

A projekt főbb eredményei a következők

Megállapítottuk, hogy a HSP-90-gátló 17-AAG az ErbB2 homodimerizációját és foszforilációját fokozza mind trastuzumab szenzitív, mind rezisztens emlőtumor sejteken, és hosszútávon a receptor leszabályozását és a sejtproliferáció gátlását idézi elő, melynek háttérében elsősorban apoptózis, nagyobb dózisoknál részben nekrozis áll. Ennek alapján a 17-AAG alkalmas lehet a trastuzumab-rezisztens, ErbB2-pozitív tumorok kezelésére. Az ErbB2-t nagymértékben expresszáló trastuzumab szenzitív daganatsejtek esetén a 17-AAG proliferációt gátló hatása a nagyszámú ErbB2 receptor aktiválódása miatt alacsonyabb. Ilyen tumoroknál a trastuzumabbal történő kombináció hatásos lehet a 17-AAG által kiváltott ErbB2 foszforiláció gátlásában, valamint az alacsony dózisú 17-AAG növekedést gátló hatásának fokozásában (Zsebik és mtsai. 2006). A 17-AAG hatására létrejövő homoasszociáció változás *in situ* sejtmembránban történő mérésére akceptor fotokioztásos konfokális mikroszkópos módszert optimalizáltunk (Szöllösi és mtsai. 2006; Nagy és mtsai. 2006), melyet arra használtunk, hogy a receptor aktiváció, asszociáció és lokális expressziós szint korrelációját vizsgáljuk. A továbbiakban ehhez a metodikához új, felhasználóbarát, nyilvánosan elérhető programot fejlesztettünk ImageJ JAVA környezetben (Roszik és mtsai, 2008).

A HSP-90 gátlás vizsgálata során elért eredményeink gyakorlati jelentősége kettős: egyrészt igazolja a 17-AAG monoterápia hatékonyságát trastuzumab-rezisztens, de ErbB2-pozitív emlőtumorok esetén, másrészt felhívja a figyelmet arra, hogy magas ErbB2 szintű emlőtumorok 17-AAG terápiáját érdemes lehet az adverz hatásként jelentkező ErbB2 foszforiláció csökkentése érdekében trastuzumabbal kombinálni. Ez a megfigyelés azért is jelentős lehet, mivel a jelenlegi egyetlen klinikai kipróbálásból, melyben 17-AAG-t alkalmaznak, a korábbi vagy fennálló trastuzumab kezelés kizáró ok. Olyan 17-AAG-trastuzumab konjugátum létrehozásával azonban már kísérleteztek, amit az ErbB2-t túlzott mértékben kifejező tumorokhoz adva egyfajta specifikus chaperon terápiát teremtene. Egy ilyen konjugátum alkalmazása azonban megköveteli annak pontos ismeretét, hogy milyen hatása van a 17-AAG és a trastuzumab együttes adásának a különböző expressziós szintű és eltérő trastuzumab-rezisztencia fokú tumorokban.

Modellrendszereink közül az alacsony ErbB2 expressziót mutató patkány adenokarcinóma esetén igen hatékony, potenciálisan a klinikumban is alkalmazható kombinált kezelést megalapozó megfigyeléseket tettünk. Cisztein proteináz inhibitor (CPI) fotodinámiai terápiahoz (PDT) társítva ezek szinergisztikusan gátolták a tumor növekedését, fokozták a tumor nekrozisát, s ennek háttérében legalábbis részben a szinergisztikusan csökkentett szérumban VEGF szint, ill. a következményes nagyfokú neovaszkularizáció-gátlás állt. A PDT és CPI kombinációja a Wistar patkányokba implantált szolid emlőkarcinóma progresszióját 20 mg/kg HpD, 500 µg/állat CPI és 90 J/cm<sup>2</sup> fotodózisú besugárzás mellett képes leghatékonyabban gátolni. A legjobb eredményeket az inokulációval egyidőben elkezdett terápia adja, ami arra utal, hogy a kombinációs kezelés különösen hatékony lehet a szóródott, ill. reziduális daganatsejtek elpusztításában (Zsebik és mtsai. 2007).

