befolyásolásának kapcsolata melanóma sejtekben

Huber Emese¹, Katona Éva¹, Minh Ngoc Nguyen¹, Zhangzheng Wang¹,
Balogh Lili Fruzsina¹, Zákány Róza¹, Matta Csaba¹, Hajdú Tibor¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Debrecen

A daganatos sejtek túlélésében meghatározó szereppel bír a tápanyag-elérhetőség és a belső biológiai óra működése. A cirkadián ritmus és a metabolizmus szoros kapcsolata ismert, azonban a biológiai óra farmakológiai befolyásolásának és a sejtszintű éhezésnek a kombinált hatása melanómában kevésbé ismert terület. Kutatásunk célja ezen kapcsolat vizsgálata volt egy, a betegség progresszióját modellező sejtvonal panelen (normál humán epidermális melanocita; WM35 – in situ melanóma; A2058 – invazív melanóma).

A sejteket 2x2 faktoriális elrendezésben kezeltük a CK1δ/ε kináz gátlószereivel, Longdaysin-nel (LDS), tápanyagmegvonással kombinálva vagy anélkül. A melanóma sejteken végzett citotoxicitási és PER2 génexpressziót feltérképező előkísérleteink a 10 µM LDS-kezelést találták optimálisnak vizsgálatainkhoz. A sejtek életképességét MTT, míg a sejtsztódást CYQUANT assay-vel határoztuk meg. Eredményeink alapján a tápanyagmegvonás szignifikáns mértékben csökkentette a melanóma sejtek túlélését, különösen a korai stádiumú WM35 sejtvonal esetében. Mivel az epidermális melanociták kevésbé mutattak érzékenységet a metabolikus stresszre, ezért az in situ melanóma sejteken kapott eredmények a daganat progressziójának egy metabolikusan sérülékeny fázisára utalnak. Ezzel szemben a cirkadián óra LDS általi modulációja önmagában nem gyakorolt szignifikáns hatást az egészséges és daganatos pigmentsejtek vitalitására.

Bár a cirkadián óra közvetlen modulációja nem bizonyult hatásosnak a sejtek túlélésének befolyásolásában, a sejtszintű éhezésre adott markáns válasz a melanóma egy fontos metabolikus gyengeségét tárja fel. Eredményeink hangsúlyozzák a metabolikus adaptáció központi szerepét a betegség előrehaladásában.

Kulcsszavak: cirkadián; melanocita; melanóma; éhezés; longdaysin

P-16

A Piezo csatornák kapcsolata a mechanikai stresszel és a cirkadián szabályozással a chondrogén micromass tenyészetekben

Juhász Krisztián¹, Ducza László¹, Matta Csaba¹, Takács Roland¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Debrecen

Bevezetés és célkitűzés: A porc szövet sejtjei, a chondrocyták, nemcsak a mechanikai terhelésre reagálnak, hanem endogén cirkadián ritmusokat is mutatnak. A túlzott mechanikai inger ezen egyensúly felborulásához vezethet, hozzájárulva az osteoarthritis (OA) patogeneziséhez. A mechanoszenzitív Piezo1 és Piezo2 ioncsatornák központi szerepet töltenek be a sejtek mechanikai érzékelésében, ugyanakkor kapcsolatuk a cirkadián szabályozással mindeddig nem teljesen tisztázott. Kutatásunk célja a Piezo1/2-mediált mechanotranszdukció és a cirkadián óragének közötti kölcsönhatás feltérképezése chondrogén micromass kultúrában.

Módszertan: Primer csirke végtagbimbóból származó chondrogén micromass kultúrákat alkalmaztunk in vitro modellként. A Piezo1/2 csatornák expresszióját siRNS-mediált géncsendesítéssel gátoltuk, míg a mechanikai ingert uniaxiális dinamikus terhelést képező gép biztosította. A mintákat 24–42 órán keresztül, 6 órás időközönként gyűjtöttük. A génexpressziós változásokat RT-qPCR-rel, a sejtek életképességét MTT-tesztel, a mátrixképződést metakromázias festéssel vizsgáltuk.

Eredmények: A Piezo1/2 gátlása fokozott extracelluláris mátrixszintézissel és mérsékelt emelkedett metabolikus aktivitással járt. A mechanikai stimuláció időfüggő módon aktiválta az AKT-, ERK-, CREB- és YAP/TAZ-jelátviteli útvonalakat. A 42 órás mintákban cirkadián óragének (PER2, REV-ERB) és pluripotenciafaktorok (SOX2, NANOG, POU5F1) felülreprezentáltságát figyeltük meg.

Következtetés: Eredményeink arra utalnak, hogy a Piezo1/2 csatornák közvetítő szerepet töltenek be a mechanikai stressz és a cirkadián szabályozás között chondrogén sejtekben. A mechanotranszdukció és az óragén-aktiváció közötti kapcsolat új perspektívát nyithat a korai OA-folyamatok molekuláris megértésében és potenciális terápiás célpontok azonosításában.

