

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A sejtfelszíni fehérjék és a
clusterin vizsgálata porcsejtekben**

Dr. Kovács Patrik

Témavezető: Dr. Matta Csaba



DEBRECENI EGYETEM

Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

Debrecen, 2026

**A sejtfelszíni fehérjék és a clusterin vizsgálata
porcsejtekben**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
az elméleti orvostudományok tudományágában

Írta: Dr. Kovács Patrik, okleveles orvos

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Orvostudomány
Doktori Iskolája (Jelátviteli folyamatok sejt- és molekuláris
biológiája programja) keretében

Témavezető: Dr. Matta Csaba, egyetemi adjunktus

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Nagy Nándor, az MTA doktora
Dr. Szentandrásyné Dr. Gönczi Mónika,
PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Virág László, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Nagy Nándor, az MTA doktora
Dr. Szentandrásyné Dr. Gönczi Mónika,
PhD
Prof. Dr. Csósz Éva, az MTA doktora
Dr. Trencsényiné Dr. Balázs Bernadett
Éva, PhD

Az értekezés védésének helyszíne és időpontja:
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme,
2026. 06. 05-én pénteken, 13 órakor.

1. BEVEZETÉS

A mozgásszervrendszeri struktúrákat és a támasztószöveteket érintő degeneratív megbetegedések korunk társadalmának és egészségügyi ellátórendszerének egyik legjelentősebb, ugyanakkor egyik leginkább elhanyagolt problémája. Az idővel progrediáló elváltozások olyan krónikus, életminőséget rontó állapotok kialakulásához vezethetnek, mint például az ízületi porckopás, másnéven osteoarthritis (OA).

Az OA egy multifaktoriális etiológiával rendelkező, heterogén, nemcsak a porc szövetet, hanem az egész ízületet érintő, sokszor fájdalommal járó megbetegedés, amely a csökkent fizikai teljesítmény és a korai munkaképtelenség vezető oka. Becslések szerint 1990-ben a globális népesség 4,8%-a, azaz 256 millió ember szenvedett a betegségben. Ez az érték jelentős növekedést mutat, mivel 2020-ban a világ népességének már 7,6%-a, vagyis körülbelül 595 millió ember élt ízületi porckopással.

Az OA jelenleg is gyógyíthatatlan megbetegedés. A jelenlegi kezelési megközelítések (gyógyszeres és műtéti) elsősorban a tünetek csökkentésére összpontosítanak, céljuk a fájdalom enyhítése és az ízületi funkció javítása a mindennapi tevékenységek megkönnyítésének érdekében. Izgalmas új irányt jelenthet az összejt alapú terápiák kifejlesztése és a 3D bonyomtatott szövetek sebészi beültetése. Jelenleg azonban a porc-progenitorsejtek pontos karakterizálása, azok költséghatékony kinyerése a páciensből, majd autológ vagy allogén módon történő beültetése még nem kellően hatékony. A terápia mellett a diagnózis-alkotás a betegség másik Achilles-ina, mivel a mai napig elsősorban a tüneteken és a fizikális vizsgálaton alapszik: a térd esetén a fájdalom megjelenése járás közben, valamint az ízületi merevség az első

tünetek közé sorolhatóak. A röntgen a szokásos és jelenleg is ajánlott képalkotó eljárás, amely segíti az OA hagyományos szerkezeti deformitásának értékelését, azonban ezen elváltozások megjelenésével már sokszor túllépjük az ideális terápiás időablakot.

Az OA korai diagnosztikájához, valamint az összejt-alapú és porszövet tervezést (*tissue engineering*) igénylő kezelésében alkalmazott jó minőségű porcsejtek kinyeréséhez és szortírozásához elengedhetetlen a porcszövet, valamint a porcdifferenciáció átfogó, rendszerszintű ismerete. Ezen túlmenően szükség van olyan megbízható, könnyen kimutatható biomarkerekre, melyek a későbbiekben felhasználhatóak a pontos diagnózisalkotáshoz vagy a sejt alapú terápiákhoz.

Az értekezésem alapjául szolgáló kísérleteket két olyan kutatási irányvonal határozta meg, amelyek szorosan illeszkednek a jelenlegi nemzetközi trendekhez. Vizsgálataink során a chondrogenesis dinamikusan változó sejtfelszíni fehérje-mintázatában bekövetkezett változások, illetve az ebből felfedezhető értékes diagnosztikai/prognosztikai biomarkerek tanulmányozása volt a célunk. Emellett az extracellularis (EC) fehérjék fiziológiás térszerkezetét biztosító, valamint a sejttúlélést szabályozó chaperon fehérje, a clusterin (CLU) connectome-ját is feltérképeztük bioinformatikai adatbázisok segítségével.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Egyetemi doktori értekezésem fő célja az, hogy az *in vitro* chondrogenesis során megvizsgáljam surfaceome expressziós mintázatában bekövetkezett változásokat és a porcfejlődés meghatározott stádiumaira jellemző új sejtfelszíni biomarkereket azonosítsak. Ezenfelül, hogy felfedezem a sejtfelszíni és EC fehérjék chaperonjának, a CLU-nek az interakciós partnereit hálózatbiológiai módszerek segítségével. Ezen ismeretek birtokában részletesebb képet kaphatunk a különböző stádiumú porcsejtek surfaceome ujjlenyomatáról, továbbá az így felfedezett biomarkerek potenciális célpontként szolgálhatnak a degeneratív porcbetegségek korai diagnózisában és terápiájának kifejlesztésében.

Részletes célunk az volt, hogy az *in vitro* porcdifferenciáció során és különböző bioinformatikai adatbázisok segítségével az alábbiakat vizsgáljuk meg:

- **Milyen kvalitatív és kvantitatív összetétellel rendelkezik a surfaceome az *in vitro* porcfejlődés során?** A porcfejlődés eltérő szakaszaiban milyen fehérjék és mekkora mértékben fejeződnek ki a sejtfelszínen? A sejtfelszíni proteinek milyen fő funkciókkal rendelkeznek és történik-e változás a funkciók arányában?
- **Található-e olyan fehérje a sejtek felszínén, mely specifikus lehet egy adott porcfejlődési stádiumra?** Kimutathatunk-e egy surfaceome fehérjét mely csak a korai, vagy csak a kései chondrogenesis során expresszálódik? Vagy létezik-e olyan sejtfelszíni fehérje, mely végig jelen van, de kifejeződésének mértéke szignifikánsan változik a porcdifferenciáció előrehaladtával?

