

# **A fagocita receptorok szerepének vizsgálata a neutrofil granulociták által aktiváció hatására képződő extracelluláris vezikulák termelésében**

Doktori tézis

**Dr. Bartos Balázs Ádám**

Semmelweis Egyetem  
Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola



- Témavezető: Dr. Ligeti Erzsébet, Ph.D., egyetemi tanár, az MTA tagja, Dr. Lőrincz Ákos, Ph.D.
- Hivatalos bírálók: Dr. Cervenák László Ph.D., tudományos főmunkatárs  
Dr. Józsi Mihály Ph.D., egyetemi tanár
- Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Csala Miklós Ph.D., egyetemi tanár
- Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Sármai Gabriella Ph.D., egyetemi tanár  
Dr. Tóth Sára Ph.D., egyetemi docens

Budapest  
2021

## Bevezetés

A neutrofil granulociták a perifériás vérben legnagyobb számban előforduló, terminálisan differenciált rövid életidejű fehérvérsejtek. A természetes immunitás sejtjeinek tekinthetőek, amik az elsők között veszik fel a harcot a betolakodó patogénekkal. Az érpályából kilépett aktivált neutrofil felismeri az opsonizált kórokozókat, bekebelezi és a fagoszómában granulumfehérjékkel és reaktív oxigénszármazékok (ROS) közreműködésével elpusztítja azokat. A fagocitózis a neutrofilek leghatékonyabb patogén elimináló funkciója, ami egy membrán receptorokból kiinduló komplex jelátviteli út által szabályozott folyamat. Azokat a neutrofil membrán receptorokat, amelyek közvetlenül képesek fagocitózist indítani, fagocita receptoroknak nevezzük. Ide tartoznak a komplement receptorok, az Fc receptorok és egyes C-típusú lektinek. A többi neutrofil membrán receptor, mint például a Toll-like, a kemokin, vagy a TNF $\alpha$  receptorok nem képesek közvetlenül fagocitózist indítani, de jelátvitelüknek fontos szerepe van a neutrofilek aktiválásában.

A neutrofil granulociták nem csak a sejten belül veszik fel a küzdelmet a kórokozókcal, hanem a sejtek közötti térben is képesek elpusztítani a patogéneket. Az extracelluláris patogén elimináló funkciók közé tartozik az úgynevezett neutrofil extracelluláris csapda (NET) képzése, a degranuláció, valamint az aktiváció hatására keletkező antibakteriális extracelluláris vezikulák termelése. Az

extracelluláris vezikulák változatos méretű és morfológiájú membránnal határolt képletek, melyek az intercelluláris kommunikáció egyik új formájának tekinthetőek. A munkacsoportunk korábban kimutatta, hogy az opszonizált baktériummal való inkubáció hatására a neutrofilek a spontán termelődött EV-khez (sEV) képest egy mennyiségben és összetételében eltérő vezikula populációt termelnek. Ezt a vezikula populációt nevezték el aktiváció hatására képződő antibakteriális EV-nek (aEV). Az sEV-khez képest több granulumfehérjét és sejtfelszíni receptort tartalmazó aEV-k képesek voltak a *S. aureus* és az *E.coli* növekedését gátolni.

A neutrofil fagocita receptorai, közül az Fc receptorokról és a komplement receptorokról, különös tekintettel az integrin szerkezetű MAC-1-ről korábban kimutatták, hogy a fagocitózis mellett a degranulációt, a NET képződést, a neutrofil szuperoxid termelését is képesek szabályozni. Munkám célja az volt, hogy felderítsük a fagocita receptorok szerepét neutrofilek aEV termelésében. Ezen kívül a különböző receptor stimulusra keletkező EV populációk mennyiségi és minőségi összetételének feltérképezését, valamint a neutrofilek aEV termeléséhez és a fagocitózisához vezető jelátvitel kapcsolatának felderítését tűztem ki célul.

