

Híd a távoli rokonok között: a veleszületett immunitás

Andó István

MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont



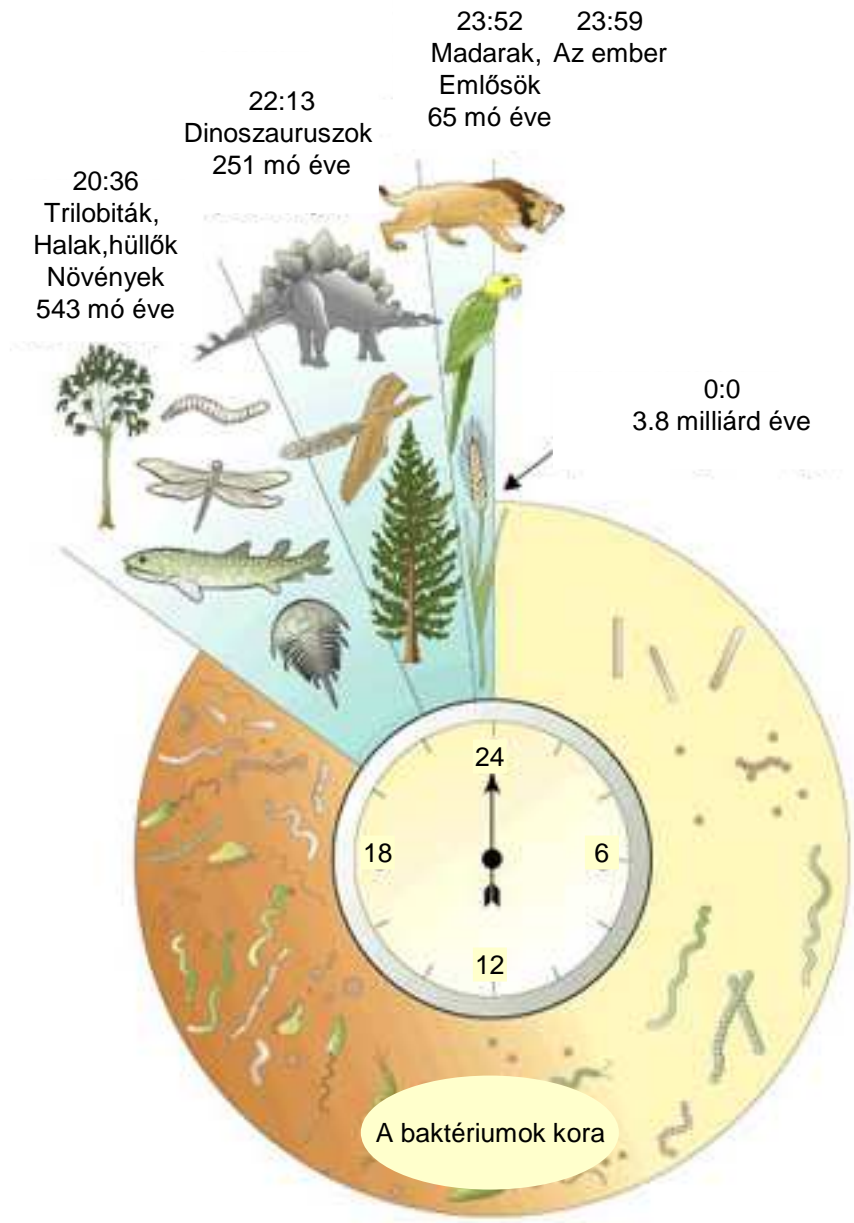
Az Immunológiai Csoport

A kemény mag

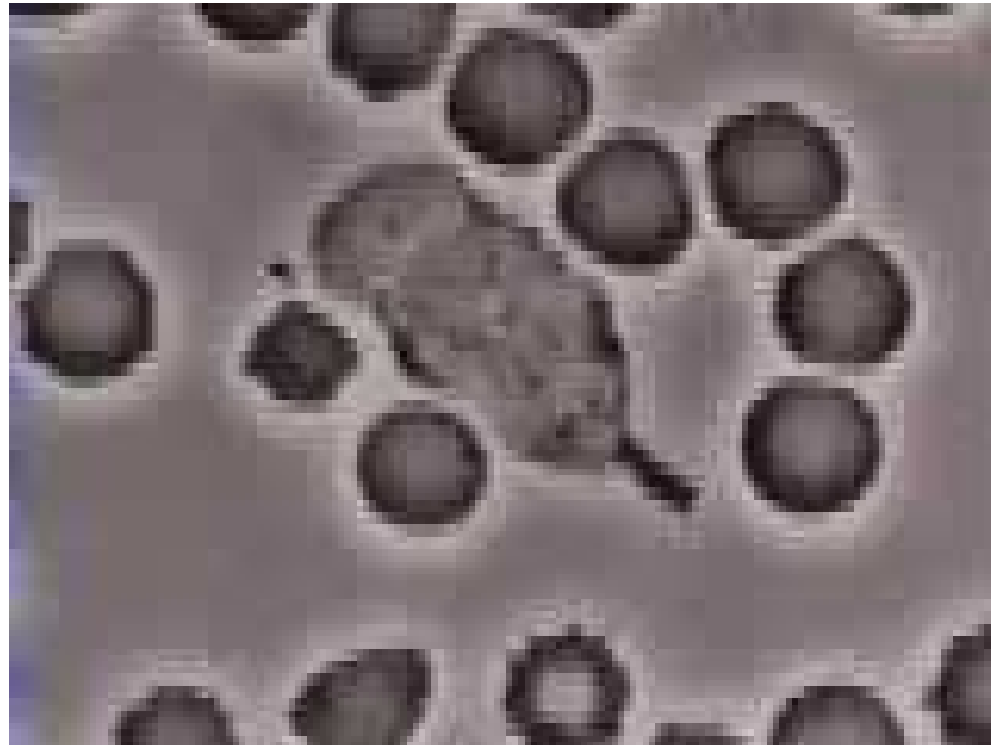
Partnereink



Támogatónk: EU-5, VW alapítvány, OTKA



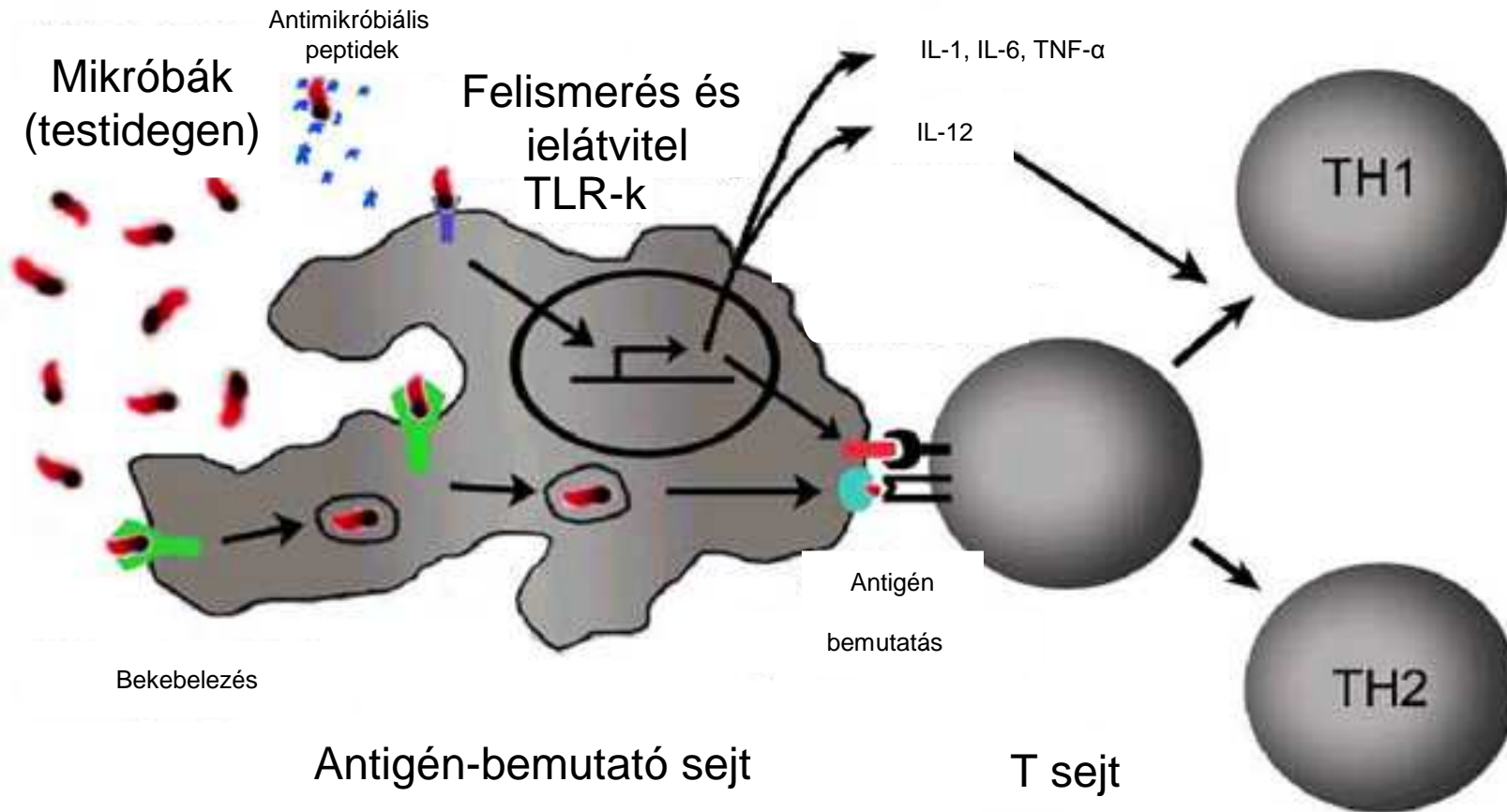




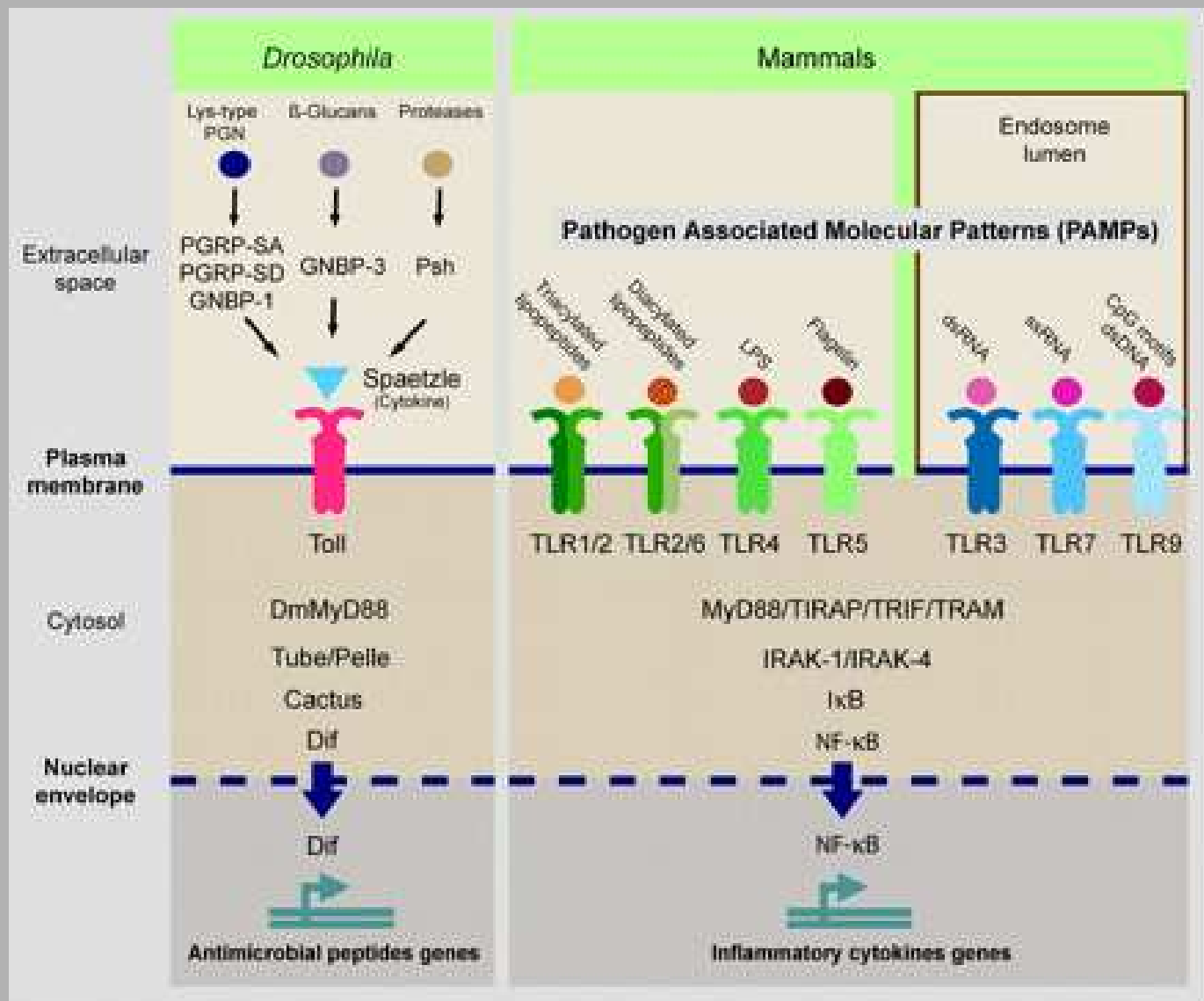
A mikróbák és a szervezet egyensúlyát az immunrendszer tartja fenn.

