

Ph.D. értekezés tézisei

**Membrán nanocsőhálózatok szerepe az immunsejtek
kommunikációjában**

Halász Henriett



PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR

Pécs, 2024

Ph.D. értekezés tézisei

Membrán nanocsőhálózatok szerepe az immunsejtek kommunikációjában

Halász Henriett

Témavezető: Dr. Szabó-Meleg Edina

Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola (D93)

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Sümegi Balázs[†], Ifj. Prof. Dr. Gallyas Ferenc

Program: Funkcionális fehérjedinamika vizsgálata biofizikai módszerekkel (B-130/1993)

Programvezető: Prof. Dr. Nyitrai Miklós



PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR

Biofizikai Intézet

Pécs, 2024

BEVEZETÉS

A sejtek között megvalósuló információátadás hozzájárul a környezetből érkező ingerek érzékeléséhez, a sejtek gyors kommunikációjához, összehangolt működéséhez, és a magasabb rendű szervezetek fejlődéséhez, túléléséhez, szöveti regenerációjához, illetve azok fiziológias állapotának fenntartásához is nélkülözhetetlen. Ennek a fajta információcserének a biztosítására számos mechanizmus és struktúra alakult ki. Ilyenek például az egymással érintkező sejteket közvetlenül összekötő szoros réskapcsolatok [1–4], vagy az egymástól távolabb elhelyezkedő sejtek kommunikációját biztosító extracelluláris vezikulumok [5,6], illetve a filopódiumok [7]. Egy ilyen, alapesetben egymással nem érintkező sejteket fizikailag is összekötő, 2004-ben leírt [8], dinamikus, csőre emlékeztető, hengeres sejtnyúlvány, a membrán nanocső (NT az angol nanotube elnevezésből). Az NT-k jelenlétét mára *in vitro* [9–11], *ex vivo* [9,12,13] és *in vivo* [14–16] is bizonyították, de eukariótákon kívül az archeákban [17] és a baktériumok között is előfordulnak [18,19].

Az NT-k citoskeletális filamentumokból épülnek fel. Fő sejtvázas elemük a filamentális aktin (F-aktin), amely kialakulásukhoz és egyes biológiai funkcióikhoz is nélkülözhetetlen [8,9], de számos NT-ben a mikrotubulusok [9,11] és az intermedier filamentumok [20,21] is megtalálhatóak, amelyek szerepe egyelőre kevésbé ismert, de elsősorban az NT-k stabilitásához és élettartamuk növeléséhez járulhatnak hozzá [20,22].

Az NT-k több szempontból is hasonlítanak más sejtnyúlványokhoz (pl. a lamellipódiumokhoz, streamerekhez, citonémákhoz, filopódiumokhoz [23–25]), és mind kialakulásukat, mind morfológiájukat tekintve heterogén struktúrák, amely megnehezíti azonosításukat. Egyéb sejtnyúlványoktól való elkülönítésük nem könnyű, mert jelenleg nem áll rendelkezésre olyan specifikus marker, amely kizárólag az NT-eket tenné láthatóvá mikroszkópos vizualizáció során. A nagyfelbontású mikroszkópokkal végzett vizsgálatok vezettek egy olyan kritériumrendszer megalkotásához, amely az NT-k más sejtkitüremkedésektől való elkülönítését lehetővé teszi. Ezek a morfológiai jegyek az alábbiak:

- 1.) az NT-k sejttényészeteken végzett kísérletek alapján nem tapadnak az aljzathoz, hanem inkább kifeszített állapotban „lebegnek” a távoli sejtek között [8],
- 2.) két vagy több sejtet fizikailag is képesek egymással összekapcsolni, ezáltal folytonosságot kialakítva a sejtek citoplazmája között [8,9],
- 3.) mindezek mellett intenzív transzportfolyamatokat bonyolítanak le [8].

Kialakulásuk pontos mechanizmusa részleteiben napjainkban sem ismert. Formálódásukat alapvetően két modellel magyarázzák. Az egyik az úgynevezett aktin-vezérelt kitüremkedésen alapuló elmélet, amikor egy filopódium-szerű nyúlvány az aktin elongációja

révén képes megnyúlni, és egy másik sejt membránjához (vagy egy másik sejt által növesztett sejtnyúlványhoz) hozzákapcsolódni [26]. A másik a sejtávulodáson alapuló elmélet, amelynek során két, egymással előzőleg kontaktusban lévő sejt szétválik, majd ellentétes irányú mozgásuk során kialakítják az őket összekötő membránhidat [11]. Az NT-k biogenezisét számos tényező befolyásolhatja, vagy segítheti, ilyenek a különböző stressz hatások, mint pl. a hőmérsékleti változások, a hipoxia, a szérum-megvonás, a glükóz koncentráció megemelkedése, a különböző bakteriális és virális fertőzések vagy az UV-sugárzás [27–31]. Ezek mellett bizonyos fehérjék vagy fehérjekomplexek is hat(hat)nak az NT-k kialakulására (pl. Eps8 [32], I-BAR [33], LST-1 [34], miozin X [35], M-sec [36], CDC42/VASP/IRSp53 [32]), ugyanakkor ezen molekuláris és szabályozási folyamatokat feltárni próbáló kísérletek eredményei még meglehetősen ellentmondásosak [37,38].

Fentebb már említésre került, hogy az NT-k nemcsak kialakulásukat tekintve heterogének, de megjelenésük is nagyon sokféle lehet. Így ismerünk nyitott és zárt végű NT-eket, de mindegyikben több alcsoportot is megkülönböztetünk. A nyitott végűek, amelyek az őket kialakító sejtek citoplazmáját fizikailag is összekötik, lehetnek pl. vékonyak (700 nm-nél kisebb átmérőjűek, általában csak aktin tartalmúak) [11], vastagok (700 nm-nél vastagabbak, az aktin mellett mikrotubulust is tartalmazók) [11] és ún. individuális NT-k (amelyek különböző NT-kötegek összekapcsolódásából, egybecsavarodásából alakulnak ki) [39]. A zárt végűek ténylegesen nem kötik össze a sejtek citoplazmáját [39–41], de olykor szinapszissal kapcsolódhatnak a másik sejt membránjához [42].

Az NT-k számos anyag transzportjában játszanak szerepet [43], különböző fiziológiás és patológiás folyamatokat befolyásolva [29,44]. Igazolták részvételüket a jelátvitelben, pl. kalcium-szignál továbbításában [45], apoptotikus folyamatokban [46] és baktériumok [11,31], illetve orvosi biológiai szempontból kiemelkedő jelentőséggel bíró vírusok [28,47] intercelluláris terjesztésében. Ez azért érdekes, mert a kórokozók NT-k belsejében történő mozgásuk által elrejtőzhetnek az immunrendszer sejtjei elől, ráadásul alapesetben az adott patogénre nem fogékony sejteket is megfertőzhetik [48], ezáltal befolyásolva egyes betegségek kimenetelét és a kapcsolódó szövődmények súlyosságát. Ezeken túl az NT-k bizonyos neurodegeneratív kórképek kialakulásában, illetve súlyosbításában is érintettek lehetnek hibás térszerkezetű fehérjék, prionok (pl. tau [49], alfa szinuklein [49] és huntingtin [50]) továbbításával, ezáltal befolyásolva az Alzheimer-, a Parkinson-, vagy a Huntington-kór lefolyását [51]. Ráadásul az NT-k valószínűsíthetően befolyásolják a daganatos betegségek progrediálását [52] és kemoterápiás szerekkel szembeni ellenállóképességét [53] is, amelyekben szerepe lehet mitokondriumok NT-k segítségével megvalósuló kicserélődésének a

távoli sejtek között [54]. A mitokondriumok sejtek közötti átadása viszonylag gyakori jelenség, és többféle útvonalon keresztül is megvalósulhat, pl. extracelluláris vezikulumok [54] vagy réskapcsolatok [54] segítségével, de miután számos esetben figyelték meg szállításukat NT-kben is [46], a mitokondriumok transzportjának tanulmányozása az NT kutatások egy fókuszterületévé vált [11,55]. Így derült fény arra, hogy a mitokondriumok NT-n keresztüli szállítása kulcsszerepet tölthet be pl. károsodott sejtek megmentésében, energiaháztartásuk javításában [29]. Az NT-k azonban nemcsak mitokondriumok, hanem más sejtalkotók (pl. vezikulumok, lizoszómák, autofagoszómák [8,9,56], endoszómák [10], endoplazmatikus retikulum (ER), Golgi [10,28], sejtmag [57]) intercelluláris szállításában is aktívan részt vesznek. Fentiekén túl az NT-knek az immunrendszer szabályozásában, hatékony működésében is szerepük lehet [58], és a trogocitózis egy olyan formáját jelentik, amely lehetőséget teremt egymástól nagy távolságokra elhelyezkedő immunsejtek fehérjeállományának intercelluláris továbbítására [59]. Az NT-k immunfolyamatokban (pl. a makrofágok fagocitáló képességének fokozásában [58] vagy a T-sejtek aktiválásában [60]) betöltött funkciója szükségessé teszi számos jelenleg érvényes és elfogadott immunológiai alapfogalom újraértelmezését [61].

CÉLKITŰZÉSEK

Habár a nanocsökutatók jelentős része az immunrendszer sejtjein történt, a humorális immunválaszban kulcsfontosságú szerepet betöltő B-sejtek NT-iról, különösen funkcionális jelentőségükről nagyon kevés információ áll rendelkezésre, holott a B-sejtek fontos celluláris funkciókat is betöltenek, szerepük van a kórokozók T-sejtek számára történő bemutatásában (az antigénprezentációban) és a T-sejtek aktiválásában, amelyben nélkülözhetetlenek a B-sejtek felszínén expresszálandó kostimulációs molekulák.

Ismert, hogy a B-sejtek NT formáló képességét befolyásolják a környezeti paraméterek, a sejtek érettségi állapota, a felszínükön található integrinek kölcsönhatása az extracelluláris mátrix fehérjéivel és a sejtmembrán lipid összetétele [9,62]. Tudjuk, hogy a B-sejt NT-k zöme mikrotubulus tartalmú. Ugyanakkor ezeknek NT-ken belüli szerepéről immunsejteknél alig [11], B-sejteknél pedig egyáltalán nem rendelkezünk információval [9]. Valószínűsíthető ugyanakkor, hogy a B-sejtek közötti NT-k közreműködésével különböző sejtalkotók adódhatnak át az NT-vel összekötött távoli sejtek között. Ezeket azonban eddig még nem azonosított molekuláris mechanizmusok mediálhatják.

