

A komplementrendszer szerepe az agyban

Kardos József

ELTE NAP Neuroimmunológiai Kutatócsoport
Eötvös Loránd Tudományegyetem
Biológiai Intézet
Biokémiai Tanszék



ELTE NAP Neuroimmunológiai Kutatócsoport

Kardos József
Micsonai András
Molnár Tamás
Végh Barbara
Györffy Balázs
Kun Judit
Bulyáki Éva
Ravasz Lilla
Vadászi Henriett
Kovács Réka
Tóth Vilmos
Kovács Attila
Tukacs Vanda

Kékesi Adrienna Katalin
Juhász Gábor



Proteomikai módszerek, differenciális gélelektroforézis

FACS, qPCR

Elektrofiziológiai mérések

Mikroszkópos technikák: TEM, konfokális mikroszkópia

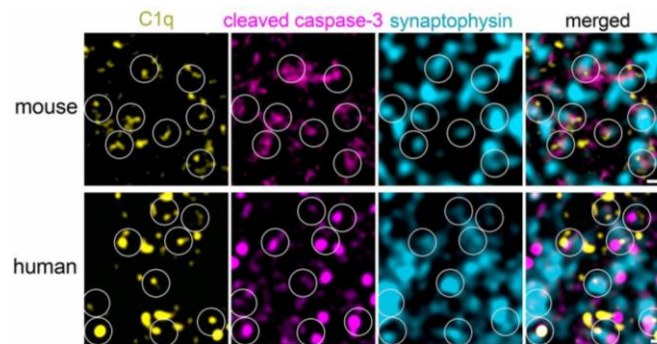
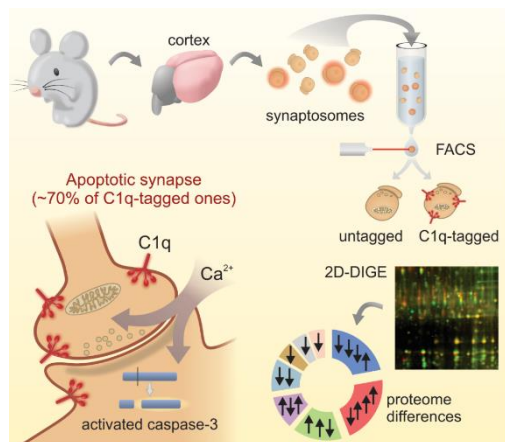
Rekombináns DNS technikák

Fehérje expresszió és tisztítás

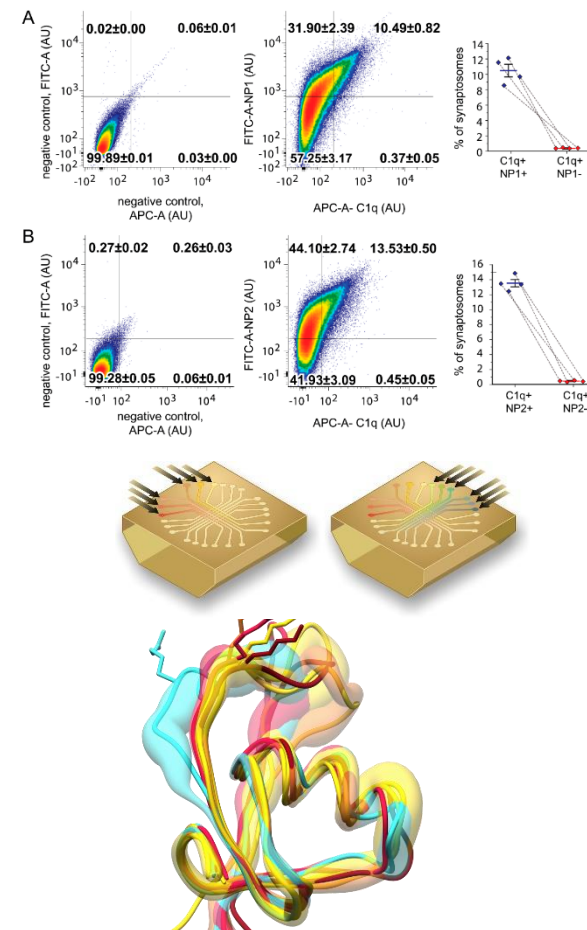
Fehérje szerkezet analízis: CD, SRCD, FTIR, fluoreszcencia spektroszkópia

Fehérje-fehérje kölcsönhatások mérése: ITC, DSC, SPR, FP, ELISA

Bioinformatika: MD szimulációk, fehérjehálózatok, képfeldolgozás

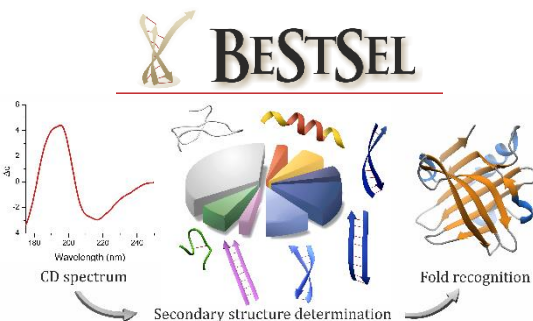
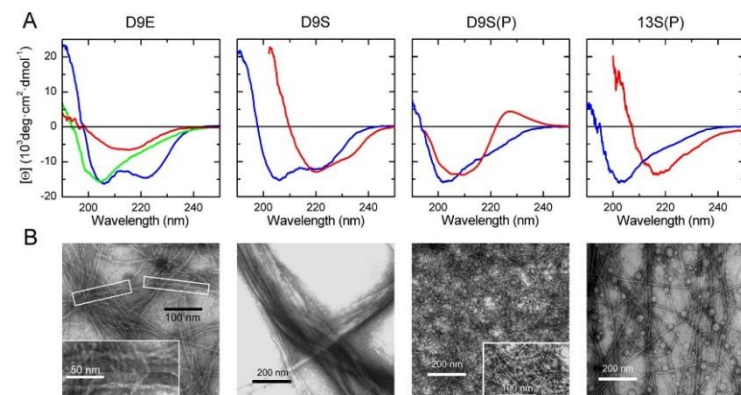


