

Immunsejtek adhéziójának vizsgálata

Székács Inna (MTA EK MFA Nanobioszenzorika Lendület Csoport)

Kellermayer Miklós (SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet)

Szabó Bálint (ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék)

Sándor Noémi (MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoport)

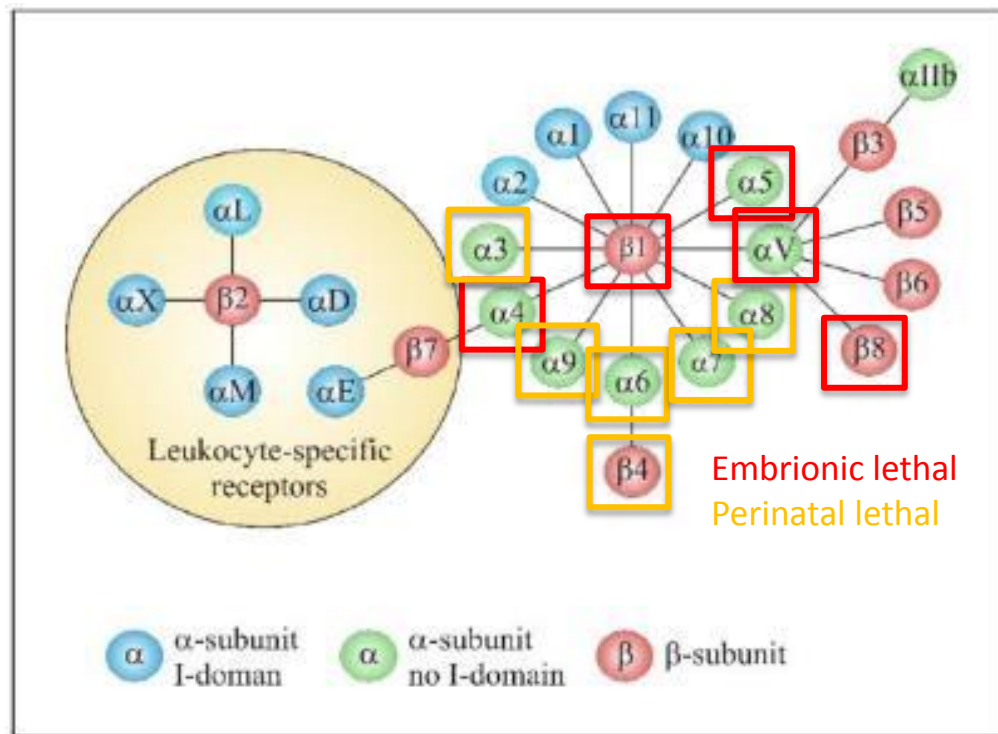


A $\beta 2$ integrinek szerepe és kifejeződése

- Nem kovalensen kapcsolt α és β alegység
- Citoszkeletonhoz kapcsolt
- Sejt-sejt, sejt-ECM kapcsolatok közvetítése



Migráció, sejtosztódás, túlélés, génexpresszió, RTK jelátvitel, mechanikai erők érzékelése



Gahmberg, 2009, *Biochim Biophys Acta*

Immunsejt specifikus $\beta 2$ (CD18) integrinek:

LFA-1 : CD11a/CD18

CR3 (Mac1): CD11b/CD18

CR4 (p150,95): CD11c/CD18

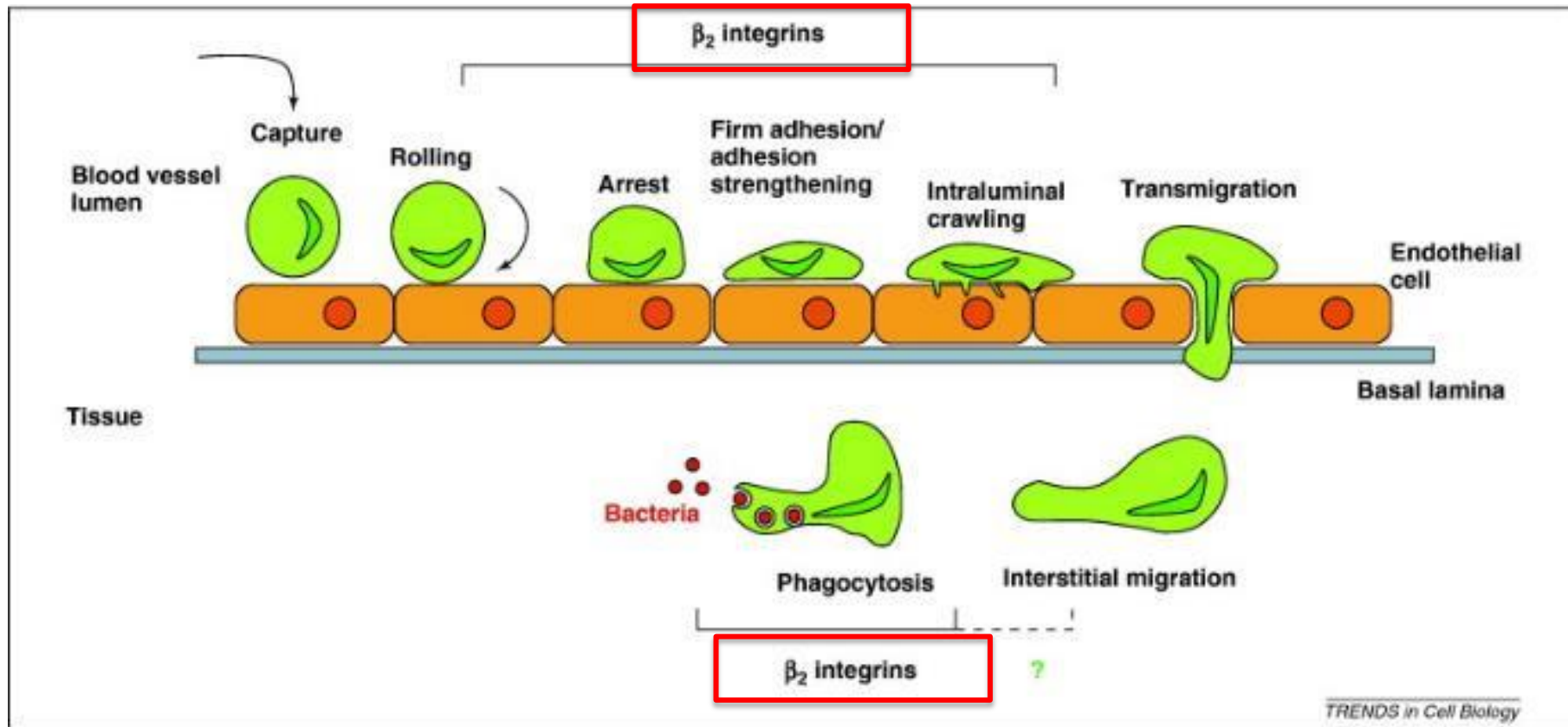
$\alpha D\beta 2$

Psoriasis

SLE

SLE

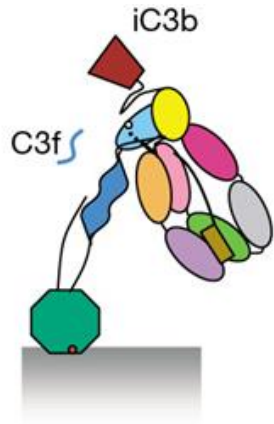
A β_2 integrinek szerepe és kifejeződése



Schymeinsky, Trends in Cell Biology, 2011

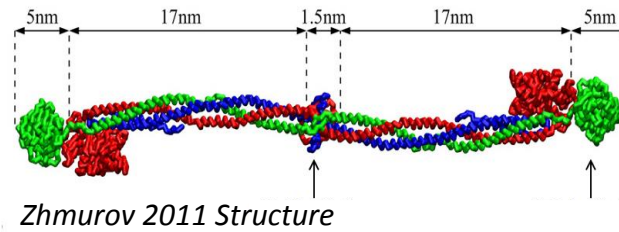
A $\beta 2$ integrinek ligandumkötése

iC3b

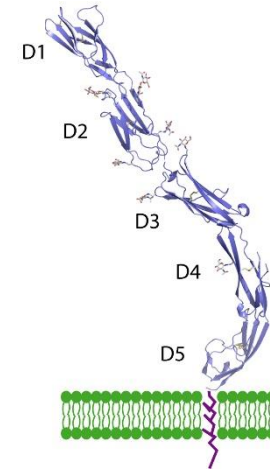


Janssen 2006 Nature

fibrinogén



ICAM-1



Feltételezett redundancia és átfedő funkciók

A $\beta 2$ integrinek expressziója

egér

CD11b



CD11c



ember

CD11b



CD11c



A CD11b/CD18 és CD11c/CD18 funkciója valóban redundáns?

Célkitűzések

A CD11b/CD18 és CD11c/CD18 integrinek szerepének meghatározása az adherenciában

- Receptorok blokkolása specifikus ellenanyaggal
- Receptorok csendesítése siRNS technikával
- Kontakt felszín minőségi elemzése

Alkalmazott technikák:

- Klasszikus módszerek (adherens sejtek számának végponti meghatározása)
- Optikai bioszenzorral végzett kinetikai mérések
- Sejtadhézió erőviszonyainak meghatározása mikropipettával
- Kontakt felszín analízise epifluoreszcens, konfokális, és TIRF mikroszkópiával