Ezek ismeretében az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

1. Mi a funkcionális szerepe a B-sejtek között spontán kialakuló NT-knek? Van-e intercelluláris anyagtranszport (mikrovezikulumok, sejtorganelumok) ezen csöveken keresztül? Jellemezni kívántuk a transzport tulajdonságait (irányítottság, sebesség, mozgási mintázat) is.
2. Melyek a B-limfómákat összekötő NT-kben a transzportfolyamatokat kontrolláló elsődleges motorfehérjék?
3. Hogyan szerveződnek térbelileg a B-limfóma sejtek NT-iben a fő citoskeletális polimerek (aktin filamentumok, mikrotubulusok)? Ezt elsősorban szuperfeloldású mikroszkópiával kívántuk vizsgálni és a megfigyelt mintázatokat értelmezni.
4. Hogyan orientálódnak az aktin kötegek és a mikrotubulusok az NT-k biogeneze során, és mi ezen sejtvezetési elemek funkcionális feladata a B-limfóma sejtek NT-iben?
5. Milyen változásokat hoz létre éretlen és érett B-sejtek membránjában, illetve NT formálásában a bakteriális toxinokkal történő kölcsönhatás? Képesek-e transzportálni ezen toxinokat a B-sejtek NT-ken keresztül?
6. A T-sejtek felé antigénbemutató sejtékként működő B-sejtek és makrofágok képesek-e a CD86 immunkostimulátor membránfehérje NT-ken keresztüli intercelluláris transzportjára, és ez milyen mechanizmussal megy végbe?

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Alkalmazott sejtvonalak és fenntartásuk

Vizsgálataink során éretlen 38C13 – B-limfóma, érett A20 – B-limfóma (TIB208) és Raw 264.7 – Abelson egér leukémia vírus által indukált tumor makrofág (TIB-71) egér sejtvonalakat használtunk. Fenntartásuk steril körülmények között RPMI-1640 médiumban történt, 2 mM ultraglutaminnal, 1 mM Na-piruváttal, 50 μ M merkaptotetanollal, 9,8 μ M HEPES-sel és 10% FBS-sel kiegészítve. A sejteket 37 °C-on, 5% CO₂ jelenlétében, 25 cm²-es flaskában tartottuk fenn. A sejteket rendszeresen teszteltük mikoplazma jelenlétére, és vizsgálatainkban kizárólag mikoplazma mentes kultúrákkal dolgoztunk.

Reagensok és festékek

Az extracelluláris környezet megteremtése érdekében a mikroszkópnál használt boroszilikát aljú Petri-csészéket 10 μ g/ml koncentrációjú fibronectinnel (FN) fedtük be (coatolás). A sejtek jelölését vagy sejtszuszpenzióban végeztük el, és ezt követően helyeztük át coatolt Petri-csészére, vagy a már előre fibronectinre kitapasztott sejteket jelöltük.

A vezikuláris transzport vizsgálatára a sejteket Alexa Fluor (AF) 488 és/vagy 647 kolera toxin-B-vel (későbbiekben CTX-B; 40 μ g/ml) jelöltük. A jelölt sejteket üveg aljú, FN-nel bevont Petri-csészében, termosztált körülmények között tartottuk fenn. A mitokondriális transzport tanulmányozására fluoreszcensen konjugált MitoTracker Orange CMTMRos festéket (50 nM) alkalmaztunk. A jelölt sejteket coatolt Petri-csészén inkubáltuk. A vezikuláris és mitokondriális transzport gátlására különböző motorfehérjékre specifikus és szelektív inhibitorokat alkalmaztunk (*1. táblázat*). A motorfehérjék különböző sejtalkotókkal való együttes előfordulását, a CD86 endogén megjelenését és kaveolákba történő esetleges kompartmentalizációját immunfluoreszcens technikával vizsgáltuk. Az aktin jelölésére AF 568 falloidin festéket, a mikrotubuluséra immunfluoreszcenciát használtunk. A B-limfóma NT-kben lévő aktin és mikrotubuláris rendszer tanulmányozását élősejtes körülmények között végeztük, különböző szilikon rodamin alapú (SiR aktin/SiR tubulin) fluorogén próbákat és szerves festékeket (Live 510/560 tubulin) is kipróbálva. A festékeket minden esetben 1 μ M koncentrációban adtuk az élő sejtekhez, 20 μ M verapamil jelenlétében. A jelölés egyik nagy hátránya, hogy a festék néhány óra elteltével nehezen, majd egyáltalán nem vizualizálható, ami a B-limfóma sejtek dinamikus működésének és aktív pumpafunkcióinak tulajdonítható. Így a citoszkeletális polimerek és irányultságuk tanulmányozására elsősorban plazmidokat alkalmaztunk.

Plazmidok, transzformálás, géncsendesítés és elektroporáció

Az endogén aktin vizsgálatához LifeAct RFP és GFP, a mikrotubuluséhoz mTagRFP-T-Tubulin-6 (<http://n2t.net/addgene:58026>) és EGFP-Tubulin-6 (<http://n2t.net/addgene:56450>) [63] plazmidokat alkalmaztunk. Kontrollként pmax-GFP vektort használtunk.

A CD86 immunkostimulátor fehérje vizsgálatára pCMV6-AC-GFP plazmidot, míg kontrollként pCMV6-AC-GFP inszert nélküli vektort használtunk.

A plazmidokat kémiai transzformálás során juttattuk be a kémiai kompetens TOP10 *E. coli* sejtekbe. A transzformált sejteket Luria Broth médiumban szaporítottuk, és a megfelelő antibiotikum tartalmú agarra való szélesztést követően, a kinőtt rezisztens telepek felszaporítása után nyertük ki a DNS-t a tenyészetből NucleoSpin plazmid EasyPure kit használatával. A tisztított plazmidok koncentrációját Nanodrop One C spektrofotométerrel mértük meg.

A kinezin (KIF5B) és miozin VI mitokondriális transzportban betöltött szerepének tanulmányozására fluoreszcensen konjugáltatott kisméretű interferáló RNS (siRNS) molekulákat terveztünk. A vizsgálatainkhoz a következő szekvenciákat alkalmaztuk (QIAGEN): KIF5B siRNS#3 – célszekvencia: 5'-CAGCAAGAAGTAGACCGGATA-3', KIF5B siRNS#4 – célszekvencia: 5'-AACACGAGCTCACGGTTATGC-3', MYO VI siRNS#3 – célszekvencia: 5'-CAAGTTCAAGACACAATTA-3' és MYO VI siRNS#4 – célszekvencia: 5'-CAGCAGGAGATTGACATGAAA-3'. Az A20 sejtvonal alacsony transzfekciós hatékonysága következtében a szekvenciák 3' végéhez AF 488 fluorofórt konjugáltattunk a tervezés során. Negatív, pozitív és mock kontroll kísérleteinkhez All Stars Negatív siRNS-t (QIAGEN), Mm/Rn sejthalált kiváltó siRNS-t (QIAGEN), illetve PBS-t alkalmaztunk.

A plazmidok és siRNS-ek bejuttatása elektroporációval történt (Amaxa Nucleofector 2b, ill. 4D készülékek segítségével). A mikroszkópos vizualizáció az elektroporációt követően 24 (plazmidok), ill. 72 (siRNS-ek) óra elteltével valósult meg, heterokultúrák esetén a különböző plazmidokkal elektroporált sejtek 1:1 arányú keverékét használtuk.

Mikroszkópia

A mikroszkópos vizualizációhoz minden esetben boroszilikát aljú, 0,17 mm vastagságú, FN-nel bevont Petri-csészéket használtunk. A sejtorganellumok mozgását, illetve az NT-k biogenezisét élősejtes körülmények között vizsgáltuk (37 °C, 5% CO₂). A mitokondriális transzportot és az NT-k növekedését Zeiss lézer pásztázó konfokális mikroszkóppal (LSM-710) követtük nyomon. A felvételek 63× nagyítású olajimmerziós objektív lencsével készültek (NA.: 1,4), 1 Airy unit alkalmazásával. Az NT-k morfológiai változásait a Zeiss Elyra S1 SIM

mikroszkóp widefield módjában vizsgáltuk, 40× objektív nagyítás mellett (NA.: 0,75), a motorfehérjéket és a vezikuláris transzportot SR-SIM mikroszkóppal vizsgáltuk, 63× objektív nagyítás (olajimmerziós lencse, NA.:1,4) és 5 rácsforgás mellett. A mikroszkópos vizualizáció során optikai szeletelést („optical slicing”, Z-stack) használtunk, LSM-nél 0,67 µm, SIM-nél 0,80 µm lépésközzel. A transzportfolyamatok vizsgálatakor a sejtorganellumok mozgását 40 cikluson keresztül követtük, az egyes ciklusok között 8 másodperces időintervallumot alkalmaztunk. Az NT-k kialakulását és a citoskeletális filamentumok irányultságának vizsgálatát 6-12 órán keresztül monitoroztuk, 5, illetve 10 perces időközönként. Az aktin és mikrotubulus egymáshoz viszonyított helyzetének vizsgálatára STEDYCON mikroszkópot használtunk (100× olajimmerziós objektív, NA.: 1,45).

Statisztikai analízis

A mikroszkópos képanalízist Fiji, Imaris 8.2, Zen Black 2.1 SP3, illetve Zen Blue 2.3 szoftverekkel végeztük. Az NT-kben található mobilis vezikulumok arányát a *mobilis vezikulumok aránya (%)* = $\frac{NT\text{-ben lévő mozgó vezikulumok száma}}{NT\text{-ben található összes vezikulum száma}} * 100$ képlettel számoltuk. A dekonvolúcióhoz constrained iterative algoritmust használtunk. Az NT-k átmérőjének és hosszának meghatározása a korábban publikáltak szerint történt [64]. A sejtek cirkularitását az $f_{\text{circ}} = \frac{4\pi A}{P^2}$ képlet segítségével határoztuk meg (ahol A: sejtek területe, P: sejtek kerülete). Méréseinket triplikátumban végeztük.

