

BEVEZETÉS

Ma már jól ismert, hogy a daganatok kialakulása egy összetett, evolúciós folyamat, melynek kimenetele nagymértékben függ a tumorsejtek és mikrokörnyezetük közti kommunikációtól.

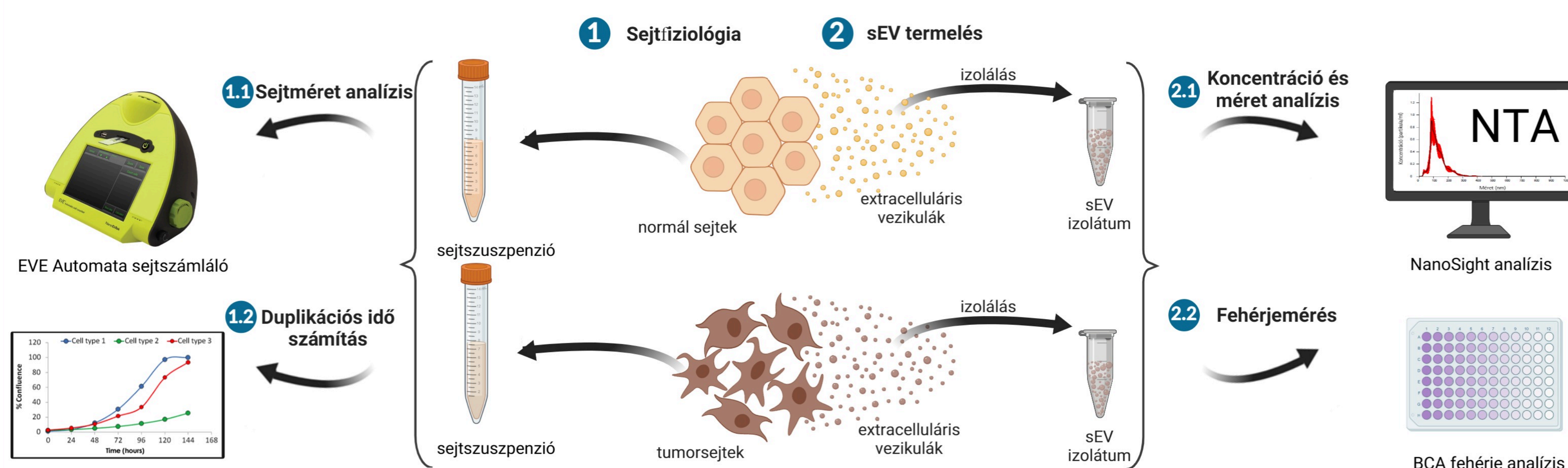
Számos tanulmány az **extracelluláris vezikulák** (EV) által közvetített molekuláris információk vizsgálatát célozza meg és kevés szakirodalmi adat áll rendelkezésünkre a különböző sejttípusok kisméretű EV (small-sEV) termelésének kvantitatív összehasonlításáról.

CÉLOK

Kutatásunk során az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

- Van-e különbség a normál és a tumoros sejtek vezikulatermelése, illetve vezikuláik fehérjetartalma között?
- Van-e összefüggés a sejtfiziológiai paraméterek és a vezikulatermelés, valamint a vezikuláris fehérje kibocsátás között?

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK



1. ábra Folyamatábra. Munkánk során felállítottunk egy heterogén sejtkultúra panelt (n=17, 5 normál és 12 tumoros), **különböző eredetű** (egér, majom, humán), **morfológiájú** (adherens, nem adherens) és **állapotú** (normál-tumor) sejtkultúrák bevonásával. Az egyes sejtkultúrák átlagos sejtméretét egy EVE automata sejtszámlálóval mértük meg, valamint kiszámoltuk a sejtek duplikációs idejét. A legyűjtött felülszókiból sEV-ket differenciálszűréssel és ultracentrifugálással^{1,2,3} izoláltunk és megmértük az izolátumok koncentrációját és méreteloszlását NTA műszerrel (NanoSight NS300, Malvern Panalytical), fehérjetartalmukat pedig Pierce BCA fehérje analízis segítségével határoztuk meg.

