

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola

Szabályozásbiológiai Program

A dúcsejtek által meghatározott párhuzamos retinális pályákon haladó információ funkcionális heterogenitásának vizsgálata

PhD értekezés tézisei

Tengölics Ádám Jonatán



Témavezető:

Dr. Völgyi Béla
habil. egyetemi docens

PÉCS, 2020

1. Bevezető

A környezetből érkező információ 90%-át a látásunk segítségével tapasztaljuk meg, melynek kezdeti lépéseit a gerincesek fényérzékeny idegszövege, a retina végzi. A retina legfőbb információs útvonala következő: a fotoreceptorok (PR) a fény fotonjai által hordozott információt érzékelik, továbbítják azt a bipoláris sejteknek (BC), melyek végül az információt a dúcsejteknek (RGC) továbbítják. A RGC-k bemeneteiket integrálva akciós potenciál (AP) sorozat kódot generálnak és azt a látóidegen keresztül továbbítják az agy felé. A horizontális sejtek (HC) és amakrin sejtek (AC) gátló interneuronok, melyek a párhuzamos információs csatornák összehangolásával járulnak hozzá a képi információ finomhangolásához, GABAerg gátló neurotranszmissziójuk és réskapcsolataik (*gap junction*; GJ) rendszere révén (Kolb et al., 1995). A retinális dúcsejtek populációja mind funkcionálisan, mind morfológiailag igen diverz (Sun et al., 2002; Badea és Nathans, 2004; Coombs et al., 2006; Völgyi et al., 2009; Baden et al., 2016), a jelenlegi vizsgálatok egyik célja, hogy a számos különböző vizsgálati módszerrel kapott eredményeket integrálni lehessen egyetlen közös rendszerben.

Minden egyes RGC altípus a számára adekvát képi információ tartalmat dolgozza fel, extrahálja a képi környezetből, melyek mindegyike egy-egy párhuzamos retinális útvonalon jut a központi idegrendszerbe. Ismert, hogy az egyes csatornák külön-külön tájékoztatják az agyat az objektum egyes vizuális paraméteréről, mint például a tárgy helyzetéről (Venkataramani és Taylor, 2010; 2016; Nath és Schwartz, 2016), mozgásáról és annak irányáról (Barlow et al., 1964; Barlow és Levick, 1965; Taylor és Vaney, 2002; Sabbah et al., 2017), valamint a tárgy és háttér egymáshoz viszonyított mozgásáról (Ölveczky et al., 2003; 2007; Baccus et al., 2008; Manookin et al., 2018). A csatornákon az információ eltérő sebességgel halad, mely sebességkülönbség eredhet a stimulus bizonyos karakterisztikáiból (Baldo és Klein, 1995; Purushothaman et al., 1998; Whitney és Murakami, 1998), valamint a sejtek fiziológias és morfológiai jellemzőiből (Perge et al., 2012; Li et al., 2015). Számos bizonyíték mutat afelé, hogy ez az időbeli szeparáció már magában a retinában kezdődik, hisz a különböző RGC-k a stimulust különböző időkésekkel dolgozzák fel (Farrow és Masland, 2011; Li et al., 2015). Gollisch és Meister 2008-as munkájukban megállapították, hogy az RGC-k fényválaszainak időbeli heterogenitása fontos részét képezi a vizuális kódoknak, mely végül az agyi feldolgozó központok felé továbbítódik (Gollisch és Meister, 2008). Ezek alapján nem elhanyagolható az RGC fényválaszok időbeli késéseinek heterogenitása és a retinális kód kialakításban betöltött szerepének vizsgálata.

2. Célkitűzések

Laboratóriumunkban évek óta folynak olyan kísérletek, amelyek központjában a vizuális stimulusok retinális kódolása és a párhuzamos retinális pályákon történő információ szállítás áll. A témakör további vizsgálatával kapcsolatban a dolgozatomban a következő célkitűzéseket fogalmaztam meg:

1. A Ca^{2+} -képalkotási módszer, *in vitro* retina preparátumon való alkalmazásának kidolgozása és alkalmassá tétele a dúcsejtek aktivitásának vizsgálatára.
2. A dúcsejtek funkcionális heterogenitásának és a párhuzamos retinális pályákon történő szignalizációnak a vizsgálata elektrofiziológiai és Ca^{2+} -képalkotási technikák kombinációjával; a dúcsejtek fényválaszainak időkései meghatározó tényezők vizsgálata.
3. A dúcsejtek neurokémiai heterogenitásának vizsgálata immunhisztokémiai módszerekkel, a termelt kalciumkötő fehérjék (CaBP) alapján.
4. Egy morfometrikus retina modell alkalmassá tétele a párhuzamos retinális szignalizáció vizsgálatára és a fiziológiai méréseink alátámasztására.

