

3. félévi beszámoló

Balogh Anna (baloghanna42@student.elte.hu)

Statisztikus Fizika, Biológiai Fizika és Kvantumrendszerek Fizikája PhD program

Témavezető: Derényi Imre, Horváth Róbert

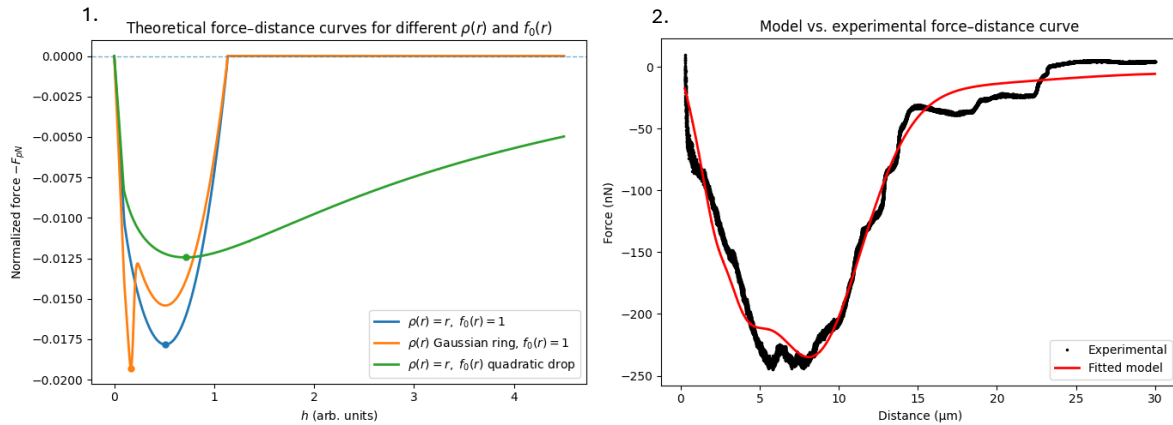
A dolgozat címe: A sejtadhézió kísérletes és elméleti biofizikai vizsgálata

Bevezetés

A sejtek adhéziója és annak időbeli alakulása alapvető szerepet játszik számos biológiai és orvosbiológiai folyamatban, ugyanakkor kvantitatív leírása összetett feladat, mivel a mért jelek több, egymással összefonódó molekuláris és mechanikai folyamat eredőjeként jelennek meg. Jelölésmentes, felületérzékeny optikai bioszenzorok, például az EPIC BT rendszer, és egyedi sejteken alkalmazott erőmérési technikák, mint a FluidFM, lehetőséget adnak ezen folyamatok valós idejű követésére, azonban a kapott adatok értelmezéséhez elméleti és numerikus modellek alkalmazása szükséges. Az egyik, az év során készülő munkánkban a FluidFM-mel mért sejtleszakítási görbéket egy mechanisztikus modell segítségével írtuk le, amelyben az integrin–ligand kötések lineáris rugókként jelennek meg, és amely rámutat arra, hogy a kötési helyek sűrűsége és mechanikai tulajdonságai alapvetően meghatározzák a mért erő–távolság görbék jellegét. Az előző félév során a PHSRN motívum sejtadhézióra gyakorolt hatását jelölésmentes bioszenzoros mérések alapján, kinetikai modellezéssel vizsgáltam, amely a ligandumkötési és integrin-toborzási folyamatok kvantitatív leírását tette lehetővé. A jelen félévben ezt a megközelítést mikroszkópos képalkotással került kiegészítésre: konfokális mikroszkópiával, zyxin- és vinculin-festés segítségével a fokális adhéziók szerveződése került kvantifikációra PHSRN-kezelt és kontroll HeLa sejtekben. A mérések kiértékeléséhez saját fejlesztésű képanalízis-módszert alkalmaztam, amely lehetővé teszi az adhéziós struktúrák objektív, kvantitatív jellemzését, és közvetlen kapcsolatot teremt a bioszenzoros kinetikai eredmények és a sejt szintű, térben feloldott megfigyelések között.

