

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Candidiasis és Epstein-Barr fertőzés molekuláris
patológiája primer immundeficienciában**

Soltész Beáta

Témavezető: Prof. Dr. Maródi László



DEBRECENI EGYETEM

**PETRÁNYI GYULA KLINIKAI IMMUNOLÓGIAI ÉS ALLERGOLÓGIAI
DOKTORI ISKOLA**

Debrecen, 2017

Candidiasis és Epstein-Barr fertőzés molekuláris patológiája primer immundeficienciában

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében a
klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Soltész Beáta, okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem Petrányi Gyula Klinikai
Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskolája keretében

Témavezető: Prof. Dr. Maródi László, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Zeher Margit, az MTA doktora
tagok: Dr. Garami Miklós, PhD
Dr. Majoros László, PhD

A doktori szigorlat időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék
2017. április 18. 11:00 óra

Az értekezés bírálói: Prof. Dr. Deák Judit, PhD
Dr. Kónya József, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Zeher Margit, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Deák Judit, PhD
Dr. Garami Miklós, PhD
Dr. Kónya József, PhD
Dr. Majoros László, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet, „A” épület tanterme
2017. április 18. 13:00 óra

1 ÁLTALÁNOS BEVEZETÉS

A szervezetünkbe jutott kórokozókkal (baktériumokkal, vírusokkal, gombákkal, parazitákkal) szembeni védelmet az immunrendszerünk biztosítja. A vírusok vagy gomba bejutását követően, a mintázat felismerő receptorokhoz (PRR; pattern recognition receptor) bekötődnek a patogének, ezt követően aktiválódnak a veleszületett immunrendszer sejtjei, segítségével az adaptív immunrendszer sejtjei végrehajtó sejtekké alakulnak és eliminálják a vírusokat és gombákat (Mogensen, 2009; Swain, 2012).

Ha a szervezetünkben valamilyen hiba következtében a naív CD4+ sejtek differenciációja különböző effektor T sejtekké elmarad, akkor a szervezet ellenállása a vírusokkal és parazitákkal szemben lecsökken vagy teljesen elmarad, és különböző betegségek kialakulásához vezethet. Öröklötten vagy szerzetten már újszülöttkorban és gyermekkorban megjelenhet. Ha a szervezetünkben valamilyen génhiba következtében az IL-17-mediált immunitás károsodik, akkor candidiasis alakul ki (Puel, 2010; 2011; 2012).

Megfelelő citokin jelenlétében (IL-2) kialakulnak a citotoxikus CD8+ T sejtek és a fertőzött területekre vándorolnak, ahol a vírusfertőzött sejteket elpusztítják (Swain, 2012). EBV hatására EBV specifikus természetes ölő sejtek (NK; natural killer), CD4+ és CD8+ T sejtek meggátolják fertőzött limfociták osztódását. X kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegségben szenvedő betegek esetében EBV fertőzést követően a természetes ölő sejtek (NK) nem képesek eltávolítani a kontrollálatlan osztódásnak indult B sejteket. Az IgG izotípus váltás is zavart szenved, így nem alakul ki a humorális immunválasz az EBV-vel szemben és a citotoxikus CD8+T sejtek is elvesztik a funkciójukat (Seemayer, 1995; Maródi és Notarangelo, 2007).

A kutatómunkám során tágabb értelemben a T sejt defektusok közé tartozó két elsődleges immunhiány betegség, a *STAT1* funkciónyerő (GOF; gain of function) mutációnak köszönhetően kialakult krónikus mucocutan candidiasis (CMC; chronic mucocutaneous candidiasis) és az X-hez kötött lymphoproliferatív betegség (XLP; X-linked lymphoproliferative syndrome) háttérében álló genetikai eltérések és molekuláris pathomechanizmusok vizsgálatát tűztem ki célul.

A krónikus mucocutan candidiasis (CMC) heterogén genetikai háttérrel rendelkezik, viszont fenotípusában egymással összekapcsolódó kórképként jelenik meg, amelyre jellemző

a bőr, a nyálkahártyák és a körmök perzisztáló és visszatérő gombás fertőzése különböző *Candida* fajokkal, főként *Candida albicans*-szal (Maródi, 1997; Puel, 2012; Soltész, 2013).