Györfy et al, PNAS, 2018



WT SP1 SP2 SP4 1TGS

Boros et al. J Mol Biol, 2019



Micsonai et al. PNAS, 2015; Micsonai et al. NAR, 2018

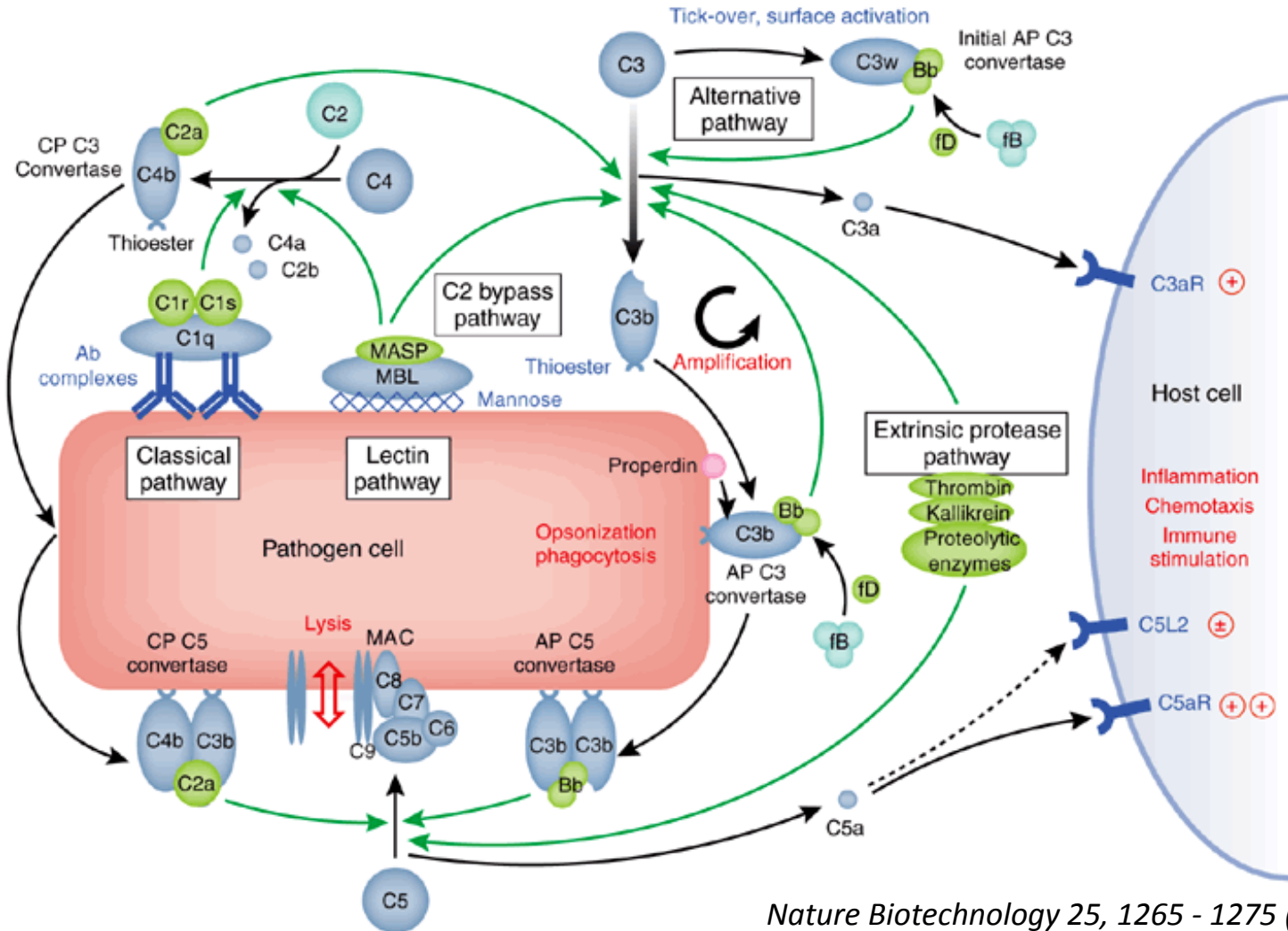
WEB OF SCIENCE™

Highly Cited Paper

Hot Paper

F1000Prime
RECOMMENDED

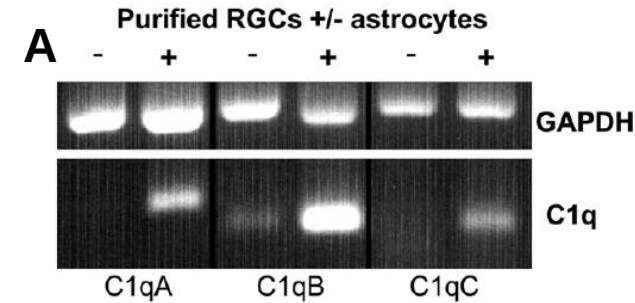
A komplement rendszer



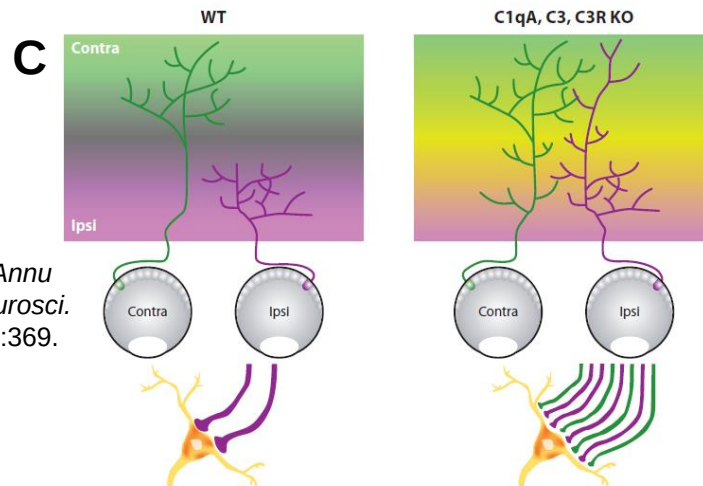
Mi az oka, hogy bizonyos komponensek az agyban is kifejeződnek?

A komplement rendszer speciális funkciója a központi idegrendszerben: komplement-mediált szinapszis eltávolítás

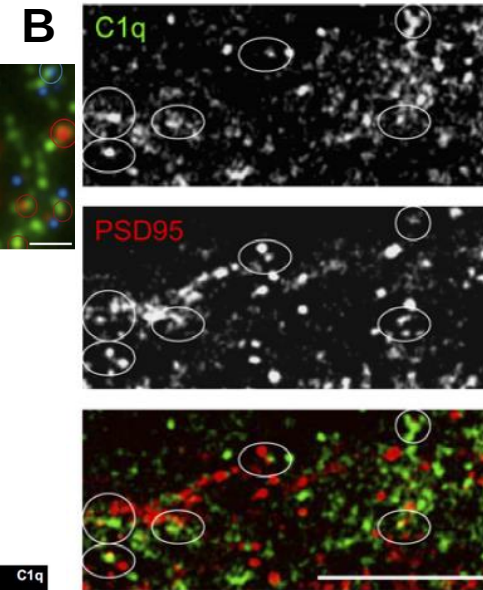
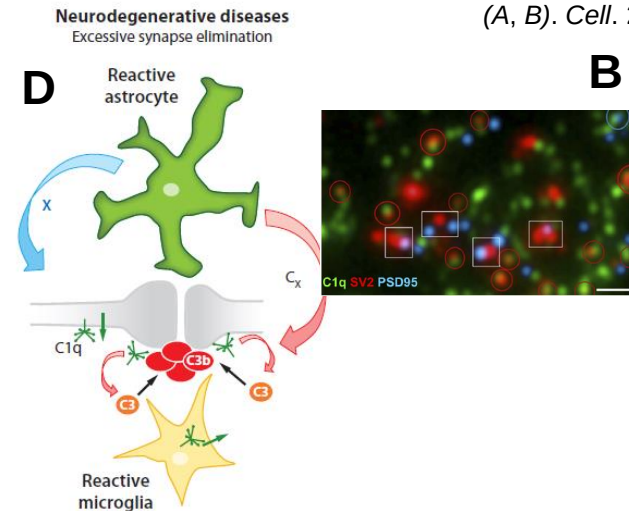
- Megnövekedett C1q szint a retinális ganglion sejtekben a születés után (A)
- Szinaptikus lokalizáció(B);
- Szinapszis elimináció a látórendszer ontogenezise során:
 - C1q KO egér: túlzott szinapszis szám, átfedő területek a thalamusban (C)
 - Megnövekedett C1q expressziói esetében patológiás szinapszisszám csökkenés (pl. glaukóma esetén D)



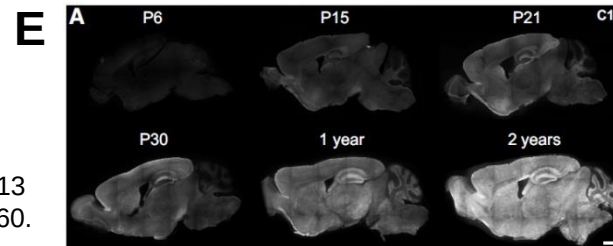
(A, B). *Cell*. 2007 Dec 14;131(6):1164-78.



(C, D.) *Annu Rev Neurosci*. 2012;35:369.

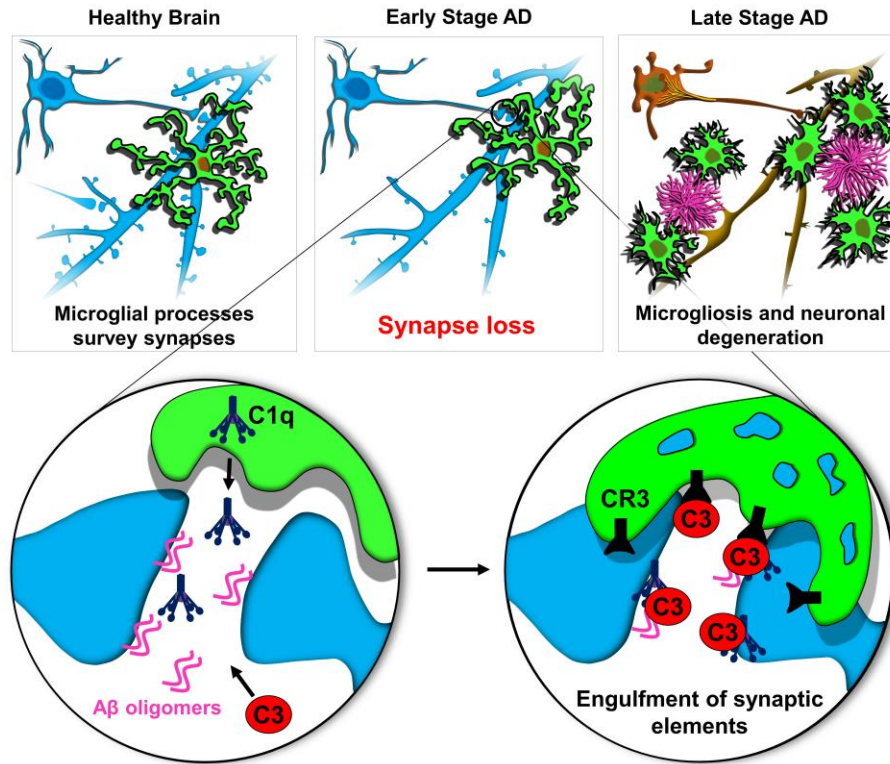


- C1q-KO egér: megnövekedett epileptikus aktivitás; hiperkonnektivitás
- C1q expresszió emelkedik az öregedéssel (E)



(E). *J Neurosci*. 2013 Aug 14;33(33):13460.