Veleszületett immunitás

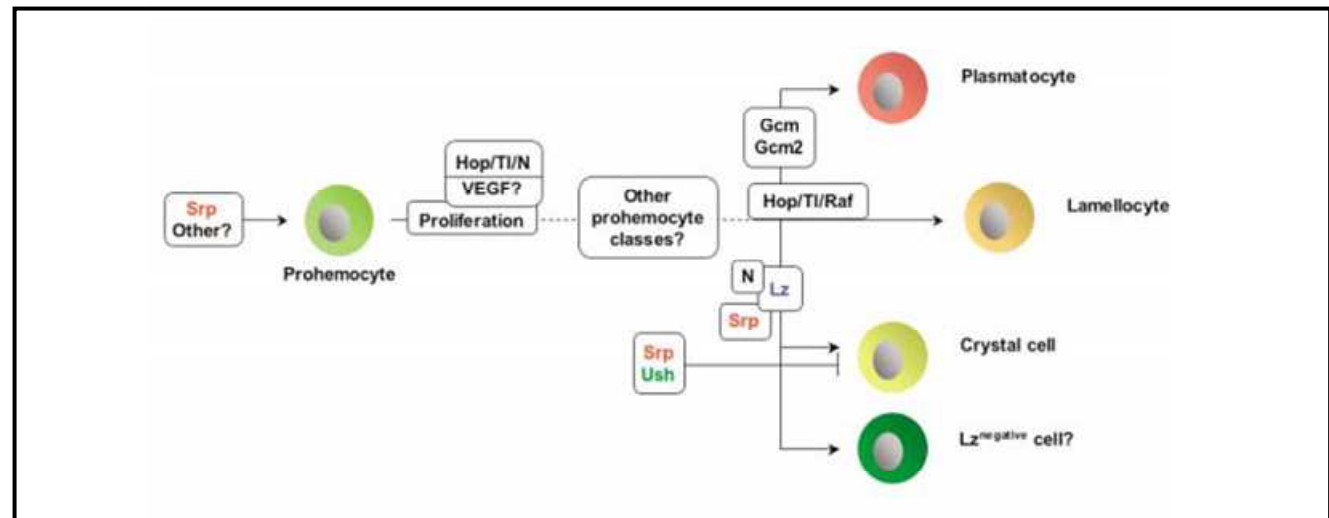
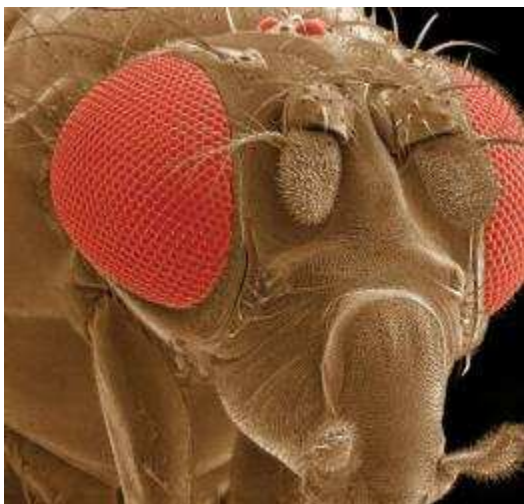
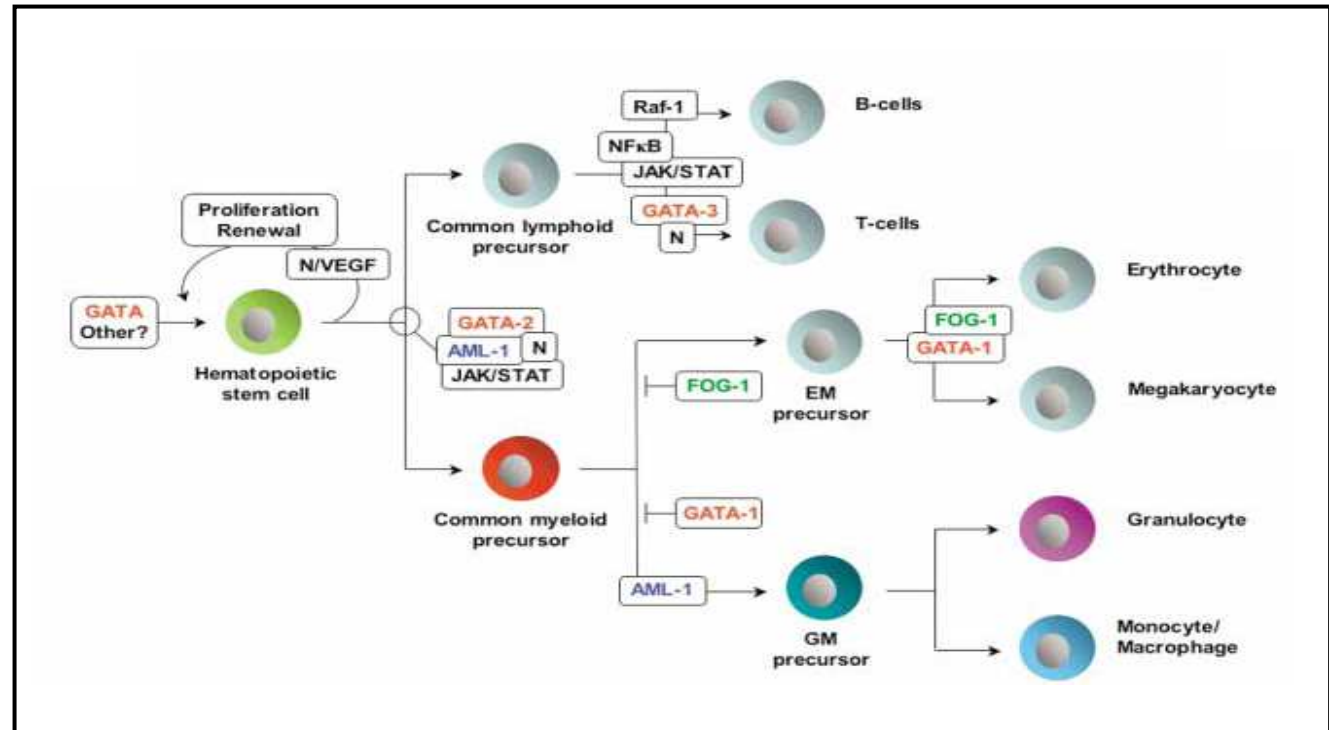
Adaptív immunitás



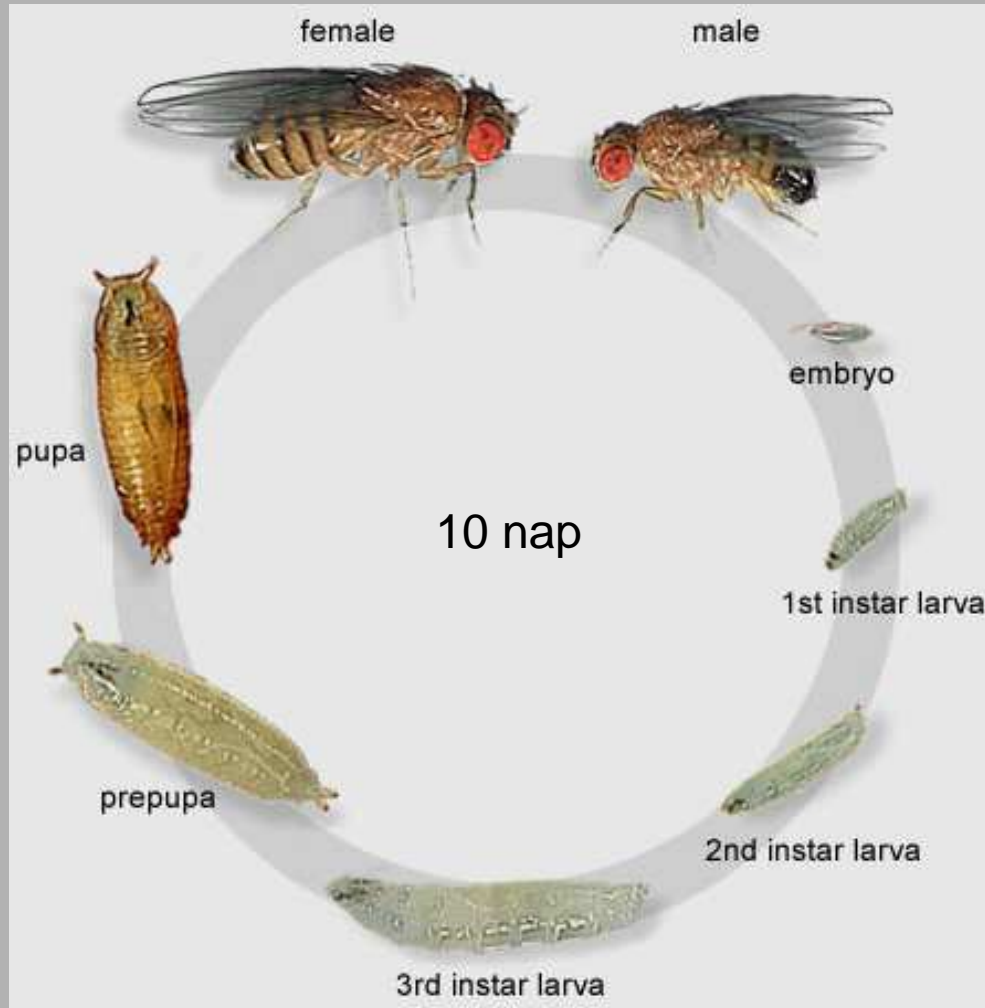
A Toll jelátviteli út ecetmuslicában és emlősökben



A vérsejtképzés szabályozása emlősökben és ecetmuslicában



Miért a *Drosophila*?



A Drosophila életrajza

Rövid életrajz

Könnyű tenyésztani

Olcsó a fenntartása (10 millifillér/egyed)

Könnyű megváltoztatni (mutagenizálni) a genetikai állományát

A genetikai állományának a szerkezete jól ismert

A mutánsok jól jellemezhetők

A genetikai állománya könnyen manipulálható

Szinte minden *Drosophila* génnek van megfelelője a gerinces szervezetekben

A gerinces szervezetek legtöbb génjének van *Drosophila* megfelelője

A genetikai szabályozás és a sejten belüli jelátviteli folyamatok *Drosophilában* és a gerinces szervezetekben hasonló elvek alapján történnek

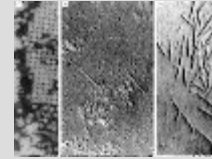
A rovarok is gyakran sérülnek és fertőződnek



gombák



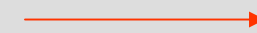
baktériumok



vírusok

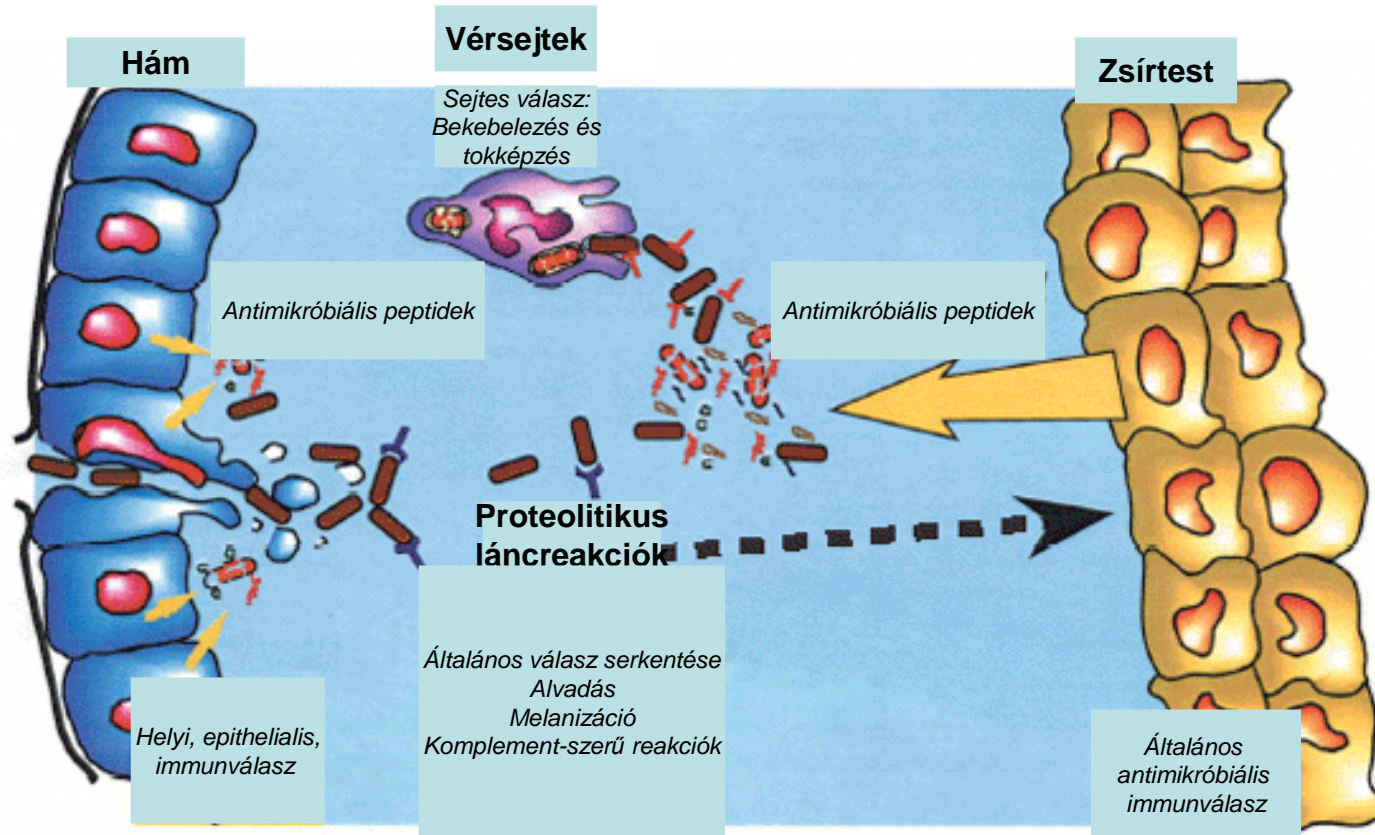


paraziták



Immunválasz

A rovarok immunválasza sokoldalú folyamat



Humorális válasz:

A zsírtest antimikrobiális peptideket termel, melyek a keringésbe kerülnek

Sejt közvetítette válasz:

Vérsejtek differenciálódnak és bekebelezik a mikróbákat, vagy tokot képeznek a paraziták körül

Proteolitikus láncreakciók:

Melanizáció és alvadás

Jelző molekulák termelése

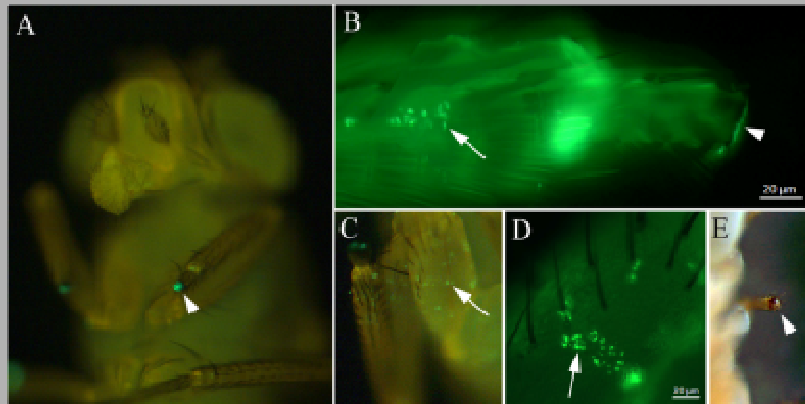
A humorális válaszról sok mindent tudunk, a sejt közvetítette válaszról
annál kevesebbet...

