

Magyar–német (TKA–DAAD) kutatócsere projekt

Záró beszámoló

A projekt adatai:

Nyilvántartási szám: 73539

Projektcím: A PROTEIN KINÁZ D SZINAPTIKUS PLASZTICITÁSRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK FELDERÍTÉSE AZ AKTIN DINAMIKA ÉS A RECEPTOR TURNOVER VIZSGÁLATÁN KERESZTÜL

Magyar projektvezető neve: Dr. Schlett Katalin

Magyar intézmény neve: Eötvös Loránd Tudományegyetem

Német projektvezető neve: Dr. Angelika Hausser

Német intézmény neve: Inst. Zellbiologie und Immunologie, Universität Stuttgart

Támogatási időszak: 2016–2017

A. A projektidőszakban elvégzett munka összefoglalása (max. 2 oldal)

A 2016. elejétől indult, 2 éves kutatócsere program során Carlos Morales német PhD hallgató 2–2 hónapot, Dr. Stephan Eisler, a Stuttgarteri Egyetem Mikroszkópos laboratóriumának vezetője 1 hetet, Dr. Angelika Hausser német projektvezető pedig 1–1 hetet töltött a budapesti laboratóriumban. Magyar részről Liliom Hanna és Bencsik Norbert PhD hallgatók 2, illetve 1 hónapot, Ignác Attila MSc-s hallgató 2x2 hónapot, Dr. Tárnok Krisztián posztdoktor 2017-ben 1 hetet, Dr. Schlett Katalin magyar projektvezető pedig összesen háromszor töltött el néhány napot a Stuttgarteri Egyetem Sejtbiológiai és Immunológiai Intézetében. A kiutazó kollégák mellett a hazai laboratóriumokban is intenzív kutatómunka folyt.

Közös kutatómunkánk során a protein kináz D (PKD) által szabályozott egyik fehérje, a RIN1 (Ras és Rab Interaktor 1) szerepét vizsgáltuk tenyésztett egér hippokampális idegsejtekben. Eredményeink alapján a RIN1 fehérje aktivitása hatással van a dendritágakon kialakuló kis kitüremkedések, a szinapsziseket fogadó dendrittüskék alakjára és megnöveli a szinaptikus kapcsolattal még nem rendelkező dendritikus filopodiumok mozgását. RIN1 pontmutációkkal végzett kísérletekkel bizonyítottuk, hogy ezt a hatást a RIN1 elsősorban az Abl kinázok működésére gyakorolt hatásával fejt ki. Ezen eredmények arra utalnak, hogy a RIN1 az Abl kináz útvonalon keresztül a szinaptikus kapcsolatok destabilizálásáért, illetve a leendő kapcsolatok kialakításának meggátolásáért lehet felelős.

Elektrofiziológiai és kvantitatív mikroszkópos módszerekkel igazoltuk azt is, hogy a RIN1 egy másik jelátviteli útvonalon, a kis GTP-ázok aktivitásának szabályozásával is

befolyásolja az idegsejtek működését és plaszticitását. Kimutattuk, hogy a RIN1 fehérje elvesztése az AMPA ionotróp glutamát receptorok felszíni jelenlétének növekedéséhez vezet és meggátolja, hogy a tartós hatékonyság-csökkenés (LTD) eléréséhez szükséges AMPA receptor endocitózis végbemenjen. Eredményeink molekuláris szinten magyarázzák meg a RIN1 génhiányos egerekben korábban tapasztaltakat – ezek az egerek ugyanis a már rögzült, kellemetlen élményeket sokkal lassabban felejtik el, mint nem génmódosított társaik. Mindezek alapján elképzelhető, hogy a RIN1 fehérje rendellenes működése a poszttraumás stressz-rendellenesség (PTSD) kialakulásában emberekben is szerepet játszhat.

B. A közös projekt eredményei (max. 2 oldal)

A külföldön elsajátított technikák egyrészt a hallgatók képzését szolgálták, másrészt komoly szakmai eredményekre is vezettek. 2017-ben a két kutatócsoport részvételével 3 közös publikációnk is megjelent, részben ezekre a cikkekre alapozva két doktori fokozatot is megszereztek (Szíber Zsófia és Bencsik Norbert), egy másik disszertáció elkészítése jelenleg folyamatban van (Liliom Hanna), egy további befejezése pedig 2019-ben várható (Carlos Morales). A kutatócserében részt vett MSc-s hallgató, Ignác Attila TDK munkájával mind a helyi, mind pedig az országos TDK igen rangos helyezést ért el (2., illetve 1. helyet), emellett az UNKP pályázat egy éves támogatását és a Kuffler alapítvány ösztöndíját is elnyerte.