3. Anyagok és módszerek

3.1. Állatok és preparálás. Kísérleteinkben felnőtt (30-90 napos) C57BL/6J, Thy1-GCaMP3 (THY differenciációs antigén 1) és PV-GCaMP6f egértörzseket (*Mus musculus*) használtunk. Az állatokat 150 μl isoflurane-al (4%, 0,2 ml/l) altattuk, majd nyaki diszlokációt hajtottunk végre. A kipreparált retinát perfúziós kamrában oxigenizált (95% O_2 , 5% CO_2) és melegített (34 °C) emlős Ringer oldatba (pH=7,4) helyeztük. Az állatok tartása, kezelése és kísérletes felhasználásuk is a Pécsi Tudományegyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság engedélyével (MÁB, BA02/2000-6/2006; BA/35/51-42/2016) történtek, összhangban a 3R törvény elveivel.

3.2. Ca^{2+} -képalkotási vizsgálatok. A Ca^{2+} képalkotási vizsgálatokat C57BL/6J, Thy1-GCaMP3 és PV-GCaMP6f egértörzseken végeztük. A C57BL/6J törzsek esetében kémiai, Fluo-4 AM és Oregon Green 488 BAPTA-1 indikátorokat használtunk. A Fluo-4 indikátort *bath-loading* technikával (30 perc inkubáció), míg az Oregon Green-t elektroporációval juttattuk be a szövet sejtjeibe. A felvételek egy Nikon FN1 mikroszkóppal zajlottak (4x, 10x, 40x és 60x objektívek), a fényválaszokat teljes-mezejű fotopikus fénystimulust ($\lambda=490\text{ nm}$, $t=3\text{ s}$) követően rögzítettük (25 Hz; 33,3 Hz, vagy 60 Hz-es mintavételezési frekvencia). Az excitációs fényt egy Polychrome V

monokromátorral állítottuk elő, a felvételeket Retiga 2000DC digitális kamerával, Live Acquisition szoftverrel rögzítettük. Egyes felvételeket Intensilight (Nikon) fényforrás, Sony A6300 kamera és WinWCP szoftver segítségével végeztünk (60 Hz mintavételezés, konstans ISO, Full HD/1080p) minőségben. A legtöbb esetben a bemeneti és kimeneti jelek összehangolásáért egy Imaging Computing Unit központi vezérlőegység felelt. A felvételek előelemzéséhez FIJI szoftvert (Schindelin et al., 2012) használtunk. Itt a vizsgálni kívánt sejtek manuális kiválasztását végeztük el a ROI (*region of interest* – vizsgálati terület) *manager* beépített eszköz segítségével. A felvételek analízisére és a *spike* detekcióra a Matlab környezetben futó NeuroCa (Jang és Nam, 2015) integrált keretprogramot használtuk.

3.3. Elektrofiziológiai vizsgálatok (extracelluláris elvezetések, MEA, Patch Clamp). Az egysejt RGC extracelluláris elvezetésekhez wolfram elektródákat (1 M Ω), a sokelektrodás elvezetésekhez 64/128 csatornás MEA (multi electrode array) rendszert használtunk. A mérések során többnyire teljesmezejű, zöld ($\lambda = 525$ nm) fénystimulust alkalmaztunk. A patch clamp felvételeket Axopatch 200B erősítővel és ECS-el töltött (*Extracell solution* – extracelluláris oldat) pipettákkal (kb. 6 M Ω ; boroszilikát) végeztük *cell-attached* konfigurációban. Az AP-k detekciójához és stimulushoz rendeléséhez Spike 2, Off-line Sorter és NeuroExplorer programokat használtunk, ezekből ún. peristimulus hisztogrammot (PSTH) és ráta hisztogrammot készítettünk, majd megállapítottuk a fényválaszok időkéseéseit. Az adatok feldolgozásához Microsoft Excel és Origin 2018 programokat használtunk.

3.4. Farmakológia. A réskapcsolatok zárására 40 μ M meklofenaminsavat (Meclofenamic acid – MFA), a GABAerg gátló bemenetek blokkolása céljából 50 μ M pikrotoxint (PTX) tartalmazó Ringer oldatot használtunk.

3.5. Immunhisztokémia, Neurobiotin injekció és konfokális mikroszkópia. A Neurobiotin injekciót, a Patch Clamp elektródákkal hajtottuk végre a célsejt membránjának áttörése után. 30 perces inkubációt követően a szövetet 4% PFA-ban fixáltuk (15-25 perc), majd átmostuk (PBS), BTA-vel blokkoltuk, streptavidin-Cy3 vagy -Cy5-ban inkubáltuk egy éjszakán át végül tárgylemezre helyeztük és lefedtük Vectashielddel. A CaBP vizsgálatoknál az izolált retinát a dorzális oldalon a choroid markerek segítségével megjelöltük (Wei et al., 2010) és ehhez viszonyítva meghatároztuk a szövet topográfiai régióit. A 15 perces 4% PFA-ban fixálás és mosást (PBS) követően BTA vagy CTA blokkolás (legalább 2 óra, ideális esetben 24 óra), majd a primer antitestekkel (a-CaB, a-CaR, a-PV, NeuN és RBPMs) történő inkubáció (24-72 óra) következett.

