

## AZ OTKA T-46067 KUTATÁSI TÁMOGATÁS ZÁRÓJELENTÉSE

### I. A KUTATÁSI TERV INDOKLÁSA

A DOTE Élettani Intézetében 1995. óta végzünk hallásélettani kutatásokat, ezen belül elsősorban a ganglion spirale és a nucleus cochlearis neuronjai által mutatott aktivitás elemzését. Ismert, hogy a hangérzékelés során a Corti-szerv szőrsejtjei a mechanikai jellegű hanghullámokat elektromos jelekké alakítják, ezen jelek a ganglion spirale neuronokban akciós potenciál (AP) sorozatokká transzformálódnak, melyek a VIII. agyideggel érik el a nucleus cochlearist. Mivel a hangingerek valamennyi érzékelhető tulajdonságára vonatkozó információt (hangerősség, hangmagasság, a hangforrás térbeli lokalizációja, stb.) ugyanazon kisülési mintázat paramétereit hordozzák, a feldolgozás során olyan neuronhálózatok egyidejű aktivitására van szükség, amelyek alkalmasak az eltérő szempontok szerinti dekódolásra, és párhuzamos felszálló információs csatornák kialakítására. A most zárult munka fő célja annak vizsgálata volt, hogy a felszíni membrán ioncsatornái, a sejten belüli szignalizációs útvonalak és egyes modulációs hatások milyen szerepet játszanak a cochlearis neuronok ezen feladat megoldásához szükséges heterogenitásának létrehozásában.

### II. A KUTATÁS EREDMÉNYEI

A zárójelentés hosszát annak figyelembevételével alakítottuk ki, hogy az eredmények egy részének közzlése jelenleg van folyamatban.

#### 1. Ioncsatornák szerepe a cochlearis neuronok ingerületi folyamataiban

A cochlearis mag ventrális részében (VCN) található bushy-sejtek aktivitását tanulmányozva megállapítottuk, hogy a sejtek spontán aktivitásuk során egy-egy akciós potenciált produkálnak; ha pedig tartós, küszöbfeletti áramimpulzusokkal ingereltük őket, ugyancsak egyetlen akciós potenciált generáltak, az ingerlő impulzus kezdetén (gyorsan adaptálódó válasz) [4]. Feszültség-clamp körülmények között a neuronokon kevert  $K^+$ -áramot sikerült kimutatni, melynek volt egy gyorsan aktiválódó és inaktiválódó, kevéssé  $TEA^+$ -érzékeny komponense. Ezen tulajdonságai, valamint kinetikai sajátosságai alapján ezt az áramkomponenst A-típusú  $K^+$ -áramként azonosítottuk. Ugyanezek a sejteken el lehetett különíteni egy magas-küszöbű,  $TEA^+$ -érzékeny, kevéssé inaktiválódó áramot is, mely nagy valószínűséggel a késői egyenirányító csatornák aktivációjának köszönhetően alakult ki. Harmadsorban a bushy-sejteken megfigyeltünk egy alacsony-küszöbű, 4-aminopiridinre (4AP) igen érzékeny áramkomponenst, amely részlegesen inaktiválódott, és dendrotoxin-I jelenlétében részlegesen gátolható volt. Tekintettel arra, hogy alacsony koncentrációjú 4AP a

sejtek tüzelési sajátosságát is megváltoztatta (az adaptáció mértékét csökkentette), arra következtettünk, hogy az erősen 4AP- és dendrotoxin-érzékeny áramnak fontos szerepe lehet a bushy-sejtek működésében.