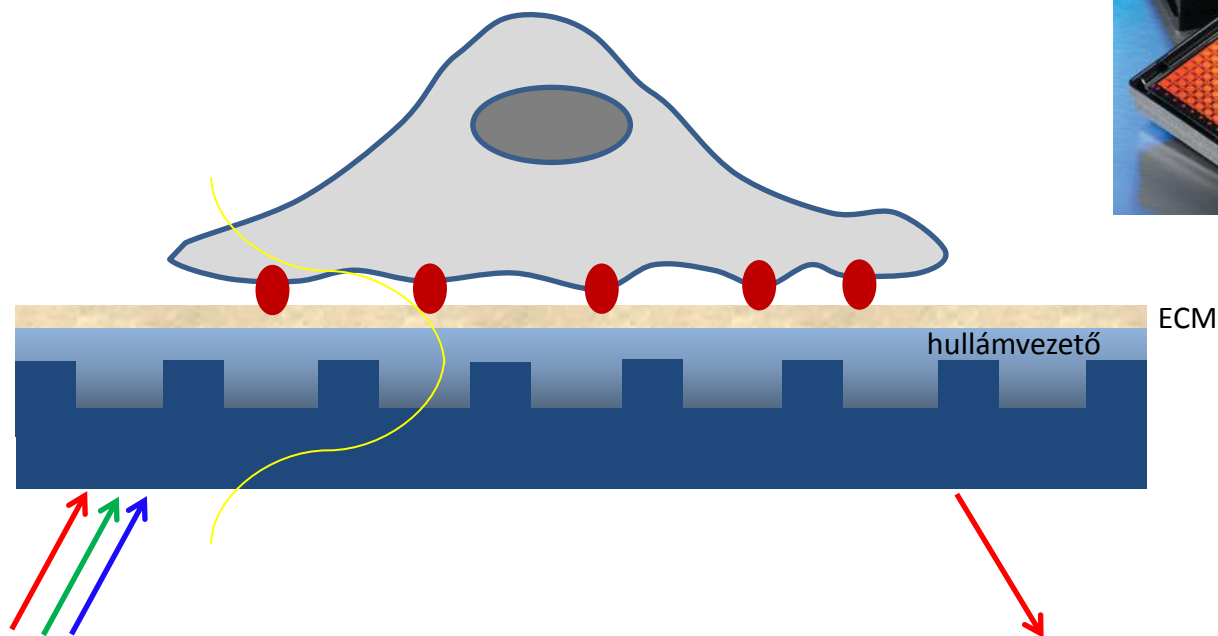
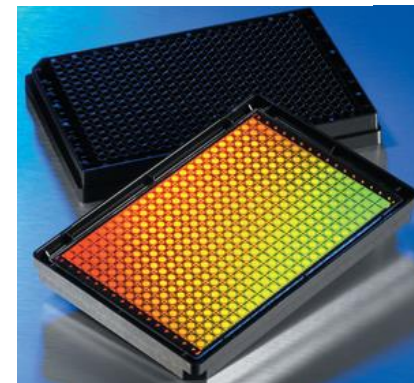
Sejtadhézió mérése optikai bioszenzorral