Mosást követően a másodlagos antitesteket (Alexa647, Alexa488, Cy3, DyLight405, Alexa568, DAPI és NeuroTrace 640/660) hozzáadtuk a szövethez (24 óra). Újabb mosást követően a retinákat Vectashiledel a GCL-el felfelé lefedtük. A mintákat Zeiss LSM710 konfokális mikroszkóppal (20x, 63x objektívek) vizsgáltuk. A fény és kontraszt minimális korrekcióját utólagosan az Adobe Photoshop CC és a FIJI szoftverekkel hajtottuk végre.

3.6. Fehérjeexpresszió mérése és sejtek csoportosítása. Minden mérés FIJI szoftverkörnyezetben történt. A CaBP-k expressziós méréseket random 100x100 μm -es területeken végeztük, az ezekben található RGC sejttestek körül a NeuN jel alapján ROI-kat határoztunk meg. A sejtek CaBP jelöléseikhez tartozó átlagos szürke értékének intenzitását mértük és az expressziós szinteket egy 0-100%-os skálán adtuk meg mindhárom fehérjére (CaB, CaR, PV). A relatív százalékos értékek alapján egy 10%-os felbontású eloszlási hisztogramon csoportosítottuk a sejteket, minden fehérje expressziója alapján. A sejtek csoportosítására klaszter analízist végeztünk (Python SciKit-learning csomag, Pedregosa et al., 2011) Gaussian Mixture Modellel, mely az elvárások maximalizálásának iterációs folyamatát használja.

3.7. Neuromorf retina modell. A modellt Los Alamos-ban dolgozó kollaborációs partnerünk, Dr. Garrett T. Kenyon és kollégái biztosították számunkra. A modell paramétereinek részletei dolgozatomban, valamint Kenyon és mtsai. 2003-as, illetve 2004-es munkáiban olvashatók (Kenyon et al., 2003a; b; 2004). Röviden: a modell a stimulus hatására bekövetkező membránpotenciál változásokat szimulálja, mely alapján AP sorozatot generál. Ezek alapján egy GNU Octave-ban programozott analízis szkript segítségével az eredeti stimulus rekonstruálható bármely sejtípus szintjén. A modellt kollaborátoraink C++ környezetben programozták és Linux vagy Mac operációs rendszer alatt fut, a Petavision, nyílt forráskódú, objektumorientált neurális szimulációs eszköztárban (webhely 1). A modellel szimpla ON/OFF, szinuszoid és élő képi stimulusokat olvastattunk be, miközben a GABA vagy réskapcsolat szignalizációt perturbáltuk. A stimulusok 64 x 64-es vagy 800 x 800-as (természetes stimulus) felbontásúak voltak. Ez a szimulációban ezzel megegyező számú (4096, illetve 640 000) fotoreceptort és negyed ennyi (1024, illetve 160 000) egyéb sejtet jelentett a modellben. Az adatok kigyűjtése GNU Octave szkripttel, illetve Matlab, FIJI (NIH, USA) és Microsoft Excel programokkal történt. További adat- és statisztikai analízisre Origin 2018 (Originlab, Northampton, MA, USA) programot használtunk.

4. Eredmények

4.1. Ca²⁺-képzőképzési vizsgálatok (indikátorok vs. GMO törzsek használata).

A kémiai Ca²⁺-indikátorokkal végzett kísérletek vegyes eredményei miatt a GMO törzsek (Thy1-GCaMP3 és a PV-GCaMP6f) alkalmazása mellett döntöttünk, melyek egy fehérje alapú Ca²⁺-indikátort termelnek, így kikerülhető a szövet sérülésével járó töltési procedúra. A dolgozatban főleg a Thy1-GCaMP3 egértörzsből származó adatokat használtuk, mert minden RGC stabilan termeli az indikátort, az egértörzs stabilan fenntartható és az indikátor jele stabilabb és fixálható.

4.2. Az RGC-k heterogenitása fényválasz késéseik alapján

4.2.1. A dűcejt fényválaszok időkéseinek sokfélesége

RGC AP sorozatokat vezettünk el fotopikus fénystimulust követően. A válaszkéséseik alapján a RGC-k teljes populációja (ON és OFF együtt) heterogénnek bizonyult, egy viszonylag széles (45-300 ms) időintervallumot lefedve. A stimulusok ismétlése után meghatározott próbák közötti variabilitás mind ON és mind OFF válaszok esetében alacsony volt (ON: átlag = 21,7 ms; OFF: átlag = 23,8 ms), tehát az egész populációra vonatkoztatott késések széles intervalluma nem a sejtek egyéni válaszaiban mutatkozó variabilitásnak tudható be.

