

Az extracelluláris vezikulák és a komplementrendszer



Józsi Mihály

MTA-ELTE „Lendület“ Komplement Kutatócsoport
ELTE Immunológiai Tanszék

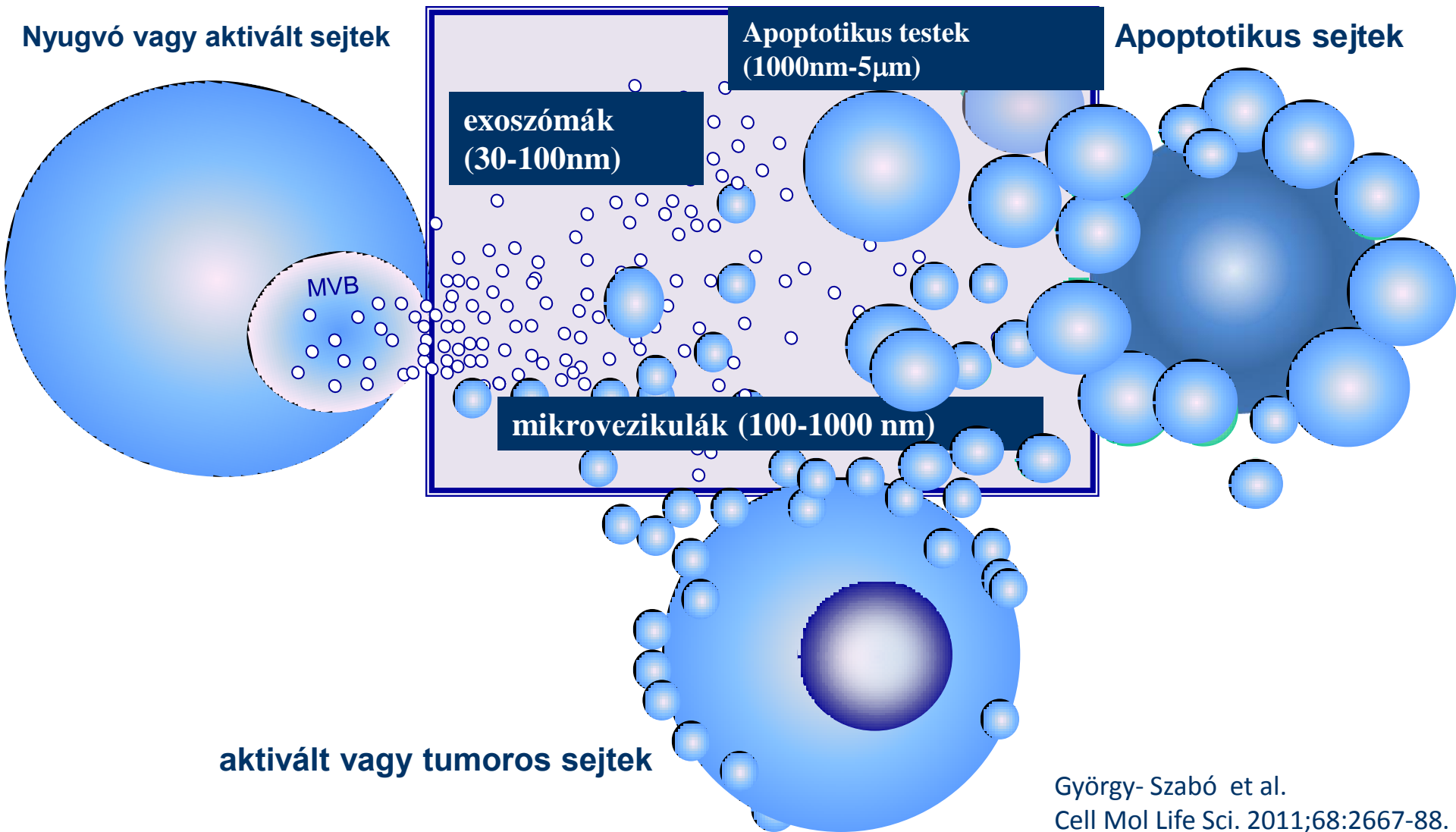


Buzás Edit

Semmelweis Egyetem
Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet



EXTRACELLULÁRIS VEZIKULÁK



Vérplazma eredetű mikrovezikulák tömegspektrometriás vizsgálata

actin, myosin

profilin-1, cofilin-1, Ras

α -enolase, pyruvate kinase

MHC-I, MHC-II,
Na/K ATP-ase

etc.

**kanonikus MV
proteinek**

Vérplazma proteinek

albumin

transferrin

haptoglobin

prothrombin, fibrinogen

β -2-microglobulin

α -2-macroglobulin

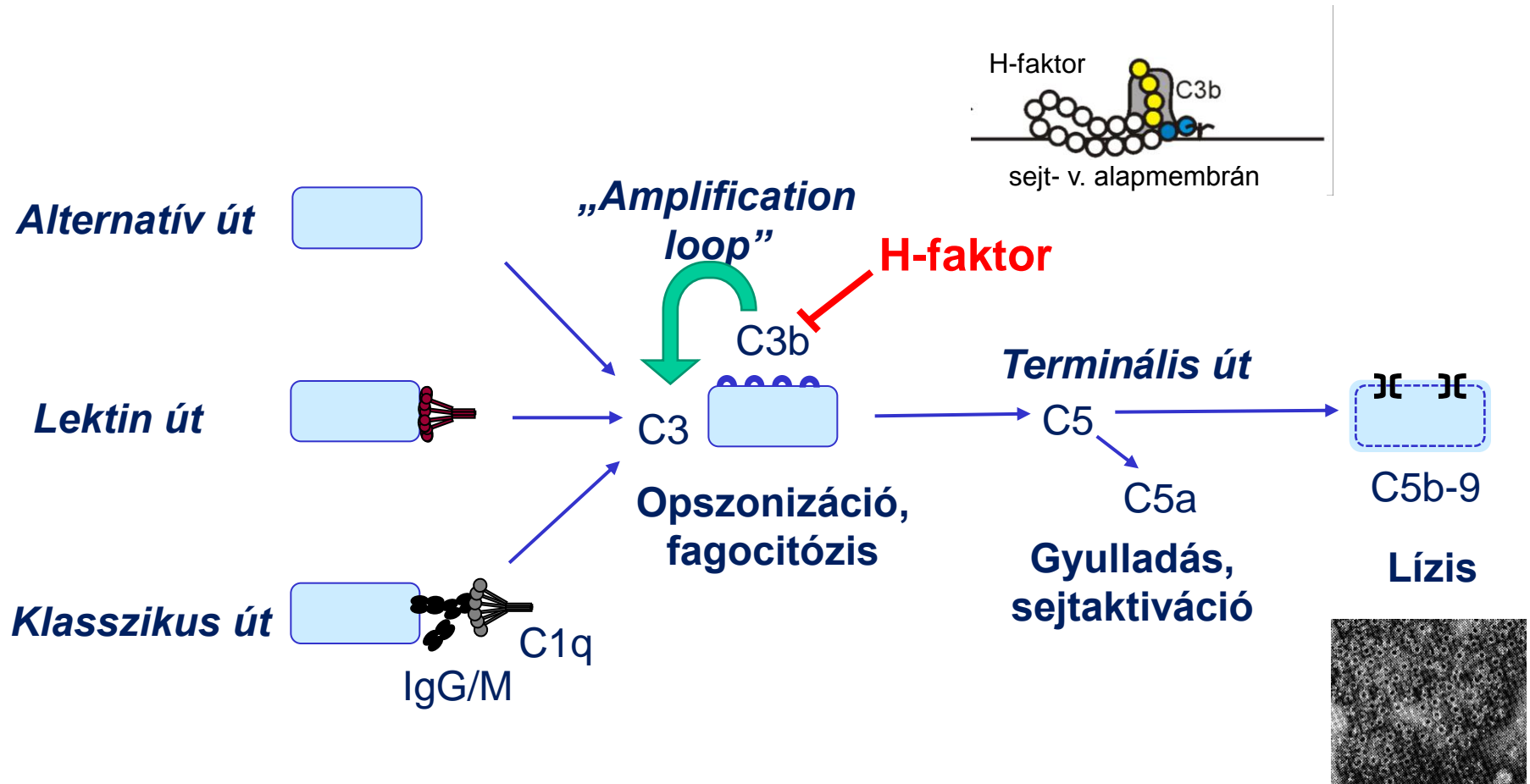
Complement C1q,
C3a, C3b, C4a, C4b,
C4BP, DAF, C9