Annak a kérdésnek a megválaszolására, hogy a fent bemutatott  $K^+$ -áramok milyen alegységösszetételű ioncsatornák segítségével jönnek létre, immunkémiai és funkcionális (gátlószeres) módszereket alkalmaztunk [3]. Izolált sejteken kimutattuk a gyorsan inaktiválódó  $K^+$ -csatornák felépítésében szerepet játszó Kv3.4-, 4.2- és 4.3-alegységek jelenlétét, valamint a Kv1.4-alegységek hiányát. A bushy-neuronok expresszálják a Kv1-alegységcsalád több tagját is, valamint (kisebb mennyiségben) a Kv3.2-alegységet. A Kv3.4-, 4.2- és 4.3-alegységek jelenlétét sikerült megerősíteni úszószeletekben is. Vékonyszelet preparátumokon elvégzett feszültség-clamp mérésekben phrixotoxin-2 illetve BDS-I alkalmazásával igazoltuk, hogy mind a Kv4.2/4.3-, mind a Kv3.4- $K^+$ -csatornaalegységek közreműködnek a funkcionáló csatornák kialakításában. A bushy-sejtek membránjában TASK-1-alegységek jelenlétét is sikerült igazolni. A megállapítás jelentőségét az adja, hogy a neuronok membrán-sajátosságainak kialakításában szerepet játszanak a  $K^+$ -csatornák legújabban leírt családjának, a két pórusformáló domént tartalmazó  $K^+$ -csatornák képviselői is.

A téma kidolgozása során két olyan lehetőségünk adódott, amelynek révén bekapcsolódhattunk a TASK- (TWIK-related acid sensitive  $K^+$ ) csatornák vizsgálatába. Az egyik ilyen lehetőséget a Dr. Peter R. Stanfield laboratóriumával (Dept. of Biological Sciences, University of Warwick) fennálló munkakapcsolatunk jelentette, ahol a TASK-csatornák szerkezetének vizsgálata hosszabb ideje folyik. A másik lehetőség a Sigma laboratóriumának (Jerusalem, Israel) felkérése volt egy általuk újonnan kifejlesztett TASK-3-specifikus ellenanyag tesztelésére. Munkánk során az elkerülhetetlenül szükséges módszertani tájékozódás érdekében biztosan TASK-pozitív idegrendszeri és nem-idegrendszeri struktúrákon végeztünk immunhisztokémiai jelöléseket. Megállapítottuk, hogy a különféle patkány kisagyi idegsejtek egyaránt tartalmazzák a TASK-3 alegységet, bár a Purkinje-sejtek pozitivitása jelentősen nagyobb, mint a többi sejt típusé. Kisagyi (és egyéb központi idegrendszeri) astrocyták ugyancsak expresszálják a TASK-alegységeket, a csatornafehérjék a sejtek intracelluláris membránrendszerében is kimutathatók. Humán kisagyi mintákban a TASK-alegységek expressziója változatos mintázatot mutat, kiemelendő a pia mater, az astrocyták, a Purkinje- és szemcsesejtek erős TASK-1 és -3 pozitivitása míg a TASK-2 jelölődés kifejezetten gyengének bizonyult [9]. A továbbiakban a TASK-3 alegységek jelenlétét a gasztrointesztinális rendszer [2] és a bőr [5] különféle sejtjeiben is

sikerült kimutatni. Megemlítendő, hogy a béltraktusban különösen erős immunpozitivitást találtunk a plexus myentericus neuronjaiban.

A különféle Kv-alegységek jelenléte, és az egyes nucleus cochlearis idegsejtek tüzelési sajátságai közötti esetleges kapcsolat felismerését megnehezítette az a tény, hogy az irodalomban rendelkezésre álló adatok különféle módszerekkel, különféle állatfajokon születtek, és az összevetést nehezítette az állatok eltérő életkora is. Ezen nehézségek áthidalására végeztük el hét Kv-alegység immunhisztokémiai jelölését felnőtt patkányok nucleus cochlearisában. Miután a mag egyes sejt típusait specifikusan célzó funkcionális és jelöléses vizsgálatok igénylik a vizsgált neuronok egyértelmű azonosítását, adaptáltunk egy módszert a projekciós neuronok retrográd jelölésére [6]. Patkányból kipreparált agytörzsen sebzést ejtettünk azokon a területeken, ahol az egyes projekciós neuronok axonjai futnak, és abba rodamint helyeztünk. A kísérletek során konfokális mikroszkópiás tanulmány keretében elkészítettük az egyes sejt típusok rekonstruált, három dimenziós képét. Megállapítottuk, hogy az egyes sejt típusok függőleges irányú vetülete nem mindig alkalmas a sejtek morfológiájának (így típusának) egyértelmű megítélésére. Különösen nehéznek tűnik a piramis-sejt/óriássejt elkülönítés. Ez a megállapítás különösen érdekes, mert a funkcionális vizsgálatok során gyakorta végezzük el a Lucifer-yellow-val való töltést, ami után a sejt típusok azonosítása könnyen adhat félrevezető eredményt.

