

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

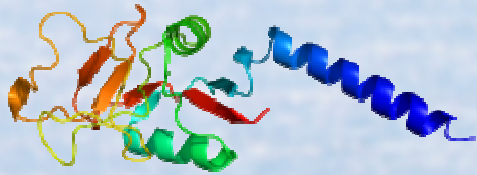


Dobó József, Cervenak László, Horváth Róbert

MedinProt V. Szinergia, 2017

Háttér

- A fehérjék (különösen a vérplazma fehérjék) jelentős része hat a környező sejtekre, ezt a hatást valamilyen receptoron keresztül fejtik ki
- A vérplazma esetén az egyik legfontosabb célsejt az endotélsejt
- A fehérje/receptor kölcsönhatás eredménye egy fehérjére specifikus válasz a sejtek részéről



Háttér



Általában a fehérje/sejt interakció vonatkozásában a következő tényezőkre vagyunk kíváncsiak:

1. Milyen receptoron keresztül hat – milyen további szignalizációt indít el a fehérje?
2. Milyen a hatás kinetikája és dóziszfüggése?
3. Gátolható-e a reakció természetes vagy mesterséges gátlószerekkel? (Orvosi vonatkozásban ez kiemelt jelentőségű!)
4. A fehérje mely doménje felelős a hatásért? (Enzimek esetén szükséges-e az enzimaktivitás a hatáshoz?)



Célkitűzés

Kérdésünk: A plazma aktív szerin proteázai eltérő módon aktiválják-e az endotélsejteket?

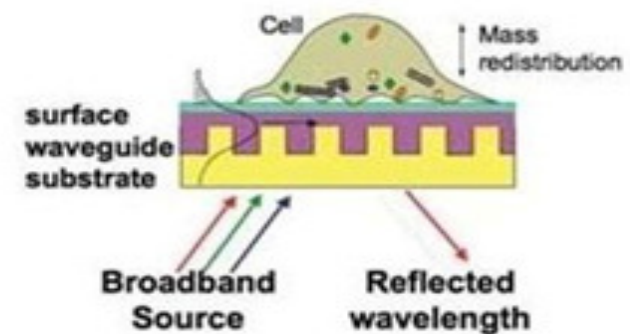
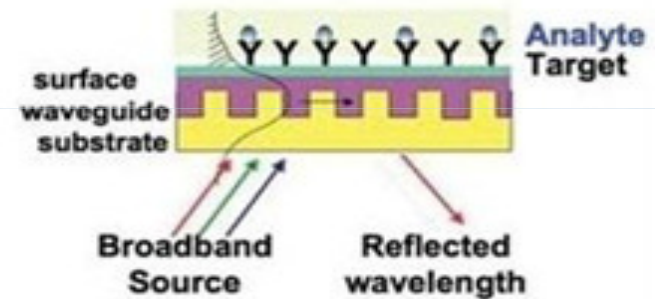
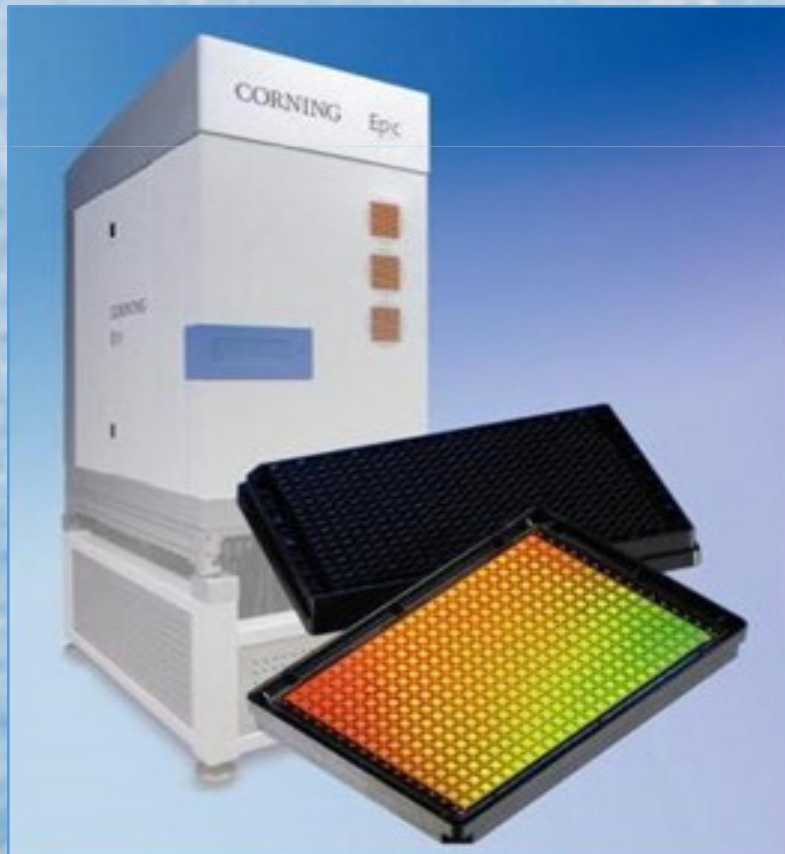
Ehhez szükségünk volt olyan rendszer alkalmazni, ahol az endotélsejtek választ