Sejtettük, hogy a humorális és a sejt közvetítette immunitás egymástól független szabályozás alatt áll, de igazolva láttuk....

Relish*, a Central Factor in the Control of Humoral but not Cellular Immunity in *Drosophila

„The NF-kappa B-like Relish gene is complex, with four transcripts that are all located within an intron of the Nmdmc gene. we show that Relish is specifically required for the induction of the humoral immune response. In contrast, the blood cell population, the hematopoietic organs, and the phagocytic, encapsulation, and melanization responses are normal.”

Az immunválasz kiváltása baktériumokkal és parazitákkal



A baktériumok a sérülésen keresztül behatolnak a szervezetbe

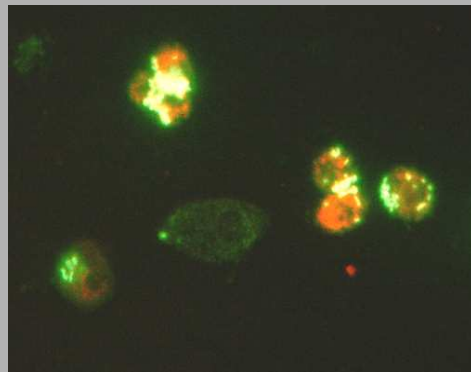


A fürkészdarázs petét rak a *Drosophila* lárvába

A humorális és a sejt közvetítette immunválasz Drosophilá-ban



Antimikrobiális peptidok



Bekebelezés

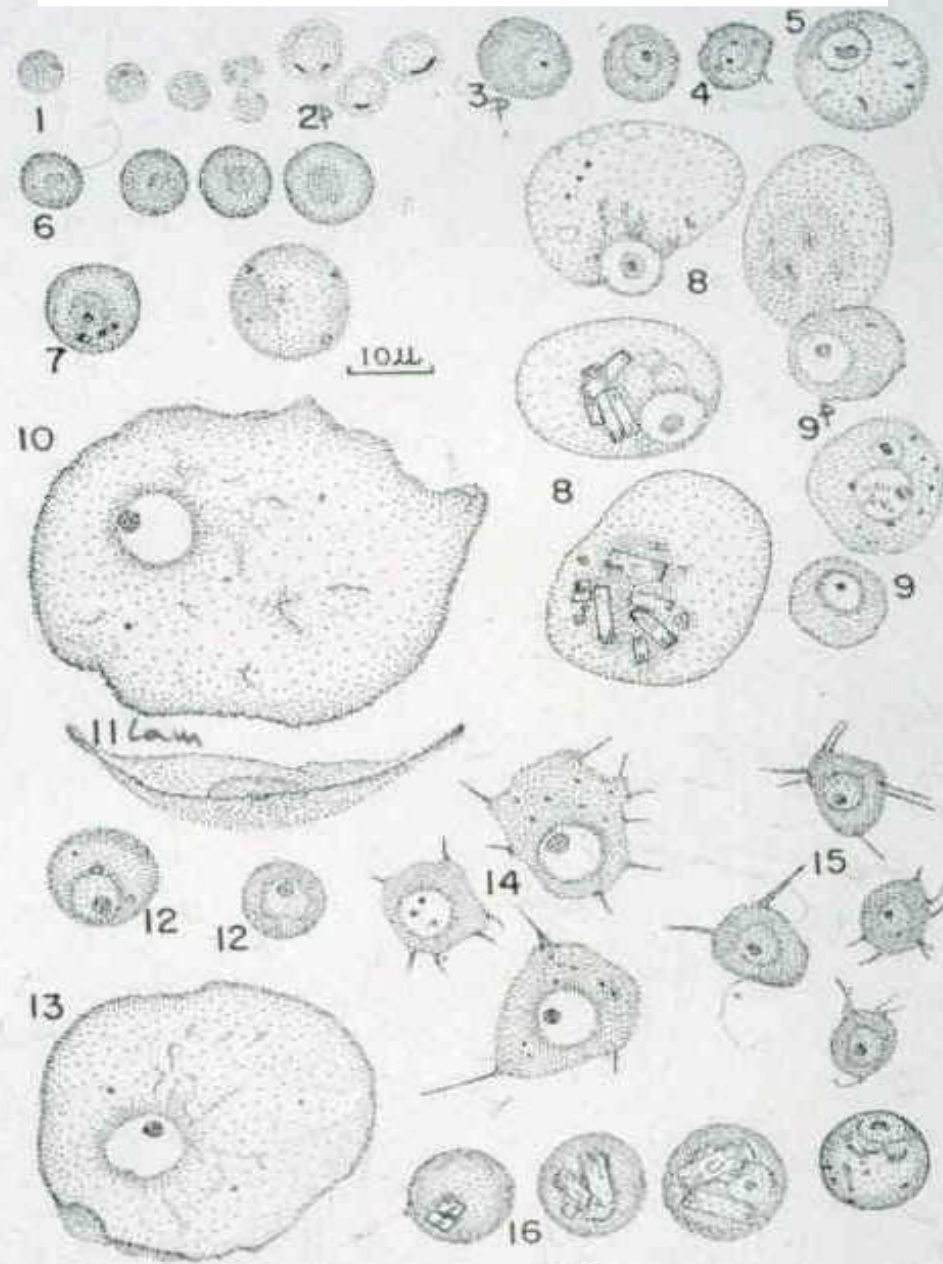


Tokképzés



A végrehajtó elemek a vérsejtek

A Drosophila melanogaster véresejtjei



Figures 1 to 16

Kérdések-feladatok:

A vérsejtek jellemezhetők-e immunológiai markerekkel?

A „markerek” szerepet játszanak-e az adott vérsejtek immunfunkcióiban?

A vérsejtképző szövetek azonosítása és jellemzése a markerek segítségével

A vérsejtképző szövetek immunválaszban betöltött szerepének vizsgálata



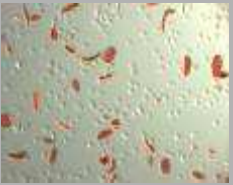


Általánosíthatók-e a *Drosophila melanogaster*-ben észlelt jelenségek?

Az ecetmuslica vérsejtjei





Drosophila vérsejt antigének (CD-k)

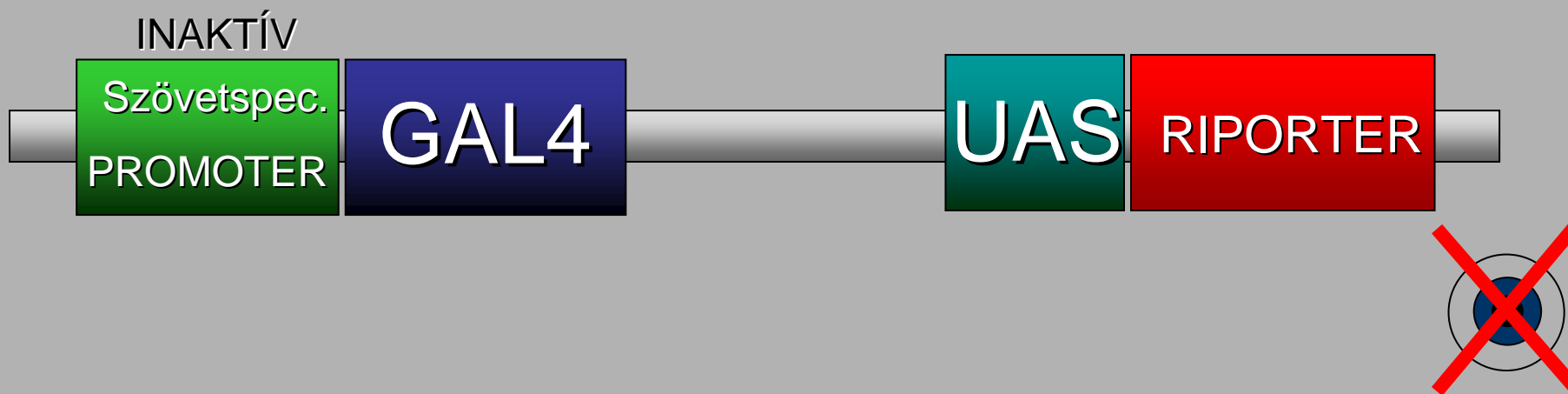
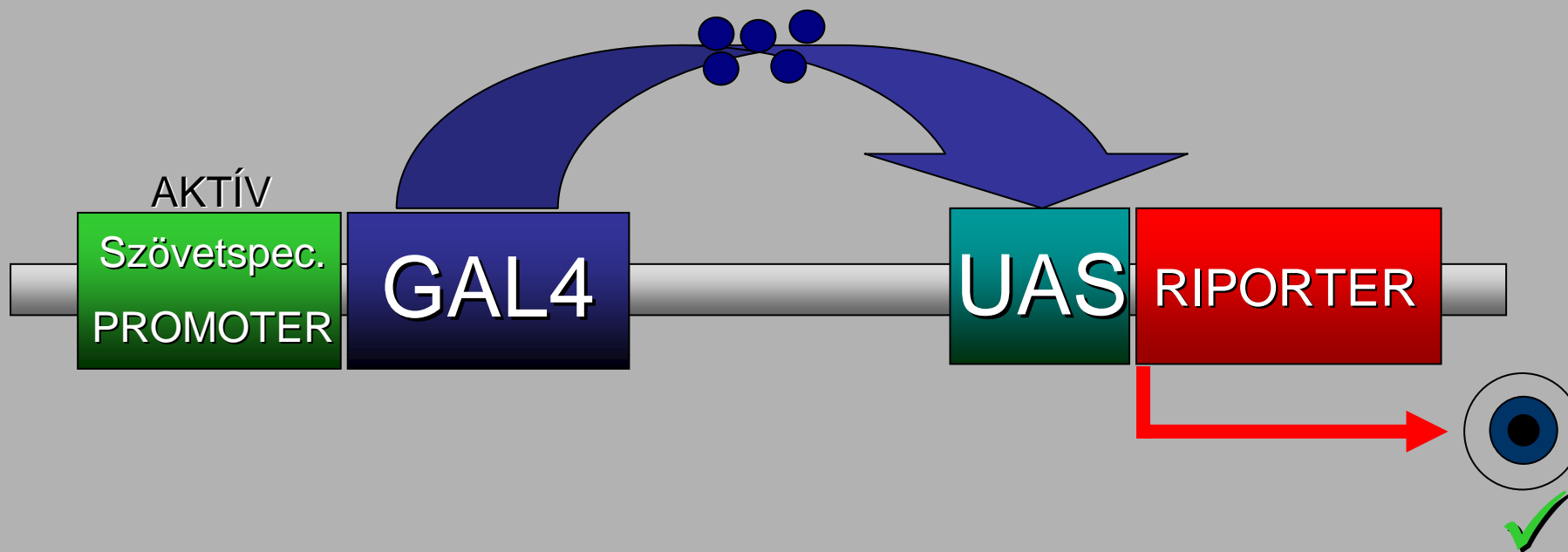
| <u>CD</u> | <u>Sejttypus</u> | <u>Elnevezés</u> | <u>M.S.⁺</u> | <u>Ellenanyag neve</u> | <u>Közlemény</u> | |
|-----------|---|------------------|----------------------------------|------------------------|---|------|
| H1 |  minden vérsejt és perikardiális sejtek | Hemese | 135-160 | H11 | Kurucz et al., (2003) <i>PNAS</i> , 100 , 2622-27 Zettervall et al., (2005) <i>PNAS</i> , 101 , 14192-97 | |
| H2 | | | a lárva minden keringő vérsejtje | 30-60 | | 1.2 |
| H3 | | | minden keringő vérsejt | 16 | | 4A12 |
| P1a |  plazmatocita | Nimród C1 | 100-110 | N1 | Kurucz et al, (2007) <i>Curr Biol</i> , 17 , 649-54 | |
| P1b | | | plazmatocita | 100-110 | | N47 |
| P3 | | | plazmatocita alpopuláció | * | | 8B1 |
| L1a |  lamellocita | Atilla | 16 | H10 | Laurinyecz et al, ms Rus et al, (2005) <i>Gene exp patt</i> , 6 , 928-34 | |
| L1b | | | lamellocita | 16 | | 7A6 |
| L1c | | | lamellocita | 16 | | 29D4 |
| L2 | | | lamellocita | 44 | | 31A4 |
| L4 | | | lamellocita alpopuláció | 82-86 | | 1F12 |
| L5 | | | lamellocita alpopuláció | 85-100,240 | | 4B8 |
| L6 | | | lamellocita alpopuláció | 96 | | H3 |
| C1 |  kristálysejtek | | 84 | 12F6 | | |
| C2 | | | kristálysejtek | * | | 21D3 |
| C3 | | | kristálysejtek | * | | 10D2 |
| C4 | | | kristálysejtek | 100 | | 9C8 |
| C5 | | | kristálysejtek | 66,135 | | 1.19 |
| Ad1 |  az imágó vérsejtjei | | 10 | 7C8 | Márkus et al, ms | |