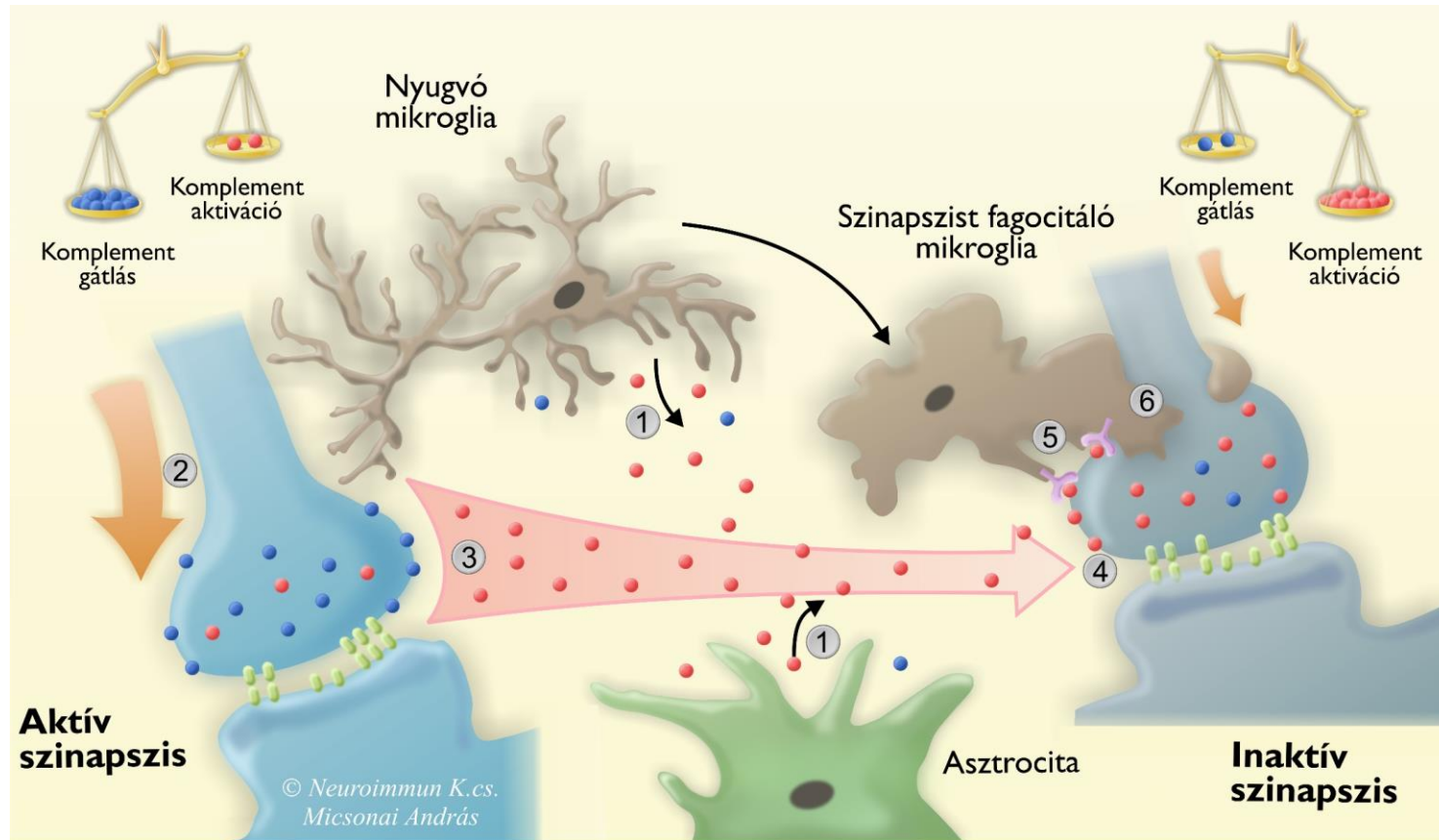
A komplement és a mikroglia sejtek mediálják a korai szinapszisvesztést az Alzheimer-kór egér modelljében



Hong et al., (2016) Science, 352, 712-716.

- A C1q, C3 vagy CR3 komplement receptor gátlása csökkenti a fagocitáló mikrogliaák számát és mérsékli a szinapszisvesztést
 - „specific receptors for C1q at synapses are not yet known” (Hong et al., Science 2016)
- Nem ismertek a C1q kötőpartnerei!

Munkahipotézis, a komplementrendszer szerepe a központi idegrendszerben



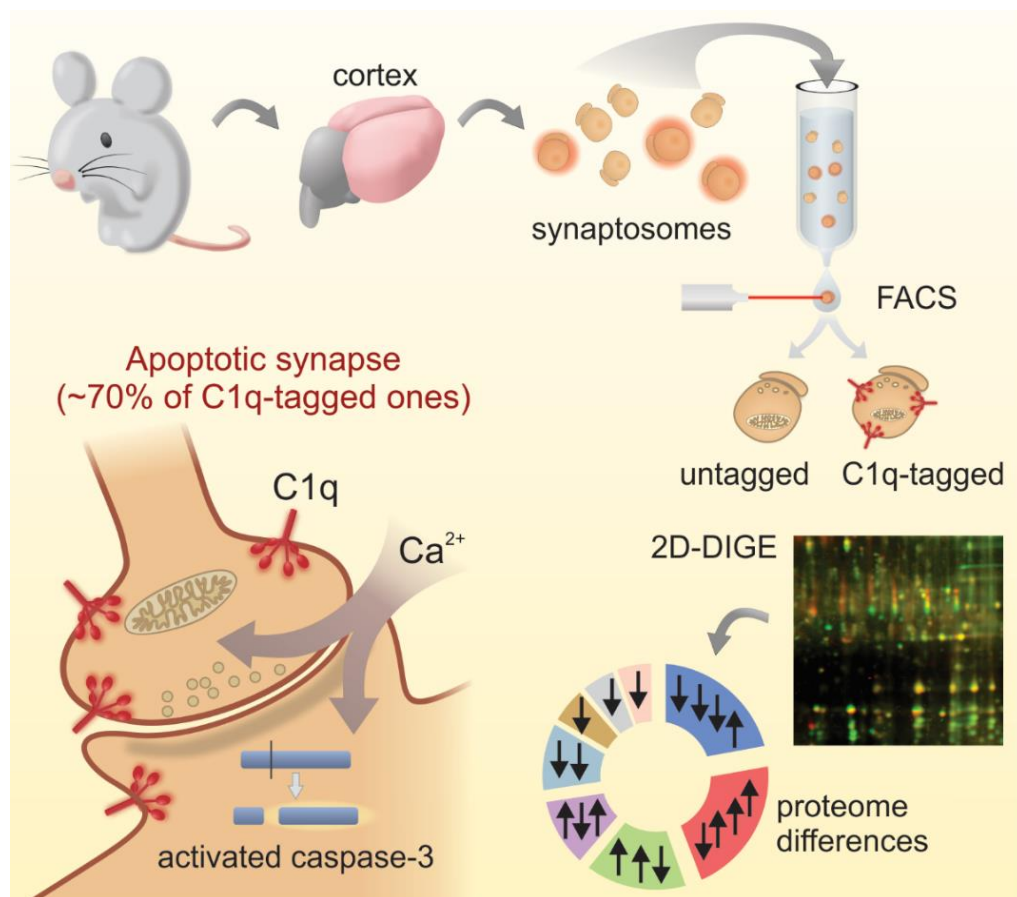
- ① Mikrogliális és asztrocitális komplement termelés
- ② Szinaptikus aktiváció
- ③ Aktiváló komplement faktor felszabadulás

- ④ Komplement kötődés és aktiváció
- ⑤ A jelölt szinapszis felismerése
- ⑥ Indukált fagocitózis

- Gátló komplement faktorok
- Aktiváló komplement faktorok
- Y Komplement receptor (mikrogliális)

