

**EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

---

**FUNKCIONÁLIS FEHÉRJE-MIKRODOMÉNEK A T ÉS B  
SEJTEK PLAZMAMEMBRÁNJÁBAN: SZEREPÜK AZ  
ANTIGÉN-SPECIFIKUS T SEJT AKTIVÁCIÓBAN ÉS  
PROLIFERÁCIÓBAN**

**BODNÁR ANDREA**



**Témavezető:**

**Dr. Damjanovich Sándor**

**Dr. Matkó János**

**DEBRECENI EGYETEM  
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR  
BIOFIZIKAI ÉS SEJTBOLÓGIAI INTÉZET  
DEBRECEN, 2002**

Témavezető:

Dr. Damjanovich Sándor, az MTA rendes tagja  
Dr. Matkó János, a biológiai tudomány doktora

A szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Gergely Pál, a biológiai tudomány doktora

A szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Csernoch László, az MTA doktora  
Dr. László Glória, a biológiai tudomány kandidátusa

A védési bizottság elnöke:

Dr. Gergely Pál, a biológiai tudomány doktora

Opponensek:

Dr. Sipka Sándor, az MTA doktora  
Dr. Zimányi László, az MTA doktora

A védési bizottság tagjai:

Dr. Csernoch László, az MTA doktora  
Dr. László Glória, a biológiai tudomány kandidátusa

## Bevezetés

Az elmúlt évek során számos olyan kísérletes bizonyíték gyűlt össze, amely – ellentétben a korábbi membránmodellekkel – a plazmamembránt felépítő lipidek és fehérjék nagyfokú laterális heterogenitására, lokális rendezettségére utal. A membránalkotók kompartmentalizációja, meghatározott struktúrákba (doménekbe) történő rendeződése mai ismereteink szerint általános jelenség, amely alapvető fontossággal bír(hat) mind az adott molekulák, mind a plazmamembrán egészének működése szempontjából.

A sejt felszíni fehérjék nem-véletlenszerű, esetenként genetikailag is meghatározott, ugyanakkor dinamikus elrendeződését az addig összegyűlt kísérleti eredmények valamint elméleti megfontolások alapján Damjanovich és mtsai 1981-ben feltételezték, majd más munkacsoportokkal együtt számos esetben kísérletesen is igazolták létezésüket. Az eddigi adatok alapján a sejt felszíni fehérjemintázatok két hierarchikus szinten is előfordulnak. Az egyik alapvető szerveződési szintet a fehérjék közvetlen molekuláris közelsége (nanométeres távolságskála), asszociációja jelenti, míg a második az így kialakuló fehérje komplexek nagyobb sziget csoportokba történő rendeződése a molekuláris méreteket meghaladó szubmikrométeres/mikrométeres skálán.

Míg a lipidek laterális heterogenitásának kialakításáért és fenntartásáért felelős tényezőkről viszonylag sok kémiai és fizikai információ áll rendelkezésünkre, addig a fehérjék kompartmentalizációjában szerepet játszó folyamatok jellege, pontos mechanizmusa a legtöbb esetben még nem ismert. Ugyanakkor ezek feltárása, megismerése alapvető információkkal szolgálhat a fehérje mintázatok funkciójának és általában a membránban lezajló folyamatok (pl. jelátvitel) részleteinek a megértéséhez.

Munkám során két, a T sejt immunválasz kiváltásában illetve lezajlásában fontos szerepet játszó fehérje, az I. osztályú fő hisztokompatibilitási komplex (MHC I) és az interleukin-2 (IL-2) receptor közreműködésével kialakult fehérje mintázatok és az ezek kialakulásáért, fenntartásáért és szabályozásáért felelős tényezőket kívántam karakterizálni.