- **Az esetlegesen kimutatott sejtfelszíni biomarker milyen szereppel rendelkezhet a porcsejtek életében?**
- **Végezetül milyen specifikus feladattal rendelkezhet a CLU a porcszövet élettanában, valamint az OA pathomechanizmusában? A CLU-nek mik lehetnek a target fehérjéi porcszövetben? Ezenfelül bioinformatikai hálózatelemzések alapján milyen feltételezett kölcsönhatások lehetnek közöttük?**

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti modell: csirkeembryo végtagtelep-eredetű porcosodó micromass primer sejtkultúra

Az *in vitro* chondrogenesis folyamatát csirkeembryok végtagtelepeiből izolált chondroprogenitor sejtek segítségével vizsgáltuk, melyeket high-density micromass kultúrákban differenciáltattunk. Kísérleteinkhez a tojásokat (általában 100–150 db tojás biológiai replikátumonként) 4,5 napig inkubáltuk 37°C-on. Az inkubációs periódus végére a csirkeembryok a Hamburger–Hamilton (HH) felosztás szerinti 23–24-es stádiumban voltak. Ezután mikroszkóp és steril csipeszek segítségével lamináris fülkében a mellső és hátsó végtagtelepek distalis 1/3-át lemetsztük, melyek elsősorban chondroprogenitor sejteket tartalmaztak. A szövetdarabokat 0,25% tripszin–EDTA oldattal emésztettük egy órán keresztül, 37°C-os, 5% CO₂ és 90% relatív páratartalmú sejtenyészítő inkubátorban, amit utána FBS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) segítségével állítottunk le. A sejtszuspenzió szűrését követően a sejtsűrűséget automata sejtszámoló készülék segítségével számoltuk ki, és $1,5 \times 10^7$ sejt/ml sűrűsége hígítottuk a szuszpenziót. A kísérleti céloknak megfelelő típusú tenyésztő edényekben, optimális mennyiségű (1–30 db), 30–100 µl csepp sejtszuspenziót alkalmaztunk, majd 2 órán keresztül engedték kitapadni a sejteket a tenyésztő edények alsó felszínére, végül komplett Ham's F12 médiummal (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) etettük meg a kultúrákat, amelyet 2 naponta cseréltünk.

A kísérletekhez a sejtkultúrákat a chondrogenesis meghatározott stádiumainak megfelelő tenyésztési napokon használtuk fel: 1. napon chondroprogenitor sejtek, 3. napon chondroblastok, 6. napon érett

chondrocyták, 10. napon hypertrophia előtt álló chondrocyták, 15. napon pedig már hypertrophiás chondrocyták alkották a kultúrákat.

A csirkeembryok kutatásban történő felhasználásához nincs szükség külön etikai engedélyre a Debreceni Egyetem Etikai Bizottságától.

3.2. Szövettani festés alkalmazása

Kísérleteink során a savas dimetil-metilénkék (sDMMK; pH 2) szövettani festék (Sigma-Aldrich) alkalmazásával figyeltük meg a fejlődő porcban termelődő porcspecifikus ECM változásait. A festék orthochromasiás színe a kék, míg a porcosodás megjelenésével metachromasiás elszíneződéssel püspöklila árnyalatot figyelhetünk meg, mely a termelődő porcmatrixban található nagy mennyiségű proteoglikán és glükózaminoglikán makromolekulák okozzák. Az sDMMK-festett kultúrákról egy Olympus BX53 mikroszkóppal (Olympus Corporation) készítettünk felvételeket 4x nagyítású objektív alkalmazásával. A digitális felvételeken látható metachromatikus pixelekből a MatLab program (The MathWorks Inc., Natick, MA, USA) segítségével metachromasiás index kalkulálható (alkalmazott RGB kód: R190, G10, B174), melynek segítségével következtethetünk a porcmatrix mennyiségi és minőségi összetételére.

3.3. Sejtfelszíni fehérjék izolálása és dúsítása aminooxi-biotin technikával

Ezen módszerek szükségességét az adja, hogy a plazmamembránban (PM-ben) relatíve alacsony arányban fejeződnek ki fehérjék a teljes proteomhoz viszonyítva, emiatt a teljes sejtlizátumon végzett tömegspektrometriai vizsgálat során a nagymennyiségben jelenlévő

citoplazmatikus és egyéb fehérjék elfedhetik az alacsonyabb expresszióval jellemezhető társaikat.

Az eltérő fejlődési stádiumban lévő porcsejtekről lemostuk a szérumfehérjéket tartalmazó FBS-t. Ezután a sejtek felszínén lévő glikoproteineket 1mM nátrium-metaperjodáttal oxidáltuk (Thermo Fisher Scientific), és 100 mM aminosoy-biotinnal jelöltük (Biotium, Fremont, CA, USA) 1 órán keresztül. A jelölést 1 mM végkoncentrációjú glicerol (Sigma-Aldrich) hozzáadásával leállítottuk, mely után a sejteket lízispufferrel lízáltuk. A keletkező sejtörmelékét többszörös centrifugálási lépésekkel eltávolítottuk ($2800 \times g$ 5 perc, majd $16000 \times g$ 15–15 perc, $4^{\circ}C$), majd a fehérjéket tartalmazó felülúszót NeutrAvidin agaróz gyöngyöket (Thermo Fisher Scientific) tartalmazó Snap Cap oszlopokba pipettáztuk (Thermo Fisher Scientific). A fehérjemintáinkat először 3×15 , majd 5×10 alkalommal mostuk a felhasználás sorrendjében a következő oldatokkal: lízis puffer, 0,5% (w/v) nátrium-dodecil-szulfátot (SDS-t) (Amresco) tartalmazó PBS oldat, UC puffer (6 M urea [Invitrogen, Waltham, MA, USA], 100 mM Tris-HCl [pH 8.5]), ismét UC puffer, 5 M NaCl, 100 mM Na_2CO_3 (Sigma-Aldrich), PBS, végül HPLC minőségű víz (Molar Chemicals Kft.).

A mosások után a NeutrAvidin gyöngyökhöz kötött sejt felszíni fehérjéket 50 mM NH_4HCO_3 -t (Sigma-Aldrich) és 5 μg Pierce Trypsin Protease-t (Thermo Fisher Scientific) tartalmazó oldattal peptidekké hasítottuk, melyeket összegyűjtöttünk. Végül az emésztett peptideket liofilizáltuk és elküldtük tömegspektrometriai elemzésre.

3.4. A porcsejtek total proteomjának izolálása

A surfaceome izolálással párhuzamosan ugyanazon tenyésztési napokon (1., 3., 6., 10. és 15. napon) a micromass sejtkultúrákból total proteom (teljes fehérjekészlet) mintákat is gyűjtöttünk. A porcsejteket 100 µl RIPA pufferbe helyeztük (SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Németország majd ultrasonikátorral (3×10 másodperces impulzusokkal) lizáltuk, hogy ezzel biztosítsuk a különböző membránfehérjék szolubilizálását is.