Székács Inna

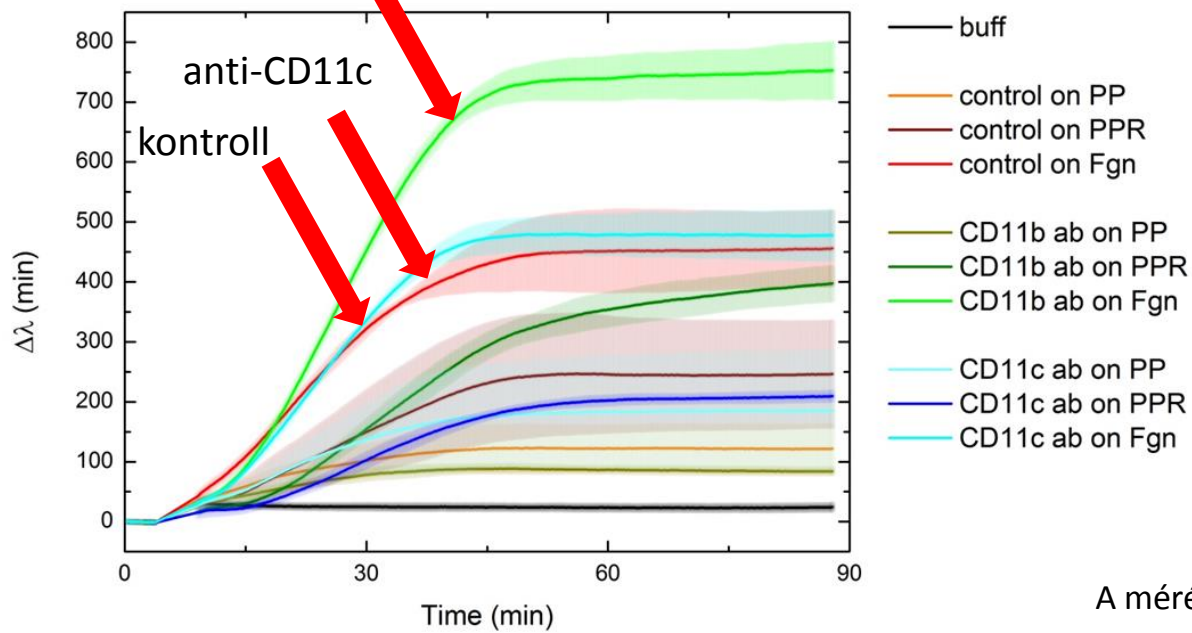
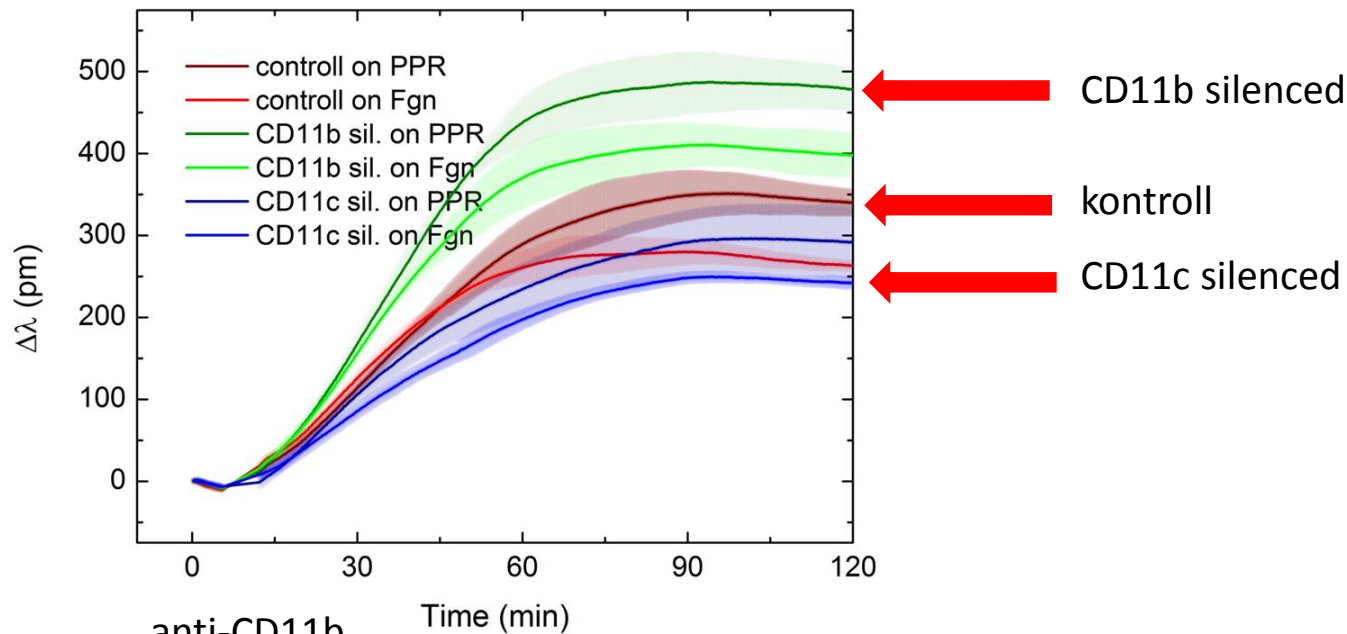
MTA EK MFA Nanobioszenzorika Lendület Csoport

Corning Epic® BT

- nagy áteresztőképességű optikai bioszenzor (96-, 384-lyukú mikrotálcával)
- jelölésmentes
- valós idejű felszíni kötődési folyamatok nyomon követésére



