

Immunsejtek adhéziójának vizsgálata

Székács Inna (MTA EK MFA Nanobioszenzorika Lendület Csoport)

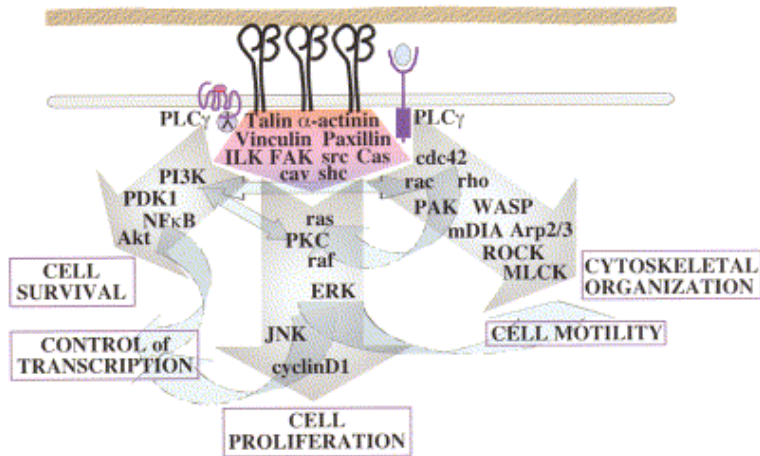
Kellermayer Miklós (SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet)

Szabó Bálint (ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék)

Sándor Noémi (MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoport)



A $\beta 2$ integrinek szerepe és kifejeződése



Hynes, 2002, Cell

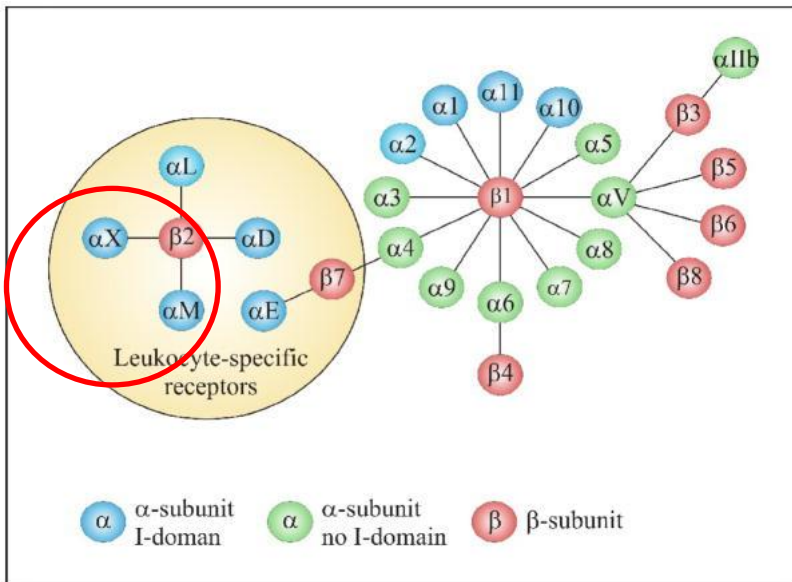
CD11b/CD18 ($\alpha M\beta 2$, CR3, Mac-1)
 CD11c/CD18 ($\alpha X\beta 2$, CR4, p150,95)



Átfedő ligandumspecifitás
 (fibrinogén, iC3b, ICAM-1, ...)
 és expresszió
 (mieloid immunsejtek)

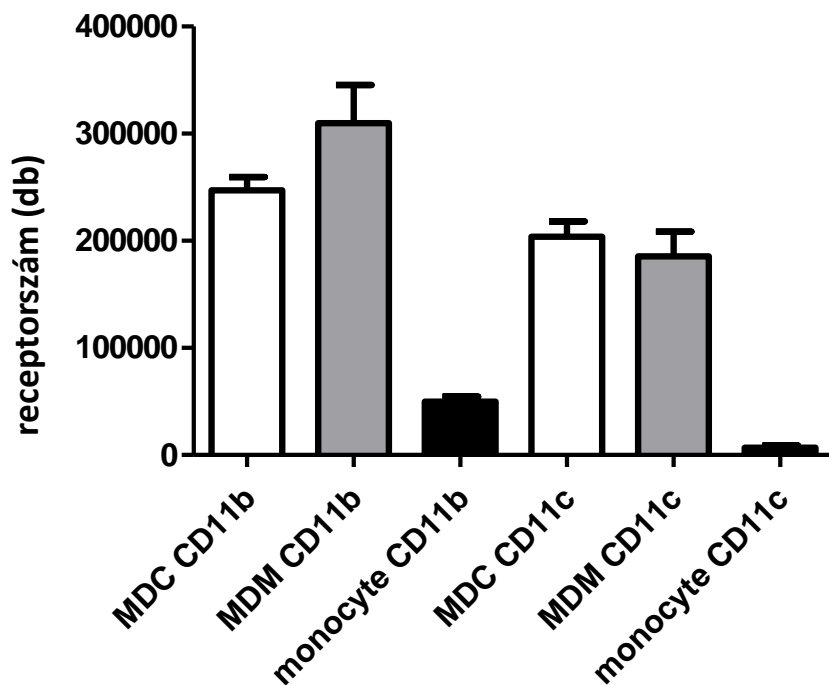


Átfedő funkciók?