Érdekes felfedezést tettünk a receptor tirozinkinázokról induló jelátviteli kaszkád elemeit előállító egyik enzim, a foszfatidilinozitol-4-kináz 230 kDa-os izoformáját illetően. Ez az izoforma, úgy tűnik, az enzimtől megszokott membránközeli, ill. vezikuláris lokalizáción kívül a sejt magvacskában is megjelenik, ahol detergens-rezisztens proteo-lipidkomplexekben található, és dinamikusan és reverzibilisen kötődik nukleinsav tartalmú szerkezetekhez. Az enzim lokalizációja a sejtek aktiváltsági, ill. differenciáltsági állapotától, ill. a sejt kultúra konfluenciájától is függ, amely utóbbi egyes receptor tirozinkinázok expresszióját, membránbeli szerveződését is erősen befolyásolja (Kakuk és mtsai. 2006). A PI4K230 monopartit NLS-e által közvetített sejtmagi import lektin-érzékeny, energia-függő folyamat, amely importin  $\alpha 1/\beta$  és importin  $\alpha 3/\beta$  dimer transzport faktorok által vezérelt útvonalakon történik. A bipartit NLS önmagában nukleoláris lokalizációt jelző NTS-ként működik, de tágabb polipeptid környezetével együtt nukleáris importot is mediál (Kakuk és mtsai. 2008).

Sikeresen létrehoztuk egy trastuzumab rezisztens emlőtumorból (JIMT-1) a tervezett, SCID egérben növeszthető xenograft modellt, melynek segítségével anti-ErbB2 terápiák *in vivo* és *in vitro* hatásai között különbséget vizsgáltuk. Irodalmi adatok alapján felvetődik, hogy trastuzumab-érzékeny sejtvonalak esetén a trastuzumab *in vivo* hatásának egy részéért immun-mediált mechanizmusok lehetnek felelősek. Az általunk használt JIMT-1 sejtvonal jelenleg egyedülálló modell, amellyel egyszerre, elkülönítve lehet vizsgálni a trastuzumab-rezisztencia direkt (*in vitro*) és immun-mediált formáját (*in vivo*). Kísérleteink először is arra világítottak rá, hogy az *in vitro* trastuzumab-rezisztens JIMT-1 sejtek (melyek eredetileg klinikailag trastuzumab rezisztens beteg pleurális metasztázisából származnak) *in vivo* érzékenyek a trastuzumab kezelésre, de csak amennyiben azt korán, kis tumorméretnél, vagy a tumorsejtek inokulációjával egyidőben kezdjük. Tekintve, hogy a trastuzumabból lehasított  $F(ab')_2$  fragmentum, bár *in vitro* kötődött a sejtekhez és ErbB2 keresztkötésére alkalmas volt, nem gátolta a tumornövekedést, a teljes trastuzumab tumorgátló hatásában az Fc rész, és így az antitest közvetített sejtmédiált citotoxicitás (ADCC) szerepe tételezhető fel. A tumor növekedése kapcsán kialakuló rezisztencia pedig ennek értelmében a trastuzumab-közvetítette ADCC-vel szembeni rezisztencia kialakulását jelenti. Azt is megállapítottuk, hogy a trastuzumab és  $F(ab')_2$  fragmentuma azonos mértékben csökkentette a xenograftok ErbB2 szintjét. Így, mivel az  $F(ab')_2$  a daganatnövekedésre nem hatott, a trastuzumab ErbB2-t csökkentő és daganatnövekedést gátló hatása modellünkben nem mutat összefüggést (Barok és mtsai., 2007). Az ErbB-célpontú daganatterápiák immunológiai vonatkozásának ilyenén felmerülése miatt egyrészt kooperációt indítottunk ErbB2 célpontú átprogramozott (kiméra T-sejt receptorral stabilan transzfektált) T-sejtek hatásmechanizmusának és az általuk létrehozott immunszinapszipsok jellemzésére, másrészt áttekintettük ezen szinapszisos és a lipid tutajok mint szervező platform összefüggéseit (Szöör és mtsai, 2010).