## Irodalmi áttekintés

A gyakorlatilag minden magvas sejt felszínén megtalálható MHC I (humán sejtek esetén HLA I-nek is nevezett) molekulák eddig legjobban karakterizált funkciója az endogén eredetű antigének bemutatása a CD8<sup>+</sup> T limfociták számára. Fő funkciójuk mellett számos, a sejtnövekedésre és differenciálódásra ható jelátviteli folyamat szabályozásában is részt

vesznek. Az MHC I molekulák az MHC génkomplex I régiója által kódolt és a peptid kötéséért felelős polimorf  $\alpha$ - vagy nehézláncból és a hozzá nem kovalensen kapcsolódó, nem MHC-kódolt  $\beta$ 2-mikroglobulinból (könnyűlánc) valamint a prezentált peptidből felépülő heterotrimerek (illetve ha a peptidet nem említjük külön, heterodimerek) formájában expresszálódnak a sejt felszínén. Néhány kivételtől eltekintve az MHC I natív, peptid-receptív konformációjának kialakításához és az MHC I molekulák sejt felszínre történő kijutásához szükséges a  $\beta$ 2-mikroglobulin és a nehézlánc kapcsolódása. Ugyanakkor a sejt felszínre kikerülő intakt MHC I heterodimerek disszociációja és/vagy internalizációja, a  $\beta$ 2m leválása és a nehézlánc recirkulációja szabad,  $\beta$ 2m-t nem kötő nehézláncok expresszióját eredményezi számos  $\beta$ 2m<sup>+</sup> sejt felszínén. A korábbi elképzelésekkel ellentétben ma már feltételezik, hogy a szabad nehézláncok nemcsak az MHC I molekulák „elrontott” változatai, hanem fiziológiás jelentőséggel is bírnak.

A sejt felszíni fehérjék kölcsönhatásainak feltérképezésére alkalmas fizikai és/vagy biokémiai módszerek alkalmazásával az MHC I molekulák jelentős mértékű homo-asszociációját valamint más membránfehérjékkel (pl. MHC II, ICAM-1 stb.) való kolokalizációját mutatták ki számos, főként aktivált vagy vírustranzformált sejt felszínén. Mind az MHC I mind pedig a “partner” molekulák szerveződése különböző hierarchikus szinteken valósul meg a plazmamembránban: a közvetlen molekuláris közelséget (nm) jelentő asszociátumok mellett feltárták ezek nagyobb szigetecsoportokba történő rendeződését is a molekuláris méreteket meghaladó (szubmikrométeres) skálán. Egyre több irodalmi adat utal arra, hogy az MHC I molekulák részvételével kialakult asszociátumok egy része (pl. a homo-asszociáció; az MHC I-MHC II illetve az MHC I-ICAM-1 hetero-asszociáció) szerepet játszhat az antigén prezentáció folyamatában, hatékonyságának szabályozásában. Létezésük elősegítheti az immunológiai szinapszis kialakulását, emellett az MHC I molekulák oligomerizációja által biztosított magas lokális MHC koncentráció jelentősen megnövelheti az antigén prezentáló és a T sejt közötti kapcsolat aviditását is. Az MHC I molekuláknak más a sejt növekedésben és differenciálódásban sejt felszíni receptorokkal megvalósuló fizikai asszociációja az adott receptor működésének szabályozásában játszhat szerepet.

A T limfociták aktiválódásának, proliferációjának, differenciálódásának és effektor funkcióinak szabályozásában számos humorális faktor is részt vesz, amelyek közül az egyik legfontosabb az interleukin-2 (IL-2) citokin. Az interleukin-2 receptor (IL-2R) felépítésében 3, különböző gének által kódolt alegység, az  $\alpha$ -,  $\beta$ - és  $\gamma_c$ -lánc vesz részt. Az  $\alpha$ -lánc (CD25)