Gahmberg, 2009, Biochim Biophys Acta

A $\beta 2$ integrinek szerepe és kifejeződése



A két receptor (CD11b és CD11c) arányának meghatározása különböző humán immunsejteken abszolút receptorszám méréssel

	CD11b	CD11c	CD11b/CD11c
MDC	247174	203996	1,2
MDM	309753	185357	1,7
CD14+ monocita	49831	6972	7,1

A két receptor aránya nem egységes a különböző sejttípusokon, mely funkcionális eltérésre utal

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

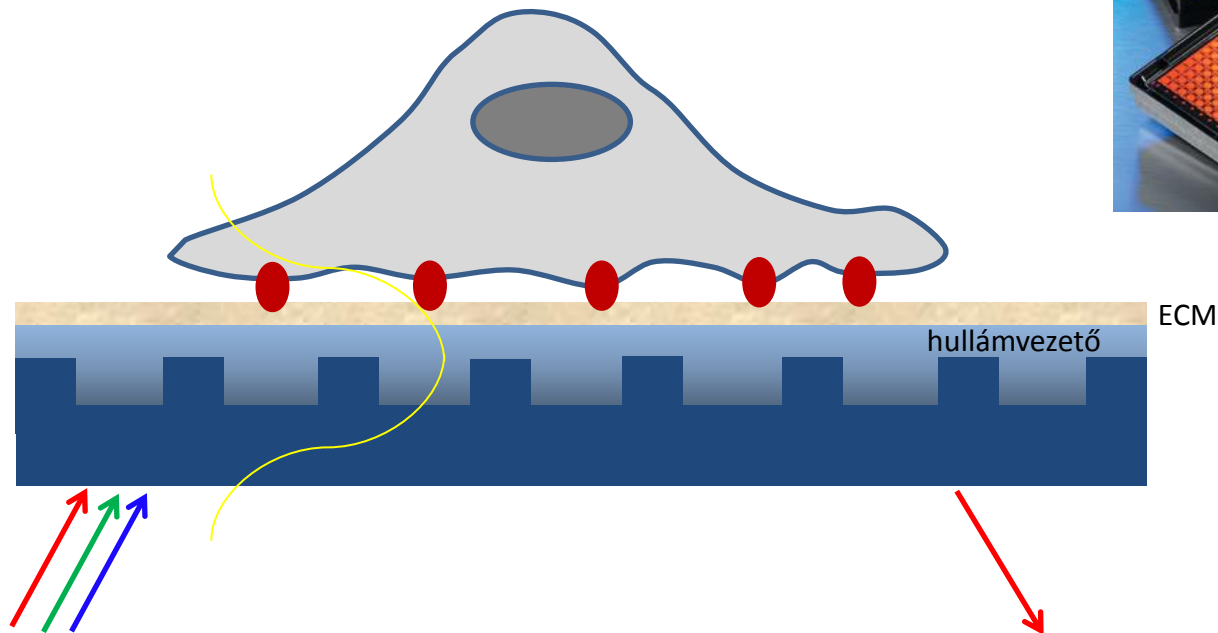
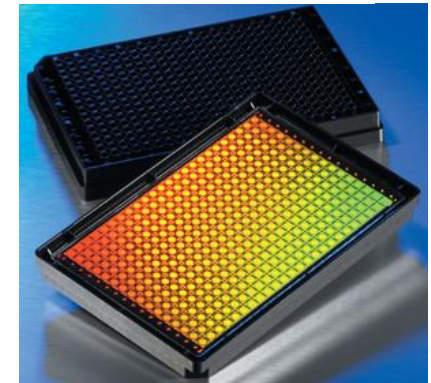
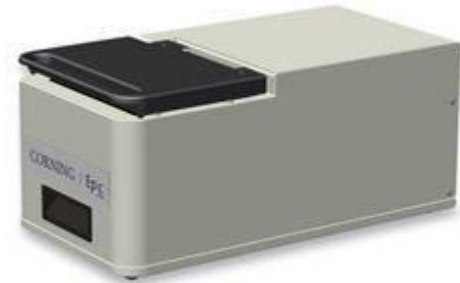
Sejtadhézió mérése optikai bioszenzorral