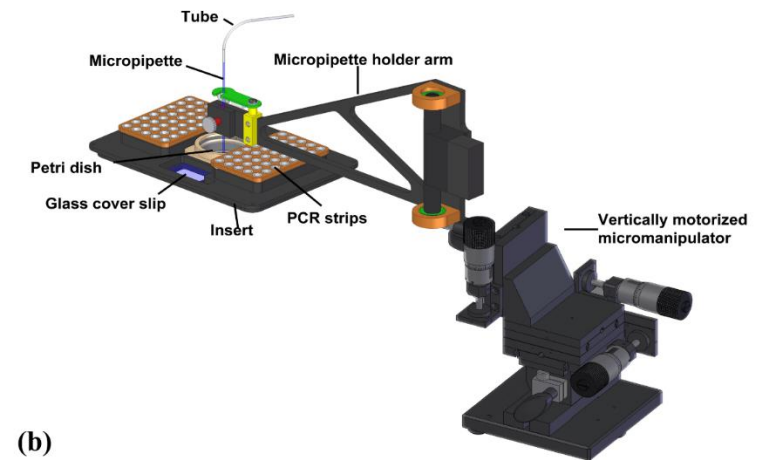
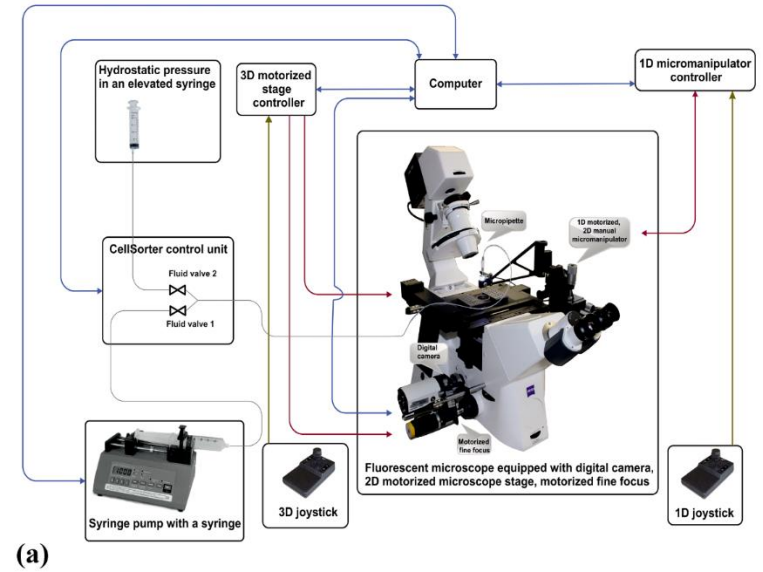
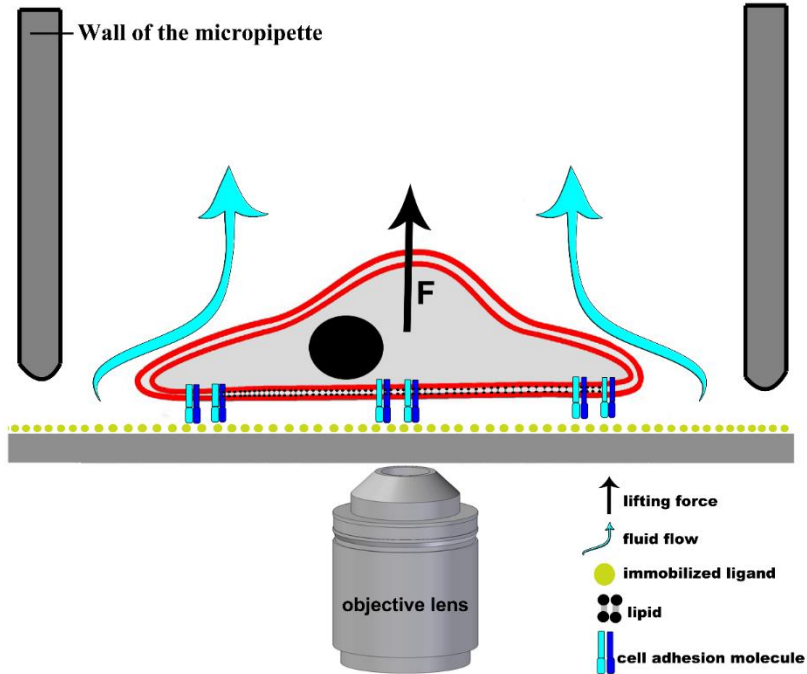
Adhézió kinetikus mérése optikai bioszenzorról