A trastuzumab ADCC-t mediáló hatását *in vitro* kísérletekben is demonstráltuk, és megállapítottuk, hogy az *in vitro* trastuzumab-érzékeny és az *in vitro* rezisztens sejtvonalak ugyanolyan mértékben érzékenyek a trastuzumab-közvetítette ADCC-re *in vitro*. *In vitro* ADCC-re érzékenyek találtuk az ADCC-re *in vivo* rezisztenssé vált xenograftból alapított JIMT-1 X+ sejtvonalat is. A JIMT-1 X+ sejtek egerekbe oltva *in*

*vivo* is újra érzékenynek bizonyultak, bár a rezisztencia gyorsabban kialakult, mint a JIMT-1 sejteknél (Barok és mtsa., 2007). A sejtvonalak génexpressziós analízise teljes humán genom csipen megtörtént, az eredmények verifikálása jelenleg folyik.

A továbbiakban módszert állítottunk be a xenograft-hordozó SCID egérben keringő és disszeminált tumorsejtek izolálására és kimutatására, és vizsgáltuk ezen sejtek, ill. sejtcsoportok számát a különféle kezeléssel átesett egereken. Kimutattuk, hogy a trastuzumab szignifikánsan csökkentette a vérben keringő és a csontvelői disszeminált daganatos sejtek számát akkor, amikor a primer daganat már nem volt érzékeny a trastuzumab-kezelésre. Ennek alapján feltételezzük, hogy a trastuzumab mediált ADCC-vel szembeni rezisztencia a tumormérettel, ill. a tumor molekuláris környezetével összefügghet. Önálló daganatsejtek, vagy kisebb csoportjaik, melyek az intersticiumhoz nem kapcsolódnak – többek között a JIMT-1 sejteken kifejeződő CD44 és hozzájuk kapcsolódó hialuronsav molekulákon keresztül – még hozzáférhetők lehetnek az NK sejtek számára, amikor ez a mechanizmus a nagyobb tömegű daganattal szemben már nem hatékony (Barok és mtsai., 2008). Ennek megfelelően a hialuronsav szintézis gátlása 4 metiumbelliferonnal fokozza a trastuzumab proliferációt csökkentő képességét a SCID modellben. Hasonlóképpen terápiás targetként jön szóba a MUC-4 szialomucin komplex, melynek leszálló szabályozása RNS interferenciával szintén fokozni képes a trastuzumab kötődését. A megfigyelések összességében a korai trastuzumab terápia fontosságára, ill. a primer tumor trastuzumab rezisztenciája esetén is elérhető metasztázis gátló hatásra hívják fel a figyelmet. Ugyanakkor felmerült annak a lehetősége is, hogy a kialakuló tumormasszában a megfelelő mikrokörnyezetbe kerülve az esetleges daganat összejtek másképp viselkednek, kevésbé sebezhetőek, mint közvetlenül implantáció után a stroma szét szóródva. A JIMT-1 vonalban előforduló összejt jellegű formák vizsgálatát jelenleg is végezzük. A témakörben tett ezen és korábbi saját megfigyeléseinket valamint a vonatkozó fontosabb irodalmi adatokat az ErbB receptorok immunterápiájáról, és a daganat összejtekről összefoglaló közleményekben tekintettük át (Friedländer és mtsai, 2008, Fábán és mtsai, 2009).

A JIMT-1 mellett két további, az ErbB2 mint terápiás célpont vizsgálatára alkalmas rendszer beállítását és jellemzését is elvégeztük. Mivel az ErbB2 pozitív tumorok trastuzumab rezisztenciájának hátterében változatos molekuláris okok állhatnak, a JIMT-1 sejteken túl egy további sejtvonalat, a B585-öt is jellemeztünk. Ezek a sejtek trastuzumab rezisztens emlő adenokarcinómából származnak, és xenograftként tenyésztethetők. CGH és nagyobb feloldású arrayCGH vizsgálatuk az eredeti tumorról megegyező 24 fontosabb lokusz eltérését mutatta ki. Az egész humán genom csipen történt mRNS expressziós vizsgálatok fényében ezek közül legfontosabbak a következők. Az ErbB2 nagymértékű amplifikációja és közepes mértékű mRNS és protein szintű megjelenése korrelál topoizomeráz 2A amplifikációjával, és a trastuzumab TOPO2 gátló kezeléssel való kombinációjának lehetőségére hívja fel a figyelmet. Az ErbB1 amplifikáció lehetővé teszi, hogy *in vivo* EGF koncentrációk az ErbB1-en keresztül az ErbB2-t hatékonyan transzaktiválják (ennek molekuláris mechanizmusával kapcsolatos vizsgálatokat lásd lentebb). A  $\beta$ 1 integrin és a magas CD44 kifejeződése ugyanakkor felveti az extracelluláris mátrix védő szerepét ebben a sejtvonalban is, és vizsgálhatóvá

teszi annak ADCC-t megakadályozó hatását egy JIMT-1-től független rendszerben (Barok és mtsai, 2010).