A közös publikációkra alapozva több közös kutatási pályázatunk is volt, ezek közül mind a német, mind a magyar félnek vannak olyan futó projektjei, amelyek a múltban és remélhetőleg a jövőben is biztosítják a kutatások anyagi hátterét [(német oldalról: DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft; témavezető Dr. Angelika Hausser); HA 3557/11-2; 76033 EUR; How PKD regulates dendritic anatomy and synaptic plasticity: focus on AMPA receptor trafficking, 2016-2019; magyar oldalról (témavezető Dr Schlett Katalin): MTA ELTE NAP B KTIA_NAP_13-2-2014-0018; 123.567 eFt; Az idegi sejtműködés dinamikáját és plaszticitását szabályozó új molekuláris folyamatok vizsgálata; Nemzeti Agykutatási Program 2.0; 2017-1.2.1-NKP-2017-00002; 120.000.000 Ft A szinaptikus és homeosztatisz plaszticitást szabályozó új molekuláris útvonalak felderítése.] A kutatócsere-programokban szerzett tapasztalatra alapozva idén egy Indiai-magyar TÉT pályázatot is benyújtottunk, a német és az indiai partnerek bevonásával pedig jövőre az új H2020 felhívásokon is indulni szeretnénk.

A kutatási együttműködés keretében megszerzett technikai tapasztalatok döntően segítenek abban is, hogy a 2017 szeptemberében az ELTE-n beszerzett, 230 millió Ft-os fénymikroszkópos központ mikroszkópjainak használatában (különös tekintettel a spinning disc konfokális rendszer használatára) a kutatócsoport tagjai már igen nagy tapasztalattal bírnak. A VEKOP-2.3.3-15-2016-00007 pályázat szakmai koordinátora és a kialakított fénymikroszkópos központ szakmai vezetője egyaránt Dr. Schlett Katalin. A beszerzés során pedig igen fontos szempont volt, hogy az ELTE-n hasonló mikroszkópos rendszereket tudjunk beszerezni, mint amikkel a németországi munkavégzés során már megismerkedtünk. A rendszerek installálásával és a felhasználási lehetőségekkel

kapcsolatban nagyon sokat jelent az is, hogy Dr. Stephan Eisler, a Stuttgarteri Egyetem Központi Mikroszkópos Egység vezetője is Budapestre látogatott és tanácsaival jelentősen segítette a budapesti központ működtetését.

C. Az együttműködés további szempontjai: (max. 3 oldal)

1. Mennyiben alapulnak a projekt elért eredményei a német–magyar együttműködésen?

A budapesti és a stuttgarteri laboratóriumok között régóta fennálló, intenzív szakmai együttműködés folyik. 2008 óta – részben a már korábban is elnyert kutatócseré-programok támogatásával – már 7 német kolléga (Kornelia Ellwanger, Stephan Eisler, Anja Braun és Carlos Omar Oueslati Morales PhD hallgatók, Sven Beyes, Arian Badamdeh és Iris Ranz BSc hallgatók) dolgozott Budapesten, Stuttgartban pedig 9 magyar résztvevő (Dr. Tárnok Krisztián, Czöndör Katalin, Szíber Zsófia, Bencsik Norbert és Liliom Hanna PhD hallgatók, Gulyás Márton, Vajda Flóra, Szórádi Tamás és Ignác Attila MSc hallgatók) végzett ált. 1–2 hónapos kutatómunkát. 2009 óta 6 közös publikációnk jelent meg és huszonöttnél is több olyan konferencia-szereplésünk volt, ahol a közös munkára alapozott eredményeinket mutattuk be. A közös szakmai munka eredményeként az elmúlt évek alatt a német laboratóriumban 1 PhD dolgozat, 1 MSc és 1 BSc dolgozat készült el, 1 doktorandusz pedig 2016-ban kezdte meg tanulmányait. Az ELTE laboratóriumban a szakmai együttműködéshez kapcsolódó kutatási eredményekre alapozva mindezidáig 6 MSc és 3 PhD dolgozatot védtek meg, egy további PhD disszertációt pedig januárig be fognak benyújtani. Hallgatóink a Tudományos Diákköri Konferenciákon is kiválóan szerepeltek: az ELTE TTK, illetve az országos TDK versenyeken eddig összesen 6 első, 3 második és 1 harmadik helyet, valamint egy OTDK különdíjat is elnyertek. A kiváló hallgatói munka és a megszerzett eredmények alapján Dr. Schlett Katalin 2015-ben az ELTE TTK TDK Érmét, 2017-ben pedig az OTDT Mestertanár Aranyérmét is átvehette.