A Kv-alegységek cochlearis magon belüli megoszlását elemezve megállapítottuk, hogy az egyes neuronok expresszálják valamennyi általunk vizsgált fehérjét (Kv1.1, 1.2, 1.6, 3.1, 3.4, 4.2 és 4.3), ugyanakkor az expresszió mértéke az egyes alegységek esetében eltéréseket mutatott az egyes neurontípusok között [8]. Az óriássejtek és az octopus-sejtek különösen erős immunpozitivitást mutattak a Kv3.1-ellenes antitest alkalmazása esetén, az octopus-sejtek esetében a Kv1.1- és 1.2-alegységek jelölődése is igen intenzív volt. A Kv1.2-alegység esetében sikerült demonstrálni a fehérje korfüggő transzlokációját is. További figyelemreméltó adatunk a szemcsesejtes rétegek erős Kv4.2-pozitivitása, és az a megfigyelés, hogy a pozitivitás glomeruláris szinapszisok jelenlétéhez (is) kötődik. Az óriás- és piramis-sejtek morfológiai elkülönítésével kapcsolatban fent leírt nehézség további érdekes vonatkozását jelenti az a megállapítás, hogy a Kv expressziós mintázatok alapján mindkét sejt típuson belül kifejezett heterogenitás figyelhető meg, ami utalhat funkcionálisan is eltérő sejt populációk létezésére. Összességében ugyanakkor az eredmények azt jelzik, hogy a cochlearis mag valamennyi projekciós neuronja tartalmaz olyan Kv-alegységeket, amelyek előfordulása alapján a depolarizáció-aktivált  $K^+$ -áramok mindhárom alapvető típusa jelen lehet rajtuk. A tüzelési mintázatok eltéréseinek megértéséhez tehát szükséges az egyes

alegységek mennyiségének illetve az őket érintő különféle modulációs mechanizmusoknak a megismerése is.

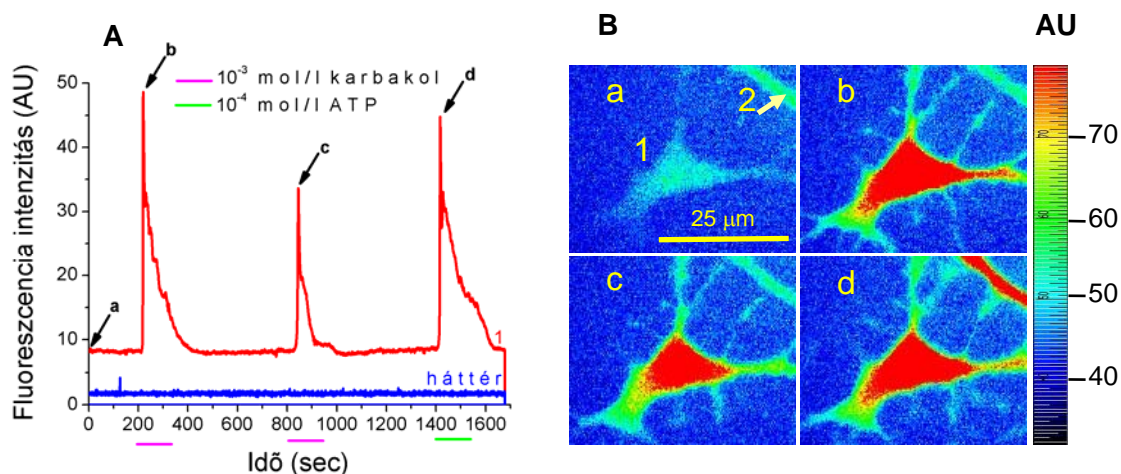
## **2. Az intracelluláris $\text{Ca}^{2+}$ -homeosztázis vizsgálata cochlearis neuronokban és astrocytákban**