3.5. A surfaceome és a total proteom peptid minták tömegspektrometriai analízise LC-MS/MS módszerrel és a nyers adatok elemzése

A liofilizált peptid mintákat hűtött csomagolásban elküldtük kollaborációs partnerünknek, David J. Boocock-nak a Nottinghami Egyetemre az Egyesült Királyságba. A munkacsoportjával ők végezték el a minták tömegspektrometriai elemzését és a nyers adatok kiértékelését.

3.6. A kvantitatív tömegspektrometriából származó expressziós adatok bioinformatikai analízise

3.6.1. A mintákban lévő fehérjék kifejeződési mintázatának feltérképezése expressziós klaszterek és heatmap segítségével

A kvantitatív proteomikai adatokból kialakított expressziós klasztereket, a heatmap-et, valamint az ezek alapján létrehozott *Gene Ontology* (GO) és *Principal Component Analysis* (PCA) elemzéseket a kollaborációs partnerünk, Brázda Péter végezte el az Utrechti Egyetemen, Hollandiában.

3.6.2. A fehérjék *surfaceome* alapú szűrése és funkcióik szerinti csoportosítása GO kifejezések segítségével, kvalitatív összehasonlítása Venn-diagrammal

Első feladatunk az volt, hogy ellenőrizzük a sejtfelszíni fehérje jelölésünk hatékonyságát a Uniprot weboldalról származó adatok segítségével. Ehhez a „GO (cellular component)” és a „GO (biological process)” oszlopokat vizsgáltuk meg és az általunk válogatott, sejtfelszínre jellemző GO kódok felhasználásával szűrést végeztünk.

A megszürt fehérjelistát ezután egy újabb keresésnek vetettük alá, melynek során négy fő funkcionális kategóriát vettük alapul (receptorok, transzporterek, enzimek, adhézis fehérjék). Szintén két oszlopot ellenőriztünk a keresés kiszélesítése érdekében: a „GO *biological process*” és a „GO *molecular function*” oszlopokat. Ebben az esetben azonban nem GO kódokat, hanem kulcsszavakat használtunk fel a kereséshez.

Végezetül a különböző tenyésztési napokból származó sejtfelszínre szűrt fehérjelistákat Venn-diagram segítségével kvalitatívan hasonlítottuk össze.

3.7. Az újonnan felfedezett fehérjék expressziójának validálása western blot technikával

A Venn-diagram segítségével felfedezett, porcsejtekben eddig még nem kimutatott fehérjék expresszióját western blot technika alkalmazásával, 3 biológiai replikátum segítségével validáltuk. A RIPA pufferrel és ultraszonikálással nyert fehérjeminták koncentrációját BCA assay (Thermo Fisher Scientific) segítségével ellenőriztük. A mintákat 1 mg/ml egységes koncentrációra hígítottuk 4× töménységű Laemmler puffer (Thermo Fisher Scientific) és PBS felhasználásával, majd az így

kapott keveréket lezárt Eppendorf-csővekben előre felmelegített 95°C-os inkubátorban (Bioer Technology, Hangzhou, Zhejiang, Kína) 10 perc alatt felfőztük.

A redukáló oldatnak köszönhetően a kiegyenesített fehérjéket töltésük és molekulatömegük alapján szeparáltuk poliakrilamid gélelektroforézis alkalmazásával (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Kalifornia, USA), majd az így szétválasztott fehérjéket egy nitrocellulóz membránra transzferáltuk (Bio-Rad Laboratories) Trans-Blot Turbo Transfer System gép segítségével (Bio-Rad Laboratories). Ezt követően teljes éjszakán keresztül inkubáltuk a membránokat a megfelelő primer antitesteket tartalmazó tej–PBS oldatokkal: 1:500 hígítású anti-PODXL poliklonális antitest (katalógusszám: 18150-1-AP; Proteintech, Rosemont, Illinois, USA), 1:500 hígítású anti-CNTFR poliklonális antitest (katalógusszám: ab127425; Abcam, Cambridge, UK), valamint 1:5000 hígítású anti- β -aktin monoklonális antitest (katalógusszám: A5441; Sigma-Aldrich). A primer antitestek Tween20-at (Amresco, Solon, OH, USA) tartalmazó PBS oldattal (PBST) történő lemosását követően anti-nyúl (katalógusszám: 170-6515; Bio-Rad Laboratories) és anti-egér (katalógusszám: 170-6516; Bio-Rad Laboratories) tormaperoxidáz-konjugált secunder antitestekkel inkubáltuk a membránokat 1 órán keresztül. A feleslegben lévő secunder antitesteket PBST segítségével mostuk le a membránokról. Végetetül géldokumentációs rendszer (ChemiDoc MP Imaging System, Bio-Rad Laboratories) felhasználásával detektáltuk a secunder antitestek által adott chemiluminescens jelet.

3.8. Az újonnan felfedezett fehérjék cellularis lokalizációjának validálása immuncitokémiai technikával és konfokális mikroszkópiával

Az immuncitokémiai jelöléshez a csirkeembryóból izolált chondroprogenitor sejteket, hasonlóan az előzőekhez, 15 millió sejt/ml denzitásban tenyésztettük. Azonban amikor a sejt kultúrák elérték a szükséges tenyésztési napot (1., 3., 6., 10. és 15. nap), akkor a surfaceome izolálás során is használt 0,25%-os I-es típusú kollagenáz oldattal (Sigma-Aldrich) 5–20 perc alatt (az ECM mennyiségétől függően) felemésztettük a micromass kultúrákat a tenyésztő edény aljáról. Ezután 12 mm átmérőjű üvegfedőlemezekkel ellátott 24 well plate-be (Eppendorf) pipettáztunk wellenként 500–500 µl sejtuszuspenziót pipettáztunk, ezáltal *monolayer* kultúrákat létrehozva, melyek 2 óra alatt kitapadtak a felszínre. A formalin-fixálást követően 3% BSA-t (Amresco) és 10% kecskeszérumot (Invitrogen) tartalmazó oldattal blokkoltuk a nem specifikus kötőhelyeket. Az anti-CNTFR és anti-PODXL primer antitesteket 1%-os BSA-t és 3%-os kecskeszérumot tartalmazó PBS-ben használtuk fel, 1:500 arányú hígításban. Ezután Alexa Fluor 555 fluoreszcens festékkel konjugált anti-nyúl secunder antitestet (Invitrogen) alkalmaztunk 1:1000 arányban. Végezetül 2 µl DAPI-t (4,6-diamidino-2-fenilindol) tartalmazó VECTASHIELD ragasztó médiummal (Vector Laboratories Inc, Burlingame, Ca, USA) rögzítettük a sejteket tartalmazó fedőlemezt a tárgylemezhez.