- érzékenyen,
- nagy áteresztőképességgel,
- valós időben,
- lehetőség szerint jelátviteli utakat elkülönítve,
- a sejtek működését a legkevésbé zavarva lehet vizsgálni.



Horváth Róbert

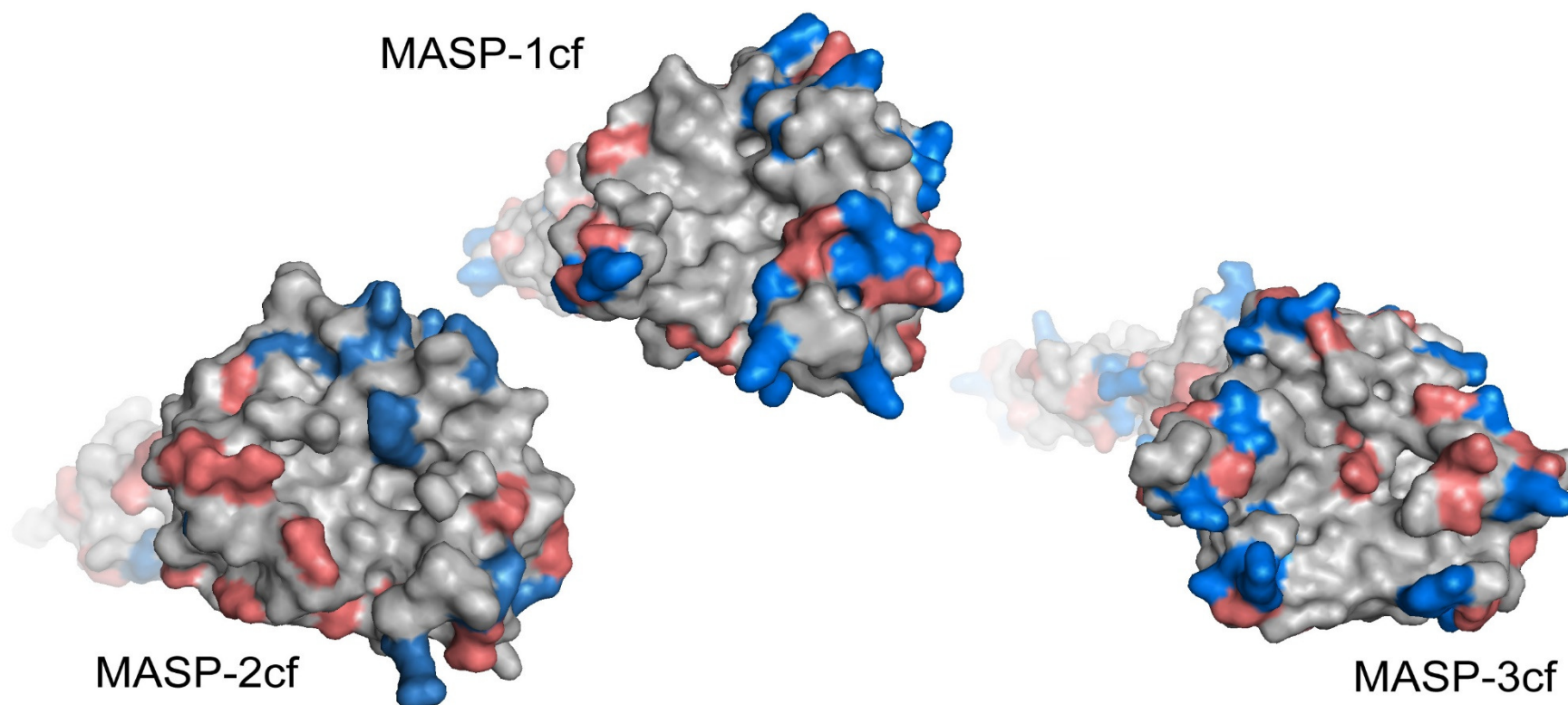
Jelölésmentes optikai bioszenzorok



Plazma szerin proteázok



Dobó József

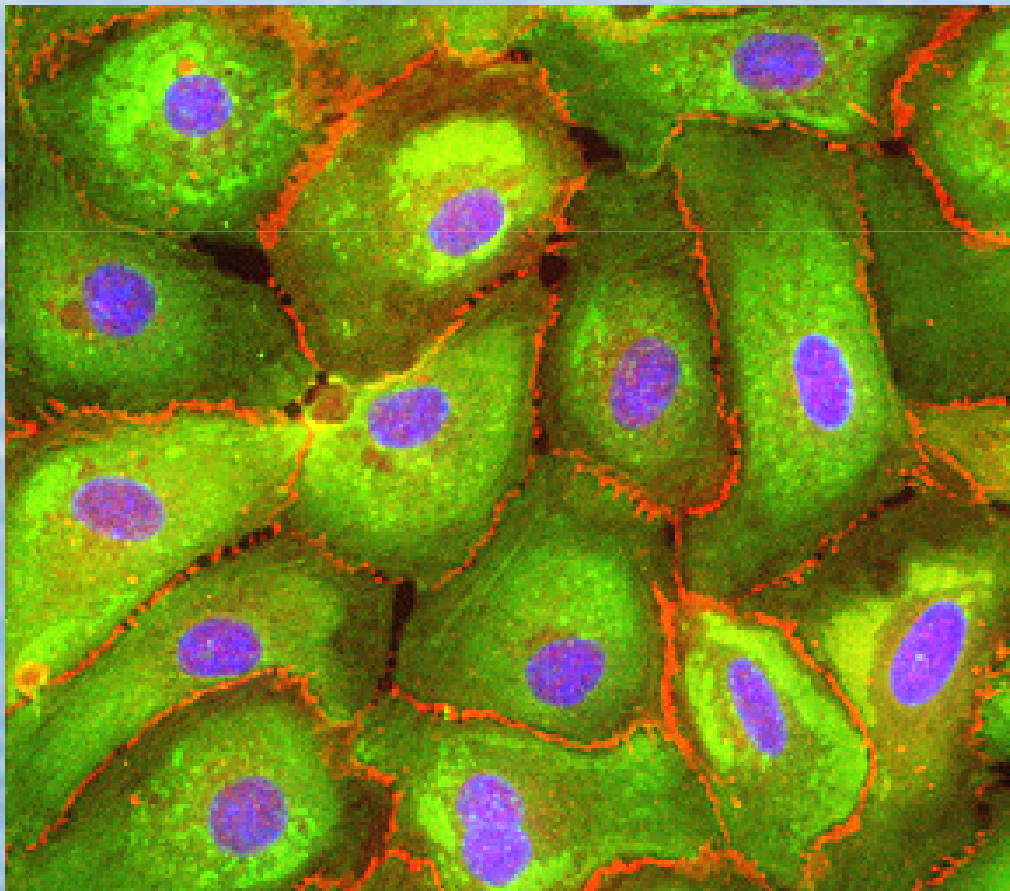




