

## *1. félévi beszámoló*

**Balogh Anna** (baloghanna42@student.elte.hu)

Statisztikus Fizika, Biológiai Fizika és Kvantumrendszerek Fizikája PhD program

Témavezető: Derényi Imre, Horváth Róbert

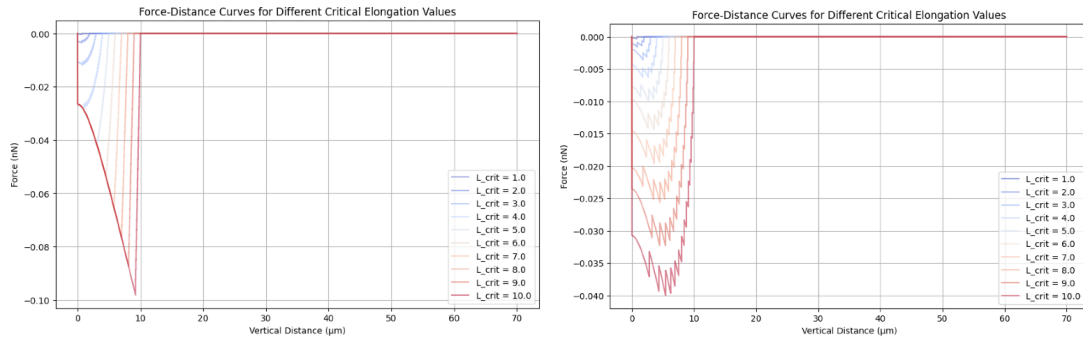
A dolgozat címe: A sejtadhézió kísérletes és elméleti biofizikai vizsgálata

### Bevezetés

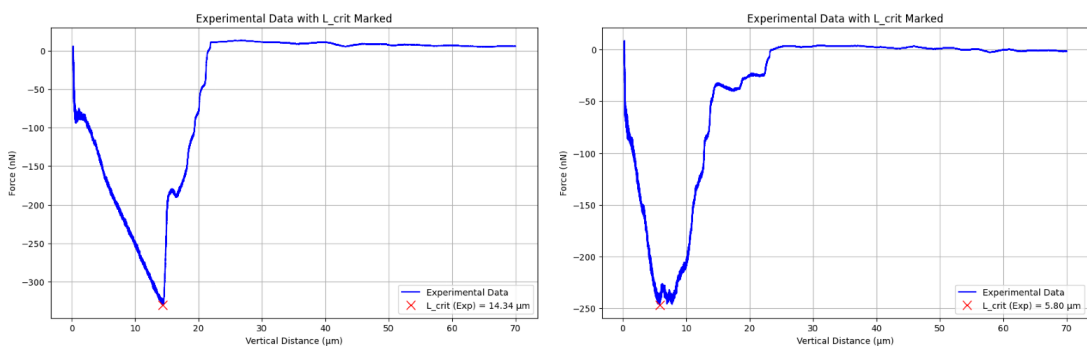
Az egyedi sejtek adhéziója fontos szerepet játszik a biológiai és orvosbiológiai kutatásokban, viszont pontos mérése nagy számú sejt esetén a mai napig kihívást jelent. A sejtek adhézióját jól lehet jellemezni azzal az erővel, amely ahhoz szükséges, hogy ezen sejteket leválasszuk arról a felületről, amelyre tapadnak. Ezen erőt mérhetjük közvetlen, és közvetett módon is. Közvetett erőmérésre alkalmasak a jelölésmentes, felületérzékeny optikai bioszenzorok. Ezen eszközök laterális felbontástól függően akár egyedi sejtek vizsgálatára is alkalmasak. Az általuk mért jel arányos az adhéziós zónában található anyagmennyiséggel, a kapott mérési eredményekre kinetikai görbék illeszthetők. A technika által szolgáltatott optikai jel egyedi sejtre történő erőkalibrációja következtében ezen technika alkalmassá vált nagy számú sejt erőgörbéinek nagy precizitással való meghatározására. Egy, a közvetlen erőmérésre alkalmas technológia a mikrofluidikai csatornával és nyomáskontrollerrel ellátott atomerő-mikroszkóp, a FluidFM. Ezen eszköz használata során nem kell megvárni, amíg a sejtek kötésbe kerülnek az adhéziós felülettel, mivel a már teljesen letapadt sejteket lehet felszedni néhány másodperces várakozási idővel. Ezen eljárás az adhéziós erők nagyon pontos meghatározását teszi lehetővé az így kapott erő-távolság görbékkel. A kutatásom célja adhéziós folyamatok tanulmányozása a fenti módszerekkel, mérések tervezése és kivitelezése, optikai és biofizikai modellek felállítása, amelyek többek között a sejtek adhéziós viselkedésének mélyebb megértését és a sejt-mátrix interakciók pontosabb jellemzését teszik lehetővé.