Támogató: A kutatást a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH, FK-134304), a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, valamint a Kultúráért és Innovációért Felelős Minisztérium által finanszírozott EKÖP-24-4 és EKÖP-24-3 programok támogatták.

Kulcsszavak: Chondrocyta, Piezo-csatorna, Cirkadián óra

P-17

Hirschsprung-kór kísérletes modellezése és neurális őssejttranszplantációja embryomanipulációs módszerekkel

Jurenka Csenge Lili¹

¹ *Anatómia, Szövet-és Fejlődéstan Intézet, Semmelweis Egyetem*

Bevezetés: Gerinces embriókban a cervicalis somiták szintjéről származó dúcléc eredetű őssejtek az előbél mesenchymájába lépnek, majd a fejlődő bélcső falában kialakítják az enterális idegrendszer (ENS). A sejtváándorlás vagy az azt szabályozó molekulák hibái ENS-fejletlenséget és ganglionmentes bélszakaszt okoznak, amely a Hirschsprung-kór alapja. A betegségre jellemző a disztális vastagbél beidegzésének hiánya és a súlyos bélelzáródás. Egyetlen terápiája jelenleg a ganglionmentes bélszakasz sebészi eltávolítása, amelyet gyakran magas morbiditás kísér. TDK-munkám célja új őssejttranszplantációs megközelítés vizsgálata kísérletes Hirschsprung-modellben. **Anyag és módszer:** Elsőként egy olyan embryonális HD-modellt dolgoztunk ki, amely génmódosítás nélkül is ganglionmentességet mutat a disztális colorectumban, és alkalmas idegi őssejttranszplantáció vizsgálatára. Ehhez in vivo és in vitro kísérleteket végeztünk kondroitin-szulfát-proteoglikánnal (CSPG) kezelt 2 napos csirkeembriókkal (n=85) és azokból explantált velőcsövekkel. A CSPG-vel kezelt, chorioallantois membránon fejlődő ganglionmentes utóbeleket fűrj embryonális bélfalból izolált neuronokból alapított sejttaggregátumokkal (neurospherekkel) transzplantáltuk (n=8).

Eredmények: Az in vitro eredmények szerint a CSPG a korai dúclécsejt vándorlást gátolta, ellentétben a fibronektinnel, ahol intenzív sejt migrációt figyeltünk meg. A CSPG hatását in vivo kísérletben, 2 napos embryo cervicalis dúclécbe injektálva igazoltuk, ahol 8 napos inkubálást követően az izolált utóbeleekben eltérő mértékű, csökkent beidegzést figyeltünk meg. Igazoltuk, hogy a transzplantált neurospherekből származó prekursorok képesek voltak kolonizálni a fogadó bélszövetet, és enterális Hu+/Tuj1+ ganglionok differenciálódtak belőlük.

Következtetés: In vitro és in vivo kísérletekkel igazoltuk a CSPG sejtváándorlásra kifejtett gátló hatását. Sikeresen modelleztünk ganglionmentes utóbél transzplantációt tenyésztett neurospherekkel, amelyek az ENS regenerálása révén a jövőben alternatív terápiát jelenthetnek.

Kulcsszavak: dúclécsejt, őssejtterápia, Hirschsprung betegség

Huber Emese ¹, Minh Ngoc Nguyen ¹, Balogh Lili Fruzsina ¹, Daan van der Veen ², Zákány Róza ¹, Hajdú Tibor ¹, Matta Csaba ¹, Katona Éva ¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Debrecen

² Chronobiology Section, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Surrey, Guildford, Egyesült Királyság

A cirkadián óra egy, nagyjából 24 órás ciklusban működő belső óra-rendszer. A molekuláris óra működéséért óragének felelősek (BMAL1/2, CLOCK, PER1/2/3, CRY1/2, REVERB, RORA), amelyek ritmikus expressziója számos gén aktivitását irányítja, ezáltal a sejt folyamatok széles körét befolyásolja. A cirkadián óra működésében fellépő zavarok megfigyelhetők különböző daganatokban. Vizsgálatunk célja a cirkadián óra működésének vizsgálata és összehasonlítása egészséges és daganatos pigmentsejtekben.

Kísérleteink során humán bőrből izolált primer melanocyt kultúrát, valamint in situ WM35 és metasztatikus A2058 melanoma sejt vonalakat használtunk. A kontroll körülmények között tenyésztett sejtek egyik csoportján 2 órás szérum sokkot (50% FBS-t tartalmazó RPMI-1640 medium) végeztünk, majd 3 napon keresztül 8 óránként mintát vettünk mindkét kísérleti csoportból. Az óragének mRNS expresszióját RT-qPCR-rel, a protein expressziót pedig teljes sejtlizátumokon végzett Western blot analízissel vizsgáltuk.