A másik ErbB2 pozitív modellrendszert az SADR nevű sejtvonal képezi, mely az NIH-3T3 fibroblaszt anyasejtvonalból tetraciklin negatív szabályozása alatt álló (tet-off) ErbB2 gén transzfektálásával készült. A sejtvonal ErbB2 expressziója tetraciklin kezelés hatására 48 órán belül megszűnik, a derepresszálas viszont csak egy hét alatt, és csak a sejtek felében történik meg. A sejtek osztódási rátája ErbB2 megvonásra csökken, összhangban az ErbB2 biztosította proliferációs előnnyel, és a megvonást követően a trastuzumabnak további *in vitro* hatása nincs rájuk. Érdekes módon a frissen létrehozott sejtvonal esetén az ErbB2-t kifejező sejtekre sincs a trastuzumabnak számottevő hatása. A passzázsszám növekedésével együtt viszont ErbB2 dependencia alakul ki – ErbB2 megvonásra fokozódik az apoptózis aránya, és a trastuzumab is proliferációt csökkentő, és G1 blokkot okozó hatást fejt ki, rövidtávon (5 perc) fokozza az ErbB2 foszforilációt, hosszútávon (3 nap) pedig csökkenti az ErbB2-expressziót. Míg tehát a passzálás elején alig észlelhető a trastuzumab hatása, a 20 passzázsnál minden, a trastuzumabra jellemző ErbB2-függő hatás megmutatkozik. A további passzálások során (p30) viszont trastuzumab rezisztencia kezd megjelenni. A rendszer tehát érdekes modellnek tűnik az ErbB2 onkogénhez történő sejtszintű addikció, majd későbbi anti-ErbB2 kezelésre kialakuló rezisztencia tekintetében. További jellemzéséhez az mRNS expresszió vizsgálatát végeztük el (teljes egér genom chipen), az eredmények elemzése jelenleg zajlik (Lisboa és mtsai, 2010a).

A receptor tirozinkinázok, ezen belül esetünkben az ErbB kinázok expressziós mintázatának daganatfejlődésre gyakorolt hatását akkor érthetjük meg igazán, ha a multimolekuláris kölcsönhatásokat részletesen tudjuk jellemezni. A kölcsönhatások jellemzésére klasszikusan alkalmazott FRET (fluoreszcencia rezonancia energiáttranszfer) módszerek két molekula interakcióját tudják kimutatni, erről mintegy pillanatfelvételt mutatni, tehát a kölcsönhatás többi résztvevőit és időbeli dinamikáját nem mutatják (Vereb és mtsai, 2009). A projekt folyamán általunk kifejlesztett új kétoldalú FRET (tsFRET) módszer alkalmas 3 molekula közül egyszerre 2 tetszőleges párnak a kölcsönhatását, nm szintű távolságát mérni. A módszer segítségével antikorrrelációt figyeltünk meg a  $\beta$ 1-integrin/ErB2 heteroasszociáció, és az ErbB2 homoasszociáció között trastuzumab szenzitív emlő és gyomorkarcinómák esetén. Azt is megfigyeltük, hogy a  $\beta$ 1-integrin/ErB2 heteroasszociáció a kitapadt sejtekben látható fokális adhéziós pontokban lényegesen magasabb a feltripszinezett sejtekhez képest. Hipotézisünk szerint az integrinek kompetálnak az ErbB2-vel való asszociáció lehetőségéért a többi ErbB2 molekulával, és így magasabb integrin expresszió csökkentheti a trastuzumab által keresztköthető és leszabályozható ErbB2 dimereket, ami a magas integrin expressziójú trastuzumab rezisztens sejtek esetén okozhatja az *in vitro* rezisztenciát (Fazekas és mtsai, 2007).