### Az aktuális félévben elvégzett kutatások ismertetése

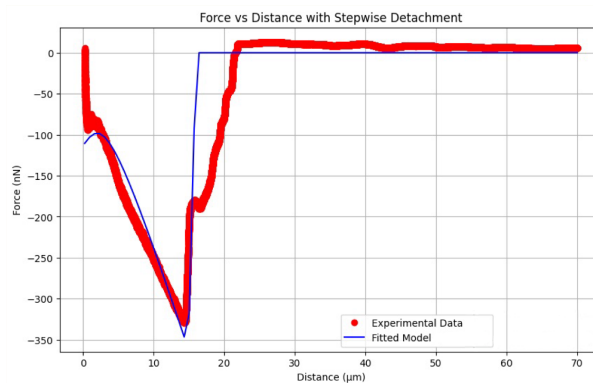
A félév során modern biofizikai technikák, például fluidikai erőmikroszkóp, azaz FluidFM segítségével, különböző mikroszkópos technikákkal és speciális egyedi sejtekre fókuszáló optikai bioszenzorok alkalmazásával vizsgáltam sejtek adhézióját és proliferációját. A FluidFM-mel végzett adhéziómérések elméleti modellezése a sejtek adhéziós viselkedésének mélyebb megértését és a sejt-mátrix interakciók pontosabb jellemzését eredményezik. A modell létrehozása során több, egyszerűbb konstrukcióval, sejtmodellel is dolgoztam, emellett adhézióméréseket végeztem a HeLa sejtek erő-távolság görbéinek további vizsgálatára. Egyetlen kitapadt sejt FluidFM-mel való felvételének elméleti leírásához a sejtnek a felülethez való csatlakozásának mechanikáját integrin-RGD ligandum kötésekkel keresztül vettem figyelembe, amelyeket rugóként kezeltem. A sejtek felvétele során a FluidFM ezen kötéseknek felszakításával megpróbálja elválasztani a sejtet a felülettől. A sejt felszedés során az integrin receptorok és RGD ligandumok közötti kötések rugókként modellezhetők,  $k$  rugóállandóval. A sejtet állandó sebességgel húzzuk fel, a rugók időben lineárisan változva feszülnek meg. Ezen egyszerű rugós modellt tovább bővítve realisabb közelítéseket alkalmaztam a sejt receptor-ligandum komplexeinek eloszlásának, és aktin citoskeletonjának leírására. Az adhéziómérések során rögzített kritikus sejtmelegnyúlás (és felhúzási erő) értékek az így kapott elméleti értékekkel nagyfokú átfedést mutattak, és a görbe karakterisztikáját bizonyos mértékben visszakaptam.



1. ábra: A „sejtperifériákon” és a középpont környékén sűrűbb eloszlások esetén kapott görbék.



2. ábra: Erő-távolság görbék a mérések során tapasztalt kritikus megnyúlásokkal, RGD felületkezelés mellett (100% -os PLL-PEG-RGD)



3. ábra: Kísérleti görbe megillesztése a kezdetleges modellel a paraméterek verifikációja céljából

A továbbiakban újabb méréseket végzek majd, amelyek esetén a sejtek üvegfelületen tapadnak felületkezelés nélkül az egyéb irodalmi adatokkal való egyszerűbb összehasonlítás végett, emellett a felhúzás sebességét és a felhúzási időt módosítom az eddigi eljárásokhoz képest. Illetve újabb, valóságosabb sejtmodellek alkalmazását is tervezem, ahol a sejteket folytonos struktúrákként kezelem, és különböző enzimekkel kezelt sejtek erő-távolság görbéit is vizsgálom majd.