Kurucz et al. *PNAS* 100 : 2622-27
 Zettervall et al. *PNAS* 101: 14192-14197
 Kurucz et al. *Current Biology* 17:649-654

⁺ kDa, nem-redukáló körülmények között

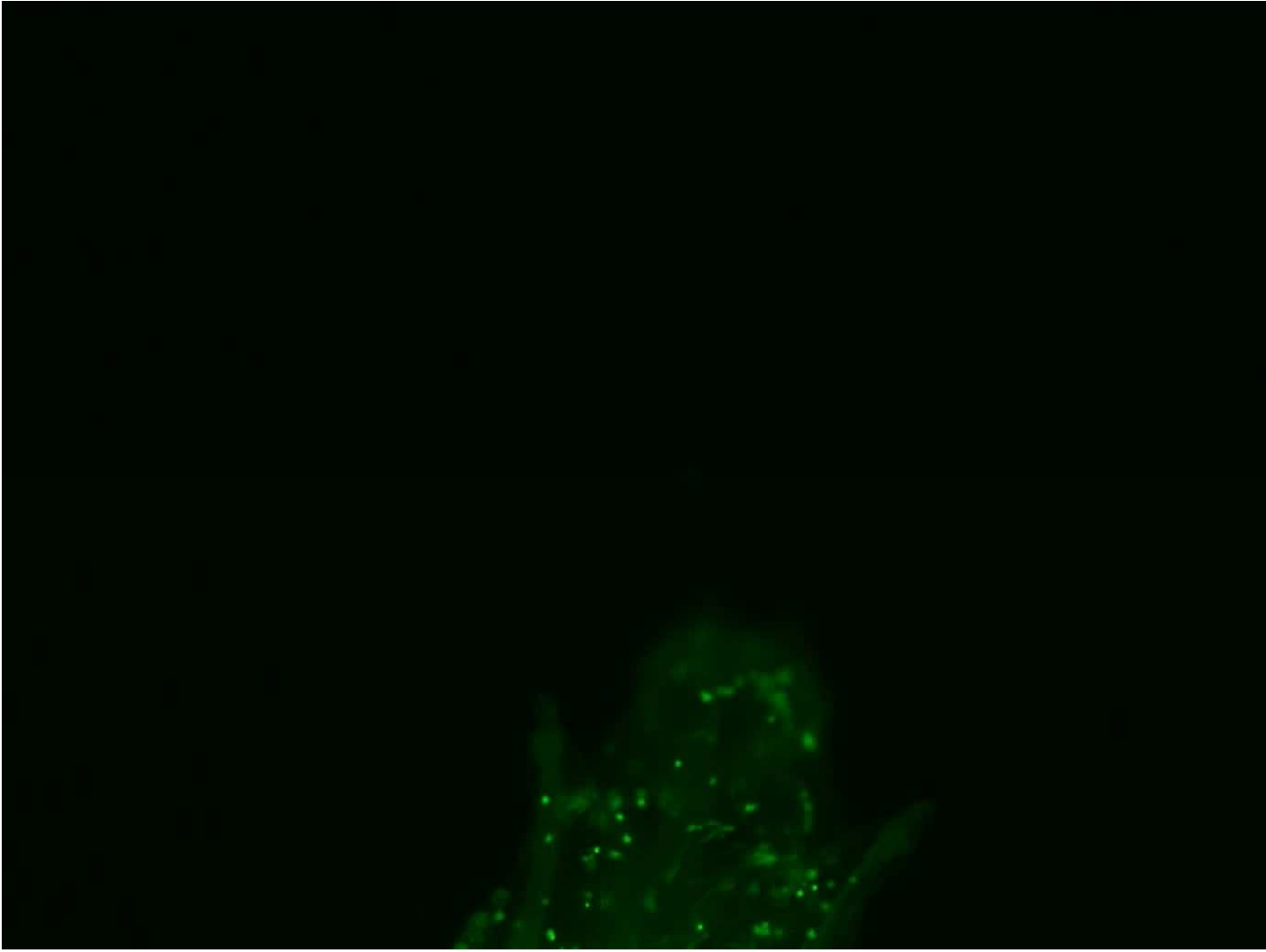
* Konformációfüggő epitóp

A GAL4/UAS rendszer

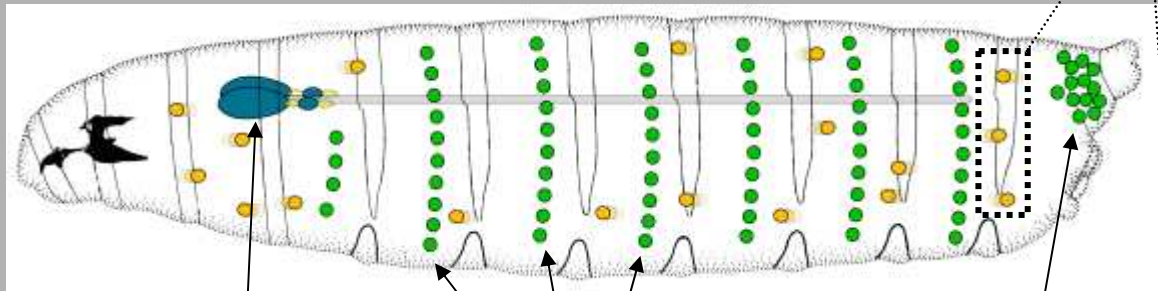


A riportergén terméke világít, így a vérsejtek az élő állatban is vizsgálhatók





Az *ecetmuslica* vérsejtjei és vérsejtképző szövetei



Plazmatocita



Kristálysejt



Lamellocita

A markereket hordozó sejtek világítanak, ezért a működésük könnyen vizsgálható

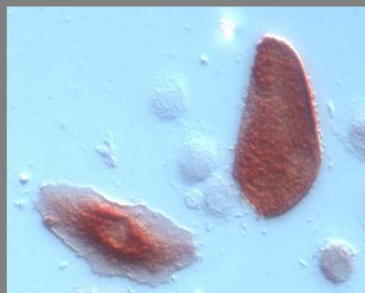
A vérsejtek közötti munkamegosztás



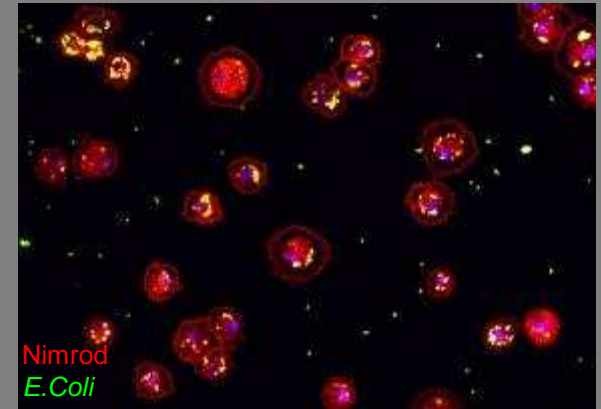
plazmatociták



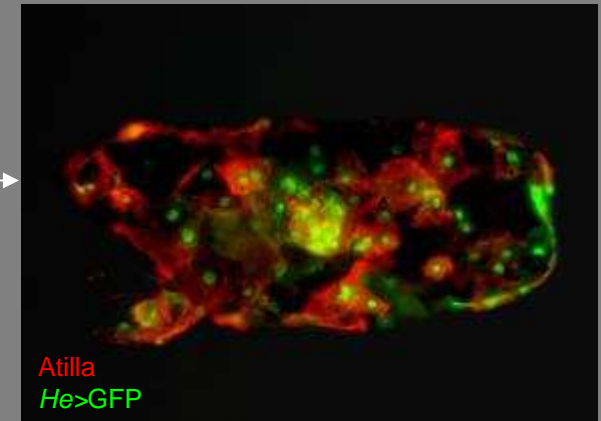
kristálysejtek



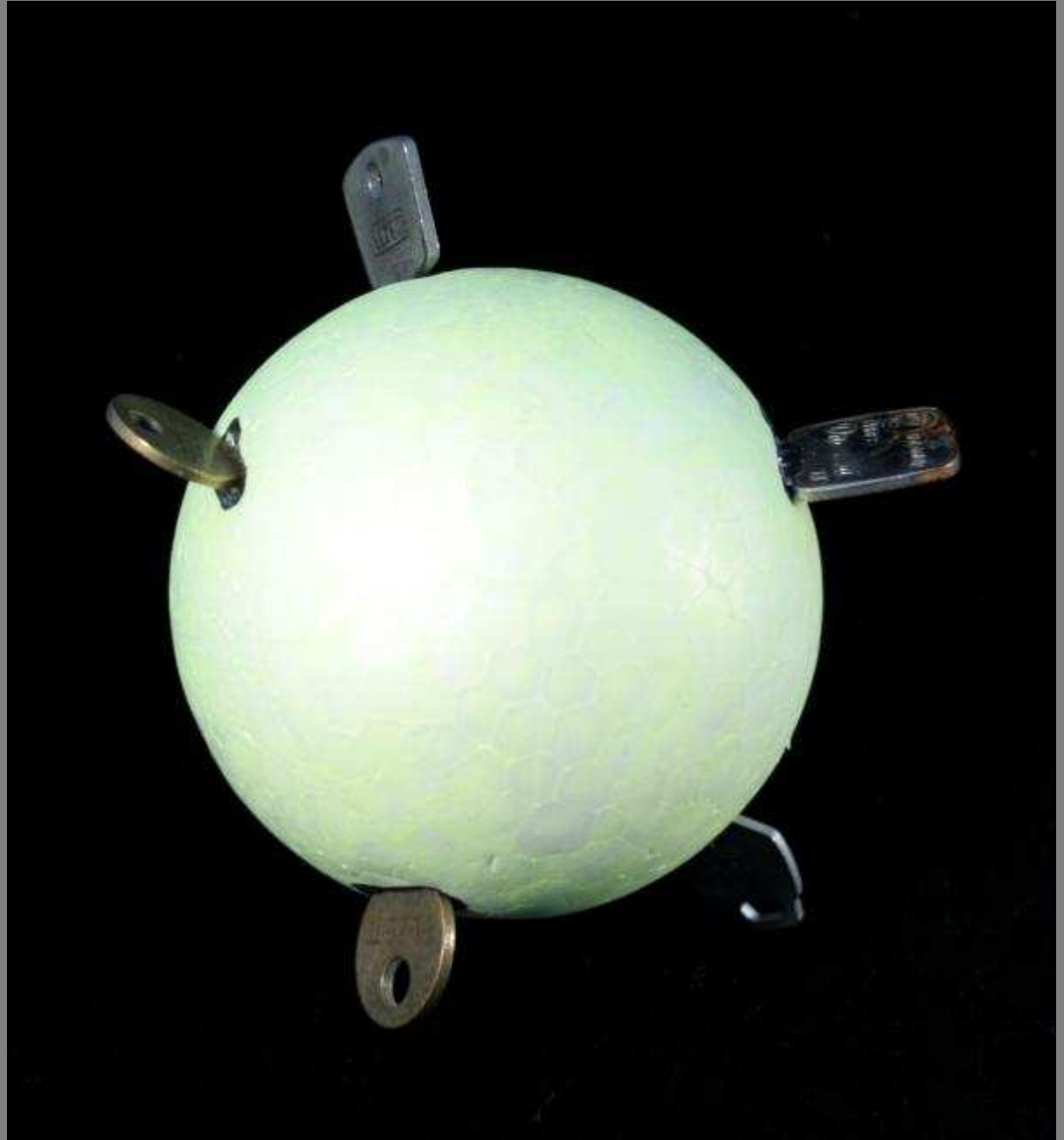
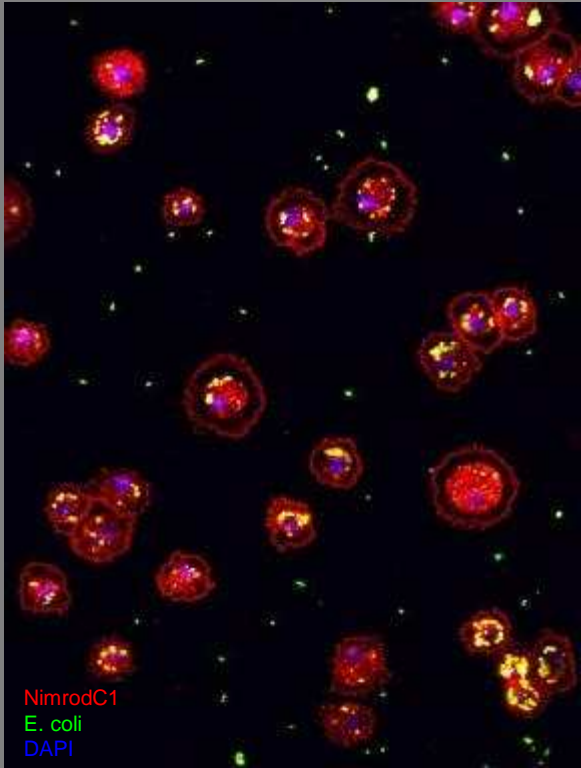
lamellociták