Székács Inna

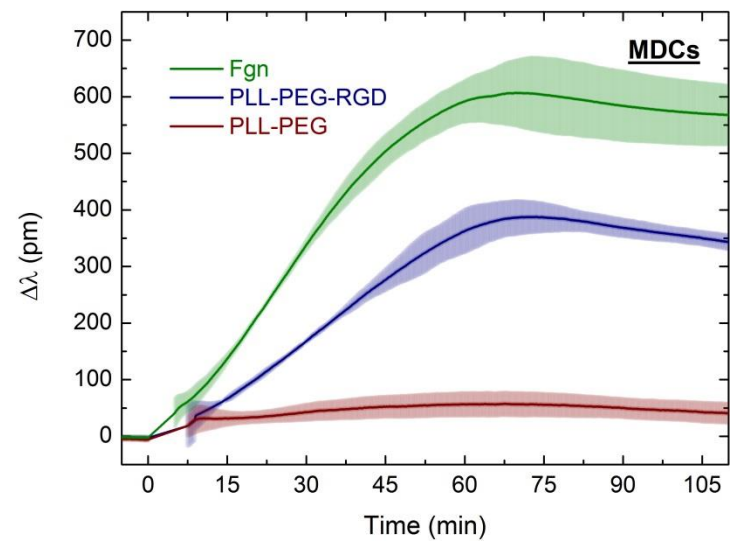
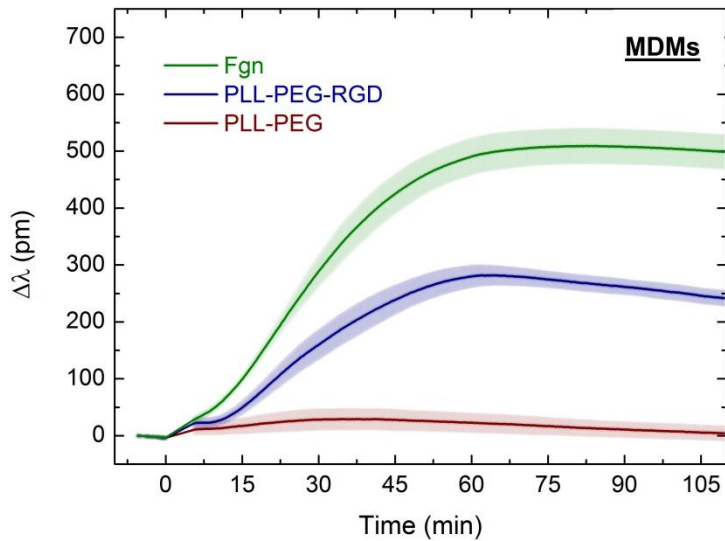
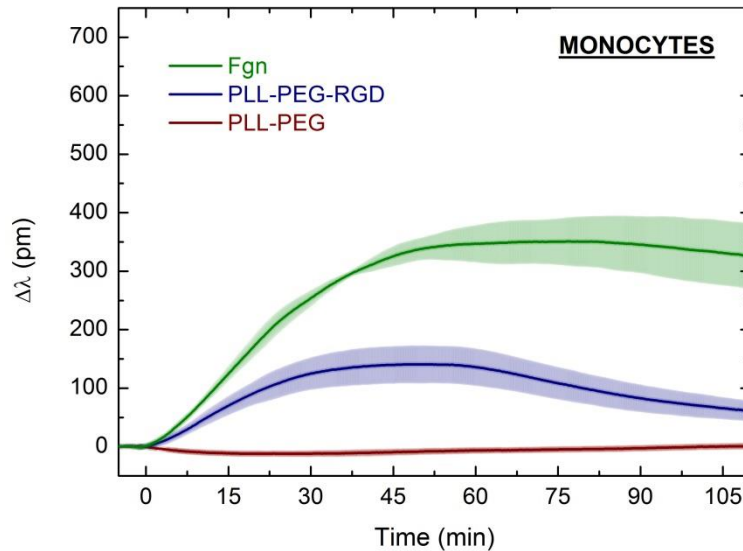
MTA EK MFA Nanobioszenzorika Lendület Csoport