Az aktuális félévben elvégzett kutatások ismertetése

Az aktuális félév során kutatómunkám középpontjában a sejt–felszín kölcsönhatások mechanikai és kinetikai jellemzése állt, különös tekintettel az adhéziós folyamatok biofizikai leírására és kvantitatív értelmezésére. A FluidFM-mérésekhez kapcsolódóan továbbfejlesztettem egy mechanisztikus modellt, amelyben a sejtet félgömbszerű testként, az integrin–ligand kötések rendszerét pedig rugókként írtam le. A modell lehetővé teszi a tapadási erő numerikus meghatározását különböző kötési sűrűség- és rugalmassági eloszlások mellett, valamint a kritikus szakítóerő figyelembevételét, így alkalmas az erő–távolság görbék kvalitatív és kvantitatív értelmezésére. A számított eredmények jó egyezést mutattak a kísérletileg mért kritikus megnyúlásokkal és erőértékekkel, és alapot teremtenek a modell kísérleti görbékhez történő illesztésére.



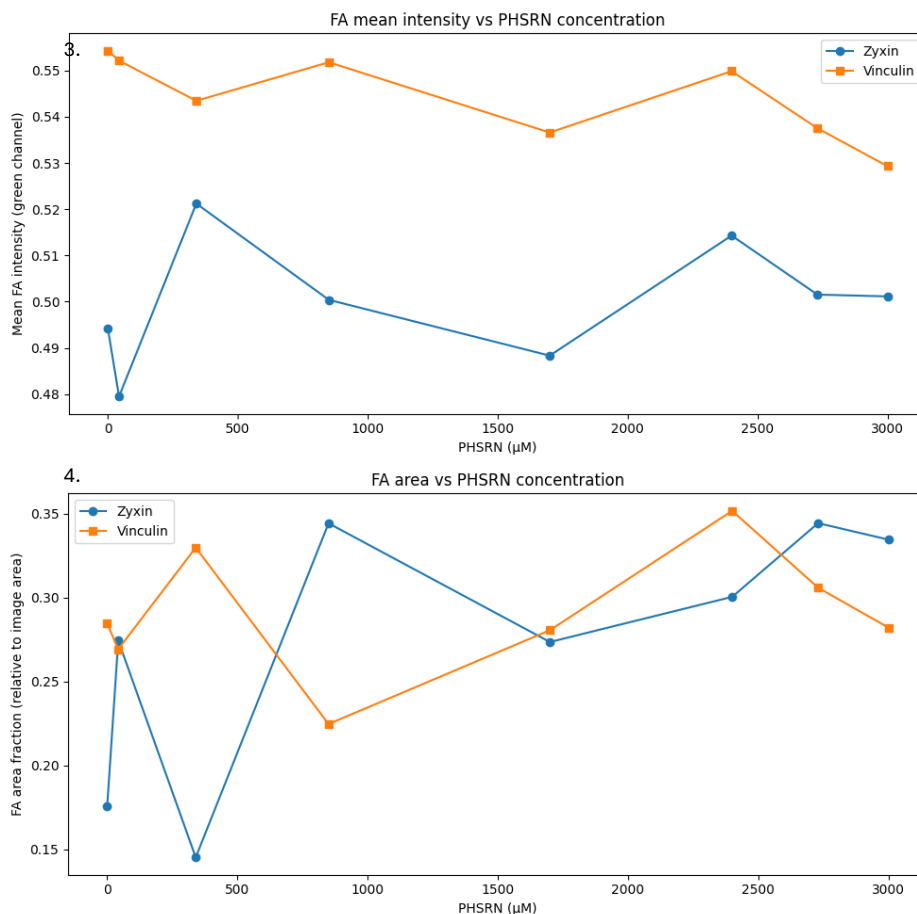
1. Normalizált elméleti erő-távolság görbék különböző kötőhely-sűrűség- és rugalmassági eloszlások esetén. Az ábra szemlélteti, hogy az adhézión kötések térbeli szerveződése és mechanikai tulajdonságai jelentősen befolyásolják a sejtfelszakítás során mért erőprofil alakját.

2. Kísérleti FluidFM erő-távolság görbe (fekete) és a rugóalapú adhézión modell illesztése (piros). A modell reprodukálja a sejtfelszakítás során mért főbb jellemzőket, különösen a tapadási minimum helyét és nagyságát, igazolva az integrin-ligand kötések mechanisztikus leírásának relevanciáját.