Endotélsejtek



Cervenak László



Az endotélsejtek által
szabályozott folyamatok

Permeabilitás

Vérnyomás

Szelektív transzport

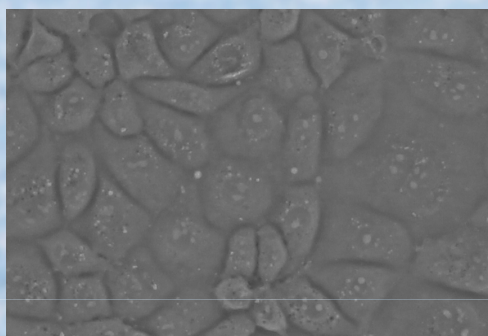
Gyulladás

Véralvadás

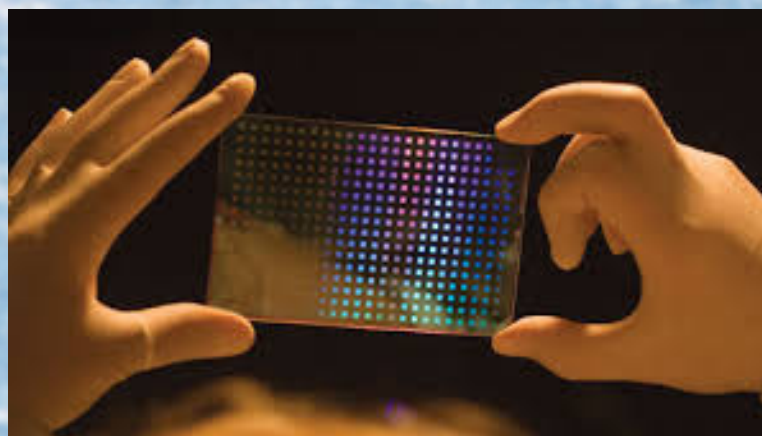
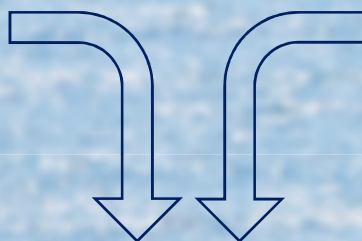
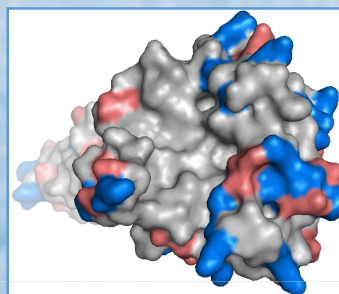
Plazmafehérjék metabolizmusa

