

Magyar–német (TKA–DAAD) kutatócsere projekt

Záró beszámoló

A projekt adatai:

Nyilvántartási szám: 449419

Projektcím: A PKD aktivitás AMPA receptorok szállítását befolyásoló hatásának vizsgálata idegsejtekben és glioblasztóma tumorokban

Magyar projektvezető neve: Dr. Schlett Katalin

Magyar intézmény neve: Eötvös Loránd Tudományegyetem

Német projektvezető neve: Dr. Angelika Hausser

Német intézmény neve: Universitat Stuttgart

Támogatási időszak: 2020–2021

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

Sajnos a COVID-19 pandémia a német és magyar kutatócsoportok közötti kutatócserét jelentősen hátráltatta, a tervezett utazások és konferenciaszereplések jelentős része meghiúsult. Mindezek mellett ugyanakkor szerencsésnek tartjuk, hogy 2020 nyarán egy német PhD és egy magyar MSc-s hallgatónak, illetve 2021 őszén a magyar projektvezető rövid látogatása mellett egy magyar PhD és egy MSc-s hallgatónak is lehetősége nyílt a partner laboratórium meglátogatására. Magyar hallgatónk az online megrendezett biológus TDK és OTDK Konferenciákon is nagy sikerrel szerepeltek. Sajnos a német résztvevők 2021-ra tervezett látogatásait le kellett mondanunk a Németországban bevezetett utazási korlátozások miatt, ezért a projektidőszakban elsősorban a saját laboratóriumokban elvégzett eredményekre tudunk támaszkodni

Jelentős eredménynek tartjuk, hogy sikerült feltárnunk a protein kináz D (PKD) és az AMPA-típusú ionotróp glutamát receptorok közötti kölcsönhatást. Egy 2021-ben megjelent, közös tudományos publikációban igazoltuk, hogy az idegsejtek elektrofiziológiai sajátosságait és a tanulási folyamatok molekuláris alapjait szabályozó AMPA receptorok sejtmembránban való körforgását a PKD enzim aktivitása is szabályozza. Fixált és élő idegsejtekben elvégzett kísérleteink egyaránt megerősítették, hogy a PKD aktivitás gátlása az AMPA receptorok endocitózisát, azaz a szinaptikus membránból való visszavételét lelassítja. Sikerült bizonyítanunk azt is, hogy a PKD endocitózist szabályozó hatása a Rab5 kis GTPáz fehérje aktivitását szabályozó Rabaptin5 fehérjén keresztül érvényesül. Korábbi közös kutatómunkánk során már

bizonyítottuk, hogy a tanulási folyamatokhoz a PKD aktivitás alapvetően szükséges, így ezek az eredmények a memória kialakulásának és fenntartásának háttérében álló, eddig még nem ismert, PKD-függő szabályozó mechanizmusra is fényt derítettek. A tudományos közleményben Carlos O. Morales és Ignác Attila német és magyar PhD hallgatók megosztott első szerzőként szerepelnek, emellett Carlos O. Morales 2021 nyarán sikerrel védte meg doktori disszertációját is.

Az AMPA receptorok glioblasztóma sejtekben történő kifejeződésének és ennek a tumoros sajátságokra gyakorolt hatásának vizsgálatát szintén folytattuk. Szentgyörgyi Viktória MSc-s hallgatónk 2020-as németországi kutatómunkája során olyan PKD mutáns konstrukciókat alakított ki, amelyek segítségével a PKD enzim működését irányító útvonalakat is vizsgáltuk. Az elmúlt évek kutatásai ugyanis feltárták, hogy a PKD molekulák N-terminálisán egy dimerizációért felelős, ún. ULD domén található. Elképzeléseink szerint a plazmamembrán diacil-glicerinjéhez kötődő PKD molekulák közötti dimerizáció is szükséges az enzim aktivációjához. A dimerizációban, illetve az enzimatis funkciókban gátolt pontmutáns PKD konstrukciók felhasználásával elemeztük, hogy ezek mennyire befolyásolják a GluA1 elegység termelődését és sejtfelszíni mennyiségét, illetve a glioblasztóma vonalak tumoros összejtjeinek fennmaradását. Ez utóbbi témakör egy német MSc hallgató, Stefanie Föller diplomamunkájául is szolgált.

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

A német és a magyar pályázók 2006 óta intenzív tudományos együttműködést folytatnak, amely jelentősen elősegíti mind a magyar, mind a német hallgatók tudományos képzését és kompetenciáját. Az elmúlt 15 évben 4 BSc, 7 MSc és 8 PhD hallgatónk vett részt a kutatócsere programban. A két laboratórium tudományos együttműködésének keretében 5 BSc, 13 MSc és 6 PhD dolgozat született, magyar hallgatóink igen eredményesen szerepeltek a Tudományos Diákköri Konferenciákon is. Mindezidáig 3 német hallgató töltötte kutatási gyakorlatát a budapesti laboratóriumban. Tudományos együttműködésünk intenzitását 7 közös kutatási publikáció (4 az elmúlt 5 évben) és egy közös könyvfejezet előkészítése is alátámasztja.