Corning Epic® BT

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



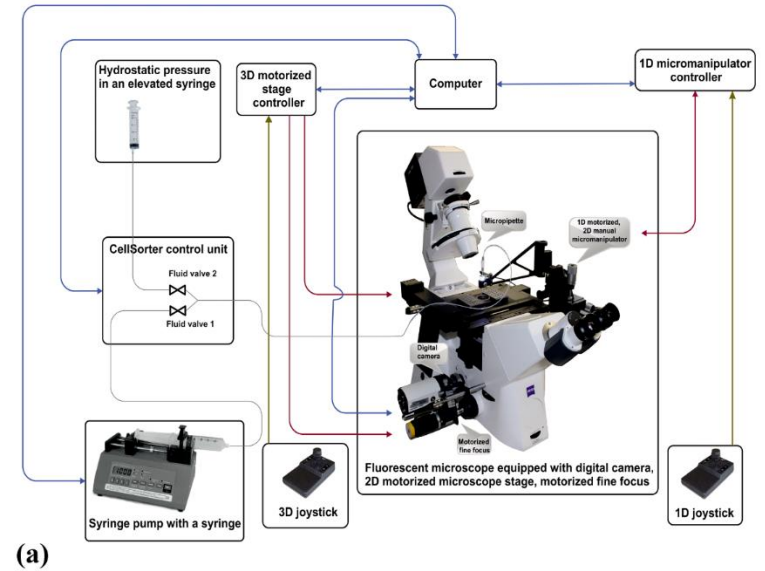
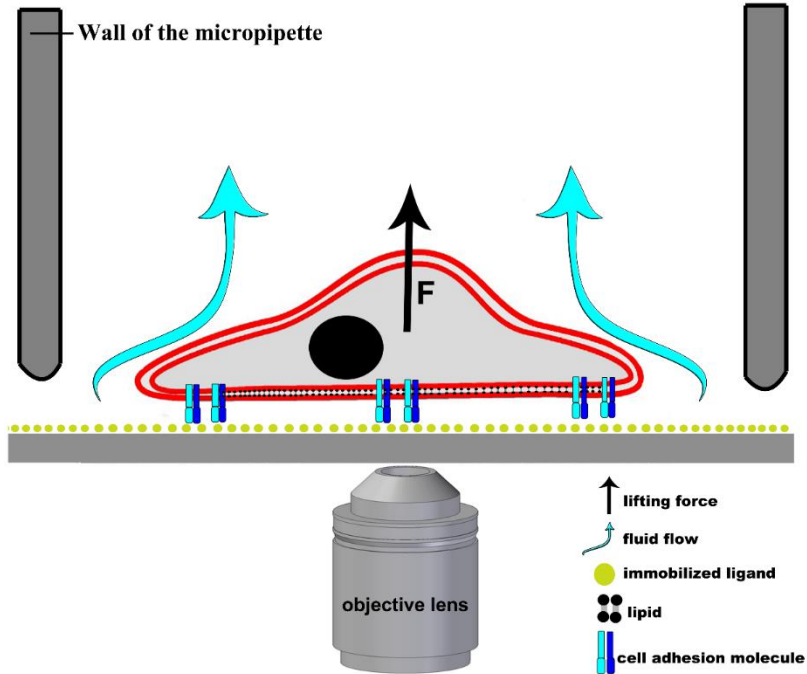
Monociták, makrofágok és dendritikus sejtek adhéziós kinetikája különböző szubsztrátokon



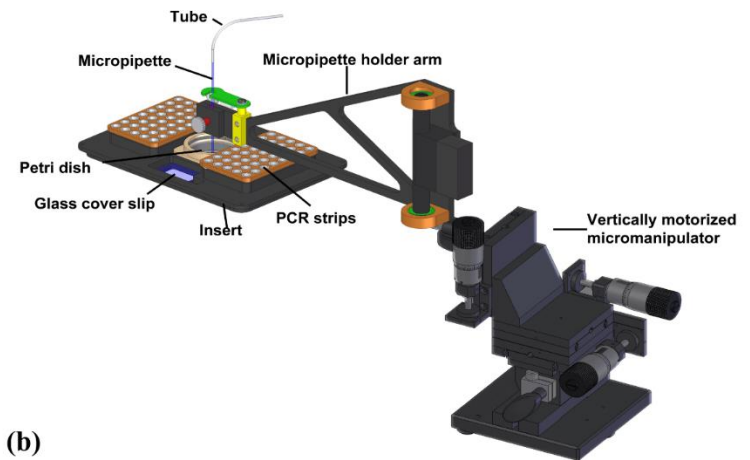
Egyedi sejtek adhéziónak mérése automata mikropipettával