Ig γ chains, κ -chain, λ -
chain, μ -chain, α chain

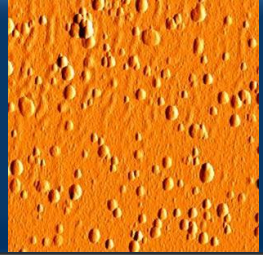
**Immunkomplex
proteinek**

n=7

A komplementrendszer

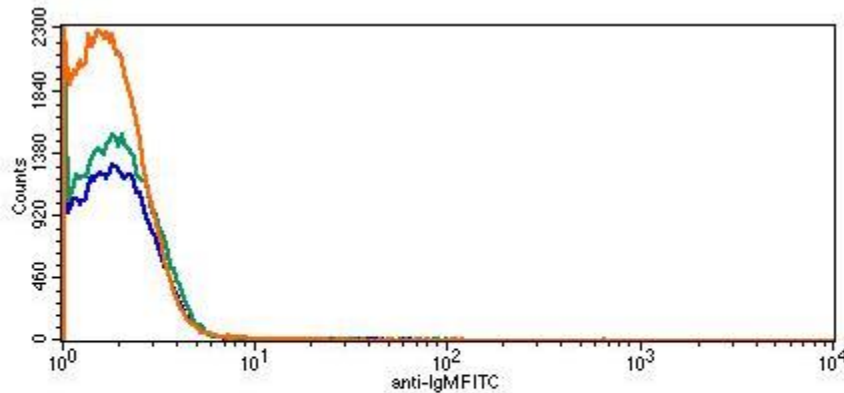


A szinergia projekt célkitűzései



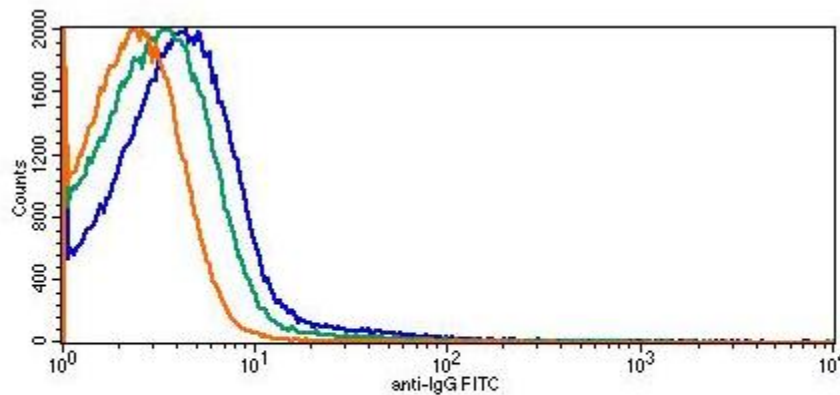
- **Az egyes vezikula típusok aktiválnak-e komplementet ?**
- **Milyen komplement fehérjéket kötnek a vezikulák ?**
- **A komplement fehérjéknek az extracelluláris vezikulák felszínéhez történő kötődése milyen funkcionális következménnyel jár, pl. gyulladáshoz vezető tünetek kialakulása szempontjából ?**

A komplementet aktiváló immunglobulinok kötődésének vizsgálata



Key	Name	Parameter	Gate
—	U937 EY plazma+anti-IgM500.011	FL1-H	G1
—	U937 EY pl+anti-IgM500 Tri.017	FL1-H	G1
—	U937 EY anti-IgM500.002	FL1-H	G1