kivételével, amely csak az IL-2 receptor-komplex része lehet, a  $\beta$ - és  $\gamma_c$  alegységen több interleukin receptor (pl. IL-4, IL-7, IL-15 stb.) is osztozhat. Az IL-2 receptornak több különböző IL-2-kötő affinitással rendelkező formája lehet jelen a sejtfelszínen, amelyek közül a közepes affinitású  $\beta\gamma_c$  heterodimer és a magas affinitású mindhárom alegységet tartalmazó  $\alpha\beta\gamma_c$  receptor-komplex képes az IL-2 kötődését követő jelátvitelre, ugyanis a jel továbbításának szükséges (és elegendő) feltétele a  $\beta$ - és a  $\gamma_c$ -lánc intracelluláris részének ligandkötés hatására bekövetkező heterodimerizációja. Az  $\alpha$ -lánc a receptor-komplex IL-2-kötő affinitását szabályozza, jelenléte a specifikus, nagy affinitású kötést biztosítja. Bár elvileg mindkét forma képes a jelátvitelre, az IL-2 *in vivo* biológiai hatását a legtöbb esetben a magas affinitású receptor-komplex közvetíti a sejt belseje felé. Egy korábbi, az ún. „szekvenciális affinitás konverzió” modell szerint az egyes alegységek egymástól függetlenül léteznek a sejtfelszínen, a nagy affinitású heterotrimer csak az IL-2  $\alpha$ -lánchoz való kötődését követően, több lépésben alakul ki. Ezzel szemben számos tanulmány az  $\alpha\beta$  heterodimerek létezésére utalt már IL-2 távollétében is. Damjanovich és munkatársai FRET mérésekkel kimutatták, hogy az IL-2 jelenlététől függetlenül, mindhárom alegység egymás molekuláris közelségében található, ugyanakkor a releváns citokinek kötődése (IL-2, IL-4, IL-7) az egyes alegységek kölcsönhatásait szelektíven módosíthatja. Az IL-2R komplex kialakulásában és az alegységek fenti, citokinekkal módosítható (feltehetően az egyes IL receptorok alegységeken való osztozkodását is elősegítő) dinamikus egyensúlyának fenntartásában szerepet játszó tényezőkkel kapcsolatos ismereteink azonban még meglehetősen hiányosak. Nem ismerjük az IL-2R $\alpha$  és a HLA I molekulák aktivált humán perifériás limfociták illetve T limfóma sejtek felszínén feltárt hetero-asszociációját létrehozó és stabilizáló erőket, sem ezen kolokalizáció fiziológias jelentőségét.

## Célkitűzések

Jelen munkám során alapvetően a humán eredetű B és T limfoid sejtek felszínén fizikai módszerekkel megfigyelhető szupramolekuláris fehérje asszociátumok (clusterek) iniciálásában, fenntartásában és szabályozásában szerepet játszó tényezők feltárása volt a célom. Elsősorban az antigének bemutatásában kulcsszerepet játszó HLA I molekulák valamint a T sejtek antigén-specifikus stimulációt követő proliferációjában esszenciális IL-2 receptor sejtfelszíni szerveződése képezte vizsgálataink tárgyát.

Az alábbi kérdéseket kívántuk tanulmányozni:

- Van-e összefüggés a membrán mikrodomén struktúrája (koleszterin szintje) és a B sejtek felszínén megfigyelhető HLA I oligomerizáció között?
- Mi a szerepe a B sejteken megfigyelt HLA I oligomerizációban a „szabad” ( $\beta 2m$ ) nehézláncoknak illetve az exogén  $\beta 2m$  koncentrációnak? Függe-e az antigénprezentáció és a citotoxikus T limfociták aktiválódásának hatékonysága az exogén  $\beta 2m$  szinttől illetve az HLA I oligomerizáció mértékétől?
- Mennyire általánosítható az IL-2R és a HLA molekulák részvételével kialakuló asszociációs motívumok létezése a különböző leukémia/limfóma eredetű T sejtek felszínén? Milyen tényezők vehetnek részt ezen asszociációs mintázatok kialakításában illetve fenntartásában?
- Mi okozhatja az IL-2R alegységeinek genetikailag nem determinált „együttállását” (kompartmentalizációját) az előbbi T sejt típusok plazmamembránjában?
- Van-e funkcionális (pl. jelátviteli) következménye az IL-2R alegységek membrán kompartmentalizációjának?

## **Anyagok és módszerek**

### **Sejtek**

Vizsgálataink során a következő humán eredetű sejtvonalakat használtuk: JY, Epstein-Barr vírussal transzformált B limfoblaszt; Kit225 K6, Kit225 IG3 valamint HUT102B2 T limfóma eredetű sejtek.