4.2.2. Az időkéseik sejt típus specifikus

A válaszkésések sejtek közötti nagy változatossága, és a relatív kicsi próbák közötti variancia arra enged következtetni, hogy a késés sejt típus függő. Ennek közvetlen bizonyítására, Neurobiotinnal jelölt, OFF-Alfa RGC-kből fénystimulus kiváltotta AP sorozatokat vezettünk el. Az OFF-alfa sejtek válaszkinetikáik alapján két alpopulációra oszthatók, egy részük „fűrgé-tranziens” (*brisk-transient*) mások „lomha-fenntartott” (*sluggish-sustained*) fényválasszal jellemezhetőek (Pang et al., 2003; Murphy és Rieke, 2006; van Wyk et al., 2009; Baden et al., 2016; Krieger et al., 2017). A két alpopulációt mi is jól el tudtuk különíteni egymástól. Megfigyeltük, hogy a két azonosított alpopuláció egyenként már egy sokkal kisebb válaszkésés tartományt fed le, mely tartományok szignifikánsan elkülönülnek egymástól. Ezek alapján a válaszkésések sejt típus specifikusak a két OFF-alfa RGC populáció estében, valószínűsítve annak lehetőségét, hogy ez érvényes a teljes RGC populáció minden sejt típusára.

4.2.3. A válaszkésések stimulus függősége

Két kísérletsorozat egyikében a retinát egy erősödő intenzitású ($I = 1-7000 \text{ Rh}^*/\text{pálcika/s}$; $\lambda = 488 \text{ nm}$), teljes mezejű fénystimulus sorozattal ingereltük, miközben az RGC AP sorozatokat rögzítettünk. Megfigyeltük, hogy a válaszkésések ideje csökken a stimulus erősségének növelésével, a szkotopikus és fotopikus stimulusokra adott válaszok késéseit összehasonlítva

mindkét RGC populáció (ON és OFF) tekintetében a fotopikus válaszok szignifikánsan rövidebbek. Egy második kísérletsorozatban a stimulus hullámhosszát változtattuk (330-674 nm tartományban; 330, 360, 409, 437, 495, 527, 562, 590, 632, 645 és 674 nm), miközben az AP-okat rögzítettük. Megfigyeltük, hogy az ON sejtek válaszkésései nagyobb spektrum függőséget mutattak, mint az OFF sejtek, de mindkét alpopuláció esetében a késések hullámhossz függőek voltak. Tehát, a stimulusparaméterek (ebben az esetben a stimulus erőssége és kromatikus tulajdonságai) számottevően befolyásolják az RGC-k válaszkéséseit.

4.2.4. A preszinaptikus retinális hálózatok szerepe az RGC válaszkésések kialakításában

A megfigyelt sejtípus specifikus válaszkésés eredhet: 1. eltérő membrántulajdonságokból, 2. vagy a preszinaptikus pályák eltérő sebességű szignalizációjából (esetleg ezek kombinációjából). Ennek vizsgálatára RGC AP sorozatokat rögzítettünk (*cell-attached* mód) először fotopikus fénystimulust, majd direkt elektromos ingerlést követően (kikerülve a preszinaptikus retinális hálózatot). Megfigyeltük, hogy minden vizsgált RGC rövidebb késést mutatott az elektromos stimulusra, mint a fénystimulusra, valamint a sejtek késési tartománya is szignifikánsan lecsökkent. Ez bizonyítja, hogy az RGC válaszkéséseket nem a sejtek membrán tulajdonságai határozzák meg, hanem nagyrészt a preszinaptikus retinális hálózat.

Egy következő kísérletben Ca^{2+} válaszokat regisztráltunk Thy1-GCaMP3-as állatok RGC-in teljes mezejű, fotopikus fénystimulust követően. A Ca^{2+} hullámok felfutási ideje sejtenként nagyon eltérő volt, hasonlóan az elektrofiziológiai mérésekhez. A vizsgált RGC Ca^{2+} -tranziens késések meglehetősen széles intervallumot fedtek le, mely egyértelműen elkülönült a független sejtek szintjén jelentkező próbák közti varianciák eloszlásától, megerősítve azt a megállapítást, hogy nem az egyes sejtek válaszainak variabilitása, hanem a sejtek közötti különbségek a döntőek.

4.2.5. Retinális pályaelemek hatása a RGC-k fényválasz késéseire

A fentiek alapján feltételezhető, hogy a válaszkésés finomhangolásában a retinális neuronhálózat, horizontális szignalizációs elemei vesznek részt. Ennek vizsgálatára multielektrodás elektrofiziológiai (MEA) és Ca^{2+} -képződési vizsgálatokat végeztünk egér retinán, miközben a két retinális hálózati elemet (GJ kapcsolatokat és GABAerg inhibíciót) farmakológiailag blokkoltuk. A GJ-k blokkolásakor egyes sejtválaszok gyorsultak, míg mások lassultak, de a vizsgált RGC populáció válaszkésési variabilitása szignifikánsan lecsökkent. A GABA receptorok blokkolása (A- és C-típus) esetében hasonló eredményeket kaptunk, azaz a GABA receptor

inaktivációja egyes sejtek esetében válaszkésés csökkenést, máshol növekedést idézett elő, illetve az RGC válaszkésések tartománya szignifikánsan csökkent.