## Célkitűzések

Az értekezés alapjául szolgáló munkám során a következő kérdésekre kerestem a választ:

1. Mely fagocita receptorok játszanak szerepet az opsonizált részecske kiváltotta neutrofil granulocita eredetű aEV termelésben és ezen részecskék fagocitózisában?
2. Miként befolyásolják a különböző receptorokból kiinduló stimulusok a neutrofil eredetű EV-k mennyiségi és minőségi összetételét?
3. Szükségesek-e a tirozin kinázok az opsonizált részecske kiváltotta neutrofil granulocita eredetű EV-k biogeneziséhez?

## Módszerek

*Humán neutrofilek és EV-k izolálása.* Méréseinkhez egészséges felnőtt véradók perifériás véréből izoláltuk a neutrofil granulocitákat a Budapest Főváros Kormányhivatal Népegészségügyi Szakigazgatóságának (BPR/021/01563-2/2015) jóváhagyása szerint. A neutrofileket a vérből ficoll gradiens alapú centrifugálással izoláltuk. A készítményekben a neutrofilek aránya általában több mint 95% volt. A szennyező sejtek közül az eozinofilek aránya 1% alatt volt. A neutrofileket az EV termeltetés során ( $10^7$  sejt /ml HBSS) 30 percig  $37^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk az opsonizált részecske jelenlétében, vagy anélkül. Az aktivációt követően a sejtes elemeket leüleptítettük (500g, 5 perc,  $4^{\circ}\text{C}$ ), majd átszűrtük egy  $5\ \mu\text{m}$  pórus méretű steril szűrőn. A filtrátumot leüleptítettük (15700g, 10 perc,  $4^{\circ}\text{C}$ ), majd az üledéket az eredeti térfogatnak megfelelő HBSS-ben óvatosan felfuszpendáltuk és áramlási citométerben vizsgáltuk. A jelzett esetekben a neutrofileket 200 nM-os végkoncentrációban dasatinibbel kezeltük elő. Az EV minták fehérjetartalmát Bradford módszerrel határoztuk meg.

*Egér neutrofilek és EV-k izolálása.* Az általunk használt transzgénikus egértörzseket Prof. Dr. Mócsai Attila bocsájtotta a rendelkezésünkre. A transzgénikus állatokat 11-20 hetes koruk között használtuk fel korban és nemben megfelelő vad típusú kontroll mellett. Az összes általunk elvégzett állatkísérlet megfelel a

Nemzeti Állatvédelmi Hatóság Etikai engedélyében lefektetett kívánalmaknak. A cervikális diszlokációval leölt egerek tibiáit, femurjait és humerusait kiperaráltuk, a csontok megnyitása után a csontvelőt kimostuk. A csontvelőből hipotóniás lízist követően Percoll-grádiens alapú centrifugálással (62.5% v/v, 700 g, 40 min, 22°C) izoláltuk a neutrofileket. Az egér neutrofilek EV termelését a humán megfelelőjükhöz hasonlóan váltottuk ki, azonban a kisebb egér sejteket nagyobb erővel ülepítettük (1000g, 5 perc, 4°C). A szűrést követően az EV-eket centrifugálással (30000g, 30 min, 4°C) ülepítettük, majd HBSS-sel az eredeti térfogatában óvatosan felfuszpendáltuk és citométerben vizsgáltuk.

*Fagocitózis vizsgálata.* A fagocitózis vizsgálata során a neutrofileket ( $10^6$  PMN/1 ml HBSS) 30 percen keresztül 37°C inkubáltuk GFP-t stabilan expresszáló USA300 baktériumokkal, majd jéghideg médiumban történt hígítást követően áramlási citométerrel vizsgáltuk a neutrofilek fluoreszcenciájának a változását.

*Felszíni aktivációk.* A neutrofil granulociták felszínen történt aktivációja során a sejteket 150 µg/mL humán fibrinogénnel, vagy 10% FBS-sel előkezelt szövettenyésztő csészéken 60 percig 37°C-on inkubáltuk. A jelzett esetekben a neutrofileket TNFα-val kezeltük elő. Az immunkomplex felszín készítése során a csészéket poli-l-

lizinnel kezeltük elő egy éjszakán keresztül. A poli-l-lizinnel előkezelt felszíneket laktoferinnel (20µg/mL), majd poliklonális anti-laktoferrin IgG-vel kezeltük. Az immobilizált immunkomplex felszínen a humán neutrofileket 60 percen keresztül inkubáltuk 37°C-on.