Szabó Bálint

ELTE TTK Biológiai Fizika Tanszék

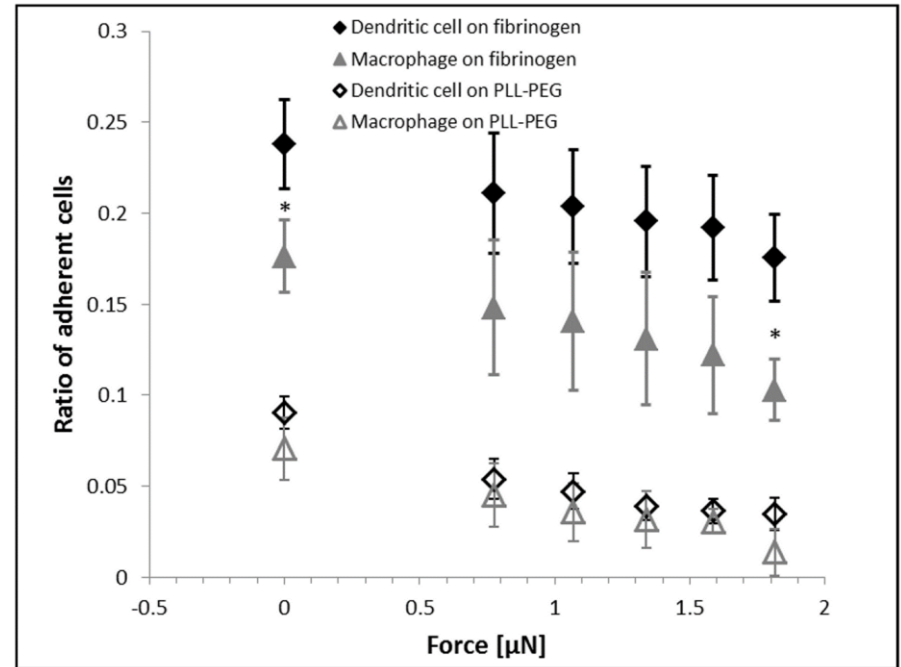
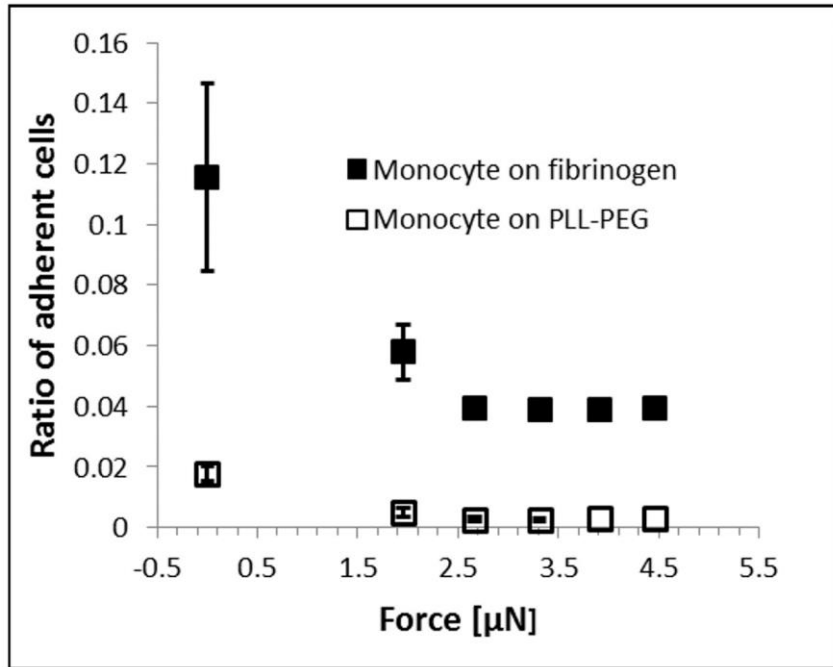


(a)