4.3. A retinális dúcsejtek heterogenitása az expresszált CaBP-k alapján

Megkíséreltük a RGC populáció sejttypusait CaBP termelésük alapján elkülöníteni egymástól immunhisztokémiai módszerekkel abban a reményben, hogy az a-CaR, a-CaB és a-PV szérumok legalább pár (3-4) dúcsejttypust egyértelműen meghatároznak, így azok a többi dúcsejttől különválasztva vizsgálhatók. Ez a próbálkozásunk nem járt sikerrel, ugyanis a RGC-k sejtmetr szerinti eloszlási hisztogramjai hasonló mérettartományokat fedtek le, mint a teljes RGC populációé, tehát nem voltak jól elkülönült alcsoportok. Az intenzitás/sejtmetr klaszter analízis rámutatott arra, hogy minden retinális területen nagy a diverzitás az expresszált CaBP-k tekintetében. 4-9 klasztert sikerült meghatároznunk a három CaBP tekintetében, melyek száma a vizsgált retinális területenként változó volt. Ez alapján nyilvánvaló volt, hogy ez a kétdimenziós klaszter analízisünk nem alkalmas a CaBP-t termelő RGC-k morfológiai/funkcionális csoportjainak elkülönítésére. Megfigyeltük továbbá azt is, hogy a dúcsejtek nagy része nem egy, hanem két, esetleg három CaBP-t is termel (35,8%) és az RGC-k mindössze 26,1 % volt negatív mindhárom fehérjére.

4.4. A dúcsejtek kódolási mechanizmusát befolyásoló retinális kapcsolatok feltérképezése

A fenti kísérletek alapján egyértelmű volt, hogy a GABAerg és GJ mediálta információáramlás nagyban befolyásolja a RGC AP kód egyes paramétereit (késés, tranziencia stb.). Kollaborációs kapcsolataink révén (Dr. Garrett T. Kenyon; Los Alamos National Laboratory, USA) használatunkba került egy virtuális retina algoritmus, melyben a hálózati elemek tetszőlegesen ki- és bekapcsolhatók. A modellben a GABA rendszer és a GJ-k kikapcsolásakor a válaszkésések lerövidültek a kontroll eredményekhez képest és a próbák közti variancia itt sem befolyásolta lényegesen az eredményeket. A GJ-k kiiktatásánál kis mértékben változott a reprodukált kép, eltűntek a legfinomabb kontrasztbéli átmenetek. A GABAerg rendszer kikapcsolásakor az átmeneti kontrasztok eltűntek, bizonyítva azt, hogy a GABAerg rendszer a térbeli kontrasztérzékelést szabályozza. A modellben végzett mérések tehát nagyrészt alátámasztották korábbi fiziológiai mérési eredményeinket és bizonyították az AC-ek felől érkező gátló mechanizmusok (GABAerg rendszer) és a GJ-k szerepét a dúcsejtek válaszkéséseinek kialakítása szempontjából.

5. Összefoglalás

Az RGC-k egy heterogén idegsejt-populációt alkotnak az emlősök idegrendszerében, különböznek morfológiai sajátosságaikban, neurokémiai markereikben és funkciójukban. Kutatásaink középpontjában a párhuzamos retinális pályákon történő információszállítás és a vizuális stimulusok retinális kódolása áll. A témában végzett kutatásaink alapján a következő főbb eredményekre jutottunk: 1. Kidolgoztuk a Ca^{2+} -képzalkotási technikák egy megbízható változatát az általunk használt *in vitro* egér (*Mus musculus*) retinán. 2. Bebizonyítottuk, hogy a párhuzamos retinális csatornákon haladó információ RGC típus-specifikus eltéréseket mutat a fényválaszok kinetikája tekintetében. 3. Megfigyeltük, hogy a RGC válaszkésések finomhangolásához a preszinaptikus retinális pályák részvétele szükséges (GABAerg és GJ-mediálta információáramlás). Feltételezzük, hogy a válaszkésési finomhangolással a látórendszer súlyozza a szállított információ határfokát a felsőbb integrátorok aktiválásának tekintetében. 4. Az általunk vizsgált három CaBP nem bizonyult használható sejt-specifikus markernek, de a konfokális mikroszkópia és offline tracer-követési metodológia kombinációjával kidolgoztuk a képzalkotási vizsgálatokban rögzített RGC-k azonosításának technikáját. 5. A retinális modellel végzett kísérletek nagyrészt alátámasztották a kísérleteinkben kapott eredményeket. Ezen felül a modell olyan új funkciót jósolt a GABA és GJ mediálta információáramlás képi kódolásban betöltött szerepének, melyet a közeljövőben érdemesnek tartunk tesztelni kísérletesen is.