A továbbiakban hasonló kölcsönhatást figyeltünk meg a  $\beta$ 1-integrin és az ErbB1 között is, mely megfigyelés vélhetőleg hozzájárul az ErbB1 glioblasztómák sugárrezisztenciájában betöltött szerepének tisztázásához. Az ErbB1 amplifikációja megfigyelhető a magas (IV.) grádusú glioblasztómák kialakulása során, és korrelációt mutat sugárrezisztenciájukkal, mellyel érdekes módon a 7. kromoszóma többlet is

korrelál - az ErbB1 génje pedig a 7p-n található. Méréseink szerint a mikrosejt fúzióval létrehozott, többlet 7. kromoszómát tartalmazó U251 glioblasztóma sejtek a többllettel, és az általa megnövelt ErbB1 expresszióval arányos sugárrezisztenciát mutatnak, és fokozott mértékben fejezik ki a beta1 integrint is, noha az nem ezen a lókuszon található. Az U251 NCI anyasejtvonalból elektroporációs transzfektálással, és többszöri áramlási citométeres dúsitással olyan sejtvonalakat hoztunk létre, melyek a többlet ErbB1-et magas (Hi) és alacsony (Lo) szinten expresszálják. Megállapítottuk, hogy a Hi populáció a sejtválogatást követően egy passzálás után már kettéválik, és a Lo-nak megfelelő expressziójú alpopuláció jelenik meg, melynek aránya folyamatosan nő. A többlet ErbB1 ugyanakkor többlet beta1 integrin kifejeződést okoz, mely időben stabil. Az új klónok az anyasejtvonalhoz képest az ErbB1 expresszió mértékével arányos, fokozott kolóniaképző képességet, és a többlet integrin mennyiségével arányos megnövekedett sugárrezisztenciát mutatnak. A széruméheztetés után EGF hatására létrejött, Western blottal mért Akt foszforiláció szintén az ErbB1 és integrin kifejeződés mértékével párhuzamosan nő. Érdekes módon az áramlási citométeres FRET mérések arra utaltak, hogy az ErbB1 dimerizáció az expresszió növekedésével párhuzamosan csökken; ugyanakkor az ErbB1-integrin kölcsönhatás fokozódik. Mivel ezek a mérések a két molekuláris interakció komplementaritását csak sejtek átlagos fluoreszcencia értékeiből számított FRET hatásfokok populációs átlagai alapján sugallták, a továbbiakban a kétoldalú mikroszkópos FRET technikával próbáltunk szubcelluláris feloldásban is összefüggéseket igazolni. Ezek a pixelenkénti mérések a sejtmembrán  $\sim 0.05 \mu\text{m}^2$ -es doménjeire is igazolták, hogy beta1 integrin megjelenése ErbB1 molekulák klasztereiben az ErbB1 molekulák kölcsönhatási kapacitásának egy részét elvonja, és saját maga veszi igénybe; a fokozott ErbB1 –  $\beta 1$  Integrin kölcsönhatás következménye lehet a PI3K/Akt szignálút erősödése, a fokozott sejttúlélés és sugárrezisztencia. Ezt a hipotézist munkacsoportunk klinikai glioblasztóma mintákon végzett mérései igazolni látszanak: Elsőként dolgoztunk ki mikroszkópos FRET módszert fagyasztott glioblasztóma metszeteken történő molekuláris kölcsönhatások mérésére, és ennek alkalmazásával II. és IV. grádusú asztrocitóma minták klinikai adatait vetettük össze az ErbB1–  $\beta 1$  Integrin kölcsönhatás erősségével, ill. a releváns expressziós szintekkel. Bár mind az integrin, mind az ErbB1 kifejeződés jól korrelált a daganat grádusával, lépésenkénti többszörös logisztikus regresszió során a közöttük lévő FRET hatásfoka volt az egyetlen szükséges determináns a két grádus elkülönítésére. A Kaplan-Meyer túlélési statisztikát az átlag alatti és afeletti FRET értékek szerint két csoportra osztott beteganyagon végezve nagyobb különbség mutatkozott a két csoport között, mint a patológiai grádus beosztást alapul véve. Mindezek az eredmények felvetik annak a lehetőségét, hogy az integrinen keresztül aktivált jelpályák gátlásával, az integrin-mátrix kölcsönhatást csökkentő RGD-mimetikus peptidokkal, vagy az ErbB1-Integrin kölcsönhatás csökkentésével fokozzuk a glioblasztómák és más hasonló molekuláris működésű daganatok besugárzásra, ill. egyéb apoptózist fokozó terápiára való érzékenységét (Petrás és mtsai. 2008, 2010).