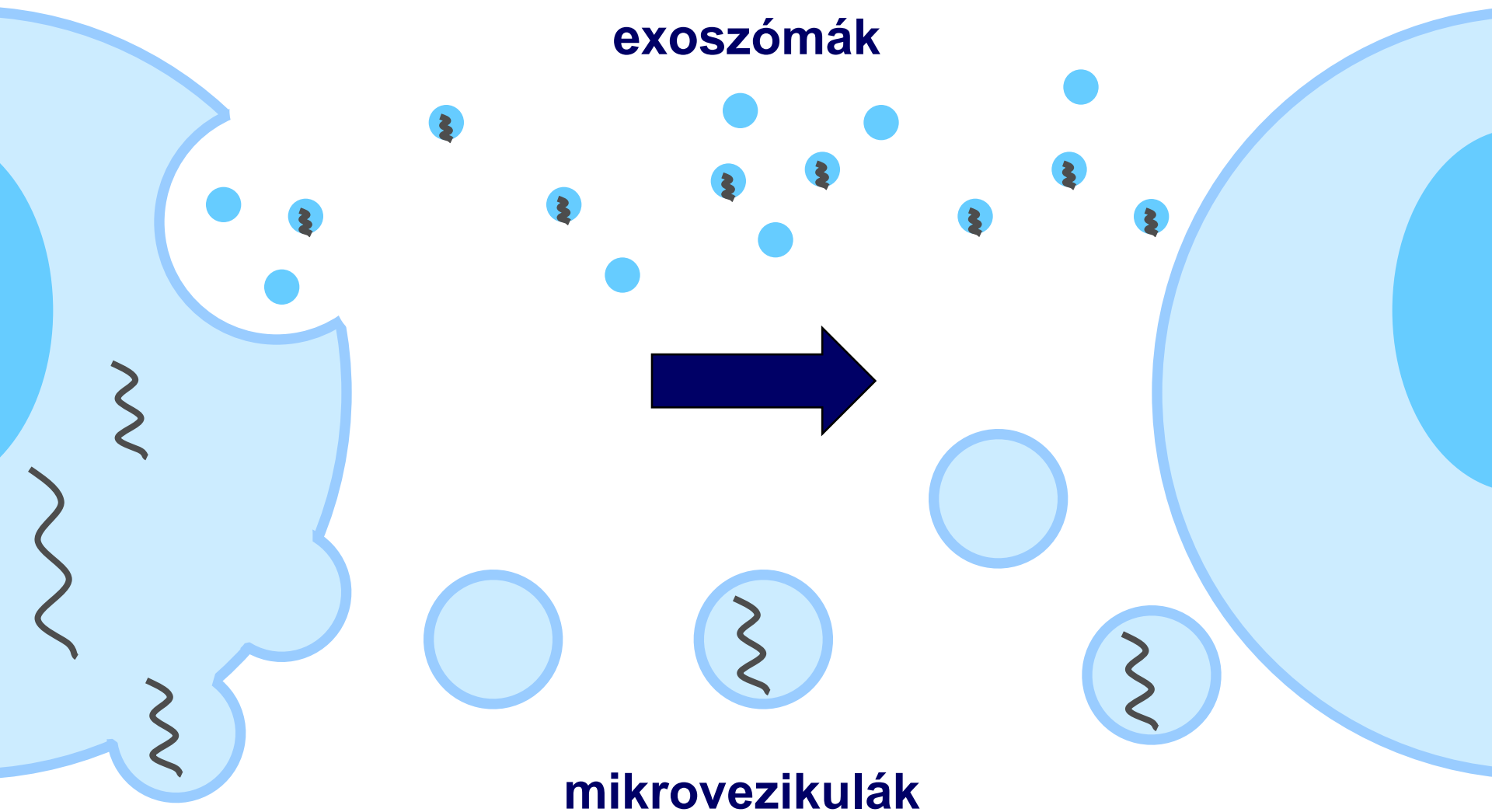
Szérum IgM kötődése



Key	Name	Parameter	Gate
—	U937 EY plazma+anti-IgG 500.006	FL1-H	G1
—	U937 EY pl+anti-IgG500 Tri.015	FL1-H	G1
—	U937 EY anti-IgG 500.005	FL1-H	G1

