



Tézisfüzet

Sejtmembrán eredetű vezikulák vizsgálata és módosítása

Deák Róbert

TERMÉSZETTUDOMÁNYI KUTATÓKÖZPONT, BIOLÓGIAI NANOKÉMIA KUTATÓCSOPORT

Témavezető: **Dr. Bóta Attila**
Konzulens: **Dr. Mihály Judith**

EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM, KÉMIA INTÉZET, KÉMIA DOKTORI ISKOLA

Iskolavezető: **Dr. Császár Attila**

SZINTETIKUS KÉMIA, SZERVES ÉS BIOMOLEKULÁRIS KÉMIA

Programvezető: **Dr. Perczel András**

2019

Liposzómáktól az exoszómákig

A gyógyászati célú nanohordozók egyik legfontosabb csoportját a vezikulás rendszerek alkotják. A gyakorlatban is alkalmazott liposzómás gyógyszerek stabilitását és a szervezetbe történő adagolás után hosszú keringési idejét a felületükön kialakított polietilén-glikol (PEG) réteg biztosítja. A PEG–lipid konjugátumokat tartalmazó vezikulák unilamellás szerkezetű, átlagosan 100 nm átmérőjű, stabil, homogén rendszerek. Az ilyen összetételű vezikulák alkalmazása, a számos kedvező tulajdonság mellett, káros mellékhatásokkal is jár. A mellékhatások kiküszöbölésére világszerte intenzív kutatás folyik, amelynek célja a PEG-lipidek kiváltása alternatív sztérikusan stabilizáló anyagok felhasználásával. Például hialuronsavat, kitozánt, polialmasavat, politejsavat alkalmaztak szintetikus, sztérikusan stabilizált vezikulák előállítására. A természetes összetevők és a jó biokompatibilitás ötvözése céljából az utóbbi években a gyógyszerhordozókkal kapcsolatos kutatások fókuszpontjába a sejtek által termelt vezikulák kerültek.

A természetes vezikulák a szintetikus liposzómák komplex, sokoldalú rokonai, szinte minden biológiai folyadékban megtalálhatóak és gyakorlatilag az összes élő sejt előállítja őket – a legegyszerűbb prokariótáktól a legösszetettebb szervezetek sejtjeiig. Az extracelluláris vezikulák sejtmembrán eredetűek és aktív folyamatok révén kerülnek a sejtek közti (extracelluláris) térbe, amely elnevezésük alapjául is szolgált. Az extracelluláris vezikulák szerkezete rendkívül összetett: a nagyszámú, vezikula típusonként jelentősen eltérő alkotóelem biztosítja sokoldalú biológiai funkciójukat. Az EV-k legkisebb átmérőjű formái (akár 30 nm), stabil, célzott, természetes „hatóanyag” molekulákkal (nukleinsavakkal, fehérjékkel) töltött nanorészecskék, amelyek leggyakrabban a sejtek közti anyag- és információátadás eszközei.

A szintetikus liposzómák és a sejtek által termelt természetes vezikulák között egyfajta átmenetet képeznek a nanoeritroszómák. A nanoeritroszómák alapanyaga a vörösvértest ghost membrán. A sejtmembránból fizikokémiai módszerekkel előállított, átlagosan 150 nm-es, stabil vezikula-szerű formák részben megtartják a sejtekből származó, természetes összetevőiket. A természetes eredetükből adódóan a nanoeritroszómák biokompatibilis nanorészecskék, amelyek fizikokémiai tulajdonságai a preparálás során adalékanyagokkal tovább módosíthatóak. A pozitív szerkezeti tulajdonságaikon túl, a nanoeritroszómák nagy mennyiségben állíthatóak elő, ugyanis a vörösvértest ghost membrán egy könnyen hozzáférhető, nagy tisztaságban – intracelluláris kontamináció mentesen - izolálható alapanyag.