A félév során egyedi sejtek adhéziójának eloszlását is vizsgáltam, amely nemcsak azért fontos, mert lehetővé teszi az egyes sejtek közötti variabilitás mennyiségi értékelését, hanem azért is,

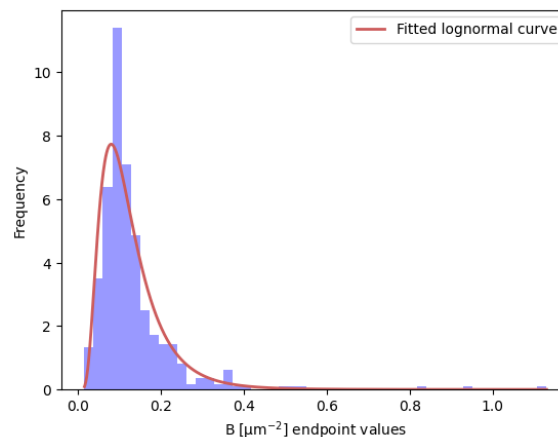
mert az adhézión erők kritikus szerepet játszanak a sejtek élettani és patológiás folyamataiban. Ezen eloszlások időbeli nyomon követése információkat nyújt a sejtek adaptív és dinamikus viselkedéséről. A sejtadhézión mérésekből nyert adatokat különböző valószínűségi eloszlással modelleztük, hogy jobban megértsük a sejtek közötti kölcsönhatások heterogenitását és az adhézión folyamatokat. A sejtadhézión folyamatok molekuláris szinten való elemzéséhez több kinetikai modellt is kifejlesztettünk. A modell közönséges csatolt differenciálegyenletekkel írja le a ligandumok, a szabad integrinek, és az integrin-ligandum komplexek felszíni koncentrációinak időbeli változását, illetve az integrinek adhézión zónába való toborzását kinetikus sebességi állandókkal jellemzi. Így a ligandum ( $L$ ), a szabad integrin ( $I$ ), és az integrin-ligandum komplex ( $B$ ) felületi koncentrációjának változása az adhézión zónában az idő függvényében:

$$\frac{dB}{dt} = k_1 L \cdot I - k_2 B$$

$$\frac{dL}{dt} = -k_1 L \cdot I + k_2 B$$

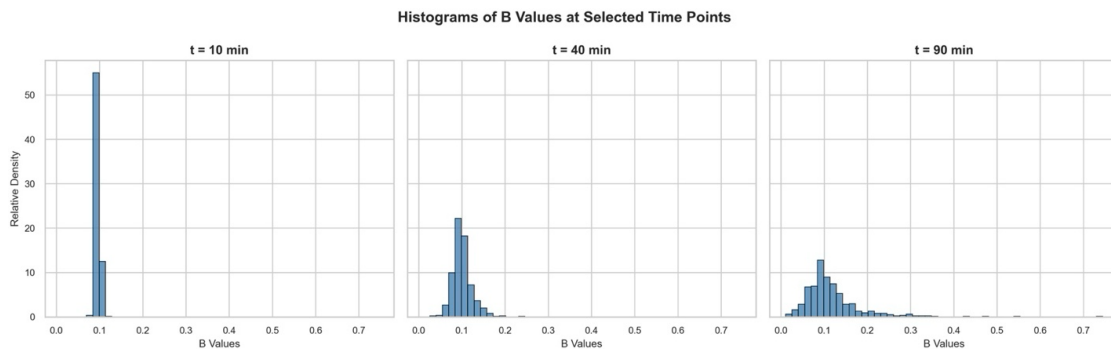
$$\frac{dI}{dt} = -k_1 L \cdot I + k_2 B + k_3 B (I_{\max} - I)$$

