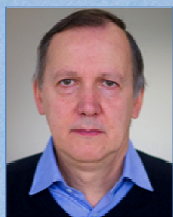


Áramlási hipoxiás sejtenyésztőrendszer beszerzése és beállítása a gulladás egy új mechanizmusának leírásához

Gál Péter, Cervenak László, Pál Gábor



Gál Péter
MTA TTK Enzimológiai Intézet



Cervenak László
Semmelweis Egyetem,
III. Sz. Belgyógyászati Klinika



Pál Gábor
ELTE TTK Biológiai Intézet
Biokémiai Tanszék



Háttér

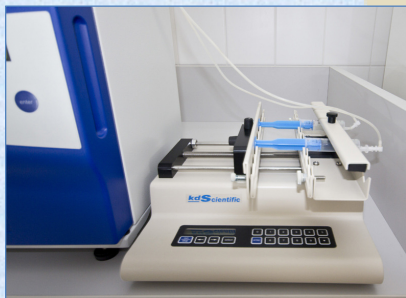
A Medinprot szinergia pályázat első fordulónak nyerteseiként megvizsgáltuk a MASP-1 hatását az endotélsejtek adhéziós molekula expressziós mintázatára, és elemeztük a MASP-1 specifikus gátlószereinek (SGMI-1) hatását is. A szinergia pályázat segítségével kimutattuk, hogy a MASP-1 hatására az endotélsejtek felszínén megjelenik az E-szelektin adhéziós molekula, amely nélkülözhetetlen minden fehérvérsejt irányított kitapadásának első lépésében, az endotéliumon való gördülésben, valamint hogy a MASP-1 összes eddig vizsgált

hatása gátolható az SGMI-1-gyel. Statikus rendszerben kimutattuk, hogy a neutrofil granulociták kitapadása erősebb a MASP-1 előkezelt endotélsejtekhez, mint a kezeletlenekhez. Azonban a szervezetünkben, *in vivo* az endotélsejtek és a leukociták interakciója áramlási körülmények között zajlik le, így szükségessé vált az eredmények további vizsgálata egy *in vitro* áramlási rendszerben is, valamint olyan körülmények között, ahol a hipoxia kialakításával a MASP-1 szerepe vizsgálható az ateroszklerózis modellrendszerében.

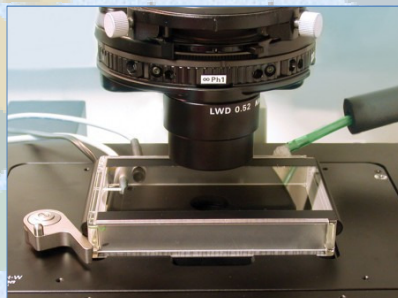
A beszerzett műszer

Az *in vitro* áramlási és hipoxiás vizsgálatokhoz a szükséges műszert két alegységből állítottuk össze. Az egyik egy infúziós pumpa (KDS 230), amely egyszerre akár 10 párhuzamos áramlási rendszert is tud működtetni több napos kísérletben. A másik egy, már meglévő mikroszkópra szerelhető, sejtenyésztő kamra (Ibidi Heating System), amelyben a standard

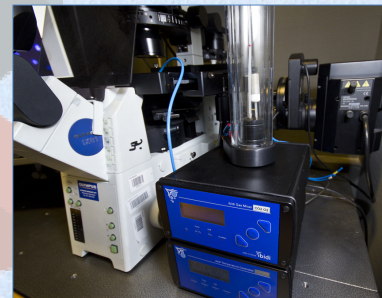
sejtenyésztő feltételek mellett a teljes hipoxia is beállítható (Ibidi Gas Mixer, Ibidi Temperature Controller). Bár a két alrendszer egymástól függetlenül is használható, célunk volt, hogy a két alegység összeépíthető legyen, így a lehető legjobban lehessen modellezni a fizioiógias és a patológiás folyamatokat.



KDS 230 infúziós pumpa



Ibidi mikroszkópos kamra



Ibidi Gas Mixer & Temp Controller

Eredmények

A műszerek beszerzése rendben megtörtént. Hosszabb időt vett igénybe a mikroszkópos helyiség átalakítása, a szükséges egyéb berendezések beszerzése és beüzemelése (CO₂ és N₂ gázpalackok helyének kialakítása, reduktorok beszerzése, polrendszer kiépítése), és a teljes rendszer összeépítése.

Az infúziós pumpa és a mikroszkópos kamra összeszerelésével sikerült egy komplex rendszert létrehozni. Ezen körülmények között az endotélsejtek több napig életképesek voltak. Teszteltük a sejtek alakváltozását az áramlás függvényében. Az irodalmi adatoknak megfelelően a statikus körülmények között tartott sejtek „kockakő” morfológiája átalakult, és az áramlás irányában megnyúlt. A MASP-1 kezelés a sejtek morfológiáját nem változtatta meg áramlási körülmények között. A hipoxia az endotélsejtek leválását okozta a sejtenyésztő felszínről. Az elhúzódozó beüzemelés miatt a MASP-1 hatásának tesztelését hipoxiás körülmények között még nem tudtuk elkezdeni. A műszer jövőbeni kihasználtsága azonban biztosított, mivel a MedinProt Műszerpályázatának terve, és az itt elnyert műszer képezte az alapját annak az OTKA pályázatnak (NKFI K115623), amit a három résztvevő közösen nyújtott be, és 2016.01.01-i kezdési időponttal megnyert.

Statikus (fent) és áramlási (lent) körülmények között tartott endotélsejtek morfológiája. A fekete nyilak az áramlás hatására megnyúlt sejteket mutatják.