A nanoeritroszómák kísérletek alapján átjutnak a vér-agy gáton, alkalmasak szilárd nanorészecskék bevonására – pl. arany nanorészecskék esetén biológiai képkalkotásnál-, továbbá összetételükből és szerkezetükből adódóan az extracelluláris vezikulák referencia anyagaként is hasznosíthatóak. Mivel a nanoeritroszómák teljesen biokompatibilis részecskék, használhatóak lehetnek személyre szabott terápiás eszközökként is. Ideális esetben egy nanoeritroszómás gyógyszerkészítmény a beteg saját véréből készülhet, amely nagymértékben csökkentheti a kialakuló immunreakciók esélyét. Ennek a távlati célnak egy kezdeti lépését jelentheti a bemutatott dolgozat és a benne leírt eredmények.

A természetes és mesterséges vezikulás rendszerek vizsgálata a technikák/készülékek széles körét igényli. A kísérleti munka során használt műszerek egyrészt alkalmasak az objektumok fizikai tulajdonságainak statikus- és dinamikus vizsgálatára (pl. szerkezet, morfológia, hő effektusok, optikai és mechanikai tulajdonságok), másrészt lehetővé teszik a tulajdonságok széles méretskálán történő vizsgálatát – az atomi szinttől a több mikrométeres méretekig.

A dolgozatban a vezikulás rendszerek bemutatását követően röviden ismertetem a felhasznált anyagokat és módszereket. Az eredmények rész elsősorban a különböző típusú, elsőként általam előállított és vizsgált nanoeritroszómákat mutatja be. Ebből kifolyólag a különböző nanoeritroszómák előállítását és vizsgálatát a dolgozatban részletesen kifejtem, megkönnyítendő az esetleges későbbi kutatók munkáját, akik hasonló rendszerekkel kívánnak majd foglalkozni.

Célkitűzések

A kutatómunkám célja egy biokompatibilis, stabil, vezikula-szerű nanohordozó rendszer kidolgozása volt, vörösvértest ghost membrán felhasználásával. Bár vörösvértest ghost membránt már korábban is használtak vezikulák előállítására extrudálással és ultrahangozással, a keletkező nanoeritroszómákra csak egyszerű, vezikularizált sejtmembránokként tekintettek. A fehérje tartalmukat és elsősorban annak strukturális szerepét az irodalomban ez idáig kevésbé vizsgálták.

A természetes és mesterséges vezikula-szerű rendszerek hasonló alap szerkezettel rendelkeznek. A vezikulák vázát minden esetben egy önszerveződő lipid réteg alkotja, amelyet megfelelő környezeti tényezők esetén azonos fizikai-kémiai hajtóerők alakítanak gömb alakú membránformákká. Kutatómunkám során vizsgáltam a természetes vezikulák szerkezetét és fizikai-kémiai tulajdonságait és célom volt a megszerzett információkat felhasználni a

nanoeritroszómák fejlesztésénél is. A vizsgálandó rendszerek alapján két fő témakör köré csoportosítottam a célkitűzéseimet:

Egyrészt számos forrásból izoláltam extracelluláris vezikulákat és vizsgáltam az előállított részecskék fizikokémiai tulajdonságait és összetételét. Az extracelluláris vezikulákra inspirációként tekintettem a nanohordozó fejlesztés során, ezért különös tekintettel szerkezetüket és építő elemeiket vizsgáltam (elsősorban fehérje és lipid tartalmukat). Az EV-k forrásaként in vitro sejtenyészetet (Jurkat T limfocita) és vörösvértest szuszpenziót használtam, a vizsgálati módszerek pedig elsősorban spektroszkópai- és mikroszkópos technikákat foglaltak magukba.

Kutatómunkám során nanoeritroszómákat állítottam elő és szerkezetüket adalékanyagok felhasználásával módosítottam. A nanoeritroszómák építőelemei közül a fehérjék meghatározottak, sem mennyiségük sem minőségük nem változtatható jelentős mértékben, ezzel szemben a lipid összetétel viszonylag könnyen módosítható. Kutatómunkám során vizsgáltam a tipikus vörösvértest külső- és belső-membránfél lipidek hozzáadásának hatását a nanoeritroszómák szerkezetére és morfológiájára.