*Citometriás vizsgálatok.* Az EV-k citométeres vizsgálatához a mintákat RPE-kapcsolt monoklonális anti-CD11b, vagy FITC-kapcsolt AnnexinV-tel jelöltük 20 percig 37°C-on. Az egér EV mintákat RPE-kapcsolt monoklonális anti-CD11b, RPE-kapcsolt monoklonális anti-CD18, PerCP-CY-5.5-kapcsolt monoklonális anti-Ly6g antitestekkel festettük 20 percig 37°C-on. A kísérleteink során Becton Dickinson FACSCalibur áramlási citométert használtunk. A háttér zaj kiszűrése után az ismert méretű fluoreszcens gyöngyök segítségével meghatároztuk a detektálási tartományunk felső mérethatárát. Az általunk használt citométer detektálási küszöbe a kisméretű fluoreszcens események esetében kb. 300 nm volt. Az EV minta lemérése után kapott eseményszámból levonva az izotípus kontroll események és a 0,1% Triton-X-100 inszenzitív események számát kaptuk meg a végső EV számot.

*Hashártyagyulladás modell.* A hashártyagyulladás kísérleteink során vad típusú és CD11<sup>-/-</sup> egerek hasüregét PBS-ben hígított zimozán oldattal (0,2 µg/mL) injektáltuk be. Két óra

elteltével leöltük az állatokat és a hasüregüket óvatos megnyitást követően 5 ml jég hideg, EDTA-t (2 mM) tartalmazó PBS oldattal átmostuk. A hasüregi EV-eket a korábbiakban leírt protokoll szerint izoláltuk, és az AnnexinV és CD18 pozitivitásuk alapján számszerűsítettük áramlási citométerben. A hasüregi sejteket FSC-SSC szerinti eloszlásuk, valamint anti-Ly6g jelölődésük alapján számszerűsítettük áramlási citométerben.

*Dinamikus fényszórásmérés.* A dinamikus fényszórásmérések során nagy tisztaságú HBSS-ben szuszpendált mintákat vizsgáltunk ALV goniométer és MellesGriot diódalézer segítségével. A dinamikus fényszórási tesztek a Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetében végeztük Dr. Veres S. Dániel segítségével.

*Elektronmikroszkópia.* Az elektronmikroszkópos felvételek készítéséhez az EV-eket tartalmazó üledéket 4%-os paraformaldehid oldattal fixáltuk, majd 1%-os ozmium-tetroxiddal ( $\text{OsO}_4$ ) 20 percen keresztül utófixáltuk. Az üledéket növekvő koncentrációjú etanol oldatokkal dehidratáltuk, és festettük. A vizsgálatot az utófixálástól Dr. Kittel Ágnes és munkatársai végezték Hitachi 7100 transzmissziós elektron mikroszkóppal a Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetében.



*Proteomika.* A proteomikai kísérleteinkhez a minták 3 különböző donor EV üledékének a keverékéből származtak. A minták fehérje koncentrációját Bradford módszerrel határoztuk meg. A fehérjéket többször ismételt fagyasztás/olvasztás ciklust követően nyertük ki, majd emésztettük Trypsin/LysC proteáz keverékkel. A keletkezett peptideket Dr. Turiak Lilla és munkatársai vizsgálták tömegspektrométerrel a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományos Kutatóközpontjában.

*Statisztika.* A statisztikai analízis során az adatok statisztikai elemzéséhez egymintás t-próbát, vagy kétmintás t-próbát használtunk. A szignifikancia határát minden esetben a  $p < 0,05$  értéknél húztuk meg. A statisztikai analíziseket a STATISTICA 7.0 programmal végeztük (Statsoft).