A statisztikai elemzéseket Origin 2020 és IBM SPSS v26 szoftverekkel végeztük. Az adatok normál eloszlásának meghatározásához Kolmogorov-Smirnov tesztet alkalmaztunk. Normál eloszlás esetén ANOVA-tesztet, a normál eloszlástól eltérő eloszlást mutató adatoknál Kruskal-Wallis alkalmazásával post-hoc tesztekkel végeztünk a kezelt és kontroll minták összehasonlítására. Normál eloszlásnál a teszt megerősítésére és a másodfajú hiba megállapítására Student-féle T-próbát, a Kruskal-Wallis után pedig Mann-Whitney féle U-próbát alkalmaztunk a Kruskal-Wallis analízis által javasolt szignifikancia értékek megerősítésére. A szignifikancia szintet $p < 0,05$ -nél határoztuk meg.

EREDMÉNYEK

B-limfóma sejtek közötti vezikuláris transzport

A B-sejtek NT kialakító képessége szorosan összefügg sejtmembránjuk lipid összetételével, különösen a GM1/GM3 gangliozid tartalommal. Az éretlen B-sejtek membránja gangliozidokban rendkívül szegény, így NT-t nem alakítanak ki egymás között, szemben a lipid tutajokban gazdag érett B-sejtekkel [62]. A *Vibrio cholerae* baktériumból izolált CTX-B a GM1/GM3 gangliozidokban, illetve lipidraftokban gazdag membránokhoz képes hozzákötődni. A CTX-B-vel való kezeléssel egy olyan mindennapos *in vivo* eseményt modelleztünk, mint a bakteriális toxinok B-sejtekkel való kölcsönhatása. A fluoreszcensen konjugált CTX-B a sejtmembránban található gangliozidokhoz való kötődést követően internalizálódott a sejtek citoplazmájába, és hatására az érett B-limfóma (A20) sejtek 100-1000 nm átmérőjű mikrovezikulumokat alakítottak ki, amelyek a CTX-B hozzáadását követő 2. perctől váltak láthatóvá, és számuk 30-40 perc elteltével szaturálódott. (Éretlen B-sejteknél (38C13) nem tapasztaltunk ilyen hatást.) A kialakult vezikulumok a B-limfóma sejtek közötti NT-kben mind egy-, mind kétirányban közlekedtek, sőt olykor ki is cserélődtek az NT-vel összekötött sejtek között. A mobilis vezikulumok sebessége meglehetősen heterogénnek bizonyult (*I. táblázat*), mozgásuk nem feltétlenül volt folytonos, hanem abban olykor aktívnak és passzívnak tűnő szakaszok váltakoztak. Ezt a jelenséget a transzportfolyamatokban gyakran azonosított motorfehérjékre szelektív és specifikus inhibitorok alkalmazásával végzett kísérleteinek alapján elsősorban az aktin függő miozin II motorfehérje mediálja, amelynek gátlása nemcsak a transzport sebességének szignifikáns csökkenését idézte elő, de a vezikulumok mozgási mintázata is megváltozott. Ugyanakkor a kinezin, a miozin V és VI gátlása ellentétes hatást váltott ki, és a mozgási sebesség jelentős növekedését okozta (*I. táblázat*), utalva arra, hogy ezek a fehérjék is szerepet játszhatnak a vezikulumok NT-ken keresztüli szállításában. Transzportgátlásos kísérleteink eredményeit kolokalizációs vizsgálatainak is megerősítették, pozíciós kapcsolatot mutatva a vezikulumok és a miozin II, valamint olykor a kinezin, miozin V és VI között.

B-limfóma sejtek közötti mitokondriális transzport

A vezikuláris transzport mellett intenzív egy- és kétirányú mitokondriális transzportot is megfigyeltünk a B-limfóma sejtek között, amely még kevésbé tűnt szabályosnak, a folyamat egyértelműen elkülönülő aktív és inaktív fázisok váltakozásából tevődött össze, ahol az aktív fázisban a mitokondriumok ugrásszerűen elmozdultak, az inaktív fázis során pedig egyhelyben álltak, átlagos sebességük jelentősen eltért a vezikulumok esetében megfigyelt értékektől (*I.*

táblázat). Feltételeztük, hogy a mitokondrium transzport hátterében egy komplexebb folyamat áll. Ezt – a vezikuláris transzport vizsgálatához hasonlóan – az egyes motorfehérjékre specifikus inhibitorok alkalmazásával vizsgáltuk meg. Eredményeink alapján a kinezin és a miozin VI fehérjék csökkentették szignifikánsan a mitokondriumok mozgási sebességét, és általuk az NT-kben megtett utat, illetve hatásukra az organellek mozgási mintázata is megváltozott. Ugyanakkor a dinein, a miozin II és V gátlása a mitokondriális transzport sebességének jelentős növekedését vonta maga után (1. táblázat), és az organellek mozgási trajektóriái egyenletesebb transzportra utaltak. A kinezin és a miozin VI mitokondriális transzportban betöltött szerepét géncsendesítéssel is bizonyítottuk, mindkét motorfehérje expressziójának csökkenése lelassította a mitokondriumok mozgását (2. táblázat).

Kezelés és alkalmazott koncentrációk	Célfehérje	Mobilis vezikulumok aránya (%)	Vezikuláris transzport sebessége (nm/sec) és mintaelemszám (db)	Mitokondriális transzport sebessége (nm/sec) és mintaelemszám (db)
-	-	83 ± 24,27	15,00 ± 8,57 69	28,16 ± 11,42 40
<i>mikrotubulus alapú motorfehérjék gátlása</i>				
Nocodazol 10 és 20 µM	mikrotubulus	82 ± 26,06	25,52 ± 18,42 *↑ 53	21,06 ± 7,65 *↓ 40
Ciliobrevin-D 20 µM	dinein	73 ± 36,03	15,73 ± 9,58 64	33,51 ± 18,42 ↑ 38
Ispinesib 15 µM	kinezin	76 ± 31,42	30,15 ± 18,26 *↑ 60	20,86 ± 12,89 *↓ 40
<i>aktin alapú motorfehérjék gátlása</i>				
paraNitro- blebbistatin 40 és 20 µM	miozin II	13 ± 20,12 *↓	5,52 ± 4,24 *↓ 67	31,89 ± 12,43 ↑ 40
Myo Vin-1 30 µM	miozin V	84 ± 19,71	42,40 ± 24,03 *↑ 60	33,63 ± 22,28 ↑ 38
TIP 30 µM	miozin VI	66 ± 23,16	31,73 ± 15,28 *↑ 63	23,19 ± 14,17 *↓ 38
Ispinesib-TIP 15 µM-30 µM	kinezin- miozin VI	-	-	12,93 ± 4,82 *↓ 46

1. táblázat. Transzportgátlásos kísérleteink eredményeinek összefoglaló táblázata

A szignifikancia szintet (*) $p < 0,05$ -nél határoztuk meg, *↓: a szignifikáns csökkenést, *↑: a szignifikáns növekedést, ↑: a kismértékű növekedést mutatják az egyes kezeléseknél a kontrollhoz képest. A táblázatban az átlag ± SD értékeket tüntettük fel. A táblázatban szereplő TIP a 2,4,6-triiodophenol rövidítése.

siRNS	Célfehérje	Mitokondriális transzport sebessége (nm/sec)	Mintaelemszám (db)
-	-	36,27 ± 20,59	40
KIF5B siRNS#3	kinezin 5B	23,58 ± 12,62 *↓	40
KIF5B siRNS#4	kinezin 5B	17,11 ± 6,62 *↓	40
MYO VI siRNS#3	miozin VI	23,57 ± 13,47 *↓	40
MYO VI siRNS#4	miozin VI	18,21 ± 8,15 *↓	40

2. táblázat. Összefoglaló táblázat a kinezin és a miozin VI csendesítésének mitokondriális transzportsebességre gyakorolt hatásáról

A szignifikancia szintet () $p < 0,05$ -nél határoztuk meg, *↓: a szignifikáns csökkenést mutatja a kontrollhoz képest a különböző célszekvenciák használata mellett. A táblázatban az átlag ± SD értékeket tüntettük fel.*

CD86 immunkostimulátor fehérje NT-n keresztüli transzportja különböző APC-k esetén

A sejtalkotók transzportjának tanulmányozása mellett kíváncsiak voltunk arra is, hogy az immunsejtek között létrejövő NT-k képesek-e kostimulációs fehérjék szállítására és sejtek közötti átadására, ugyanis azok az immunválasz kialakulásában, illetve annak elősegítésében fontos szerepet játszanak. A kostimuláció során az APC-k felszínén kifejeződő különböző kostimulátor fehérjék (CD86/B7-2 és a CD80/B7-1) a T-sejt receptorához kapcsolódva közvetítik az antigént a T-sejtek számára. A kostimulációs fehérjék expressziós szintje a különböző APC-k között eltérő [65,66], makrofágokban alacsonyabb, mint B-sejtekben [65], és aktuális szintjük az APC-k membránjában alapvetően meghatározza ezen sejtek helper vagy citotoxikus T-sejtek aktiválásának képességét és így a későbbi immunválasz hatékonyságát. Megállapítottuk, hogy a B-limfóma sejtekben az endogén és az exogén CD86 megjelenési mintázata eltérő: az endogén fehérje homogén eloszlást mutatott a citoplazmában, az exogén főként a sejtmembránban lokalizálódott. Ezzel szemben makrofágoknál az endogén és exogén CD86 kolokalizált egymással, és megjelenésük a sejtek membránjához volt köthető. Ez a megfigyelés nem meglepő, hiszen a CD86 molekulák endoplazmatikus retikulumban történő szintézisük után vezikulumokba csomagolva szállítódnak a citoplazmából a sejtmembránba, továbbá, makrofágokban a CD86 expressziója lényegesen alacsonyabb. Bár videófelvételeink alapján a CD86 transzportja mindkét sejtípus NT-iben megfigyelhető volt, eltérő mintázatot mutatott. Amíg B-limfóma sejteknél a CD86 molekulák mozgása az NT-k membránjában zajlott, addig a makrofágok egy részében főleg nagyméretű, megnyúlt struktúrák formájában szállították az NT-k lumenében. Bizonyos esetekben az exogén CD86 mikrovezikulumokra emlékeztető megjelenést mutatott a makrofágok citoplazmájában. Eredményeink alapján a CD86 molekulák nem kaveolákban vagy GM1/GM3 tartalmú vezikulumokban szállítódnak az NT-ken keresztül.