Dipalmitoil-foszfatidiletanolamin (DPPE) a humán vörösvértest membrán belső felének egyik legnagyobb mennyiségben megtalálható alkotóeleme, az első választott adalék molekula volt. Másik leggyakoribb lipid típus a belső membránfélben a foszfatidilszerin (PS), amely a membrán külsejére kerülve az immunrendszert aktiválja, így adalékanyagként való alkalmazását elvetettük.

További lipid adaléknak a dipalmitoil-foszfatidilkolint (DPPC) választottuk, mint a vörösvértest membrán külső felének egyik leggyakoribb alkotóelemét. Vizsgáltam a lizofoszfatidilkolin (LPC) hatását is a vezikulák szerkezetére. Az LPC a DPPC-hez hasonló hosszúságú és kémiai karakterű lipid, azonban a molekula alakja a cylinder alakú DPPC-től eltérően erőteljesen kúpos. Az LPC extrém fizikai karaktere alapján jelentős változást vártunk a kialakuló nanoeritroszómák szerkezetében.

Kutatómunkámat nagyban meghatározta az a komplex infrastrukturális háttér, amely a Biológiai Nanokémia Kutatócsoportban az évek során rendelkezésemre állt. A nagyműszeres vizsgálatokon túl a fagyasztva töréssel kombinált elektron mikroszkópia volt az az unikális technika, amely lehetővé tette a nanoeritroszómák egyedi szerkezeti és morfológiai változásainak feltárását és vizsgálatát. Ezek a megfigyelések szolgáltak a doktori dolgozat alapjául.

Vizsgált rendszerek és alkalmazott módszerek

Extracelluláris vezikulák

Az extracelluláris vezikulákat vörösvértest szuszpenzióból és Jurkat T limfocita sejtenyészetből állítottunk elő, differenciál centrifugálással. A különböző EV populációk: apoptotikus testek, mikrovezikulák és exoszómák eltérő, jól meghatározott centrifugálási sebességekkel ülepíthetőek. Az így nyert vezikulákat tartalmazó pelleteket egy mosási lépést követően PBS pufferben szuszpendáltuk.

Ghost membránok és nanoeritroszómák

A ghost membrán előállításához szükséges vörösvértesteket egészséges önkéntesek véreből izoláltuk. A mosott vörösvértesteket nagy térfogatú, hipotóniás pufferbe helyezve a sejtek lízise következik be, ezt követően a plazmamembrán centrifugálással elválasztható az intracelluláris komponensektől. Többszöri, nagy térfogatú pufferes mosás eredményeképpen hemoglobin mentes ghost membránt állítottam elő.

A ghost membrán ultrahangozásával és extrudálásával a több mikronos membránok száz nanométer körüli átmérőjű vezikulákká alakíthatóak. Az így keletkező vezikulákat nevezzük nanoeritroszómáknak. A preparálás során lehetőség van adalék lipidek beépítésére a nanoeritroszómák membránjába, amelyhez a lipid adalék mennyiségét a ghost fehérje tartalmához képest határoztuk meg. Az adalékot a lipid fajtájától és a kívánt hatástól függően 0.5×, 2×, 5×, 10× mennyiségben alkalmaztuk, a beszárított lipid filmet a ghost membrán szuszpenzióval hidratáltuk és az elegyet ultrahangozással homogenizáltuk. A nanoeritroszóma preparálásához felhasznált lipid adalékok DPPE, DPPC és LPC voltak.

Vizsgálati módszerek

Az előállított vezikulák elsődleges minőségi kontrolja a méret és polidiszperzitás vizsgálata dinamikus fényszórással (DLS). Az EV-k mennyiségéről információt nyújtó, illetve a nanoeritroszómák lipid adalékának meghatározásához alapot szolgáltató, fehérje tartalom meghatározását Bradford assay-vel végeztem el. A szuszpenzióban található részecskék képi megjelenítésére a fagyasztva töréssel kombinált transzmissziós elektronmikroszkópia (FF-TEM) szolgáltatott lehetőséget.