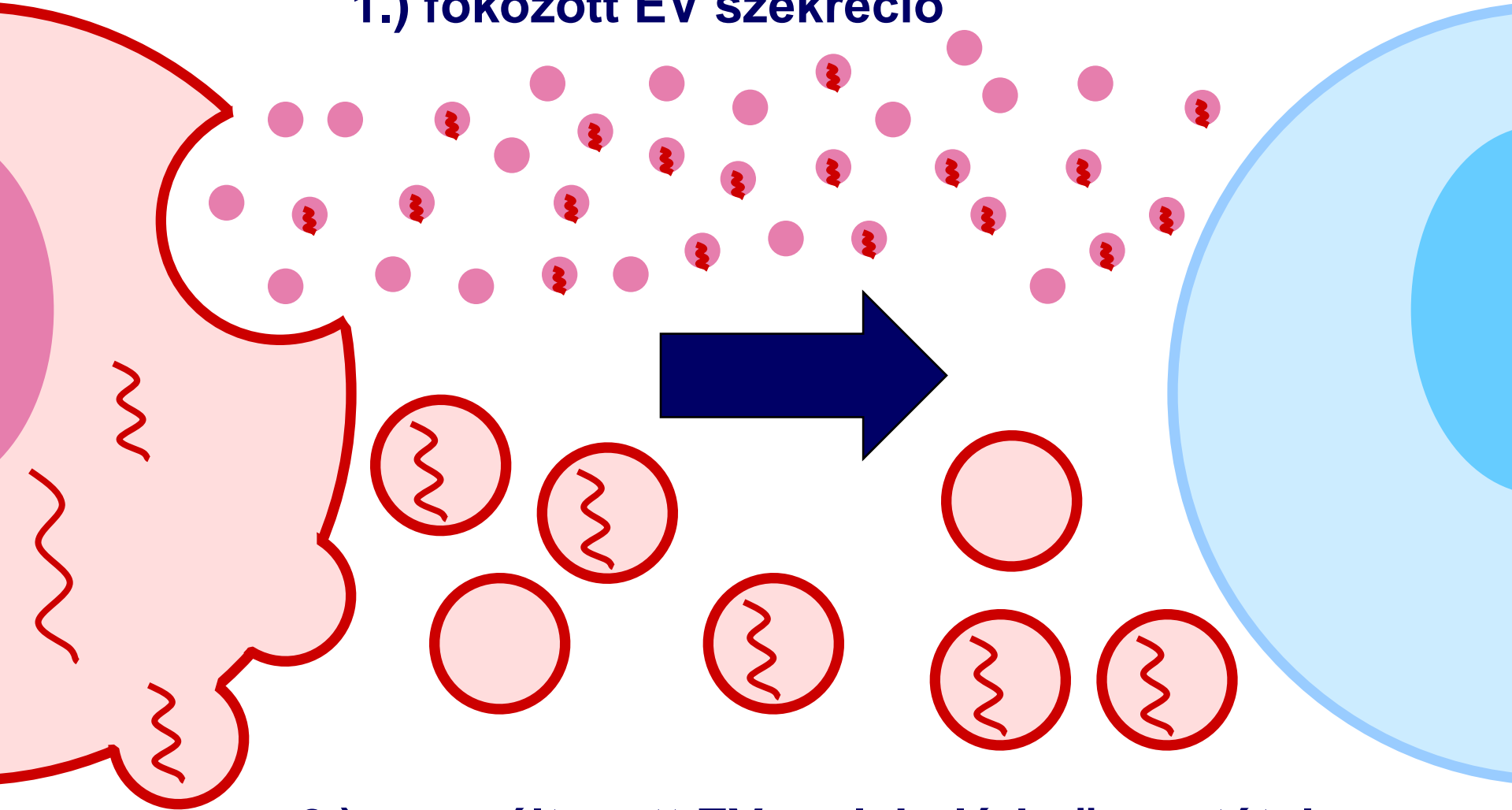
Szérum IgG kötődése

Homeostasis



Kóros körülmények közt

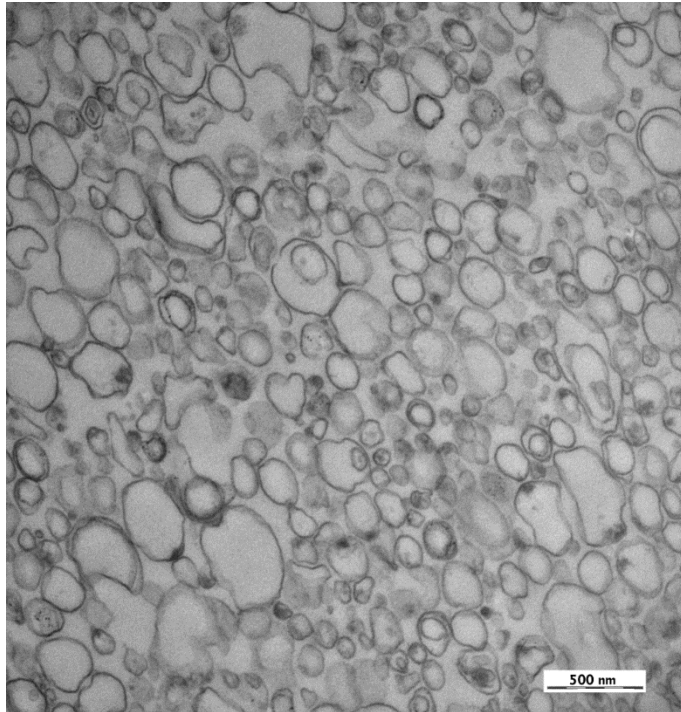
1.) fokozott EV szekréció



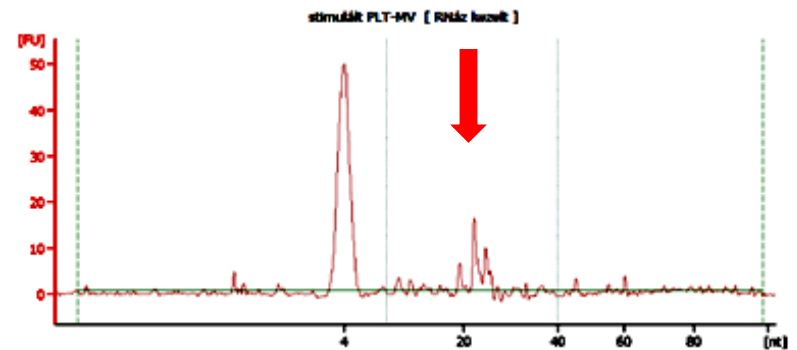
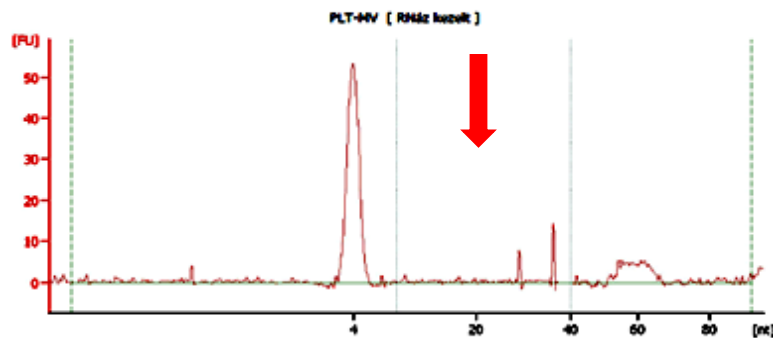
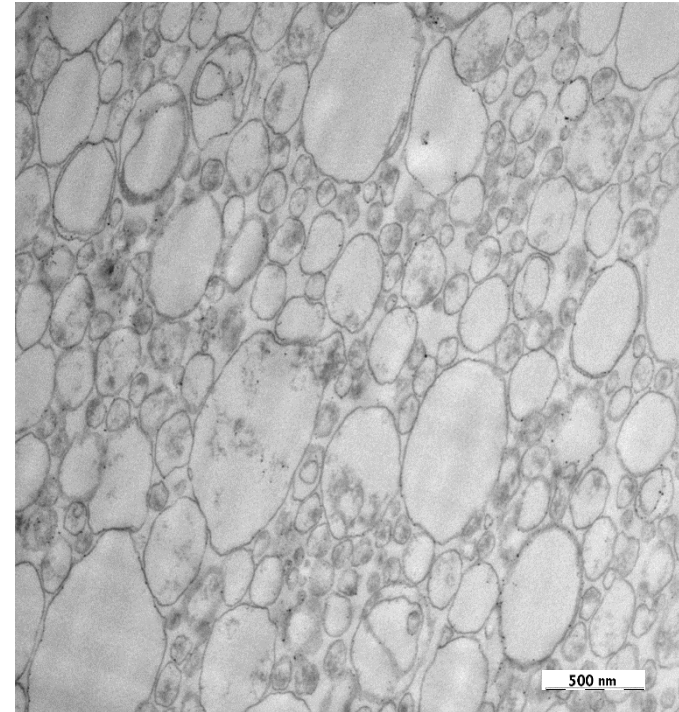
2.) megváltozott EV molekuláris összetétel