Az óragének mRNS expresszióját kimutattuk az egészséges és a malignus pigmentsejtekben is, azonban ritmus-mintázatuk jelentős eltérést mutatott. A melanocyták óragén mintázatai szabályosak, a pozitív és a negatív szabályozók antifázisban vannak egymással. Ezzel ellentétben a melanoma sejtek óragénjei szabálytalan, olykor 24 órát meghaladó ritmussal rendelkeznek kontroll körülmények között, míg a szérum-sokk szinkronizáció rendezettebb és 24 órás periódusidőhöz közelítő génexpressziókat eredményezett. A BMAL1, CRY és PER3 fehérjeexpresszióját mindhárom sejtben kimutattuk. Megfigyeltük, hogy a fehérjeexpressziók időbeli változást mutatnak, valamint a szérum sokk hatással van azokra minden vizsgált sejt típusban, azonban az adatok részletes elemzése jelenleg is tart.

Munkánk során összehasonlítottuk az egészséges és daganatos pigmentsejtek cirkadián óra komponenseinek kifejeződését. Megfigyeltük, hogy a melanoma sejtekben zavart szenvedett cirkadián ritmus szérum sokkal részlegesen reszinkronizálható. Eredményeink alapján feltételezzük a cirkadián ritmus rendellenes működését a melanoma sejtekben.

Kulcsszavak: cirkadián óra, melanocyt, melanoma

Keresztes Fanni¹, Gálíková Ramóna¹, Balog Tünde Mónika¹, Szenci Győző²,
Takáts Szabolcs², Kovács Tibor¹

¹ELTE, Genetikai Tanszék, Budapest

²ELTE, Anatómiai, Sejt- és Fejlesztésvilógiai Tanszék, Budapest

Az autofágia egy létfontosságú lebontó folyamat a sejtekben, amely a sérült részecskék vagy sejtalkotók eltávolításával fenntartja a homeosztázist és az idegsejtek egészségét. Azonban a folyamat hatékonysága az életkor előrehaladtával csökken. Számos módszer létezik az autofágia fokozására: serkenthetjük új autofág struktúrák kialakulását vagy vezikulák fúziós lépéseit. Azonban mi a megoldás, ha a lebontás továbbra sem hatékony, és a működésképtelen sejtorganelumokból származó toxikus komponensek felhalmozódnak az autolizoszómában?

Jelen kutatásban az anterográd transzport indukálásával kívántuk a lizoszomális exocitózist fokozni, ezáltal potenciálisan káros komponensek eltávolítása elősegíthetné a sejtek túlélését.

Korábbi kísérleteinkben az Arl8 kis GTPáz fehérjét vizsgáltuk, amely elősegíti az endoszómá-lizoszóma és az autofagoszóma-lizoszóma fúziót, és a kinezin-1 motorfehérjéhez kötődve kulcsszerepet játszik az anterográd transzportban. Eredményeink szerint az Arl8 neuronális aktiválása meghosszabbítja az élettartamot, javítja az állatok reakcióidejét és fokozza az autofágiát. Célunk az Arl8 fehérjét szabályozó aktivációs pontok azonosítása. A GTPáz aktiváló fehérjék (GAP-ok) olyan enzimek, amelyek inaktíválják a kis GTPáz fehérjéket. A GAP-ek csendesítésével növelhetjük az Arl8 aktivitását. Hipotézisünk szerint bizonyos GAP-ok gátlása aktiválhatja az Arl8-at, fokozhatja az anterográd transzportot, ezáltal növelve a lizoszomális exocitózist.

Megállapítottuk, hogy bizonyos GAP enzimek csendesítése befolyásolja az Arl8-pozitív lizoszomális struktúrák számát és helyzetét. Mikroszkópos kísérleteink során azt találtuk, hogy többféle GAP gátlása is hozzájárul a vezikulák perifériás felhalmozódásához. Úgy tűnik, sikeresen növelhettük a lizoszomális exocitózist a vezikulák anterográd transzportjának serkentésével. Néhány GAP gátlása fokozta az Arl8 aktivitását az idegrendszerben, ezáltal javította az idősebb állatok mászási képességét és meghosszabbította élettartamukat. Emellett növelték az autofágia hatékonyságát is. Eredményeink hozzájárulhatnak olyan gyógyszer-molekulák kifejlesztéséhez, amelyek elősegíthetik az öregedő neuronok túlélését.

Kulcsszavak: autofágia, *Drosophila*, lizoszóma exocitózis, öregedés

Communication between microglia and neural progenitor cells derived from human stem cells

Khloud Gamal Abdelsalam^{1,2}, Márk Gere¹, Krisztina Tóth³, Ádám Dénes³, Ágota Apáti¹,
László Homolya¹

¹ Institute of Molecular Life Sciences, HUN-REN Research Center for Natural Sciences, Budapest