Az elmúlt projektidőszakban, 2020–21-ben a pandémia ellenére az alábbi eredményeink születtek:

Közös tudományos közlemény:

Morales Oueslati CO, Ignacz A, Bencsik N, Ratkai AE, Lieb WS, Eisler SA, Schlett K, Hausser A. (2021) PKD promotes activity-dependent AMPA receptor endocytosis in hippocampal neurons. *Traffic* 22(12):454–470. doi: 10.1111/tra.12819.

Közös kutatáson alapuló PhD-dolgozat:

Carlos Omar Oueslati Morales: Regulation of basal and activity-mediated AMPAR endocytosis by Protein Kinase D (PKD); University of Stuttgart, 2021; magna cum laude.

Közös kutatáson alapuló MSc dolgozatok:

Stefanie Föller: Crosstalk of glutamate receptors and protein kinase D in glioblastoma stem cell maintenance. University of Stuttgart, 2020

Fruzsina Csehó: The role of Caskin1 protein in the maturation and maintenance of dendritic spines in vitro. Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE), 2021

Hajar El Aouad: The effect of activity deprivation on hippocampal organotypic slice cultures. Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE), 2021

Közös kutatáson alapuló BSc dolgozatok:

Nagy-Herczeg Domonkos: Az AMPA receptorok szállításának és turnoverének szabályozása. Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE), 2020

Bauer Krisztina: A preszinaptikus struktúra és funkcióinak szabályozása. Eötvös Loránd Tudományegyetem (ELTE), 2020

Hallgatói versenyek és díjak

Nagy-Herczeg Domonkos: Dendrittüskék aktin dinamikájának vizsgálatára használt fluoreszcens jelölések összehasonlítása **ELTE Biológus TDK, 2020 – 1. helyezés**

Csehó Fruzsina: A Caskin fehérje szerepe a dendrittüskék érésében és morfológiai változásában. The role of Caskin1 protein in the maturation and maintenance of dendritic spines in vitro. **ELTE Biológus TDK, 2020 – különdíj**

Nagy-Herczeg Domonkos: Dendrittüskék aktin dinamikájának vizsgálatára használt fluoreszcens jelölések összehasonlítása **Országos Biológus TDK, 2021 – 2. helyezés**

Csehó Fruzsina: A Caskin fehérje szerepe a dendrittüskék érésében és morfológiai változásában. The role of Caskin1 protein in the maturation and maintenance of dendritic spines in vitro. **Országos Biológus TDK, 2021 – különdíj**

Hazai és nemzetközi konferencia-részvételek:

Nagy-Herczeg, Domonkos (2020) Comparison of popular fluorescent actin markers to measure actin dynamics in dendritic spines. Invited talk at the 4th Hungarian Neuroscience Meeting for Undergraduate Students, Graduate Students and Junior Post-docs, 2020; Szeged, Hungary

Attila Ignácz, Anikó Rátkai, Brigitta Tagscherer-Micska, Attila Szűcs, Katalin Schlett (2020) High-throughput investigation of neuronal activity in vitro using Multi Electrode Arrays. 17th Annual Conference of the Hungarian Neuroscience Society, Szeged, Hungary

Az együttműködés további szempontjai: (max. 3 oldal)

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

A német és a magyar pályázók 2006 óta intenzív tudományos együttműködést folytatnak, amely jelentősen elősegíti mind a magyar, mind a német hallgatók tudományos képzését és kompetenciáját. Az elmúlt 15 évben 4 BSc, 7 MSc és 8 PhD hallgatónk vett részt a kutatócsere programban. A két laboratórium tudományos együttműködésének keretében 5 BSc, 13 MSc és 6 PhD dolgozat született, magyar hallgatóink igen eredményesen szerepeltek a Tudományos Diákköri Konferenciákon is. Mindezidáig 3 német hallgató töltötte kutatási gyakorlatát a budapesti laboratóriumban. Tudományos együttműködésünk intenzitását 7 közös kutatási publikáció (4 az elmúlt 5 évben) és egy közös könyvfejezet előkészítése (ld. részletesebben a 7. pontban) is alátámasztja.

2. Hogyan befolyásolta a támogatás a projekt előmenetelét?

A pandémia ellenére megvalósult kutatócserek nemcsak a hallgatók képzését segítették elő, hanem fontos szakmai eredményekkel is szolgáltak (ld. az B pontban részletezve). A 2021 őszén tett látogatások a projekt szakmai elősegítése mellett a német laboratóriumban 2020-ban installált szuperrezolúciós mikroszkópos rendszerrel történő megismerkedést, illetve egy újfajta mintaelőkészítési technika, az ún. expanziós mikroszkópia stuttgarti meghonosítását is elősegítette.