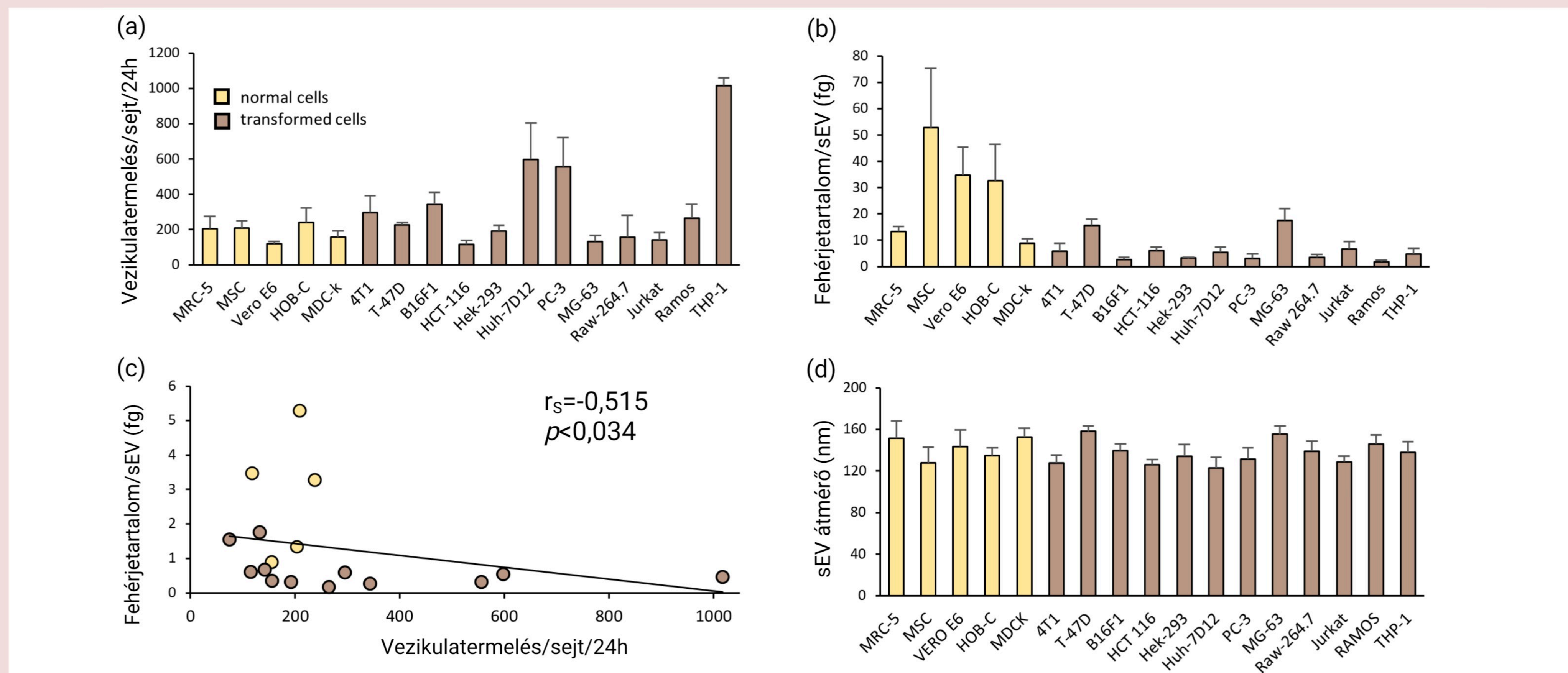
EREDMÉNYEK

1. A normál sejtek átlagosan kevesebb, de magasabb fehérjetartalmú vezikulákat termelnek, mint a tumoros sejtek.

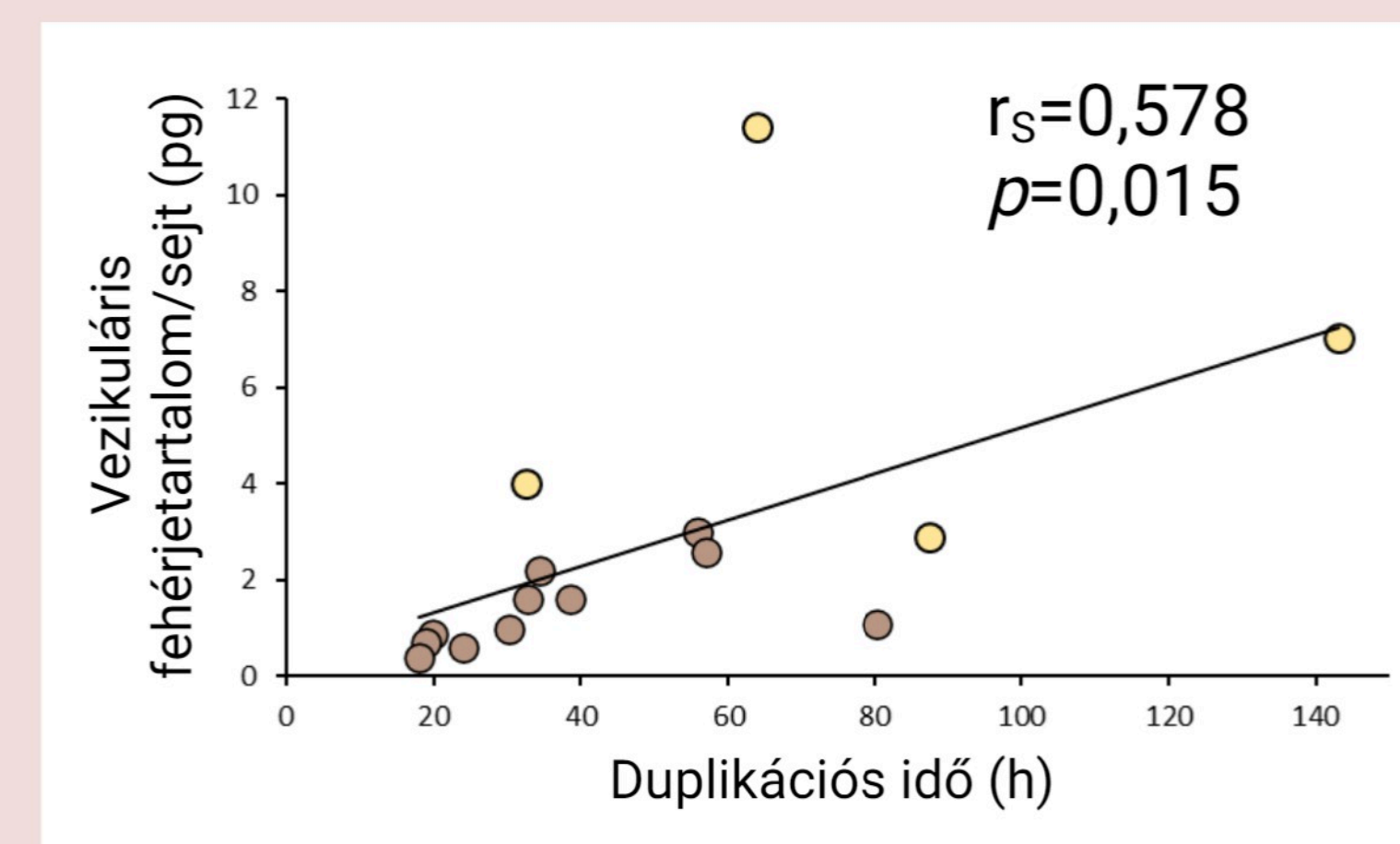
A tumoros sejtek sEV-termelése átlagosan magasabb, míg vezikuláris fehérje kibocsátása alacsonyabb volt, mint a normál sejtek csoportjában (2a, 2b. ábra). Megállapíthatjuk, hogy az sEV-k fehérjetartalma negatívan korrelált a sejtek sEV-termelésével (2c. ábra), azonban a vezikulák mérete nem különbözött a két csoportban (2d. ábra).