² Doctoral School, Semmelweis University, Budapest

³ HUN-REN Institute of Experimental Medicine, Budapest

Neural progenitor cells (NPCs), playing a crucial in neural development and regeneration, hold great potential for stem cell-based therapies for conditions affecting neural cells or tissues. These include various neurodegenerative diseases, ischemic stroke, as well as traumatic brain and spinal cord injuries. A major obstacle of the stem cell-based therapies is the limited integration of transplanted cells into neural tissue. Application of human induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived NPCs or partially differentiated neural cells may alleviate these difficulties. The initial step of NPCs' differentiation is the outgrowth of neurites, which is determined by a combination of internal and external factors. Microglia, the brain-resident macrophage, patrolling the central nervous system, may also affect NPC differentiation. However, cell migration is key to the establishment of the NPC-microglial interaction. Our aim is to elucidate the molecular mechanisms that determine microglial migration and the neurite outgrowth and mobilization of NPCs. We have previously demonstrated that BV2 cells (murine microglia) stimulated either toward pro- or anti-inflammatory direction enhanced elongation of neurites of human iPSC-derived NPCs, and that pro-inflammatory microglia even promoted NPCs' proliferation. Now we analyzed the effect of pro- (IFN γ , LPS) and anti-inflammatory (IL 4, IL 13) stimulation on BV2 microglia morphology and motility using high content screening and analysis (HCS) combined with wound healing assay. We also investigated the major cytokines secreted by BV2 cells using a flow cytometry-based method. The results from our study may help to elucidate the molecular details of the complex interactions between microglia and NPCs.

Keywords: microglia-NPC interaction, cytokine signaling

P-21

Az ABCG2 sejten belüli mozgásának vizsgálata – a reciklizáló endoszómák szerepe

Körmendi Petra¹, Homolya László¹

¹ HUN-REN TTK, Molekuláris Élettudományi Intézet, Budapest

Az anyagok felvétele, kiválasztása és eloszlása a szervezetünkben a különböző fiziológiai határfelületek (bél, a máj, a vese, a vér-agy gát stb.) mentén szigorúan szabályozott módon történik. Ezek a barrierек polarizált epitél vagy endotél sejtekből állnak, amelyekben számos transzporter fehérje polarizált módon fejeződik ki. Az ABC fehérje-szupercsaládhoz tartozó multidrog-transzporterek, amelyek rendkívül sokféle vegyületet ismernek fel transzportált szubsztrátként, kulcsszerepet játszanak a fenti folyamatban. Ezek egyike az ABCG2, melynek elsődleges szubsztrátja a húgysav. Az ABCG2 fehérje mutációi, például a Q141K és M71V variánsok a húgysav kiválasztás zavarát okozhatják, ami hiperurikémiát és köszvényt okozhat.

Az ABCG2 transzporter a sejten belül a plazmamembránban helyezkedik el, polarizált sejtekben azon belül az apikális membránrészben. Néhány ABC transzporter (pl. ABCB11) a sejten belül vezikulákban elhelyezkedve egy belső rezervoárt képez, amely szükség esetén mobilizálható a sejtfelszínre. Kutatásunk általános célja, hogy az ABCG2 sejten belüli mozgását (trafficking-jét) minél pontosabban feltárjuk mind nem-polarizált, mind polarizált sejtekben.

A trafficking vizsgálatokhoz egy dinamikus módszert használunk, az ún. RUSH (Retention Using Selective Hook) rendszert, melyben a GFP-vel címkézett ABCG2 szinkronizált módon elindítható egy sejt-kompartmentből (pl. az endoplazmatikus retikulumból) és nyomon követhető a sejten vándorlása során. Jelen vizsgálataink eredményei arra utalnak, hogy az ABCG2 először rab11a-pozitív reciklizáló endoszómákban halmozódik fel, majd ezt követően jut el a sejtfelszínre. További vizsgálataink arra irányulnak, hogy feltárjuk más vezikulák lehetséges szerepét a folyamatban, valamint, hogy megismerjük az ABCG2 mozgását polarizált hámsejtekben. Távolabbi célunk a betegséget okozó mutáns variánsok trafficking-jének a feltérképezése, valamint korrekter molekulák azonosítása a jövőbeli terápiás cél érdekében.

P-22

A mio-inozitol kezelés barnulási programot indukál humán fehér adipocitákban ex vivo

Lőrinczi Viktória¹, Kristóf Endre Károly¹, Arianti Rini¹, Pólska Szilárd¹, Győry Ferenc²,
Fésüs László¹, Bai Péter³

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Intézet

³ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Vegytani Intézet

Bevezetés és célkitűzés: Az emberi szervezetben három adipocita típus található: fehér, barna és bézs. A fehér adipocita fő feladata a triacilglicerol raktározása, míg a barna uncoupling protein 1 (UCP1)-mediált hőtermelést végez. A bézs adipociták fehér zsírszövetből képződnek barnulás során, amelyet hideg, fizikai aktivitás vagy étrendi tényezők válthatnak ki. Előzetes adataink szerint a mio-inozitol transzporter (SLC2A13) expressziója adrenerg stimuláció hatására indukálódott a humán nyaki eredetű adipocitákban. A mio-inozitol számos szövetben megtalálható ciklohexán-hexol, mely policisztás ovárium szindrómában szenvedő betegek metabolikus és hormonális paramétereinek javításában a metforminhoz hasonló hatást fejtett ki és szignifikánsan csökkentette a testtömeg-indexet. Vizsgálatunk célja a mio-inozitol kezelés hatásának feltárása volt a nyaki eredetű adipociták differenciációja során.