## Eredmények

### *Humán neutrofil fagocita receptorok aEV termelésben betöltött szerepének vizsgálata*

A humán neutrofilekből keletkező EV-okat két különböző módszerrel vizsgáltuk: áramlási citométerrel a vezikulaszámot, Bradford módszerrel a vezikula populációk fehérjetartalmát határoztuk meg. Munkacsoportunk korábbi kísérleteivel összhangban a teljes humán szérummal opsonizált részecskékkel történt stimuláció hatására jelentősen emelkedett a humán neutrofilek által leadott EV-k (aEV) mennyisége és fehérjetartalma a stimulálatlan neutrofilekből származó spontán képződő EV-khez képest (sEV). A stimulálatlan neutrofilekből képződő sEV-khez képest az opsonizálatlan zimozánnal történt aktiválás szignifikánsan megnövelte a képződő EV-k (zEV) mennyiségét és fehérjetartalmát. Az antitesttel opsonizált zimozánnal történt aktiválás nem emelte tovább a képződött EV (atzEV) számot és csak kismértékben emelte a vezikulák fehérjetartalmát a zEV-khez és az sEV-khez képest. A teljes szérummal opsonizált zimozán hatására képződő aEV-k száma és fehérjetartalma az sEV-khez, a zEV-khez és az atzEV-khez képest is szignifikáns mértékben növekedett.

*Humán EV-k jellemzése elektronmikroszkópiával és dinamikus fényszórásméréssel.*

A kísérleteink során keletkezett EV minták morfológiáját elektronmikroszkóppal, a méretszerinti eloszlását az elektronmikroszkópos képek kiértékelésével, valamint dinamikus fényszórásméréssel (DLS) vizsgáltuk. Az elektronmikroszkópos képeinken membránnal határolt ép struktúrákat találtunk. A különböző stimulusra keletkező EV minták heterogén morfológiai és elektrondenzitásbeli eloszlást mutattak. Az elektronmikroszkópos mintáinkban, 400 darab intakt vezikula ImageJ-vel mért területéből számolt átlagos átmérőjük alapján döntően közepes mérettartományú vezikulákat találtunk. Az egyes vezikula populációk mérete között nem volt jelentős különbség. A DLS-sel két fő populációt detektáltunk: egy 100 nm-est és egy 200-700 nm közötti átmérővel rendelkezőt, melyek 0,1%-os TritonX-100 detergens jelenlétében karakterisztikájukat megváltoztatták és a kisebb mérettartomány felé tolódtak bizonyítva vezikuláris természetüket.

#### *A fagocita receptorokat szelektíven ingerlő felszínek hatása az aEV termelésre*

A komplement receptorok közül az integrin szerkezetű komplement receptorok, különös tekintettel a neutrofileken nagy mennyiségben kifejeződő MAC-1 szerepét valószínűsítettük az EV termelés fokozásában. Az integrin szerkezetű komplement receptorok neutrofil EV termelést fokozó szerepének megerősítése miatt fibrinogén felszínen aktiváltuk a neutrofileket. Jelentős vezikula

termelésnövekedést csak akkor értünk el, amikor a neutrofileket TNF $\alpha$ -val előkezeltük. Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy a TNF $\alpha$ -val előkezelt (“prime”-olt) neutrofilek fibrinogén felszínen szignifikánsan több EV-t termeltek, mint a kontroll FBS felszínen. Az Fc receptorok EV termelésben betöltött szerepét laktoferrin immunkomplex felszínen vizsgáltuk. Az antitestet tartalmazó immunkomplex felszín nem okozott szignifikáns EV emelkedést a kontroll, antitestet nem tartalmazó laktoferrin felszínhez képest.