Kísérleti modell

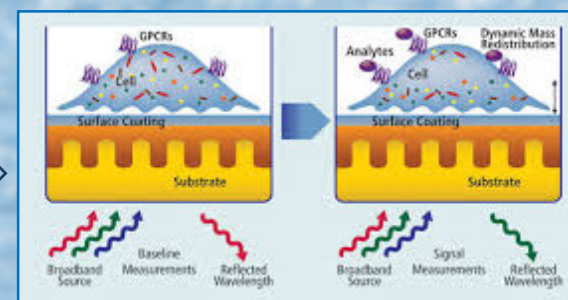
HUVEC



Szerin proteázok

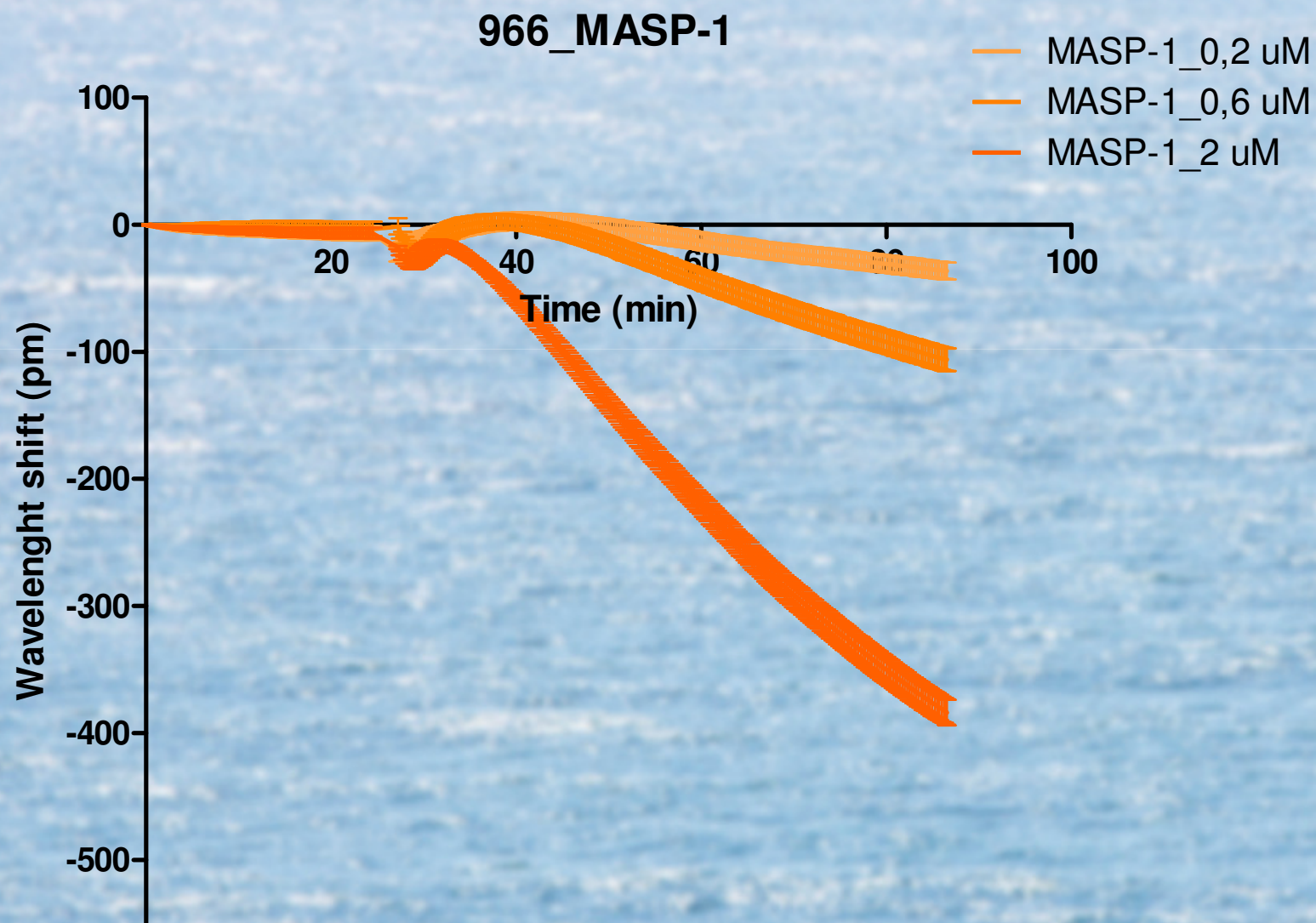