A modell általános viselkedését az 1. ábra szemlélteti, ahol különböző kötőhely-sűrűség- és rugalmassági eloszlások mellett számított elméleti erő-távolság görbék láthatók. Az eredmények azt mutatják, hogy az adhézión kötések térbeli szerveződése és mechanikai heterogenitása jelentős hatással van a mért erőprofil alakjára, ami magyarázatot adhat a kísérletileg megfigyelt görbék közötti variabilitásra. A FluidFM-mérések értelmezésére kifejlesztett mechanisztikus modell érvényességét kísérleti adatokkal vettem össze. A 2. ábra egy reprezentatív HeLa sejt FluidFM erő-távolság görbéjét és a hozzá illesztett elméleti modellt mutatja. A modell jól reprodukálja a sejtfelszakítás során megjelenő főbb jellemzőket, különösen az adhézión minimum helyét és nagyságát, ami azt jelzi, hogy az integrin-ligand kötések rugóalapú leírása alkalmas a mérési adatok mechanisztikus értelmezésére.

A korábbi félévben megkezdett, PHSRN peptidhez kapcsolódó kutatásokat ebben a félévben módszertanilag tovább bővítettem. Míg korábban a PHSRN sejtadhéziónra gyakorolt hatását jelölésmentes bioszenzoros mérések és kinetikai modellezés segítségével vizsgáltam, az aktuális félévben mikroszkópos képalkotást alkalmaztam a sejt válaszkörének térbeli felbontására. Konfokális mikroszkópiával, zyxin- és vinculin-festések segítségével elemeztem a fokális adhézión szerveződését PHSRN-kezelt és kontroll HeLa sejtekben. A képek kiértékeléséhez saját fejlesztésű, Python-alapú képanalízis-módszert alkalmaztam, amely automatikus sejtszegmentálást és adhézión struktúra-detektálást tesz lehetővé. Ez a megközelítés közvetlen kapcsolatot teremt a bioszenzoros kinetikai eredmények és a sejtszintű, térben feloldott megfigyelések között, és kiegészíti az adhézión folyamatok mechanisztikus értelmezését. A konfokális felvételek alapján jól követhető volt, hogy a PHSRN koncentráció növelésével a fokális adhézión szerveződése és sejten belüli eloszlása megváltozik. A zyxin- és vinculin-festések képei azt mutatták, hogy a PHSRN-kezelés hatására az adhézión struktúrák kiterjedtebbé válnak, és a sejtek peremén hangsúlyosabb lokalizáció jelenik meg, miközben a sejtek morfológiája és az aktin citoskeleton szerveződése is módosul. A hatás nem monoton, hanem koncentrációfüggő módon változik, ami arra utal, hogy a PHSRN nem pusztán erősíti, hanem átrendezi az adhézión kapcsolatokat. Kvantitatív módon elemeztem a fokális adhézión

területét és átlagos intenzitását. A fokális adhéziós terület normalizált értékei mind zyxin, mind vinculin esetén koncentrációfüggő változást mutattak, ami összhangban van a vizuálisan megfigyelhető adhéziós átrendeződésekkel. Az átlagos fluoreszcencia-intenzitás elemzése alapján a vinculin és a zyxin eltérő módon reagál a PHSRN jelenlétére, ami arra utal, hogy a különböző adhéziós fehérjék nem azonos kinetikával és stabilitással vesznek részt a kialakuló adhéziós struktúrákban.



3. A fokális adhéziók átlagos fluoreszcencia-intenzitása a PHSRN koncentráció függvényében zyxin- és vinculin-csatornáknak. Az eltérő koncentrációfüggő trendek arra utalnak, hogy a két adhéziós fehérje különböző módon vesz részt a PHSRN által módosított adhéziós folyamatokban.

4. A fokális adhéziók által lefedett terület normalizált aránya a PHSRN koncentráció függvényében zyxin- és vinculin-festések alapján. Az ábra a PHSRN-kezelés hatására bekövetkező, nemlineáris változásokat szemlélteti, amelyek az adhéziós struktúrák átrendeződésére utalnak.

Publikációk

Label-Free Force-Calibrated Biosensor Enables Continuous Monitoring of Mature Adhesion Forces in Single Cells and Populations. Nicolett Kanyó, Bálint Béres, Kinga Dóra Kovács, Beatrix Péter, Enikő Farkas, Imola Rajmon, Anna Balogh, Inna Székács, Robert Horváth. Kézirat benyújtva, elbírálás alatt (Nature Communications).