#### *Humán neutrofilek fagocitózisának vizsgálata*

Az EV termeléssel párhuzamosan a neutrofilek fagocitózisát is vizsgáltuk három különböző módon opsonizált GFP-t folyamatosan expresszáló *USA300* baktériummal. Az áramlási citometriás és konfokális mikroszkópos méréseink során azt találtuk, hogy a 30 perces baktérium-neutrofil koinkubációt követően a nem opsonizált baktériumokat a neutrofilek csak minimális mértékben fagocitálták. Ezzel szemben a komplement hiányosan opsonizált baktériumok fagocitózisában a sejtek 30%-a, míg a teljes szérummal opsonizált baktériumok fagocitózisában a sejtek közel 80%-a vett részt. Kiemelendő, hogy míg a neutrofilek opsonizált részecske indukált EV termelését a komplement receptorok mellett a PRR-ek is fokozták, addig a neutrofilek opsonizált részecske indukált fagocitózisában a komplement receptorok mellett a Fc receptorok is részt vettek.

### *Egér neutrofilek EV termelésének vizsgálata*

A humán adatok kiértékelése után az EV képződésében résztvevő fagocita receptorok szerepét egér modellben vizsgáltuk tovább. Az egér neutrofilek izolálását csontvelőből végeztük a nemzetközi gyakorlatnak megfelelően. Az egér neutrofilekből származó EV-k mennyiségét csak áramlási citometriával vizsgáltuk, mivel a csontvelői neutrofilekből származó EV-k fehérjetartalma sokkal kisebb volt, mint a humán EV-ké. Az áramlási citométerrel detektált egér EV-k a humán EV-khez hasonlóan úgynevezett „külső oldal kívül” típusú vezikulák, tehát neutrofil sejtfelszíni markereket hordoznak a felszínükön. A neutrofil egér EV-k a foszfatidil-szerinhez kapcsolódó AnnexinV mellett a MAC-1  $\beta$  láncára (CD18), vagy  $\alpha$  láncára (CD11b) specifikus antitestekkel is jól jelölődnek. A nyugvó egér neutrofilek a humán neutrofilekhez hasonlóan spontán is termelnek EV-eket (sEV) A csontvelőből izolált egér neutrofileken a humán kísérleteinkhez hasonlóan váltottuk ki az EV termelést, majd a komplementet és antitesteket tartalmazó szérummal opszonizált zimozánnal indukált EV (catzEV), valamint az opszonizálatlan zimozánnal indukált EV termelést (zEV) áramlási citométerrel vizsgáltuk az sEV-hez képest. Az opszonizálatlan zimozán hatására képződő zEV-k mennyisége nem szignifikáns mértékben, azonban a teljes szérummal opszonizált zimozánnal történt aktiváció hatására képződő catzEV-k mennyisége

szignifikánsan emelkedett a stimulálatlan neutrofilekből képződő sEV mintához képest.

*Egér EV-k jellemzése elektronmikroszkópiával és dinamikus fényszórásméréssel.*

Az egér EV-k morfológiáját elektronmikroszkóppal, méretét pedig az elektronmikroszkópos képek kiértékelésével, valamint a dinamikus fényszórásméréssel vizsgáltuk. Mind az sEV és a catzEV mintákról készült elektronmikroszkópos felvételeken egyértelműen intakt membránnal határolt képleteket találtunk. Az sEV és a catzEV mintáink között jelentős méretbeli különbség nem látszódott. Az egér csontvelő eredetű EV-k hasonló szerkezetűek, azonban kisebbek, mint a humán társaik. Az elektronmikroszkópos mintáinkban átlagos átmérőjük alapján 100-700 nm közé eső membránnal határolt intakt vezikula populációt találtunk. A DLS 100-400 nm-es sugarú populációt mutatott a mintáinkban. Ezen populáció 0,1%-os Triton-X-100 detergens hatására teljesen eltűnt és a kisebb mérettartomány felé tolódott, ami egyértelműen bizonyítja vezikula természetét.