Az immuncitokémiai módszerrel megjelölt fehérjék celluláris lokalizációját Olympus FV3000 konfokális mikroszkóppal (Olympus Corporation, Shinjuku, Tokió, Japán) ellenőriztük. A felvételek elkészítéséhez 60× nagyítású PlanApo N immerzió olajos objektívet (NA: 1,42) alkalmaztunk. Eredményeink vizualizálásához és digitális

rögzítéséhez az FV31S-SW szoftvert (Olympus Corporation) használtuk. Minden esetben a laser ND (neutral density) filter 4–7% közötti, a lézerfeszültség 400–700 V közötti, a Gain $1\times$ és az Offset 0% volt. Ezután a megfelelő fókuszsíkot kiválasztva 3 kép lineáris átlagából készítettük el a felvételeket. Az elkészült képekre scale bar-t égettünk és *tiff* formátumban mentettük őket adathordozóra.

3.9. Statisztikai analízis

A tézisben bemutatott kvantitatív kísérleti eredmények minden esetben 3, egymástól független biológiai replikátumból származnak. A disszertációban szereplő oszlopdiagramokon a különböző replikátumokból származó átlagolt eredmények láthatóak és a hibasávok az átlag szórását (standard deviáció, SD) jelzik. A sejtfelszíni fehérjékből származó peptidminták tömegspektrometriai vizsgálatánál a normalizálás az összes kimutatott fehérje általános expressziós mintázatára történt. A numerikus adatok analíziséhez és vizualizálásához a Microsoft Excel (2507 verzió) programot használtuk. Az sDMMK szövettani festés során kapott adatok statisztikai kiértékelése és a statisztikai különbségek megállapítása a Student-féle kétmintás *t*-próba segítségével történt. A változásokat az *in vitro* csirke chondrogenesis meghatározott tenyésztési napjai között (1., 3., 6., 10., és 15. nap) hasonlítottuk össze. A változást $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

3.10. A CLU interakciós partnereinek feltárása *in silico* hálózatbiológiai módszerekkel

3.10.1. *A CLU interakciós partnereinek feltérképezése STRING adatbázis és Cytoscape szoftver segítségével*

Az *in silico* kutatásunkban először a STRING adatbázist (11.5 verzió; www.stringdb.org) és a Cytoscape szoftvert (3.0.0 verzió) használtuk fel a CLU hálózatának feltérképezésére és vizualizálására. A STRING adatbázisban megkerestük a CLU ismert PPI-ket és a hozzá kapcsolódó GO annotációkat. Ezután a Cytoscape szoftverben található PubMed-lekérdezési funkciót alkalmaztuk, hogy importáljuk a clusterin első 50 legvalószínűbb PPI targetjét (konfidencia küszöbérték: 0,4; hálózattípus: teljes STRING hálózat; lekérdezési keresőszó: *clusterin* vagy *clusterin osteoarthritis*) a PubMed-en lévő publikációk alapján.

3.10.2. *A CLU interakciós partnereinek és az OA-ban betöltött szerepének vizsgálata Qiagen Ingenuity Pathway Analysis (IPA) elemzéssel*

Kollaborációs munkatársunk a CLU interakciós partnereit az IPA adatbázis segítségével hozta létre. A statisztikai szignifikanciát Fisher-féle egzakt teszttel számolta ki, $p \leq 0,05$ küszöbértékkel és Benjamini-Hochberg korrekcióval. A kanonikus jelátviteli útvonalak, betegségek és rendellenességek, molekuláris- és sejtfunkciók, valamint fiziológiás embryonális fejlődési folyamatok aktivációját vagy gátlását az IPA Z-score algoritmusával számította ki, majd összevetette egy ideális aktivációs vagy gátlási mintával a jelátviteli útvonal, betegség/rendellenesség vagy biológiai funkció esetében.

A kollaborációs partnerünk az IPA-n belül a molekuláris aktivitást prediktáló (MAP) eszközt használta fel annak feltérképezésére, hogy a CLU aktivációjának vagy gátlásának milyen hatása van az OA-hoz asszociált jelátviteli útvonalakra.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A porcdifferenciáció fiziológiás progressziójának ellenőrzése sDMMK szövettani festés segítségével

Az általunk alkalmazott, csirkeembryok végtagtelepből létrehozott micromass high-density sejt kultúra a tenyésztés 1. napján még chondroprogenitor sejteket tartalmaz, melyek csak kismértékben termelnek ECM-et. A chondrogenesis 3. napjára a sejtek chondroblastokká differenciálódnak, melyek aktívan elkezdik termelni a porc matrix komponenseit, köztük az sDMMK festéssel metachromasiát eredményező GAG-okat. Az érett chondrocyták megjelenésével együtt a 6. és 10. tenyésztési napra szignifikánsan megemelkedik az ECM mennyisége, mely a szövettani festés felvételei, valamint a belőlük kalkulált metachromasia index értékei alapján is jól nyomon követhető. A 10. és 15. nap között a porcsejtek hypertrophiás chondrocyttákká alakulnak és a porc matrix méretében már csak kis fokú növekedés tapasztalható.

4.2. A különböző stádiumú porcsejtekből származó total proteom és izolált surfaceome minták tömegspektrometriai eredményeinek összehasonlítása

Nagy áteresztőképességű (*high-throughput*) LC-MS/MS analízist végeztünk a chondrogenikus sejt kultúrákból származó teljes lizátumokon, valamint az aminooxy-biotin (AOB) sejt felszíni fehérje izolálásból származó peptidmintákon, melyeket az 1., 3., 6., 10. és 15. tenyésztési napon gyűjtöttünk (N=3 biológiai replikátum), a porcdifferenciáció kulcsfontosságú szakaszainak megfelelően.

4.2.1. A total proteom és az AOB dúsított surfaceome fehérjelistáinak vizsgálata PCA elemzéssel

A teljes proteom vizsgálata során összesen 5207 fehérjét vagy fehérjecsoportot, míg a sejtfelszíni fehérje dúsításból származó minták esetén összesen 522 fehérjét vagy fehérjecsoportot azonosítottunk ($p < 0,05$). A PCA analízis jól elkülönülő proteomikai profilokat mutatott a total proteom mintákban, ezenfelül a biológiai replikátumok szorosan csoportosultak a különböző tenyésztési napok szerint. Az első főkomponens (PC1), amely a variancia 42%-át magyarázza, az időbeli előrehaladást tükrözte, jól elkülönítve a differenciálatlan (1. nap) és az érett (10. és 15. nap) kultúrákat. A második főkomponens (PC2; 19%-os variancia) az intermedier porcfeljődési szakaszokat (3–6. nap) választotta el mind a korai, mind a késői időpontoktól.