A cochlearis projekciós neuronokban expresszáldó citoplazmatikus kalciumpuffer-fehérjék (calbindin, calretinin, parvalbumin) lokalizációját felnőtt patkányokból készült úszószeletekben, immunhisztokémiai jelölés segítségével tanulmányoztuk [7]. Egyes esetekben (a sejtek azonosítása céljából) retrográd rodamin jelölést és konfokális mikroszkópiát is alkalmaztunk. Az irodalomban először sikerült kimutatnunk a parvalbumin jelenlétét piramis- és bushy-sejtekben, miközben az octopus- és óriássejtek nem tartalmazzák ezt a fehérjét. A calbindin a bushy-sejtek kivételével kimutatható volt a projekciós neuronokban, míg calretinit csak a globuláris bushy-sejtekben és az octopus-neuronokban találtunk. Kettős-jelöléssel végzett kísérletekben azt tapasztaltuk, hogy a piramis-sejtek, a Purkinje-szerű sejtek, a globuláris bushy-sejtek és az octopus-sejtek két különféle kalciumkötő fehérjét is tartalmaznak (különféle kombinációkban), míg az óriássejtek csak calbindint, a szferikális bushy-sejtek pedig csak parvalbumint expresszálnak. A fenti adatok arra utalnak, hogy a cochlearis neuronok funkcionális különbségeinek értelmezésekor célszerű figyelembe venni citoplazmatikus kalciumkötő fehérjék meglehetősen heterogén jelenlétét is.

A jelen munkaterv fontos részét képezte a rendelkezésre álló mérőhely bővítése, ami lehetővé tette a cochlearis neuronok bemeneteinek elektromos ingerlését (lásd lejjebb), illetve az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció változásainak mérését szeletpreparátumban illetve izolált sejteken. Az eredeti ütemtervhez képest ez a beruházás késett, ezért a tervezett kísérletes munkának csak a kezdeti lépései valósultak meg. Előkísérletek történtek arra, hogy szeletpreparátumban a patch-clamp módszer teljes-sejtes konfigurációját létrehozva  $\text{Ca}^{2+}$ -érzékeny festéket juttassunk neuronok citoplazmájába, ott mérjük a  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció változásait, és korreláltassuk azokat az elektromos aktivitással. Az eddigi adatok nem elegendőek megbízható következtetések levonására.

A  $\text{Ca}^{2+}$ -mérőrendszer sajátosságainak megismerése céljából a nucleus cochlearisból izolált és primér kultúrában fenntartott astrocytákon muszkarinos acetil-kolin-receptorok ingerlésével kiváltott  $\text{Ca}^{2+}$ -tranzienseket tanulmányoztunk. A mérések célja kettős volt. Egyrészt megkezdtük az astrocyták elektrofiziológiai sajátosságainak vizsgálatát is, amit a  $\text{Ca}^{2+}$ -mérés kiegészíthet; másrészt vizsgáltuk a DCN projekciós neuronok kolinerg modulációs mechanizmusait (lásd alább). Mivel egyre több kísérleti adat mutat a gliasejtek, azon belül az

astrocyták interneuronális szinaptikus működéseket befolyásoló szerepére, a további, vékonyseletheben végzett méréseket az astrocytákra is ki kívánjuk terjeszteni. Ezen kísérletekhez a tenyészetben fenntartott sejteken kapott eredmények jelentős segítséget adhatnak.