B-limfóma sejtek közötti NT-k citoskeletális elemeinek vizsgálata

A mikrotubulus polimerizáció gátlásakor az NT-k morfológiailag megváltoztak. A nocodazol magas koncentrációban alkalmazva (20 μM) ezek a változások hirtelen következtek be, a csövek 27%-a már a kezelés kezdeti szakaszában elszakadt, megnehezítve a mikroszkópos vizualizációt. A gátlószer koncentrációját felére csökkentve (10 μM) az NT-k jóval nagyobb arányban maradtak épek (12,5%-uk szakadt el). A nocodazol hatására bekövetkező mikrotubulus depolimerizációnak, fragmentációnak a hatására az NT-k átmérője már a kezelés 5. percénél szignifikánsan csökkent, kb. 20 perc után a csövek vastagsága már nem változott számottevően. A kezelés nem volt hatással sem az NT-k hosszára, sem a sejtek ellipticitására. Eredményeink alapján a kizárólag aktint tartalmazó, vékony NT-k rövidebb élettartamúak, 20-30 perc elteltével szétesnek, elszakadnak. Ezzel szemben a vastagabb, mikrotubulust is tartalmazók órákon át fennmaradhatnak, ugyanakkor lassabban alakulnak ki, ill. ezekben az NT-kben a mikrotubulusok már az NT kialakulás kezdetén megjelennek. Megállapítható, hogy a B-limfóma sejtek NT-i a bennük található citoskeletális filamentum rendszerek mintázata alapján is sokfélék. Az NT-k egy csoportja csak a csövet kialakító sejtek egyikének aktin hálózatát tartalmazza, míg másik csoportjukban mindkét – a csöképzésben szerepet játszó – sejt aktin hálózata megfigyelhető, amelyek olykor teljesen elkülönülnek egymástól, de akár részlegesen át is fedhetnek egymással. Az aktinhoz hasonlóan a mikrotubulusoknál is különböző növekedési mintázatokat és irányultságokat figyeltünk meg. Az NT-k egy részében a mikrotubulusok csak a csövet létrehozó sejtek egyikéből származnak, de olykor nem találhatóak meg a csövek teljes hosszában. Ezen nyúlványokba a távolodó sejt mikrotubulusai nőnek bele. Bizonyos esetekben a mikrotubulusok mindkét sejtől származhatnak és az NT-k teljes hosszában megtalálhatóak, egymással átfednek.

Eredményeink rövid összefoglalása

A B-limfóma sejtek NT-iben az aktin közvetlenül a sejtmembrán alatt fut és a csövek vázát adja. A mikrotubulusok az NT-k centrális részén találhatóak, és többnyire párhuzamos lefutásúak (mert nagy perzisztencia hosszuk következtében érzékenyek a sejtek geometriájára, ahhoz axiálisan igazodnak, amely a filamentumok egyenes szerkezeti elemek mentén történő elrendeződéséhez vezet [67]), ritkán megcsavarodnak. Az NT-k citoskeletális összetétele mindkét, az NT kialakításában szerepet játszó sejt részvételével kialakulhat, az eltérő sejtekből származó citoskeletális filamentumok akár részlegesen át is fedhetnek az NT-ben. A B-limfóma sejtek nanocsöveiben végbemenő transzportfolyamatokat aktin és mikrotubulus által közvetített mechanizmusok egyaránt elősegíthetik. A miozin II az aktin plusz vége felé szállítja

a mikrovezikulumokat, amelynek kétirányban történő szállításáért nagy valószínűséggel az átfedő aktin hálózatok felelősek. Azt gondoljuk, hogy a mikrovezikulumok más motorfehérjékhez (pl. a dineinhez, a kinezinhez, a miozin V-höz és VI-hoz) is egyidejűleg kapcsolódhatnak mozgásuk inaktív fázisában. A mitokondriumok mozgása két motorfehérje segítségével valósul meg: a kinezin a mitokondriumokat a mikrotubulusok plusz vége felé, a miozin VI az aktin filamentumok mentén az ellenkező (mínusz) irányban szállítja. A mitokondriumok mozgása erősen szabálytalan; „ugrásszerű” (aktív, mozgó) és inaktív (álló) fázisok váltakozása jellemzi. Azt feltételezzük, hogy az inaktív fázisért a dinein, a miozin II és a miozin V motorfehérjék felelősek, amikor a mitokondriumokat rögzítik vagy dokkolják az NT-k citoskeletális filamentumainak mentén. A mitokondrium a transzport inaktív, nyugalmi fázisában a szállításért felelős motorfehérjékhez és a megfelelő dokkoló motorfehérjékhez is köt, így valamely filamentum mentén kötött állapotban marad. A B-limfóma sejteknél a CD86 transzportja a membrán felszínéhez kötött.

DISZKUSSZIÓ

Kutatócsoportunk körülbelül 7 éve foglalkozik az immunsejtek közötti NT-k tanulmányozásával. Dolgozatomban arra kerestem a választ, hogy az érett B-limfóma sejtek NT-i hozzájárulhatnak-e az immunválasz hatékonyabbá tételéhez, valóban funkcionális nyúlványok-e, ezek mellett a korábbi eredmények alapján gyakoribbnak tűnő vezikuláris és mitokondriális transzportot kívántuk jellemezni, illetve az ezek háttérében álló molekuláris folyamatokat feltárni.

Kimutattuk, hogy a vezikulumok és a mitokondriumok NT-n belüli transzportját a citoskeleton fehérjéi irányítják. Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy a transzportfolyamatok irányításának háttérében több jelenség is állhat. Például az inhibitor hozzáadását követően kialakuló stresszválasz, ahol a sejtek egymás megsegítésére intenzívebb transzportfolyamatokkal válaszolnak. Azonban a megfigyelt eredmények egy komplex szabályozási rendszert is valószínűsíthetnek, amelyben a sejtorganellumokat egy adott motorfehérje egy citoskeletonális filamentumhoz rögzíti, vagyis dokkolja, hozzájárulva annak szabálytalan mozgásához. Ha a dokkolást megvalósító motorfehérjék aktivitását blokkoljuk, működésük zavart szenved, ami megakadályozza, hogy a sejtorganellumot a citoskeletonhoz rögzítsék. Így a sejtalkotók felszabadulnak a kötött állapotból, ami a transzportsebesség növekedését és a mozgási mintázat megváltozását okozza, a transzportált organelum egyenletesebb mozgását eredményezve [68]. A neuronoknál leírt hasonló dokkolási jelenségek például hozzájárulhatnak a hosszú axonok mentén a mitokondriumok megfelelő eloszlásához, ami biztosíthatja nagy energiafogyasztású axonális területek helyi energiaellátást [46,68–70]. A kísérleti eredmények alapján úgy gondoljuk, hogy a mikrovezikuláris transzportban a kinezin, a dinein, a miozin V és VI, a mitokondriális transzportban pedig a miozin II, V és a dinein tölthet be dokkoló szerepet, amely a transzport egyenletlenségének, az aktív és inaktív fázisok váltakozásának az oka. A transzportfolyamatok háttérének megértését tovább bonyolítja, hogy mind az aktin, mind a mikrotubulus alapú motorfehérjék képesek ugyanahhoz a sejtalkotóhoz kötődni, így a szállítás során átkapcsolás történhet két különböző filamentális rendszer motorfehérjéi között [68], hozzájárulva a sejtalkotó egyenetlen mozgásához. Ráadásul elektrosztatikus kölcsönhatások következtében mikrotubulus alapú motorok aktinhoz, miozinok pedig mikrotubulusokhoz is kapcsolódhatnak, legalábbis *in vitro* a kinezin és a miozin V esetében [71], ami tovább árnyalja az organelum transzport folyamatának komplexitását, és egyben hozzájárul a sejtalkotók effektív szállítódásához.

Az NT-ken keresztüli transzportfolyamatok lehetővé teszik a sejtek összehangolt működését és egymás közötti gyors kommunikációját. Az NT-k által összekötött sejtek képesek

tudomást szerezni egymás energiaállapotáról, a fellépő energiahiányt pedig mitokondriumok NT-ken keresztül történő átadásával képesek ellensúlyozni. A mitokondriumok az összes immunsejt számára nélkülözhetetlen energiatermelő sejt szervecskék, működésük során különböző reaktív oxigén származékok (ROS) keletkeznek, amelyek éberren tartják az immunsejteket, befolyásolják differenciálódásukat, proliferációjukat, a regenerációt, vagy a B-sejtek sorsát, túlélését, ráadásul fokozzák az adaptív immunválasz aktiválását és a B-sejtek antitest termelési képességét is [72–74]. A B-sejtek között NT-k közvetítésével megvalósuló mitokondrium transzport így megmentheti a sejteket a sejthaláltól, hatást gyakorolva a B-sejtek homeosztázisára. A mitokondriumok tehát nemcsak az immunsejtek megfelelő energiaellátásához nélkülözhetetlenek, de immunválaszokat is indukálhatnak [73].

A sejt váz elemek nélkülözhetetlenek az NT-k kialakulásában, funkciójában, de mechanikailag stabilabb struktúrák létrejöttét is eredményezhetik [8,9,11,20]. Az NT-k kialakulásához elengedhetetlen citoszkeletális polimer az aktin [9], amelynek heterogén elrendeződése lehetővé teszi a kétirányú mikrovezikuláris transzportot, és valószínűsíthetően hozzájárul az NT-k rugalmasságához [75]. Bár az NT-k kialakulásához nincs szükség mikrotubulusokra [9], jelenlegi eredményeink alapján elengedhetetlenek a B-limfóma sejtek NT-inek funkcionálásához (pl. mitokondriumok szállításán keresztül), és növelik az NT-k stabilitását, biztosítva azok hosszabb élettartamát. Ismert, hogy a mikrotubulus tartalmú NT-k intenzívebb transzportfolyamatokat bonyolíthatnak le, amelynek egyik feltételezett oka, hogy a mikrotubulusok három nagyságrenddel merevebb struktúrák az aktinnál [76], továbbá jelentős perzisztencia hosszal rendelkeznek, ami lehetővé teszi alakjuk és anizotrópiájuk megtartását [67], és ez az oka annak is, hogy a mikrotubulus tartalmú NT-k hosszabb élettartamúak, mint a csak aktint tartalmazók [77]. Az axonok (amelyek megjelenésüket tekintve hasonlítanak az NT-khez) mentén fellépő erő elősegíti a mikrotubulusok stabilizálását, így csökkenti a mikrotubuláris hálózat átszerveződését, és megkönnyíti a mikrotubulusok felhalmozódását, ill. az általuk közvetített transzportfolyamatokat [29,78]. A T-sejtek által kialakított NT-k pl. nem tartalmaznak mikrotubulusokat, és intenzív transzport folyamatok sem figyelhetők meg bennük [40]. Ráadásul a mikrotubulusok plusz vége feszülés hatására megnyúlhat, ezzel csökkentve a mikrotubulusok depolimerizációs sebességét, így hozzájárulva az NT-k mechanikai stabilitásának növekedéséhez [79,80]. Bár eredményeink alapján a citoszkeleton egyfajta szerkezeti támaszként biztosítja az NT-k stabilitását és megfelelő működését, szélesebb körű vizsgálatok szükségesek az NT-k mechanikai és elasztikus tulajdonságainak pontos megértéséhez.

