

2. félévi beszámoló

Kovács Kinga Dóra (kovacskingadora@gmail.com)

Statisztikus Fizika, Biológiai Fizika és Kvantumrendszerek Fizikája PhD program

Témavezetők: Horváth Róbert, Szabó Bálint

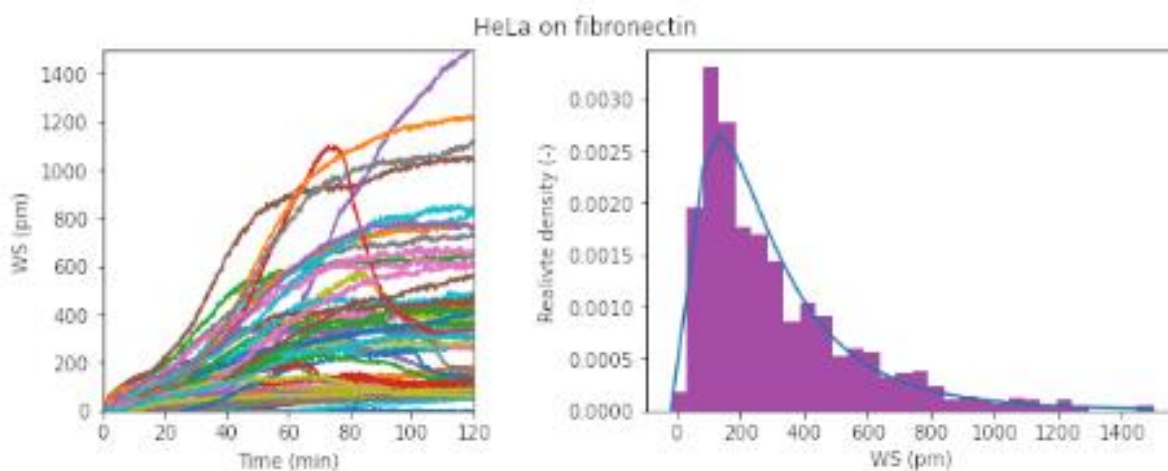
A dolgozat címe: Single cell experiments using novel biophysical tools

Az aktuális félévben elvégzett kutatások ismertetése

Az előző félévben említett jelölésmentes optikai bioszenzor nagyobb felbontású változatával (Epic Cardio), képes vagyunk egyedi sejtek adhéziós görbéjének mérésére, ahogy az 1. es ábra bal oldalán látható. Ennek a módszernek nem csak felbontása kiemelkedő, de az áteresztőképessége is igen jó: felhasználásával akár több száz egyedi sejt is egyszerre nagy érzékenységgel tanulmányozható.

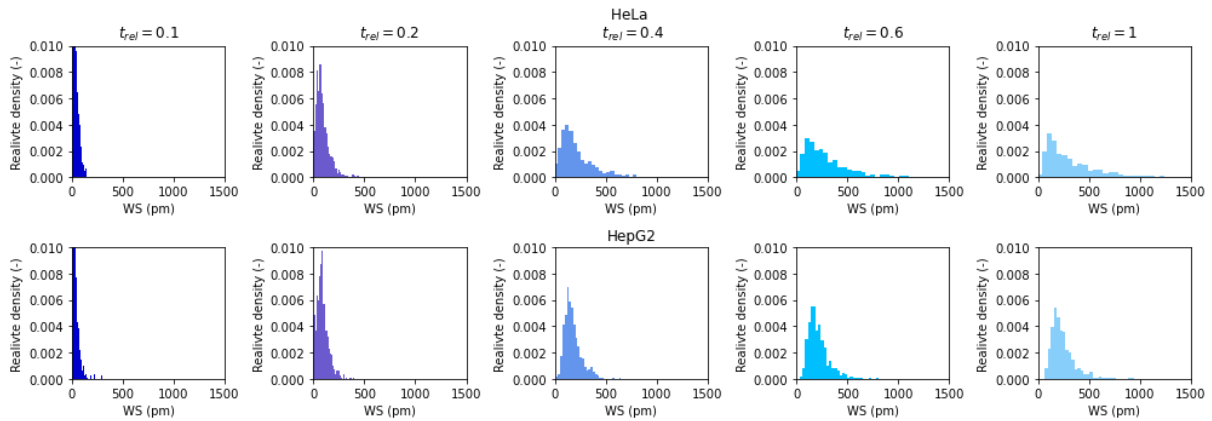
Ezeket kihasználva ebben a félévben elkezdtem nyolc különböző fajta sejt egyedi sejtes kitapadási görbéjének analízisét (1. ábra bal oldal). Mind a nyolc fajta sejt két különböző felületen is le lett mérve: fibronektinnel borított, illetve kezeletlen felületen. A mi általunk nem kezelt felületen gyárilag egy olyan réteg van, amin a sejtek ki tudnak terülni, de a sejt integrinjei nem kötnek hozzá, míg a fibronektinen megtalálható az úgynevezett RGD motívum, amelyet specifikusan tudnak kötni az integrinek.