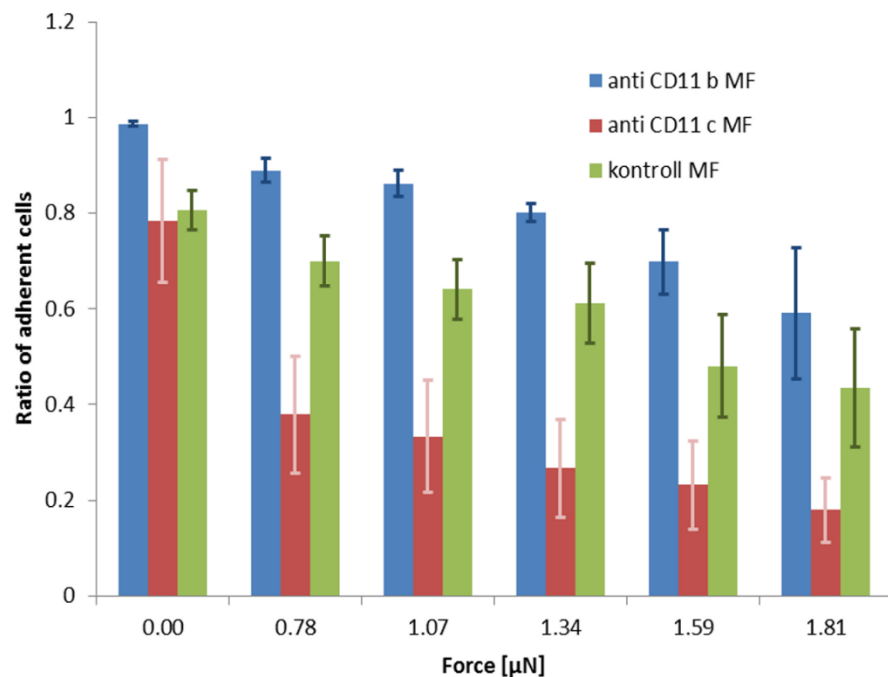
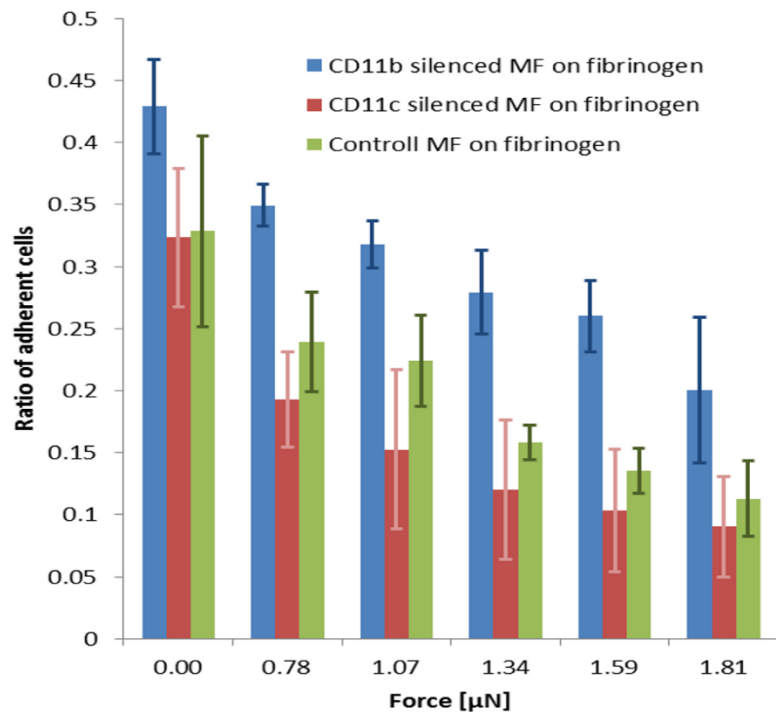
(b)

Mikropipettával nyert eredmények kezeletlen sejteken fibrinogén aljazaton



A méréseket Salánki Rita, doktorandusz végezte

CD11b és CD11c RNS csendesítés ill. ellenanyagos blokkolás hatása makrofágok adhéziójára fibrinogénen



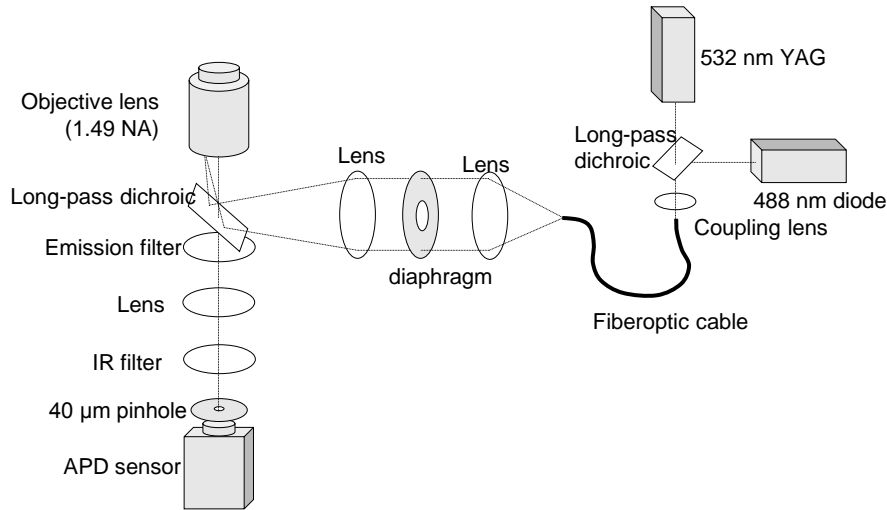
A méréseket Salánki Rita, doktorandusz végezte