Az előbbieken ismertetett vizsgálatok során sikerrel alkalmaztuk az újonnan fejlesztett akceptor fotoelhalványításos algoritmust a mikroszkópos FRET mérésekhez, de a módszer két hátrányát is fel kellett ismernünk. Egyrészt, mivel a fotoelhalványítás irreverzibilis, változások időbeli követésére nem alkalmas. Másrészt, mint minden FRET

mérés, a mérés idején fennálló kölcsönhatásokat mér, mintegy pillanatfelvételt készít, nem ad információt a kölcsönhatás időbeli stabilitásáról.

Az első hátrány kiküszöbölésére olyan, a donor és akceptor fluorofórok emissziós intenzitására, és kalibrált átvilágítási és érzékenységi faktorokra alapozott mérési protokollt és kiértékelő programot fejlesztettünk, amely a korábbi áramlási citometriás protokolloknak megfelelően egy mérésből, reverzibilis károsodás nélkül szubcelluláris FRET (riFRET) térképet képes számolni. Ehhez több kalibrációs opciót megvizsgáltunk, és optimalizáltuk a fluorofórral jelölt antitestek valamint a fix és a változó arányban expresszált fluoreszcens fehérje-célfehérje fúziók esetén használandó eljárásokat (Roszik és mtsai, 2009). Azt is felismertük, hogy a fúziós fehérjékben alkalmazott fluoreszcens fehérjék (GFP) többsége fixálást követően az élő sejtben mérhetőnél jelentősen eltérő FRET hatásfokot mutat, és az nem függ össze sem a fluoreszcencia élettartam, sem az emissziós spektrumok változásával. Ugyanakkor az akceptorként szolgáló molekula abszorpciós spektruma, valamint a  $\kappa^2$  orientációs faktor és a J átfedési integrál megváltozása indokolhatja az eltéréseket. Ennek ismeretében a GFP és egyéb fluoreszcens fehérjék fúziós termékeinek FRET mérésre történő alkalmazásakor a fixálás semmiképpen nem ajánlott (Lisboa és mtsai, 2010b).

A második szempont, a kölcsönhatás időbeli stabilitása, a fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia és keresztkorrelációs spektroszkópia felhasználásával vizsgálható sikeresen. Ez a módszer a projekt folyamán sikerrel alkalmaztuk sejtmembrán receptorok mobilitásának vizsgálatára, ill. ezen belül az ErbB1 és ErbB2 transzaktivációjának mérésére, s mivel a metodika, melyet elsőik között alkalmaztunk sejtmembrán fehérjék vizsgálatára, egyelőre kevésbé elterjedt, a vonatkozó protokollokat és ajánlásokat egy könyvfejezetben és egy Current Protocols publikációban közreadtuk (Vereb és mtsai, 2007, Vámosi és mtsai, 2009).

Az újonnan fejlesztett programok, valamint a fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia mikroszkópos kiaknázása a lehetővé tette az ErbB2 ErbB1 általi, EGF kötéseire kialakuló transzaktivációjának beható jellemzését. Ez a kölcsönhatás különösen fontos a vizsgált modellrendszerben, ahol a kismértékben túlexpresszált ErbB1, ligandumának, az EGF-nek megkötését követően, hatékonyan transzaktiválja az ErbB2-t, és annak autoaktivációján felül jelentős többlet aktivációt és proliferációt indít el. Méréseink szerint ez a folyamat lipidtutaj-függőnek bizonyult, és a korai endoszóma és a plazmamembrán közötti recirkuláció feltehetően fontos szerepet tölt be a szabályozásában. Az újdonságnak számító kinyert paraméterek közé tartozik az ErbB2 kétkomponensű membránbeli diffúziója, mely részben aggregált klaszterekben történő ko-diffúziót, részben a klasztereken belüli, és azok közötti térben történő gyorsabb diffúziót jelent. A transzaktivációt követően megnő mind az ErbB1-ErbB2 heteroasszociáció, mind az ErbB2 homoasszociáció, azonban a kialakuló és tovább bővülő ErbB2 klaszterek internalizációja miatt átmenetileg csökken a lassú membránkomponens aránya, bár átlagos mérete és így diffúziós korrelációs ideje is nő. A diffúziós állandókkal kapcsolatos megállapítást erősítik a diffundáló egységek átlagos fluoreszcenciájára kapott értékek, és a fotonszám-hisztogramok, melyek transzaktiváció hatására a magasabb fotonszámok felé tolódó vállat képeznek. A megfigyelések azt a