6. Irodalomjegyzék

- Baccus, S. A., Ölveczky, B. P., Manu, M., & Meister, M. (2008). A Retinal Circuit That Computes Object Motion. *Journal of Neuroscience*, 28(27), 6807–6817. doi:10.1523/jneurosci.4206-07.2008
- Badea, T. C. & Nathans, J. (2004). Quantitative analysis of neuronal morphologies in the mouse retina visualized by using a genetically directed reporter. *The Journal of Comparative Neurology*, 480(4), 331–351. doi:10.1002/cne.20304
- Baden, T., Berens, P., Franke, K., Román Rosón, M., Bethge, M. & Euler, T. (2016). The functional diversity of retinal ganglion cells in the mouse. *Nature*, 529(7586), 345–350. doi:10.1038/nature16468
- Baldo, M. V. C. & Klein, S. A. (1995) Extrapolation or attention shift? *Nature*, 378, 565–566. doi:10.1038/378565a0
- Barlow, H. B. & Levick, W. R. (1965) The mechanism of directionally selective units in rabbit's retina. *J. Physiol.*, 178(3):477-504. doi:10.1113/jphysiol.1965.sp007638.
- Barlow, H. B., Hill, R. M. & Levick, W. R. (1964) Retinal ganglion cells responding selectively to direction and speed of image motion in the rabbit. *J. Physiol.*, 173(3):377-407. doi: 10.1113/jphysiol.1964.sp007463.
- Coombs, J., van der List, D., Wang, G.-Y. & Chalupa, L. M. (2006). Morphological properties of mouse retinal ganglion cells. *Neuroscience*, 140(1):123-36. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.02.079.
- Farrow, K. & Masland, R. H. (2011) Physiological clustering of visual channels in the mouse retina. *J. Neurophysiol.*, 105(4):1516-30. doi: 10.1152/jn.00331.2010.
- Gollisch, T. & Meister, M. (2008) Rapid neural coding in the retina with relative spike latencies. *Science*, 319(5866):1108-11. doi: 10.1126/science.1149639.
- Jang, M. J. & Nam, Y. (2015) NeuroCa: integrated framework for systematic analysis of spatiotemporal neuronal activity patterns from large-scale optical recording data. *Neurophotonics*. 2, 035003. doi:10.1117/1.NPh.2.3.035003.
- Kenyon, G. T., Moore, B., Jeffs, J., Denning, K. S., Stephens, G. J., Travis, B. J., George, J. S., Theiler, J. & Marshak, D. W. (2003a). A model of high-frequency oscillatory potentials in retinal ganglion cells. *Visual neuroscience*, 20(5):465-80. doi: 10.1017/s0952523803205010.
- Kenyon, G. T., Travis, B. J., & Marshak, D. W. (2003b). Role of synaptic feedback and intrinsic voltage-gated currents in shaping cone light responses. *Neurocomputing*, 52-54, 125–133. doi:10.1016/s0925-2312(02)00790-7
- Kenyon, G. T., Travis, B. J., Theiler, J., George, J. S., Stephens, G. J. & Marshak, D. W. (2004). Stimulus-Specific Oscillations in a Retinal Model. *IEEE Transactions on Neural Networks*, 15(5), 1083–1091. doi:10.1109/tnn.2004.832722
- Kolb, H., Fernandez, E. & Nelson, R. (1995-) *Webvision - The Organization of the Retina and Visual System*. Salt Lake City, USA: University of Utah Health Sciences Center.
- Krieger, B., Qiao, M., Rousso, D. L., Sanes, J. R. & Meister, M. (2017) Four alpha ganglion cell types in mouse retina: Function, structure, and molecular signatures. *PLoS One*, 12, e0180091, doi:10.1371/journal.pone.0180091.
- Li, P. H. et al. (2015) Anatomical identification of extracellularly recorded cells in large-scale multielectrode recordings. *J. Neurosci.* 35(11):4663-75. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3675-14.2015. Sr14
- Manookin, M. B., Patterson, S. S. & Linehan, C. M. (2018) Neural mechanisms mediating motion sensitivity in parasol ganglion cells of the primate retina. *Neuron*. 97(6):1327-1340.e4. doi: 10.1016/j.neuron.2018.02.006.