Kontakt felszín elemzése – TIRF mikroszkópia

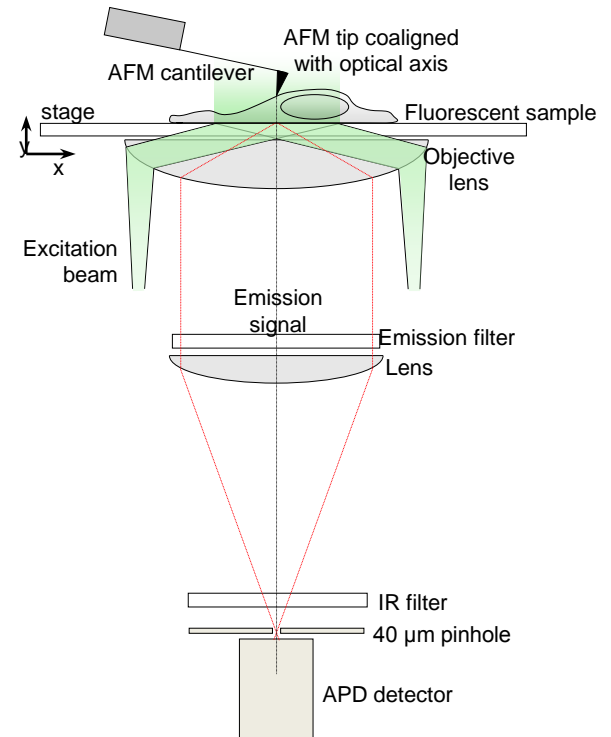
Kellermayer Miklós

SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

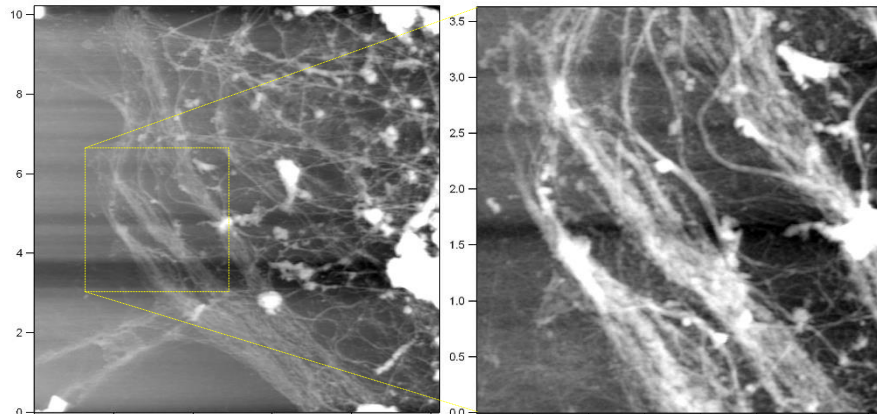
TIRF Mikroszkópia



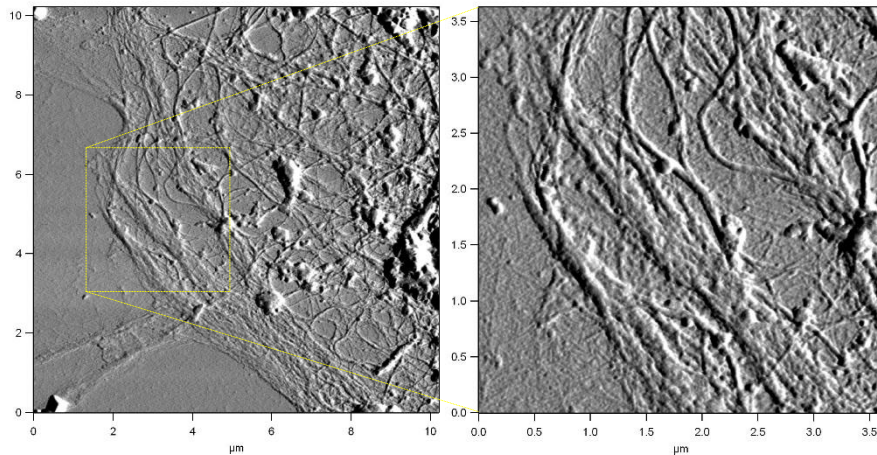
Atomerőmikroszkóppal szinkronizált TIRF Mikroszkóp