konceptiót erősítik meg, hogy az ErbB2 nyugalmi homoaggregációja az alacsony elemszámú oligomerekig terjed, és mértéke a ligandkötött ErbB1-en mint antennán keresztül a szubmikronos klaszterek megjelenéséig fokozható. Az internalizációt követően az ErbB2 újra kisebb oligomerek és monomerek formájában recirkulál a felszínre, és EGFR jelenlétében ez a folyamat ciklikusan ismétlődik (Ujlaky-Nagy és mtsai, 2010).

1. Barok, M., Isola, J., Pályi-Krekk, Z., Nagy, P., Juhász, I., Vereb, G., sr., Kauraniemi, P., Kapanen, A., Tanner, M., Vereb, G. and Szöllősi, J. (2007): *Trastuzumab causes antibody-dependent cellular cytotoxicity-mediated growth inhibition of submacroscopic JIMT-1 breast cancer xenografts despite intrinsic drug resistance*. Mol Cancer Ther 6: 2065-72. IF:4.80
2. Barok, M., Balázs, M., Nagy, P., Rákósy, Z., Treszl, A., Tóth, E., Juhász, I., Park, J. W., Isola, J., Vereb, G. and Szöllősi, J. (2008): *Trastuzumab decreases the number of circulating and disseminated tumor cells despite trastuzumab resistance of the primary tumor*. Cancer Lett 260: 198-208. IF:3.504
3. Barok, M., Balázs, M., Lázár, V., Rákósy, Z., Tóth, E., Treszl, A., Vereb, G., Colbern, G. T., Park, J. W. and Szöllősi, J. (2010): *Characterization of a novel, trastuzumab resistant human breast cancer cell line*. Front Biosci (Elite Ed) 2: 627-40. IF:3.736
4. Fábíán, A., Barok, M., Vereb, G. and Szöllősi, J. (2009): *Die hard: are cancer stem cells the Bruce Willises of tumor biology?* Cytometry A 75: 67-74. IF:3.032
5. Fazekas, Z., Petrás, M., Fábíán, Á., Pályi-Krekk, Z., Nagy, P., Damjanovich, S., Vereb, G. and Szöllősi, J. (2008): *Two-sided fluorescence resonance energy transfer for assessing molecular interactions of up to three distinct species in confocal microscopy*. Cytometry A 73: 209-19. IF:3.259
6. Friedländer, E., Barok, M., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2008): *ErbB-directed immunotherapy: Antibodies in current practice and promising new agents*. Immunol Lett 116: 126-40. IF:2.858
7. Kakuk, A., Friedländer, E., Vereb, G., Kasa, A., Balla, A., Balla, T., Heilmeyer, L. M., Jr., Gergely, P. and Vereb, G., Sr. (2006): *Nucleolar localization of phosphatidylinositol 4-kinase PI4K230 in various mammalian cells*. Cytometry A 69: 1174-83. IF:3.293
8. Kakuk, A., Friedländer, E., Vereb, G., Lisboa, D., Bagossi, P., Tóth, G., Gergely, P. and Vereb, G., Sr. (2008): *Nuclear and nucleolar localization signals and their targeting function in phosphatidylinositol 4-kinase PI4K230*. Exp Cell Res 314: 2376-88. IF:3.948
9. Lisboa, D., Tóth, G., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2010a): *Characterization of an ErbB2-TEToff repressible cell line as a possible model for testing ErbB2 targeted therapies*. BMC cancer, under submission
10. Lisboa, D., Domingo, B., Picazo, F., Llopis, J., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2010b): *Fixation affects Fluorescent Proteins' spectroscopic properties and renders FRET measurements unreliable*. MS in preparation