Módszertan: Pajzsmirigyműtéten átesett betegek szubkután fehér és mély nyaki barna zsírszövet biopsziáiból sztrómális-vaszkuláris frakciót (SVF) izoláltunk. Az SVF-ből származó preadipocitákat 14 napig differenciáltattuk mio-inozitol (140 μ M) jelenlétében vagy hiányában. A termogenikus és mitokondriális marker gének és fehérjék expresszióját RT-qPCR-al és western blottal vizsgáltuk. Az oxigénfogyasztási (OCR) és extracelluláris savasodási rátát (ECAR) Seahorse XF96 Flux Analyzer-rel mértük.

Eredmények: Mio-inozitol hatására nőtt az UCP1, PGC1a és CITED1 expressziója, valamint a mitokondriális komplexek alegységei a fehér adipocitákban, míg a barna adipocitákban változás nem jelentkezett. A mio-inozitol jelenlétében differenciált fehér adipociták bazális OCR és ECAR értéke emelkedett, amely fokozott mitokondriális és glikolitikus aktivitásra utal. A glükózfelhasználás növekedését az SLC2A3 gén felszabályozódása biztosíthatta.

Következtetések: Eredményeink arra utalnak, hogy a mio-inozitol fokozza a humán nyaki szubkután eredetű fehér adipociták barnulását, mely biztonságos és költséghatékony terápiás stratégiát nyithat az elhízás és az inzulinrezisztencia elleni küzdelemben.

Kulcsszavak: Adipociták, hőtermelés, mio-inozitol

P-23

Cell-Matrix Interactions and endothelial dysfunction in Lamin A/C-related Dilated Cardiomyopathy via Stem Cell-derived Tissue Engineering Platforms

Hédi Nóra Maczelka^{1,2}, Barbara Orsolits², Lilla Jázmin Bakos², Ildikó Mária Ványi², Luca Anna Joó-Bors², Márton Sági³, Béla Merkely², Ágota Apáti⁴, Gábor Földes²

¹ Doctoral School of Semmelweis University, Budapest, Hungary

² Heart and Vascular Center, Semmelweis University, Budapest, Hungary

³ Department of Pathology and Experimental Cancer Research, Semmelweis University, Budapest, Hungary

⁴ Institute of Molecular Life Sciences, HUN-REN Research Centre for Natural Sciences, Budapest, Hungary

Introduction and objective. LMNA-related dilated cardiomyopathy (DCM) is an autosomal dominant disorder. Endothelial dysfunction induced by LMNA mutations may play a key role in DCM pathogenesis, though the specific endothelial phenotype in this cardiovascular disease remains unclear. A human induced pluripotent stem cell (hiPSC)-based tissue-engineered model have been used in order to investigate how LMNA mutations influence endothelial cell (EC) behavior and extracellular matrix (ECM) interactions in DCM.

Methods. Cardiac tissue samples were collected from healthy donors (n=7) and DCM patients with confirmed LMNA mutations (n=10) from the Semmelweis University Heart and Vascular Centre Transplantation Biobank. Tissue remodeling was assessed using histological and immunohistochemical analyses, and ECM composition was characterized via LC-MS/MS proteomics. Decellularised matrices from both healthy and DCM hearts were reseeded with hiPSC-derived ECs from healthy (n=3) and LMNA-mutant (n=3) donors to study cell-matrix interactions.

Results. The native DCM tissue samples showed cardiomyocyte hypertrophy, increased pericellular fibrosis, and capillary rarefaction. Immunohistochemistry revealed elevated levels of Lumican, von Willebrand Factor, and Collagen III in DCM tissues. Proteomic analysis identified 192 ECM proteins, with 13 significantly upregulated in DCM (p<0.05), including Lumican, consistent with histological findings. Recellularised matrices supported EC viability, phenotype maintenance, long-term proliferation, and functional maturation.

Conclusion. This hiPSC-based model of LMNA-related DCM provides insights into cell-ECM interactions and the molecular mechanisms of endothelial dysfunction. Our findings highlight the mechanisms driving vascular abnormalities in DCM and further expanding our understanding of this complex disease.

This project was funded by the grants RRF-2.3.1-21-2022-00003, TKP2021-EGA-23, and OTKA K146125.

Keywords: LMNA-DCM; endothelial dysfunction; tissue engineering

P-24

Basigin (CD147) emerges as potential quantitative biomarker from comparative proteomic analysis of the surfaceome of human epidermal melanocytes and melanoma cells

Minh Ngoc Nguyen¹, Lili Fruzsina Balogh¹, Emese Huber¹, Patrik Kovács¹,
Klaudia Dócs¹, Clare Coveney², David J Boockock², Csaba Matta¹, Tibor Hajdú¹

¹ Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Debrecen

² John van Geest Cancer Research Centre, Nottingham-Trent University, Nottingham, United Kingdom

The surfaceome comprises all extracellularly-exposed plasma membrane proteins. The surfaceome is crucial for determining phenotype, but it remains uncharacterized in human pigment cells. Our study aimed to define and compare the surfaceome of primary epidermal melanocytes, in situ melanoma (WM35), and metastatic melanoma (A2058) cells to identify novel biomarkers. We used a glycocapture strategy with aminooxy-biotin labeling and shotgun mass spectrometry (LC-MS/MS) for discovery, followed by qPCR, western blot, and immunocytochemistry for validation.