Vérlemezke eredetű mikrovezikulák

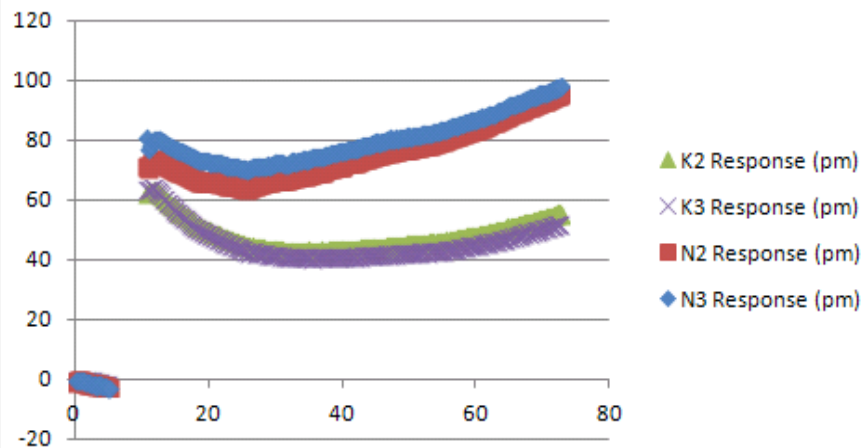
stimulálatlan



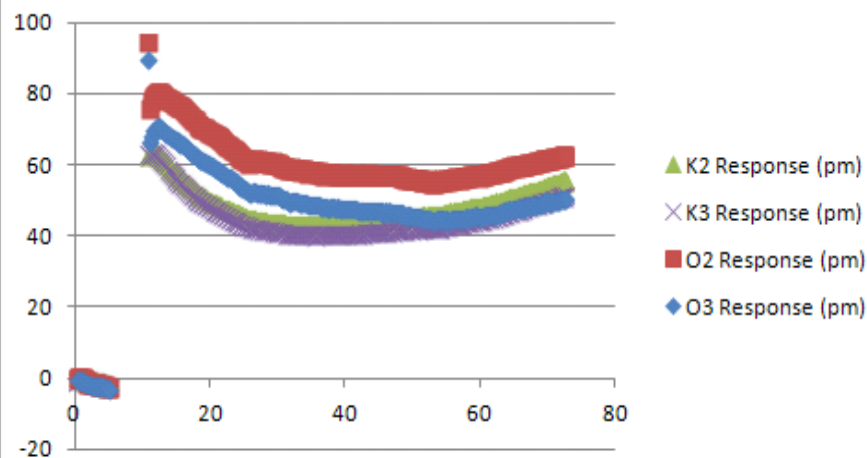
stimulált



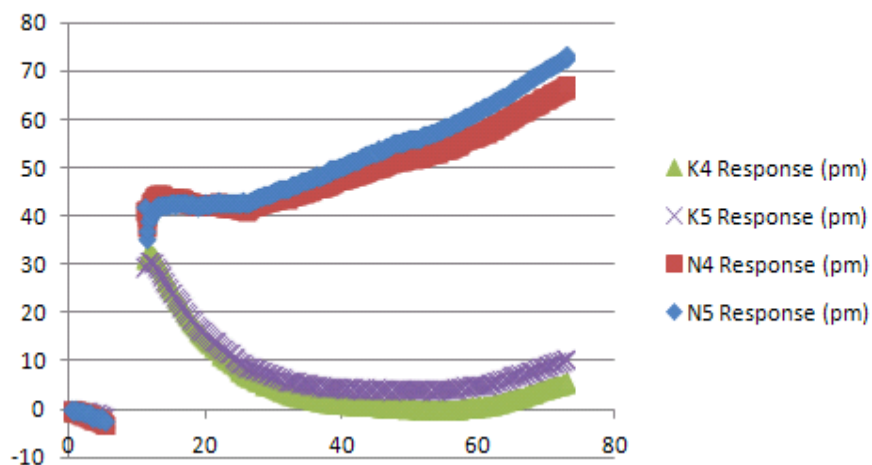
Stimulálatlan vérlemezke MV IgG



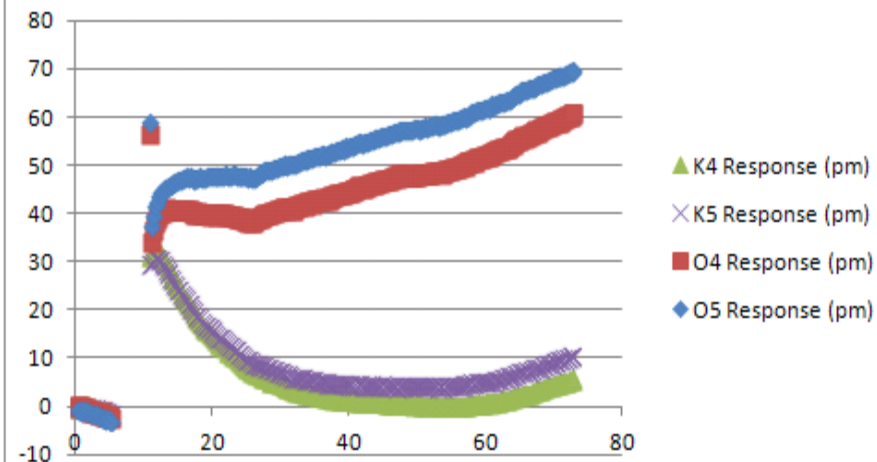
Stimulálatlan vérlemezke MV IgM



Stimulált vérlemezke MV IgG



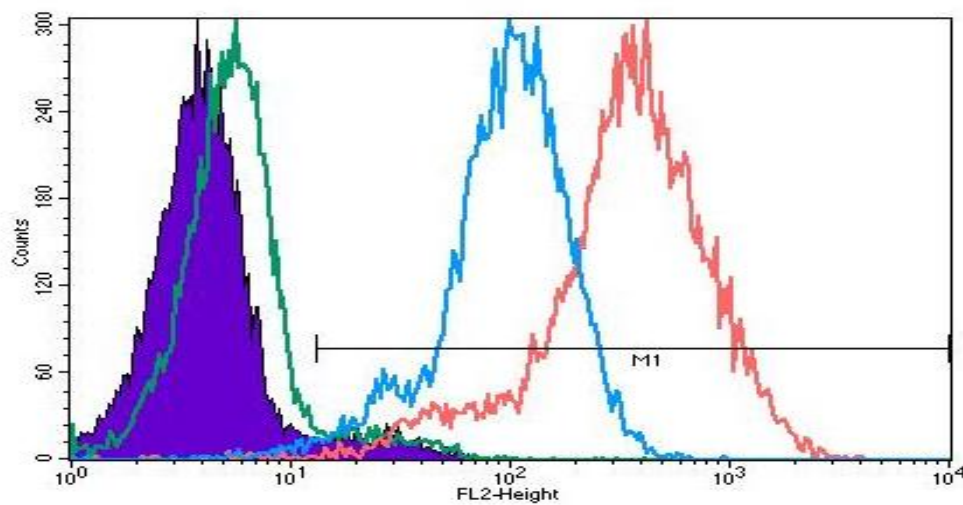
Stimulált vérlemezke MV IgM



(Horváth Róberttel együttműködésben)

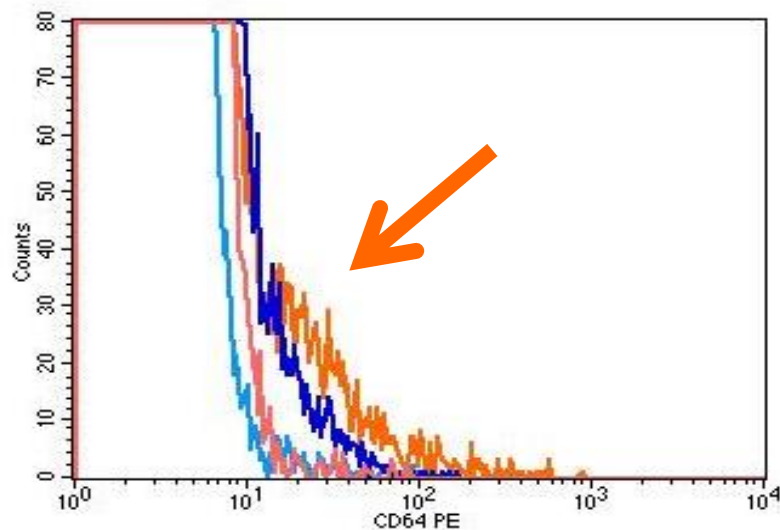
Fc receptorok jelenléte extracelluláris vezikulákon