A CMC olykor az egyetlen fenotípusos megjelenés izolált krónikus mucocutan candidiasis (CMCD) esetében, ebbe a csoportba tartozik a *STAT1* GOF mutációk is (Puel 2012). A *Candida* fertőzésekkel szembeni érzékenység háttérében a lecsökkent IL-17-mediált immunitás állhat (Maródi, 2012; Puel, 2012; Cypowj, 2012). Az IL-17+ T sejtek differenciációjára ható citokinek jelátviteli útvonalában fontos szerepe van a *STAT1* molekulának, az IFN- α/β , IFN- γ és az IL-27 citokinek a *STAT1* függő szignalizációs útvonalon keresztül gátolják a naiv T-limfociták IL-17+ T sejtekké történőérését, és az IL-17+ T sejtek és az általuk termelt citokineknek fontos szerepük van a gomba elleni immunitásban (Maródi, 2012; Maródi, 2013; Liu 2011; Soltész, 2013).

X-kromoszómához kötött öröklődő elsődleges immunhiányos betegség során az EBV fertőzés súlyos, gyakran halálos kimenetelű infektív mononucleosissal (FIM) jár vagy másodlagosan haemophagocytás lymphohistiocytosis (HLH) alakul ki. XLP1 betegségben szenvedő betegek 75%-a meghal 10 éves koruk előtt, alig 4% volt a túlélés esélye, ezért nagyon fontos, hogy a betegséget időben ismerjük fel (Seemayer, 1995). Az XLP1 kialakulásáért a SAP fehérjét kódoló *SH2D1A* gén mutációja felelős, a gén promoterében és intronjában elhelyezkedő mutációk is kialakíthatnak XLP betegséget (Recher, 2013). A SAP olyan citokinek termelését irányítja a CD4+ T sejtekben, amelyek szükségesek az EBV-fertőzött sejtek CD8+ T- illetve NK-sejtes citotoxikus eltávolításához (Latour, 2003).

2 CÉLKITŰZÉSEK

1. A krónikus mucocutan candidiasisban (CMC) szenvedő betegek és családtagjaik molekuláris genetikai vizsgálata.
2. Új, mutációs adatbázisokban nem szereplő *STAT1* szekvencia variánsok patogenitásának igazolása.
Az új mutációk STAT1 protein funkciójára gyakorolt hatásának vizsgálata.
3. A krónikus mucocutan candidiasisban szenvedő betegek CD4+IL-17+ és CD4+IL-22+ T sejtek arányának vizsgálata.
4. A CMC betegek *Candida* ellenes citokin válaszainak tanulmányozása.
5. Az X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív (XLP) betegségben szenvedő betegek és családtagjaik molekuláris genetikai vizsgálata.
6. A *SH2D1A* gén intronikus szakaszában azonosított új mutáció patogenitásának igazolása XLP1-ben szenvedő betegnél.

3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Etikai Bizottsága (Debreceni Egyetem Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága) által meghatározott követelményeknek megfelelően a vizsgálatok megkezdése előtt megtörtént a vizsgálandó személyek és/vagy törvényes képviselőjük tájékoztatása és a beleegyező nyilatkozatok aláírása. A közép- és kelet-európai országok illetékes hatóságai engedélyt adtak a genetikai és klinikai kutatásokhoz.

3.1 Betegek

Krónikus mucocutan candidiasisban szenvedő betegek

Kilenc CMC-ben szenvedő beteg (P1-P9) esetében végeztük el a *STAT1* gén mutáció analízisét. A betegek klinikai tünetei és immunológiai eredményei a krónikus mucocutan candidiasis diagnózisát vetették fel. A betegek a következő országokból érkeztek: három beteg Csehországból, kettő Magyarországról, kettő Oroszországból és kettő beteg Ukrajnából.

X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegségben szenvedő betegek

Kettő magyarországi testvérpár esetében vizsgáltuk a *SH2D1A* gént. A betegek immunológiai eredményei és klinikai tünetei alapján a X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegség diagnózisára következtettünk.

Az egészséges kontrollok tünetmentes személyek voltak.

3.2 Laboratóriumi vizsgálatok

A vérvétel aszeptikus körülmények között történt. A klinikai kémiai és immunológiai paraméterek meghatározását rutin laboratóriumi tesztekkel a vérvétel napján végezték el.