Surfaceome enrichment was successful (56.9-70.1%). We identified 470 proteins, with 112 specific to melanocytes and 186 to melanoma cells. The biomarker candidate basigin (CD147) was identified by proteomics exclusively in metastatic cells. However, validation methods revealed a more complex picture: while qPCR showed basigin mRNA in all cell types, western blots detected basigin only in melanoma cells. Surprisingly, confocal microscopic evaluation of immunocytochemistry reactions revealed basigin expression in the plasma membrane in all three cultures, with signal intensity correlating with malignancy.

These findings suggest that the potential of basigin as a melanoma biomarker is likely quantitative, based on expression levels, rather than its mere presence or absence. Our work highlights the necessity of multi-level validation in surfaceome proteomics to uncover clinically relevant targets.

Keywords: surfaceome, melanocyte, melanoma, proteomics, biomarker

Dynamic regulation of HIF1A during human adipocyte differentiation and thermogenic activation

Parthasakha Giri^{1,2}, Endre Kókai³, Zsolt Sarang⁴, Gábor Ditrói⁵, Zoltán Péter⁶, Zoltán Balajthy⁴, Ferenc Györy⁵, Judit Zsuga⁷, László Fésüs⁴, Beáta B. Tóth¹

¹ University of Debrecen, Faculty of Health, Institute of One Health, Department of Infection Control and Hospital Epidemiology, Debrecen, Hungary

² Doctoral School of Molecular Medicine, University of Debrecen, Faculty of Medicine, Debrecen, Hungary

³ University of Debrecen, Faculty of Medicine, Institute of Medical Chemistry, Debrecen, Hungary

⁴ University of Debrecen, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Debrecen, Hungary

⁵ University of Debrecen, Clinical Centre, Department of Surgery, Debrecen, Hungary

⁶ University of Debrecen, Clinical Centre, Department of Dermatology, Debrecen, Hungary

⁷ University of Debrecen, Faculty of Medicine, Department of Psychiatry, Debrecen, Hungary

Bevezetés. A Hipoxia Indukálódó Faktor 1 (HIF1A) transzkripció faktor központi szerepet játszik az oxigénellátottság és az energia-homeosztázis szabályozásában, de funkciója az emberi zsírsejtek differenciálódásában és termogén folyamataiban kevésbé ismert. Célunk a HIF1A és kapcsolódó gének expressziójának és fehérjeszintjének elemzése volt különböző humán zsírraktárakból származó preadipocitákban és differenciált adipocitákban, az oxigénellátottság, termogén aktiváció és inzulinjelátvitel összefüggésében.

Módszerek. Humán hasi és nyaki zsírszövetből izolált sztromasejteket fehér és barna adipogenezis protokollokkal differenciáltunk. A sejteket normoxiás, hipoxiás és cAMP-analóggal stimulált körülmények között vizsgáltuk. A HIF1A dinamikáját RNS-szekvenálással, fehérjeszint-meghatározással és immunfluoreszcens lokalizációval követtük.

Eredmények. Az RNS-szekvenálás 91 hipoxiával kapcsolatos génből (KEGG) 42 differenciált expresszióját mutatta az adipogenezis során, főként a PI3K-Akt, Ras és Rap1 útvonalakban, jelezve a jelátviteli útvonal átrendeződését. A preadipocitákban és az érett adipocitákban alternatív angiogenikus és glikolitikus izomerek domináltak (GLUT1/GLUT4, VEGFC/VEGFD, ANG1/ANGP2, LDHC/LDHD és B). A HIF1A fehérje szintje magas volt a progenitor sejtekben, míg differenciáció után jelentősen lecsökkent. Hipoxia és cAMP egyaránt növelte a HIF1A szintjét érett adipocitákban, utóbbi pszeudohipoxiás stabilizációt jelez. Immunfestéssel hipoxiában magi, míg cAMP stimuláció során magi és citoplazmatikus HIF1A lokalizációt detektáltunk. Az UCP1 termogénikus markerfehérje szintje cAMP hatására emelkedett, míg az alacsonyabb inzulin szinten történt differenciáció önmagában megemelte az UCP1-t, de nem befolyásolta a HIF1A-t.

Következtetés. Eredményeink alapján a HIF1A szintjét a sejtek fejlődési állapota, az oxigénellátottság és a termogén stimuláció szabályozza, ugyanakkor az UCP1 indukció különböző mechanizmusai eltérő módon befolyásolják a HIF1A akkumulációját. A HIF1A integratív szerepet tölthet be a környezeti és jelátviteli jelek közvetítésében, és új célpont lehet az anyagcsere-betegségek terápiájában.