U937 sejtek



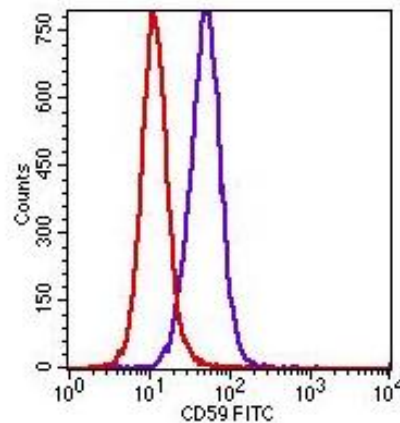
- Festetlen háttér
- Anti-hu CD16
- Anti-hu CD32
- Anti-hu CD64

U937 eredetű vezikulák

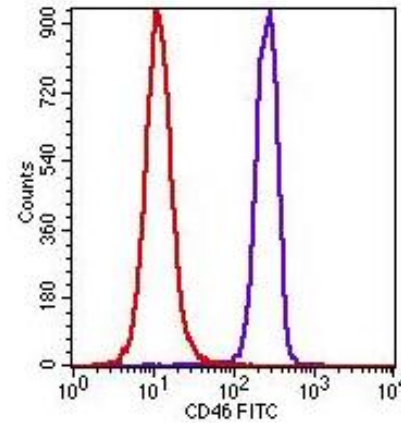


- CD64
- CD32
- CD32 + TRITON
- CD64 + TRITON

A CD59 és CD46 membránkötött komplementregulátor fehérjék vizsgálata 1.



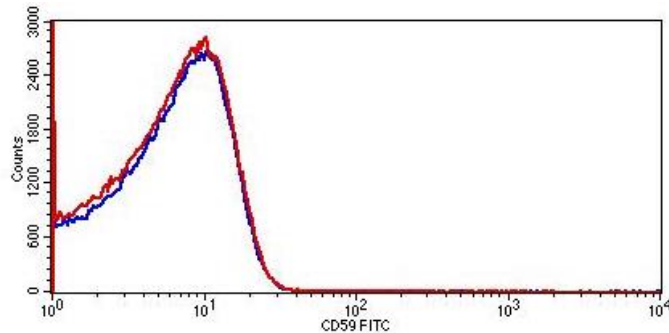
Key	Name
—	U937 CD59.003
—	U937 F.001



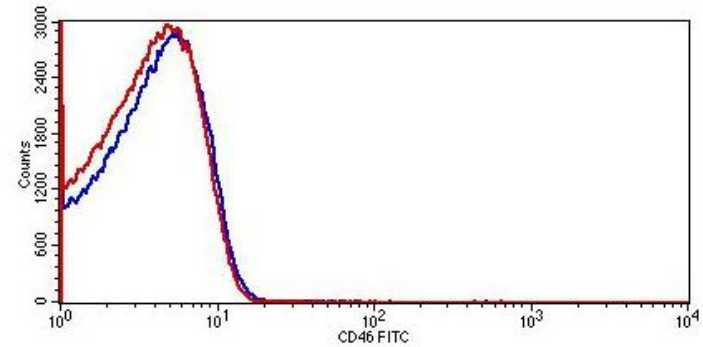
Key	Name
—	U937 CD46.004
—	U937 F.001

Az U937 monocitoid sejteken mind a CD59, mind a CD46 membránkötött komplement szabályozó fehérjék detektálhatók.

A CD59 és CD46 membránkötött komplementregulátor fehérjék vizsgálata 2.



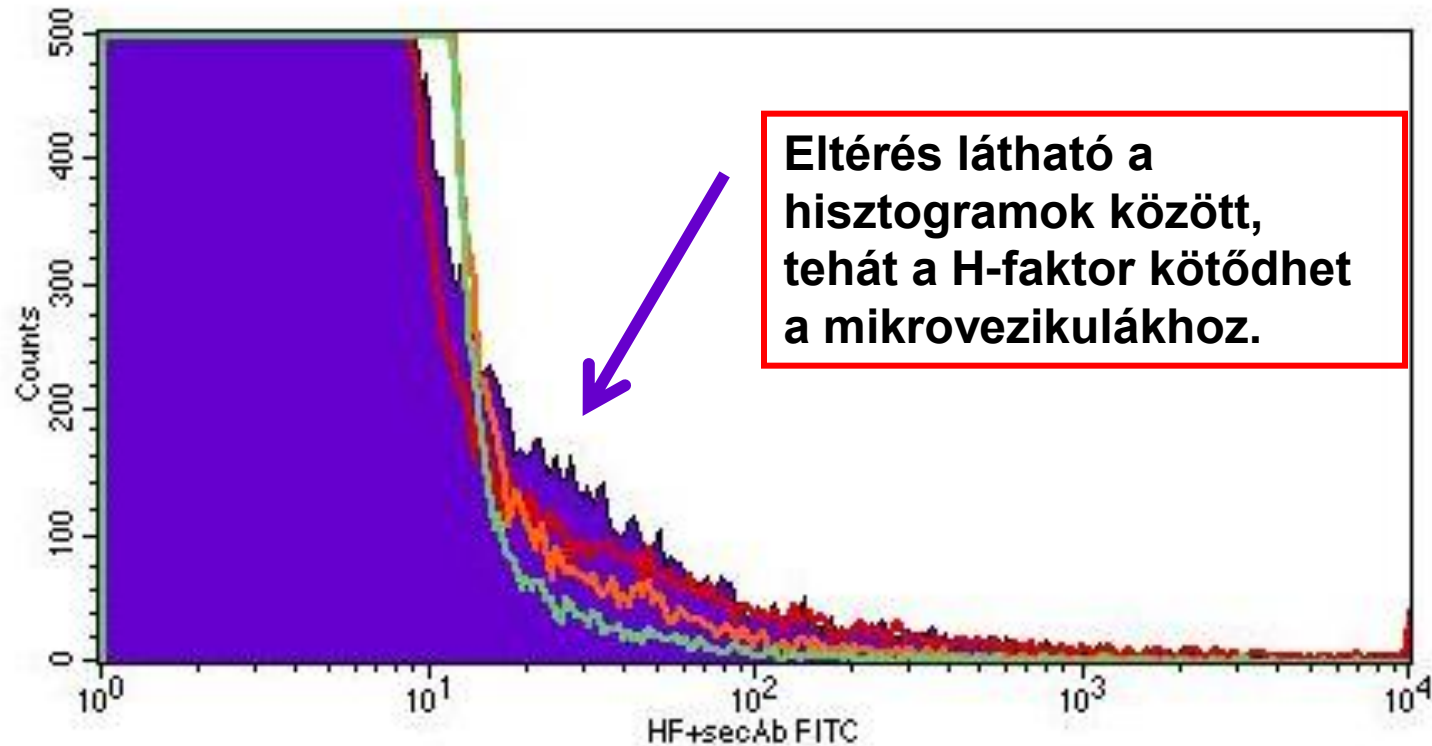
Key	Name	Parameter	Gate
—	U937 EV 59.002	FL1-H	G1
—	U937 EV 59 Triton.006	FL1-H	G1



Key	Name	Parameter	Gate
—	U937 EV 46.003	FL1-H	G1
—	U937 EV 46 Triton.007	FL1-H	G1

A mikrovezikulákon nem jelennek meg sem a CD59, sem a CD46 membránkötött komplement szabályozó fehérjék.