- Murphy, G. J. & Rieke, F. (2006). Network Variability Limits Stimulus-Evoked Spike Timing Precision in Retinal Ganglion Cells. *Neuron*, 52(3), 511–524. doi:10.1016/j.neuron.2006.09.014
- Nath, A. & Schwartz, G. W. (2016) Cardinal orientation selectivity is represented by two distinct ganglion cell types in mouse retina. *J. Neurosci.* 36(11):3208-21. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4554-15.2016.
- Ölveczky, B. P., Baccus, S. A. & Meister, M. (2003). Segregation of object and background motion in the retina. *Nature*, 423(6938), 401–408. doi:10.1038/nature01652
- Ölveczky, B. P., Baccus, S. A. & Meister, M. (2007) Retinal adaptation to object motion. *Neuron*. 56(4):689-700. doi: 10.1016/j.neuron.2007.09.030.
- Pang, J.-J., Gao, F., & Wu, S. M. (2003) Light-Evoked Excitatory and Inhibitory Synaptic Inputs to ON and OFF α Ganglion Cells in the Mouse Retina. *The Journal of Neuroscience*, 23(14), 6063–6073. doi:10.1523/jneurosci.23-14-06063.2003.
- Pedregosa, P. et al. (2011) Scikit-learn: Machine learning in python. *J. Mach. Learn. Res.*, 12:2825–2830.
- Perge, J. A., Niven, J. E., Mugnaini, E., Balasubramanian, V. & Sterling, P. (2012) Why do axons differ in caliber? *J. Neurosci.*, 32(2):626-38. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4254-11.2012.
- Purushothaman, G., Patel, S. S., Bedell, H. E. & Ogmen, H. (1998) Moving ahead through differential visual latency. *Nature*, 396(6710):424. doi:10.1038/24766.
- Sabbah, S. Gemmer, J. A., Bhatia-Lin, A., Manoff, G., Castro, G., Siegel, J. K., Jeffery, N. & Berson, D. M. (2017). A retinal code for motion along the gravitational and body axes. *Nature.*, 546(7659):492-497. doi:10.1038/nature22818.
- Schindelin, J., et al. (2012) Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. *Nat. Methods.*, 9:676–682. doi: 10.1038/nmeth.2019.
- Sun, W., Li, N. & He, S. (2002). Large-scale morphological survey of mouse retinal ganglion cells. *The Journal of Comparative Neurology*, 451(2), 115–126. doi:10.1002/cne.10323
- Taylor, W. R. & Vaney, D. I. (2002) Diverse synaptic mechanisms generate direction selectivity in the rabbit retina. *J. Neurosci.*, 22(17):7712-20. doi:10.1523/JNEUROSCI.22-17-07712.2002.
- Van Wyk, M., Wässle, H. & Taylor, W. R. (2009). Receptive field properties of ON- and OFF-ganglion cells in the mouse retina. *Visual Neuroscience*, 26(03), 297–308. doi:10.1017/s0952523809990137.
- Venkataramani, S. & Taylor, W. R. (2010) Orientation selectivity in rabbit retinal ganglion cells is mediated by presynaptic inhibition. *J. Neurosci.* 30(46):15664-76. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2081-10.2010.
- Venkataramani, S. & Taylor, W. R. (2016) Synaptic mechanisms generating orientation selectivity in the ON pathway of the rabbit retina. *J. Neurosci.*, 36(11):3336-49. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1432-15.2016.
- Völgyi, B., Chheda, S. & Bloomfield, S. A. (2009). Tracer coupling patterns of the ganglion cell subtypes in the mouse retina. *The Journal of Comparative Neurology*, 512(5), 664–687. doi:10.1002/cne.21912
- Wei, W., Elstrott, J. & Feller, M. B. (2010) Two-photon targeted recording of GFP-expressing neurons for light responses and live-cell imaging in the mouse retina. *Nat. Protoc.*, 5:1347–1352. doi: 10.1038/nprot.2010.106.
- Whitney, D. & Murakami, I. (1998) Latency difference, not spatial extrapolation. *Nat. Neurosci.*, 1, 656–657. doi:10.1038/3659
- Webhely 1: <https://petavision.github.io/>

7. Saját publikációk

Összesített Impakt Faktor: 20,647

Idézők: 9

Ebből független idézet: 6

7.1. Disszertáció alapjául szolgáló publikációk

Tengölics, Á. J., Szarka, G., Ganczer, A., Szabó-Meleg, E., Nyitrai, M., Kovács-Öller, T., & Völgyi, B. (2019). Response Latency Tuning by Retinal Circuits Modulates Signal Efficiency. *Scientific reports*, 9(1), 15110. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51756-y>. IF: 3.998

Kovács-Öller, T., Szarka, G., Tengölics, Á. J., Ganczer, A., Balogh, B., Szabó-Meleg, E., Nyitrai, M., & Völgyi, B. (2020). Spatial Expression Pattern of the Major Ca²⁺-Buffer Proteins in Mouse Retinal Ganglion Cells. *Cells*, 9(4), 792. <https://doi.org/10.3390/cells9040792>. IF: 4.366

7.2. Az értekezéshez kapcsolódó konferencia közlemények

Tengölics, Á., Balogh, M., Debertin, G. & Völgyi, B. (2017) Characterization of Oregon-Green labeled mouse retinal neurons. Tavaszi Szél 2017 PhD Konferencia, Miskolc, Magyarország

Tengölics, Á., Ganczer, A., Balogh, M. & Völgyi, B. (2017) Ganglion cell responses impose a postdictive processing of Visual Signals in the brain. FENS Regional Meeting 2017, Pécs, Magyarország

Ganczer, A., Tengölics, Á. J. & Völgyi, B. (2017) Response Transiency of Retinal Ganglion Cells is Maintained when Input Dominance Switches Between Parallel Signalling Streams. ERM 2017, Párizs, Franciaország

Tengölics, Á., Albert, L., Varga, D., Ganczer, A., Balogh, M. & Völgyi, B. (2017) A retinális ganglionsejt válaszok befolyásának vizsgálata a vizuális jelek posztdiktív agyi feldolgozásában. SZTE Móra Ferenc Szakkollégium, Móra Nemzetközi Interdiszciplináris Konferencia, Szeged, Magyarország

Tengölics, Á. & Völgyi, B. (2018) A GABAerg inhibíció és a réskapcsolatok szerepe retinális dúcsejtek egyéni és populációs kódjának kialakításában. PTE Idegtudományi Centrum III. PhD és TDK Konferencia, Pécs, Magyarország

Tengölics, Á. J. & Völgyi, B. (2019) GABA and Gap Junction mediated distinct effects on retinal ganglion cell individual and population code. 16th Congress of Hungarian Neuroscience Society, Debrecen, Magyarország