Egyedi sejtek adhézions erejének mérése automata mikropipettával

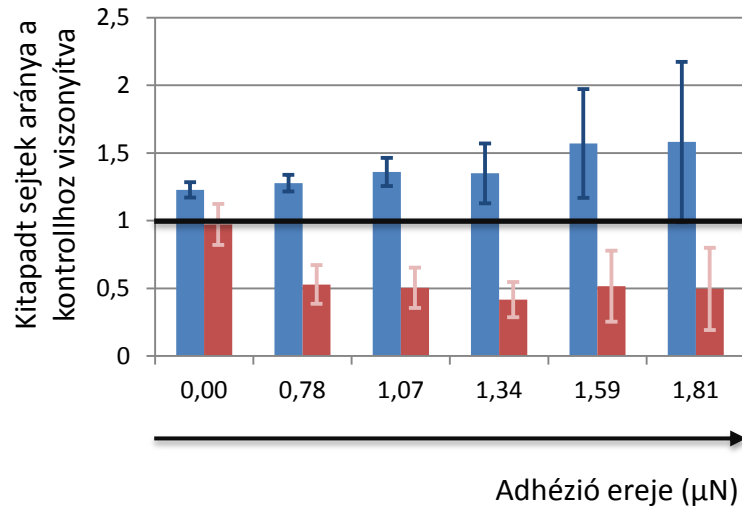
Szabó Bálint

ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék

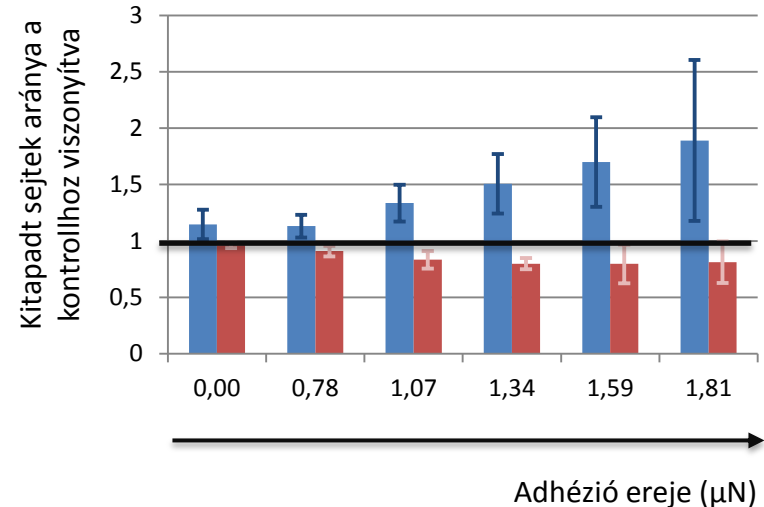


Adhézió erejének mérése mikropipettával

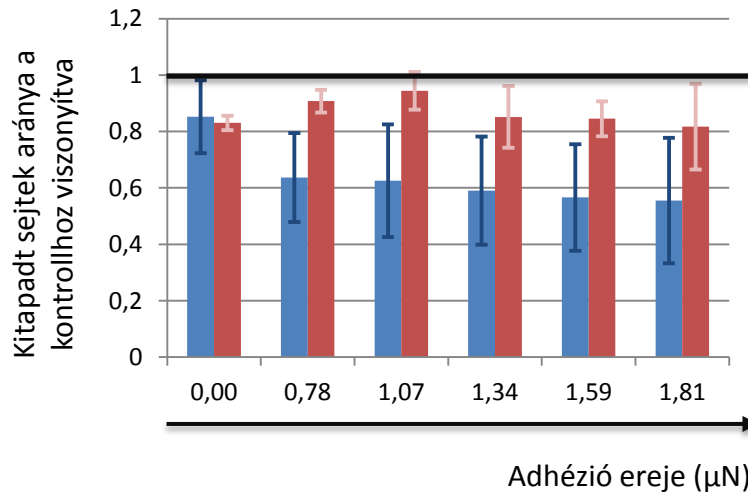
makrofág



DC



monocita



anti-CD11b
anti-CD11c

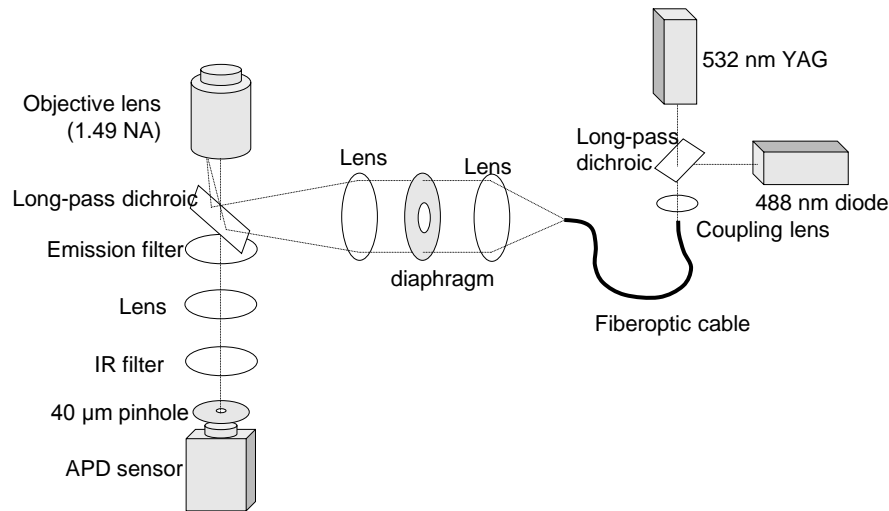
siRNS csendesítés hasonló eredményeket adott