3.3 DNS izolálás

Etilén-diamin-tetraacetáttal (EDTA) alvadásgátolt perifériás vérmintából genomiális DNS-t (gDNS) izoláltunk Gen ELUTE Blood Genomic DNA mini kit (Sigma-Aldrich Ltd., St. Louis, Missouri, USA) segítségével a gyártó utasításainak megfelelően.

3.4 Amplifikációs polimeráz láncreakció (PCR) és agaróz gélelektroforézis

A *STAT1* és az *SH2D1A* gének proteint kódoló szakaszának és az exon-intron határok vizsgálatát végeztük el bidirekcionális DNS szekvenálással. Polimeráz láncreakcióval (PCR) specifikus intronikus primer párok használatával felsokszoroztuk a vizsgálni kívánt DNS szakaszokat.

3.5 Szekvenálási PCR

A szekvenálási PCR folyamán a már felsokszorosított kétszálú DNS fragmentumokhoz csak a primer pár egyik tagját adjuk, így a reakció során egyszálú DNS szakaszt sokszorozunk fel. A célzott szekvenálás ABI 3130 DNS automata szekvenáló készülék (Applied Biosystems) segítségével történt.

3.6 Szekvenálási adatok (szekvenogrammmok) kiértékelése

Az eredmények kiértékeléséhez a GenBank adatbázisát használtuk (*STAT1*: Ensembl ENSG00000115415; *SH2D1A*: Ensembl ENSG00000183918). A cDNS iniciációs kodonjának (ATG) adeninje felel meg az első nukleotidnak a sorrend számításakor. A mutációk leírásához den Dunnen and Antonarakis 2001-ben megjelent tudományos közleményüket vettük alapul. Az azonosított mutációkat a Human Gene Mutation Database Professional (HGMD) mutációs adatbázisban található mutációkkal hasonlítottuk össze.

3.7 cDNS vizsgálata és real-time PCR

A teljes RNS-t PBMC sejtekből Trizol reagenst (Invitrogen Life Technology, Carlsbad, California, USA), kloroformos extrakciót és etanolos kicsapást alkalmazva izoláltuk. A reverz transzkriptáz reakcióhoz (RT-PCR) Superscript III first-strand synthesis supermixet (Invitrogen) és random hexamert használtunk. A kvantitatív real-time PCR-t TaqMan assay (Hs00158978_m1; Applied Biosystems) segítségével végeztük.

3.8 Perifériális vér mononukleáris sejtek izolálása

A betegek és egészséges kontrollok heparinal alvadásgátolt perifériális vérmintájából sűrűség grádiens centrifugálással (Ficoll-Paque PLUS, GE Healthcare) mononukleáris sejteket (PBMC; peripheral mononuclear cells) izoláltunk.

3.9 B sejtek immortalizálása Epstein-Barr vírussal

A PBMC sejteket RPMI-ben (kiegészítve FBS-sel és cyclosporin A-val (CyA; Sigma-Aldrich)) szuszpendáltuk fel és hozzáadtunk EBV szuszpenziót, majd 37°C-on, 5% CO₂-t tartalmazó termosztátban tenyésztettük 3 hétig.

3.10 *Candida* szuszpenzió készítése és PBMC sejtek stimulálása *Candida* szuszpenzióval

Candida albicans-t (ATCC 10231) Sabouraud dextróz agaron tartottuk, majd Dulbecco's modified Eagle's Medium (DMEM) –ba oltottuk át, ami penicillint és streptomycint tartalmazott. A gomba sejtek hőinaktiválását követően a *Candida* sejt szuszpenzió sűrűségét McFarland densitóméterrel állítottuk be.

A PBMC-t Krebs-Ringer foszfát pufferrel törtnő mosást követően DMEM médiumban szuszpendáltuk fel a sejteket, ezt követően *Candida* gombaszuszpenziót adtunk hozzá, inkubálás után a felülúszót összegyűjtöttük.

3.11 Termelődött citokinek koncentrációjának meghatározása enzim-kötött immunszorbens vizsgálat (ELISA) segítségével

IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-17A és IL-22 citokinek koncentrációját *Candida*-stimulált PBMC sejtek felülúszójából határoztuk meg szendvics enzim-kötött immunszorbens vizsgálat (Quantikine, R&D Systems, Minnesota, USA) segítségével.