2. A sejtfiziológia befolyásolja a vezikuláris fehérjetartalmat

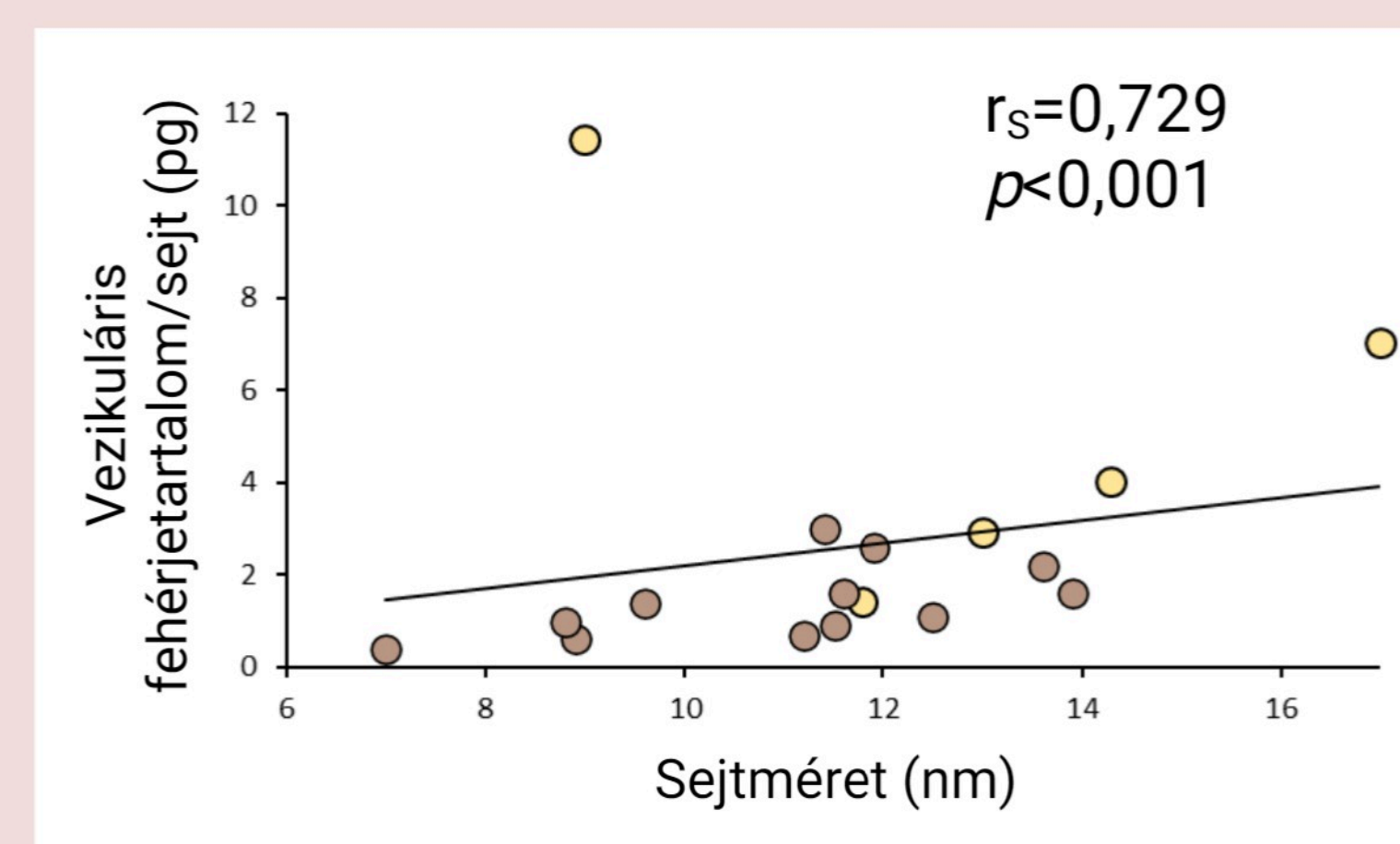
A vezikuláris fehérjetartalom korrelált a sejtek duplikációs idejével (3. ábra) és a sejtmérettel (4. ábra).