A vezikulák szerkezetvizsgálatának eszközei elsősorban spektroszkópai módszerek voltak. ATR FTIR spektroszkópia segítségével a komponensek atomi szintű szerkezetét és kölcsönhatásait vizsgáltam, az LD és CD spektroszkópiát pedig a vezikula membránok elasztikus tulajdonságának kimutatására használtam. Szintén a vezikulák szerkezetének vizsgálatára szolgált a kisszögű röntgenszórás (SAXS), a membránok fázisátmenetét pedig differenciális pásztázó kalorimetriával (DSC) határoztuk meg. A részecskék stabilitásának vizsgálatára zéta potenciál mérést végeztük. A ghost membránok ultrahangozása során keletkező részecskék fehérje tartalmát LC-MS technikával vizsgáltuk.

Az eredmények összefoglalása

„In vivo” rendszerek extracelluláris vezikuláinak jellemzése

Jurkat T limfocitákból és vörösvértestekből izolált extracelluláris vezikulák fagyasztatással kombinált transzmissziós elektronmikroszkópos (FF-TEM) morfológiai vizsgálatát-, valamint dinamikus fényszórással (DLS) történő méretanalízisét végeztem el. Megállapítható, hogy az extracelluláris vezikulák méretben elkülöníthető szubpopulációkból állnak. Az általam izolált exoszómák (EXO) mérete 60 és 150 nm között van, míg az ennél nagyobb mikrovezikulák (MV) 100 és 400 nm közötti méretűek. A harmadik, extracelluláris vezikula forma képviselői, az apoptotikus testek (AB), ennél lényegesen nagyobb méretűek 500 nm és 4 µm közötti kiterjedésűek. Ezek az adatok megfelelnek az extracelluláris vezikulákról ismert irodalmi értékeknek. A három szubpopuláció jellemző mérete, az előbbieket sorrendjében 100, 180 és 1500 nm. Az izolált vezikulák közelítőleg gömb alakúak. Az FF-TEM képen megfigyelhető, hogy az áttört vezikulák unilamellás formájúak. Mindhárom szubpopuláció felszínét, membránfehérjék egyedi vagy asszociálódott formái borítják. A nagyobb méretű apoptotikus testek felszíne egyenletesen borított, míg a kisméretű exoszómák felületén a fehérjék, és azok asszociátumainak eloszlása egyenetlen. Az extracelluláris vezikulák különleges, eddig fel nem tárt mechanikai sajátosságát vizsgáltam lineáris dikroizmus (LD) és cirkuláris dikroizmus (CD) módszerek segítségével. Megállapítható volt, hogy a vörösvértest eredetű mikrovezikulák a forgó Coutte-cellában anizotrop térbeli formává deformálhatók, ahol a deformáció mértéke a vizsgált vezikula összetételétől és tárolási idejétől függ. Az általam izolált extracelluláris vezikulák esetén a klasszikus fehérjemeghatározási módszer (Bradford assay) az exoszómák és mikrovezikulák fehérjetartalmára hasonló értéket mutat, míg az apoptotikus testek esetében a fehérje koncentráció

lényegesen nagyobb. A vizsgálatok FTIR spektroszkópiai módszerrel történő kiterjesztése további eredménnyel járt: a fehérjék másodlagos szerkezetének jellemző motívumai analizálhatók. Az α -hélix, a β -redő, az intermolekuláris kölcsönhatásokon alapuló β -redő, valamint rendezetlen régiók arányai sejttípusonként és izolált vezikula szubpopulációnként is eltérnek. A spektroszkópiai vizsgálatok további ígéretes alkalmazását jelzi, hogy a megfelelő rezgési sávok felhasználásával, a vezikulák fehérjéinek és lipidjeinek az aránya is megállapítható. E jellemző (az úgynevezett spektroszkópiai fehérje-lipid arány) felhasználásával az általam izolált exoszómák és mikrovezikulák is megkülönböztethetők, amelynek diagnosztikai szempontból nagy jelentősége van.