Tengölics, Á. & Völgyi, B. (2019) A GABAerg inhibíció és a réskapcsolatok szerepe a retinális dúcsejtek egyéni és populációs kódjának kialakításában. ÚNKP 2018/19 Intézményi Szakmai Záró Konferencia, Pécs, Magyarország

Tengölics, Á. J., Zentai, N., Kenyon, G.T. & Völgyi, B. (2019) A retinális dúcsejtek egyéni és populációs kép kódolási mechanizmusának vizsgálata. 21. Látás Szimpózium, Pécs, Magyarország

Tengölics, Á. J., Zentai, N., Kenyon, G. T. & Völgyi, B., (2019) Opposite effects of inhibitory and gap junction mediated excitatory microcircuits on the ganglion cell population code. ERM 2019, Helsinki, Finnország

Fülöp, K. T., Tengölics, Á. J. & Völgyi, B. (2020) A Parvalbumin kalcium kötő fehérje expressziójának hatása a retinális dúcsejtek fényválaszainak kialakításában. In: Prisztóka,

Gyöngyvér; Pfefferkorn, Laura-Jane; Kertai, Bendegúz (szerk.) XVIII. Szentágotthai János Multidiszciplináris Konferencia és Hallgatói Verseny Absztrakt kötet, Pécs, Magyarország: János Szentágotthai Scholastic Honorary Society, Faculty of Sciences, University of Pécs, pp. 21-22., 2 p.

7.3. Egyéb tudományos közlemények

Tengölics, Á., Farkas, S., Gazdag, Z., Pollák, E., Engelmann, P. & Molnár, L. (2015) Putative biomarkers in ecotoxicology: from monitor species to cellular bio- markers. In: Gábor, Molnár; Károly, Kutics; Sándor, Farkas (szerk.) *Interaction of natural and social processes in shallow lake areas*. Kaposvár, Magyarország: Kaposvár University, pp. 103-122., 20 p.

Kovács-Öller, T., Szarka, G., Ganczer, A., Tengölics, Á., Balogh, B., & Völgyi, B. (2019). Expression of Ca²⁺-Binding Buffer Proteins in the Human and Mouse Retinal Neurons. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2229. <https://doi.org/10.3390/ijms20092229>. IF: 4.556

Kovács-Öller, T., Ivanova, E., Szarka, G., Tengölics, Á. J., Völgyi, B., & Sagdullaev, B. T. (2020). Imatinib Sets Pericyte Mosaic in the Retina. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2522. <https://doi.org/10.3390/ijms21072522>. IF: 4.556

Szarka, G., Balogh, M., Tengölics, Á. J., Ganczer, A., Völgyi, B., & Kovács-Öller, T. (2020). The role of gap junctions in cell death and neuromodulation in the retina. *Neural Regeneration Res.* PREPRINT; Ms. No. NRR-D-20-00626. IF: 3.171

7.4. Egyéb konferencia közlemények

Galuszka, A., Tengölics, Á., Molnár, L. & Plytycz, B. (2014) Effects of thermal conditions on regeneration of tail segments in *Eisenia andrei* and *Aporrectodea caliginosa*. Ogólnopolskie Seminarium, Kraków, Lengyelország

Tengölics, Á., Gazdag, Z. & Molnár, L. (2014) Enzyme activity of test species *Eisenia andrei* (*Annelida, Clitellata*) as a factor of both physiology and toxicology. Interaction of Natural and Social Processes in Shallow Lake Areas, Kaposvár, Magyarország

Farkas, S., Tengölics, Á., Rumpler, É., Bázsó, A., Gazdag, Z., Kazinczi, G., Pál-Fám, F. & Molnár, L. (2014) Enzymological and morphological biomarkers in environmental toxicology: from recognition to standardization. In: Molnár, Gábor; Farkas, Sándor (szerk.) *Interaction of Natural and Social Processes in Shallow Lake Areas: International conference Kaposvár, Magyarország: Kaposvári Egyetem, Balaton Kutatóintézet*, pp. 36-36., 1 p.

Farkas, S., Rumpler, É., Tengölics, Á., Kazinczi, G., Pál-Fám, F. & Molnár, László. (2014) Szubletális koncentrációjú nehézfémek talajfaunát károsító hatásainak tanulmányozása ökotoxikológiai vizsgálatokkal. In: Molnár, Gábor; Farkas, Sándor (szerk.) *Természet és társadalom a Balaton régióban: Tudományos konferencia a sekély vizű tavas területek multidiszciplináris kutatásáról: Absztraktkötet*, Kaposvár, Magyarország: Kaposvári Egyetem, Balaton Kutatóintézet, pp. 29-29., 1 p.

Tengölics, Á. (2017) Retinális kemoprosztézis. PTE Innovációs Nap, Pécs. Magyarország

Tengölics, Á. (2017) iEye: A vakság gyógyításától a szembe ültethető okostelefonig. Kutatók Éjszakája 2017, Pécs, Magyarország

Tengölics, Á. (2018) Retinális Kemoprosztézis. PTE Innovációs Nap, Inspirációs Poszter Szekció, Pécs, Magyarország