A B-sejtek – amelyek önmaguk is képesek antigéneket prezentálni – antitesteket termelnek, és szorosan együttműködnek a veleszületett immunrendszer sejtjeivel, valamint más hivatásos APC-vel és a T-sejtekkel. A kostimuláció során az APC-k különböző kostimulátor fehérjék részvételével képesek az antigéneket közvetíteni a T-sejteknek, miközben maguk is aktiválódnak. Eredményeink alapján a makrofágok és a B-limfóma sejtek NT-i kostimulátor fehérjéket, pl. CD86-ot képesek hatékonyan szállítani. Ez egy új immunmodulátor útvonal meglétét valószínűsíti, ami az immunszabályozó molekulák sejtek közötti közvetlen átadását teszi lehetővé, hozzájárulva egy hatékonyabb T-sejt aktiváció és immunválasz kialakulásához a különböző testidegen anyagokkal szemben.

KONKLÚZIÓ ÉS ÚJ EREDMÉNYEK BEMUTATÁSA

Eredményeink hozzájárulhatnak az NT-k funkcionális jelentőségének megértéséhez, elősegítve azokat a törekvéseket, amelyek az NT-k későbbi terápiás alkalmazását vetítik előre. Vizsgálataink úttörőek a hazai és a nemzetközi NT kutatások terén. Főbb eredményeink a célkitűzések tükrében az alábbiak:

1. Megállapítottuk, hogy a B-limfóma sejtek közti NT-k valóban aktív kommunikációs csatornák, és fontos szerepet tölthetnek be mikrovezikulumok, mitokondriumok, valamint a CD86 kostimulátor membránfehérje szállításán keresztül egyes immunfolyamatok szabályozásában.
2. Bizonyítottuk, hogy a B-limfóma sejtek nanocsöveiben az aktin filamentumok közvetlenül a sejtmembrán alatt futnak és biztosítják az NT-k vázát.
3. Megállapítottuk, hogy a mikrotubulusok az NT-k lumenében, azok centrális részén találhatóak, többnyire párhuzamos lefutásúak, de olykor meg is csavarodhatnak. Növelhetik az NT-k stabilitását és életidejét.
4. Feltártuk, hogy az NT-k citoszkeletális összetétele mindkét, az NT kialakításában szerepet játszó sejt részvételével kialakulhat, és az eltérő sejtekből származó filamentumok részben akár át is fedhetnek az NT-ben. Következésképpen a citoszkeletális filamentum rendszerek elrendeződése hozzájárul az NT-kben megfigyelt kétirányú transzportfolyamatokhoz. A B-limfóma sejtek nanocsöveiben zajló transzportfolyamatokat aktin és mikrotubulus által közvetített mechanizmusok egyaránt elősegíthetik.
5. Bakteriális toxin sejt felszíni kötődésének hatására a B-limfóma sejtek intenzív vezikulum formálással reagálnak. Ezek a plazmamembránból fűződnek le, és képesek NT-ken keresztül akár kétirányban is szállítódni, így az NT-vel összekötött sejtek közötti kicserélődésük is lehetséges. A mikrovezikulumok NT-ken keresztül a miozin II motorfehérje segítségével, aktinhoz kötötten szállítódnak.
6. Mikroszkópos vizsgálataink során bizonyítottuk, hogy B-limfóma sejtekben a mitokondriumok mozgása két motorfehérje, a kinezin és a miozin VI segítségével valósul meg. Ezzel elsőként kötöttük össze a mikrotubulus hálózat szerepét a B-limfóma NT-k funkciójával. Tudomásunk szerint mi vizsgáltuk kiterjedten először a nanocsöveken belüli mitokondriális transzportot szabályozó potenciális motorfehérjéket. Megállapítottuk továbbá, hogy a mitokondriumok NT-kben való mozgása nem folytonos, hanem aktív (mozgó) és inaktív (álló) fázisok váltakozása

jellemzi. Ez a mechanizmus nagyon hasonló az axonokban megvalósuló mitokondrium szállítás természetéhez. Ezt a párhuzamot elsőként írtuk le.

7. Bizonyítottuk, hogy mind a makrofágok, mind a B-limfóma sejtek NT-ken keresztül immunkostimulátor (CD86) membránfehérjéket szállítanak. A molekula lokalizációja azonban eltér a két sejtípus között: makrofágoknál transzportja az NT belsejében, B-limfóma sejteknél a plazmamembránban történik.

KÖSZÖNETLNYILVÁNYÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik nélkül ez a munka nem valósulhatott volna meg.

Külön köszönettel tartozom kiváló témavezetőmnek **Dr. Szabó-Meleg Edinának**, hasznos szakmai és gyakorlati tanácsaiért, példamutatásáért, mindennapi tanácsaiért és a támogató légkörért melyet mindvégig biztosított számomra PhD tanulmányom során.

Köszönettel tartozom a PTE ÁOK Biofizikai Intézet korábbi és jelenlegi igazgatóinak **Prof. Dr. Nyitrai Miklósnak** és **Dr. Lukács Andrásnak**.

Köszönettel tartozom kollaborációs partnerünknek, az ELTE Immunológiai Tanszékéről **Prof. Dr. Matkó Jánosnak** szakmai segítségéért és hasznos tanácsaiért.

Köszönettel tartozom a Biofizikai Intézet valamennyi munkatársának, különösképpen **Tárnai Viktóriának**, **Garajszkyné Papp Erzsébetnek** „Zsókének”, **Hoffmanné Simon Évának** és **Brunner Jánosnének** „Ilikének”.

Köszönettel tartozom **Dr. Juhász Katának**, a PTE ÁOK Biokémia és Orvosi Kémiai intézet munkatársának, a Nucleofector elektroporációs műszer használatának lehetőségéért.

Köszönet az **Ábrahám István Nano-Bioimaging Központnak** és az **SZKK Szövettan és Fénymikroszkópia** core facilitásoknak a mikroszkópok használatának lehetőségéért.

Nem utolsó sorban köszönettel tartozom **szüleimnek**, **testvéremnek**, **családom minden tagjának** és **páromnak**, **Schwarcz Attilának**, hogy mindvégig támogattak, biztattak és kitartottak mellettem tanulmányaim során.

Jelen munka a GINOP-2.3.2-15-2016-00036 számú pályázat, az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21-3-II kódszámú Új nemzeti kiválóság programjának a Nemzeti kutatási, fejlesztési és innovációs alapból finanszírozott szakmai (H.H) és a Szolcsányi János kutatási alap (Sz-M.E) támogatásával készült.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Farquhar, M.G.; Palade, G.E. JUNCTIONAL COMPLEXES IN VARIOUS EPITHELIA. *J Cell Biol* **1963**, *17*, 375–412, doi:10.1083/jcb.17.2.375.
2. Wiener, J.; Spiro, D.; Loewenstein, W.R. STUDIES ON AN EPITHELIAL (GLAND) CELL JUNCTION. *J Cell Biol* **1964**, *22*, 587–598, doi:10.1083/jcb.22.3.587.
3. Scheifféle, P. CELL-CELL SIGNALING DURING SYNAPSE FORMATION IN THE CNS. *Annu Rev Neurosci* **2003**, *26*, 485–508, doi:10.1146/annurev.neuro.26.043002.094940.
4. Lucas, W.J.; Lee, J.-Y. Plasmodesmata as a Supracellular Control Network in Plants. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2004**, *5*, 712–726, doi:10.1038/nrm1470.
5. Théry, C.; Ostrowski, M.; Segura, E. Membrane Vesicles as Conveyors of Immune Responses. *Nat Rev Immunol* **2009**, *9*, 581–593, doi:10.1038/nri2567.
6. Tricarico, C.; Clancy, J.; D’Souza-Schorey, C. Biology and Biogenesis of Shed Microvesicles. *Small GTPases* **2017**, *8*, 220–232, doi:10.1080/21541248.2016.1215283.
7. Mattila, P.K.; Lappalainen, P. Filopodia: Molecular Architecture and Cellular Functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2008**, *9*, 446–454, doi:10.1038/nrm2406.
8. Rustom, A.; Saffrich, R.; Markovic, I.; Walther, P.; Gerdes, H.-H. Nanotubular Highways for Intercellular Organelle Transport. *Science (1979)* **2004**, *303*, 1007–1010, doi:10.1126/science.1093133.
9. Osteikoetxea-Molnár, A.; Szabó-Meleg, E.; Tóth, E.A.; Oszvald, Á.; Izsépi, E.; Kremlitzka, M.; Biri, B.; Nyitray, L.; Bozó, T.; Németh, P.; et al. The Growth Determinants and Transport Properties of Tunneling Nanotube Networks between B Lymphocytes. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2016**, *73*, 4531–4545, doi:10.1007/s00018-016-2233-y.
10. Wang, Y.; Cui, J.; Sun, X.; Zhang, Y. Tunneling-Nanotube Development in Astrocytes Depends on P53 Activation. *Cell Death Differ* **2011**, *18*, 732–742, doi:10.1038/cdd.2010.147.
11. Önfelt, B.; Nedvetzki, S.; Benninger, R.K.P.; Purbhoo, M.A.; Sowinski, S.; Hume, A.N.; Seabra, M.C.; Neil, M.A.A.; French, P.M.W.; Davis, D.M. Structurally Distinct Membrane Nanotubes between Human Macrophages Support Long-Distance Vesicular Traffic or Surfing of Bacteria. *The Journal of Immunology* **2006**, *177*, 8476–8483, doi:10.4049/jimmunol.177.12.8476.
12. Halász, H.; Szatmári, Z.; Kovács, K.; Koppán, M.; Papp, S.; Szabó-Meleg, E.; Szatmári, D. Changes of Ex Vivo Cervical Epithelial Cells Due to Electroporation with JMY. *Int J Mol Sci* **2023**, *24*, 16863, doi:10.3390/ijms242316863.
13. Sükösd, A.K.; Szabadfi, K.; Szabó-Meleg, E.; Gáspár, B.; Stodulka, P.; Jr Sétáló, G.; Gábel, R.; Nyitrai, M.; Biró, Z.; Ábrahám, H. Surgical Stress and Cytoskeletal Changes in Lens Epithelial Cells Following Manual and Femtosecond Laser-Assisted Capsulotomy. *Int J Ophthalmol* **2020**, *13*, 927–934, doi:10.18240/ijo.2020.06.11.
14. Chinnery, H.R.; Pearlman, E.; McMenamin, P.G. Cutting Edge: Membrane Nanotubes In Vivo: A Feature of MHC Class II+ Cells in the Mouse Cornea. *The Journal of Immunology* **2008**, *180*, 5779–5783, doi:10.4049/jimmunol.180.9.5779.
15. Caneparo, L.; Pantazis, P.; Dempsey, W.; Fraser, S.E. Intercellular Bridges in Vertebrate Gastrulation. *PLoS One* **2011**, *6*, e20230, doi:10.1371/journal.pone.0020230.
16. Kalargyrou, A.A.; Basche, M.; Hare, A.; West, E.L.; Smith, A.J.; Ali, R.R.; Pearson, R.A. Nanotube-like Processes Facilitate Material Transfer between Photoreceptors. *EMBO Rep* **2021**, *22*, doi:10.15252/embr.202153732.
17. Marguet, E.; Gaudin, M.; Gaudiard, E.; Fourquaux, I.; le Blond du Plouy, S.; Matsui, I.; Forterre, P. Membrane Vesicles, Nanopods and/or Nanotubes Produced by Hyperthermophilic Archaea of the Genus *Thermococcus*. *Biochem Soc Trans* **2013**, *41*, 436–442, doi:10.1042/BST20120293.
18. Pande, S.; Shitut, S.; Freund, L.; Westermann, M.; Bertels, F.; Colesie, C.; Bischofs, I.B.; Kost, C. Metabolic Cross-Feeding via Intercellular Nanotubes among Bacteria. *Nat Commun* **2015**, *6*, 6238, doi:10.1038/ncomms7238.