A surfaceome mintákban 522 kvantifikált fehérje/fehérjecsoport közül 18-at kizártunk a PCA elemzésből, mivel kizárólag egyetlen tenyésztési napon voltak detektálhatók, emiatt 504 fehérje maradt a további vizsgálathoz. A PCA analízis alacsony mértékű variabilitást mutatott a biológiai replikátumok között, ugyanakkor tenyésztési napok szerint jól elkülönítette a mintákat az első főkomponens mentén (PC1; 40%-os variancia).

4.2.2. A total proteom és az AOB dúsított surfaceome fehérjelista közötti átfedés ellenőrzése

Az összehasonlító elemzés átlagosan mindössze 23%-os átfedést mutatott a teljes sejt-lizátum és a sejtfelszíni fehérje-dúsított minták fehérjéi között. Ezen számadatból kikövetkeztethető, hogy az AOB-izolált fehérjék 77%-a, vagyis 205–238 protein nem volt kimutatható a teljes sejt-lizátumban, melyet „rejtett surfaceome”-nak neveztünk el. Ez

az összefüggés alátámasztja a módszer fokozott érzékenységét az alacsony kópiaszámban megjelenő, plazmamembránhoz kötött fehérjék azonosításában.

4.2.3. A total proteom és az AOB dúsított surfaceome fehérjelisták GO kifejezésekkel történő *in silico* szűrése

A sejtfelszíni fehérjék azonosításának maximalizálása érdekében minden detektált fehérje esetében *in silico* megközelítéssel következtettünk a sejtfelszíni lokalizációra jól megalapozott GO annotációk alapján. Elsőként ezt a predikciós módszert a teljes sejtizátum adatállományára alkalmaztuk, így definiálva a porcsejt kultúrák GO-alapú sejtfelszíni subproteomját. Az ebben az adatbázisban szereplő 5207 fehérje közül 885 (17%) esetében valószínűsítettünk sejtfelszíni lokalizációt. Ezt követően ugyanazon GO annotációkkal a surfaceome mintákon is elvégeztük a szűrést. Az AOB-alapú dúsítási eljárás szignifikánsan megnövelte az azonosított sejtfelszíni fehérjék arányát: minden vizsgált időpontban és biológiai replikátumban a fehérjék 55–60%-a sejtfelszíni lokalizációval volt annotálva. Ezáltal az AOB jelölési technika a GO annotációs szűréssel egybekötve jelentős előrelépést jelenthet a sejtek surfaceome profiljának teljesebb körű leírásában.

4.3. A különböző porcsejtek surfaceome dúsításából származó kvantitatív tömegspektrometriai eredmények DEP és PPI elemzése

Az összesen 504 vizsgált fehérjéből azokat tekintettük szignifikánsan eltérő expresszióval rendelkezőknek (DEP), amelyeknek a \log_2 fold change (\log_2FC) értéke nagyobb volt, mint 1,0 és a Benjamini–Hochberg korrekcióval módosított p -értéke 0,05 alatti eredménnyel rendelkezett. Időpont-összehasonlításonként az up- és downregulálódott

DEP-ek száma a következőképpen alakult: 1–3. nap között 72 nőtt, 10 csökkent, 3–6. nap között 74 nőtt, 82 csökkent, 6–10. nap között 89 nőtt, 31 csökkent, valamint 10–15. nap között 19 nőtt, 47 csökkent.

A kimutatott DEP-eket ezután 4 klaszterbe soroltuk expressziós mintázatuknak megfelelően, majd elvégeztük az egyes klasztereken a GO analízist. Az „A” klaszterbe tartozó 96 fehérje progresszív upregulációt mutatott az *in vitro* chondrogenesis előrehaladtával. Ebben a csoportban az ECM szerveződéséhez (GO:0030198), L-aszkorbinsav-kötéshez (GO:0031418), a kollagén alfa-lánc szintéziséhez szükséges peptidil-prolil hidroxilációhoz (GO:0019511) és csontfejlődéshez (GO:0060348) kapcsolódó GO kifejezések dúsultak. A „B” klaszterbe sorolt 60 protein expressziója a tenyésztés 6. napján érte el a legmagasabb kifejeződést, melyben többek között a transzmembrán ephrin receptor aktivitás (GO:0005005) és a fibroblast növekedési faktor kötés (GO:0017134) GO kifejezések voltak felülreprezentáltak. A „C” klaszter 63 fehérjéje ezzel ellentétben átmeneti expressziócsökkenést mutatott a 6. napon, majd ezen proteinek a kései porcfejlődési fázisban ismételtlen upregulálódtak az érett sejt kultúrákban. Ebben a csoportban az RNS-polimeráz II foszforiláció (GO:0008353), és a sejtciklus szabályozáshoz kapcsolódó ciklindependens protein szerin-threonin kináz aktivitás (GO:0004693) GO kifejezések domináltak. A „D” klaszterbe tartozó 88 fehérje expressziója a 3. naptól kezdve folyamatosan csökkent, ami azt sugallja, hogy ezen proteinek elsősorban a korai differenciációs szakaszban töltik be szerepüket. A „B” klaszterhez hasonlóan itt is megjelentek az ephrin receptorhoz (GO:0005005) és fibroblast növekedési faktorhoz (GO:0017134) kapcsolódó GO kifejezések, továbbá kimutatható volt a WNT jelátvitel jelenléte is (GO:0042813). Ezekon felül az izom- és idegrendszeri fejlődéshez társítható GO találatok is megjelentek a „D”

klaszterben (GO:0007517, GO:0007411, GO:0021953), mely jelezheti az össejtekre jellemző plaszticitás fokozatos megszűnését.