2. ábra sEV termelési paraméterek. (a) sejtek által 24 óra alatt termelt sEV-k mennyisége; (b) egy vezikulára vetített átlag fehérjetartalom; (c) a vezikulatartalom és a vezikuláris fehérjetartalom korrelációja, $n \geq 6$; (d) sEV-k átlagos mérete. MRC-5: humán fibroblaszt, MSC: egér mezenchimális őssejtek, Vero E6: Afrikai zöld majom vese epithél sejtek, HOB-C: humán oszteoblasztok, MDC-k: kulya vese epithél sejtek, 4T1: egér duktális karcinóma, T-47D, humán duktális karcinóma, B16F1: egér melanóma, HCT 116: humán vastagbél karcinóma, Hek-293: humán embrionális vese sejtek, Huh-7D12: humán máj karcinóma, PC-3: humán adenokarcinóma, MG-63: humán osteoszarkóma, Raw 264.7: egér makrofág, Jurkat: humán T-sejtes leukémia, Ramos: humán B-limfocita, THP-1: humán akut monocitózis leukémia.



3. ábra A duplikációs idő és a vezikuláris fehérjetartalom korrelációja.



4. ábra A sejtméret és a vezikuláris fehérjetartalom korrelációja.

KONKLÚZIÓ

Kísérleteink bizonyították, hogy a sejtek sEV-termelési képessége számos sejtfiziológiai és mikrokörnyezeti tényezőtől függhet. **Kétféle sEV termelési stratégiát tudunk elkülöníteni egymástól:** (i) alacsony EV termelés magas fehérjetartalommal, valamint (ii) magas EV termelés alacsony fehérjetartalommal. Kvantitatív adataink értékes információkkal szolgálhatnak a jövőbeli *in vitro* vizsgálatokhoz, valamint klinikai jelentőségük, hogy hozzájárulhatnak (i) a különböző daganatok patofiziológiájának leírásához vagy (ii) az sEV-alapú terápiák hatékonyságának felméréséhez.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓ

Támogatás: TKP2021-EGA09, OTKA-K143255, Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Kutatási Alap.
Elérhetőség: Böröczky Tímea - boroczky.t@gmail.com; Harmati Mária - harmatimarcsi@gmail.com
Etikai engedély: A primer egér mezenchimális őssejtek izolálása a nemzeti és európai állatetikai irányelveknek megfelelően történt. (engedély szám: XVI./78/2018).
Hivatkozások: ¹Harmati M, Tarnai Z, Decsi G, *et al.* Stressors alter intercellular communication and exosome profile of nasopharyngeal carcinoma cells. *J Oral Pathol Med.* 2017;46(4):259-266. ²Harmati M, Gyukity-Sebestyén E, Dobra G, *et al.* Small extracellular vesicles convey the stress-induced adaptive responses of melanoma cells. *Sci Rep.* 2019;9(1):15329. ³Gyukity-Sebestyén E, Harmati M, Dobra G, *et al.* Melanoma-Derived Exosomes Induce PD-1 Overexpression and Tumor Progression via Mesenchymal Stem Cell Oncogenic Reprogramming. *Front Immunol.* 2019;10:2459.