

Membrán nanocső hálózatok limfociták között: a nanocsőképződés szabályozása és a sejtkommunikációban betöltött szerepük.

doktori értekezés tézisei

Készítette:

Osteikoetxea-Molnár Anikó

ELTE TTK Biológia Doktori Iskola
Immunológia Program

Témavezető:

Prof. Dr. Matkó János

egyetemi tanár

PhD, DSc

Programvezető:

Prof. Dr. Erdei Anna

egyetemi tanár, MTA rendes tagja

ELTE TTK Immunológia Tanszék
Budapest, 2017



Bevezetés

Szervezetünk védekezőképességét a különböző kórokozók ellen immunrendszerünk biztosítja. Az immunrendszer működésében a természetes és adaptív immunválasz vesz részt, melyek kialakulásához és megfelelő működéséhez elengedhetetlen az immunsejtek közötti kommunikáció.

Rustom és munkatársai 2004-ben egy új intercelluláris kommunikációs formáról számoltak be, a 'nanotubular connections' (NTs), vagyis a membrán nanocső hidakról.

A membrán NT-k nagy távolságokat összekötő kommunikációs csatornák, melyek esetén különbségek lehetnek a kialakulási folyamataikban, funkcionális tulajdonságaikban és szerkezetükben egyaránt. Az NT-k hossza és mérete széles skálán mozog, szélességük 50 nm-től elérheti az 1000 nm-t, míg hosszuk általában 5-100 μm közötti értékek lehetnek, de leírtak extrém hosszú, 300 μm hosszúságú NT-eket is.

Egy általánosan használt osztályozás megkülönbözteti a 700 nm-nél vékonyabb, aktin filamentumot (F-aktin) tartalmazó vékony, valamint 700 nm-nél vastagabb F-aktint és mikrotubulust is tartalmazó vastag membrán NT-eket.

A vékony NT-k felszíne patogének transzportját teszi lehetővé, míg a vastagabb NT-k („alagút nanocsövek”, TNT) belsejében sejtorganellumok és vezikulumok transzportja valósul meg. Bár elég sok mindent tudunk már az NT-k keletkezési mechanizmusairól, nagyrészt nem immunsejteken történt vizsgálatokból, a B sejteket összekötő NT-k tulajdonságai, a rajtuk keresztül zajló transzport folyamatok részletei, ill. azok jelentősége az immunfolyamatok szabályozásában még kevésbé ismert.

Célkitűzések

- 1) Feltérképezni B sejteken az NT-k kialakulásához optimális paramétereket, úgy, mint az extracelluláris mátrix (ECM) (mátrix fehérje-sejt kapcsolat), kultúrában eltöltött idő és a hőmérséklet, valamint megvizsgálni, hogy a sejtadhézióknak milyen szerepe van az NT képzésben.
- 2) Részletesen megismerni az érett B sejtek által képzett NT-k szerkezetét, morfológiáját.

- 3) Megvizsgálni, hogy a sejtmembrán lipid összetételének, fluiditásának módosítása befolyásolja-e az NT-k mechanikai tulajdonságait (rugalmasság, AFM technológiával kihúzott NT-k tartásához szükséges erőprofil).
- 4) Vizsgálni kívántuk, hogy az extracelluláris térből származó vagy az intracelluláris raktárakból felszabadított megemelkedett citoplazmatikus Ca^{2+} koncentráció hogyan befolyásolja a membrán NT kialakulás gyakoriságát, valamint a már kialakult NT-k számát.
- 5) Megvizsgálni a citoszkeleton F-aktin és mikrotubulus komponenseinek jelenlétét az érett B sejtekben és az általuk képzett NT-kben, valamint specifikus polimerizáció gátlási kísérletekben azt, hogy ezen komponensek milyen szerepet játszanak az NT-k növekedésében és a rajtuk keresztül zajló intercelluláris transzport folyamatokban.
- 6) Megvizsgálni, hogy milyen nem-izom miozin (NM) alosztályok találhatóak meg az érett egér B limfocitákban (A20) és azok NT-iben, ill. hogy ezen motorfehérjék aktivitása befolyásolja-e az NT képződést.
- 7) Végül vizsgálni kívántuk, hogy milyen NT képzési tulajdonságai vannak az érett egér B (2PK3) antigénbemutató sejtekből és „cognate” T-sejtekből (IP12-7) álló ko-kultúrának, mely korábbi eredményeink szerint jó modellje a nyirokcsomóban képződő immunológiai sznapszisoknak. A ko-kultúrában tanulmányozni kívántuk mindkét sejttypus homo-celluláris NT képzési tulajdonságait, valamint azt hogy kialakulnak-e hetero-celluláris NT kapcsolatok, és ha igen milyen feltételek mellett.