Kontakt felszín elemzése – TIRF mikroszkópia

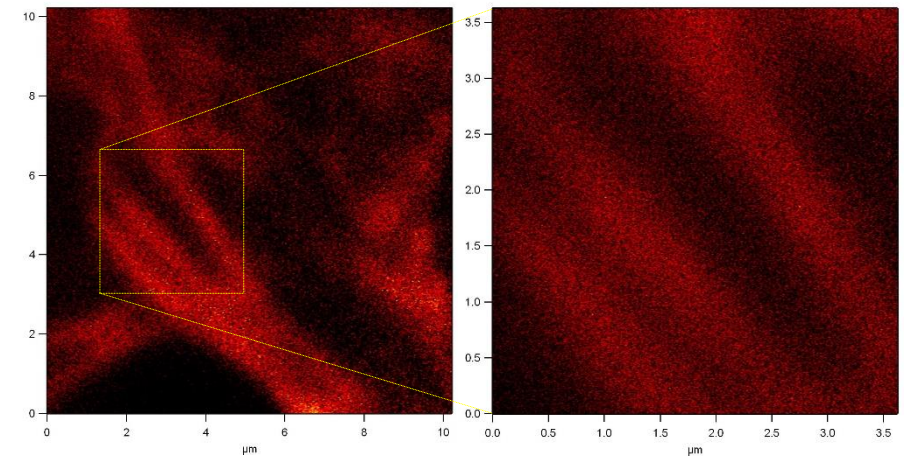


Fibroblaszt
citoszkeleton
magasság
kontraszt (AFM)



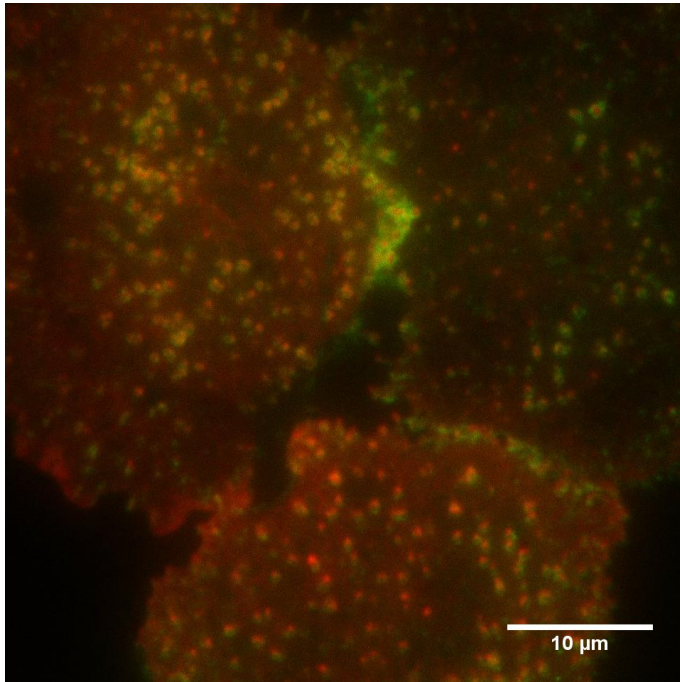
Fibroblaszt citoszkeleton amplitúdó (hiba) kontraszt (AFM)

Atomerőmikroszkóppal szinkronizált TIRF Mikroszkópia

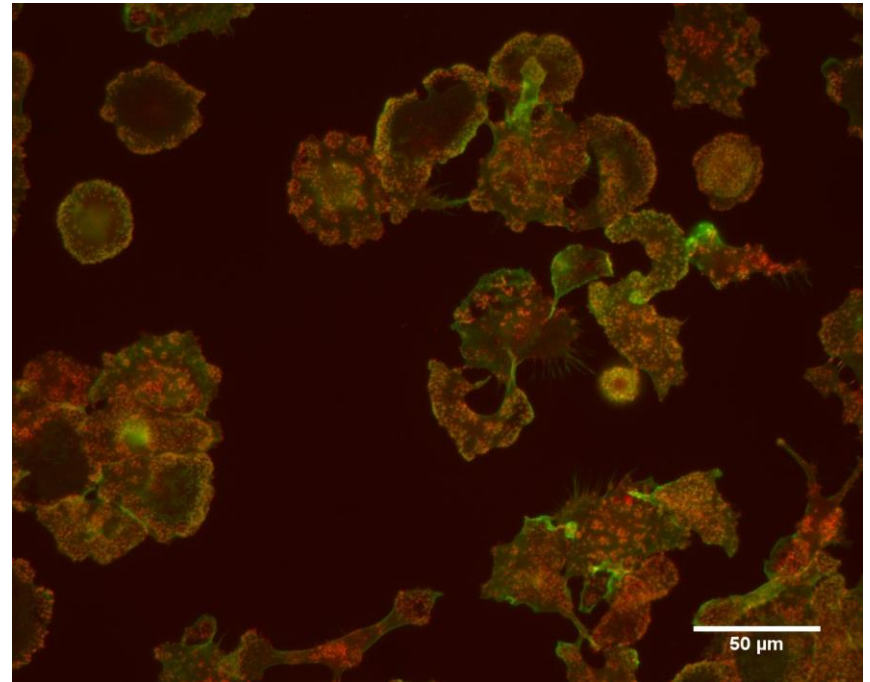


Fibroblaszt citoszkeleton falloidinnel jelölt stressz rostok (TIRFM)

Kezdeti fluoreszcens mikroszkópos eredmények kezeletlen 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.

Köszönjük a figyelmet