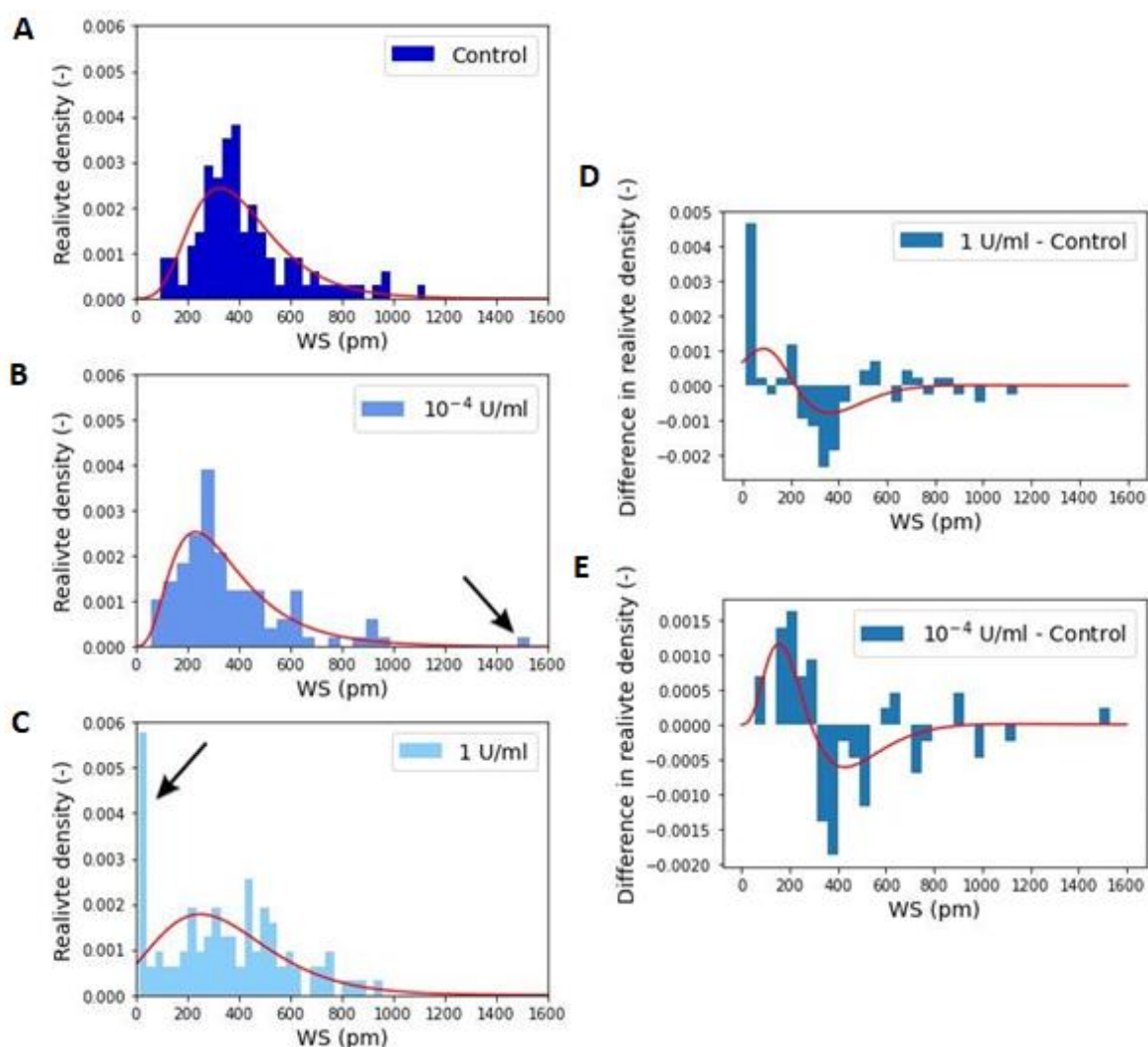


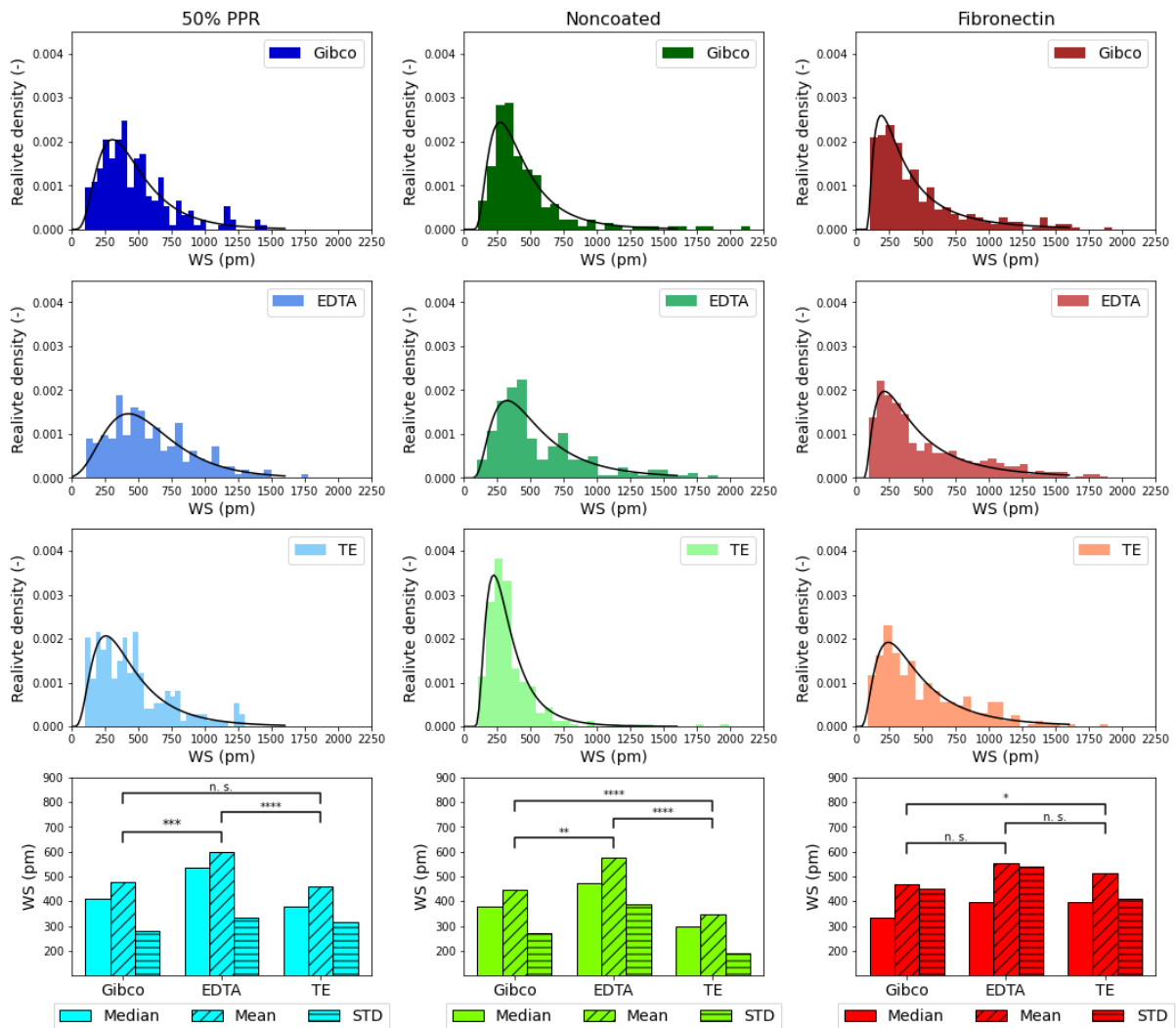
Az aktuális félévben elvégzett kutatások ismertetése

Ebben a félévben főként a már az előző félévekben említett témaimmal foglalkoztam, azokat folytattam. Elsőként az előző félévben leírt egyedi sejtjelölésmentes optikai bioszenzorral különböző körülmények között mért HeLa sejtek jeleit elemeztem.



1. ábra: a-c) HeLa sejtek adhézios jelének eloszlása és a rá illesztett lognormális görbék különböző ChrABC enzim koncentrációjánál. d-e) A két különböző ChrABC koncentrációjánál mért adhézios jelek eloszlásának és a kontroll sejtek eloszlásának különbsége az illesztett görbék különbségével együtt ábrázolva. [1]