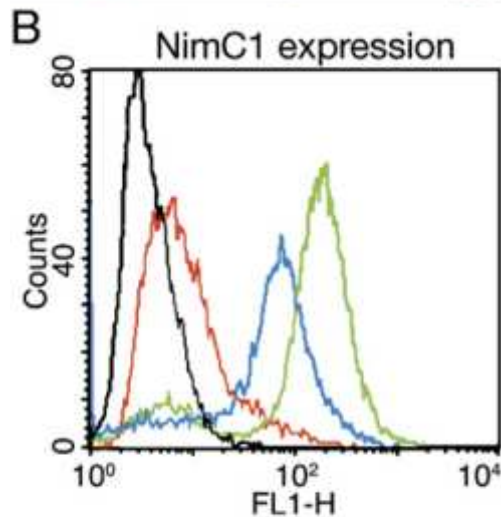
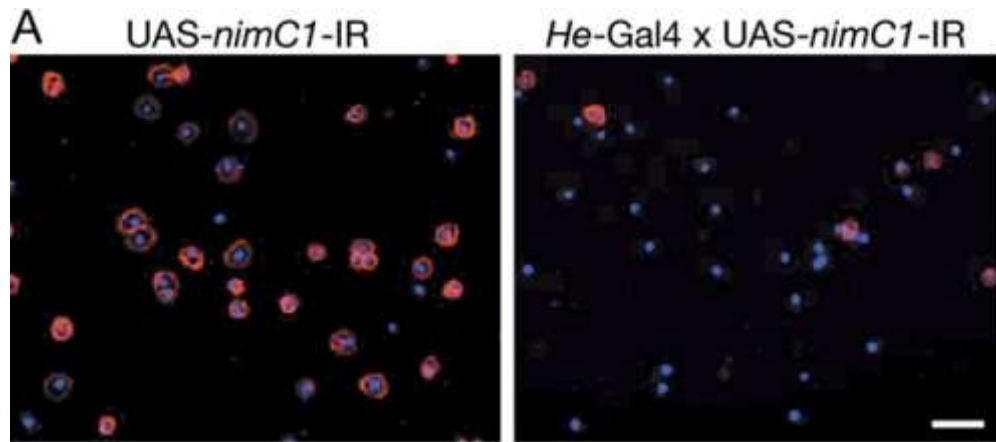


bekebelezés

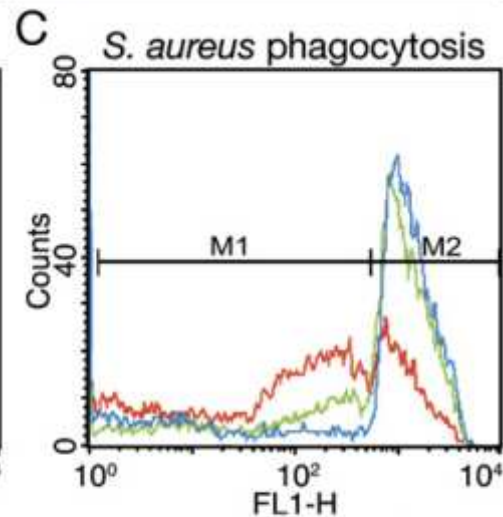


tokképzés

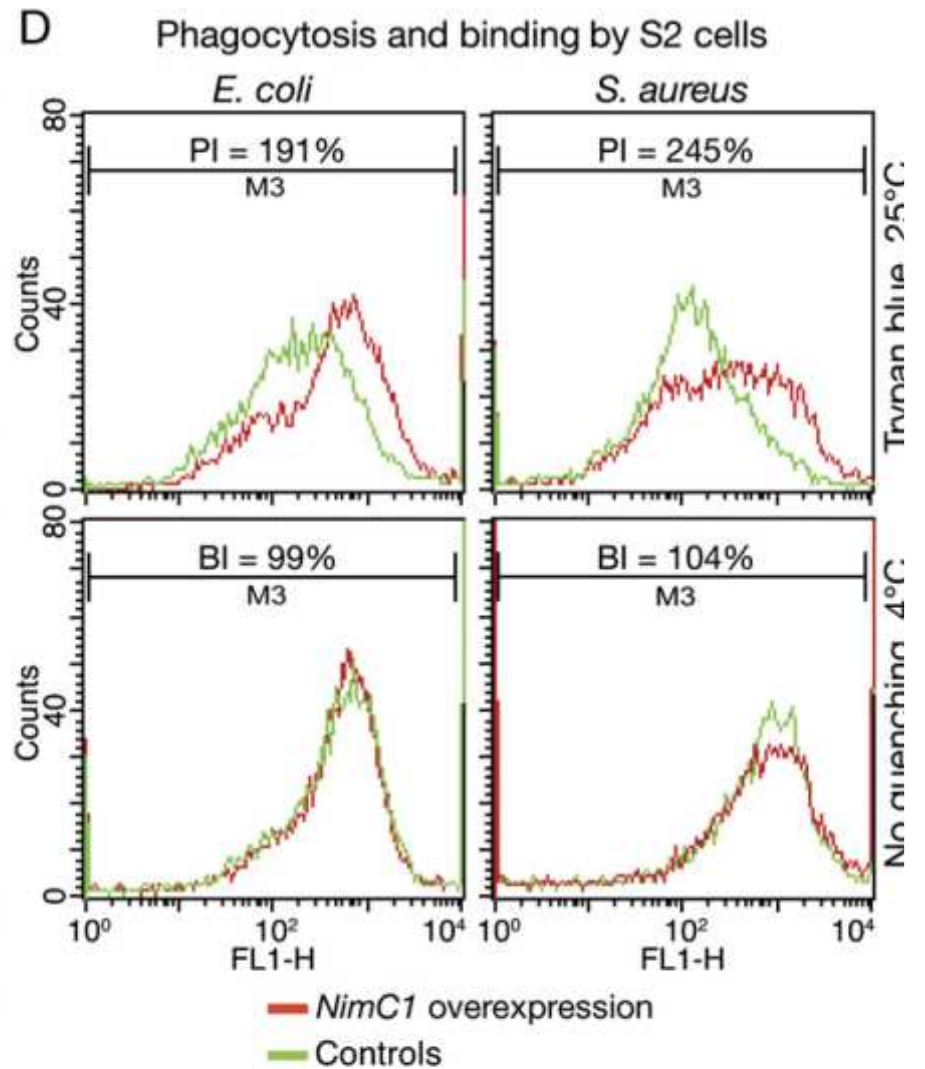




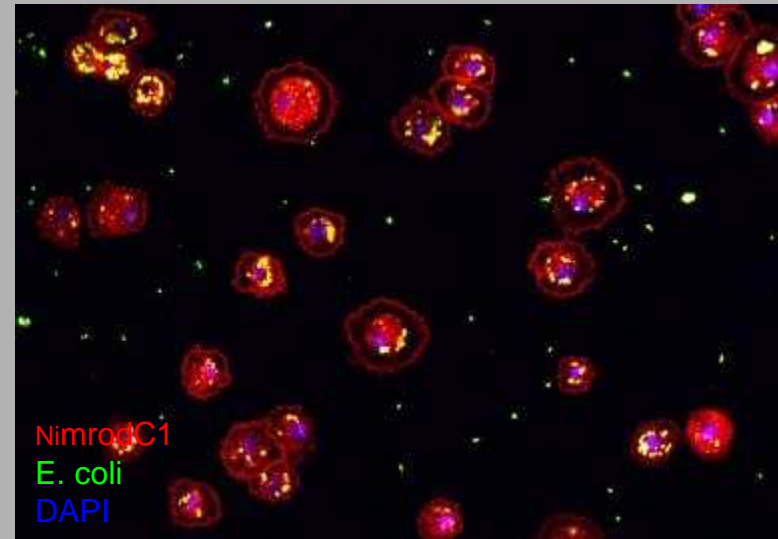
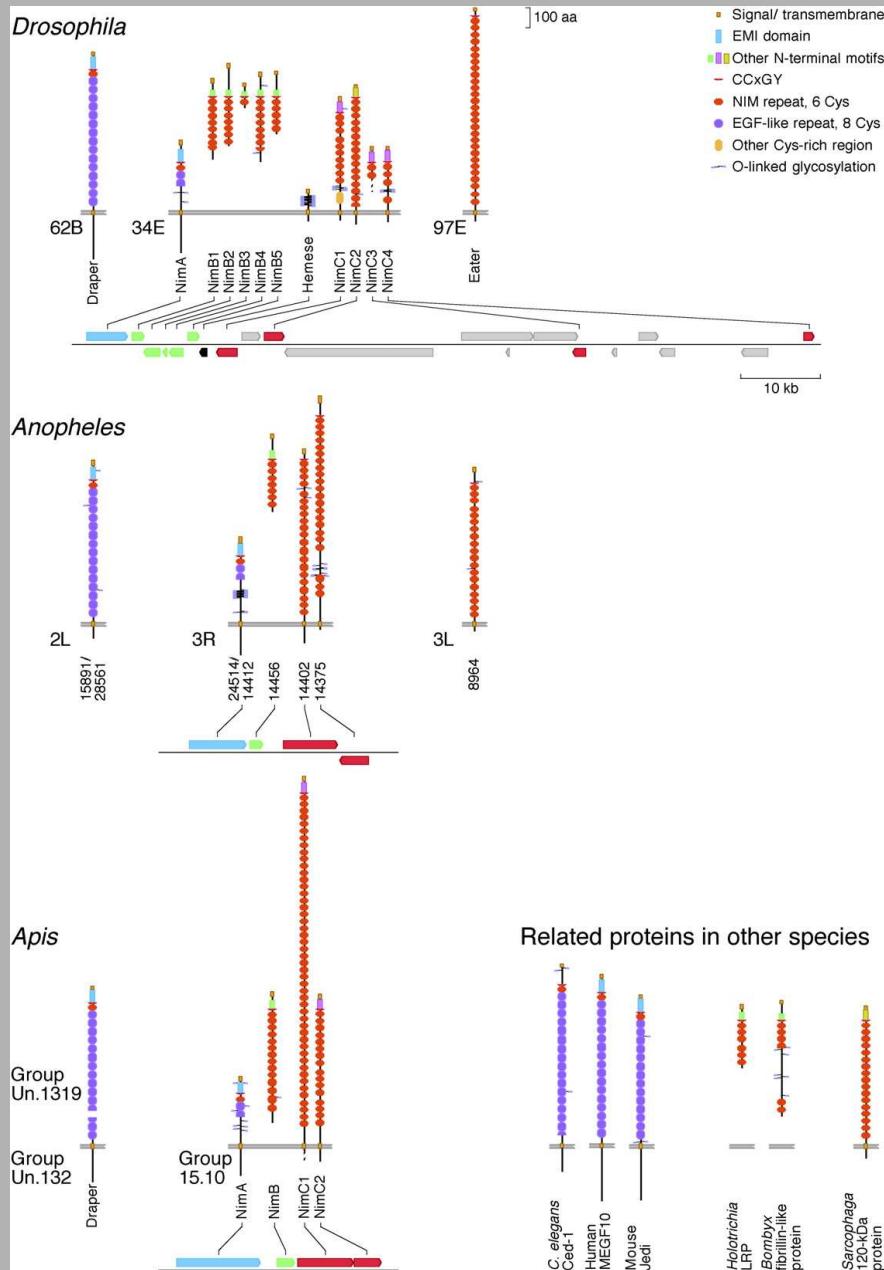
| <i>Drosophila</i> stock | Mean |
|---|------|
| He-Gal4 x UAS- <i>nimC1</i> -IR | 16 |
| He-Gal4 | 189 |
| UAS- <i>nimC1</i> -IR | 86 |
| He-Gal4 x UAS- <i>nimC1</i> -IR α-mouse IgG FITC control | 6 |



| <i>Drosophila</i> stock | PI (%) |
|---------------------------------|--------|
| He-Gal4 x UAS- <i>nimC1</i> -IR | 32 |
| He-Gal4 | 84 |
| UAS- <i>nimC1</i> -IR | 100 |