Kulcsszavak: HIF1A adipogenezis pszeudohipoxia termogenezis UCP1

P-26

Extraembrionális vérképző őssejtek karakterizálása madár embrió túlélő szikhólyag tenyészetében

Fejlesztés ¹, Kocsis Katalin ¹, Nagy Nándor ¹

¹ Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

A szikhólyag, mint elsőként funkcionáló vérképző hely, biztosítja a korai egyedfejlődéshez szükséges oxigén transzportot és immunfunkciókat ellátó vérsejtalkok fejlődését. A vérképzést célzó kutatások jelentős modell állatai a madarak, mivel tojásban végbemenő embriógenézisük megkönnyíti a korai in vivo, kísérleteket.

Immuncitokémiai festéseket alkalmazva, a vérképző őssejteket jelölő monoklonális ellenanyagokkal (CD45, CD44, QH1, 7H3) nagyszámú, kerekded sejtet detektáltunk korai stádiumú (HH10-HH26) csirke és gyöngytyúk embriók szikhólyagjaiban. A 36 órás embrió (HH10) szikhólyagi vérszigetei az intraembrionális vérkeringéstől függetlenül fejlődnek. A későbbi stádiumokban (HH15-HH26) a szikhólyagi CD45+/CD44+ illetve QH1+/7H3+ hematopoietikus sejtek in loco képződésének bizonyítása érdekében, egy új, embrió ablációs technikát fejlesztettünk ki, amely lehetővé teszi az extraembrionális vérképzés során kialakuló vérképző sejtalkok elkülönítését, a keringés útján szikhólyagba jutó intraembrionális hematopoietikus sejtektől. Az embrió abláción átesett, majd in ovo tovább tenyésztett szikhólyagban egyesével vagy csoportosával, az érhalózat endothel rétegéhez asszociált CD45+/CD44+ illetve QH1+/7H3+ hematopoietikus sejteket azonosítottunk. Phosphohistone-H3-mal detektált QH1+ sejtek igazolják a sejtosztódás meglétét az in ovo tenyésztett szikhólyagokban. A 3-4 napig fenntartott, túlélő tenyészetek alkalmas modellnek bizonyultak az extraembrionális hematopoietikus őssejteiből differenciálódó vérsejtalkok karakterizálására is. A korai tenyészetekben is detektálható Lep100+ macrophagok, CD51/61+ thrombocyta és erythrocyta mellett, később megjelentek az in loco differenciálódó Grl-1+ granulocyta, a CSF1R+ macrophagok, valamint a csirke lymphoid sejtvonalára jellemző EIVE12 antigént expresszáló sejtek is.

Összefoglalva: immuncitokémiai és embriómanipulációs eredményeink azt mutatják, hogy a fejlett szikhólyag területén kimutatható hematopoietikus sejtek egy része endothelio-hematopoietikus átalakulás útján in loco keletkeznek és differenciálódnak, létrehozva olyan további sejtalkokat (granulocyta, CSF1R+ macrophagok, lymphoid sejtvonalhoz tartozó sejtek), amelyek nem jellemzőek a korai primitív vérképzésben.

Kulcsszavak: szikhólyag, vérképzés, hematopoietikus őssejt, csirke

P-27

Cecal growth factors promote enteric neurosphere formation and hindgut colonization in the avian model

Soós Ádám¹, Szócs Emőke¹, Jurenka Csenge¹, Gecse Zsanna¹, Gáspár-Halasy Viktória¹, Nagy Nándor¹

¹ *Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet*

The enteric nervous system (ENS) arises from neural crest cells (NCCs) that migrate along the gut and differentiate into enteric ganglia. Disruptions in this process cause congenital disorders such as Hirschsprung disease, characterized by aganglionic segments of the colon. The enteric neurosphere technique enables isolation and culture of ENS-derived stem cells (ENSCs) for regenerative therapies, but optimal protocols remain undefined. Because developmental interactions between NCCs and the gut microenvironment are conserved in mammals and birds, the avian embryo provides a powerful model for ENS research.

This study evaluated the yield and neurogenic potential of ENSCs from the large intestine of late embryonic and post-hatch chickens, with the aim of refining neurosphere culture methods. Intestinal cells were cultured in Neurocult Basal Medium supplemented with glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), Wnt11, Endothelin-3, and Noggin (GWEN), cecal growth factors that influence enteric neural crest-derived cell (ENCDC) development. Neurospheres generated from mCherry transgenic embryos were maintained for 7 days, transplanted into embryonic day 5 aganglionic ceca, and grown on the chorioallantoic membrane in ovo for 8 additional days.

GWEN supplementation significantly enhanced ENSC proliferation, producing larger neurospheres with increased neuronal content. Upon transplantation, these cells migrated efficiently and differentiated into appropriate neural crest-derived lineages. These findings demonstrate that targeted growth factor exposure improves avian neurosphere generation and functional integration, highlighting the utility of the chicken model for studying ENS development and the therapeutic potential of growth factor-based strategies for ENS disorders.