Charge-dependent intracellular pathways of functionalized gold nanoparticles: nanoinjection versus passive and endocytic uptake. Nicolett Kanyó, Kinga Dóra Kovács, Anna Balogh, Imola Rajmon, Beatrix Péter, Inna Székács, István Lagzi, Kinga Molnár, Mónika Truszká, Hideyuki Nakanishi, Misao Fuji, Tomaso Zambelli, Robert Horváth. Kézirat írás alatt, kiegészítő kísérletek szükségesek.

Kinetic analysis of label-free cellular adhesion signals. Anna Balogh, Kinga Dóra Kovács, Beatrix Magyaródi, Boglárka Kovács, Nicolett Kanyó, Inna Székács, Yuki Araya, Nobuhiko Suematsu, Imre Derényi, Robert Horváth. Kéziratban.

A differential equation model for interpreting label-free biosensor signals in nanoparticle–cell interactions. Anna Balogh, Kinga Dóra Kovács, Beatrix Magyaródi, Beatrix Péter, Inna Székács, Imre Derényi, Hideyuki Nakanishi, Robert Horváth. Kéziratban.

Modeling cell adhesion forces in FluidFM: A theoretical and experimental framework for single cell detachment analysis. Anna Balogh, Kinga Dóra Kovács, Imre Derényi, Robert Horváth. Kézirat előkészítés alatt.

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, Ferenc Vonderviszt, Inna Székács, Robert Horváth. Kéziratban.

Quantifying Cellular Heterogeneity: Unraveling Log-normal Dynamics in Single Adherent Cells on Label-Free Optical Biosensor. Kinga Dóra Kovács, Nicolett Kanyó, Bálint Béres, Anna Balogh, Imola Rajmon, Beatrix Péter, Inna Székács, Robert Horváth. Kézirat végső átnézés alatt.

Glikokálix szerepe állati sejtek adhézión folyamataiban. Beatrix Magyaródi, Kinga Dóra Kovács, Anna Balogh, Inna Székács, Fruzsina R. Walter, András Dér, Mária A. Deli, Robert Horváth. Kézirat írás alatt.

Glikokálix szerepe egészséges és rákos sejtek adhéziójában. Beatrix Magyaródi, Ana Martins, Kinga Dóra Kovács, Anna Balogh, Boglárka Kovács, Inna Székács, Fruzsina R. Walter, András Dér, Mária A. Deli, Robert Horváth. Kézirat írás alatt.

Nanogyöngy-felvétel robotizált mikropipettás rendszerrel. Zoltán Dicső, Anna Balogh, Inna Székács, Sándor Kurunczi, Enikő Farkas, Bálint Szabó, Robert Horváth. Kéziratban.

Kinetic Analysis of SARS-CoV-2 S1–Integrin Binding Using Live-Cell, Label-Free Optical Biosensing. Nicolett Kanyó, Krisztina Borbély, Beatrix Péter, Kinga Dóra Kovács, Anna Balogh, Beatrix Magyaródi, Sándor Kurunczi, Inna Székács, Robert Horváth. Biosensors (Impact Factor = 5.9). Publikálva: 2025. augusztus 14.

Nanofluidikai csatornával ellátott fluidikai erőmikroszkóp (FluidFM) biofizikai és biológiai alkalmazásai. Anna Balogh, Imola Rajmon, Kinga Dóra Kovács, Róbert Horváth. Fizikai Szemle. Befogadva, a nyomtatási verzió előkészítés alatt.

Tanulmányi tevékenység az aktuális félévben Evolúciós játékelmélet (EA), Adatbányászat és gépi tanulás (EA+GY)

Konferenciák az aktuális félévben

Balogh, Anna ; Kovács, Kinga Dóra ; Kanyó, Nicolett ; Péter, Beatrix ; Lagzi, István ; Molnár, Kinga ; Székács, Inna ; Horváth, Róbert: Real-time kinetic monitoring of gold nanoparticle uptake and adhesion in HeLa cells using label-free biophysical methods (2025)

MÉT-MBFT-MMVBT-MABIT Conference, Szeged 2025. szeptember 2–5., előadás

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