Összességében a két laboratórium közötti szakmai együttműködés mindkét fél számára gyümölcsöző és fontos lehetőség.

2. Hogyan befolyásolta a támogatás a projekt előmenetelét?

A fentiekben ismertetetteknek megfelelően összesen kb. 10 hónapnyi külföldi kutatómunkát biztosított a támogatás – ennek finanszírozására más pályázati forrásokból az érvényes előírások miatt nem nyílt volna lehetőségünk. A német PhD hallgató (Carlos Morales) esetében ez az időtartam 2016-ban az idegsejtek tenyésztéséhez szükséges sejtenyésztési technikák elsajátítását tette lehetővé, 2017-ben pedig részletesen megismerkedett az élő sejtes mikroszkópia rejtelseivel. Hazatérével az itt megszerzett tapasztalatokat gond nélkül tudja majd a stuttgarteri mikroszkópos központban is alkalmazni. A magyar hallgatók (Ignác Attila, Bencsik Norbert és Liliom Hanna) esetében az aktin dinamika élő idegsejtek dendrittüskéiben történő mérését lehetővé tévő FRAP (fluorescence recovery after photobleaching) módszer spinning disc konfokális mikroszkópon történő beállítását, illetve a különböző RIN1 pontmutációk a dendrittüskék

morfológiájára gyakorolt hatásának konfokális mikroszkópos elemzését biztosította. A magyar hallgatóknak ezek mellett immunprecipitációs és pulldown kísérletek kivitelezésére is lehetőségük nyílt. Mindhárom esetben az elsajátított metodikákat „haza is vitték” a hallgatók és a honos laboratóriumban már önállóan is alkalmazni tudják.

3. Hogyan csatlakozott a második évi munka az első év eredményeihez?

A 2. évi támogatás a korábbi együttműködés szerves folytatását tette lehetővé. A RIN1 molekula idegsejtekben gyakorolt hatásairól szóló publikáció megjelenése után a RIN1 upstream regulátora, a protein kináz D (PKD) AMPA receptorok körforgására gyakorolt hatását élő sejtekben kivitelezett fluoreszcens mikroszkópiával, illetve foszforilációs vizsgálatokkal is vizsgáltuk. 2017 nyarán Ignác Attila, Bencsik Norbert és Dr. Tárnok Krisztián több mint 3 hónapot töltöttek Stuttgartban, hogy az ottani konfokális rendszerek használatában még nagyobb tapasztalatot szerezzenek. Az ELTE-re 2017 szeptemberében érkeztek meg a VEKOP-2.3.3-15-2016-00007 pályázatból beszerzett konfokális mikroszkópok, amelyek beállításában ez a tapasztalat elengedhetetlenül fontos volt. A budapesti laborban eltöltött 2 hónapos munka alatt Carlos Morales PhD hallgató is elsajátította az élő idegsejteken kivitelezett fluoreszcens mérési technikák egy részét, így visszatérését követően ezeket a németországi laboratóriumban is gond nélkül tudja alkalmazni. Dr Stephan Eisler, a Stuttgarti Egyetem Központi Mikroszkópos Egységének vezetője pedig látogatása során értékes tapasztalatokkal és gyakorlati ötletekkel is tovább segítette a hazai mikroszkópos központ működését.

A két projektvezető által közösen készített összefoglaló cikk vezetett ahhoz a megkereséshez, aminek következtében egy indiai-magyar TÉT pályázatot is beadtunk. Végül korábbi együttműködési területünk lezárásaként a protein kináz D és az oxidatív stressz közötti, idegsejtekben leírt összefüggéseket is publikáltuk.