Optikai bioszenzor

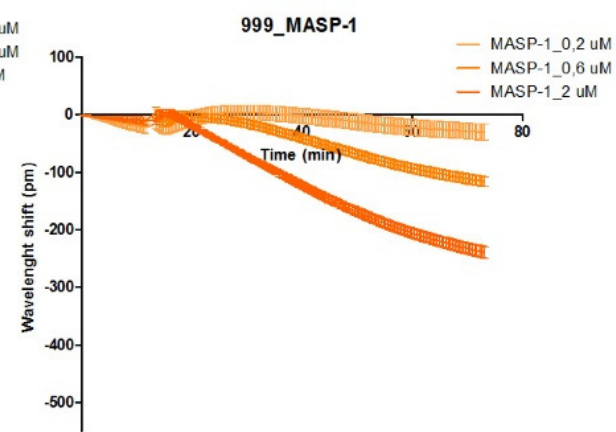
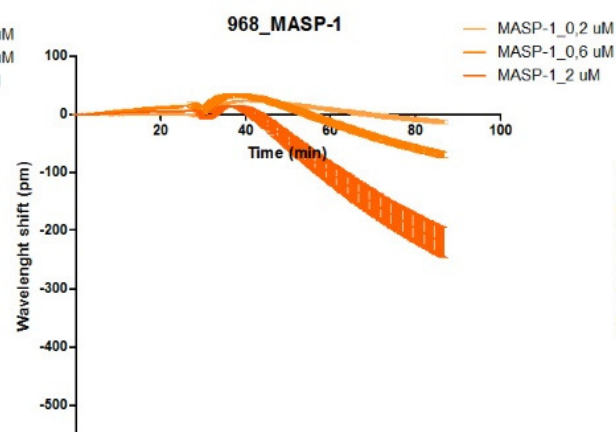
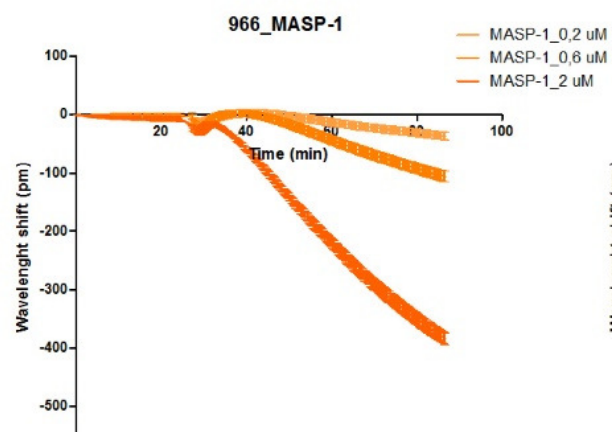