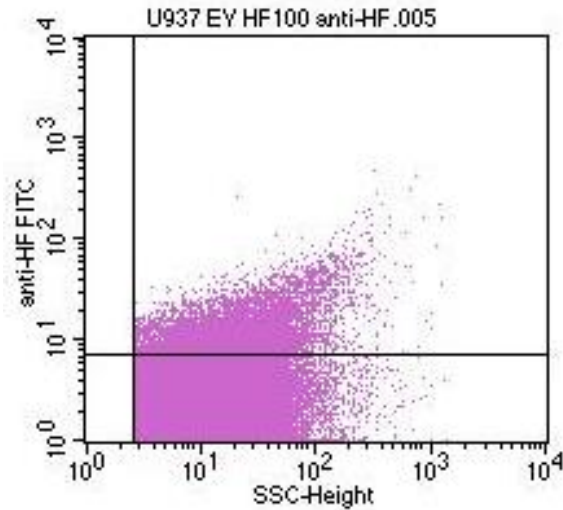
A H-faktor komplement szabályozó fehérje vizsgálata 1.



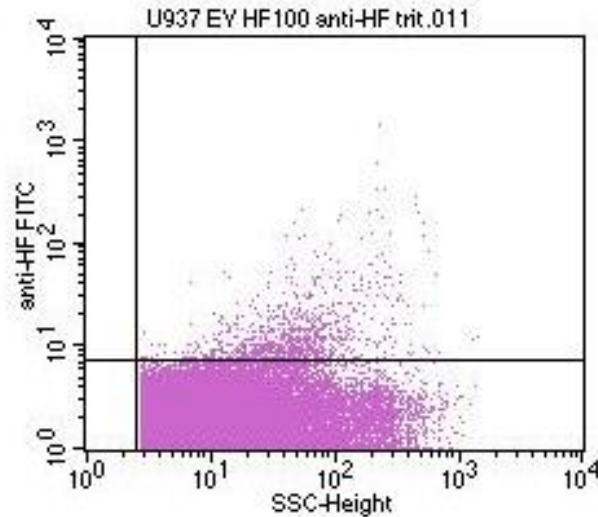
Key	Name	Parameter	Gate
■	U937 EY+plazma HF+sec.004	FL1-H	G1
■	U937 EY+pl HF+sec triton.008	FL1-H	G1
■	U937 EY+plazma.sec.003	FL1-H	G1
■	U937 EY+plazma.sec triton.007	FL1-H	G1

Rekombináns H faktor vezikulákhoz való kötődése

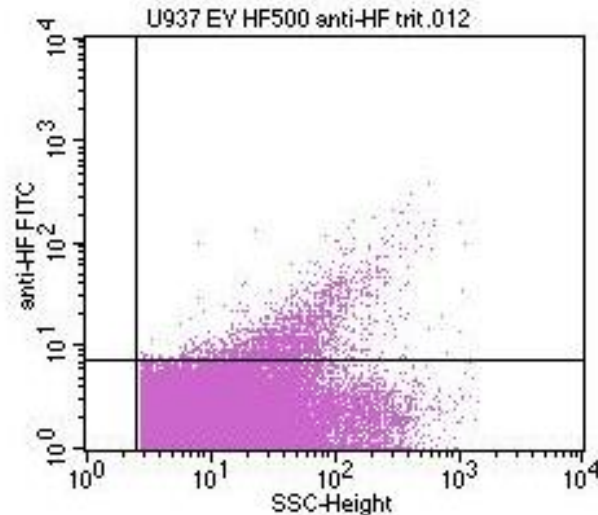
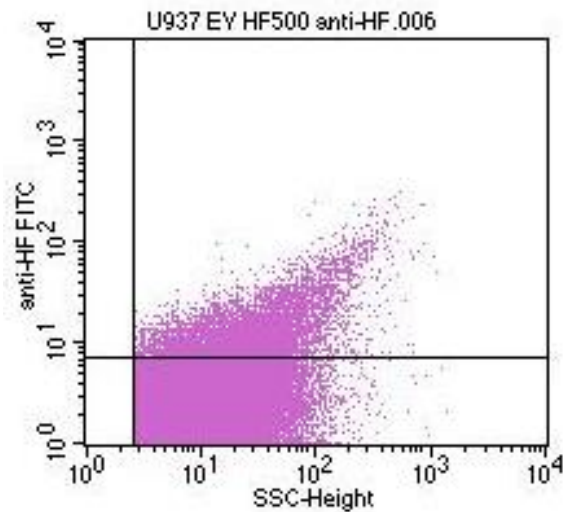
Triton X-100 nélkül