*Transzgénikus egér neutrofilek catzEV termelésének és fagocitózisának vizsgálata*

A vad típusú egér neutrofilek jellemzését követően az opszonin receptorokra hiányos egértörzsek teljes szérummal opszonizált

zimoszán indukálta catzEV termelését hasonlítottuk össze a teljes szérummal opsonizált baktériumokkal szembeni fagocita aktivitásával. Elsőként a MAC-1 integrin szerepét vizsgáltuk a közös  $\beta$ -lánc hiányos (CD18<sup>-/-</sup>) és a specifikus  $\alpha$ -lánc hiányos egerekben (CD11b<sup>-/-</sup>). A vad típusú neutrofilekben 30 perc inkubációt követően a catzEV termelés az sEV termelés kétszeresére nőtt. A CD18 és a CD11b hiányában az egér neutrofilek catzEV termelése nem mutatott növekedést az sEV szintjéhez képest. Eredményeinkből az is látszódott, hogy a CD18<sup>-/-</sup> és a CD11b<sup>-/-</sup> neutrofilek sEV termelése megegyezett a vad típusú neutrofilek sEV termelésével. A CD18<sup>-/-</sup> és a CD11b<sup>-/-</sup> neutrofilek catzEV termelése mellett az opsonizált részecskéket is szignifikánsan kisebb mértékben fagocitálták.

A MAC-1 egyik vagy másik láncára hiányos egér neutrofilek catzEV termelésének a vizsgálata után az Fc $\gamma$ R-ok szerepét vizsgáltuk Fc receptor gamma lánc hiányos (FcR $\gamma$ <sup>-/-</sup>) transzgénikus egértörzsben. Az FcR $\gamma$ <sup>-/-</sup> neutrofilek Fc receptor hiányosnak tekinthetőek, mert az ITAM szekvenciát tartalmazó adapter FcR $\gamma$  lánc hiányában az Fc $\gamma$ R-ok nem fejeződnek ki az egér neutrofilek felszínén. Az FcR $\gamma$ <sup>-/-</sup> neutrofilekben se a sEV, se a catzEV termelés nem változott a vad típusú neutrofilekhez képest. Azonban az FcR $\gamma$ <sup>-/-</sup> neutrofilek fagocitózis százaléka harmadával csökkent a vad típusú neutrofilekhez képest. Az egér modellben kapott eredményeink azt mutatják, hogy a neutrofilek catzEV termelését és a fagocitózist részben eltérő receptorok szabályozzák, míg az

opszonizált részecske fagocitózisában az Fc receptorok és a MAC-1 is fontos szerepet tölt be, addig a catzEV termelést csak a MAC-1 szabályozza.

### *Indukált peritonitis során keletkező EV-k vizsgálata CD11b hiányos egerekben*

Egér peritonitis modellben *in vivo* körülmények között vizsgáltuk a MAC-1 catzEV termelésben betöltött szerepét. Feltételezésünk szerint a zimoszán a hasüregben természetes úton opszonizálódik ezért az irodalomban fellelhető kísérletes gyakorlatnak megfelelően opszonizálatlan zimoszánt injektáltunk a vad típusú és a CD11b<sup>-/-</sup> egerek hasüregébe. A hasüregből kinyert EV/neutrofil arány opszonizálatlan zimoszán stimulusra szignifikánsan kevesebb volt a CD11b<sup>-/-</sup> mintákban a vad típushoz képest.

### *A tirozin kinázok szerepének vizsgálata humán neutrofilek aEV termelésében*

A tirozin kinázok szerepének vizsgálatához humán neutrofil granulocitákat kezeltünk nem specifikus, kis molekulású tirozin kináz gátló dasatinibbel. Humán neutrofileket előkezeltünk 10 percig 200 nM-os végkoncentrációban alkalmazott dasatinibbel. A dasatinib előkezelés a sEV termelődést nem befolyásolta, viszont az aEV-k számát és fehérjetartalmát is jelentősen csökkentette. Az irodalmi adatokkal megegyező módon a dasatinib a fagocitózist nem



befolyásolta. Az elektronmikroszkópos kísérleteink, valamint a DLS méréseink is az mutatták, hogy a dasatinib előkezelés nem befolyásolta a vezikulák morfológiáját és méretét.