Kontakt felszín elemzése – TIRF mikroszkópia

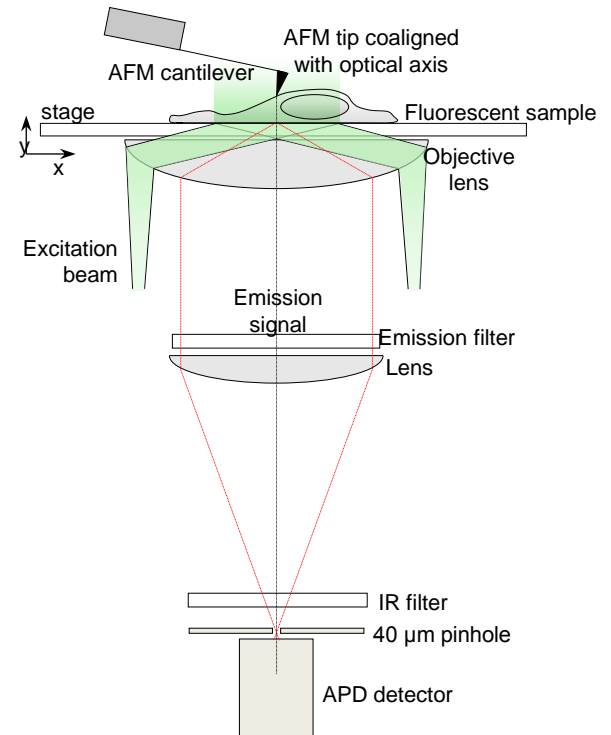
Kellermayer Miklós

SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

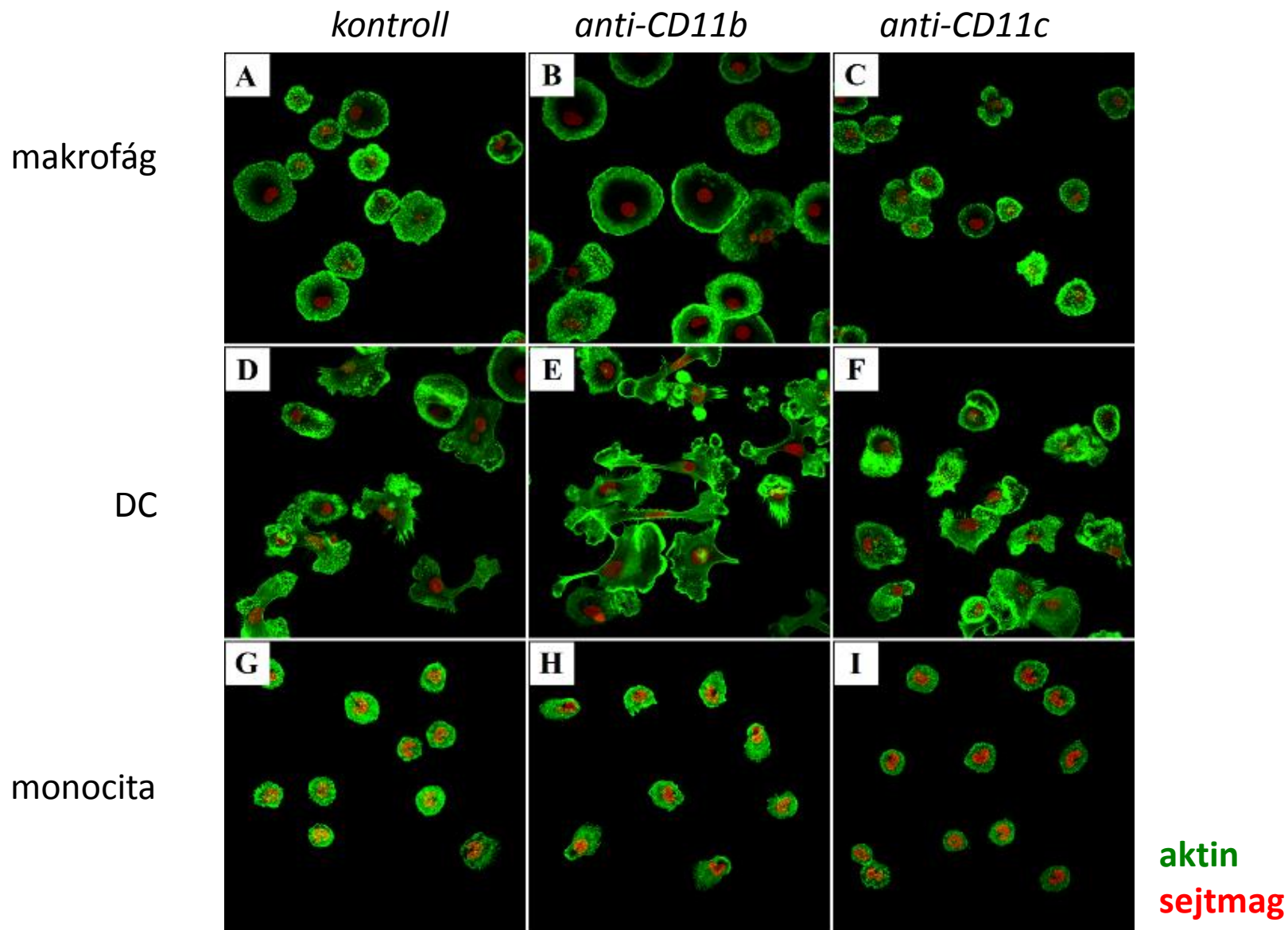
TIRF Mikroszkópia



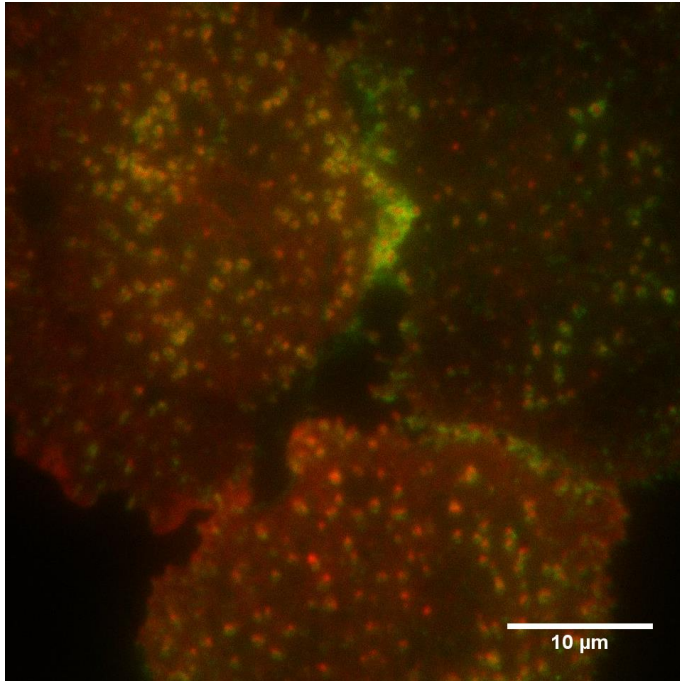
Atomerőmikroszkóppal szinkronizált TIRF Mikroszkóp



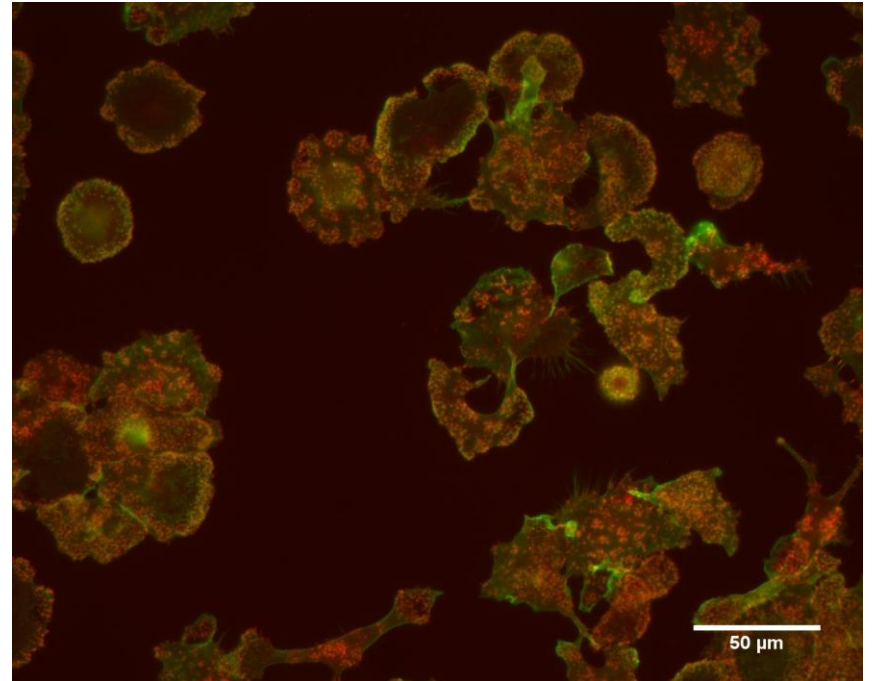
Kontakt zóna elemzése –konfokális mikroszkópia



A kontakt zóna elemzése makrofágokon



TIRF mikroszkópos kép. A kiültetés után már 5 perccel kialakuló podoszómák. Három sejt látható a képen. Piros: F-aktin, zöld vinculin.



Epifluoreszcens felvétel a kiültetés után 60 perccel, amikor a sejtek elérik teljes kiterültségüket a fibrinogén aljzaton. Piros: F-aktin, zöld vinculin.

Eredmények és további tervek összefoglalása

- A CD11c/CD18 adhézióban betöltött domináns szerepének kimutatása több módszerrel

poszterek és előadások hazai és nemzetközi konferenciákon
készülő kézirat

- A kontakt felszín alakulásának dinamikus elemzése és az EPIC bioszenzor jelét adó sejtbiológiai események értelmezése

kézirat terv

Köszönjük a figyelmet