**Összefoglaló**

A tervek szerint sikeresen megtörtént a plazma szerin proteázok (MASP-1, MASP-2, MASP‑3, C1r, C1s, trombin) tisztítása és karakterizálása. A proteázok nagy tisztaságúak voltak, bakteriális komponenseket nem tudtunk kimutatni belőlük, és megfeleltek a sejttenyészeti körülményeknek. Elvégeztük a HUVEC sejtek adaptációját az optikai hullámvezető bioszenzorok felületeihez, és optimalizáltuk a rendszert úgy, hogy mind a sejtek számára, mind a detektálási módszer számára ideálisak legyenek a körülmények. Ezután meghatároztuk a mérési feltételeket, és teszteltük a rendszert ismert endotélsejt aktivátorokra. Amikor trombinnal és hisztaminnal reprodukálható, dózisfüggő jelet tudtunk regisztrálni, elkezdtük tesztelni a plazma szerin proteázokat. A MASP-1, a MASP-2, a C1r és a kallikrein dózisfüggően, és egyedi, karakterisztikus lefutású görbével jellemezhető módon aktiválta az endotélsejteket. Ezzel egyrészt bizonyítottuk, hogy a módszer alkalmas az endotélsejtek aktivációjának nagy áteresztőképességű, valósidejű és jelölésmentes vizsgálatára, másrészt a MASP-2, a C1r és a kallikrein esetén először figyeltünk meg sejtaktiváló hatást, ami fontos, új biomedicinális eredményt jelent.

**Szinergia összegző űrlap**

(a pályázók közösen ezt az űrlapot töltik ki)

* Adják meg a támogatott szinergia programjuk címét és szakmai fókuszpontját

**Nagy áteresztőképességű, jelölésmentes optikai rendszer kidolgozása gyulladási reakcióban résztvevő enzimek sejtes vizsgálatára**

**1) Jelátviteli fehérjék szerepe gyulladásos és daganatos megbetegedésekben**

* Adják meg a szinergia program keretében együttműködő partnerek nevét, tudományos fokozatát, tudományos besorolását, e-mail címét.

nevét,

**1.) Dobó József (MTA TTK)**

**2.) Cervenak László (Semmelweis Egyetem)**

**3.) Horváth Róbert (MTA EK MFA)**

* tudományos fokozatát,

**1.) Ph.D.**

**2.) Ph.D.**

**3.) Ph.D.**

* jelenlegi tudományos besorolását.

**1.) tudományos főmunkatárs**

**2.) tudományos főmunkatárs**

**3.) tudományos főmunkatárs**

* e-mail elérhetőségét

**1.)** [**dobo.jozsef@ttk.mta.hu**](mailto:dobo.jozsef@ttk.mta.hu)

**2.)** [**cervenak.laszlo@med.semmelweis-univ.hu**](file:///C:\Users\gal\AppData\Local\Temp\cervenak.laszlo@med.semmelweis-univ.hu)

**3.)** [**horvathr@mfa.kfki.hu**](file:///C:\Users\gazda\OneDrive\Dokumentumok\Munka\Medinprot_2016_Sz-V\horvathr@mfa.kfki.hu)

* Csatolják a MedInProt programnak köszönhetően elkészült tudományos közleményeik**,** szakmai megjelenésük bibliográfiai adatait, valamint e dokumentum pdf-ét**.** Minden publikáció esetében fejtsék ki max. 2 mondatban a MedInProt relevanciáját.

**A mérések beállítása sok nehézségbe ütközött, ezért a teszt éles használatát márciusban tudtuk csak elkezdeni. Így még sem konferencián (kivéve a MedinProt tavaszi konferenciáját) sem folyóiratban nem tudtuk adatainkat bemutatni. Azonban tervezzük az eredményeinket egy immunológiai és egy bioszenzorikai konferenciára elvinni, valamint folyamatban van két publikáció rangos nemzetközi folyóiratokban.**

1. Fejtsék ki pontosan, hogy a kutatási együttműködésük hogyan kapcsolódott az alább megadott MedinProt **fókuszpontok** legalább egyikéhez *(max. 300 szó)****.***