Kísérleti megközelítés proteomikai módszerekkel

Eredményeink arra utalnak, hogy az eltávolítandó szinapszisok lokális apoptotikus tulajdonságokat mutatnak

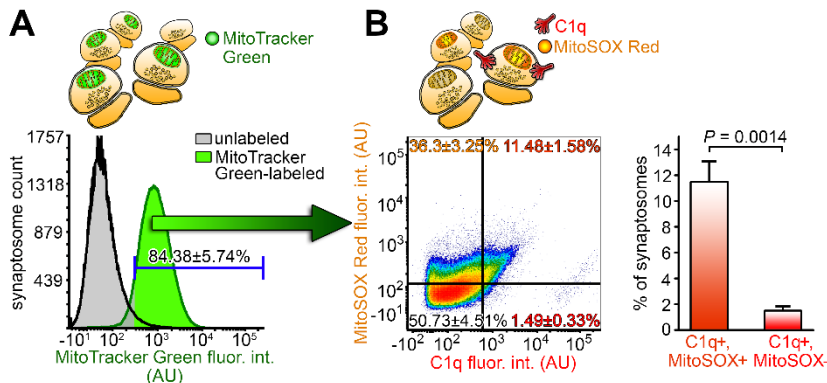
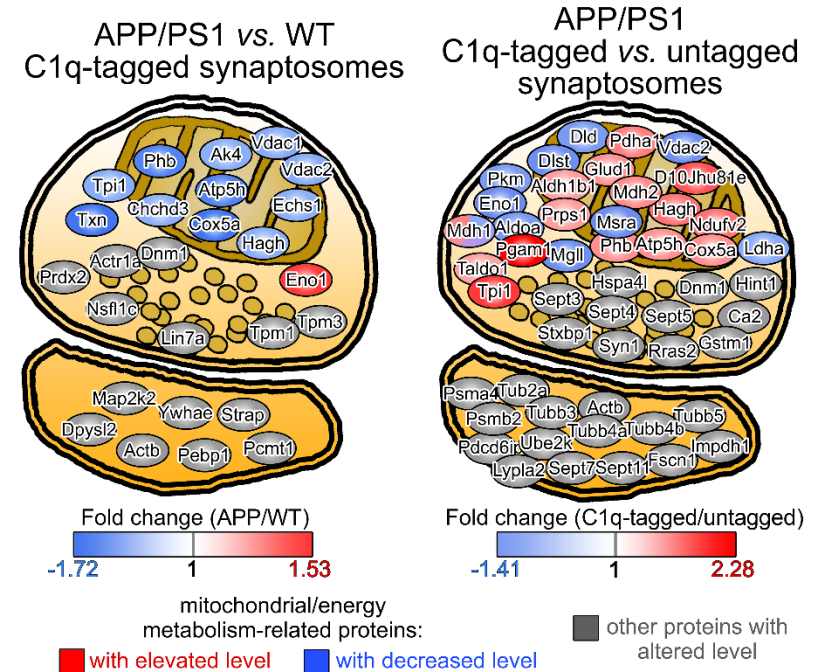
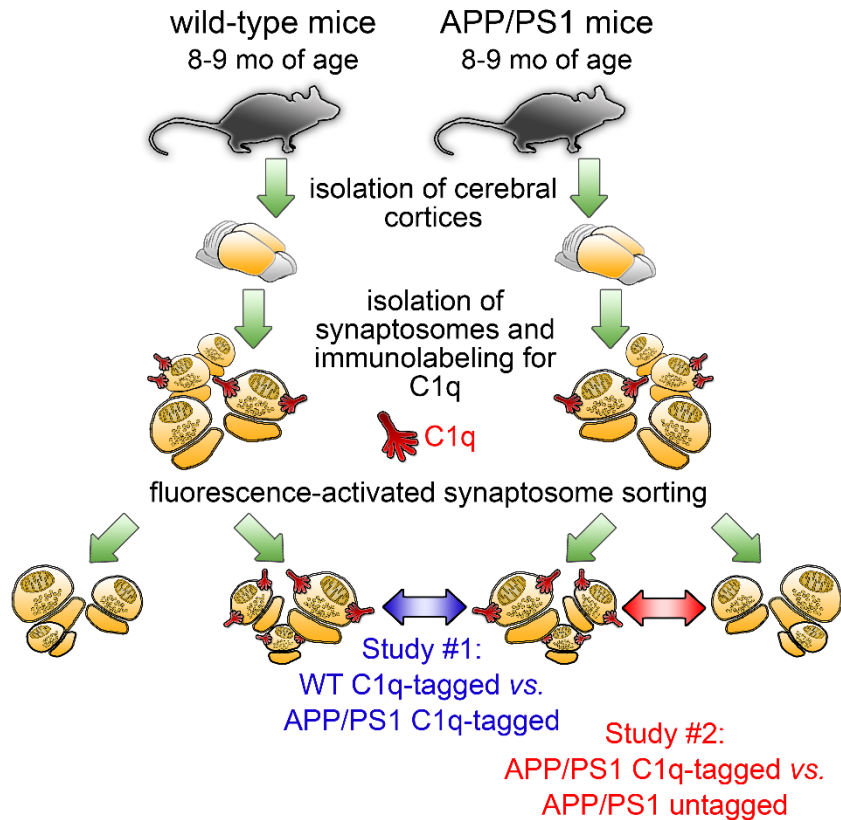


Célok:

- A közreműködő fehérjehálózat feltárása
- Az apoptotikus útvonalak azonosítása
- C1q kötőpartnerek keresése
- Beavatkozási pontok keresése, az apoptotikus folyamatok gátlása, vagy a C1q kötés gátlása által

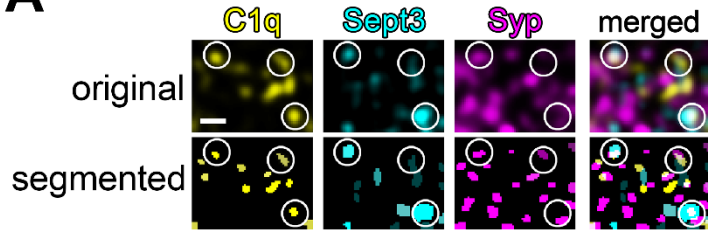
Györffy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (2018)

A szinaptikus mitokondriális funkciózavarok köthetők a komplement mediált szinapszisvesztéshez az Alzheimer-kór egérmodelljében

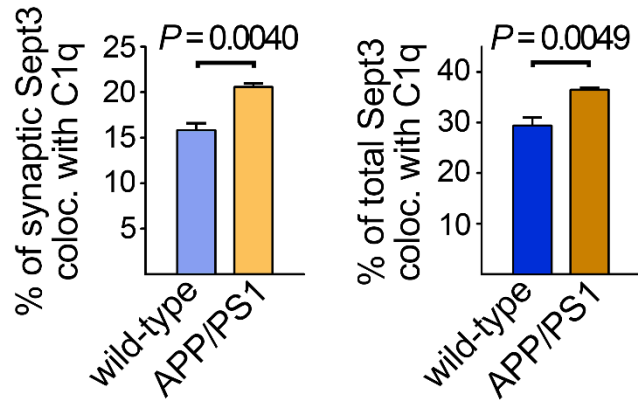


A szeptin fehérjék emelkedett szintet mutatnak a komplement eltávolításra kijelölt szinapszisokban az Alzheimer-kór egérmodelljében