Ábrázolva a kitapadás végén ($t = t_{sat}$) az adhézió nagyságát az egyes sejtekre a populációban, azt találtam, hogy lognormális eloszlást követ (1. ábra jobb oldal).



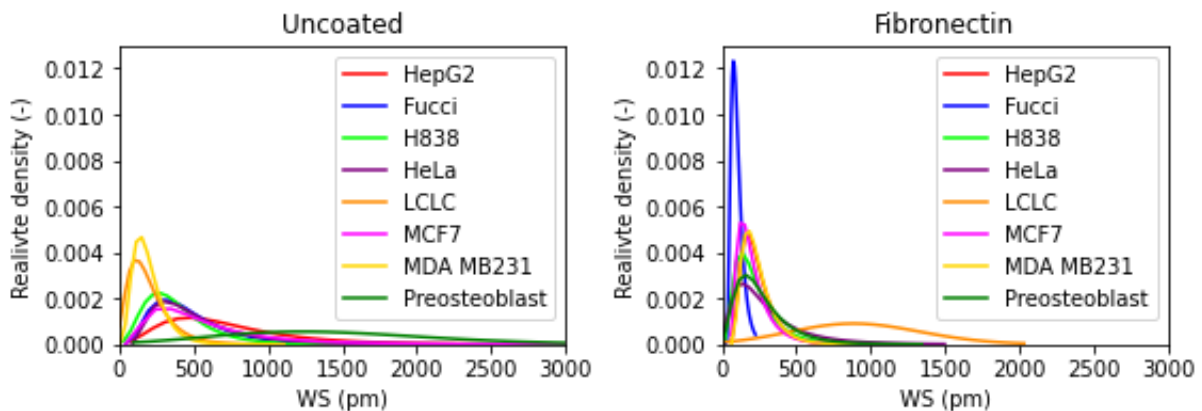
1. ábra: 60 Hela sejt egyedi sejtes kitapadási görbéje fibronectin felületen (balra). Az adhézió nagyságának eloszlása a mérés végén ($t = t_{sat}$) (jobbra)

A különböző sejtek adhézió eloszlásának időbeli összehasonlításához bevezettem a relatív időt (t_{rel}), tehát az időskálát normalizáltam minden mérésnek a hosszával. Így adott adhéziós szakaszban tudtam összevetni a sejtek adhéziójának eloszlását (2. ábra). A mérés végén ahol a jel szaturált azt neveztem $t_{rel} = 1$ -nek.



2. ábra: HeLa (fent) és HepG2 (lent) sejtek adhéziós görbéinek pillanatnyi értékének eloszlása a kitapadás folyamán a mérés utolsó pillanatához (t_{sat}) vett relatív időpontokban fibronektin felületen mérve.

