



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Emerging approaches to study cell-cell interactions

Poulcharidis, D.

Citation

Poulcharidis, D. (2020, June 3). *Emerging approaches to study cell-cell interactions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/92370>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/92370>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/92370> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Poulcharidis, D.

Title: Emerging approaches to study cell-cell interactions

Issue Date: 2020-06-03

Summary in Greek

Περίληψη

Εξέχουσες προσεγγίσεις για τη μελέτη μεταξύ κυτταρικών αλληλεπιδράσεων

Η παρούσα διατριβή περιγράφει προσεγγίσεις πάνω στη μελέτη των αλληλεπιδράσεων κυττάρου-κυττάρου και διερευνά την ανταλλαγή των συστατικών της μεμβράνης.

Στο **πρώτο μέρος** μελετήθηκε ο ρυθμός της ανταλλαγής λιπιδίων, τόσο κατά τις φυσικές επαφές κυττάρου-κυττάρου όσο και κατά τη διάρκεια εκτεταμένων επιβαλλόμενων επαφών.

Στο **δεύτερο μέρος** χρησιμοποιήθηκαν λιπιδιωμένα σπειροειδή πεπτίδια για τη μελέτη της συμπεριφοράς και της πιθανής συντηκτικής συμπεριφοράς αυτών των ενώσεων σε βακτήρια με έλλειψη κυτταρικού τοιχώματος. Οι έρευνες χρησιμοποίησαν μεθόδους κυτταρομετρίας ροής και ομοεστιακής μικροσκοπίας για να μελετηθούν οι τροποποιήσεις της επιφάνειας των βακτηριδίων μορφής L και η πιθανή τήξη μεμβράνης.

Στο **Κεφάλαιο 2** περιγράφονται η λεπτομερής επισκόπηση της ανταλλαγής συστατικών της μεμβράνης στα κύτταρα, καθώς και οι χημικές προσεγγίσεις για την ενίσχυση των επαφών κυττάρου-κυττάρου. Περιγράφονται παραδείγματα μηχανισμών διακυτταρικής μεταφοράς, βιολογικών επιδράσεων μεταφοράς των διακυτταρικών συστατικών της μεμβράνης και χημικές στρατηγικές για την ενίσχυση επαφών κυττάρου-κυττάρου καθώς επίσης εξετάζονται οι αντοχές και οι περιορισμοί των.

Τα συστατικά από την κυτταρική μεμβράνη μπορούν να μεταφερθούν μεταξύ των κυττάρων τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Αυτή η μοριακή ανταλλαγή παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων και των αντιδράσεων στο περιβάλλον τους. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις, ο ακριβής μηχανισμός και το λειτουργικό αποτέλεσμα αυτών των ανταλλαγών παραμένει ακόμη να διασαφηνιστεί.

Η δυναμική και η κινητική της ανταλλαγής μεμβρανικών ενώσεων επηρεάζουν πολλές διαφορετικές βιολογικές δραστηριότητες σε κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων της αναγνώρισης κυττάρου-κυττάρου, της παραγωγής ενέργειας, της μεταγωγής κυτταρικού σήματος, της προσκόλλησης των κυττάρων και της αναγνώρισης ξένων μορίων.

Στο **Κεφάλαιο 3** παρουσιάζεται μια προσαρμόσιμη στρατηγική που χρησιμοποιεί κυτταρομετρία ροής, στην οποία χρησιμοποιούνται επισημασμένα συστατικά μεμβράνης για να ποσοτικοποιήσουν τους ρυθμούς ανταλλαγής τους μεταξύ κυττάρων θηλαστικών σε συν-καλλιέργεια, να ανιχνεύσουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ γλυκανών και λιπιδίων μεμβράνης και να κατανοήσουν τον μηχανισμό ανταλλαγής.

Χρησιμοποιώντας αυτή την προσέγγιση, η ταχύτητα της ανταλλαγής στερολών αποδείχθηκε ότι εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη γραμμή των κυττάρων και ο ρυθμός της ανταλλαγής συστατικών που περιέχουν σιαλικό οξύ είναι σημαντικά βραδύτερος από εκείνον των στερολικών λιπιδίων. Επιπρόσθετα, σε ένα διαφορετικό πείραμα μια μη-ανταλλασσόμενη κυτταρική γραμμή αναγκάστηκε να ανταλλάξει τόσο στερόλες όσο και υδατάνθρακες όταν εξαναγκάστηκε σε εκτεταμένη εγγύτητα χρησιμοποιώντας συμπληρωματικά σπειροειδή πεπτίδια.

Το **Κεφάλαιο 4** περιγράφει μελλοντικές επιπλοκές και κατευθύνσεις σχετικά με την ποσοτικοποίηση και την ταυτοποίηση της ανταλλαγής μεμβρανικών λιπιδίων μεταξύ ανοσοκυττάρων. Παρουσιάζει μια προσαρμόσιμη στρατηγική που βασίζεται σε δοκιμασίες τρογοκυττάρωσης στις οποίες χρησιμοποιούνται φθορίζοντα και κλικ- λιπίδια για την πρόκληση της ανταλλαγής των ενώσεων της μεμβράνης μεταξύ των αντιγονοπαρουσιαστικών και των T κυττάρων σε συν-καλλιέργεια. Μια σειρά στερολών και αλειφατικών οξέων υποβλήθηκαν σε διαλογή και προκλήθηκε η επίδρασή τους στην τρογοκυττάρωση. Είναι γενικά αποδεκτό ότι τα λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης ενδέχεται να μην μεταφέρονται ισομερώς κατά τη διάρκεια της επαφής κυττάρου-κυττάρου. Ωστόσο, φαίνεται πως υπάρχει ένας συγκεκριμένος ρυθμός επιλεκτικότητας στις κατηγορίες συστατικών κυτταρικής μεμβράνης τα οποία μεταφέρονται από κύτταρα που περιέχουν αντιγόνο σε κύτταρα T.