4. Milyen szempontból volt jelentős a projekt a fiatal kutatók tapasztalatszerzése, szakmai fejlődése szempontjából?

A közös szakmai munka eredményeként az elmúlt évek alatt a német laboratóriumban 1 PhD dolgozat, 1 MSc és 1 BSc dolgozat készült el, 1 doktorandusz pedig 2016-ban kezdte meg tanulmányait. Az ELTE laboratóriumban a szakmai együttműködéshez kapcsolódó kutatási eredményekre alapozva mindezidáig 6 MSc és 3 PhD dolgozatot védtek meg, egy további PhD disszertációt pedig januárig be fognak benyújtani. Hallgatóink a Tudományos Diákköri Konferenciákon is kiválóan szerepeltek: az ELTE TTK, illetve az országos TDK versenyeken eddig összesen 6 első, 3 második és 1 harmadik helyet, valamint egy OTDK különdíjat is elnyertek. Ignác Attila – részben a külföldön elvégzett 2x2 hónapos kutatómunkájának is köszönhetően – elnyerte a Kuffler Alapítvány rangos ösztöndíját és az UNKP program egy éves támogatását is.

5. Sorolja fel azokat a hazai vagy külföldi tudományos közleményeket és publikációkat, amelyek az együttműködés eredményeként jelentek meg!

A két kutatócsoport együttműködésén alapuló publikációk 2016–2017-ben:

- Szíber Z, Liliom H, Morales CO, Ignácz A, Rátkai AE, Ellwanger K, Link G, Szűcs A, Hausser A, Schlett K. (2017) Ras and Rab interactor 1 controls neuronal plasticity by coordinating dendritic filopodial motility and AMPA receptor turnover. *Mol Biol Cell*. 28(2):285–295. doi: 10.1091/mbc.E16-07-0526.
- Hausser A, Schlett K. (2017) Coordination of AMPA receptor trafficking by Rab small GTPases. *Small GTPases*. 2017 Jun 19:0. doi: 10.1080/21541248.2017.1337546. [Epub ahead of print]
- Liliom H, Tárnok K, Ábrahám Z, Rácz B, Hausser A, Schlett K. (2017) Protein kinase D exerts neuroprotective functions during oxidative stress via nuclear factor kappa B-independent signaling pathways. *J Neurochem*. 2017 Jul 19. doi: 10.1111/jnc.14131. [Epub ahead of print]

korábbi együttműködésből származó publikációk:

- Czöndör K, Ellwanger K, Fuchs YF, Lutz S, Gulyás M, Mansuy IM, Hausser A, Pfizenmaier K, Schlett K. (2009) Protein kinase D controls the integrity of Golgi apparatus and the maintenance of dendritic arborization in hippocampal neurons. *Mol Biol Cell*. 20(7):2108–20.
- Tárnok K, Gulyás M, Bencsik N, Ferenc K, Pfizenmaier K, Hausser A, Schlett K. (2015) A new tool for the quantitative analysis of dendritic filopodial motility. *Cytometry A*. 87(1):89–96. doi: 10.1002/cyto.a.22569.
- Bencsik N, Szíber Zs, Liliom H, Tárnok K, Borbély S, Gulyás M, Rátkai A, Szűcs A, Hazai-Novák D, Ellwanger K, Rácz B, Pfizenmaier K, Hausser A, Schlett K. (2015) Protein kinase D promotes synaptic plasticity by regulating actin dynamics in dendritic spines. *J Cell Biol*. 210(5):771–83. doi: 10.1083/jcb.201501114.

konferencia-részvételek:

- 1) Magyar Neurobiológus Doktoranduszok 1. Konferenciája (HuNDoC), Budapest
 - Attila Ignácz: Ras and Rab interactor 1 (RIN1) controls dendritic arborisation and filopodial motility in a protein kinase D-dependent manner – előadás
 - Zsófia Szíber, Krisztina Tóth, Angelika Hausser, Katalin Schlett: Protein kinase D regulates neurotransmitter receptor turnover in hippocampal neurons – poszter
- 2) 3. IBRO Workshop Budapest, 2016.01.21–22.
 - Ignácz Attila, Beyes Sven, Bencsik Norbert, Ranz Iris, Badamdeh Arian, Tárnok Krisztián, Hausser Angelika, Schlett Katalin: Ras and Rab interactor 1 (RIN1) controls dendritic arborisation and filopodial motility in a protein kinase D-dependent manner – P2/32 poszter
 - Zsófia Szíber, Krisztina Tóth, Angelika Hausser, Katalin Schlett: Protein kinase D regulates neurotransmitter receptor turnover in hippocampal neurons – P2/34 poszter