Keywords: Hirschsprung, neurosphere, ENS, transplantation, neural-crest

Vágó Judit¹, Arjun Harish Kumar¹, Kovács Patrik¹, Juhász Krisztián¹, Matta Csaba¹

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Debrecen

Az alacsony oxigénnyomást az ízületi porc fontos szabályozójaként tartják számon, mivel az érett porcsejtek, mint e szövettípus fő alkotói, avaszkuláris környezetben találhatók. A molekuláris cirkadián óra transzkripció faktorait a hypoxia-indukálható faktorok (HIF-ek) képesek modulálni terminálisan differenciált chondrocytáknak, azonban a porcfejlődés korai szakaszára jellemző chondroprogenitor sejtekben a cirkadián ritmus és a HIF-ek közötti szabályozó kapcsolatáról kevés információval rendelkezünk. Tanulmányunk célja az volt, hogy vizsgáljuk a hypoxia hatásait in vitro porcfejlődés során, illetve megvizsgáljuk, hogy a stabilizált HIF expresszió képes-e óraszinkronizációt előidézni a chondroprogenitor sejtekben.

A chondroprogenitor sejteket 4,5-napos csirke embriók végtagtelepeiből izoláltuk. A sejteket 15 millió sejt/ml-es koncentrációban cseppentettük ki, így a kultúrákban 6 tenyésztési nap alatt lezajlik az in vitro porcdifferenciáció. A kultúrákat indirekt formában 100 nM dimetiloxalilglicin (DMOG) kezelőanyaggal kezeltük (amely egy hypoxia-indukáló szer), emellett direkt hypoxiás kezelés formájában hypoxiás inkubátorba helyeztük (1% O₂, 10% CO₂) a tenyésztés 0. napjától 24 órára. Metakromáziás festéssel megfigyeltük a porcspecifikus extracelluláris mátrix (ECM) termelődését. RT-qPCR reakciókkal porcmarkerek (SOX9 - SRY-Box Transcription Factor 9, COL2A1 - Collagen Type II Alpha 1 Chain, ACAN - aggrecan), cirkadián óra markerek (BMAL1 - Basic Helix-Loop-Helix ARNT Like 1, CRY1 - Cryptochrome Circadian Regulator 1, PER2 - Period Circadian Regulator 2), és a HIF1a gén expresszióját vizsgáltuk. MTT teszttel nyomon követtük a porcsejtek mitokondriális aktivitását.

Megfigyeltük, hogy a hypoxiás jelátviteli út vonal indirekt és direkt indukciója stimulált porcfejlődést eredményezett, de a változás mértéke eltért. A DMOG-kezelés növelte a chondroprogenitor sejtek proliferációs képességét és az ECM termelődését, míg a hypoxiás inkubátor alkalmazása határozottabb óraszinkronizációt okozott a vizsgált markergének expressziójában.

Kulcsszavak: Porcdifferenciáció, hypoxia, cirkadián óra, DMOG

Species-Specific Roles of CCN Proteins in Cartilage Development: A Comparative Study Using in vitro Chondrogenic Models

Zhangzheng Wang¹, Judit Vágó¹, Szilárd Pólska², Eun-Jung Jin³, Roland Takács¹, Bernard Perbal⁴, Csaba Matta¹

¹ University of Debrecen, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Histology and Embryology, Debrecen

² University of Debrecen, Faculty of Medicine, Genomic Medicine and Bioinformatics Core Facility, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Debrecen

³ University of Wonkwang, Department of Biological Sciences, Iksan, Jeonbuk, South Korea

⁴ International CCN Society, Nice, France

CCN (CYR61/CTGF/NOV) proteins are matricellular regulators implicated in cartilage formation, yet their species-specific roles during chondrogenesis remain incompletely understood. Here, we present a comparative analysis of CCN gene expression patterns across three widely employed in vitro chondrogenic differentiation models: chicken embryonic limb bud-derived micromass cultures, mouse embryonic limb bud-derived micromass cultures, and human mesenchymal stem cell (hMSC) chondrogenic cultures. Each model offers distinct experimental advantages, from the accessibility and robust cartilage-forming capacity of avian systems, to the genetic manipulability of murine cultures, and the direct clinical relevance of human MSC-based differentiation.

Using bulk RNA sequencing and principal component analysis (PCA), we observed conserved clustering of transcriptomes by culture age along the principal component 1 axis in all systems, indicating shared temporal maturation trajectories. However, differential expression profiling revealed species-specific patterns of CCN family gene regulation, suggesting divergent functional contributions to cartilage extracellular matrix (ECM) assembly and signaling modulation.

These findings highlight both conserved and unique aspects of CCN-mediated regulation in vertebrate chondrogenesis. Such comparative insights can inform the choice of model system for mechanistic studies and may guide strategies for cartilage tissue engineering and regenerative medicine.

Keywords:

chondrogenesis; CCN; transcriptomics; osteoarthritis;