19. Dubey, G.P.; Malli Mohan, G.B.; Dubrovsky, A.; Amen, T.; Tsipshtein, S.; Rouvinski, A.; Rosenberg, A.; Kaganovich, D.; Sherman, E.; Medalia, O.; et al. Architecture and Characteristics of Bacterial Nanotubes. *Dev Cell* **2016**, *36*, 453–461, doi:10.1016/j.devcel.2016.01.013.
20. Veranič, P.; Lokar, M.; Schütz, G.J.; Weghuber, J.; Wieser, S.; Hägerstrand, H.; Kralj-Iglič, V.; Iglič, A. Different Types of Cell-to-Cell Connections Mediated by Nanotubular Structures. *Biophys J* **2008**, *95*, 4416–4425, doi:10.1529/biophysj.108.131375.
21. Resnik, N.; Erman, A.; Veranič, P.; Kreft, M.E. Triple Labelling of Actin Filaments, Intermediate Filaments and Microtubules for Broad Application in Cell Biology: Uncovering the Cytoskeletal Composition in Tunneling Nanotubes. *Histochem Cell Biol* **2019**, *152*, 311–317, doi:10.1007/s00418-019-01806-3.
22. Ady, J.W.; Desir, S.; Thayanithy, V.; Vogel, R.I.; Moreira, A.L.; Downey, R.J.; Fong, Y.; Manova-Todorova, K.; Moore, M.A.S.; Lou, E. Intercellular Communication in Malignant Pleural Mesothelioma: Properties of Tunneling Nanotubes. *Front Physiol* **2014**, *5*, doi:10.3389/fphys.2014.00400.
23. Beum, P. V.; Lindorfer, M.A.; Peek, E.M.; Stukenberg, P.T.; de Weers, M.; Beurskens, F.J.; Parren, P.W.H.I.; van de Winkel, J.G.J.; Taylor, R.P. Penetration of Antibody-opsonized Cells by the Membrane Attack Complex of Complement Promotes Ca²⁺ Influx and Induces Streamers. *Eur J Immunol* **2011**, *41*, 2436–2446, doi:10.1002/eji.201041204.
24. Innocenti, M. New Insights into the Formation and the Function of Lamellipodia and Ruffles in Mesenchymal Cell Migration. *Cell Adh Migr* **2018**, 1–16, doi:10.1080/19336918.2018.1448352.
25. Abounit, S.; Zurzolo, C. Wiring through Tunneling Nanotubes – from Electrical Signals to Organelle Transfer. *J Cell Sci* **2012**, *125*, 1089–1098, doi:10.1242/jcs.083279.
26. Chang, M.; Lee, O.; Bu, G.; Oh, J.; Yunn, N.-O.; Ryu, S.H.; Kwon, H.-B.; Kolomeisky, A.B.; Shim, S.-H.; Doh, J.; et al. Formation of Cellular Close-Ended Tunneling Nanotubes through Mechanical Deformation. *Sci Adv* **2022**, *8*, doi:10.1126/sciadv.abj3995.
27. Kabaso, D.; Lokar, M.; Kralj-Iglic, V.; Veranic, P.; Iglic, A. Temperature and Cholera Toxin B Are Factors That Influence Formation of Membrane Nanotubes in RT4 and T24 Urothelial Cancer Cell Lines. *Int J Nanomedicine* **2011**, 495, doi:10.2147/IJN.S16982.
28. Kadiu, I.; Gendelman, H.E. Macrophage Bridging Conduit Trafficking of HIV-1 Through the Endoplasmic Reticulum and Golgi Network. *J Proteome Res* **2011**, *10*, 3225–3238, doi:10.1021/pr200262q.
29. Wang, X.; Gerdes, H.-H. Transfer of Mitochondria via Tunneling Nanotubes Rescues Apoptotic PC12 Cells. *Cell Death Differ* **2015**, *22*, 1181–1191, doi:10.1038/cdd.2014.211.
30. Lou, E.; Fujisawa, S.; Morozov, A.; Barlas, A.; Romin, Y.; Dogan, Y.; Gholami, S.; Moreira, A.L.; Manova-Todorova, K.; Moore, M.A.S. Tunneling Nanotubes Provide a Unique Conduit for Intercellular Transfer of Cellular Contents in Human Malignant Pleural Mesothelioma. *PLoS One* **2012**, *7*, e33093, doi:10.1371/journal.pone.0033093.
31. Jahnke, R.; Matthiesen, S.; Zaack, L.M.; Finke, S.; Knittler, M.R. Chlamydia Trachomatis Cell-to-Cell Spread through Tunneling Nanotubes. *Microbiol Spectr* **2022**, *10*, doi:10.1128/spectrum.02817-22.
32. Delage, E.; Cervantes, D.C.; Pénard, E.; Schmitt, C.; Syan, S.; Disanza, A.; Scita, G.; Zurzolo, C. Differential Identity of Filopodia and Tunneling Nanotubes Revealed by the Opposite Functions of Actin Regulatory Complexes. *Sci Rep* **2016**, *6*, 39632, doi:10.1038/srep39632.
33. Madarász, T.; Brunner, B.; Halász, H.; Telek, E.; Matkó, J.; Nyitrai, M.; Szabó-Meleg, E. Molecular Relay Stations in Membrane Nanotubes: IRSp53 Involved in Actin-Based Force Generation. *Int J Mol Sci* **2023**, *24*, 13112, doi:10.3390/ijms241713112.
34. Schiller, C.; Diakopoulos, K.N.; Rohwedder, I.; Kremmer, E.; von Toerne, C.; Ueffing, M.; Weidle, U.H.; Ohno, H.; Weiss, E.H. LST1 Promotes the Assembly of a Molecular Machinery Responsible for Tunneling Nanotube Formation. *J Cell Sci* **2012**, doi:10.1242/jcs.114033.
35. Gousset, K.; Marzo, L.; Commere, P.-H.; Zurzolo, C. Myo10 Is a Key Regulator of TNT Formation in Neuronal Cells. *J Cell Sci* **2013**, *126*, 4424–4435, doi:10.1242/jcs.129239.