3.12 Luciferáz teszt

U3C (STAT1-hiányos fibrosarcoma sejt vonal) sejteket riporter plazmiddal (Cignal GAS Reporter Assay kit, SA Biosciences) és a normál valamint a mutációt hordozó *STAT1* gént tartalmazó plazmidokkal (c.537C>A, c.821G>A és c.854A>G *STAT1* allélok) transzfektáltuk Lipofectamine LTX (Invitrogen) jelenlétében. A transzfektált sejteket IFN- γ -val stimuláltuk és luciferáz tesztet végeztünk a Dual-Glo Luciferase Assay System (Promega, Madison, Wisconsin, USA) segítségével. A vizsgálat kollaboráció keretében történt Prof. Dr. Jean-Laurent Casanova laboratóriumában.

3.13 IP-10 termelés vizsgálata ELISA módszerrel

Az EBV-transzformált sejteket IFN- γ -val stimuláltuk, majd a felülúszóból meghatároztuk a termelődött IP-10 mennyiségét ELISA módszerrel (Quantikine, R&D Systems).

3.14 IL-17+ T sejtek differenciálata

Betegek és egészséges kontrollok perifériás mononukleáris sejtjeit RPMI médiumban (10% FBS és 1% Pen-Strep) szuszpendáltuk, a nem-adherens limfocitákat anti-CD3 antitesttel (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) aktiváltuk és különböző citokineket tartalmazó koktéllal kezeltük. A differenciálatast követően a sejtet phorbol 12-mirisztát 13-acetáttal (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA; Sigma-Aldrich) és ionomicin-nel (ionomycin, IMC; Sigma-Aldrich) kezeltük Golgi stop (Sigma-Aldrich) jelenlétében.

3.15 STAT1 fehérje vizsgálata Western blot módszerrel

Az EBV-transzformált B sejtet IFN- γ , IFN- α vagy IL-27 citokinekkel stimuláltuk és a Subcellular Protein Fractionation kit for Cultured Cells (Thermo Scientific, Rockford, Illinois, USA) segítségével sejtmagi fehérjét vontunk ki a gyártó utasításainak megfelelően. A vizsgálataink következő részében a sejtet IFN- γ -val, majd staurosporinnal (Sigma-Aldrich) valamint foszfataz gátló, pervanadáttal (Sigma-Aldrich) kezeltük az EBV-B sejtet, majd inkubáltuk IFN- γ -val és fent említett kit segítségével sejtmagi fehérjét izoláltunk. Elsődleges antitestként STAT1 nyúl IgG antitestet (Santa-Cruz), foszforilált human STAT1 (pY701) egér IgG₁ antitestet (BD Biosciences), Lamin B1 egér IgG₁ antitestet (Santa-Cruz) használtunk, majd tormaperoxidáz-konjugált kecske anti-nyúl IgG másodlagos antitestet (Sigma-Aldrich) vagy tormaperoxidáz-konjugált bárány anti-egér IgG másodlagos antitestet (Sigma-Aldrich) adtuk a reakcióhoz.

3.16 SAP fehérje vizsgálata Western blot módszerrel

Western blot módszerrel vizsgáltuk a SAP fehérje jelenlétét. Mononukleáris sejtet teljes RPMI médiumban inkubáltuk phytohaemagglutinin (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) jelenlétében vagy hiányában. Indirekt jelölést használtunk a SAP fehérje kimutatásához. Elsődleges antitestként SAP-specifikus nyúl szérumot, másodlagos antitestnek tormaperoxidáz-konjugált szamár anti-nyúl IgG másodlagos antitestet (GE Healthcare, Little Chalfont, United Kingdom) használtunk. Kemilumineszcenciás (Thermo Science, Rockford, IL, USA) módszert alkalmaztunk a detektáláshoz. Aktin kontroll mellett végeztük a kísérletet (aktinra specifikus nyúl poliklonális antitest; Sigma-Aldrich). A vizsgálat Dr. Lányi Árpád laboratóriumában, kollaborációs vizsgálat keretében történt.