Alkalmazott módszerek

- A sejteket a fluoreszcens jelölést követően fixálva vagy élő sejttes képalkotással vizsgáltuk, kultúrában vagy ko-kultúrában, ECM fehérje aljzat (fibronektin/laminin) alkalmazásával. A sejteket különféle sejtnyomjelző (Cell-Tracker) fluoreszcens markerekkel, a sejtmembránt esetenként gangliozid-specifikus fluoreszcens cholera-toxin B alegységgel, ill. néhány célfehérjét immuncitokémiai (primer fluoreszcens ellenanyag vagy primer jelöletlen ellenanyag és fluoreszcens szekunder ellenanyag szendvicse) úton jelöltünk.

- A sejtek citoplazmatikus Ca^{2+} -szintjét ionofórok, ill. SERCA (sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase) kalcium pumpagátló alkalmazásával módosítottuk, míg az aktin polimerizáció/degradáció egyensúlyt gátlószerekkel (latrunculin B, cytochalasin D) ill. stabilizáló/”befagyasztó” reagenssel (jasplakinolide) módosítottuk. A miozin 2 aktivitás gátlására indirekt (ROCK kináz gátlószer) ill. direkt (p-nitro-blebbistatin) módszereket alkalmaztunk. A sejtmembránok fluiditását többszörösen telítetlen zsírsavak (linolsav, dokozahexaénsav (DHA)) beépítésével, rendezettségének csökkentését pedig koleszterin kivonással (methyl-beta-ciklodextrin (M β CD)) valósítottuk meg.
- A sejt kultúrák mikroszkópiás vizsgálatára leggyakrabban konfokális lézer pásztázó mikroszkópiát (confocal laser scanning microscope, CLSM, Olympus FLUOView500 inverz mikroszkóp) alkalmaztunk, a sejteket speciális, termosztálható (37°C) kamrában (5% CO_2 atmoszféra, állandó páratartalom mellett) élősejtes képalkotás körülményei között vizsgáltuk, mely a hosszabb idejű megfigyeléseket is lehetővé tette.
- A sejt kultúrák nagyobb térbeli feloldású ($d_{\text{laterális}}$: 80-90 nm) tanulmányozására, ugyancsak élősejtes képalkotási körülmények között, „szuper-rezolúciós” un. „structured-illumination” (SR-SIM) optikai mikroszkópiát használtunk (Zeiss Elyra S1 mikroszkópra építve; Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai Kutatóközpont/Biofizikai Intézet)
- Fixált limfocita sejt kultúrák NT hálózatairól pásztázó elektron mikroszkópiával (Scanning Electron Microscopy, SEM, ZEISS EVO 40XVP) is készítettünk felvételeket az Anyag- és Környezetkémiai Intézet (AKI), MTA TTK munkatársa, Dr. Németh Péter segítségével.
- A sejtek membránjának/NT-inek mechanikai tulajdonságait atom-erő (Atomic-Force Microscopy, AFM) mikroszkópiával (MFP3D készülék, Asylum Research), az NT-k morfológiáját Cypher S AFM (Asylum Research) típusú atomerő mikroszkópiával,

Bürker által gyártott MSCT tú „D” jelzésű rugólapkával, a Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetének munkatársai közreműködésével vizsgáltuk.

- Az NT-k aktintartalmának és térbeli pozíciójának detektálására „Total Internal Reflection Fluorescence” (TIRF) mikroszkópiát alkalmaztunk (YAG lézer, Milpitas, TIRF objektív, Olympus, EMCCD kamera, Andor Technology), a Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetének munkatársai segítségével.
- Az áramlási citometriás fehérjeexpressziós ill. jelátviteli vizsgálatokat BD FACS Calibur és BD FACSAria III áramlási citométereken (Becton–Dickinson, San José, California, USA) végeztük.