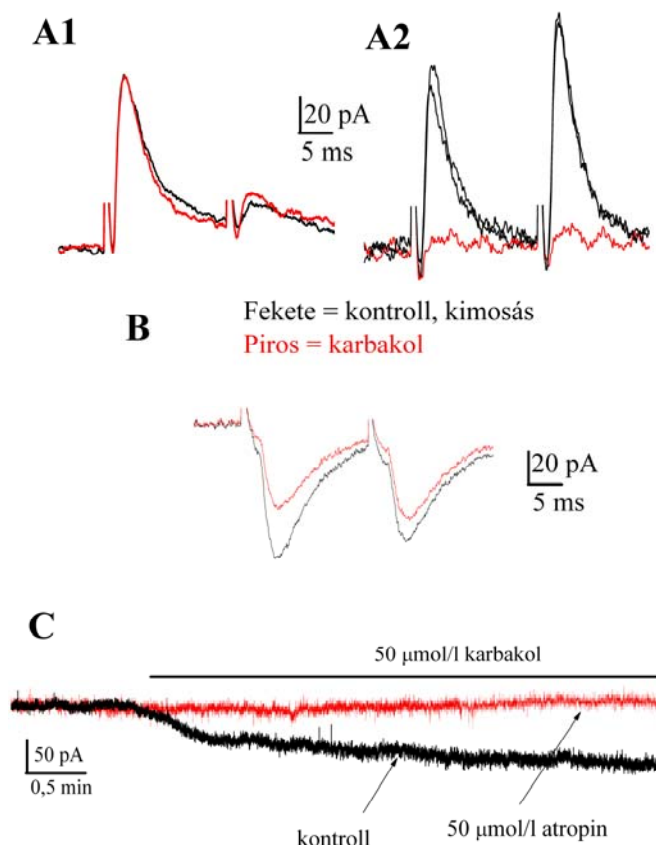
### 1. ábra: Karbakollal kiváltott intracelluláris kalciumtranziensek

Az A ábrarészen látható görbék az intracelluláris kalciumkoncentrációval analóg fluoreszcenciaintenzitás értékeket jelölik. A B ábrarész képei a mérés során készített képsorozat elemei, melyek közül az „a” a mérés kezdetét, míg a „b” és „c” kép a karbakol alkalmazások, a „d” kép pedig az ATP alkalmazás alatti kalciumtranziensek csúcserőit mutatja (az A ábrarészen nyilakkal jelölt időpontokban). Az ábra jobb szélén található skála adja meg a kalciumkoncentráció értékeit „önkéntes egységekben” (AU).

Kísérleteink során 7-9 napos patkányok cochlearis magjaiból izolált primer astrocyta tenyészetben vizsgáltunk egy acetylcholin agonista, a karbakol (karbamilkolin) által kiváltott intracelluláris kalciumkoncentráció-változásokat. Kimutattuk, hogy 1 mmol/l karbakol csak az astrocyták egy kisebb részében (12-20%) vált ki kalciumkoncentráció-növekedést, jóllehet 0,1 mmol/l ATP adására, kevés kivételtől eltekintve, a karbakolra nem reagáló astrocyták is produkáltak  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció-növekedést. A reagáló sejtek egy része egy gyors kalciumtranzienst mellett plató jellegű választ is produkált, míg más sejteken csak a tranzienst komponens volt megfigyelhető. Astrocyta sejtcsoportokon kialakuló kalciumkoncentráció-változások időbeliségét elemezve arra következtettünk, hogy egyes esetekben a tranziensek egyik sejtről a másikra történő terjedésével („kalcium-hullám”) is kell számolni. A karbakol hatásáért felelős receptorok közül a mAChR-ok két altípusának ( $M_1$  és  $M_3$ ) szerepét vizsgáltuk antagonistáikkal (pirenzepin és 4-difenilacetoxi-N-metilpiperidin-methiodid [4-DAMP]) alkalmazásával. Arra következtettünk, hogy a kalciumtranziensek létrehozásában mindkét mAChR altípus szerepet játszik. Az eredményeket tartalmazó kézirat összeállítása folyik, azt a Hearing Research című folyóiratba kívánjuk beküldeni 2008. folyamán.

### 3. Muszkarinos kolinerg neuromoduláció vizsgálata patkány nucleus cochlearis projekciós neuronokon

Korábbi tanulmányok a nucleus cochlearis dorsalis (DCN) projekciós neuronjain, a piramis- és óriássejteken acetyl-kolin hatására jelentős tüzelési-frekvencia-növekedést írtak le. Ennek a hatásnak a pontos helye, mibenléte, és az érte felelős muszkarinos receptorok típusa nem ismert.



2. ábra: Karbakol hatása egy DCN projekciós neuron posztzinaptikus elektromos aktivitására  
Magyarázatot lásd a szövegben.