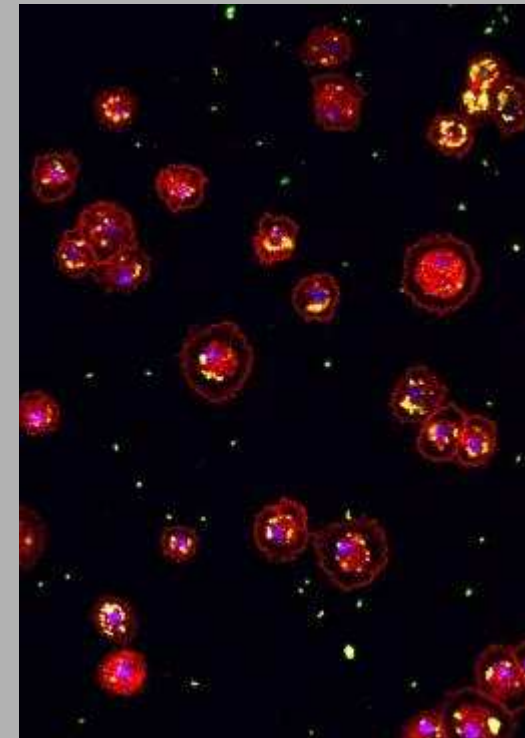
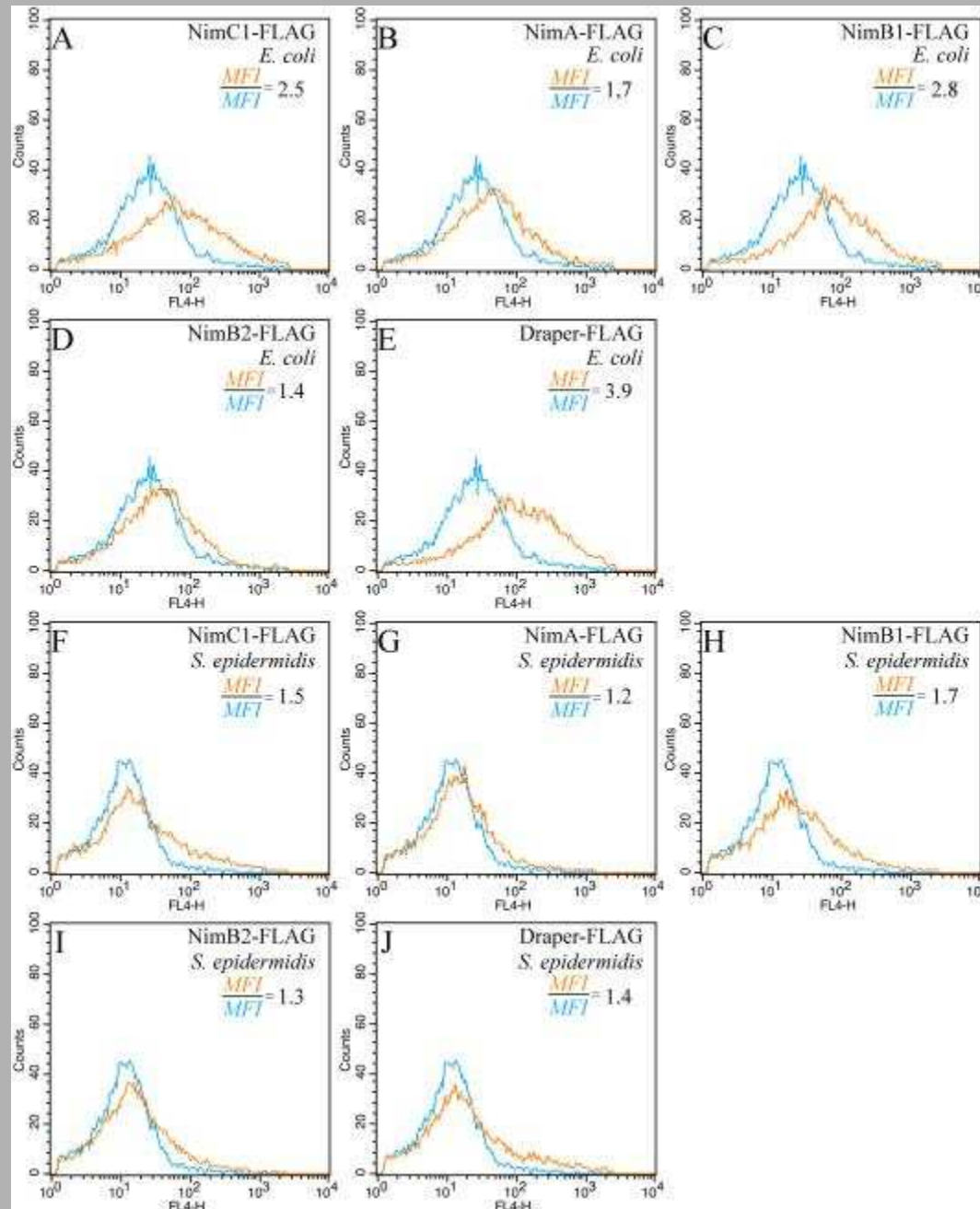


A Nimród fehérjecs család

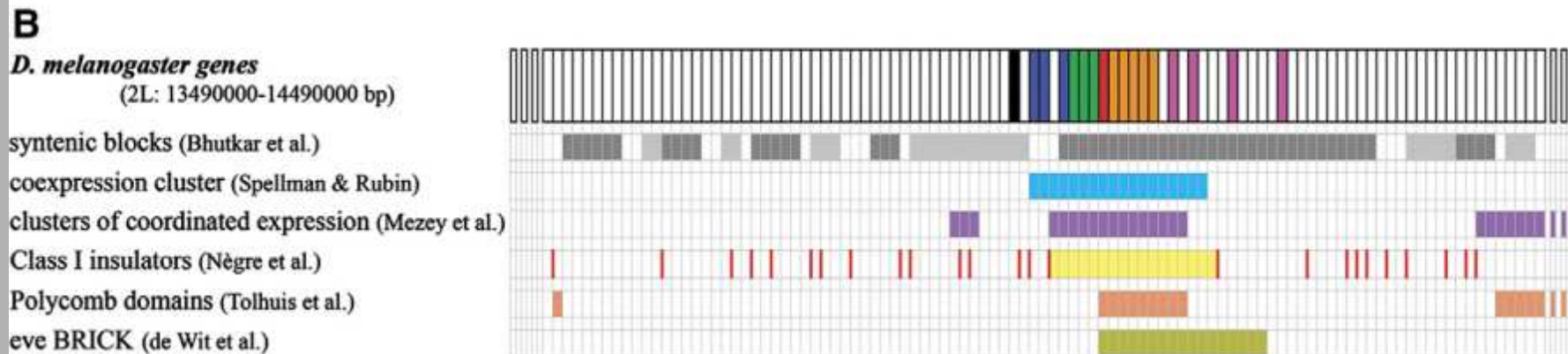
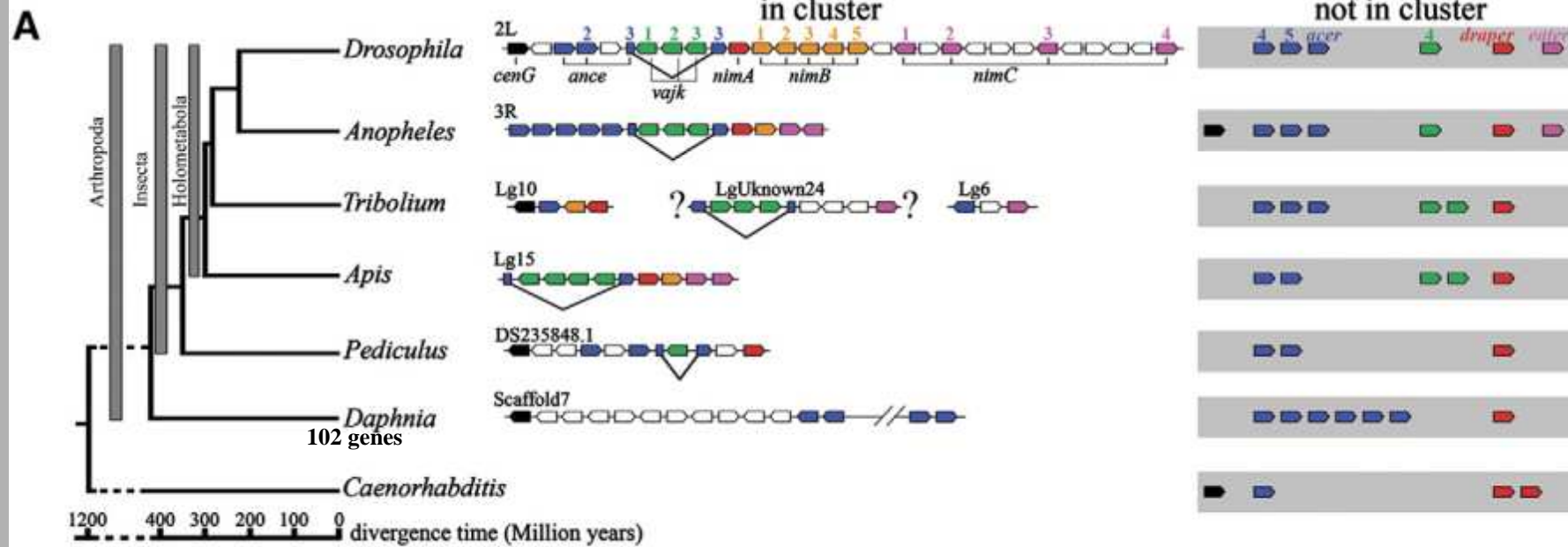


Kurucz et al. (2008) *Current Biol.* **101**:14192
 Somogyi et al. (2009) *Mol. Biol. Evol.* **25**:2337
 Somogyi et al. (2010) *FEBS Letters* **584**:4375

A Nimród fehérjék baktériumokhoz kapcsolódnak

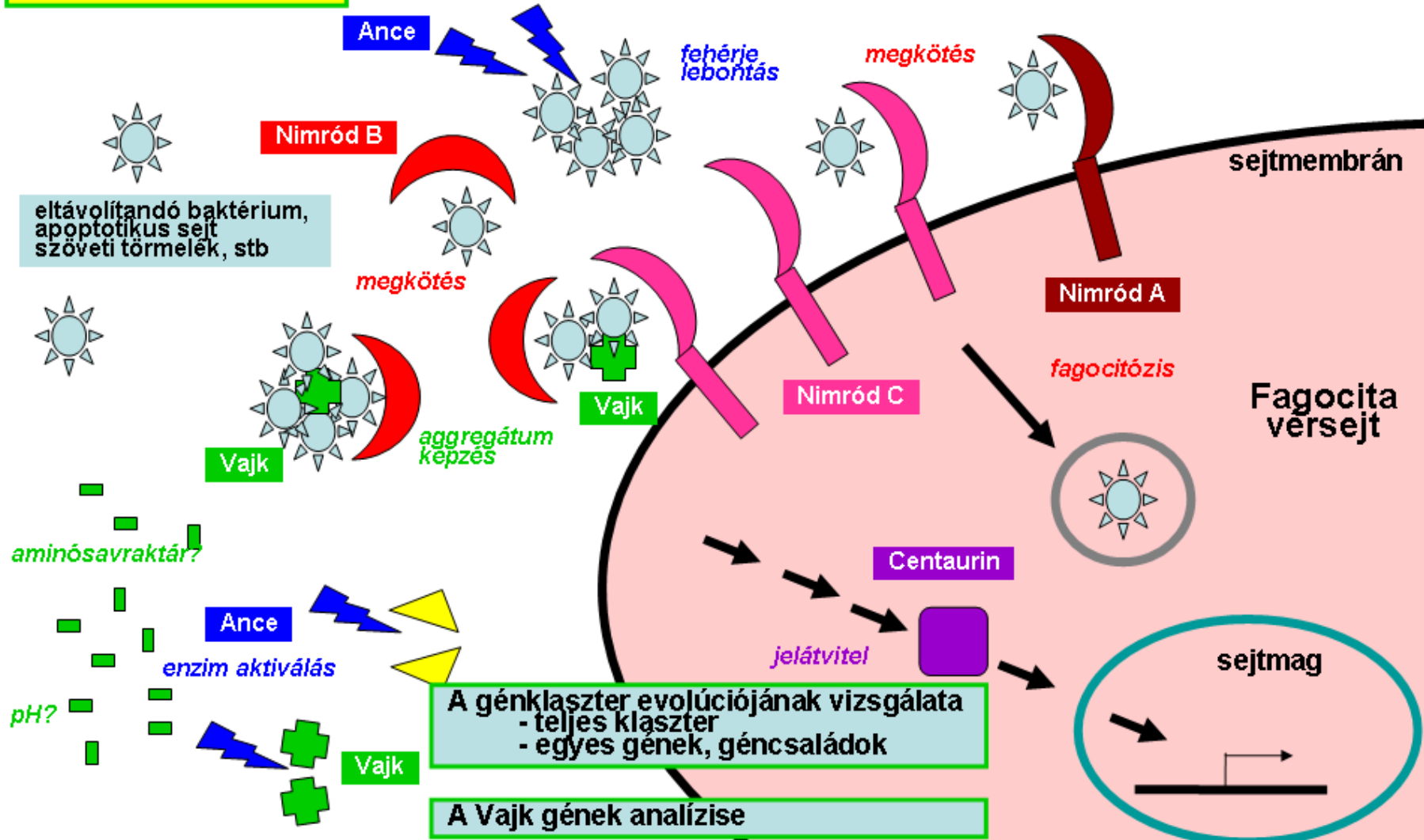


A Nimród géncsalád és a környezetében elhelyezkedő gének a törzsfejlődés során együtt maradtak - működési egység?



A Nimród fehérjecsalád funkciója: a bekebelezés és a mikróbák elpusztítása?