11. Nagy, P., Vereb, G., Damjanovich, S., Mátyus, L. and Szöllősi, J. (2006): *Measuring FRET in flow cytometry and microscopy*. pp. 1-13 in: Current Protocols in Cytometry. Ed. John Wiley & Sons, Inc.
12. Petrás, M., Lajtos, T., Pintye, E., Feuerstein, B. G., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2008): *Significance of Epidermal Growth Factor Receptor in the Radiation Resistance of Glioblastoma Tumors*. pp. 204-17 in: Radiation Damage in Biomolecular Systems. Ed. Tőkési, K. and Sulik, B. American Institute of Physics.
13. Petrás, M., Lajtos, T., Friedlander, E., Klekner, Á., Pintye, É., Feuerstein, B. G., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2010): *The ErbB1/EGFR - Integrin Beta 1 Axis: Evidence for Increased Molecular Association in Higher Grade Clinical Glioma Samples Leading to Enhanced Akt Activation and Improved Radiation Resistance*,. Cancer Research, under submission
14. Roszik, J., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2008): *AccPbFRET: an ImageJ plugin for semi-automatic, fully corrected analysis of acceptor photobleaching FRET images*. BMC Bioinformatics 9: 346. IF:3.781
15. Roszik, J., Lisboa, D., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2009): *Evaluation of intensity-based ratiometric FRET in image cytometry--approaches and a software solution*. Cytometry A 75: 761-7. IF:3.032
16. Szöllősi, J., Damjanovich, S., Nagy, P., Vereb, G. and Mátyus, L. (2006): *Principles of resonance energy transfer*. pp. 1-16 in: Current Protocols in Cytometry. Ed. John Wiley & Sons, Inc.
17. Szőőr, Á., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2010): *Rafts and the battleships of defense: The multifaceted microdomains for positive and negative signals in immune cells*. Immunol Lett 130: 2-12. IF:2.906 (2009)
18. Ujlaky-Nagy, L., Szőőr, Á., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2010): *Low Amounts of EGF-Bound ErbB1 Induce Raft-Associated Higher Order Aggregation and Internalization of ErbB2 - A Fluorescence Correlation Spectroscopy Study*. MS in preparation
19. Vámosi, G., Damjanovich, S., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2009): *Measurement of molecular mobility with fluorescence correlation spectroscopy*. Current Protocols in Cytometry Chapter 2: Unit2 15.
20. Vereb, G., Ujlaky-Nagy, L., Friedländer, E., Vámosi, G. and Szöllősi, J. (2007): *Fluorescence Correlation Spectroscopy of Living Cells*. pp. 848-54 in: Modern Research and Educational Topics in Microscopy. Ed. Mendez-Vilas, A. and Labajos-Broncano, L. (Badajoz, Spain), Formatex.
21. Vereb, G., Matkó, J. and Szöllősi, J. (2009): *Cytometry of fluorescence resonance energy transfer*. pp. 55-108 in: Essential Cytometry Methods. Ed. Darzynkiewicz, Z., Robinson, J. P. and Roederer, M. (Oxford), Elsevier.
22. Zsebik, B., Citri, A., Isola, J., Yarden, Y., Szöllősi, J. and Vereb, G. (2006): *Hsp90 inhibitor 17-AAG reduces ErbB2 levels and inhibits proliferation of the trastuzumab resistant breast tumor cell line JIMT-1*. Immunol Lett 104: 146-55. IF:2.352
23. Zsebik, B., Symonowicz, K., Saleh, Y., Ziolkowski, P., Bronowicz, A. and Vereb, G. (2007): *Photodynamic therapy combined with a cysteine proteinase inhibitor synergistically decrease VEGF production and promote tumour necrosis in a rat mammary carcinoma*. Cell Prolif 40: 38-49. IF:3.120

Összesen: 13 közlemény (IF: 41.4), 6 könyvfejezet, és további 4 közlemény folyamatban