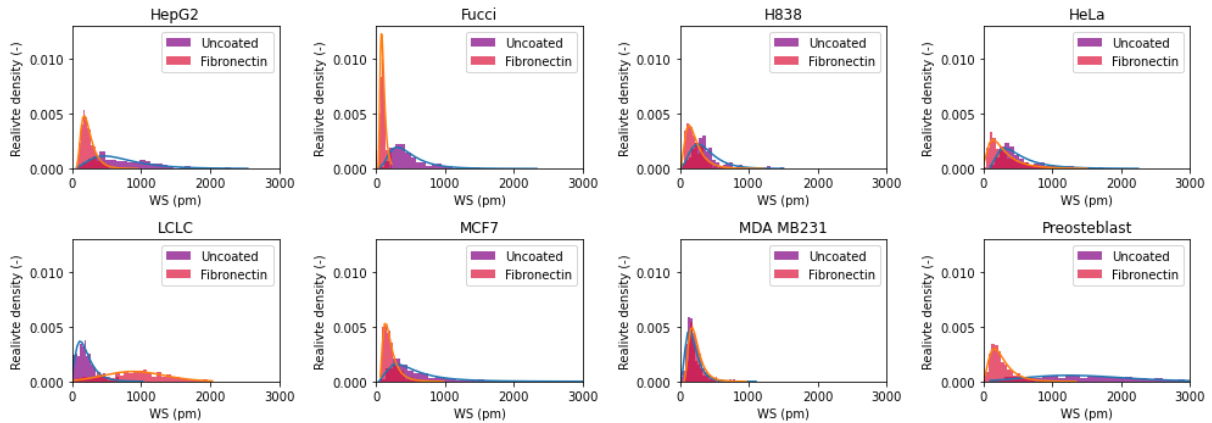
Ábrázoltam a mérések végén kialakuló eloszlásokra illesztett lognormális görbét a két különböző felületre, hogy össze lehessen hasonlítani a sejt típusokat egymással, amikor az egyensúly kialakul az adhézióban és a bioszenzoros jel szaturálódik. Jól látszódik, hogy az egyedi sejtjes jelek eloszlásában jelentős eltérések adódtak a sejt típustól függően.



3. ábra: Mind a nyolc fajta sejt adhéziós jelének eloszlására illesztett lognormális görbék a mérés végén ($t = t_{sat}$) kezeletlen felületen (balra) illetve fibronektinnel kezelt felületen (jobbra).

Megnéztem, hogy adott sejt típusra mennyire különbözik az eloszlás a felülettől függően a mérés végén. Az látszódik, hogy a sejtek többségében, nyolcból hatnál, kisebb az eloszlás módusza a fibronektinnel kezelt felületen (4. ábra).

A mélyebb jelenségek mélyebb megértést és elemzését a következő félévben tervezem, ismétlődő mérések kiértékelésével együtt.



4. ábra: Mind a nyolc sejt adhéziós jelének eloszlása a mérés végén és az eloszlásokra illesztett lognormális görbe együtt ábrázolva a nem kezelt (lila) és fibronectinnel kezelt (piros) felületre.

Másik témám, amivel a félévben foglalkoztam a diplomamunkám folytatása volt. A mesterképzésem alatt egy olyan mérőberendezést fejlesztettem és teszteltem, ami kompatibilis a laborban megtalálható optikai bioszenzorral és képes a felületre kitapadt sejtek és a szenzorfelület felett áramoltatni a puffert. Vizsgáltam ennek az áramlási sebességnek a hatását a sejtekre és azt tapasztaltam, hogy az alkalmazott sebességeknél a HeLa sejtek leválnak a felületről (5. ábra). A mérési elrendezés részletesebb leírása megtalálható a diplomamunkámban illetve a megjelent publikációban [2].

Ebben a félévben mélyebben kiértékeltem a mérési adatokat, a bioszenzor jel lemosódási szakaszát megillessztem egy egyszerű egyenlettel, ami leírja sejtek lemosódását:

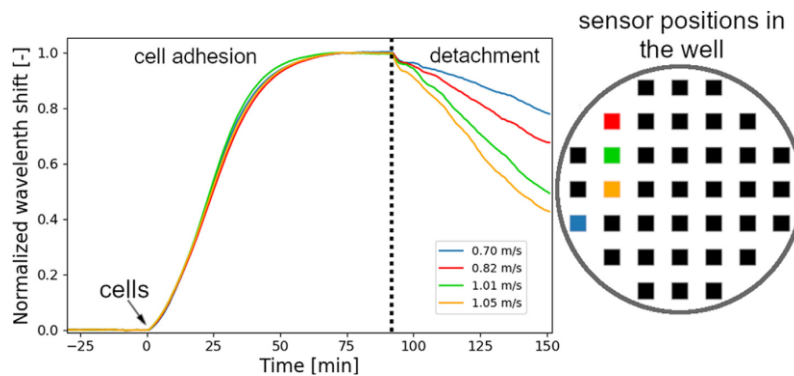
$$A(t) = A_{\infty} + (1 - A_{\infty})e^{-rt}, \quad (1)$$

ahol $A(t)$ a bioszenzor jel, ami arányos a sejtek területével, A_{∞} a felületi fedettség, ami végtelen idő után megmarad és r meg a sejtek lemosódási rátája (6a. ábra) [3].