A sejtfelszíni fehérje klasztereken részletes PPI hálózatelemzést is végeztünk a STRING adatbázis segítségével. Az „A” klaszter PPI-hálózatában az ECM átalakuláshoz (MMP2, FN1, VCAN, DCN, PLOD1, CRTAP, P3H2, P4HA1/2), a kollagén bioszintézishez (PLOD1, CRTAP, P3H2, P4HA1/2, P4HB) és a fehérjehajtogatáshoz (HSPA5/PDIA3) kapcsolódó fehérjék voltak megtalálhatóak, emellett még a vezikula-transzporthoz és az oxidatív stresszválaszhoz (PRDX6) kötődő komponenseket is tartalmazott. A „B” klaszterben az ephrin jelátvitel dominált, benne négy ephrin receptorral (EPHA7, EPHB1, EPHB2, EPHB3), mely felhívja a figyelmet a fejlődési mintázatok kialakításában betöltött szerepükre. Ugyancsak kimutathatóak voltak ebben a halmazban az endocytosisban szerepet játszó fehérjék (AP2M1, RAB5C) és a RAB GTPázok (RAB5C, RAB14), melyeket a dinamikus IC membrántranszport központi elemeiként azonosítanak. Az SRC és az FGFR2 kapcsolatot teremt a fokális adhéziók és az FGF jelátvitel között. A „C” klaszterben dúsultak a cytoskeletalis szerveződéshez (ACTN1, ACTN4, MYH9, ARF6), a kalcium jelátvitelhez (CALM3, S100A6, ANXA1) és a sejtadhéziós útvonalakhoz (DMD, ARF6, RAP1B) kapcsolódó fehérjék. A hálózatban a fokális adhézió és az aktin cytoskeleton útvonalai domináltak az aktinin (ACTN1, ACTN4), miozin (MYH9) és disztrofin (DMD) révén. A kalcium jelátvitel a metabolikus és gyulladásozó válaszok integrálásában játszhat szerepet (CALM3, S100A6). A HMGB1 kapcsolatot teremt a sejtmagi DNS-javítás és az EC irányból érkező VEGF jelátvitel között. Ebben a klaszterben olyan fehérjék is megjelentek, melyek közreműködnek az enchondralis csontosodás folyamatában (TIMP3, TGFB2, THBS2, VLDLR). A „D”

klaszterben szintén az ephrin jelátvitel dominált, több ephrin receptorral (EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA7, EPHB1, EPHB2, EPHB3), melyek a sejtmigráció szabályozásához járulhatnak hozzá a porcnodulus-képződés során. A Wnt (FZD1, FZD2, FZD7) és Hedgehog (SMO) jelátviteli útvonalak az egyedfejlődési folyamatok kulcsszereplői, míg az EGFR/FGFR receptorok (EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3) a hozzájuk kötődő növekedési faktorok segítségével a citoplazmatikus MAPK-aktivációt biztosítják.

4.4. Az AOB dúsított surfaceome fehérjék funkcionális csoportosítása

A surfaceome-ra jellemző GO kifejezések által kiszelektált sejtfelszíni fehérjéket 4 fő funkcionális kategóriába osztottuk a GO „molecular function” és „biological process” annotációk alapján: receptorok, enzimek, transzporterek, sejtadhéziós és sejtkapcsoló fehérjék. A surfaceome fehérjék funkcionális megoszlása a chondrogenesis teljes időtartama alatt közel állandó maradt.

4.5. A különböző tenyésztési napokból származó AOB dúsított surfaceome listák kvalitatív összehasonlítása Venn-diagram segítségével

A sejtfelszíni fehérjék GO annotáció alapú szűrését követően a fehérjék kvalitatív jelenlétét hasonlítottuk össze az egyes tenyésztési napok között annak érdekében, hogy azonosíthassunk olyan sejtfelszíni, esetleges jövőbeli biomarker-jelölteket, amelyek a poredifferenciáció meghatározott stádiumaira jellemzőek. Mindössze két olyan fehérjét sikerült azonosítanunk, amelyek megfeleltek a korai chondrogenikus stádium (1–6. tenyésztési nap) kritériumainak: a ciliaris neurotrophikus faktor receptort (CNTFR) és a podocalyxin-t (PODXL).

4.6. A CNTFR és a PODXL expressziójának és cellularis lokalizációjának validálása

Mindkét fehérje esetén a kvantitatív tömegspektrometriai vizsgálatból származó expressziós adatok progresszív csökkenést mutattak a differenciáció előrehaladtával, továbbá a 10. és 15. napon nem voltak kimutathatóak.

A CNTFR és a PODXL expressziójának igazolására western blot technikát alkalmaztunk. A CNTFR esetében egy jól elkülönülő sáv volt megfigyelhető körülbelül 43 kDa-nál, amely megfelel a fehérje prediktált molekulatömegének. A CNTFR western blottal kimutatott expressziója hasonló mintázatot mutatott a differenciáció előrehaladtával, mint az előzőekben említett kvantitatív proteomikai eredmények. Hasonlóan a PODXL is specifikus sávként jelent meg ~60–70 kDa körüli magasságban, melynek expressziós dinamikája szintén követte a tömegspektrometriai vizsgálatból származó kvantitatív eredményeket.

A CNTFR és a PODXL cellularis lokalizációjának meghatározásához immuncitokémiai jelölést végeztünk, melyről konfokális mikroszkóp segítségével felvételeket készítettünk. A CNTFR fluoreszcens jele a differenciálódás kezdeti szakaszában homogén módon szemcsés eloszlást mutatott, és jelen van mind a citoplazmában, mind a sejtmagban. A 6. naptól kezdődően a jel fokozatosan a PM-hez közeli régiókban lokalizálódik, mely tendencia a 15. napon is megfigyelhető. A PODXL ezzel szemben már az 1. naptól kezdve lokális eloszlást mutat. A fluoreszcens jel intenzitása a chondrogenesis előrehaladtával folyamatosan csökken, a 15. napon pedig csak nagyon alacsony szinten detektálható. Érdekes megfigyelés, hogy a PODXL elsősorban a sejtnyúlványok vezető éléhez közel koncentrált, ami potenciális

szerepére utalhat a sejtmorfológia és a migráció szabályozásában, különösen a porcfejlődés korai szakaszában.

4.7. A clusterin interakciós partnereinek és az OA-ban megváltozott expressziójának bemutatása

4.7.1. A STRING adatbázisból származó, CytoScape programmal létrehozott CLU interakciós hálózatának ismertetése

A STRING adatbázis alapján a CLU fehérjének jelenleg 25 interakciós partnerét ismerjük. A CLU hálózatának legfontosabb elemei között szerepeltek intracelluláris chaperonok (HSPA5, HSP90B1), valamint aggregátumképző fehérjék (APP, SNCA, PRNP), amely találatok a CLU és a neurodegeneratív betegségek közötti többszintű kapcsolatot figyelembe véve nem meglepő.

A CLU hálózatban kölcsönható komponensek bővebb azonosítása céljából a CytoScape beépített PubMed-alapú szövegelemző (*text-mining*) funkcióját alkalmaztuk a korábbi *connectome* kiterjesztésére. Ezt követően meghatároztuk a CLU OA-val összefüggő interakciós hálózatát is, melyhez szintén a CytoScape PubMed-alapú szövegelemző modulját használtuk fel a „clusterin” és „osteoarthritis” kulcsszavak segítségével. A keresés mindössze 13 kölcsönható entitást eredményezett, melyek közül öt molekula elsődleges, direkt kapcsolatnak bizonyult (AFM, APOA4, HPX, CLU, C7), míg további hét fehérje másodlagos, indirekt kapcsolattal rendelkezett (PRG4, MMP3, ORM2, PROC, IGLL5, IGFALS, SERPINA4).