Munkahipotézisünk

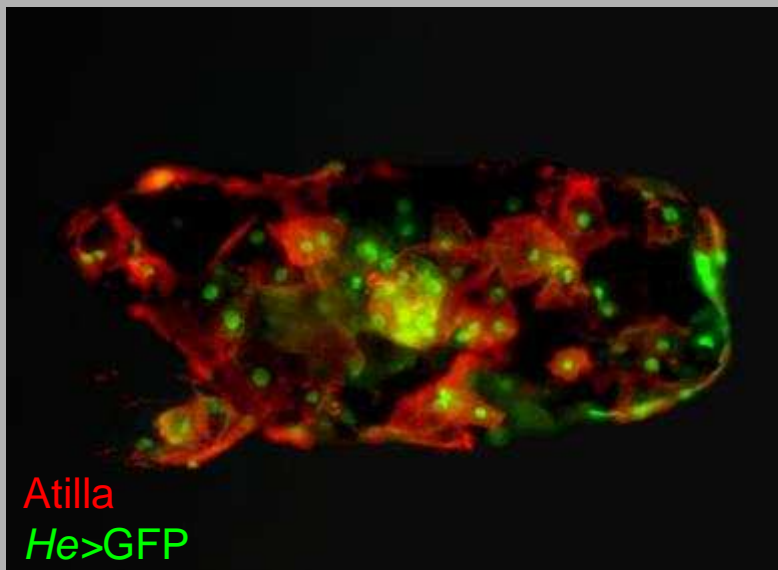
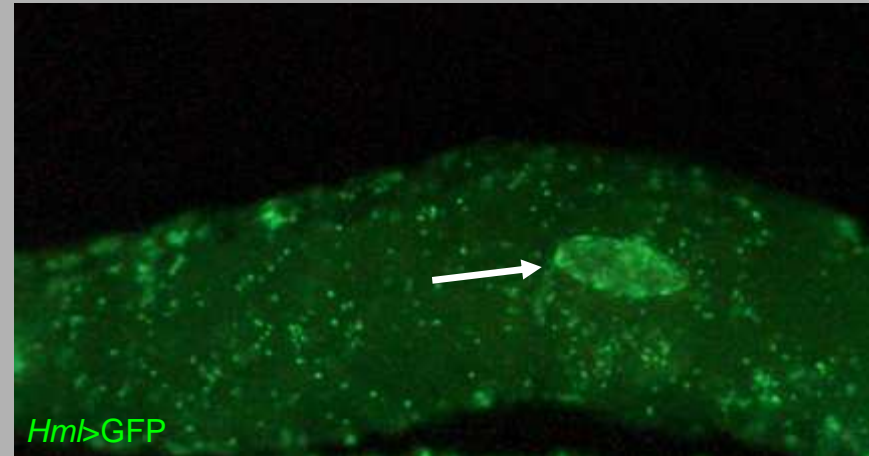


A hipotézis tesztelése:

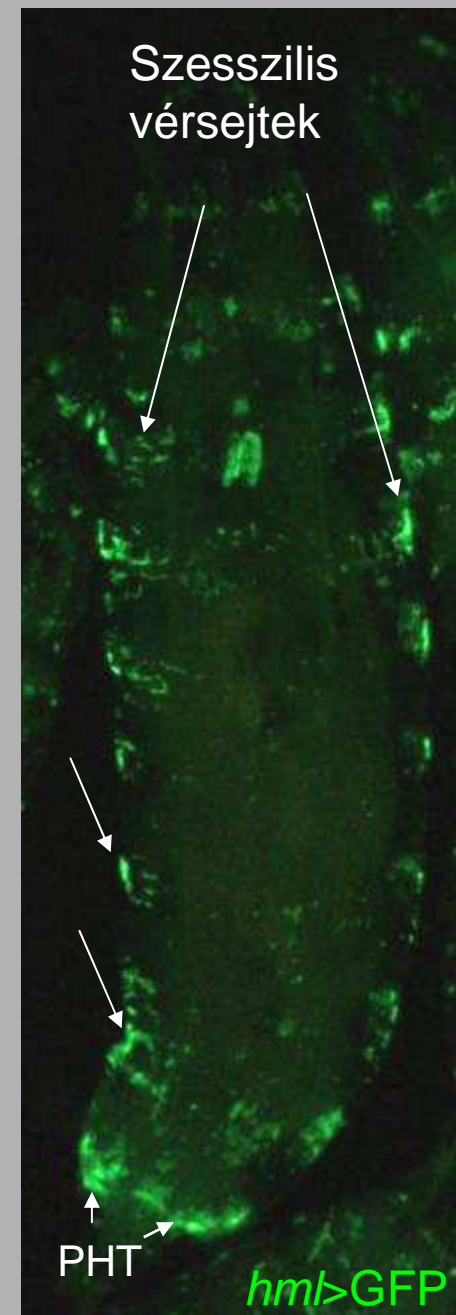
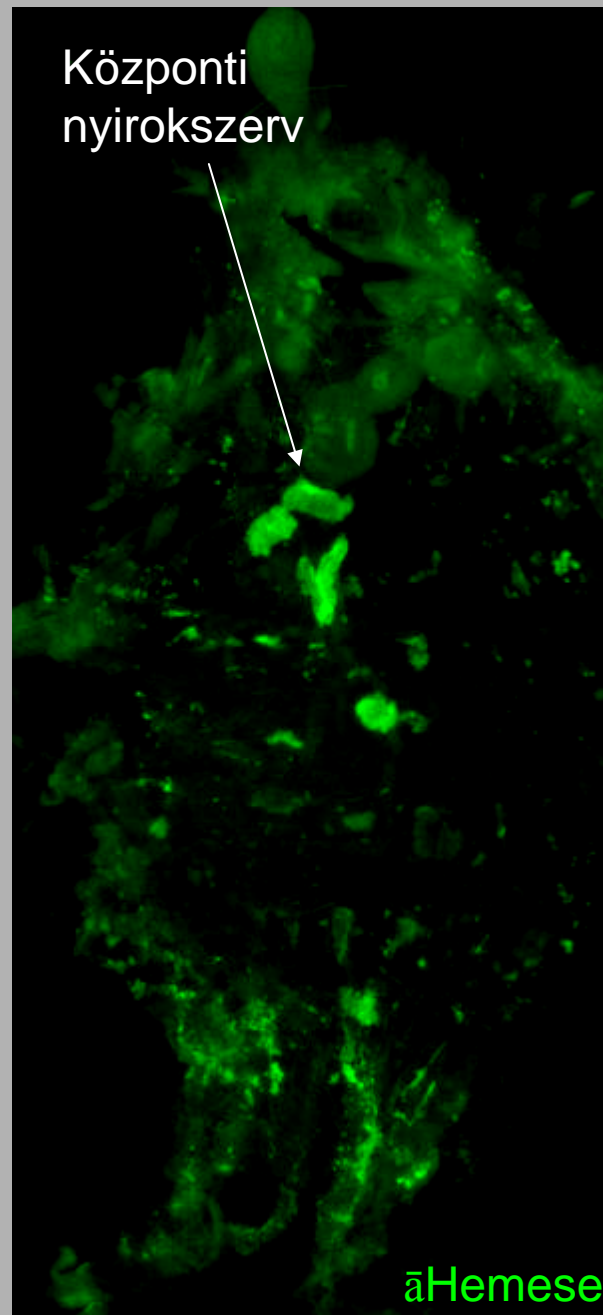
részletesebb génextpressziós vizsgálatok a klaszter génjein
(térben, időben – versejtek!)

genetikai kísérletek (mutánok elemzése, genetikai kölcsönhatások)

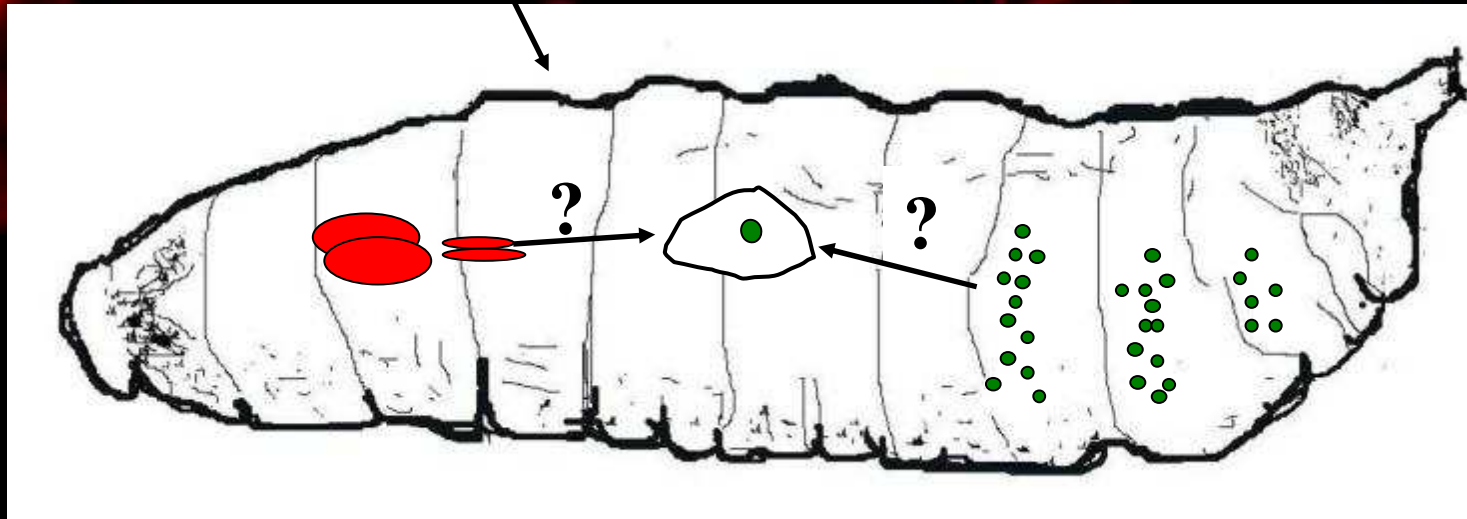
A vérsejtképző szöveteknek a tokképzésben és a vérsejtek differenciálódásában betöltött szerepe



A lárva véresejt-kompartimentumai



Honnan származnak az immunválasz során kialakuló vérsejtek, a lamellociták?



Központi
nyirokszerv

Szesszilis szövet

A dogma: a lamellociták a központi nyirokszervből származnak



Megfigyelés 1.:

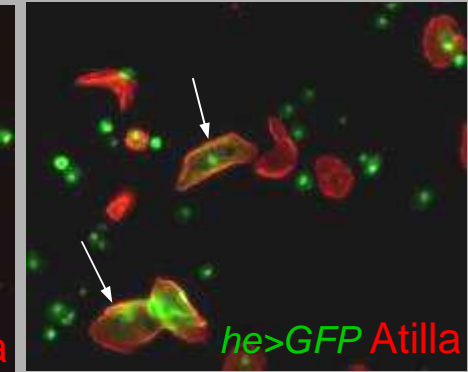
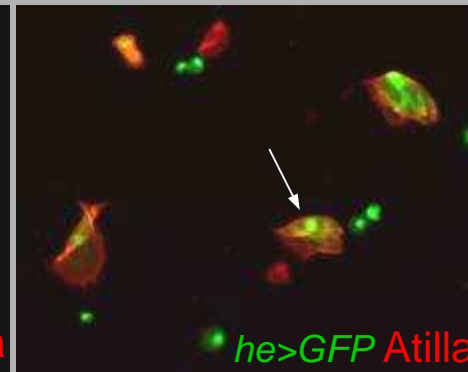
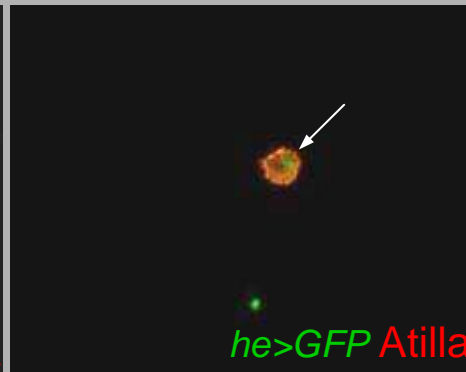
Immunindukciót követően a keringésben lamellociták jelennek meg.

24h

48h

72h

96h

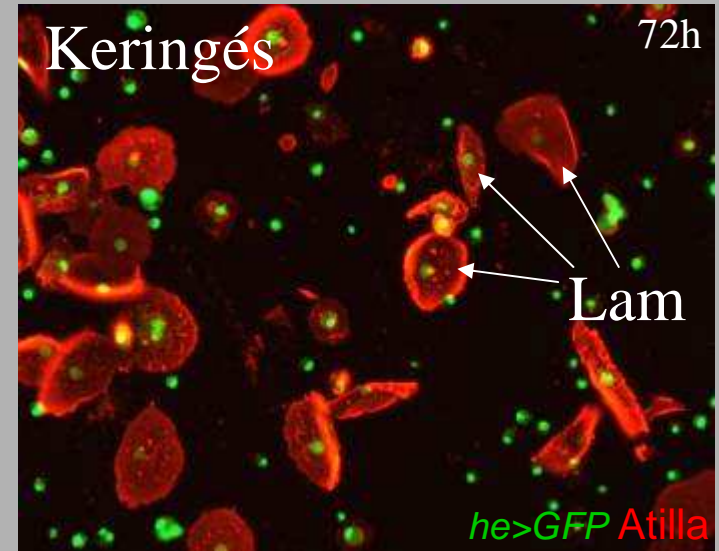
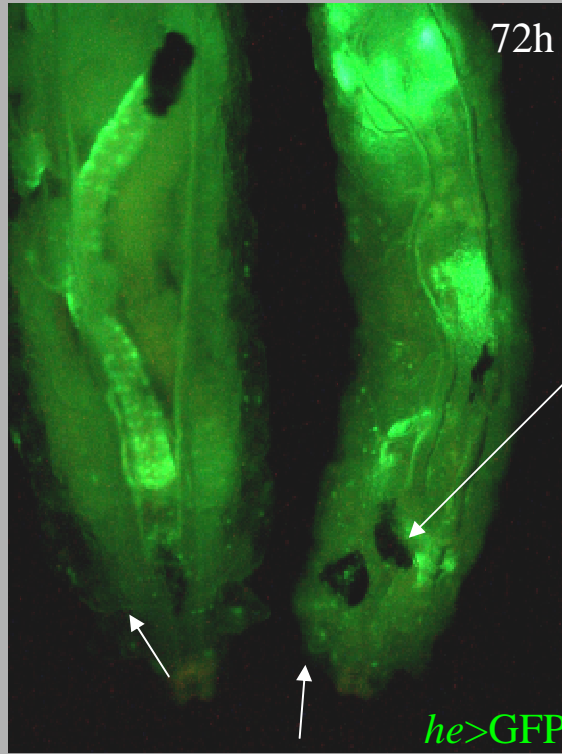
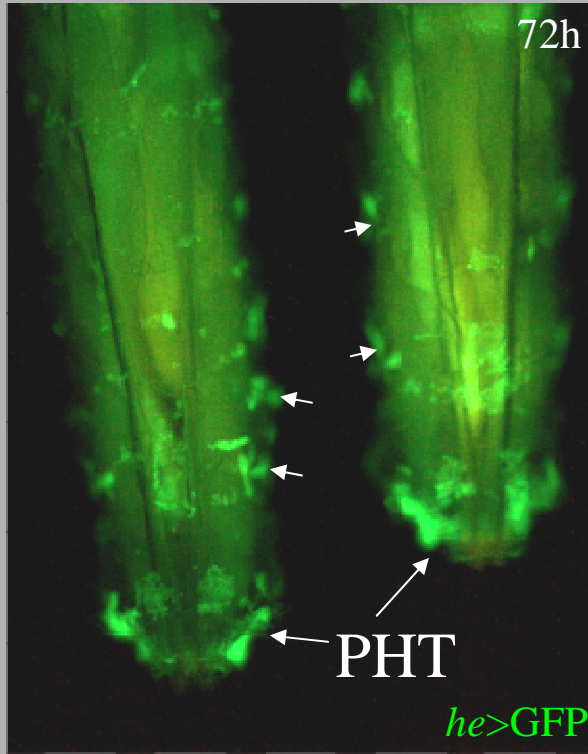