Tritonos lízis után

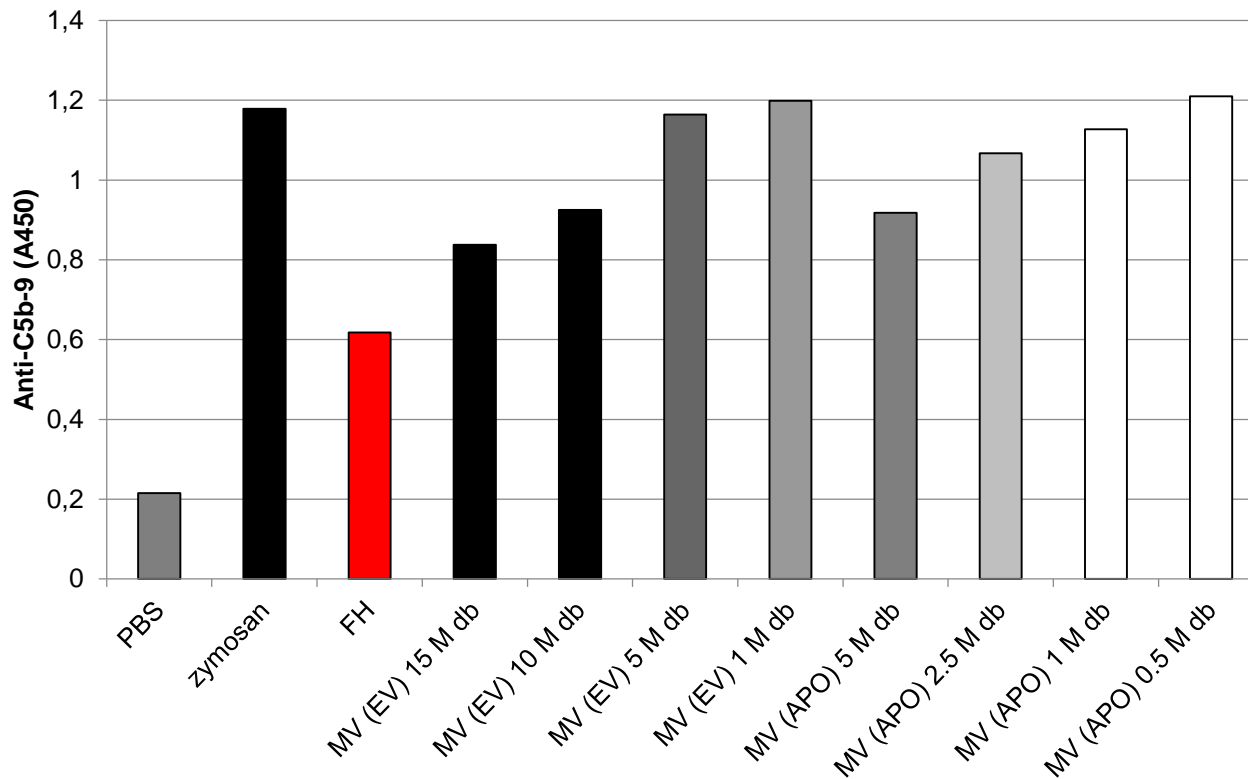


10 µg/ml H-faktor



2 µg/ml H-faktor

Extracelluláris vezikulák hatása a terminális útra



Összefoglalás

Eredményeink szerint a komplement rendszert aktiválni képes, tisztított IgM és IgG ellenanyagok képesek kötődni az EV-k felületére.

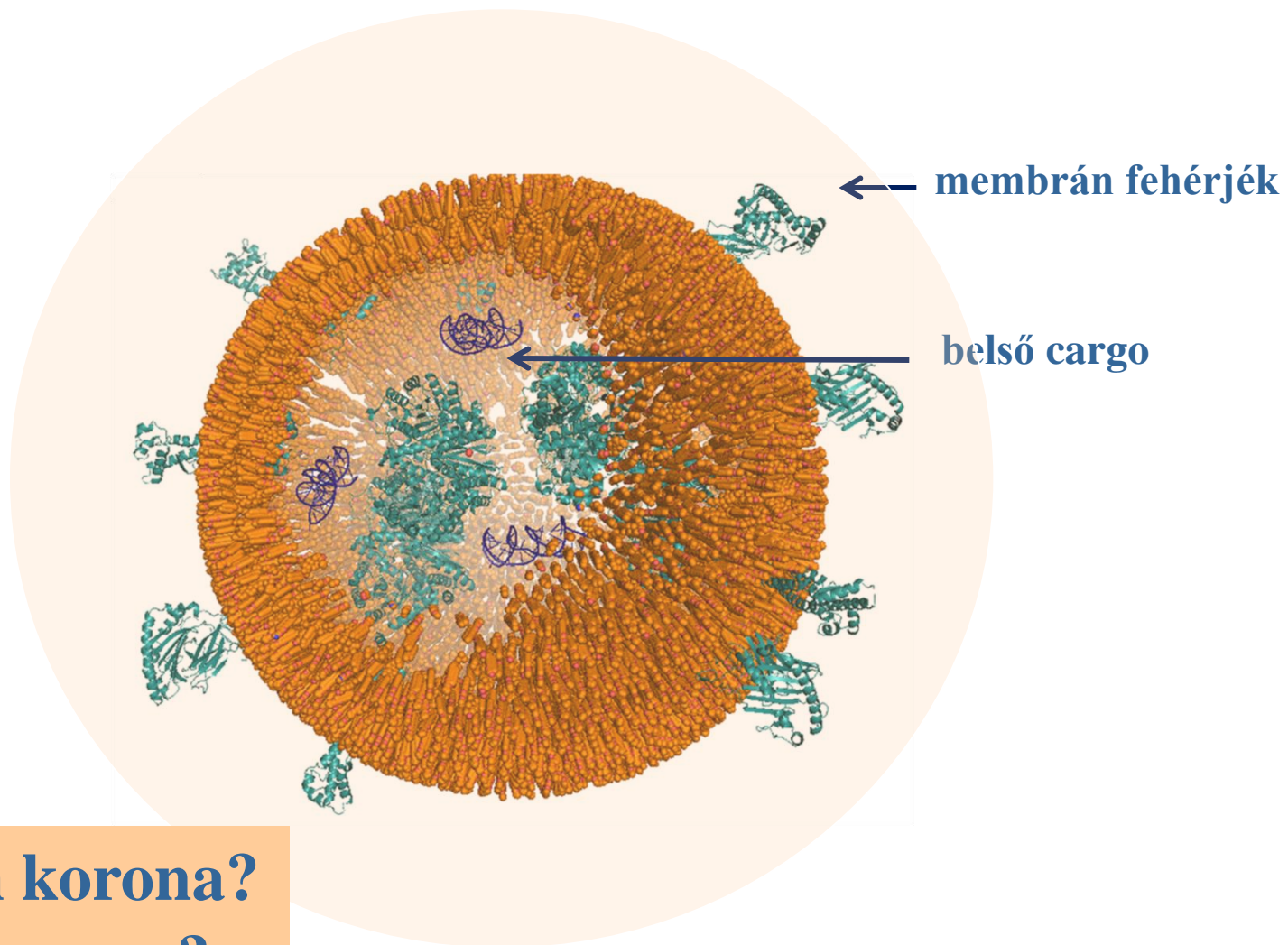
Normál humán szérumból elsődlegesen IgG típusú ellenanyagok kötődése igazolható az EV-k felületéhez.

Az extracelluláris vezikulákat kibocsátó U937 sejtek által expresszált CD59 és CD46 komplement szabályozó molekulák nem mutathatók ki az EV-k felszínén.

A szérumból igen kis mennyiségű H-faktor kötődik az EV-k felszínéhez. Ugyanakkor tisztított H-faktor esetében az EV-k felszínéhez való jelentős kötődés egyértelműen igazolható.

Az extracelluláris vezikulák gátolhatják a komplement aktivációt.

Extracelluláris vezikulák



protein korona?
külső cargo?

Köszönetnyilvánítás

ELTE

Schneider Andrea

Csincsi Ádám

Lomen Eszter

Semmelweis Egyetem

Pállinger Éva

Németh Andrea

Fekete Nóra

Pálóczi Krisztina

Szabó G Tamás

MTA TTK MFA

Horváth Róbert