Ο ακριβής μηχανισμός ανταλλαγής μεταξύ ανοσοκυττάρων δεν έχει ακόμη ανακαλυφθεί, αλλά πιθανόν απαιτεί τον σχηματισμό μιας συνάψεως μετά από άμεση επαφή μεταξύ των κυττάρων δότη και δέκτη. Αυτά τα ευρήματα θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε εναλλακτικές προσεγγίσεις στην ανταλλαγή λιπιδίων μεμβράνης στα ανοσοκύτταρα, εστιάζοντας στον χειρισμό είτε των στοχευμένων λιπιδίων για τον περιορισμό των ανεπιθύμητων διεργασιών είτε των επιδρώντων κυττάρων, προκειμένου να συμβιβαστούν και να κατανοηθούν οι ανοσοθεραπείες

Το **Κεφάλαιο 5** ασχολείται - για πρώτη φορά - με την τροποποίηση της επιφάνειας των ζωντανών βακτηρίων τα οποία έχουν ανεπαρκή κυτταρικά τοιχώματα (π.χ L-μορφής), ως ένα πρώτο βήμα για τη σύντηξη των βακτηρίων, χρησιμοποιώντας σπειροειδή πεπτιδία συμβατά με τα κύτταρα. Τα βακτήρια L-μορφής που χρησιμοποιούνται σε αυτήν τη μελέτη έχουν αναπαραχθεί από

ακτινομύκητα, αναστέλλοντας σημαντικά στάδια βιοσύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος. Αναπτύχθηκε μια υπερμοριακή μέθοδος, βασισμένη σε ένα ισορροπημένο ζεύγος πεπτιδίων που σχηματίζει περιστρεφόμενη σπείρα, προκειμένου να λειτουργήσει γρήγορα και αποτελεσματικά στην τροποποίηση των μεμβρανών των βακτηρίων μορφής L. Επίσης, αυτό το κεφάλαιο περιγράφει, εκτός από την τροποποίηση της μεμβράνης των βακτηρίων μορφής L, τη βιωσιμότητα των βακτηρίων, την λιποσωματική σύνδεση καθώς και την πιθανή σύντηξη της μεμβράνης.

Λόγω του μικρού μεγέθους των βακτηριδίων καθώς και των περιορισμών σκέδασης του φωτός, ήταν δύσκολο να γίνει διάκριση μεταξύ συσσωματωμένων και συντηγμένων κυττάρων. Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί στην τρέχουσα πειραματική εγκατάσταση, θα μπορούσε να σχεδιαστεί ένας διπλός προσδιορισμός επιλογής αντιβιοτικού για τα συντηγμένα L-μορφής βακτήρια. Επιπροσθέτως, σπειροειδή πεπτίδια με διαφορετικούς διαχωριστές πολυαιθυλενογλυκόλης, διαφορετικά μήκη πεπτιδίων ή τμήματα λιπιδίων μπορεί να έχουν θετική επίδραση στη σύντηξη των L βακτηρίων. Αναμένεται ότι αυτή η μέθοδος θα είναι ικανή να διεγείρει τη σύντηξη μεταξύ L-κυττάρων ή διαφορετικών ειδών, όπου δύο κύτταρα να συγχωνεύονται σε ένα νέο κύτταρο. Η επιτυχής σύντηξη και αναγέννηση διαφορετικών στελεχών ακτινομύκητων με υψηλή συχνότητα θα διευκόλυνε την ανακάλυψη νέων αντιβιοτικών και τη βελτίωση των μικροβιακών στελεχών.

Το **Κεφάλαιο 6** παρουσιάζει τη σύνθεση ενός φθορίζοντος αλκυλο φωσφολιπιδικού αιθερικού αναλόγου και μια αρχική μελέτη σχετικά με το κατά πόσο αυτό το τροποποιημένο φωσφολιπίδιο είναι ένα πιθανό εργαλείο για τη στόχευση μεμβρανών καρκίνου του προστάτη.

Αυτό το φωσφολιπίδιο χρησιμοποιείται με τις τρέχουσες συσκευές απεικόνισης φθορισμού για την απεικόνιση του καρκίνου του προστάτη *in vitro*. Για *in vivo* μελέτες, χρησιμοποιήθηκε μοντέλο ξενομοσχευμάτων σε ζεβρόψαρα. Τα μοντέλα ξενομοσχευμάτων σε ζεβρόψαρα είναι κατάλληλα για απεικόνιση ζωντανών κυττάρων επιτρέποντας την εξέταση σε πραγματικό χρόνο της κυκλοφορίας και της κατανομής των σημασμένων ενώσεων. Ωστόσο, θα πρέπει να πραγματοποιηθούν περαιτέρω μελέτες, συμπεριλαμβανομένων διαφορετικών μοντέλων καρκίνου, καθώς και κινητικών πειραμάτων.

