

Új fluoreszcens bioszenzorokkal az extracelluláris adenosin-nukleotidok sebzáródásbeli szerepének megismeréséért

A nyitott hámszöveti sérülés behatolási kaput jelent a külvilág számára, mely gyors sebzáródási mechanizmusokat igényel a szervezettől. Ismert, hogy az extracelluláris ATP (eATP) kulcsszerepet tölt be a védekezésben. A sérüléskor felszabaduló eATP hatására a hámszövet bazális rétegének sejtjei akár 50-100 μm távolságból is aktív migrációba kezdenek, hogy a sérülés irányába vándorolva „sebdugót” képezzenek. Nem ismert azonban az extracelluláris adenosin-nukleotidszintek térbeli és időbeli változása a sérülés, illetve a sebösszehúzódás folyamata alatt. Célunk az volt, hogy élő szövetekben kövessük mechanikai sérülés során az extracelluláris adenosin-nukleotidok szintjeit, és megismerjük a sebösszehúzódásra kifejtett hatásukat.

Kutatásunk során sikeresen kifejlesztettünk egy-egy genetikailag kódolt ATP- és ADP-specifikus fluoreszcens bioszenzort, melyek a két molekula G-protein-kapcsolt receptorain alapulnak. A szenzorokat stabilan kifejező Hek293A sejt vonalakat hoztunk létre, majd segítségükkel a szenzorok dózisfüggését vizsgáltuk. ADP-szenzorunk már 100 nM-os ADP-koncentrációra is reagált, míg ATP-szenzorunkról ez 1 μM nagyságrendű ATP-koncentrációnál volt elmondható. A szenzorok elegendően érzékenynek bizonyultak egyedi Hek293A sejtekből felszabaduló ATP-grádiensek kimutatására is, melyet UV impulzuslézerezellel kiváltott sejt-sérüléssel hoztunk létre.

A továbbiakban a szenzorokat *in vivo* zebradánió modellen használtuk. Az ATP-szenzort mRNS-ként injektálva transziens expressziót értünk el. Ekkor a kívülről hozzáadott ATP diffundálásával párhuzamosan terjedő fluoreszcens jelet regisztráltunk. Kísérleteket végeztünk az eATP-t lebontó ektonukleotidáz enzimeket gátló polyoxometalát (POM) származékokkal is. Ezek alkalmazásakor a sérüléshez kapcsolódóan fokozott hámsejt migrációt figyelhettünk meg. Ugyanezt a kísérleti felállást szenzort kifejező lárvákkal megismételve a sebszéltől távolabb megjelenő fluoreszcens jelet láttunk a kontrollhoz képest.

Hipotézisünk szerint az emelkedett ATP-szintek hatására a sérüléstől messzebb lévő sejtek is részt vesznek a seb zárásában, így eredményezve gyorsabb összehúzódást.

Munkánktól azt reméljük, hogy pontosabban megismerhetjük az adenosin-nukleotidok sebzáródásra kifejtett hatását.

Orbán Gábor, SE-ÁOK V.

Vámosi Boldizsár, SE-ÁOK IV.

Témavezetők: Dr. Enyedi Balázs, Dr. Török Anna