Nanoeritroszómák kialakítása vörösvértest eredetű ghostmembránból

A több mikrométeres, síkban kiterjedt ghost-membrán ultrahang hatására hozzávetőlegesen gömbalakú nanoeritroszómákká alakul. A képződött nanorészecskék mérete az alkalmazott ultrahang teljesítményének fokozásával változik, annak átmérője az átlagos értékkel jellemezve a 150 – 60 nm-es tartományban csökken. A nanoerythroszómák felületét rendezetlen módon 5 – 10 nm-es fehérjék és 20 – 30 nm kiterjedésű fehérjemolekulákból álló asszociátumuk borítják. Ugyanilyen méretű egyedi (a későbbiekben „membránon kívüli részecskék”-nek nevezett, az értekezésben EMP–vel rövidített) fehérjék és fehérje asszociátumok találhatóak a nanoeritroszómák közötti vizes közegben. Ultracentrifugálással elválasztva, a (lényegében nanoeritroszómákat tartalmazó) pellet és a felülúszó fehérje tartalma szignifikánsan különbözik. MS analízis alapján a felülúszóban 79 –, míg a pelletben 69 féle fehérjét azonosítottunk. Mindkét frakció négy legjellemzőbb fehérje típusa (spektrin α , β , ankyrin és „Band-3”) azonos volt. A kiindulási ghost membrán, a nanoeritroszóma, a felülúszó és a pellet összehasonlító spektroszkópiai vizsgálata alapján, az előállítás során alkalmazott ultrahangos kezelésnek nem volt kimutatható hatása a membránfehérjék konformációjára.

Az szerkezet változtatás céljából a ghost membránhoz adott foszfolipid vendégmolekulák (dipalmitoilfoszfatidiletanolamin (DPPE), dipalmitoilfoszfatidilkolin (DPPC), lizofoszfatidilkolin: palmitoilfoszfatidilkolin (LPC)) a gazdarendszert átalakítják. Az átalakulás szignifikáns morfológiai, szerkezeti változással jár, a változás mértéke a lipid fajtájától és gazda – vendég molekulák arányától függ.

DPPE hozzáadás esetén laterális irányban kiterjedt (200 – 800 nm) síkok, az FF-TEM képeken jól megfigyelhető, szabályszerű elrendeződését mutató halmazok jöttek létre.

DPPC adalék hatására tipikusan 150 nm körüli, közel gömbalakú nanoerythrozmák formálódtak. A lipid adalék kiindulási ghost fehérje mennyiségéhez viszonyított arányát változtatva, lényeges morfológiai változások voltak megfigyelhetőek. Mind az 5×DPPC, mind a 10×DPPC lipid beágyazódását követően homogén nanoerythrozoma szuszpenzió keletkezett. Továbbá a nagyobb DPPC koncentráció esetében a nanoerythrozmák felszínén ötszögekből és hatszögekből álló, összefüggő poligonális hálózat jelent meg. Az újszerű, eddig az irodalomban nem ismert, felületi fehérje-mintázattal rendelkező nanoerythrozmák komplex jellemzését FF-TEM, kalorimetria (DSC), FTIR és kisszögű röntgenszórás (SAXS) módszerek segítségével végeztük el. Hőmérsékletfüggő FTIR mérésekkel, több fűtési/hűtési cikluson keresztül igazoltuk, hogy a fehérje hálózat mintázata hőmérsékletfüggő és annak változásában mind maguk az asszociálódott fehérjék, mind az asszociációt segítő DPPC molekulák szerepet játszanak. A mérések alapján a fehérje hálózat mintázat-változása reverzibilis. A hálózat kialakulásához vezető fehérje-lipid kölcsönhatást, szeparáltan, az elválasztott membránon kívüli részecskék (EMP) és DPPC molekulák összekeverése esetén is megfigyeltük. Az EMP:DPPC (1:10 tömegarány) is hasonló felületi mintázatú nanoerythrozmákat eredményezett, mint a 10×DPPC-vel adalékolt ghost.