3.17 IL-17+ T sejtek meghatározása áramlási citometria segítségével

A sejtfelszíni jelöléshez a már differenciáltatott IL-17+ T sejteket allophycocianin (APC)-konjugált egér anti-hCD4 IgG₁ monoklonális antitesttel (mAb) (BD, San Jose, California, USA) vagy fluoreszcein izotiocianát (FITC)-konjugált egér anti-CD3 IgG₁ antitesttel (BD) inkubáltuk. Intracelluláris jelöléshez a sejteket phycoerythrin (PE)-konjugált egér anti-human IL-17A IgG₁ antitest (R&D Systems, Minneapolis, Minneapolis, USA) és fluoreszcein izotiocianát-konjugált anti-human IL-22 IgG₁ monoklonális antitest (R&D Systems) jelenlétében inkubáltuk. Accuri C6 áramlási citométerrel mértük meg a sejtarányokat (BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

3.18 SAP protein expressziójának vizsgálata áramlási citometriával

Sejtfelszíni jelölésként peridinin-chlorophyll fehérje-konjugált egér anti-CD3 (Beckton Dickinson, San Jose, CA, USA), phycoerythrin-konjugált egér anti-CD8 (Sigma-Aldrich) és allophycocyanin-konjugált egér anti-CD56 (Beckton Dickinson) antitesteket használtunk. Fixálás után a sejteket patkány IgG₁ isotípus kontrollal (Beckton Dickinson) vagy patkány anti-SH2D1A nem-konjugált monoklonális antitesttel (klón: KST-3) inkubáltuk. FACS Calibur áramlási citométert használtunk a méréshez (BD Biosciences, San Jose, CA, USA). A vizsgálatok a DE KK III. Belgyógyászati Intézet Immunológiai Laboratóriumával kollaborációban történtek.

3.19 Foszforilált-STAT1 vizsgálata áramlási citometriával

EBV-transzformált limfocita sejteket IFN- γ -val inkubáltuk. A sejteket staurosporin-nal (Sigma-Aldrich) kezeltük. Az elsődleges antitest anti-pSTAT1 (pY701, Beckton Dickinson) volt, majd másodlagos antitestként Alexa Fluor 488 konjugált anti-egér IgG (Cell Signaling) használtunk. Accuri C6 áramlási citométerrel mértük meg a pSTAT1 expresszióját.

4 EREDMÉNYEK

4.1 IL-17-mediált immunitás és krónikus mucocutan candidiasis

4.1.1 A *STAT1* gén molekuláris genetikai vizsgálata

A CMC klinikai tüneteit mutató betegekben meghatároztuk a *STAT1* gén fehérjét kódoló szakaszának és az exon-intron határok nukleotid sorrendjét automata DNS szekvenálással. A kilenc betegben aminosav cserével járó pont mutációkat azonosítottunk heterozigóta formában. A mutációk a kettős csavart domént (CCD) és a DNS-kötő domént (DBD) érintették.

A kilenc beteg közül hét esetben korábban már leírt mutációkat azonosítottunk és kettő esetben (P1, P7) új mutációkat találtunk. A P4, P5 betegek (Tóth, 2012) és P9 beteg (Liu, 2011) esetében az eredmények korábban már közlésre kerültek. A P1 betegben azonosított heterozigóta citozin-adenin csere a STAT1 protein 179-es aminosav pozíciójában aszparagin-lizin cserét eredményez a kettős tekercs doménen belül. A P7 beteg esetében szintén új mutációt azonosítottunk, az adenin-guanin csere következtében megváltozik a bázisriplet és glutamin helyett arginin kódolódik a protein 285 aminosav pozíciójában, ami a kettős csavart domént érinti.

A P2 beteg a P3 beteg édesanyja, a P4 és P5 betegek szintén családtagok, a P5 lánygyermek édesanyja a P4 beteg, az ő esetükben, irodalomban szereplő, ismert mutációt azonosítottunk. A P6, P8 és P9 betegeknél is ismert STAT1 szekvencia variánsokat detektáltunk.