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

Szerencsésnek tekintjük, hogy a 2020 nyarán, illetve 2021 őszén átmenetileg enyhülő járványügyi intézkedések során magyar hallgatóink németországi kutatómunkáját 1–1 hónapra sikerült biztosítanunk. A 2020-ban előállított pontmutánsokkal mind a hazai, mind a németországi laboratóriumban is dolgozunk, így a második évi kutatómunka az első évi eredményekhez szervesen kapcsolódott.

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

Az elmúlt két évben két magyar MSc és egy PhD hallgató, a német partnertől pedig egy PhD hallgató használhatta ki a kutatócsere előnyeit. Mindannyiuk esetében igaz, hogy a partner laboratóriumban végzett munka jelentősen növelte szakmai tudásukat, önállóságukat és a kutatás iránti elköteleződésüket, így egyértelmű, hogy a kutatói pályán maradnak. A kutatócsereben részt vett egyik MSc-s hallgatónk, Szentgyörgyi Viktória jelenleg Svájcban, Bázelen PhD hallgató, Ignác Attila pedig 2022-ben fogja terveink szerint a doktori fokozatot megszerezni. Nagy-Herczeg Domonkos 2022-ben fejezi be MSc tanulmányait, ő is PhD képzésre fog jelentkezni.

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

1. Czöndör K, Ellwanger K, Fuchs YF, Lutz S, Gulyás M, Mansuy IM, Hausser A, Pfizenmaier K, Schlett K. (2009) Protein kinase D controls the integrity of Golgi apparatus and the maintenance of dendritic arborization in hippocampal neurons. *Mol Biol Cell*. 20(7):2108–20.

2. Tárnok K, Gulyás M, Bencsik N, Ferenc K, Pfizenmaier K, Hausser A, Schlett K. (2015) A new tool for the quantitative analysis of dendritic filopodial motility. *Cytometry A*. 87(1):89–96. doi: 10.1002/cyto.a.22569.
3. Bencsik N, Szíber Zs, Liliom H, Tárnok K, Borbély S, Gulyás M, Rátkai A, Szűcs A, Hazai-Novák D, Ellwanger K, Rácz B, Pfizenmaier K, Hausser A, Schlett K. (2015) Protein kinase D promotes synaptic plasticity by regulating actin dynamics in dendritic spines. *J Cell Biol*. 210(5):771–83. doi: 10.1083/jcb.201501114.
4. Szíber Z, Liliom H, Morales CO, Ignác A, Rátkai AE, Ellwanger K, Link G, Szűcs A, Hausser A, Schlett K. (2017) Ras and Rab interactor 1 controls neuronal plasticity by coordinating dendritic filopodial motility and AMPA receptor turnover. *Mol Biol Cell*. 28(2):285–295. doi: 10.1091/mbc.E16-07-0526. A Highlights from MBoC selection.
5. Liliom H, Tárnok K, Ábrahám Z, Rácz B, Hausser A, Schlett K. (2017) Protein kinase D exerts neuroprotective functions during oxidative stress via nuclear factor kappa B-independent signaling pathways. *J Neurochem*. 142(6):948–961. doi: 10.1111/jnc.14131.
6. Hausser A, Schlett K. (2019) Coordination of AMPA receptor trafficking by Rab small GTPases. *Small GTPases*. 10(6):419–432. doi: 10.1080/21541248.2017.1337546.
7. Morales Oueslati CO, Ignacz A, Bencsik N, Rátkai AE, Lieb WS, Eisler SA, Schlett K, Hausser A. (2021) PKD promotes activity-dependent AMPA receptor endocytosis in hippocampal neurons. *Traffic* 22(12):454–470. doi: 10.1111/tra.12819.

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

Ahogy korábban is jeleztük, a pandémia jelentősen hátráltatta, illetve meg is akadályozta a tervezett utazások lebonyolítását. Mindezek ellenére együttműködésünket sikeresen folytattuk.

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

A 2021-ben megjelent közös közleményünk alapján felkértek minket arra, hogy az AMPA receptorok patológiás működésének következtében kialakuló neurológiai problémákról egy összefoglaló tanulmányt készítsünk az Elsevier kiadó *“Progress in Molecular Biology and Translational Science” (PMBTS)* könyvsorozatában, a *„Receptor Endocytosis And Signalling In Health And Disease”* címmel tervezett kötetben. Ennek tervezett címe:

Norbert Bencsik, Carlos O. Oueslati Morales, Angelika Hausser, Katalin Schlett: Endocytosis of AMPA receptors: Role in neurological conditions.

Az összefoglaló közlemény leadási határideje 2022 januárjának vége.

Fontos eredménynek tartjuk azt is, hogy a német kutatócsoport 2021-ben elnyerte a DFG kutatási támogatását, így 2022-ben két új PhD hallgató kezdi meg Stuttgartban a kutatómunkáját. Mindkettőjük esetében tervezzük a magyarországi utazást, hogy Budapesten sajátíthassák el az idegsejttenyészetek készítéséhez és fenntartásához szükséges technikai ismereteket.

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

Nincs.

Kelt: Budapest, 2021. december 30.

Dr. Schlett Katalin