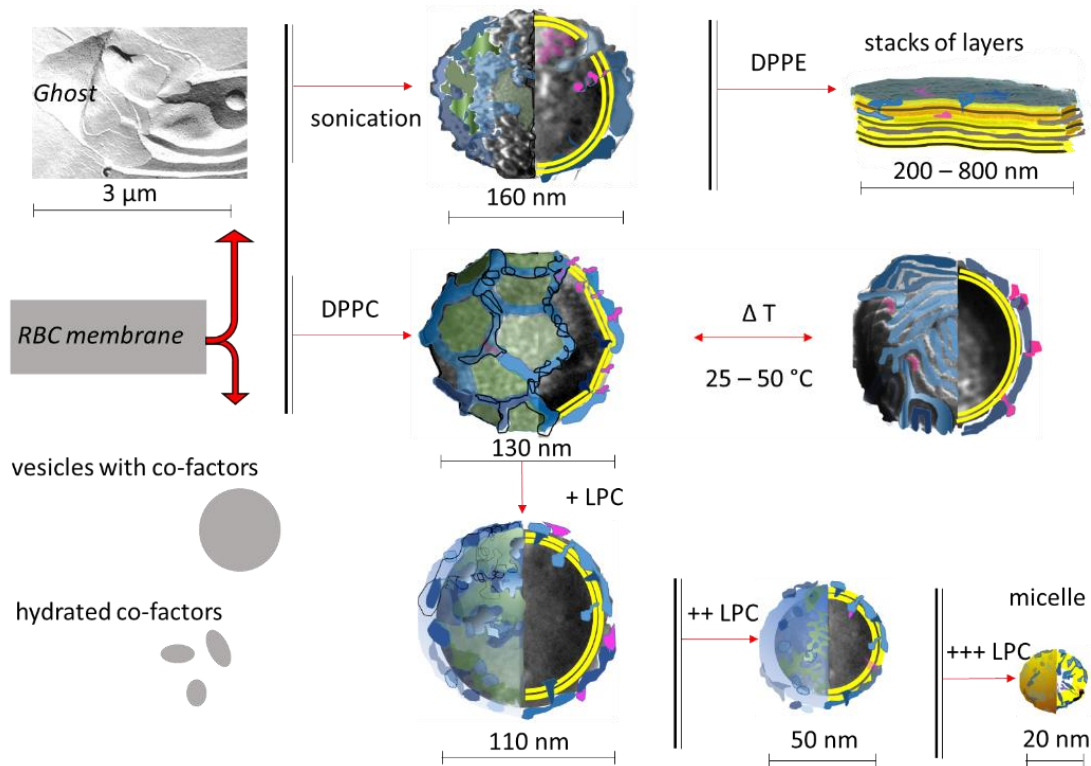
Az LD és CD módszerek alkalmazásával megfigyeltük, hogy a felületi fehérje hálózat jelenléte a nanoerythrozoma merevségét okozza és nyírásigénybevétel esetén nem deformálható, míg a hálózat részleges kiépülése a nanoerythrozoma plasztikusságának növekedésével jár.

Az LPC ghost membránhoz történő hozzáadása drasztikus változásokkal járt. Az LPC hatását jól jelzi, hogy 5× mennyiségben a ghost membránhoz adva a keletkező részecskék fénytörési tulajdonságainak változása már szabad szemmel is követhető. 2×LPC beágyazódását követően átlagosan 40 nm-es vezikulák keletkeztek, míg 5×LPC tömegarány esetében micella-szerű, objektumok kialakulásához vezetett.

Az LPC relatív kis mennyisége (0.5×), a 10×DPPC lipid jelenlétében kialakult fehérje hálózatot megbontja és a fehérjék poligonális felületi hálózata a nanoerythrozmák felületén elhelyezkedő rendezetlen hálózattá alakul.