4.7.2. Az IPA tudásbázis segítségével létrehozott CLU interakciós hálózat ismertetése

Az IPA adatbázisból kiválogattuk azt a 26 molekulákat, amelyek expresszióját a hálózatelemzés során felhasznált szakirodalmi adatok alapján a CLU pozitívan vagy negatívan szabályozza. A CLU gátolja 12 fehérje, köztük a hiszton H3, BAX, ATP7B, SREBF1, Ciap, IL-6, prosztaglandin E2, koleszterin-észter, CDKN1A, CXCL8, CDH1, valamint a ATP7A expresszióját, azonban serkenti 14 protein, köztük a BCL2L1, NFKBIB, MMP2, NFKBIA, RAD17, APP, SMAD3, AKT1, SMAD2, HSPA5, TP53, TNF, BCL2, továbbá az MMP9 kifejeződését.

Az előző alfejezetben tárgyalt STRING adatbázisból nyert interakciós partnerekkel összehasonlítva, mindkét vizsgálat kimutatta a BAX, ATP7B, BCL2L1, APP, valamint a HSPA5 kapcsolatot a CLU-nel.

4.7.3. CLU hálózatképzés molekuláris aktivitáson alapuló predikció segítségével az OA kontextusában

Az IPA tudásbázison alapuló, molekuláris aktivitást felhasználó predikciós elemzés öt kulcsfontosságú szabályozó jelátviteli útvonalat azonosított, amelyek a CLU szempontjából relevánsak lehetnek az OA patológiájában: a proinflammatorikus IL-6 citokin, a stresszválaszokat szabályozó TNF- α , az ECM összetételét befolyásoló matrix metalloproteinázok (MMP2, MMP9), a sejtciklust gátló CDKN2A, valamint a TGF- β jelátvitelben szereplő SMAD2/3 útvonalakat.

5. FŐBB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A doktori értekezésemben részletezett kísérletek egyik célja az volt, hogy feltérképezsem a porcsejtek felszínén található fehérjék (*surfaceome*) dinamikusan változó minőségi és mennyiségi összetételét az *in vitro* chondrogenesis során. A másik cél pedig az volt, hogy megvizsgáljuk a CLU fehérje és annak interakciós partnereiből képzett hálózatot, hogy ezek a kölcsönhatások miként befolyásolják az ízületi betegségek pathomechanizmusát. A disszertációban bemutatott legfontosabb új eredményeket az alábbiakban foglalom össze:

A chondrogenikus surfaceome izolálással kapcsolatos új megállapítások:

- Az általunk alkalmazott AOB alapú sejtfelszíni fehérjedúsítási módszer alkalmazása lehetővé tette 205-238, alacsony mértékben kifejeződő fehérje azonosítását, amelyek teljes sejtizátumból végzett proteomikai analízissel nem voltak detektálhatók.
- Az időben konstans csökkenő expressziót mutató surfaceome fehérjék közül az ephrin receptorcsalád több tagját is sikerült kimutatnunk (EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA7, EPHB1, EPHB2, EPHB3), ami arra utal, hogy az ephrin jelátvitel nemcsak a korai embryonalis fejlődésben, hanem a porcfejlődés során is jelentős szabályozó szerepet tölthet be.
- A CNTFR és PODXL fehérjék csökkenő expresszióját és plazmamembrán közeli lokalizációját sikerült igazolni, mely proteineket eddig nem hoztak összefüggésbe a porcfejlődéssel. E két fehérje potenciális porcössejt-

markerként hasznosítható lehet a porcshövet-tervezést alkalmazó terápiás stratégiák fejlesztésében.

A clusterin fehérjével kapcsolatos új megállapítások:

- A STRING adatbázis elemzése alapján új összefüggések derültek ki a CLU szelén metabolizmusban betöltött szerepe, valamint a CLU-plexin-semaphorin jelátviteli tengely kapcsán, melyek új kutatási irányt kínálnak az OA pathomechanizmusának mélyebb megértéséhez.
- A molekuláris aktivitáson alapuló IPA hálózatelemzés 5 olyan, CLU által szabályozott útvonalat azonosított, melyeket már korábban is összefüggésbe hoztak az OA progressziójával. Ez a felismerés még tovább erősíti a CLU biomarkerként történő felhasználását az ízületi porcot érintő gyulladásos kórállapotokban.

6. PUBLIKÁCIÓS LISTA



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/104/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kovács Patrik
Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10080142

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kovács, P.**, Brázda, P., Hajdú, T., Harsányi, B., Juhász, K. Z., Takács, R. Á., Vágó, J., Wang, Z., Coveney, C., Boocock, D. J., Matta, C.: Podocalyxin and ciliary neurotrophic factor receptor are novel components of the surfaceome of chondrogenic cells.
Cell Commun. Signal. 24 (8), 1-20, 2026.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12964-025-02552-x>
IF: 8.9 (2024)
2. **Kovács, P.**, Pushparaj, P. N., Takács, R. Á., Mobasher, A., Matta, C.: The clusterin connectome: Emerging players in chondrocyte biology and putative exploratory biomarkers of osteoarthritis.
Front. Immunol. 14, 1-21, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2023.1103097>
IF: 5.7

További közlemények

3. **Kovács, P.**, Vágó, J., Mobasher, A., Jenei-Lanzl, Z., Zaucke, F., Madry, H., Csernoch, L., Szekaneecz, Z., Szondy, Z., Szőr, Á., Szatmári, I., Oláh, T., Matta, C.: Emerging Concepts in Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases: insights from the University of Debrecen Musculoskeletal Symposium 2025.
Osteoarthr. Cartil. Open. 8 (1), 1-8, 2026.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ocarto.2025.100728>
IF: 2.8 (2024)
4. **Kovács, P.**, Wang, Z., Hajdú, T., Juhász, K. Z., Katona, É., Takács, R. Á., Vágó, J., Zakány, R., Pólska, S., Szentesi, P., Csernoch, L., Matta, C.: Microgravity-induced transcriptional reprogramming in embryonic chicken limb bud-derived chondrogenic cultures.
Front. Cell. Dev. Biol. 14, 1-16, 2026.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2026.1746313>
IF: 4.3 (2024)