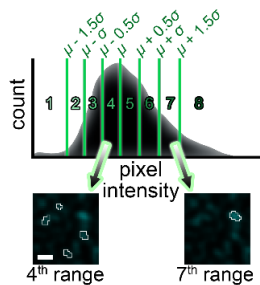
A



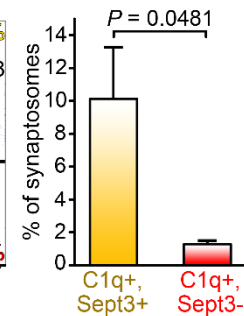
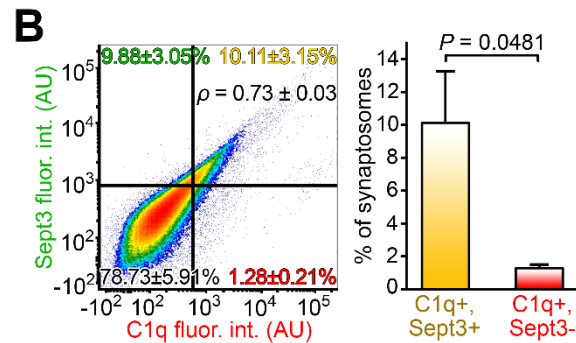
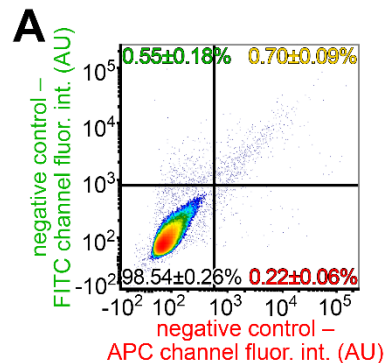
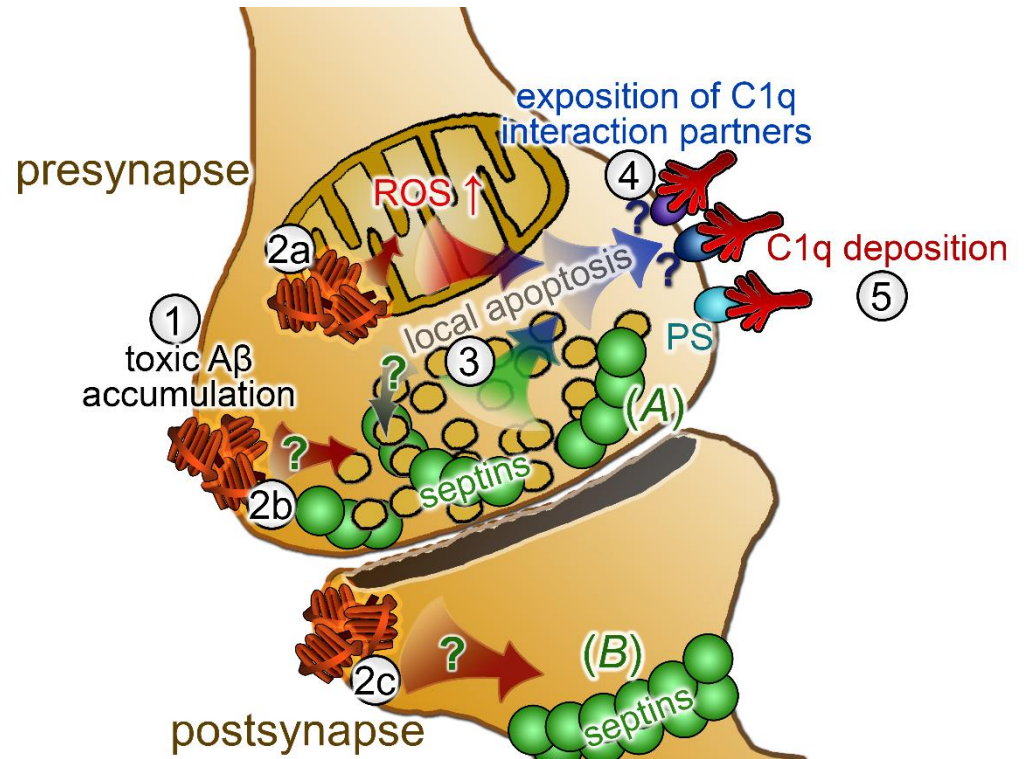
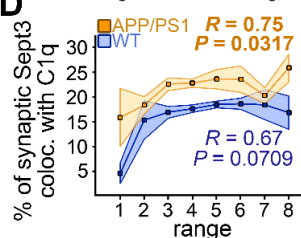
B



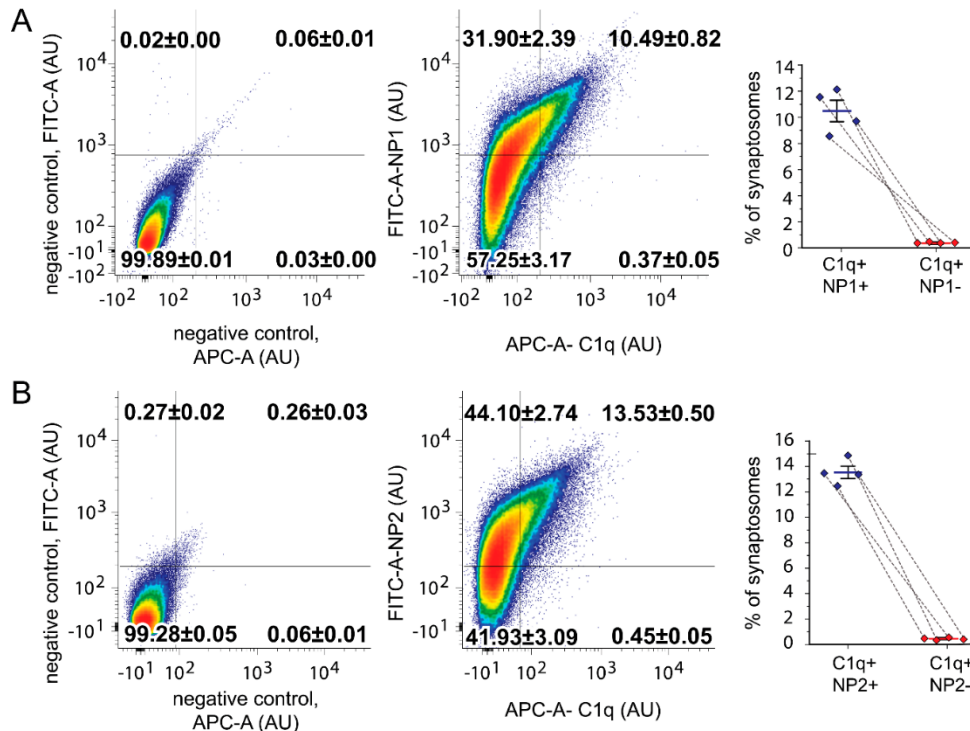
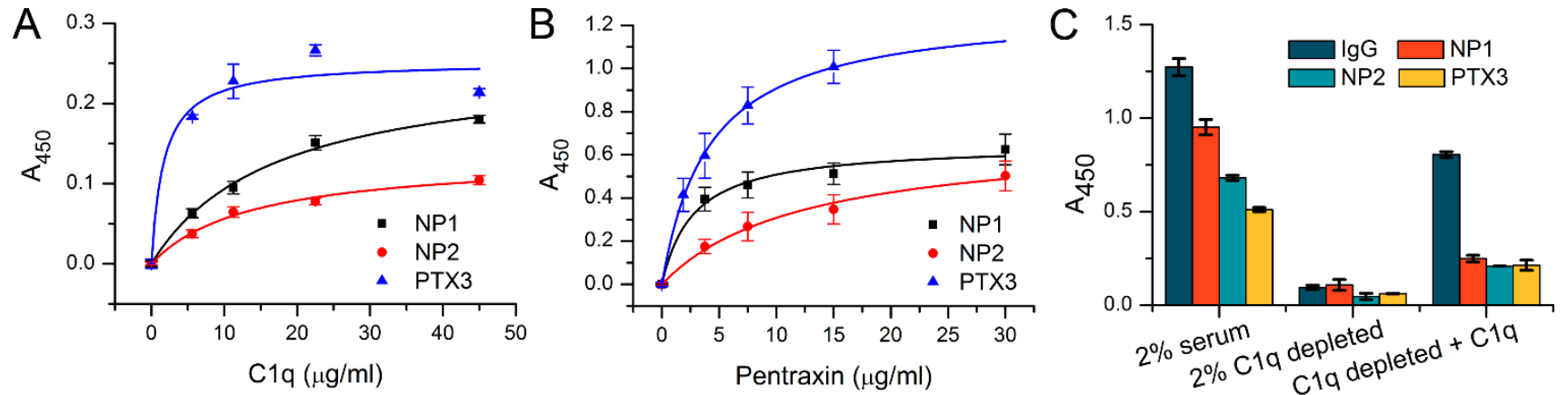
C



D



A neuronális pentraxin fehérjék kölcsönhatnak a C1q-val és kolokalizálódnak a szinapszisokban