A gyulladási folyamat egyik kulcs szabályozója az ereinket belülről bélelő endotélsejtek összessége. Az endotélsejtek sokféle gyulladási mediátor jelátviteli folyamatait integrálják, és az így kialakult jelátviteli mintázatnak megfelelően válaszolnak. A beérkező gyulladási jelek egy része a szövetek felől éri őket, mások pedig a vérplazma felől hatnak az endotélsejtekre. A vérplazmában négy enzimkaszkád rendszer (véralvadási-, fibrinolitikus-, kontakt- és komplement rendszer) található, melyek működésén létfontosságú folyamatok alapulnak. Az enzimkaszkádok tagjai a szerin proteázokhoz tartoznak, és alap állapotban inaktív, zimogén formában találhatóak a keringésben. Adott jelek hatására (vérzés, fertőzés, vérrögképződés), amelyek mind a gyulladáshoz köthetők, a kaszkád első tagja aktiválódik (autokatalízis), majd a következő tag zimogén enzimét hasítva viszi tovább a reakciót. A kaszkád egyben egy amplifikációt is jelent, hiszen egy enzim sok soron következőt képes aktiválni. Ezen enzimek közül néhányról (pl. trombin, MASP-1) ismert, hogy a kaszkád reakción kívül az endotélsejteket is képes aktiválni, ezzel egy gyulladási fenotípust alakítva ki bennük. Az is feltárt, hogy ezen enzimek a proteáz aktiválta receptorokon (PAR) keresztül hatnak az endotélsejtkere. A gyulladási reakció szisztémássá válása figyelhető meg több súlyos/életveszélyes betegségben, mint pl. a szepszis vagy a herediter angioödéma. Ezen betegségek során az enzim kaszkádrendszerek aktivációja kontrollálatlanná válik, azonban a fent említett trombinon és MASP-1-en kívül alig van arra adat, hogy mely egyéb plazma enzimek képesek az endotélsejtek gyulladási jelátvitelét beindítani. Ennek megválaszolását kívánjuk a pályázatban megvalósítani egy olyan rendszerben, amelyben plazma szerint proteáz enzimeket tesztelünk endotélsejteken, jelölésmentes, nagy áteresztőképességű bioszenzorok segítségével. Az optikai hullámvezető alapú jelölésmentes bioszenzorokat eddig endotélsejtek vizsgálatára még nem alkalmazták, így az enzimek gyulladási reakciójának tanulmányozása mellett egy általános sejtes szűrőmódszert is nyerhetünk, amely a későbbiekben akár gyógyszerfejlesztési vizsgálatokban is elterjedhet.

1. Foglalják össze **közérthetően** szinergia programjuk, és közös munkájuk eredményeit *(max. 300 szó).*

Dobó József előállított és karakterizált olyan vérplazma szerin proteázokat, amelyek esetén gyanítható, hogy képesek hatni különböző sejtekre, első sorban a vérereket körülvevő endotélsejtekre. A szerin proteázok közül a MASP-1-et, MASP-2-t és MASP-3-at kizárólag Dobó Józsefék laboratóriumában lehet előállítani rekombináns módon. A jobb összehasonlíthatóság kedvéért a C1r és C1s fehérjéket is hasonló formában, rekombináns úton állították elő. A szerin proteázok nagy tisztaságúak voltak, és a preparátumok minimum 90%-ában aktív formában voltak. Cervenak László és Horváth Róbert beállította azokat a sejttenyésztési körülményeket, amelyekkel az endotélsejtek az optikai bioszenzor felszínére növeszthetőek, és még az evaneszcens térben maradnak. Ehhez le kellett csökkenteni a szokásos zselatin bevonat vastagságát. Ezután hisztamin és trombin, mint ismert endotélsejt aktivátorok, kialakították azt a protokollt, amellyel a sejtek válaszreakciója megbízhatóan és reprodukálhatóan mérhető volt. Végül alkalmazták a Dobó József által előállított plazma szerin proteázokat az optikai bioszenzor rendszerben növesztett endotélsejteken. Kimutatták, hogy a MASP-1 dózisfüggően és C1-inhibitorral gátolható módon aktiválta az endotélsejteket, a korábbi, más tesztekben kapott eredményekhez hasonlóan. E mellett, ezzel a szűrőmódszerrel elsőként sikerült kimutatniuk olyan sejtes reakciót, amelyet a MASP-2 indukált. Itt is ki lehetett mérni a dózisfüggést, és ez a szerin proteáz is gátolható volt a C1-inhibitorral. Mivel ez egy teljesen új és váratlan eredmény volt, így ezt sikeresen megerősítették más sejtbiológiai módszerekkel is (intracelluláris Ca-mobilizáció, permeabilitási teszt).

1. Értékeljék és véleményezzék közös munkájukat (sikereiket, nehézségeiket, illetve azon ötleteiket, javaslataikat, amelyeknek köszönhetően a következő programok hatékonysága javulhat) *(max. 200 szó).*

A három résztvevő heti rendszerességgel egyeztetett és gondolkozott közösen, valamint több, személyes találkozóra is sor került. A különböző háttértudás és más-más laborprofil nagyban növelte a három résztvevő rálátását a témára, és szélesítette az interdiszciplináris látásmódot. Nehézséget jelentett, hogy mivel a kooperációs partnerek laboratóriumai messze helyezkedtek el egymástól, az eszközpark nem mindig volt optimális az adott kísérletekhez, illetve nagyon gondos előmunkálatokat igényeltek a kísérletek, mert a folyamat közben nem lehetett anyagokat/kiseszközöket transzportálni egyik laboratóriumból a másikba. Ezen sokat segítene, ha lehetne kifejezetten kisműszerekre pályázni, legalább MTA intézményeknek.

1. Szabadon fogalmazzák meg a MedInProt kapcsán támogató és/vagy kritikus észrevételeiket. *(max. 200 szó)*

Egyértelműen a legkisebb adminisztrációs teherrel járó pályázati forma, amely alkalmas egymástól távoli kutatási területek művelőit összehozni. Jó irányba mutat, hogy a VII. programtól kezdve vidéki intézetek is bekapcsolódhatnak a pályázatba. Még szerencsésebb lenne, ha nem csak mint harmadik fél tehetnék meg, hanem a négy budapesti intézet valamelyike mellé második partnerként is csatlakozhatnának.