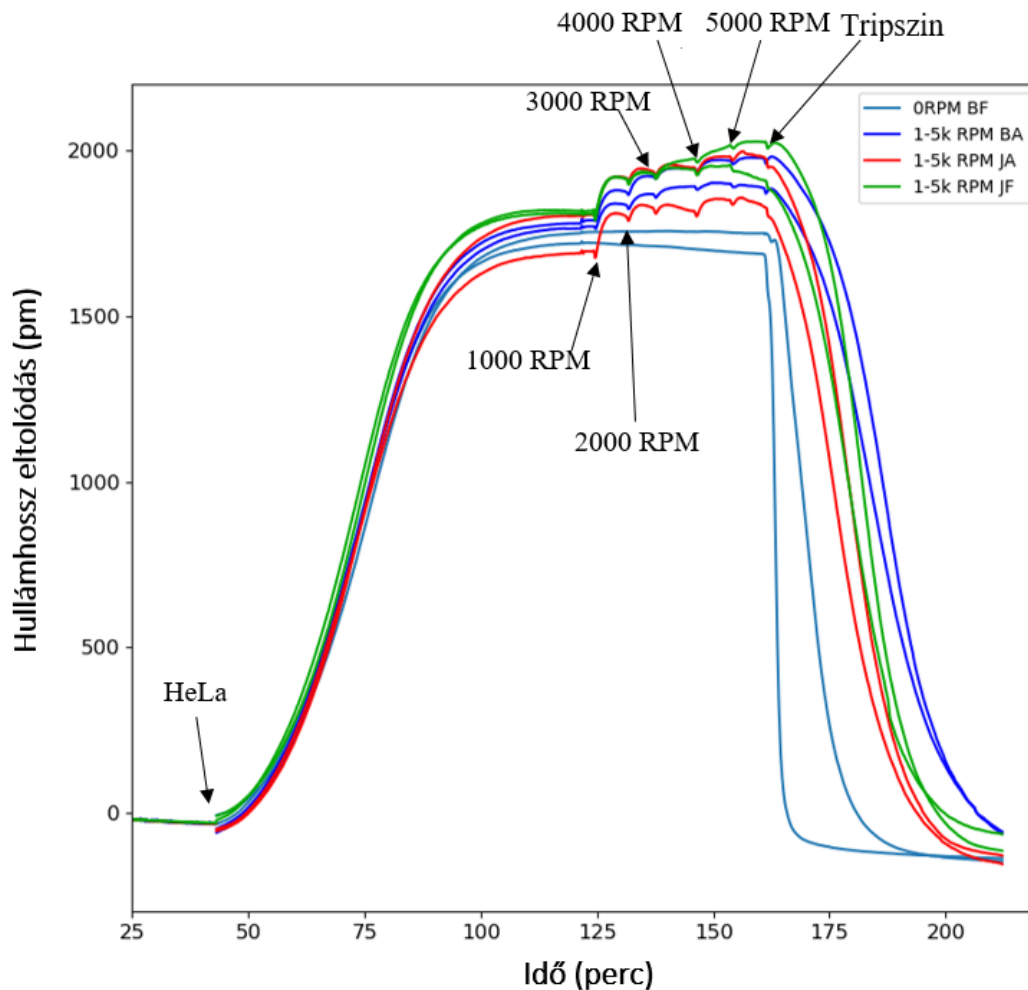
Az első félévi beszámolómban leírt ChrABC enzim hatását egyedi sejtes szinten is elkezdtek vizsgálni. Két különböző enzim koncentrációnál, illetve egy enzim mentes kontrollnál lett lemérve HeLa sejtek adhéziós görbéi. Ezeknek az egyedi sejtes adhéziós jeleknek a adhéziós folyamat végén lévő eloszlásuk és az eloszlásokra illesztett lognormális görbék láthatóak az 1.a-c ábrán. Az enzim hatásának jobb vizualizálása érdekében készítettem két olyan ábrát, ahol a kontroll sejtek jelét kivontam az enzimmel kezelt sejtek jeléből, illetve az illesztett lognormális görbéket is kivontam egymásból (1.d-e ábra). Ezekon az ábrákon a negatív értékek egy az enzim kezelés hatására eltűnő alpopulációt jelentenek, míg a pozitív értékek egy megjelenő alpopulációt. A közepesen erősen tapadó alpopuláció, aminek a hullámhossz eltolódás (WS) értéke 200 és 500 pm közötti, mindkét enzim koncentráció hatására jelentősen csökken és a gyengén tapadó (WS < 200 pm) sejtek száma nő meg. A nagy enzim koncentrációnál megjelenik egy letapadni szinte egyáltalán nem képes alpopuláció.



2. ábra: HeLa sejtek adhéziós jelének eloszlása és a rá illesztett lognormális görbék különböző felületeken (oszlopok) különböző sejtfelszedési módszerekkel (sorok). Az utolsó sorban az eloszlások átlaga, mediánja és szórása van ábrázolva a különböző sejtfelszedési módokhoz adott felületen nem-paraméteres próbával összehasonlítva.

Az előzőekben leírt módszerrel vizsgáltuk még különböző felületeken (RGD-vel funkcionalizált (50% PPR), kezeletlen és fibronectinnel bevont) a különböző sejtfelszedési módszerek (Gibco disszociációs puffer, EDTA és Tripszin-EDTA (TE)) hatását HeLa sejteken.

Látható, hogy a kezeletlen felületen van a legnagyobb különbség a sejtfelszedési módok között, a legkisebb különbség pedig a fibronektinnel bevont felületen van.