5. **Kovács, P.**, Boockock, D. J., Coveney, C., Mobasher, A., Matta, C.: Aminooxy Biotin-Based Characterization of the Surfaceome of Chondrogenic Cells.
In: *The Surfaceome: Methods and Protocols* / Csaba Matta, Ali Mobasher, Roland Takács, Humana Press Inc, New York, 65-79, 2025, (Methods and Protocols)
6. Hajdú, T., **Kovács, P.**, Katona, É., Nguyen, M. N., Vágó, J., Fillér, C., Zákány, R., Emri, G., Tóth, G., Reglődi, D., Juhász, T.: Exploring the Link Between PACAP Signalling and Hyaluronic Acid Production in Melanoma Progression.
Int. J. Mol. Sci. 26 (24), 1-25, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms262412049>
IF: 4.9 (2024)
7. Juhász, K. Z., Hajdú, T., **Kovács, P.**, Vágó, J., Matta, C., Takács, R. Á.: Hypoxic Conditions Modulate Chondrogenesis through the Circadian Clock: the Role of Hypoxia-Inducible Factor-1 α .
Cells. 13 (6), 1-17, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells13060512>
IF: 5.2
8. Takács, R. Á., **Kovács, P.**, Ebeid, R. A., Almássy, J., Fodor, J., Ducza, L., Barrett-Jolley, R., Lewis, R., Matta, C.: Ca²⁺-Activated K⁺ Channels in Progenitor Cells of Musculoskeletal Tissues: A Narrative Review.
Int. J. Mol. Sci. 24 (7), 6796, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24076796>
IF: 4.9
9. Vágó, J., Takács, R. Á., **Kovács, P.**, Hajdú, T., Veen, D. v. d., Matta, C.: Combining biomechanical stimulation and chronobiology: a novel approach for augmented chondrogenesis?
Front. Bioeng. Biotechnol. 11, 1-7, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fbioe.2023.1232465>
IF: 4.3
10. Takács, R. Á., Vágó, J., Pólska, S., Pushparaj, P. N., Ducza, L., **Kovács, P.**, Jin, E. J., Barrett-Jolley, R., Zákány, R., Matta, C.: The temporal transcriptomic signature of cartilage formation.
Nucleic Acids Res. 51 (8), 3590-3617, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkad210>
IF: 16.6
11. Vágó, J., Katona, É., Takács, R. Á., Dócs, K., Hajdú, T., **Kovács, P.**, Zákány, R., Veen, D. v. d., Matta, C.: Cyclic uniaxial mechanical load enhances chondrogenesis through entraining the molecular circadian clock.
J. Pineal Res. 73 (4), e12827, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jpi.12827>
IF: 10.3





12. Hajdú, T., **Kovács, P.**, Zsigrai, E., Takács, R. Á., Vágó, J., Cho, S., Sasi Szabó, L. A., Becskey, D., Keller-Pintér, A., Emri, G., Rácz, K., Reglödi, D., Zákány, R., Juhász, T.: Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide Has Inhibitory Effects on Melanoma Cell Proliferation and Migration In Vitro.
Front Oncol. 11, 681603, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2021.681603>
IF: 5.738

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 73,638

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 14,6

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2026.03.09.



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Először is szeretném kifejezni a hálámat témavezetőmnek, Dr. Matta Csabának, amiért 2020-ban lehetőséget biztosított számomra, hogy csatlakozzak a Chondro-omikai Laboratóriumhoz, majd 2021-ben támogatta doktori tanulmányaim megkezdését. TDK-hallgatói éveimtől kezdve folyamatosan segítette szakmai fejlődésemet széleskörű tudományos ismereteivel, következetes iránymutatásával és inspiráló szemléletével. Laborvezetőként számos pályázat elkészítésében is példát mutatott, miközben meghatározó szerepet játszott tudományos gondolkodásom és professzionális személyiségem formálásában.

Hasonló mértékű hálával tartozom Dr. Hajdú Tibornak, aki 2016-ban, másodéves orvostanhallgatóként hívott meg a Jelátviteli Kutatólaboratóriumba, és bevezetett a kísérletes munka metodikai alapjaiba, formálta a kutatói szemléletmódot, valamint felkészített az öt TDK-előadásomra és az egyetemi pályamunkám megírására. Azóta is mentorként támogat, és az évek során kapott útmutatásai fontos szerepet játszottak mind a szakmai, mind az egyéni fejlődésemben.

Köszönetemet fejezem ki a Chondro-omikai Laboratórium további munkatársainak, elsősorban jókedvű „padtársamnak”, Dr. Vágó Juditnak (Jucinak), továbbá Dr. Takács Rolandnak (Rolinak), Juhász Krisztiánnak (Krisznek), Dr. Ngoc Nguyen-nek (Pearl-nek) és Dr. Zhangzheng Wang-nak, akik nemcsak a kísérletek során nyújtottak jelentős segítséget, hanem a mindennapokhoz is támogató, barátságos és inspiráló légkört teremtettek.

Hálás vagyok továbbá Dr. Juhász Tamásnak, Dr. Szegeczki Vincének, Katona Évának, Dr. Zákány Rózának, Szűcs Csillának és Fillér Csabának az évek során nyújtott szakmai segítségükért, türelmükért és

támogatásukért. Különösen nagyra értékelem, hogy ebben az motiváló és kifejezetten családi közösségben dolgozhattam.

Megkülönböztetett köszönettel tartozom Biróné Barna Krisztinának, akinek precíz, megbízható asszisztensi munkája és rendkívüli elkötelezettsége nélkül a disszertációmban bemutatott eredmények nem jöhettek volna létre.

Szeretném megköszönni kollaborációs partnereinknek, Dr. David J. Boocock-nak és Dr. Clare Coveney-nek, hogy elvégezték mintáink tömegspektrometriai analízisét. Köszönettel tartozom továbbá Dr. Brázda Péternek, aki magas szintű bioinformatikai szakértelmével hozzájárult a disszertációban bemutatott eredmények vizualizációjához.

Köszönöm az Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet igazgatójának, Dr. Szücs Péternek, hogy lehetőséget biztosított számomra az Intézetben végzett kutatómunkára, valamint köszönöm az Anatómiai Intézet valamennyi munkatársának az elmúlt évek közös munkáját.

Végül, de nem utolsósorban, a legmélyebb hálával tartozom Szüleimnek, Öcsémnek, Keresztszüleimnek és a teljes Családomnak, akik mindvégig feltétlen támogatásukról biztosítottak, türelemmel és szeretettel kísérték végig tanulmányaimat, majd munkámat, és minden élethelyzetben biztos háttérrel jelentettek számomra.

A disszertációban elvégzett kísérletes munkákhoz a következő pályázatok által biztosított források járultak hozzá: az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja, az NKFIH Fiatal Kutatói Kiválósági Programja (FK-134304), a Kulturális és Innovációs Minisztérium Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programja (EKÖP-24-4-II-DE-58, EKÖP-24-3-I-DE-290, EKÖP-24-3-II-DE-1), valamint a Gróf Tisza István Debreceni Egyetemért Alapítvány Kiválósági PhD Ösztöndíja.