Eredmények

- 1) Az érett egér B (A20) sejtek nem képeznek NT-eket a sima boroszilikát felszínen, poly-L-lizinnel vagy kollagénnel bevont felszínen. A fibronektin (FN) és laminin felszíneken a sejtek letapadnak, megfigyelhető és kvantitatívan mérhető is a szétterülés/„spreading” és kb. 10-15%-uk képez spontán NT-eket.
- 2) Kimutattuk, hogy az NT formálás erősen függ a sejtsűrűségtől: A sejtkoncentráció csökkenésével drasztikusan lecsökken az NT-t képző sejtek száma. Amíg $0,5-2 \times 10^5$ cells/cm² sejtsűrűség esetén az NT-t képző sejtek gyakorisága mindössze 1-3%, addig a 3×10^5 cells/cm² sejt koncentrációnál a sejtek 10-15%-a képez spontán NT-t. Ennél magasabb, akár $9 \times 10^5-1,5 \times 10^6$ cells/cm² sejt sűrűségénél is láthatóak NT-k, azonban a sejtek 'átfedik egymást', ezért az NT-t képző sejtek számát nem lehet pontosan meghatározni. Az *in vitro* kutatásinkhoz a 3×10^5 cells/cm² sejtkoncentrációt állítottuk be.
- 3) A B sejtek NT formálása függ továbbá a hőmérséklettől és az inkubációs időtől: Amíg 24°C-os szobahőmérsékleten a sejtek NT képző képessége 0-5%, a limfoid sejtek membrán fázisátmenete alatti hőmérsékleten 0%, addig a magasabb, már 30°C-on az NT képző sejtek száma 5-10%, 37°C-on pedig a sejtek 10-15% képez NT-t. Ennél magasabb hőmérséklet (40-42°C) letálisnak bizonyult a sejtek számára. Az NT-t képző sejtek gyakorisága az idő előrehaladtával emelkedik. 1 és 2 órás inkubálás

hatására a sejtek 10-15%-a képez NT-t, 4 és 7 óra elteltével ez csak kissé emelkedik, 15-20%-ra. Magasabb inkubációs időknél a sejtek osztódása miatt a sejtsűrűség drasztikusan megemelkedik, amely következtében a sejtek és NT-k nehezen vizsgálhatóak valamint fennáll a sejtpusztulás lehetősége. Ezen eredmények alapján vizsgálataink során az 1 órás inkubációs időt alkalmaztuk.

- 4) Az érett egér B sejtek (A20) magasan expresszálják a FN receptoraként ismert $\alpha 5/\beta 1$, valamint a laminin receptoraként ismert $\alpha 6/\beta 1$ integrineket. Ezzel ellentétben, az NT-t nem képző illetve adhéziót és "spreading"-et nem mutató éretlen egér B sejtek (38C13) nem expresszálnak egyetlen FN-t vagy laminin-t kötő integrin receptor kombinációt sem. Az $\alpha 5$ vagy $\beta 1$ láncok blokkolása minimálisan, míg a láncok együttes blokkolása jelentősen lecsökkenti az NT-t képző sejtek számát valamint a sejtek kontakt területét az ECM-el („spreading”). Ezen eredmények alapján elmondható, hogy az ECM – sejtípus specifikus integrin kapcsolatnak kritikus szerepe van az NT növekedés elindításában.
- 5) A limfoid sejteken végzett morfológiai tanulmányaink során az alábbi következtetéseket vontuk le: Az érett egér B sejtek (A20) mellett megfigyeltünk membrán NT-ket DiI festékkel jelölt Jurkat humán T limfóma és JY humán B limfoblasztok között is. Morfológiailag a Jurkat sejtek között kialakuló NT-k hasonlóak az A20 B sejtek által képzett NT-khez, míg a JY sejtek között vékony, extrém hosszú NT-ket detektáltunk.
 - A B sejtek között kimutattunk egy- és kétirányú, osztódást követően kialakult és elágazó, valamint nyitott és zárt végű membrán NT-t.
 - Az A20 B sejt NT-k vastagsága 5 μm és 65 μm között változik, átlagos szélességük ~22 μm . Hosszúságuk szintén változatos, átlagosan 650 nm, azonban 200 nm-től elérheti egészen az 1400 nm-t.
- 6) A B sejt NT-k mechanikai tulajdonságai megváltoznak a membrán fluiditás/rugalmasság módosításának hatására:
 - A membrán lipid raftot alkotó koleszterin depléciója M β CD-vel csökkenti az egy NT kihúzásához szükséges erőt.