Kísérleteinkben vékonyszelet-preparátumon, a patch-clamp technika teljes-sejtes elrendezésével mértük a kiváltott posztzinaptikus áramok, illetve a rövid távú szinaptikus plaszticitás változásait. A sejtek morfológiai azonosítása érdekében a pipettaoldatban biocitint alkalmaztunk, majd a feltöltött sejtek morfológiáját konfokális mikroszkóp segítségével rekonstruáltuk.

A DCN molekuláris és mély rétegébe helyezett stimuláló elektródával egyaránt ki tudunk váltani IPSC-ket. A molekuláris réteg felől alkalmazott sorozatingerlés hatására erős depressziót, ugyanakkor a mély réteg felől stimulálva minimális depressziót, sőt egyes esetekben enyhe facilitációt tapasztaltunk. A molekuláris réteg felől kiváltott

posztszinaptikus áramok karbakolra nem bizonyultak érzékenynek (2A1), míg a mély réteg felől kiváltottakat erősen blokkolta a kolinerg receptorok aktiválása (2A2; n = 23). A DCN molekuláris és mély rétegébe helyezett stimuláló elektródával EPSC-k is kiválthatóak voltak. Mindkét helyen történt ingerlés hasonló eredményt adott: a sorozatingerlésre kapott depresszió mértéke csökkent, sőt facilitáció-depresszió mintázattá változott (2B; n = 32).

Vizsgáltuk a projekciós neuronokra gyakorolt direkt kolinerg hatást is. Azt tapasztaltuk, hogy a karbakol adása egy káliumkonduktancia gátlásán keresztül a sejt depolarizációjához vezetett (2C; n = 44). Valamennyi általunk vizsgált kolinerg hatás kivédhető volt atropinnal, a posztszinaptikus kolinerg hatás specifikus receptorblokkolók hatása alapján zömmel M4-es, kisebb részben M3-as receptoron keresztüllinek tűnik. Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a kolinerg neuromoduláció jelen van a nucleus cochlearisban, és általában serkenti a projekciós neuronok akcióspotenciál-tüzelését; azonban a nervus acusticus felőli bemenetre erősebben hat, mint a szomatoszenzoros bemeneteket összegző parallel rostok rendszerére. Az eredményeket tartalmazó kézirat összeállítása folyamatban van.

#### **4. Ganglion spirale neuronok Kv- és HCN-ioncsatorna alegységeinek vizsgálata**

Kísérleteinkben az I. és a II. típusú ggl. spirale sejtek által expresszált Kv-alegységek, illetve a spontán aktivitás és a passzív membránsajátságok kialakításában egyaránt jelentős HCN-alegységek típusát és megoszlását tanulmányoztuk. A kísérletek első fázisában kidolgoztunk egy olyan technikát, ami lehetővé tette az I. és II. típusú sejtek egyértelmű azonosítását, és rajtuk immunreakció kivitelezését. A módszer lényege, hogy a modiolusból eltávolított ggl. spirale-t fixáljuk, majd az immunfestést az agyszövetek immunhisztokémiai vizsgálatában alkalmazott ún. „úszószelet” technikához hasonlóan végezzük. Az eljárás előnye a beágyazott preparátumokon történő vizsgálatokhoz képest az, hogy fluoreszcens jelölést követően (konfokális mikroszkóppal) a ggl. spirale egésze rekonstruálható, és előállítható az egyes neuronok háromdimenziós képe, ami (a megfelelő morfológiai és méretbeli jegyek meghatározása után) megengedi az egyértelmű sejtazonosítást. Eredményeink szerint az I. típusú neuronok méretét jellemző paraméterek szignifikánsan nagyobbak a II. típusú sejtek azonos paramétereinél. A hagyományos, beágyazott preparátumokon ugyancsak kimutathatók a méretbeli különbségek a két sejtípus között, azonban ez a differencia kisebb, mivel az I-es típusú sejtek zsugorodása a fixálás és beágyazás során kifejezettebb.