- 3) II. Élettudományi Liftbeszéd Fesztivál, ELTE TTK, Budapest 2016.03.05.
 - Ignác A: A RIN1 fehérje idegsejtekben betöltött szerepének vizsgálata – előadás, 1 különdíj
- 4) European Light Microscopy Initiative (ELMI) Konferencia, Debrecen, 2016.05.24–27.;
 - Zsófia Szíber, Attila Ignác, Sven Beyes, Norbert Bencsik, Krisztián Tárnok, Angelika Hausser, Katalin Schlett: Dual effects of Ras and Rab interactor 1 (RIN1) on filopodial motility and AMPA receptor endocytosis participate in long-term depression of hippocampal neurons – P030 poszter
- 5) 10th FENS Forum of Neuroscience Konferencia, Koppenhága, Dánia, 2016.07.02–06.
 - N. Bencsik, Z. Szíber, H. Liliom, K. Tárnok, S. Borbély, M. Gulyás, A. Rátkai, A. Szucs, D. Hazai–Novák, K. Ellwanger, B. Rác, K. Pfizenmaier, A. Hausser, K. Schlett: Protein kinase D promotes plasticity-induced F-actin stabilization in dendritic spines and regulates memory formation – B063 poszter
- 6) FENS–IBRO Workshop, Pécs, 2017. 09. 17–21.
 - Ignác A., Szíber Zs., Liliom H., Rátkai A., Morales C., Eisler S., Szűcs A., Tárnok K., Schlett K.: RIN1 regulates synaptic plasticity by coordinating actin dynamics and AMPA receptor endocytosis in dendritic spines

megvédett PhD dolgozatok:

- Szíber Zsófia (2017) A transzmembrán receptorok körforgása az idegsejtek plaszticitási folyamataiban. ELTE Biológia Doktori Iskola. témavezető: Dr Schlett Katalin
- Bencsik Norbert (2017) A protein kináz D hatása a dendrittüskék aktin vázrendszerének stabilizálására és a tanulási folyamatokra. ELTE Biológia Doktori Iskola. témavezető: Dr Schlett Katalin

benyújtás előtt álló PhD dolgozatok:

- Liliom Hanna: A protein kináz D szerepének vizsgálata az idegsejtek pusztulását előidéző hatások alatt. ELTE Biológia Doktori Iskola. témavezető: Dr Schlett Katalin

elkészült BSc szakdolgozatok:

- Hernáth Ferenc (2016) A dinamikus clamp technika alkalmazása idegsejtek fiziológiai és integratív tulajdonságainak vizsgálatára.
- Ignác Attila (2016) A dendrittüskék aktin vázrendszerének dinamikája.
- Krutilla Csilla (2016) Idegsejtek bioelektromos működésének jellemzése és követése optikai módszerekkel.
- Tóth Kinga (2016) Optogenetika: forradalom a neurobiológiában.

TDK dolgozatok:

- Ignác Attila: A RIN1 fehérje hatása az idegsejtek morfológiájára, az aktin dinamikára és a dendritikus filopodiumok mozgására. BTK Neurobiológia szekció 2. hely (2016); OTDK Neurobiológia szekció 1. hely (2017).

6. Milyen akadályokat vagy problémákat érzékelt a projekt végrehajtása során?

Különösebb problémával nem találkoztunk, bár 2017 őszén a kifizetések a korábbiakhoz képest lassabban zajlottak.

7. Mi a legjelentősebb szakmai eredmény, amit kiemelne a projektegységműködés kapcsán?

2 év alatt 3 közös tudományos közlemény (ld. 5. pontban részletezve), 2 megvédett PhD dolgozat, TDK és OTDK helyezés, Mestertanár aranyérem elnyerése, UNKP és Kuffler ösztöndíjak elnyerése.

8. Van-e olyan javaslat, amivel módosítaná a pályázati felhívás és végrehajtás szempontjait a jövőre nézve?

nincs

Kelt: Budapest, 2017. december 4.



Dr. Schlett Katalin