Megfigyelés 2.:

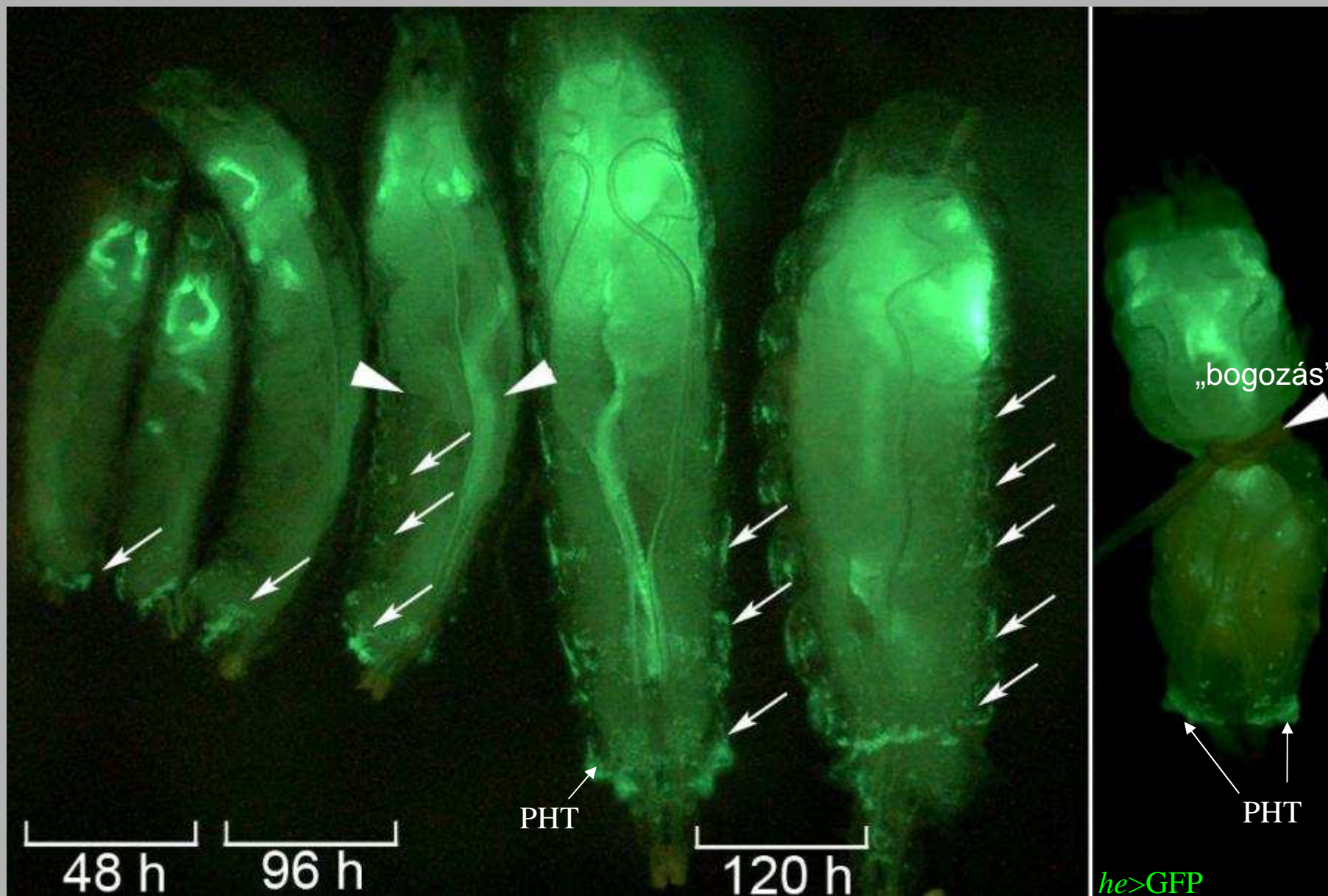
Immunindukciót követően a szesszilis szövet szerkezete felbomlik.

Kontroll

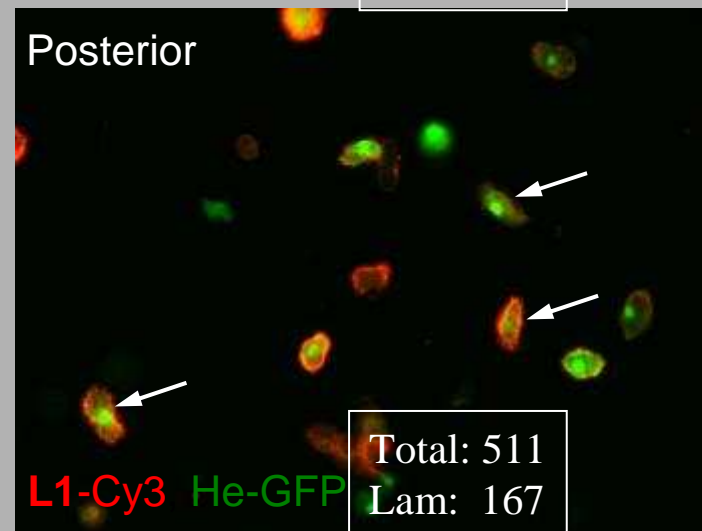
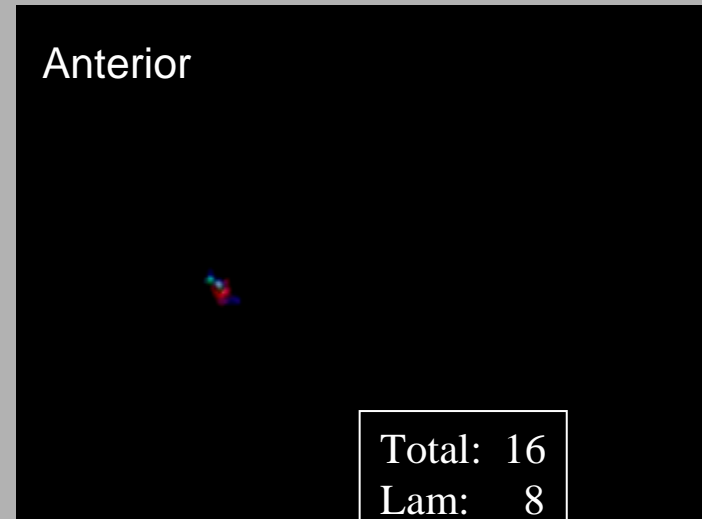
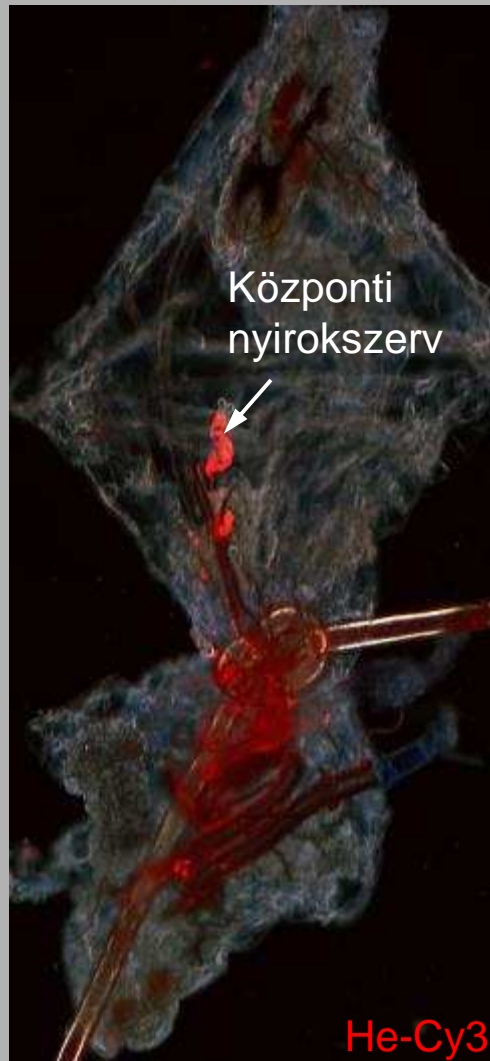
Indukált



A szesszilis szövet és a központi nyirokszerv elhelyezkedése lehetővé teszi, hogy fizikailag elválasszuk őket egymástól



Az immunválasz során a vérsejtek a szesszilis szövetből származnak 1.

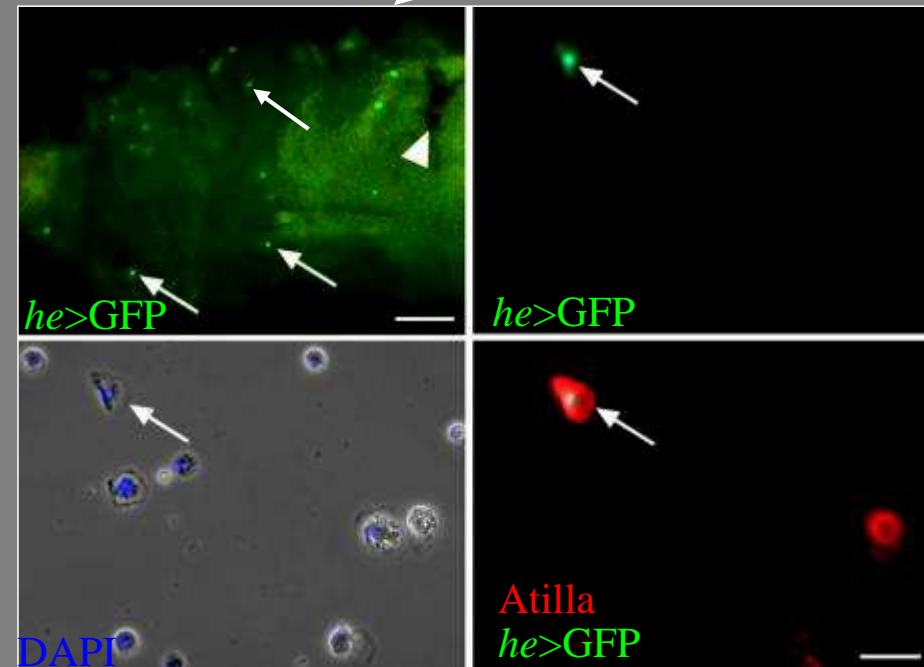
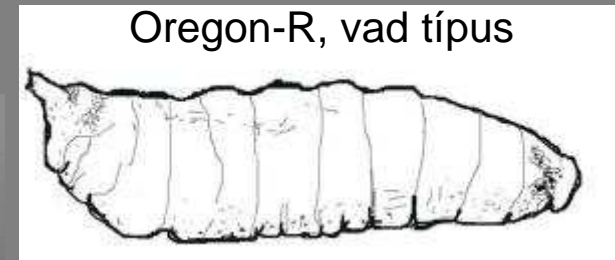
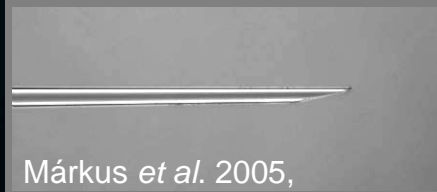
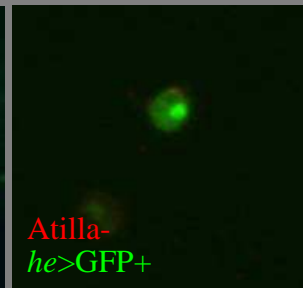
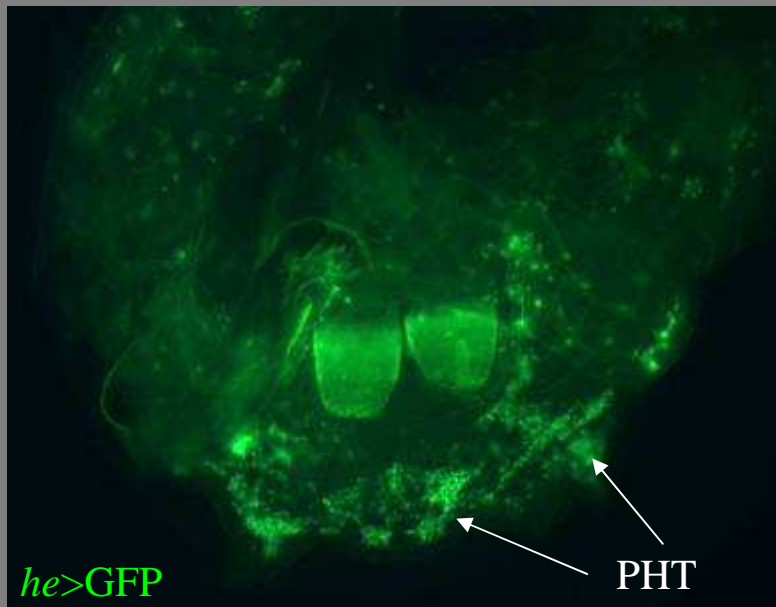


Márkus et al. PNAS (2009) 106:4805-4809

Márkus et al. PNAS 106:4805-4809

Az immunválasz során a vérsejtek a szesszilis szövetből származnak 2.

A szesszilis vérsejtek transzplantációja



| | | | | |
|----------------|--------|-------------------------|---------------------|-------------------------|
| Transzplantált | Túlélő | <i>GFP</i> ⁺ | Atilla ⁺ | <i>GFP</i> ⁺ |
| 90 | 11 | 53 | 15 | |