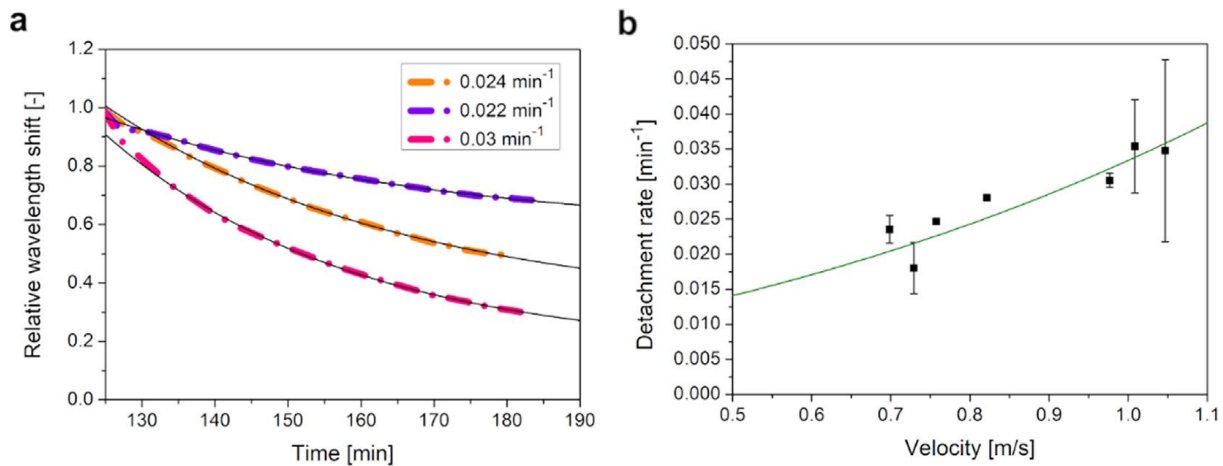
Az így kapott lemosódási rátákat megillessztem egy egyenlettel, ami egy “peeling” modellen alapul, ami leírja a sejtek leválását a felszínről áramlás hatására:

$$r(v) = r_0 \frac{\exp(\sqrt{v/4v_0})}{(v/4v_0)^{1/4}}. \quad (2)$$

ahol v_0 a referencia sebesség, ami az alkalmazott sebesség hatását skálázza és r_0 a sejtek kezdeti lemosódási rátája (6b. ábra) [4].



5. ábra: Referencia welllel korrigált sejtszámmal normalizált bioszenzor adatok 2650 RPM-es frekvenciánál. A pöttyözött függőleges vonal jelöli a puffer áramoltatásának kezdetét.(balra) A négy ábrázolt bioszenzor jelnek a térbeli elhelyezkedése a wellben (jobbra)[2].



6. ábra: a) A relatív jelcsökkenés a puffer áramoltatásának hatására 2650 RPM-es frekvenciánál, ami megfeleltethető a sejtek leválásának a felszínről, és erre az adatok illesztett exponenciális görbe (Eq. 1). b) A sejtek lemosódási rátája a sebesség függvényében és az erre illesztett görbe (Eq. 2)[2].

Felhasznált irodalom

2. Jötten AM, Angermann S, Stamp MEM, et al. Correlation of in vitro cell adhesion, local shear flow and cell density. *RSC Adv.* Published online 2019. doi:10.1039/c8ra07416j

3. Décavé E, Garrivier D, Bréchet Y, Bruckert F, Fourcade B. Peeling Process in Living Cell Movement Under Shear Flow. *Phys Rev Lett.* Published online 2002. doi:10.1103/PhysRevLett.89.108101

Publikációk

1. Kovács KD, Novák M, Hajnal Z, et al. Label-free tracking of whole-cell response on RGD functionalized surfaces to varied flow velocities generated by fluidic rotation. *J Colloid Interface Sci.* 2021;599:620-630. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.04.091

Kanyo N, Kovacs KD, Saftics A, et al. Glycocalyx regulates the strength and kinetics of cancer cell adhesion revealed by biophysical models based on high resolution label-free optical data. *Sci Rep.* Published online 2020. doi:10.1038/s41598-020-80033-6

Tanulmányi tevékenység az aktuális félévben

Az érzékelés biofizikája II.: Bioakusztika, Mélytanulás és gépi tanulás a tudományokban

Oktatási tevékenység az aktuális félévben

Klasszikus fizika laboratórium