3. ábra: HeLa sejtek adhéziós jele különböző áramlási sebességek illetve tripszin hatására [Tarr Róbert Dániel: Mérési környezet fejlesztése élő sejtek áramlási térben történő vizsgálatához, jelölésmentes optikai bioszenzorral]

Az előző féléves beszámolómban leírt újfajta mérőberendezés továbbfejlesztésén is dolgoztam. Az eddigi elrendezés egy referencia wellből és egy 'mérő' wellből állt, amiben az áramlást létrehoztuk. A továbbfejlesztés lényege az volt, hogy az egy nagy térfogatú 'mérő' wellt három kisebb térfogatú 'mérő' wellre cseréljük. Ennek az előnye, hogy korlátozott mennyiségben rendelkezésre álló hatóanyagokkal is lehetséges majd dolgozni, mivel a kisebb térfogatú wellnél nagyságrenddel kevesebb hatóanyagra van szükség az adott koncentráció eléréséhez. Az eredeti elrendezés nagy előnye az volt, hogy széles áramlási sebességtartományban lehetett egyszerre mérni (wellenként 7 különböző sebesség), míg a fejlesztésnél wellenként 1 sebesség mérhető, mivel a kis térfogat miatt kevesebb szenzor fér bele. Ha viszont kihasználjuk, hogy egy szenzor ~ 400 pixelből áll és minden pixel külön mérhető így az új verzióval is megvalósítható a széles sebességtartományban való mérés. Ehhez a pixelenkénti kiértékeléshez folyamatban van a kiértékelő kód fejlesztése.

Az új elrendezés teszteléséhez HeLa sejtekkel végeztünk méréseket. Először megvártuk, hogy sejtek letapadjanak az RGD-vel funkcionális felületre, majd elkezdtük a sejtek felett áramoltatni a puffert. 10 percnként növeltük az áramlási sebességet, amit a mágneses keverő fordulatszámával szabályoztunk. 50 perc és 5 áramlási sebesség után tripszint fecskendeztünk

a wellékbe. Jól látható a 3.-as ábrán, hogy puffer áramlásának hatására nőtt a bioszenzor jel, tehát a sejtek jobban kiterültek a felszínre. A tripszin hatására a diplomamunkámban is látható effektus figyelhető meg: a sejtek teljesen leválnak a felszínről. A konkrét áramlási sebességek meghatározásához a numerikus szimulációk jelenleg készülnek, de a bioszenzor jelből 0,55 m/s-s sebességre lehet következtetni, mivel a diplomamunkám alatt kimértem, hogy az ennél nagyobb sebességeknél a sejtek leválnak a felszínről.

Publikációk

Kanyo, N., Kovacs, K. D., Saftics, A., Szekacs, I., Peter, B., Santa-Maria, A. R., Walter, F. R., Dér, A., Deli, M. A., & Horvath, R. (2020). Glycocalyx regulates the strength and kinetics of cancer cell adhesion revealed by biophysical models based on high resolution label-free optical data. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-020-80033-6>

Kovács, K. D., Novák, M., Hajnal, Z., Hős, C., Szabó, B., Székács, I., Fang, Y., Bonyár, A., & Horvath, R. (2021). Label-free tracking of whole-cell response on RGD functionalized surfaces to varied flow velocities generated by fluidic rotation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 599, 620–630. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.04.091>

Farkas, E., Tarr, R., Gerecsei, T., Saftics A., Kovács, K. D., Stercz, B., Domokos J., Peter, B., Kurunczi S., Szekacs, I., Bonyár, A., Bányai, A., Fürjes, P., Ruzskai-Szaniszló, Sz., Varga, M., Szabó B., Ostorházi E., Szabó D., Horvath, R. Development and in-depth characterization of bacteria repellent and bacteria adhesive antibody coated surfaces using optical waveguide biosensing. *Biosensors*, elfogadva

1. Kanyo, N., Kovacs, K. D., Kovács, S. V., Béres, B., Péter, B., Székács, I., Horvath, R. Single-cell adhesivity distribution of glycocalyx digested cancer cells from high spatial resolution label-free biosensor measurements. *Matrix Biology Plus*, bíráló alatt

Tanulmányi tevékenység az aktuális félévben

Polimerek és membránok statisztikus fizikája EA, Modern képző technikák a biológiában

Konferenciák az aktuális félévben

Cytosurge FluidFM conference: Novel applications of FluidFM OMNIUM in combination with high resolution label-free biosensors (előadás)

Elismerések

MFA Intézeti Publikációs Díj (Kovács, K. D. et al.: Label-free tracking of whole-cell response on RGD functionalized surfaces to varied flow velocities generated by fluidic rotation.)

Oktatási tevékenység az aktuális félévben

Klasszikus fizika laboratórium

Témavezetés

Gajnut Fatime, BME Egészségügyi mérnök MSc hallgató, Diplomamunka