Ahol  $k_1$  és  $k_2$  az integrinek és ligandumaik asszociációs és disszociációs sebességi rátája,  $k_3$  pedig az integrinek toborzási sebességi rátája az adhézión zónába.  $I_{\max}$  az integrinek maximális lehetséges felszíni koncentrációja az adhézión zónában. Ha az  $I$  szabad integrin koncentráció eléri ezen felső határt, a receptorok toborzása leáll. A szenzor által mért hullámhossz-eltolódások értéke arányos az adhézión folyamatok során kialakuló integrin-ligandum komplexek felszíni koncentrációjával, a  $B$  értékkel. Arra voltunk kíváncsiak, hogy ha ezeket az egyenleteket normális eloszlásokból mintavételezve oldjuk meg, mi lesz  $B$  végponti eloszlása, amely arányos a mért hullámhossz-eltolódással, így log-normális eloszlást kaptunk.



4. ábra A kapott log-normális eloszlás végpontjai.

A kód véletlenszerű kinetikai paramétereket generál, és a kapott  $B$  értékeket, amelyek a komplexképződést reprezentálják, meghatározott időpontokban (10, 40 és 90 perc) elemeztem a továbbiakban hisztogramok segítségével három kiválasztott időpontban: 10 perc, 40 perc és 90 perc, szemléltetve, hogyan alakul az integrin-ligandum kötődési dinamika.



5. A nem végponti értékek is tükrözik az előbbi tendenciákat a szimulált értékek esetén.

### Publikációk

Kinetic analysis of label free cellular adhesion signals. Anna Balogh, Kinga Dóra Kovács, Beatrix Magyaródi, Boglárka Kovács, Nicolett Kanyo, Inna Szekacs, Robert Horvath. Kéziratban.

Quantifying Cellular Heterogeneity: Unraveling Log-normal Dynamics in Single Adherent Cells on Label-Free Optical Biosensor. Kinga Dora Kovacs, Nicolett Kanyo, Bálint Béres, Anna Balogh, Beatrix Peter, Inna Szekacs, Robert Horvath. Kéziratban.

The synergistic role of PHSRN in modulating HeLa cell adhesion: A real-time analysis of soluble and surface-bound interactions using label-free optical biosensor. Beatrix Magyaródi, Kinga Dóra Kovács, Enikő Farkas, Anna Balogh, Boglárka Kovács, Ildikó Szabó, Szilvia Bősze, Inna Székács, Robert Horvath. Kéziratban.

Nano-injection of functionalized gold nanoparticles by robotic FluidFM and analysis by Bio-TEM. Nicolett Kanyo, Kinga Dora Kovacs, Anna Balogh, Imola Rajmon, Beatrix Peter, Inna Szekacs, Istvan Lagzi, Kinga Molnar, Monika Truszka, Hideyuki Nakanishi, Robert Horvath. Kéziratban.

Nanofluidikai csatornával ellátott fluidikai erőmikroszkóp (FluidFM) biofizikai és biológiai alkalmazásai. Balogh Anna, Rajmon Imola, Kovács Kinga Dóra, és Horváth Róbert. Revízió alatt.

### Tanulmányi tevékenység az aktuális félévben

Preklinikai modellek a daganatkutatásban EA, Az érzékelés biofizikája EA

### Konferenciák az aktuális félévben

Anna Balogh, Kinga Dora Kovacs, Boglárka Kovacs, Imola Rajmon, Kinga Molnar, Inna Szekacs, Beatrix Peter, Robert Horvath, Investigation of interactions between functionalized nanoparticles and living cells with robotic FluidFM, Cytosurge FluidFM Conference, 2024. október 29-30., Svájc. Előadás

Oktatási tevékenység az aktuális félévben: Modern fizika laboratórium (fizlab3f19la) heti 4 óra.

Elismerések: Egyetemi Doktori Kutatói Ösztöndíj 2024 (EKÖP-24-3-I-ELTE-525)