### **Monoklonális antitestek**

A sejt felszíni fehérjék specifikus jelzésére alkalmazott monoklonális antitestek egy részét intézetünkben Protein-A affinitás kromatográfia alkalmazásával, hibridóma sejtek felülúszójából izoláltuk. Áramlási citometriás és képalkotó mikroszkópiás méréseinkhez az antitesteket vagy azok Fab fragmentumait fluoreszkáló festékekkel konjugáltuk.

### **A sejtek koleszterin tartalmának módosítása**

A plazmamembrán koleszterin tartalmát a sejtek metil- $\beta$ -ciklodextrinnel, foszfatidilkolin liposzómával (koleszterin tartalom csökkentése) illetve koleszterin-hemiszukcináttal történő kezelésével (koleszterin tartalom növelése) módosítottuk. A kezelések hatékonyságát a sejtek plazmamembránjába beépülő lipid próbák “steady-state” fluoreszcencia anizotrópiájának mérésével spektrofluoriméteren ellenőriztük.

### **Detergens rezisztens membránfrakció (DRM) izolálása**

A sejtek detergenssel kezelt homogenizátumát egyensúlyi ultracentrifugálással, szacharóz gradiens alkalmazásával választottuk szét. A különböző membránfrakciók fehérjetartalmát SDS-PAGE és Western-blot módszerekkel analizáltuk.

### **Sejtfelszíni fehérjék expressziójának meghatározása**

A sejtfelszíni fehérjék expresszióját fluoreszkáló festékekkel konjugált monoklonális antitestek kötődésének áramlási citometriás vizsgálatával határoztuk meg. A kötőhelyek számát a telítésben adott, általában fluoreszcenciával jelzett antitesttel megjelölt sejtek fluoreszcencia hisztogramjának (autofluoreszcenciával korrigált) középértékéből határoztuk meg. A fluoreszcencia intenzitás – kötőhely szám kalibrációt ismert számú fluorofórt tartalmazó mikrogöngyök segítségével végeztük el.

### **Fluoreszcencia rezonancia energiatranszfer mérések**

FRET méréseink során a vizsgált fehérjéket donor- illetve akceptor fluorofórral konjugált monoklonális antitestekkel illetve azok Fab fragmentumaival jelöltük meg. Az energiatranszfer hatásfokát kísérleteinkben kétféle módon határoztuk meg.

Áramlási citometriás energiatranszfer (Flow Cytometric Energy Transfer; FCET) méréseink során a transzfer hatásfokát a Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet munkatársai által korábban leírt módszerrel a donor kioltás (quenching) és a szenitizált akceptor emisszió kombinált felhasználásával, sejtenként határoztuk meg.

Fluoreszcens képalkotó mikroszkópiás FRET vizsgálataink során a donor fothalványítási (photobleaching) kinetikájának megváltozásán alapuló pbFRET (photobleaching Energy Transfer) módszert alkalmaztuk. A módszer alapja, hogy a donor gerjesztett állapotban bekövetkező – a donor fluoreszcencia időbeli csökkenését, elhalványodását okozó – irreverzibilis fotokémiai átalakulásának sebessége energiatranszfer hatására lecsökken, így a donor fothalványítási kinetikáját akceptor jelenlétében illetve akceptor nélkül megmérve, meghatározható az energiatranszfer hatásfoka.

### **Pásztázó mikroszkópiás vizsgálatok**

Az esetek egy részében konfokális pásztázó lézer mikroszkópia (CLSM) illetve közeli mező optikai mikroszkópia (NSOM) alkalmazásával vizsgáltuk a különféle membránkomponensek sejtfelszíni szerveződését. Míg a FRET mérésekkel a molekulák nanométeres skálán (közvetlen molekuláris közelségben) megvalósuló asszociációját tanulmányozhatjuk, addig ezek a módszerek a nagyobb méretű (>100 nm) molekulacsoportosulások együttállásáról adnak információt.

### **Immunprecipitáció és cocapping vizsgálatok**

A FRET és a pásztázó mikroszkópiás módszerek mellett a fehérjék kolokalizációját egyes esetekben immunprecipitáció illetve cocapping módszerrel is vizsgáltuk.