- A szfingolipid szintézist gátló fumonizin hatására szintén csökken, míg a gangliozidok kereszt kötése következtében nem változik, vagy csekély mértékben nő az egy NT kihúzásához szükséges erő mértéke.
- A membrán fluiditást növelve többszörösen telítetlen zsírsav (DHA) kezeléssel csökken a NT kihúzásához szükséges erő.
Ezen megfigyelésekből arra következtetünk, hogy a sejt membrán tulajdonságai nagyban befolyásolják az NT kialakulást.

7) A citoplazmatikus szabad Ca^{2+} szint dinamikus változásai hatással vannak a B sejteket összekötő NT-k növekedés/visszahúzódnás egyensúlyára:

- A citoplazmatikus Ca^{2+} szint növelése ionomycinnal koncentráció függő módon csökkenti az NT-t képző sejtek számát, továbbá a már kialakult NT-k visszahúzódhatnak az őket képző sejtekbe, vagy membrán hólyagokat/vezikulákat alkotva feldarabolódnak. A visszahúzódnás és a feldarabolódás folyamata is rendkívül rövid (visszahúzódnás 11 sec) időn belül bekövetkezik. Kísérleteink során kizártuk az ionomycin aspecifikus és citotoxikus hatását.
- A citoplazmatikus Ca^{2+} szint növelése (intracelluláris raktárakból) thapsigarginnal szintén csökkenti az NT képző sejtek gyakoriságát.

8) A citoskeleton alkotó elemei közé tartozó F-aktin és mikrotubulusok lényeges szerepet játszanak az immunsejteket összekötő NT-k funkcionális tulajdonságaiban:

- A sejtek és minden általuk képzett NT egyaránt tartalmaznak F-aktint és többségük (kiemelten a TNT-k) mikrotubulust is.
- Cytochalasin D vagy latrunculin B aktin polimerizációt gátló inhibitor alkalmazásakor azt tapasztaltuk, hogy a sejtek NT képző képessége az inhibitorok növekvő koncentrációival arányosan csökken. A polimer F-aktint adott állapotában stabilizáló („mintegy befagyasztó”) jasplakinolide kezelés eredményeként a sejtek NT képző képessége már alacsony koncentrációnál is nagymértékben csökken.
- A mikrotubulus polimerizáció gátlása nocodazole-al vagy a mikrotubulusok stabilizálása paclitaxel-el nincs hatással az NT képződésre.

Ezen eredmények alapján a B sejt NT-kben az F-aktin kötegeknek, mint „váz fehérjéknek” van szerepük, míg a mikrotubulusok a transzport folyamatokban vehetnek részt.

9) A nem-izom miozin motor fehérjéknek meghatározó szerepük van az NT növekedésben: Az A20 B sejtekben és az általuk képzett NT-kben az NM IIA mellett az NM V fehérje jelenlétét is detektáltuk SIM mikroszkóp segítségével. A Rho-asszociált protein kináz (Rho-associated protein kinase, ROCK) gátlása Y-27632 inhibitorral koncentráció függő módon növeli az NT képző sejtek gyakoriságát. A para-nitro-blebbistatin gátolja a motorfehérje aktivitását, amely szintén megnövekedett NT képzést eredményez.

10) A B sejtek között immunreguláló fehérjék, mikrovezikulák és sejtorganellumok transzportja valósul meg:

- „Time-lapse” SR-SIM mikroszkópia segítségével gangliozidban gazdag mikrovezikulák két irányú transzportját detektáltuk B sejtek között TNT-n keresztül.
- Az A20 B sejtek között lizoszóma, mitokondrium valamint MHC-II/CD86 molekulák transzportját figyeltük meg az őket összekötő NT-k által.

11) Az antigén prezentáló B sejtek és T sejtek között kialakuló hetero-celluláris NT képződés tanulmányozása során az alábbi következtetéseket vontuk le:

- Az eger 2PK3 sejtek hasonló mértékben képeznek NT-t FN felszínén, mint az A20 B sejtek. Az IP12-7 sejtek mindössze 2-3%-a képes NT képzésre azonos körülmények között.
- A 2PK3 B sejt felszíne és az általuk képzett NT-k felszíne gazdag mind a CD86 mind az MHC-II molekulákban. Ezen molekulák jelenlétét az NT-ken abban az esetben is detektáltuk, amikor a B sejt és az IP12-7 T sejt között alakult ki hetero-celluláris NT. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy létrejöhet a molekulák B sejtől T sejtbe történő átadása, mely következtében a T sejt akár antigén bemutató funkciót is végezhet.