A Kv-alegységek közül vizsgáltuk a dendrotoxin-érzékeny  $K^+$ -csatornákat felépítő Kv1.1-, 1.2- és 1.6-; a gyorsan inaktiválódó (A-típusú)  $K^+$ -csatornában megtalálható Kv1.4-, 3.4-, 4.2- és 4.3-, valamint a késői egyenirányító csatornákat alkotó Kv3.1b- és 3.2-alegységek jelenlétét és megoszlását. Megállapítottuk, hogy a Kv3.2-alegység kivételével valamennyi csatornaalegység jelen volt a neuronok membránjában. A kétféle sejttípus összehasonlításakor az egyetlen eltérés az volt, hogy a Kv1.2-alegységeket a II-es típusú neuronok csupán 50%-ában lehetett kimutatni [1].

A HCN-alegységek kimutatására az immunjelölés mellett Western-blot technikát is alkalmaztunk. Megállapítottuk, hogy mind az I-es, mind a II-es típusú neuronok expresszálják mind a négy ismert HCN-alegységet. A jelölődés általában erős volt, jóllehet az egyes sejtek közötti variabilitást is ki lehetett mutatni. Kettős-jelöléses kísérletekben azt találtuk, hogy azon sejtek, amelyekben erős HCN1- vagy HCN4-specifikus festődés volt jelen, általában erős HCN2 jelölődést is mutattak. A HCN-expresszió intenzitásában apico-basalis gradiens jelei is kimutathatók voltak: a cochlea apicalis egyharmadában elhelyezkedő idegsejtek HCN1- és HCN3-expressziója kifejezettebb, mint a basalis egyharmadban elhelyezkedőké. Ezek a megállapítások arra utalnak, hogy a ganglion spirale neuronjaiban a HCN-alegységek heteromér csatornákat formálnak, ami megmagyarázhatja ezen idegsejtek áramának korábban leírt heterogenitását (az eredményeket tartalmazó kézirat összeállítása jelenleg folyik).

## **5. Antifungális szerek neurotoxicitásának vizsgálata**

A munkaterv kidolgozása közben kollaboráció keretében különböző antifungális peptidok emlős idegsejtekre gyakorolt esetleges káros mellékhatásait vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy egyik tesztelt peptid sem befolyásolja a neuronok és astrocyták  $K^+$ -áramait [10, 11].

## **6. A munkaterv nem teljesített vállalásai**

Mint az az eredmények ismertetéséből kiderül, a téma kidolgozása közben sor került olyan kísérletekre, amelyeket az eredeti munkaterv nem tartalmazott. Ezek általában az időközben felmerült lehetőségeknek köszönhetően kerültek be a programba. Fontos új elem



volt például a sejtek morfológiájának elemzése, aminek lényeges hatása lett más metodikákkal kapott adataink értelmezésére.

Nem hallgatható el ugyanakkor, hogy egyes tervezett mérések elmaradtak. Nem került sor a mitokondriumok  $\text{Ca}^{2+}$ -homeosztázisban betöltött szerepének vizsgálatára, elsősorban a mérőhely szükséges fejlesztésének elhúzódása miatt. A DCN-ben a moduláció tanulmányozását nem az ioncsatornák szintjén, hanem a posztzinaptikus elektromos válaszok esetében végeztük el. A modulációs rendszerek közül először a kolinerg hatást vizsgáltuk, a metabotróp glutamát receptorok szerepének elemzése csak jelen évben kezdődött meg. A  $\text{Ca}^{2+}$ -homeosztázis tanulmányozását indokoltnak láttuk izolált sejtek szintjén megkezdni, az agyszeletekben való méréshez szükséges tapasztalat megszerzése érdekében.

### **III. PROBLÉMÁK, AKADÁLYOK**

A munkaterv végrehajtása során a legnagyobb nehézséget a párhuzamosan futó The Wellcome Trust támogatásra alapozott beruházás elhúzódása jelentette. Ennek következtében későn nyílt meg a lehetőség a cochlearis mag bemeneteinek tanulmányozására, illetve a citoplatmatikus  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentráció változások mérésére. Jóllehet ezen programpontok végrehajtása is megkezdődött, az eredmények értékelése, közlésre előkészítése csak 2008. folyamán várható.

