

## **KIM.1. Pethő Zoltán Dénes ÁOK VI.**

Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

### **MÓDOSÍTOTT TENYÉSZTŐOLDAT ELŐÁLLÍTÁSA K<sup>+</sup> - CSATORNA GÁTLÓSZEREK HATÁSÁNAK OPTIMALIZÁLÁSÁHOZ**

A humán T-limfociták ioncsatornáinak működése kiemelten fontos ezen sejtek aktivációjához, ezáltal az immunválasz létrejöttéhez. Az ioncsatornák vizsgálatához számos specifikus gátlószer áll rendelkezésre, melyek dózisfüggően gátolják a sejtek aktivációját, proliferációját. A szakirodalom egymásnak ellentmondó adatokat tartalmaz az ioncsatornagátlók hatékonyságáról, félhatásos dóziséról (K<sub>d</sub>). Ebben szerepet játszhat a tenyésztőoldatok minősége, főképp annak főtájis borjúsavó (FCS) komponense. Vizsgálataink fő célja ezért előállítani egy heterogén komponensektől mentes tenyésztőoldatot, melynek alkalmazása során reprodukálható mind az ioncsatorna-gátlószerek hatása, mind a T-sejtek életképessége és aktivációja.

A savómentes médium kialakításakor az FCS fehérjetartalmát zsírsavmentes marha szérum albuminnal (BSA) pótoltuk. Az így előállított tenyésztőoldatot (FAF) hasonlítottuk össze a tradicionális FCS-t tartalmazó médiummal (HRMPI). Első kísérleti rendszerünkben a különböző médiumokhoz kevert Kv1.3 ioncsatorna-gátlókat (TEA, anuroctoxin) perfúziós rendszerbe töltöttük, majd a T-limfociták K<sup>+</sup>-ionáramában bekövetkezett változást patch-clamp technikával rögzítettük. Emellett a médiumokban bekövetkező mitogén-indukált proliferációt hosszú távon karboxifluoreszcein szukcinimidil észter- (CFSE-) hígítási esszével, míg az életképességben bekövetkezett változásokat propidium jodid (PI) festéssel vizsgáltuk áramlási citométer segítségével.

Sikerült előállítanunk egy olyan savómentes tenyésztőoldatot, mely hosszú inkubációs idő után is nagy mennyiségű életképes sejtet tartalmazott. A patch-clamp kísérleteink azt mutatják, hogy a gátlószerek K<sup>+</sup> - ionáramot csökkentő hatása szignifikánsan nagyobb volt a FAF médiumhoz keverve, mint HRPMI alkalmazásakor. Áramlási citométeres vizsgálataink azt mutatják, hogy HRPMI médiumban több sejt osztódott, illetve szignifikánsan kevésbé érvényesült a gátlószerek proliferációt gátló hatása, mint FAF médium használatakor. Összegzésként az általunk kialakított standard összetételű médiummal reprodukálható limfocita proliferációt tudunk elérni, melyben az ioncsatorna-gátlószerek hatása fokozottabb volt, mint a HRPMI alkalmazása esetében.

Témavezető: Dr. Varga Zoltán, Dr. Balajthy András