Az immunprecipitáció során a megfelelő antitesttel előinkubált Protein G gyöngyökkel inkubált sejtlyázátumból kikötődött fehérjéket SDS-PAGE és Western-blot módszerrel analizáltuk.

A cocapping vizsgálatok során a fluoreszkáló festékkel konjugált antitesttel megjelölt sejteket anti-IgG-vel inkubáltuk, majd a mintákat megfestettük egy másik fehérje ellenes, eltérő színű fluoreszcens jelzéssel ellátott antitesttel. A mintákat fixáltuk és fluoreszcens mikroszkóppal analizáltuk.

### **Tirozin foszforiláció vizsgálata**

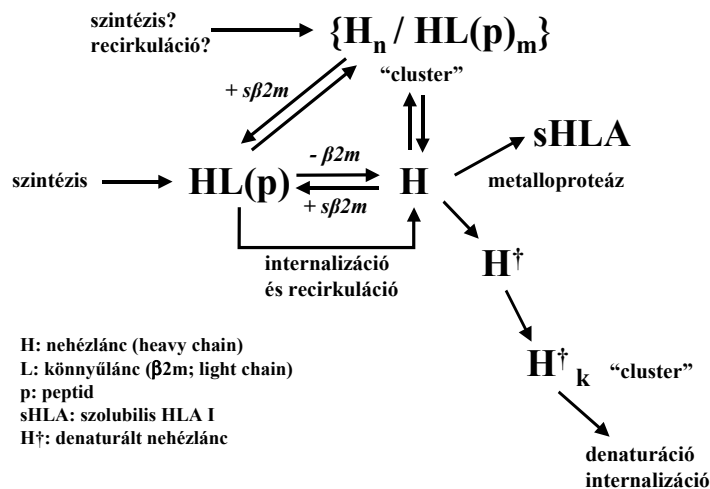
A STAT3 és STAT5 transzkripciós faktorok IL-2 által kiváltott foszforilációját a Fleisher és mtsai által korábban a STAT1 foszforilációjának tanulmányozására kidolgozott módszerrel tanulmányoztuk. Az előzetesen fixált és permeabilizált sejteket specifikus nyúl anti-(foszfo-STAT3/STAT5) poliklonális antitest majd FITC-jelzett másodlagos anti-nyúl antitesttel inkubáltuk, majd áramlási citometriával vizsgáltuk. Az IL-2 által kiváltott teljes foszforilációs mintázatot Western blot technikával, tormaperoxidázzal konjugált anti-foszfotirozin antitest alkalmazásával analizáltuk.

### **Az antigén prezentáció hatékonyságának vizsgálata**

Az allospecifikus T sejtek aktivációját a T sejt receptor (CD3) és a CD69 sejtfelszíni expressziójának változásán keresztül, áramlási citometriával tanulmányoztuk. A targetsejtek specifikus lízisének mértékét az  $\text{Eu}^{3+}$ -komplexszel előzetesen feltöltött sejtekből a CTL-k hatására felszabaduló  $\text{Eu}^{3+}$  lumineszcenciájának mérésével határoztuk meg.

## Az eredmények összefoglalása

- (1) Fluoreszcencia rezonancia energiatranszfer méréseinkkel kimutattuk, hogy a plazmamembrán koleszterin szintje (a membrán mikrodomén struktúrája) szerepet játszik a HLA I molekulák oligomerizációjának szabályozásában humán B limfoblaszt sejteken.
- (2) Áramlási citometriás illetve pásztázó közeli mező mikroszkópiás méréseink szerint a szabad ( $\beta 2$ -mikroglobulint nem tartalmazó) HLA I nehézláncok, illetve az intakt HLA I heterodimerek, legalábbis részben, azonos fehérjemintázatok kialakításában vesznek részt a JY sejtek felszínén. A sejtfelszínen elérhető  $\beta 2$ -mikroglobulin szint – feltehetően a nehézlánc különböző megjelenési formái közötti egyensúly módosításán keresztül – fontos szerepet tölt be a HLA I oligomerizáció mértékének szabályozásában.
- (3) Allospecifikus citotoxikus T limfociták alkalmazásával kimutattuk, hogy az antigén prezentáló sejt felszínén elérhető  $\beta 2$ -mikroglobulin szint – feltehetően a HLA I oligomerizáció mértékének módosításán keresztül (ld.előző pont) – fontos szerepet tölt be a T sejt aktiváció illetve effektor funkció hatékonyságának szabályozásában is.
- (4) Eredményeinket illetve a szabad nehézláncok keletkezésére és sorsára vonatkozó korábbi irodalmi adatokat összevetve a következő modell állítható fel a HLA I molekulák transzformált illetve aktivált B sejtek felszínén történő molekuláris szerveződésére vonatkozóan:



- (5) T limfóma/leukémia eredetű sejteken végzett FRET méréseink több, az IL-2R komplex és a HLA molekulák részvételével kialakuló „konzervatív” asszociációs motívum jelenlétét tárták fel a vizsgált sejtek plazmamembránjában. Az IL-2R $\alpha$  (CD25) sejt-specifikus oligomerizációjának kivételével ezen asszociációs motívumok előfordulását sem a vizsgált T sejt típusa, sem az IL-2R citokin-kötése nem befolyásolta lényegesen.
- (6) Fizikai és biokémiai módszerek alkalmazásával kimutattuk, hogy a Kit225 K6 leukémia eredetű T sejtek plazmamembránjában az IL-2R $\alpha$  részben a glikoszfingolipidben és koleszterinben gazdag membrándoménekben (lipid tutajokban) helyezkedik el. FRET méréseink szerint a lipid tutajok egysége több, az IL-2R $\alpha$  részvételével kialakuló asszociációs mintázat stabilitásának feltétele. A lipid tutajok egységének megbontása csökkentette az IL-2 stimulációt követő tirozin foszforiláció hatékonyságát is, amely arra utal, hogy ezek a membrán mikrodomének kulcsszerepet játszanak a magas affinitású IL-2R komplex kialakulásában és stabilitásában. Ezt az elképzelést a sejtek detergens rezisztens membránfrakciójának analízise is alátámasztotta: az IL-2R $\alpha$  lánc mellett a jelátvitelért felelős  $\beta$  és  $\gamma_c$  alegységeket is sikerült azonosítanunk a DRM frakcióban. Adataink alapján a K6 sejteken található CD25 molekuláknak csak egy része koncentráldódik a lipid tutajokban: jelentős hányaduk (kb. 50%-uk) a detergens szolubilis membránrégiókban található, ahol véletlenszerűen vagy pedig más (pl. a transzferrin receptort akkumuláló) membrán mikrodoménekhez kapcsolódva helyezkedhetnek el.

## Gyakorlati jelentőség

Eredményeink hozzájárulhatnak az adaptív immunválasz, ezen belül is az antigénprezentáció és a T sejt aktiváció folyamatának mélyebb megértéséhez.

Az általunk feltárt fehérje mintázatok egy része az aktivált perifériás T illetve B limfociták felszínén is megtalálható, míg más részük – legalábbis az eddig rendelkezésre álló adatok alapján – csak a vizsgált limfóma/leukémia eredetű sejtekre jellemző. A különböző eredetű limfociták sejt felszíni mintázatainak összehasonlítása, az egészséges és beteg egyedekből esetleg más fajtából származó sejtek közötti hasonlóságok és különbségek feltárása elősegítheti a mintázatok funkcionális jelentőségének illetve a normális valamint a kóros sejt működés (pl. aktiváció, sejttranszformáció stb.) molekuláris részleteinek megértését, így

mind az alapkutatásban mind pedig a különféle betegségek diagnosztikájában illetve terápiájában jelentőséggel bírhat.