Hullámhossz-eltolódás

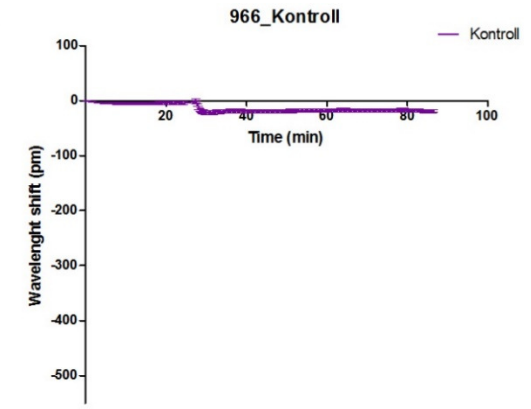
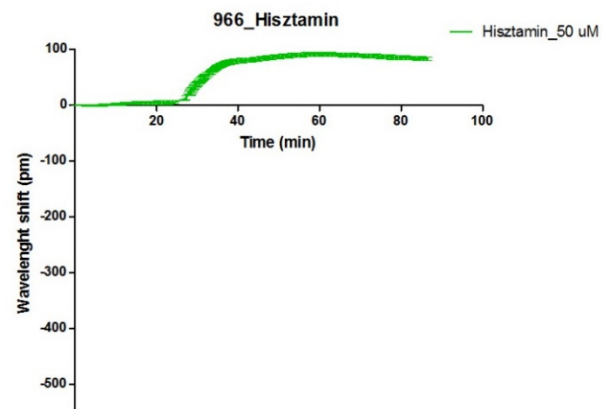
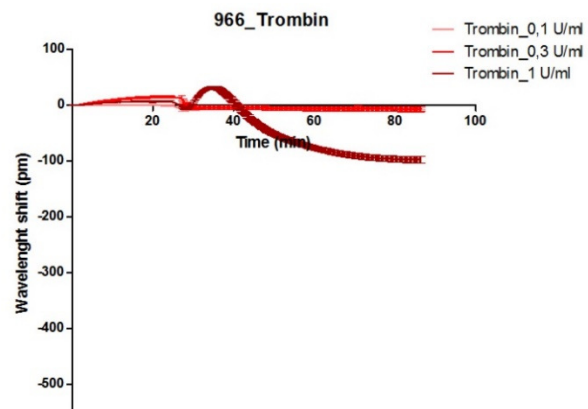
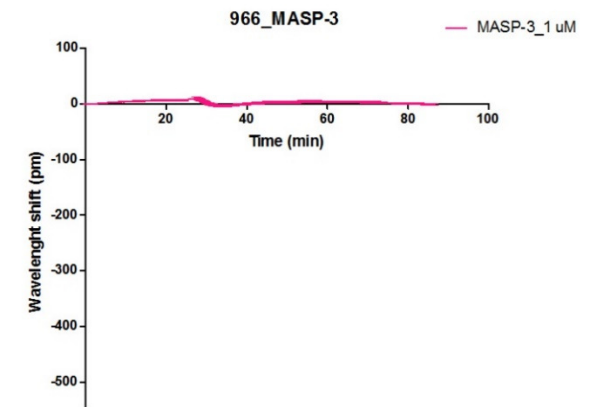
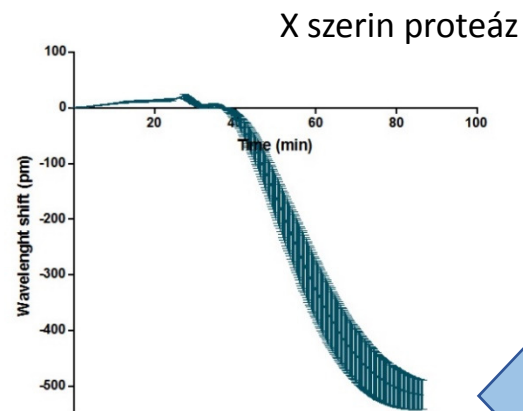
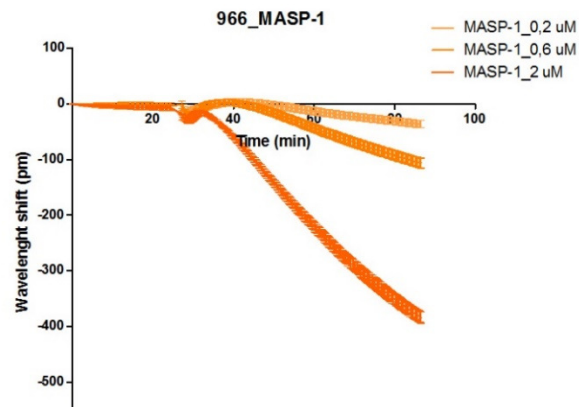
Eredmények



Eredmények



Eredmények



Összefoglalás - Konklúzió

- Az általunk beállított rendszer alkalmas endotélsejtek plazma szerin proteázok által kiváltott válaszreakciójának
 - rövid időtartamú (20-60 min),
 - nagy áteresztőképességű,
 - valósidejű,
 - jelölésmentes tesztelésére.
- Ezzel a rendszerrel összehasonlíthatóvá válnak az endotélsejtekre ható szerin proteázok, esetleg bonyolult keverékek (pl. vérplazma) főkomponens analízise is elérhetővé válik.

Összefoglalás - Konklúzió

- A jelölésmentes bioszenzor, mint screening módszer segítségével sikerült kimutatnunk egy szerin proteáz újabb, endotélsejtekhez kapcsolódó funkcióját.
- A továbbfejlesztett verzió alkalmas lehet a hosszabbtávú, fiziológiához közelebbi környezetben való tesztelésre is.

Köszönetnyilvánítás

MTA TTK

Gál Péter

Balczer Jánosné



MTA MFA

Székács Inna

Péter Beatrix

Kovács Boglárka

Semmelweis Egyetem, III. Belklinika

Debreczeni Márta Lídia

Schwaner Endre

Köszönöm a figyelmet!