(A) NP-C1q kötés

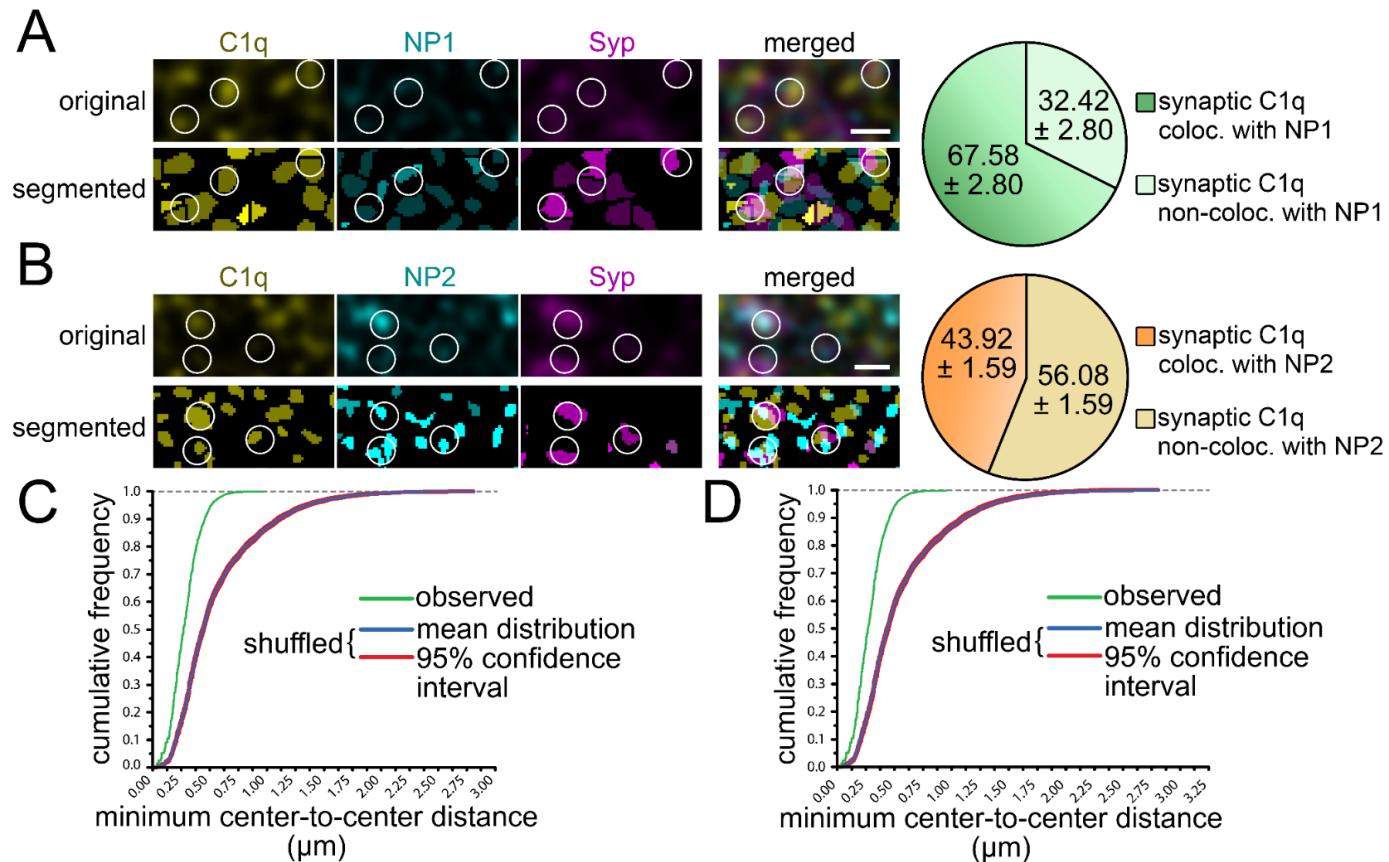
(B) C1-pentraxin kötés

(C) NP-k aktiválják a komplement klasszikus útját

(A) C1q, NP1 kolokalizálódnak a szinapszisokban

(B) C1q, NP3 kolokalizálódnak a szinapszisokban

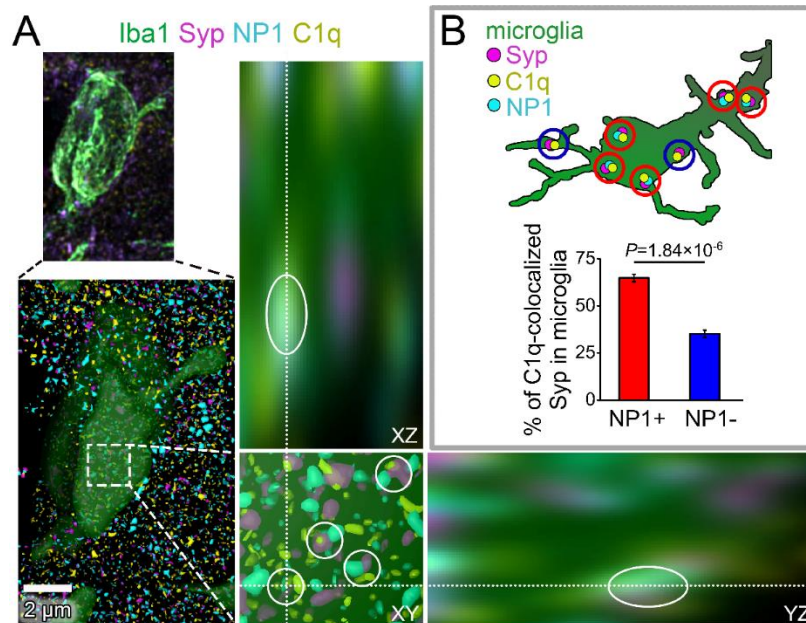
NP 1/2 ko-lokalizálnak a C1q-val a szinapszisokban, *in vivo*



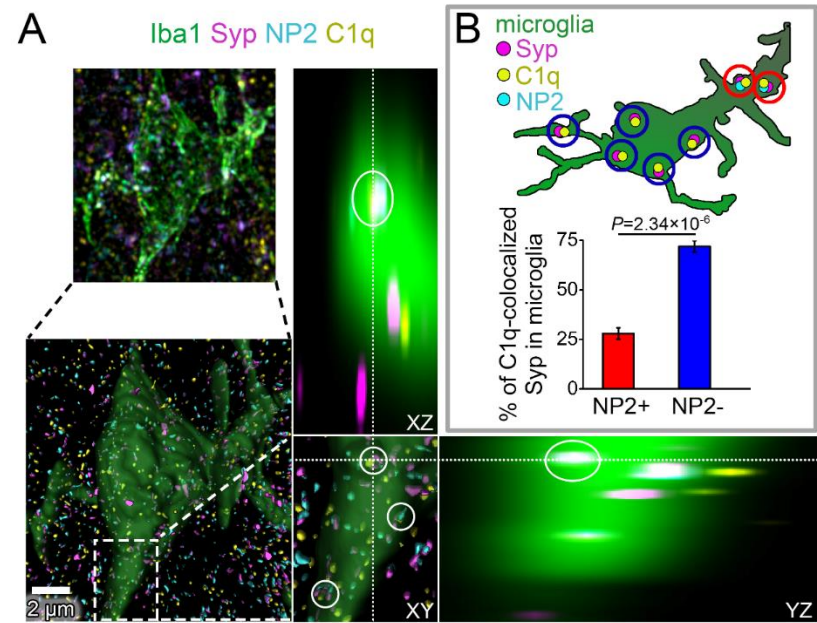
Means $\pm$ SEM are shown; $n = 18$ images recorded from brain sections of 3 mice. Wilcoxon's signed rank test. Scale bar = 0.5 μ m

- Egéragy metszetek immunfestése
- Nagyfelbontású konfokális mikroszkópia
- Automatizált kolokalizáció analízis
- A szinaptikus C1q főképpen NPTX1-gyel kolokalizál
- A közelségük nem lehet a véletlen műve

A mikroglia által bekebelezett C1q-jelölt szinapszisok NP1 pozitívak ugyanakkor negatívak NP2-re



$64.80 \pm 1.97\%$ of C1q-tagged microglial Syp proteins are NP1 positive as well

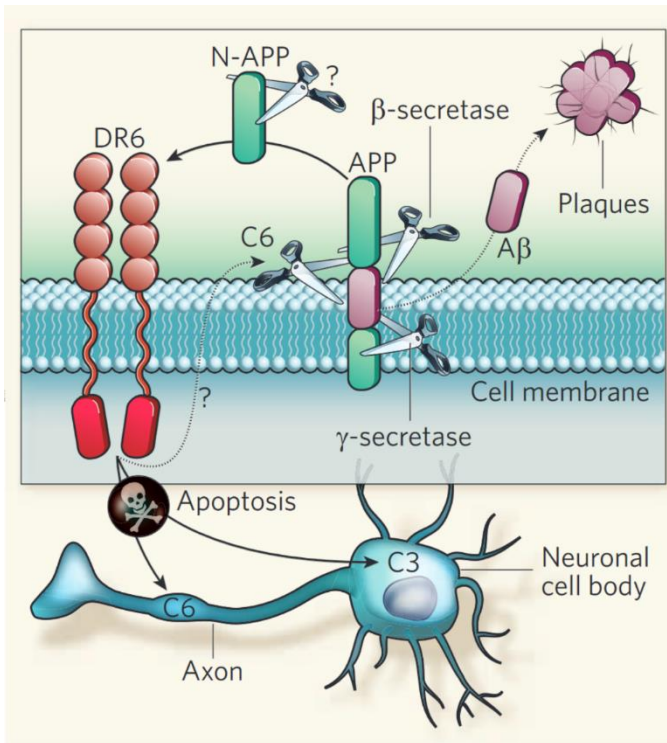


$28.01 \pm 2.88\%$ of C1q-tagged microglial Syp proteins are NP2-positive as well