### **IV. SZEMÉLYI VÁLTOZÁSOK**

A kutatásban eredetileg részt vevő munkatársak közül 2005-ben egy PhD hallgató megszerezte a tudományos fokozatot, és más munkahelyre távozott. Az ezt követő években a laboratórium munkájába összesen három új PhD hallgató kapcsolódott be, akik a továbbiakban részt vettek a téma kidolgozásában. Részvételük mértéke akkora volt, ami az eredetileg megnevezett, csak a témával foglalkozó hallgató pótlását biztosította. Ennek a személyi változásnak nem volt kihatása a munkaterv kidolgozására.

### **V. A KÖLTSÉGTERV ELTÉRÉSEI**

A támogatás felhasználása során az eredeti költségtervtől lényeges eltérés nem történt.

## PUBLIKÁCIÓK

1. Bakondi, G., Pór, Á., Kovács, I., Szűcs, G., Rusznák, Z. Voltage-gated K<sup>+</sup> channel (Kv) subunit expression of guinea the pig spiral ganglion cells. Brain Research Accepted for publication.
2. Kovács, I., Pocsai, K., Czifra, G., Sarkadi, L., Szűcs, G., Nemes, Z., Rusznák, Z. (2005) TASK-3 immunoreactivity shows differential distribution in the human gastrointestinal tract. Virchow's Archiv 446, 402-410.
3. Pál, B., Pór, Á., Pocsai, K., Szűcs, G., Rusznák, Z. (2005) Voltage-gated and background K<sup>+</sup> channel subunits expressed by the bushy cells of the rat cochlear nucleus. Hearing Res. 199, 57-70.
4. Pál, B., Rusznák, Z., Harasztosi, Cs., Szűcs, G. (2004) Depolarization-activated K<sup>+</sup> currents of the bushy neurones of the rat cochlear nucleus in a thin brain slice preparation. Acta Physiol. Hung. 91, 83-98.
5. Pocsai, K., Kosztka, L., Bakondi, G., Gönczi, M., Fodor, J., Dienes, B., Szentesi, P., Kovács, I., Feniger-Barish, R., Kopf, E., Zharhary, D., Szűcs, G., Csernoch, L., Rusznák, Z. (2006) Melanoma cells exhibit strong intracellular TASK-3-specific immunopositivity in both tissue sections and cell culture. Cellular and Molecular Life Sciences 63, 2364-2376.
6. Pocsai, K., Pál, B., Pap, P., Bakondi, G., Kosztka, L., Rusznák, Z., Szűcs, G. (2007) Rhodamine backfilling and confocal microscopy as a tool for the unambiguous identification of neuronal cell types: a study of the neurones of the rat cochlear nucleus. Brain Res. Bulletin 71, 529-538.
7. Pór, Á., Pocsai, K., Rusznák, Z., Szűcs, G. (2005) Presence and distribution of three calcium binding proteins in projection neurons of the adult rat cochlear nucleus. Brain Res. 1039, 63-74.
8. Rusznák, Z., Bakondi, G., Pocsai, K., Pór, Á., Kosztka, L., Pál, B., Nagy, D., Szűcs, G. Voltage-gated potassium channel (Kv) subunits expressed in the rat cochlear nucleus. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. In the Press.
9. Rusznák, Z., Pocsai, K., Kovács, I., Pór, Á., Pál, B., Bíró, T., Szűcs, G. (2004) Differential distribution of TASK-1, TASK-2 and TASK-3 immunoreactivities in the rat and human cerebellum. Cellular and Molecular Life Sciences, 61, 1532-1542.
10. Szappanos, H., Szigeti, Gy. P., Pál, B., Rusznák, Z., Szűcs, G., Rajnavölgyi, É., Balla, J., Balla, Gy., Nagy, E., Leiter, É., Pócsi, I., Marx, F., Csernoch, L. (2005) The *Penicillium chrysogenum*-derived antifungal peptide shows no toxic effects on mammalian cells in the intended therapeutic concentration. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 371, 122-132.
11. Szappanos, H., Szigeti, Gy.P., Pál, B., Rusznák, Z., Szűcs, G., Rajnavölgyi, É., Balla, J., Balla, Gy., Nagy, E., Leiter, É., Pócsi, I., Hagen, S., Meyer, V., Csernoch, L. (2006) The antifungal protein AFP secreted by *Aspergillus giganteus* does not cause detrimental effects on mammalian cells. Peptides 27, 1717-1725.