36. Hase, K.; Kimura, S.; Takatsu, H.; Ohmae, M.; Kawano, S.; Kitamura, H.; Ito, M.; Watarai, H.; Hazelett, C.C.; Yeaman, C.; et al. M-Sec Promotes Membrane Nanotube Formation by Interacting with Ral and the Exocyst Complex. *Nat Cell Biol* **2009**, *11*, 1427–1432, doi:10.1038/ncb1990.
37. Sun, X.; Wang, Y.; Zhang, J.; Tu, J.; Wang, X.-J.; Su, X.-D.; Wang, L.; Zhang, Y. Tunneling-Nanotube Direction Determination in Neurons and Astrocytes. *Cell Death Dis* **2012**, *3*, e438–e438, doi:10.1038/cddis.2012.177.
38. Ranzinger, J.; Rustom, A.; Heide, D.; Morath, C.; Schemmer, P.; Nawroth, P.P.; Zeier, M.; Schwenger, V. The Receptor for Advanced Glycation End-Products (RAGE) Plays a Key Role in the Formation of Nanotubes (NTs) between Peritoneal Mesothelial Cells and in Murine Kidneys. *Cell Tissue Res* **2014**, *357*, 667–679, doi:10.1007/s00441-014-1904-y.
39. Sartori-Rupp, A.; Cordero Cervantes, D.; Pepe, A.; Gousset, K.; Delage, E.; Corroyer-Dulmont, S.; Schmitt, C.; Krijnse-Locker, J.; Zurzolo, C. Correlative Cryo-Electron Microscopy Reveals the Structure of TNTs in Neuronal Cells. *Nat Commun* **2019**, *10*, 342, doi:10.1038/s41467-018-08178-7.
40. Sowinski, S.; Jolly, C.; Berninghausen, O.; Purbhoo, M.A.; Chauveau, A.; Köhler, K.; Oddos, S.; Eissmann, P.; Brodsky, F.M.; Hopkins, C.; et al. Membrane Nanotubes Physically Connect T Cells over Long Distances Presenting a Novel Route for HIV-1 Transmission. *Nat Cell Biol* **2008**, *10*, 211–219, doi:10.1038/ncb1682.
41. Lokar, M.; Iglič, A.; Veranič, P. Protruding Membrane Nanotubes: Attachment of Tubular Protrusions to Adjacent Cells by Several Anchoring Junctions. *Protoplasma* **2010**, *246*, 81–87, doi:10.1007/s00709-010-0143-7.
42. Wang, X.; Veruki, M.L.; Bukoreshtliev, N. V.; Hartveit, E.; Gerdes, H.-H. Animal Cells Connected by Nanotubes Can Be Electrically Coupled through Interposed Gap-Junction Channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2010**, *107*, 17194–17199, doi:10.1073/pnas.1006785107.
43. Gurke, S.; Barroso, J.F. V.; Gerdes, H.-H. The Art of Cellular Communication: Tunneling Nanotubes Bridge the Divide. *Histochem Cell Biol* **2008**, *129*, 539–550, doi:10.1007/s00418-008-0412-0.
44. Ahmad, T.; Mukherjee, S.; Pattnaik, B.; Kumar, M.; Singh, S.; Kumar, M.; Rehman, R.; Tiwari, B.K.; Jha, K.A.; Barhanpurkar, A.P.; et al. Miro1 Regulates Intercellular Mitochondrial Transport & Enhances Mesenchymal Stem Cell Rescue Efficacy. *EMBO J* **2014**, n/a-n/a, doi:10.1002/embj.201386030.
45. Wang, X.; Bukoreshtliev, N.V.; Gerdes, H.-H. Developing Neurons Form Transient Nanotubes Facilitating Electrical Coupling and Calcium Signaling with Distant Astrocytes. *PLoS One* **2012**, *7*, e47429, doi:10.1371/journal.pone.0047429.
46. Qin, Y.; Jiang, X.; Yang, Q.; Zhao, J.; Zhou, Q.; Zhou, Y. The Functions, Methods, and Mobility of Mitochondrial Transfer Between Cells. *Front Oncol* **2021**, *11*, doi:10.3389/fonc.2021.672781.
47. Pepe, A.; Pietropaoli, S.; Vos, M.; Barba-Spaeth, G.; Zurzolo, C. Tunneling Nanotubes Provide a Route for SARS-CoV-2 Spreading. *Sci Adv* **2022**, *8*, doi:10.1126/sciadv.abo0171.
48. Tiwari, V.; Koganti, R.; Russell, G.; Sharma, A.; Shukla, D. Role of Tunneling Nanotubes in Viral Infection, Neurodegenerative Disease, and Cancer. *Front Immunol* **2021**, *12*, doi:10.3389/fimmu.2021.680891.
49. Abounit, S.; Wu, J.W.; Duff, K.; Victoria, G.S.; Zurzolo, C. Tunneling Nanotubes: A Possible Highway in the Spreading of Tau and Other Prion-like Proteins in Neurodegenerative Diseases. *Prion* **2016**, *10*, 344–351, doi:10.1080/19336896.2016.1223003.
50. Costanzo, M.; Abounit, S.; Marzo, L.; Danckaert, A.; Chamoun, Z.; Roux, P.; Zurzolo, C. Transfer of Polyglutamine Aggregates in Neuronal Cells Occurs in Tunneling Nanotubes. *J Cell Sci* **2013**, doi:10.1242/jcs.126086.

51. Victoria, G.S.; Zurzolo, C. The Spread of Prion-like Proteins by Lysosomes and Tunneling Nanotubes: Implications for Neurodegenerative Diseases. *Journal of Cell Biology* **2017**, *216*, 2633–2644, doi:10.1083/jcb.201701047.
52. Hidalgo, C.; Paula-Lima, A. RyR-Mediated Calcium Release in Hippocampal Health and Disease. *Trends Mol Med* **2024**, *30*, 25–36, doi:10.1016/j.molmed.2023.10.008.
53. Pasquier, J.; Guerrouahen, B.S.; Al Thawadi, H.; Ghiabi, P.; Maleki, M.; Abu-Kaoud, N.; Jacob, A.; Mirshahi, M.; Galas, L.; Rafii, S.; et al. Preferential Transfer of Mitochondria from Endothelial to Cancer Cells through Tunneling Nanotubes Modulates Chemoresistance. *J Transl Med* **2013**, *11*, 94, doi:10.1186/1479-5876-11-94.
54. Saha, T.; Dash, C.; Jayabalan, R.; Khiste, S.; Kulkarni, A.; Kurmi, K.; Mondal, J.; Majumder, P.K.; Bardia, A.; Jang, H.L.; et al. Intercellular Nanotubes Mediate Mitochondrial Trafficking between Cancer and Immune Cells. *Nat Nanotechnol* **2022**, *17*, 98–106, doi:10.1038/s41565-021-01000-4.
55. Koyanagi, M.; Brandes, R.P.; Haendeler, J.; Zeiher, A.M.; Dimmeler, S. Cell-to-Cell Connection of Endothelial Progenitor Cells With Cardiac Myocytes by Nanotubes. *Circ Res* **2005**, *96*, 1039–1041, doi:10.1161/01.RES.0000168650.23479.0c.
56. Sáenz-de-Santa-María, I.; Bernardo-Castiñeira, C.; Enciso, E.; García-Moreno, I.; Chiara, J.L.; Suarez, C.; Chiara, M.-D. Control of Long-Distance Cell-to-Cell Communication and Autophagosome Transfer in Squamous Cell Carcinoma via Tunneling Nanotubes. *Oncotarget* **2017**, *8*, 20939–20960, doi:10.18632/oncotarget.15467.
57. Osswald, M.; Jung, E.; Sahm, F.; Solecki, G.; Venkataramani, V.; Blaes, J.; Weil, S.; Horstmann, H.; Wiestler, B.; Syed, M.; et al. Brain Tumour Cells Interconnect to a Functional and Resistant Network. *Nature* **2015**, *528*, 93–98, doi:10.1038/nature16071.
58. Bittins, M.; Wang, X. TNT-Induced Phagocytosis: Tunneling Nanotubes Mediate the Transfer of Pro-Phagocytic Signals From Apoptotic to Viable Cells. *J Cell Physiol* **2017**, *232*, 2271–2279, doi:10.1002/jcp.25584.
59. Chauveau, A.; Aucher, A.; Eissmann, P.; Vivier, E.; Davis, D.M. Membrane Nanotubes Facilitate Long-Distance Interactions between Natural Killer Cells and Target Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2010**, *107*, 5545–5550, doi:10.1073/pnas.0910074107.
60. Wong, P.; Pamer, E.G. CD8 T Cell Responses to Infectious Pathogens. *Annu Rev Immunol* **2003**, *21*, 29–70, doi:10.1146/annurev.immunol.21.120601.141114.
61. Matkó, J.; Tóth, E.A. Membrane Nanotubes Are Ancient Machinery for Cell-to-Cell Communication and Transport. Their Interference with the Immune System. *Biol Futur* **2021**, *72*, 25–36, doi:10.1007/s42977-020-00062-0.
62. Tóth, E.A.; Oszvald, Á.; Péter, M.; Balogh, G.; Osteikoetxea-Molnár, A.; Bozó, T.; Szabó-Meleg, E.; Nyitrai, M.; Derényi, I.; Kellermayer, M.; et al. Nanotubes Connecting B Lymphocytes: High Impact of Differentiation-Dependent Lipid Composition on Their Growth and Mechanics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2017**, *1862*, 991–1000, doi:10.1016/j.bbalip.2017.06.011.
63. Rizzo, M.A.; Davidson, M.W.; Piston, D.W. Fluorescent Protein Tracking and Detection: Fluorescent Protein Structure and Color Variants. *Cold Spring Harb Protoc* **2009**, *2009*, pdb.top63, doi:10.1101/pdb.top63.
64. Hencz, A.J.; Somogyi, P.; Halász, H.; Szabó-Meleg, E. Visualization of the Effect of TR100 Anti-Cancer Compound on Membrane Nanotubes with SR-SIM Microscopy. *Resolution and Discovery* **2022**, *6*, 12–19, doi:10.1556/2051.2022.00091.
65. Smyth, C.M. Differential Subcellular Localization of CD86 in Human PBMC-Derived Macrophages and DCs, and Ultrastructural Characterization by Immuno-Electron Microscopy. *Int Immunol* **2004**, *17*, 123–132, doi:10.1093/intimm/dxh193.
66. Smyth, C.; Logan, G.; Weinberger, R.P.; Rowe, P.B.; Alexander, I.E.; Smythe, J.A. Identification of a Dynamic Intracellular Reservoir of CD86 Protein in Peripheral Blood Monocytes That Is Not Associated with the Golgi Complex. *J Immunol* **1998**, *160*, 5390–5396.

67. Hamant, O.; Inoue, D.; Bouchez, D.; Dumais, J.; Mjolsness, E. Are Microtubules Tension Sensors? *Nat Commun* **2019**, *10*, 2360, doi:10.1038/s41467-019-10207-y.
68. Pathak, D.; Sepp, K.J.; Hollenbeck, P.J. Evidence That Myosin Activity Opposes Microtubule-Based Axonal Transport of Mitochondria. *Journal of Neuroscience* **2010**, *30*, 8984–8992, doi:10.1523/JNEUROSCI.1621-10.2010.
69. Hollenbeck, P.J.; Saxton, W.M. The Axonal Transport of Mitochondria. *J Cell Sci* **2005**, *118*, 5411–5419, doi:10.1242/jcs.02745.
70. Seager, R.; Lee, L.; Henley, J.M.; Wilkinson, K.A. Mechanisms and Roles of Mitochondrial Localisation and Dynamics in Neuronal Function. *Neuronal Signal* **2020**, *4*, doi:10.1042/NS20200008.
71. Ali, M.Y.; Lu, H.; Bookwalter, C.S.; Warshaw, D.M.; Trybus, K.M. Myosin V and Kinesin Act as Tethers to Enhance Each Others' Processivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, *105*, 4691–4696, doi:10.1073/pnas.0711531105.
72. Sandoval, H.; Kodali, S.; Wang, J. Regulation of B Cell Fate, Survival, and Function by Mitochondria and Autophagy. *Mitochondrion* **2018**, *41*, 58–65, doi:10.1016/j.mito.2017.11.005.
73. Faas, M.M.; de Vos, P. Mitochondrial Function in Immune Cells in Health and Disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2020**, *1866*, 165845, doi:10.1016/j.bbadis.2020.165845.
74. Su, Y.-J.; Wang, P.-W.; Weng, S.-W. The Role of Mitochondria in Immune-Cell-Mediated Tissue Regeneration and Ageing. *Int J Mol Sci* **2021**, *22*, 2668, doi:10.3390/ijms22052668.
75. Li, A.; Han, X.; Deng, L.; Wang, X. Mechanical Properties of Tunneling Nanotube and Its Mechanical Stability in Human Embryonic Kidney Cells. *Front Cell Dev Biol* **2022**, *10*, doi:10.3389/fcell.2022.955676.
76. Gittes, F.; Mickey, B.; Nettleton, J.; Howard, J. Flexural Rigidity of Microtubules and Actin Filaments Measured from Thermal Fluctuations in Shape. *J Cell Biol* **1993**, *120*, 923–934, doi:10.1083/jcb.120.4.923.
77. Rustom, A. The Missing Link: Does Tunnelling Nanotube-Based Supercellularity Provide a New Understanding of Chronic and Lifestyle Diseases? *Open Biol* **2016**, *6*, 160057, doi:10.1098/rsob.160057.
78. Falconieri, A.; Coppini, A.; Raffa, V. Microtubules as a Signal Hub for Axon Growth in Response to Mechanical Force. *Biol Chem* **2024**, *405*, 67–77, doi:10.1515/hsz-2023-0173.
79. Franck, A.D.; Powers, A.F.; Gestaut, D.R.; Gonen, T.; Davis, T.N.; Asbury, C.L. Tension Applied through the Dam1 Complex Promotes Microtubule Elongation Providing a Direct Mechanism for Length Control in Mitosis. *Nat Cell Biol* **2007**, *9*, 832–837, doi:10.1038/ncb1609.
80. Trushko, A.; Schäffer, E.; Howard, J. The Growth Speed of Microtubules with XMAP215-Coated Beads Coupled to Their Ends Is Increased by Tensile Force. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2013**, *110*, 14670–14675, doi:10.1073/pnas.1218053110.

KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

MTMT azonosító: 10069063

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

Halász H., Ghadaksaz AR., Madarász T., Huber K., Harami G., Tóth EA., Osteikoetxea-Molnár A., Kovács M., Balogi Zs., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Live cell superresolution-SIM imaging analysis of the intercellular transport of microvesicles and costimulatory proteins via nanotubes between immune cells, *Methods Appl. Fluoresc.* 6(4):045005, (2018), doi: 10.1088/2050-6120/aad57d. **IF: 2,940, Q1 besorolás**

Halász H., Tárnai V., Matkó J., Nyitrai M., Szabó-Meleg E.: Cooperation of various cytoskeletal components orchestrates intercellular spread of mitochondria between B-Lymphoma cells through tunnelling nanotubes, *Cells* 13(7), 607, (2024), doi: 10.3390/cells13070607, **IF: 6,0, Q1 besorolás**

Egyéb közlemények:

Telek E., Karádi K., Kardos J., Kengyel A., Fekete Zs., **Halász H.**, Nyitrai M., Bugyi B., Lukács A.: The C-terminal tail extension of myosin 16 acts as a molten globule, including intrinsically disordered regions, and interacts with the N-terminal ankyrin, *J. Biol. Chem.* 297(1):100716, (2021), doi: 10.1016/j.jbc.2021.100716. **IF: 5,157**

Hencz A.J., Somogyi P., **Halász H.**, Szabó-Meleg E.: Visualization of the effect of TR100 anti-cancer compound on membrane nanotubes with SR-SIM microscopy, *AKJournals*, 24988707, (2022), doi: 10.1556/2051.2022.00091.

Madarász T., Brunner B., **Halász H.**, Telek E., Matkó J., Nyitrai M., Szabó-Meleg E.: Molecular relay stations in membrane nanotubes: IRSp53 involved in actin-based force generation. *Int. J. Mol. Sci.* (2023), 10.3390/ijms241713112. **IF:5,6**

Halász H.: Membrán nanocsövek: egy új terápiás célpont vizsgálata szuperrezolúciós mikroszkópiával. *Orvostudományi Híradó*, 2022. április-május, https://aok.pte.hu/docs/hirmondo/pdf/okh_2204.pdf

Halász H., Szatmári Z., Kovács K., Koppán M., Papp Sz., Szabó-Meleg E., Szatmári D.: Changes of ex vivo cervical epithelial cells due to electroporation with JMY, *Int. J. Mol. Sci.* (2023), doi: 10.3390/ijms242316863. **IF: 5,6**

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények összesített impakt faktora: 8,94

Egyéb közlemények összesített impakt faktora: 16,357

Összesített impakt faktor: 25,297

Összes független idézet száma: 15

Az értekezéshez kapcsolódó előadások és poszterek listája:

nemzetközi előadások:

Halász H., Ghadaksaz AR., Madarász T., Huber K., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Visualization of transport properties of membrane nanotubes with live cell laser-scanning confocal and superresolution (SIM) microscopes. (8th Regional Biophysics Conference, 2018, Slovenia, előadó: Sz.-M.E.)

Halász H., Tárnai V., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Examination of transport processes via membrane nanotubes with superresolution microscopy techniques. (Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences 2021, Magyarország, Pécs)

Halász H., Tárnai V., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Microscopic examination of motoproteins in the mitochondrial transport via membrane nanotubes. (Second Symposium on Super-resolution and Advanced Fluorescence Microscopy and István Ábrahám Memorial Workshop, 2022, Magyarország, Pécs, előadó: Sz.-M.E.)

nemzetközi poszterek:

Matkó J., **Halász H.**, Ghadaksaz AR., Madarász T., Huber K., Osteikoetxea-Molnár A., Tóth EA., Nyitrai M., Szabó-Meleg E.: Investigation of growth and intercellular properties of membrane nanotubes connecting immune cells by LC-CLSM and superresolution (SIM) imaging. (Methods and applications in fluorescence conference, 2017, Belgium, bemutatta: M.J.)

Halász H., Tárnai V., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Studying the role of the microtubules in the formation and function of the membrane nanotubes of B-lymphocytes. (Hungarian Molecular Life Sciences, 2022, Magyarország, Eger)

Halász H., Tárnai V., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Microscopic examination of transport processes mediated by membrane nanotubes of B lymphocytes. (European Light Microscopy Initiative, 2022, Finnország, Turku, bemutatta: Sz.-M.E)

Halász H., Tárnai V., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Microtubules orchestrate the mitochondria transport via tunnelling nanotubes between B-lymphoma cells. (EMBL Symposium: Microtubules: from atoms to complex systems, 2024, Heidelberg, Németország)

Halász H., Tárnai V., Matkó J., Nyitrai M., Szabó-Meleg E.: Intercellular routes: membrane nanotube networks among B lymphocytes - essential drivers of growth and transport functions. (EMBL Symposium: Microtubules: from atoms to complex systems, 2024, Heidelberg, Németország, bemutatta: Sz.-M.E.)

hazai előadások:

Halász H., Ghadaksaz, AR., Huber K., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Membrán nanocsövek transzportban betöltött szerepének tanulmányozása immunsejteken. (PEME XV. PhD konferencia, 2017, Budapest)

Halász H., Ghadaksaz, AR., Huber K., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Immunsejtek közötti membrán nanocsövek – új „segéderők” az immunválasz hatékonyságának növelésében? (Fiatalok Európában konferencia, 2017, Magyarország, Pécs)

Ghadaksaz AR., Madarász T., **Halász H.**, Osteikoetxea-Molnár A., Tóth EA., Huber K., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Immunsejtek közötti transzportfolyamatok vizualizálása. (48. Membrán-transzport konferencia, 2018, Magyarország, Sümeg, előadó: G.AR)

Halász H., Tárnai V., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Membrán nanocsövek mikrotubuláris rendszerének és szerepének vizsgálata az immunsejtek kommunikációjában. (Pannon Tudományos Napok, 2021, Magyarország, Nagykanizsa)

Halász H., Tárnai V., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Membrán nanocsövek és a sejtíváz fehérjék szerepe a mitokondriális transzportban. (XXV. Tavasz szél konferencia, 2022, Magyarország, Pécs)

Halász H., Tárnai V., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Citoszkeletális elemek együttműködése a mitokondriumok membrán nanocsöveken keresztüli transzportjában. (Magyar Mikroszkópiai társaság éves konferenciája, 2024, Siófok)

hazai poszterek:

Halász H., Ghadaksaz AR., Huber K., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Membrán nanocsövek-Egy új útvonal az immunsejtek kommunikációjában. (videoposzter, Magyar Mikroszkópiai társaság éves konferenciája, 2018, Siófok)

Halász H., Ghadaksaz, AR., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Membrán nanocsövek transzport tulajdonságainak vizsgálata szuperrezolúciós mikroszkópiával. (poszter, XXVII. MBFT kongresszus, 2019, Debrecen)

Halász H., Tárnai V., Matkó J., Nyitrai M., Szabó-Meleg E.: Citoszkeletális elemek kooperációja B sejtek közötti membrán nanocsöveken keresztüli mitokondrium transzport szabályozásában. (poszter, 53. Membrán Transzport konferencia, 2024, Sümeg, bemutatta: T.V.)

Az értekezéshez nem kapcsolódó előadások és poszterek listája:

Hencz, A.J., Nyitrai M., Bugyi B., Madarász T., **Halász H.**, Türmer K., Peter G., Matkó, J., Szabó-Meleg E.: TR100 hatása a membrán nanocsőhálózatokra. (poszter, XXV. MBFT kongresszus, 2017, Szeged, bemutatta: H.A.J.)

Madarász T., **Halász H.**, Brunner B., Bisi S., Scitall G., Nyitrai M., Szabó-Meleg E.: I-BAR and IRSp53 proteins affect actin polymerization and membrane nanotube formation. (poszter, 44th FEBS Congress, 2019, Krakó, bemutatta: Sz.-M.E.)

Halász H., Madarász T., Nyitrai M., Matkó J., Szabó-Meleg E.: Fundamental growth determinants and transport functions of B cell membrane nanotubes (2022, Second Symposium on Super-resolution and Advanced Fluorescence Microscopy and István Ábrahám Memorial Workshop, Pécs)

Madarász T., **Halász H.**, Szeiliné Türmer K., Matkó J., Nyitrai M., Szabó-Meleg E.: How membrane sculpturing proteins influence the growth and morphology of membrane nanotubes? (2022, Second Symposium on Super-resolution and Advanced Fluorescence Microscopy and István Ábrahám Memorial Workshop, Pécs, előadó: M.T.)