A kalciumion (Ca^{2+}) jelenléte a tanulmányozott (10 mM) koncentráció tartományban perturbálja a 10×DPPC-vel kialakult poligonális hálózatot. A Ca^{2+}

ion hatása mind morfológiailag (FF-TEM), mind spektroszkópiai úton követhető. Az FF-TEM felvételek, a polygonális hálózat öt- és hatszögeinek centrumában önálló fehérje asszociátumok jelennek meg. A felületi mintázat le- és felépülésével járó reverzibilis átalakulás figyelhető meg az FTIR alkalmazásával.



Nanoeritroszóma preparálás összefoglaló ábrája

Tézispontok

1. Jurkat T limfocitákból és vörösvértestekből extracelluláris vezikulákat izoláltam. Megadtam a szubpopulációk (exoszómák, mikrovezikulák és apoptotikus testek) méret, morfológiai és a fehérje komponensek másodlagos szerkezetének jellemzését. Megmutattam, hogy a spektroszkópiai fehérje-lipid arány alkalmas az általam izolált vezikulák szubpopulációinak jellemzésére. Igazoltam, hogy az extracelluláris vezikulák forgatás hatására anizotrop formává deformálhatók és a deformáció mértéke a nyíróerőtől és a vezikulák összetételétől függ.
2. Vörösvértest eredetű ghost membránból nanoeritroszómákat alakítottam ki. A ghost fehérje-tömegének tízszeres feleslegében adagolt dipalmitoil-foszfátidilkolin (DPPC), valamint ultrahang alkalmazásával hozzávetőlegesen 150 nm átmérőjű nanoeritroszómákat alakítottam ki. A keletkező nanoeritroszómák felületét összefüggő, poligonális fehérje hálózat borítja.
3. Kimutattam, hogy a ghost membránból ultrahangozás hatására membránfehérjék szakadnak ki, amelyek proteomikai mintázata eltér a nanoeritroszómákká alakult formáktól. A rendszerhez adagolt dipalmitoil-foszfátidilkolin (DPPC) hatására a kiszakadt membránfehérjék a vizes közegből a nanoeritroszómákba épülnek és azok felületén tízszeres feleslegben alkalmazott DPPC esetén egy fehérje hálózat kialakításában vesznek részt. Felismertem, hogy a ghost membránból ultrahang hatására kiszakadt fehérjék, a tömegük tízszeres feleslegében adagolt dipalmitoil-foszfátidilkolin (DPPC) hatására, a ghostból kiinduló esethez hasonlóan, felületi hálózattal rendelkező nanoeritroszómákká alakulnak.
4. Kimutattam, hogy a nanoeritroszómák ötszögekből és hatszögekből álló, összefüggő fehérje hálózata (amelyek oldalhossza 25 – 35 nm), legszabályosabb módon a ghost fehérje-tömegének tízszeres feleslegében adagolt dipalmitoil-foszfátidilkolin (DPPC) jelenlétében alakul ki. A mintázat 50°C-ra történő melegítés hatására reverzibilis módon leépül, 25°C-ra történő hűtés hatására visszaépül. A mintázat átalakulása a fehérjék konformáció változásának és az átalakulásban szerepet játszó DPPC molekulák láncolvadásának együttes eredménye. A fehérje hálózat kiépülése a nanoeritroszóma deformálhatóságát gátolja.
5. A ghostból, lizofoszfátidilkolin (palmitoilfoszfátidilkolin, LPC) hozzáadásával (a lipidet a ghost fehérje tartalmához képest kettő- illetve ötszörös feleslegben

alkalmazva) gömb alakú, fehérje mintázat nélküli nanoritroszómákat hoztam létre. Homogén nanoeritroszóma szuszpenzió kialakításához ultrahangozásra csak kisebb mennyiségű (kétszeres) LPC esetén van szükség. Kétszeres mennyiségű LPC adalék hatására 40 nm átmérőjű, kiemelkedő fehérje asszociátumoktól mentes nanoeritroszómák képződnek. Ötszörös mennyiségű LPC esetén, a ghostból ultrahangozás nélkül, spontán módon 20 nm átlagos átmérőjű, szűk méreteloszlású micellák formálódnak.