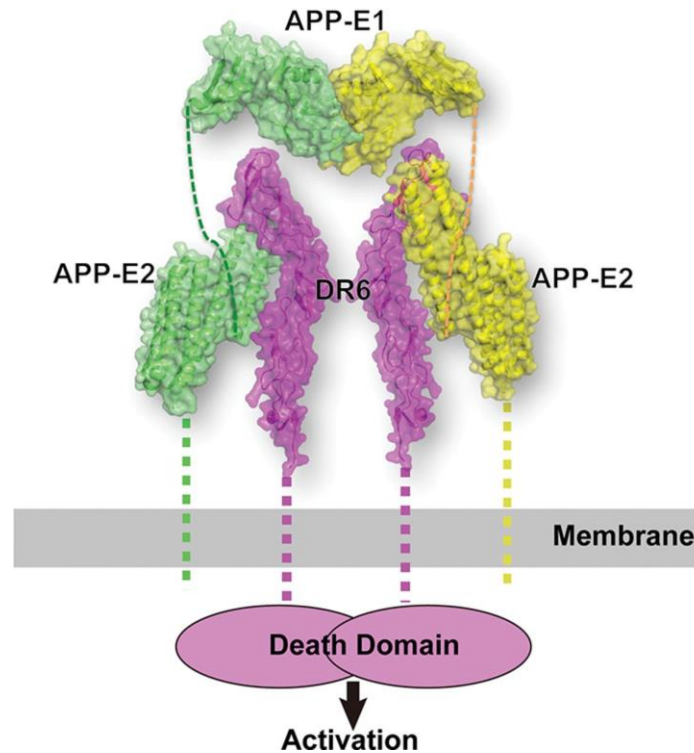
Means $\pm$ SEM are shown; $n = 16$ images recorded from brain sections of 3 mice. Student t -test of paired samples.

A TNFR21 (DR6)-C1q interakció szerepe a szinaptikus apoptózisban

A DR6 (Death Receptor 6)-nak nincs ismert liganduma, de szerepet játszik az axondegenerációban, és kimutatták hogy köti az APP-t (amyloid precursor protein).

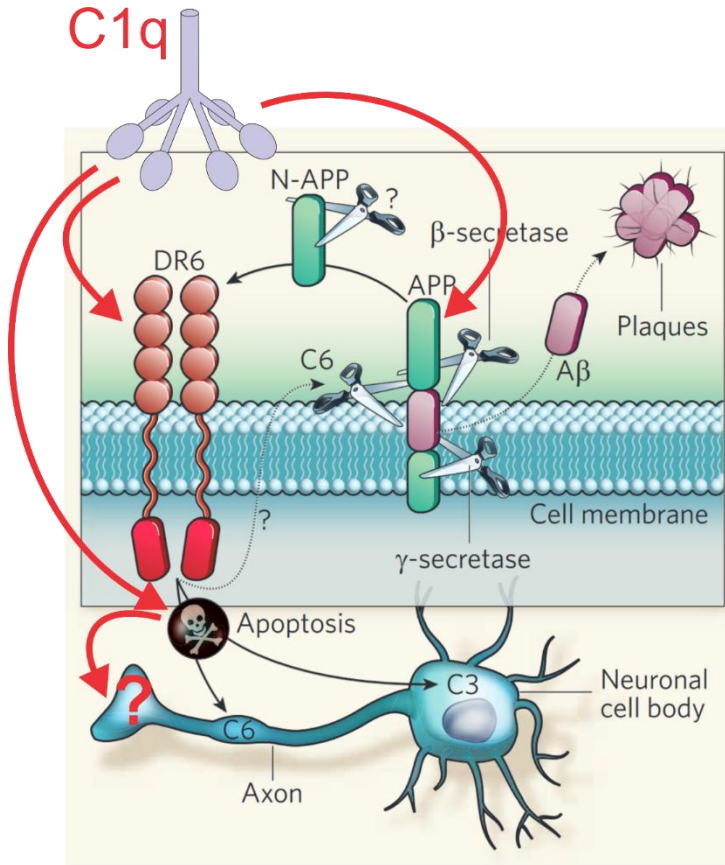


Nicolson, *Nature*, 457:970-1 (2009)

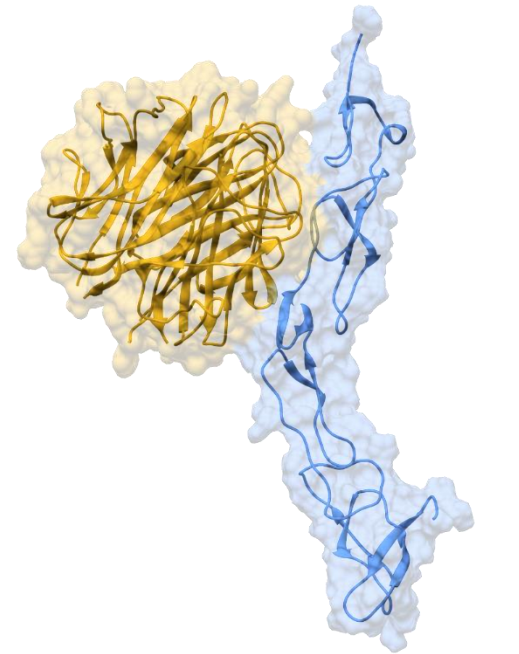
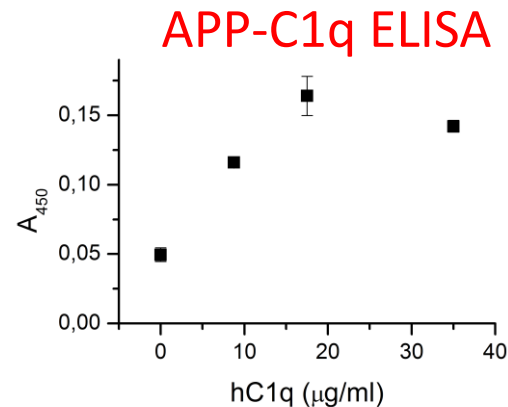
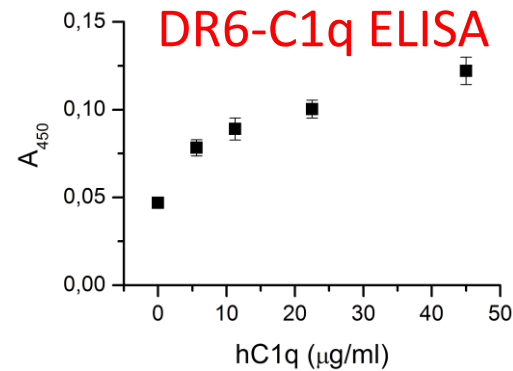


Xu et al., *Genes & Dev.*, 29:785-90 (2015)