### Az értekezésben felhasznált közlemények:

1. **Bodnár A.**, Jenei A., Bene L., Damjanovich S., Matkó J.: Modification of membrane cholesterol level affects expression and clustering of class I HLA molecules at the surface of JY human lymphoblasts. *Immunol Lett.* 1996, 54: 221-226. **IF: 1,546**
2. \*Matkó J., \***Bodnár A.**, Vereb G., Bene L., Vámosi G., Szentesi G., Szöllősi J., Gáspár R. Jr., Horejsi V., Waldmann T. A. and Damjanovich S.: GPI-microdomains (membrane rafts) and signaling of the multi-chain interleukin-2 receptor in human lymphoma/leukemia T cell lines. *Eur. J. Biochem.* 2002, 269: 1199-1208. **IF: 2,852**  
\*Matkó J. és Bodnár A. megosztott első szerzők.
3. **Bodnár A.**, Kwik J., Bacsó Z., Jenei A., Jovin T. M., Edidin M., Damjanovich S. and Matkó J.: Class I HLA oligomerization at the surface of B cells is controlled by exogenous  $\beta$ 2-microglobulin: implications in activation of cytotoxic effector T cells. (közlésre előkészítve)

### Egyéb publikációk:

4. Penyige A., Matkó J., Deák E., **Bodnár A.** and Barabás G.: Depolarization of the membrane potential by beta-lactams as a signal to induce autolysis. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 2002, 290: 1169-1175. **IF: 3,055**
5. Damjanovich S., Vámosi G., **Bodnár A.** and Bene L.: New trends in studying structure and function of biological membranes. (review) *Acta Physiol. Hung.* 2002 (közlésre elfogadva)
6. Dornan S., Sebestyén Z., Gamble J., Nagy P., **Bodnár A.**, Alldridge L., Doe S., Holmes N., Goff L. K., Beverley P., Szöllősi J. and Alexander D. R.: Differential association of CD45 isoforms with CD4 and CD8 regulates the actions of specific pools of p56lck tyrosine kinase in T cell antigen receptor signal transduction. *J. Biol. Chem.* 2002, 277: 1912-1918. **IF: 7,368**
7. Pfeiffer A., Bottcher A., Orsó E., Kapinsky M., Nagy P., **Bodnár A.**, Spreitzer I., Liebisch G., Drobnik W., Gempel K., Horn M., Holmer S., Hartung T., Multhoff G., Schutz G., Schindler H., Ulmer A. J., Heine H., Stelter F., Schutt C., Rothe G., Szöllősi J., Damjanovich S. and Schmitz G.: Lipopolysaccharide and ceramide docking to CD14 provokes ligand-specific receptor clustering in rafts. *Eur. J. Immunol.* 2001, 31: 3153-3164. **IF: 5,240**

8. Nagy P., Vámosi G., **Bodnár A.**, Lockett S. J., Szöllősi J.: Intensity-based energy transfer measurements in digital imaging microscopy. *Eur. Biophys. J.* 1998, 27: 377-389. **IF: 2,188**
9. Jenei A., Varga S., Bene L., Mátyus L., **Bodnár A.**, Bacsó Z., Pieri C., Gáspár R. jr, Farkas T. and Damjanovich S.: HLA class I and II antigens are partially co-clustered in the plasma membrane of human lymphoblastoid cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94: 7269-7274. **IF: 10,789**
10. Salga P., **Bodnár A.**, Damjanovich S. and Mátyus L.: Distance calibration of fluorescence energy transfer values on cell surfaces. *SPIE*, 1998, 3261: 244- 249.
11. Matkó J., Vereb G. and **Bodnár A.**: Lipid and protein mobility in the plasma membrane of cells: studies by fluorescence anisotropy and fluorescence photobleaching recovery (FPR). In: Practical guide to physical analysis of cell surface receptors. (ed. Krasznai Z. and Mátyus L.) Debrecen, 1998, pp. 92-109.
12. Bacsó Z., Bene L., **Bodnár A.**, Matkó J. and Damjanovich S.: A photobleaching energy transfer analysis of CD8/MHC-I and LFA-1/ICAM-1 interactions in CTL-target cell conjugates. *Immunol. Lett.* 1996, 54: 151-156. **IF: 1,546**
13. Matkó J., Mátyus L., Szöllősi J., Bene L., Jenei A., Nagy P., **Bodnár A.** and Damjanovich S.: Analysis of cell surface molecular distributions and cellular signaling by flow cytometry. *J. Fluoresc.* 1994, 4: 303-314. **IF: 0,771**