Megbeszélés

Kutatásaink célja az volt, hogy jobban megismerjük a B sejtek között kialakuló NT hálózat morfológiai és szerkezeti felépítését, valamint funkcionális tulajdonságait, amely eddig még kevésbé tanulmányozott terület volt. Kimutattuk, hogy a sejtek NT képzése függ az őket körülvevő hőmérséklettől és az inkubációs időtől, a sejtdezenzitástól valamint a sejtek és az

ECM közötti kölcsönhatástól, mely utóbbinak meghatározó szerepe van a sejtek adhézis és „spreading” folyamataiban.

A sejtek membrán összetételének pillanatnyi állapota és az ennek függvényeként adódó fluiditása/rugalmissága ugyancsak meghatározó tényező az NT képződés gyakorisága szempontjából.

Az intracelluláris Ca^{2+} szint dinamikus változásai befolyásolják az F-aktin polimerizációt ill. depolimerizációt, amely NT kinövésben vagy visszahúzódásban nyilvánul meg. Feltételezzük, hogy az F-aktin a polimerizáció/depolimerizáció folyamatok dinamikája által szabályozni képes az NT-k növekedését illetve visszahúzódását. Korábbi vizsgálataink eredményei alapján (*Maus és mtsai, 2013 J Leukocyte Biol*) jelentős szerepet játszhatnak ebben a Ca^{2+} -függő aktin-regulátor fehérjék a cofilin és a gelsolin is. Míg a B sejt NT-k vázát elsősorban az aktin filamentumok alkotják, addig a mikrotubulusok inkább az intercelluláris transzportfolyamatok közvetítésében lehetnek érintettek.

Eredményeink alapján az NM IIA az NT növekedés negatív szabályozásában játszik szerepet, feltehetően a sejtkontrakció kontrollálása révén. Ugyanakkor nem zárható ki szerepe a sejtadhézió/spreading folyamatok, azaz az NT képződés iniciációs fázisában sem. Továbbá leírtak már akto-miozin rendszer által kontrollált, intercelluláris NT-ken keresztüli transzport folyamatokat, így szerepük ezen folyamatokban sem zárható ki.

Tanulmányaink során kimutattuk membránnal határolt mikrovezikulák, MHC-II, CD86 molekulák valamint lizoszóma és mitokondrium transzportját. Mivel a B sejt hivatásos antigén prezentáló sejtek is tekinthető, az MHC-II molekula intercelluláris transzportja az NT-n keresztül elősegítheti a közvetítésükkel felismerhető antigén terjedését az APC-k között és fokozhatja az antigénfüggő T sejt válasz aktiválását.

A B sejtek között létrejövő mitokondrium vagy lizoszóma transzportnak szerepe lehet abban, hogy az egészséges sejtek segítséget nyújtsanak más sejteknek mintegy menekülési utat biztosítva a sejthalál folyamatától, ez pedig befolyásolhatja a B sejtek homeosztázisát is.

Kísérleteink erősen alátámasztják azt a feltételezést, hogy T-B sejtek között valamint B-B sejtek között kialakult NT-ken keresztül képesek membrán molekulák átadódni, az MHC-II és CD86 kostimulátor molekulák transzportja pedig fokozhatja az adott antigénre adott celluláris immunválasz intenzitását. Ez a fajta kommunikációs forma szerepet játszhat az

antigénprezentáció hatékonyságának és ezen keresztül a nyirokszervekben lejátszódó T sejt aktiváció szabályozásában.

Az immunsejtek között létrejövő NT-k vizsgálata még csak alapkutatás szintjén zajlik, azonban kialakulásuknak pontos megismerése, valamint a funkcionális tulajdonságaik feltárása lényeges lehet, hogy megértsük az adaptív és természetes immunválaszban valamint egyes betegségek patomechanizmusában betöltött szerepüket.