#### *Humán neutrofil eredetű EV-k fehérje összetételének vizsgálata*

A különböző EV populációk fehérjeösszetételét proteomikai méréssel vizsgáltuk. A mintáinkban 206 fehérjét azonosítottunk. Az azonosított fehérjék több mint 75%-a az összes vizsgált vezikula populációban jelen volt. Csak néhány fehérje volt, ami csak egyik, vagy másik vezikula populációban fordult elő. A kvantitatív mérések eredményei szerint a fehérjék több mint 50%-a a neutrofilek 4 fajta granulumból származó fehérje. A granulumfehérjék a legnagyobb arányban az azurofil és a specifikus granulumból, kisebb részben zselatináz granulumból és szekretoros vezikulákból származnak. Az aEV mintákban az azurofil és a specifikus granulum eredetű fehérjék aránya jelentősen megemelkedett a többi vezikula típushoz képest. A széles spektrumú tirozin kináz gátló dasatinib előkezelés a granulumfehérje dúsulást az aEV mintákban megszüntette.

## **Következtetések**

Eredményeim alapján az alábbi következtetéseket vontam le:

1. A komplement receptorokon, valamint a PRR-eken keresztüli aktiváció növeli a humán neutrofil granulociták által termelt vezikulák számát és fehérjetartalmát. Az Fc receptorok nem vesznek részt a humán neutrofil granulociták EV termelésében.
2. A neutrofil granulociták aEV termelése egy fagocitózistól független folyamat.
3. Egér neutrofil granulociták opsonizált részecske indukált EV termelésének fokozódása megszűnik a MAC-1 integrin hiányában. Az Fc receptorok hiányában nem változik a neutrofil granulociták catzEV termelése.
4. A komplement receptorokon keresztüli aktiváció fokozza a humán neutrofil granulociták által termelt aEV-kben a granulum-fehérjék dúsulását.
5. A nagy dózisú dasatinib hatására megszűnik a humán neutrofil granulociták aEV termelése, valamint az aEV-kben a granulumfehérjék dúsulása.

## Saját publikációk jegyzéke

### Értekezésem alapjául szolgáló közlemények:

1. Lorincz AM\*, **Bartos B\***, Szombath D, Szeifert V, Timar CI, Turiak L, Drahos L, Kittel A, Veres DS, Kolonics F, Mocsai A, Ligeti E. (2020) Role of MAC-1 integrin in generation of extracellular vesicles with antibacterial capacity from neutrophilic granulocytes. J Extracell Vesicles, 9: 1698889 (*\*megosztott elsőszerzős közlemény*) **IF:14,976**
2. Lorincz AM, Szeifert V, **Bartos B**, Szombath D, Mocsai A, Ligeti E. (2019) Different Calcium and Src Family Kinase Signaling in MAC-1 Dependent Phagocytosis and Extracellular Vesicle Generation. Front Immunol, 10: 2942 **IF: 5,085**

### Egyéb, az értekezés témájához nem kapcsolódó közlemény:

1. Lorincz AM, Szeifert V, **Bartos B**, Ligeti E. (2018) New flow cytometry-based method for the assessment of the antibacterial effect of immune cells and subcellular particles. J Leukoc Biol, 103: 955-63 **IF: 4,012**
2. Csepanyi-Komi R, Pasztor M, **Bartos B**, Ligeti E. (2018) The neglected terminators: Rho family GAPs in neutrophils. Eur J Clin Invest, 48 Suppl 2: e12993. **IF: 2,784**
3. Csepanyi-Komi R, Wisniewski E, **Bartos B**, Levai P, Nemeth T, Balazs B, Kurz AR, Bierschenk S, Sperandio M, Ligeti E.

(2016) Rac GTPase Activating Protein ARHGAP25 Regulates Leukocyte Transendothelial Migration in Mice. *J Immunol*, 197: 2807-15 **IF:4,856**

4. Levay M, **Bartos B**, Ligeti E. (2013) p190RhoGAP has cellular RacGAP activity regulated by a polybasic region. *Cellular Signalling*, 25: 1388-94 **IF: 4,47**