A TNFR21 (DR6)-C1q interakció szerepe a szinaptikus apoptózisban



Elő kísérleteink alapján A C1q kötődik a DR6-hoz

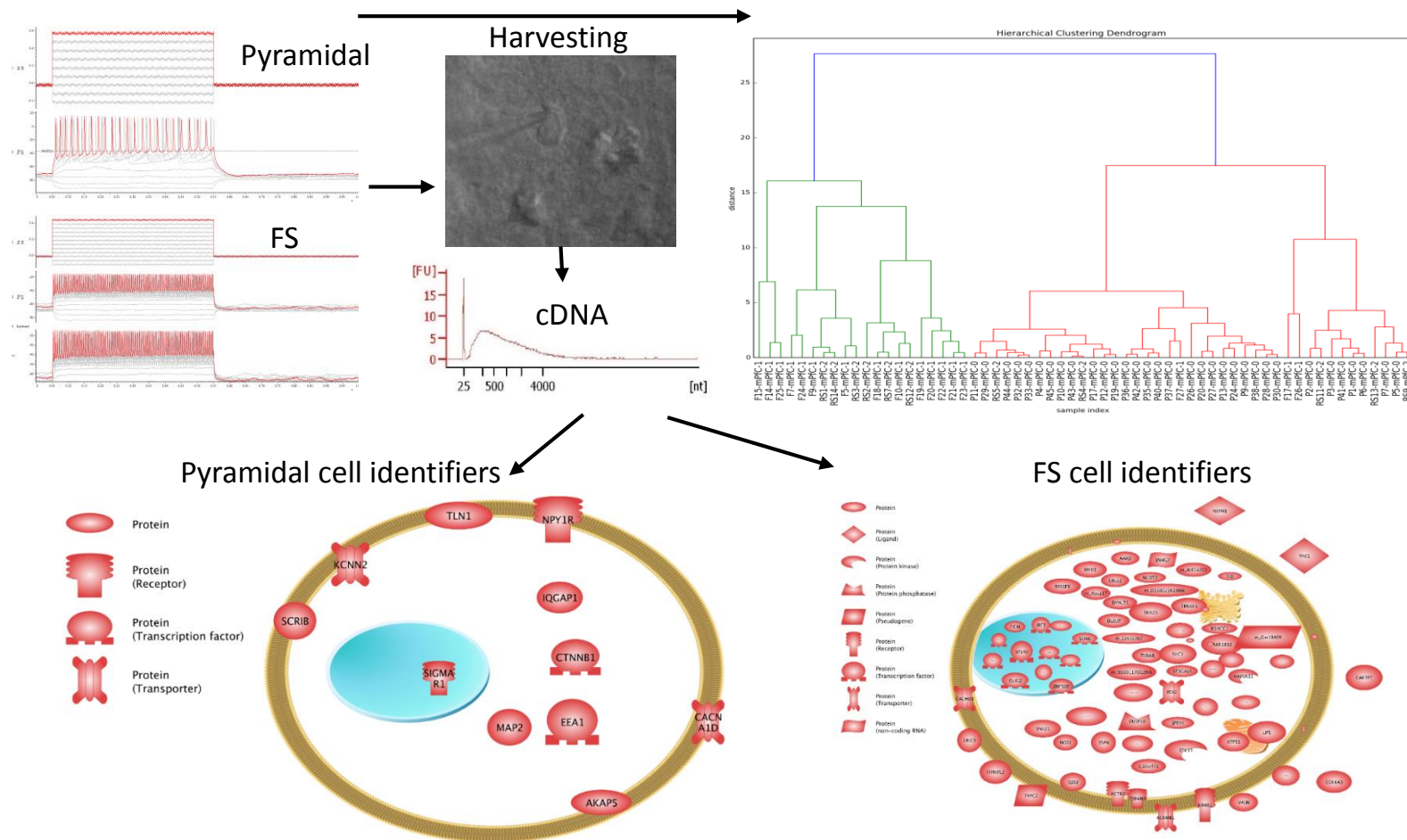


C1q fej-DR6 komplex modellje

A C1q kötődik az APP-hez is.

Komplement komponensek kifejeződése az agyban egysejt-szekvenálás és q-PCR

Különböző idegsejtek expressziós mintázatának meghatározása egysejtszekvenálással
(együttműködés James Eberwine csoportjával (UPENN))



Következtetések

- A C1q által mediált szinapsziselimináció alapja a szinapszisok apoptózis-szerű degradációja
- A komplement mediált szinapszisvesztés a szinaptikus mitokondriális zavarokhoz köthető APP/PS1 Alzheimer-kór egér modellben
- A szeptinek felhalmozódnak az eltávolításra kijelölt szinapszisokban APP/PS1 egérben
- A neuronális pentraxin 1 a C1q molekula kötőpartnere és regulációs szerepet játszhat a szinapszis eliminációban
- Az idegsejtekben az immunrendszer számos eleme fejeződik ki

Válogatott publikációk

Local apoptotic-like mechanisms underlie complement-mediated synaptic pruning

Balázs A. Györfy^{a,b}, Judit Kun^a, György Török^c, Éva Bulyáki^a, Zsolt Borhegyi^d, Péter Gulyássy^a, Viktor Kis^f, Péter Szocsics^g, András Micsonai^a, János Matkó^h, László Drahos^a, Gábor Juhász^{a,e,i}, Katalin A. Kékesi^{b,i,1}, and József Kardos^{a,1,2}

^aELTE NAP Neuroimmunology Research Group, Department of Biochemistry, Institute of Biology, ELTE Eötvös Loránd University, H-1117 Budapest, Hungary; ^bLaboratory of Proteomics, Institute of Biology, ELTE Eötvös Loránd University, H-1117 Budapest, Hungary; ^cLaboratory of Molecular Cell Biology, Institute of Enzymology, Hungarian Academy of Sciences, H-1117 Budapest, Hungary; ^dDepartment of Biochemistry, Institute of Biology, ELTE Eötvös Loránd University, H-1117 Budapest, Hungary; ^eELTE NAP Neuroimmunology Group, Research Center for Molecular Biology, Hungarian Academy of Sciences, H-1117 Budapest, Hungary; ^fDepartment of Biochemistry, Institute of Biology, ELTE Eötvös Loránd University, H-1117 Budapest, Hungary; ^gLaboratory of Proteomics, Institute of Biology, ELTE Eötvös Loránd University, H-1117 Budapest, Hungary; ^hLaboratory of Molecular Cell Biology, Institute of Enzymology, Hungarian Academy of Sciences, H-1117 Budapest, Hungary; ⁱResearch Center for Molecular Biology, Hungarian Academy of Sciences, H-1117 Budapest, Hungary

IF: 9.58

Cellular and Molecular Life Sciences

<https://doi.org/10.1007/s00018-020-03468-0>

Cellular and Molecular Life Sciences

ORIGINAL ARTICLE



Synaptic mitochondrial dysfunction and septin accumulation are linked to complement-mediated synapse loss in an Alzheimer's disease animal model

Balázs A. Györfy^{1,2}, Vilmos Tóth^{2,3}, György Török^{4,5}, Péter Gulyássy⁶, Réka Á. Kovács³, Henrietta Vadász³, András Micsonai^{1,3}, Melinda E. Tóth⁷, Miklós Sántha⁷, László Homolya⁴, László Drahos⁶, Gábor Juhász^{2,8}, Katalin A. Kékesi^{1,2,9}, József Kardos^{1,3}

IF: 7.014

Published online 11 June 2018

Nucleic Acids Research, 2018, Vol. 46, Web Server issue W315–W322
doi: 10.1093/nar/gky497

BeStSel: a web server for accurate protein secondary structure prediction and fold recognition from the circular dichroism spectra

András Micsonai¹, Frank Wien², Éva Bulyáki¹, Judit Kun¹, Éva Moussong¹, Young-Ho Lee³, Yuji Goto³, Matthieu Réfrégiers² and József Kardos^{1,*}

¹ELTE NAP Neuroimmunology Research Group, Department of Biochemistry, ELTE Eötvös Loránd University, Budapest H-1117, Hungary; ²Synchrotron SOLEIL, Gif-sur-Yvette 91192, France and ³Institute for Protein Research, Osaka University, Osaka 565-0874, Japan

IF: 11.147

Identification of Neuronal Pentraxins as Synaptic Binding Partners of C1q and the Involvement of NP1 in Synaptic Pruning in Adult Mice

Réka Á. Kovács¹, Henrietta Vadász¹, Éva Bulyáki¹, György Török^{2,3}, Vilmos Tóth^{1,4}, Dominik Mátyás^{1,4}, Judit Kun¹, Éva Hunyadi-Gulyás⁵, Flóra Zsófia Fedor^{1,6}, Ádám Csincsi⁷, Katalin Medzihradsky⁸, László Homolya², Gábor Juhász^{1,4}, Katalin A. Kékesi^{1,4,8}, Mihály Józsi⁷, Balázs A. Györfy^{1,4} and József Kardos^{1*}

¹ ELTE NAP Neuroimmunology Research Group, Department of Biochemistry, Institute of Biology, ELTE Eötvös Loránd

IF: 7.561

WEB OF SCIENCE™



THOMSON REUTERS



Hot Paper



Highly Cited Paper

15 cikk: 88,142 impakt faktor

Külső együttműködések

NAP2:

Tóth Gergely (ELKH TTK)

Ábrahám István + csoportja (PTE ÁOK)

Hazai:

Homolya László (ELKH TTK)

Tőke Orsolya (ELKH TTK)

Liliom Károly (SE Biofizikai Intézet)

Gulyás Éva (ELKH SZBK)

Nemzetközi:

Frank Wien (SOLEIL, Franciaország)

James Eberwine (UPENN, USA)

Yuji Goto (Osaka University Japán)

Young-Ho Lee (KBSI, Korea)