Értekezés alapjául szolgáló saját közlemények:

1. **Anikó Osteikoetxea-Molnár**, Edina Szabó-Meleg, Eszter Angéla Tóth, Ádám Oszvald, Emese Izsepi, Mariann Kremlitzka, Beáta Biri, László Nyitray, Tamás Bozó, Péter Németh, Miklós Kellermayer, Miklós Nyitrai, Janos Matko:
The growth determinants and transport properties of tunneling nanotube networks between B lymphocytes
Cellular and Molecular Life Sciences, Dec 2016, Volume 73, Issue 23, pp 4531–4545. (IF: 5.788)
2. Eszter A. Tóth, Ádám Oszvald, Mária Péter, Gábor Balogh, Anikó Osteikoetxea-Molnár, Tamás Bozó, Edina Szabó-Meleg, Miklós Nyitrai, Imre Derényi, Miklós Kellermayer, Toshiyuki Yamaji, Kentaro Hanada, László Vigh, János Matkó
Nanotubes connecting B lymphocytes: High impact of differentiation-dependent lipid composition on their growth and mechanics
Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, Sept 2017, Volume 1862, Issue 9, Pages 991–1000. (IF: 5.547)

Egyéb tudományos publikációk:

1. Steinbach G, Pawlak K, Pomozi I, Tóth E A, **Molnár A**, Matkó J, Garab G
Mapping microscopic order in plant and mammalian cells and tissues: novel differential polarization attachment for new generation confocal microscopes (DP-LSM)
Methods and Applications in Fluorescence, Febr 2014, Volume 2, Issue 1, 015005 (9pp) (IF: 2.429)
2. Izsepi E, Balogh A, Farkas A, **Molnar A**, Solymos E, Toth EA, Csepanyi-Komi R, Matko J
The AC8 IgG3 monoclonal anti-cholesterol antibody modulates uptake and presentation of antigens for T cell activation
Immunolog Letters, Jan 2012, Volume 143, Issue 1, Pages 106-115. (IF: 2.337)

Konferencia előadás/poszter prezentációk:

1. Matkó János, Halász Henriett, Ghadaksaz Ali Reza, Madarász Tamás, Huber Krisztina, Harami Gábor, Kovács Mihály, Osteikoetxea-Molnár Anikó, Tóth Eszter Angéla, Nyitrai Miklós, Szabó-Meleg Edina: **Growth and intercellular transport properties of membrane nanotubes connecting immune cells assessed by live cell confocal and superresolution (SIM) imaging.**
15th Conference on Methods and Applications of Fluorescence (MAF), Bruges, Belgium, September 10-13, 2017.
2. H. Halász, A. Ghadaksaz, T. Madarász, A. Osteikoetxea-Molnár, E. A. Tóth, K. Huber, M. Nyitrai, J. Matkó, E. Szabó-Meleg: **Studying membrane nanotubes and their transport processes with live cell superresolution SIM microscopy (P42).**
17th international ELMI meeting, Dubrovnik, Croatia, May 23 - 26, 2017.
3. Anikó Osteikoetxea-Molnár, Krisztina Huber, Eszter A. Tóth, Edina Szabó-Meleg, Ádám Oszvald, Tamás Bozó, Tamás Madarász, Brigitta Brunner, Miklós Kellermayer, László Nyitray, Miklós Nyitrai and János Matkó: **B cells can communicate with each other via nanotubular network with potential immunoregulatory roles.**
3rd Meeting of Middle-European Societies for Immunology and Allergology (MESIA) Budapest, Hungary, December 1-3, 2016.
4. Anikó Molnár, Eszter Angéla Tóth, Edina Szabó-Meleg, Tamás Bozó, Péter Németh, Ádám Oszvald, Emese Izsépi, Anna Csala, Miklós Kellermayer, Miklós Nyitrai and János Matkó: **Live cell confocal fluorescence and TIRF imaging of membrane nanotube networks between B lymphocytes: Studies on the conditions and mechanism of their growth.**
14th Conference on Methods and Applications of Fluorescence (MAF), Würzburg, Németország, Szeptember 14-16, 2015.
5. Molnár Anikó, Tóth Eszter Angéla, Szabó-Meleg Edina, Oszvald Ádám, Izsépi Emese, Csala Anna, Nyitrai Miklós és Matkó János: **A mikrokörnyezet, citoplazmatikus Ca²⁺ szint, aktin-miozin rendszer és sejtmembrán lipid összetétel összefüggései az A20 B sejtek között kialakuló membrán NT hálózattal.**
Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, Magyarország, Május 19-22, 2015.
6. Madarász Tamás, Szabó-Meleg Edina, Molnár Anikó, Tóth Eszter Angéla, Matkó János, Nyitrai Miklós: **A membrán nanocsövek, mint transzporterek szerepe a sejtek közötti kommunikációban.**
A Magyar Kísérletes És Klinikai Farmakológiai Társaság Experimentális Farmakológiai Szekciójának IX. Szimpóziuma, Velence, Magyarország, Március 26-28, 2015.