Cikkek, előadások és posztetek

A dolgozat témakörébe tartozó publikációk

1. R. Deák, J. Mihály, I. Cs. Szigyártó, T. Beke-Somfai, L. Turiák, L. Drahos, A. Wacha, A. Bóta*, Z. Varga
Nanoerythroosomes tailoring: lipid induced protein scaffolding in ghost membrane derived vesicles, Materials Science and Engineering: C, Available online 30 November 2019, 110428
2. R. Deák, J. Mihály, I. Cs. Szigyártó, A. Wacha, G. Lelkes, A. Bóta*
Physicochemical characterization of artificial nanoerythroosomes derived from erythrocyte ghost membranes, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 135 (2015) 225–234.
3. J. Mihály*, R. Deák, I. Cs. Szigyártó, A. Bóta, T. Beke-Somfai, Z. Varga
Characterization of extracellular vesicles by IR spectroscopy: Fast and simple classification based on amide and C-H stretching vibrations, BBA Biomembranes 1859 (2017) 459–466.
4. I. Cs. Szigyártó, R. Deák, J. Mihály, S. Rocha, F. Zsila, Z. Varga, T. Beke-Somfai*
Flow Alignment of Extracellular Vesicles: Structure and Orientation of Membrane-Associated Bio-macromolecules Studied with Polarized Light, ChemBioChem 2018, 19, 545 – 551.

Egyéb publikációk

1. P. Akhtar, M. Lingvay, T. Kiss, R. Deák, A. Bóta, B. Ughy, Gy. Garab, P. H. Lambrev
Excitation energy transfer between Light harvesting complex II and Photosystem I in reconstituted membranes, Biochimica et Biophysica Acta 1857. (2016) 462–472.

A dolgozat témakörébe tartozó előadások

1. R. Deák, J. Mihály, I. Cs. Szigyártó, A. Wacha, Z. Varga, A. Bóta
Modellvezikuláktól az exoszómáig, Magyar Biofizikai Társaság XXVI. Kongresszusa, Szeged, 2017. augusztus 22-25.
2. R. Deák, J. Mihály, A. Bóta
Red blood cell derived nanoerythrocytes,
Lecture in ELETTRA, Trieste 15.02.2019.
3. J. Mihály, R. Deák, I. Cs. Szigyártó, A. Bóta, Z. Varga
Infrared spectroscopy of extracellular vesicles: simple estimation of protein-to-lipid ratio, 33rd European Congress on Molecular Spectroscopy, 30 July – 4 August 2016, Szeged, Hungary

A dolgozat témakörébe tartozó poszterek

1. R. Deák, I. Gyurkó, T. Kremmer, Z. Varga
Size exclusion chromatography of extracellular vesicles: comparison of different stationary phases, Extracellular vesicles: Friends and foes. Tel-Aviv, Weizmann Institute of Science, 7-9. June 2016.
2. Z. Varga, R. Deák, I. Cs. Szigyártó, J. Mihály, X. Osteikoetxea, E. I. Buzás
Characterization of the protein-to-lipid ratio of extracellular vesicles by infrared spectroscopy, ISEV 2015 Annual Meeting, Washington DC, USA, 23-26 April 2015.
3. I. Cs. Szigyártó, R. Deák, J. Mihály, Z. Varga, T. Beke-Somfai
Extracellular Vesicles Studied by Polarized Light Spectroscopy
VBST meeting, 20 – 22 May, 2016, Twente, Netherland

4. I. Cs. Szigyártó, P. Singh, R. Deák, J. Mihály, F. Zsila, Z. Varga, T. Beke-Somfai
A novel approach for characterization of extracellular vesicles by polarized spectroscopy Chemistry towards Biology, Biomolecules as potential drugs (CTB9), 24-27 September, 2018, Budapest, Hungary

5. J. Mihály, T. Bebesi, R. Deák, D. Kitka, G. Barta, I. Cs. Szigyártó, T. Juhász, A. Bóta, Z. Varga
Storage-sensitive red blood cell derived extracellular vesicles (RBC-EVs): an FTIR spectroscopic approach, International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (ICAVS), 7-12 July, 2019, Auckland, New-Zealand