4.1.2 Új, mutációs adatbázisban nem szereplő *STAT1* szekvencia variánsok patogenitásának az igazolása

Az általunk azonosított 2 új *STAT1* genetikai eltérés (N179K, Q285R) patogenitásának igazolása vált szükségessé. Első lépésként megnéztük, hogy a két mutáció szerepel-e adatbázisokban, mint az egészséges populációban jelenlévő polimorfizmus. Az NCBI SNP és az ExAc (Exome Aggregation Consortium) adatbázis egyikében sem szerepelt a N179K és Q285R mutáció a polimorfizmusok között (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>, <http://exac.broadinstitute.org/gene/ENSG00000115415>). Az *in silico* teszthez a Polyphen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) predikciós szoftvert használtuk (Adzhubei, 2010). A PolyPhen-2 szoftver a N179K és Q285R aminosav cseréket „jóindulatú” eltérésként

prediktálta, illetve a N179 és Q285 aminosav pozíciókban magas fokú konzerváltságot láttunk.

4.1.3 Az N179K és Q285R mutációk STAT1 protein funkciójára gyakorolt hatásának vizsgálata (Luciferáz teszt)

A STAT1 kettős tekercs doménjét érintő N179K és Q285R mutáns STAT1 fehérjék γ -aktivált faktor (GAF)-függő sejtválaszait luciferáz teszt segítségével vizsgáltuk. IFN- γ stimulust követően vizsgáltuk γ -aktivált faktor (GAF)-függő sejtválaszokat. A citokinre adott válaszokat a riporter gén luciferáz aktivitásának mérésével határoztuk meg. A két új mutáció (N179K és Q285R) és a pozitív kontrollként használt, korábban bizonyítottan CMCD-t okozó allél (R274Q) esetében kétszer-háromszor magasabb luciferáz aktivitást mértünk, a vad típusú és ismert MSMD-t okozó funkcióvesztő Y701C (Ives, 2013; Hirata, 2013) allélokhoz képest. A kapott eredmények mutatják, hogy az új mutációk funkcionyerő *STAT1* mutációk. A vizsgálatok kollaborációban Prof. Dr. Jean-Laurent Casanova professzor úr által vezetett laboratóriumban történtek.

4.1.4 IP-10 termelés vizsgálata CMCD betegekben

Az IP-10 termelés a P4 (R274W), P5 (R274W) és P8 (T385M) betegek EBV-transzformált limfocitái által sokkal magasabb volt, mint egészséges kontrollok esetében. A magas IP-10 termelés utal arra, hogy a mutációk funkcionyerő *STAT1* mutációk, ugyanis az IP-10 a STAT1 "downstream" célpontja. A magas IP-10 mennyiséget korábban Takezaki és munkatársai igazolták funkcionyerő *STAT1* mutáció esetén (Takezaki, 2012).

4.1.5 CMCD betegek STAT1 defoszforilációs és foszforilációs képességének vizsgálata Western blot módszerrel

Az EBV-transzformált limfocita vonalakat (P4 és P8) különböző citokinekkal (IFN- γ , IFN- α és IL-27, amik aktiválják a STAT1 molekulát; Liu, 2011) aktiváltuk és vizsgáltuk az expresszáldott STAT1 protein és a foszforilálódott STAT1 (pSTAT1) fehérje mennyiségét. A R274W és a T385M mutáció esetében nagyobb mennyiségben volt kimutatható a pSTAT1 fehérje a kontroll mintához képest a sejtmagi fehérje extraktumban, ami a funkcionyerő STAT1 foszforiláció domináns megnyilvánulására utal.

A staurosporin, mint tirozin-kináz inhibitor az egészséges kontroll sejtekben a pSTAT1 mennyiségét lecsökkentette viszont ez nem következett be a R274W és T385M

mutáns allélt hordozó betegek esetében, ugyanis a funkciónyerő mutációnak köszönhetően elveszthetik a defoszforilációs képességet.

Ezzel ellentétben a foszfatáz inhibitor, pervanadát hatására a T385M és R274W allélok STAT1 foszforilációja hasonló volt az egészséges kontrollhoz.

Az eredményeink alátámasztják a feltételezésünk, mely szerint a R274W és T385M STAT1 mutáns aminosav cserék a STAT1 hiperfoszforilációjához vezetnek, melynek a háttérben a defoszforiláció károsodása állhat.

4.1.6 Foszforilált-STAT1 vizsgálata áramlási citometriával

Magasabb IFN- γ indukált pSTAT1 intenzitást mértünk a CMCD betegeknél (R274W és T385M), mint egészséges kontroll esetén Accuri C6 áramlási citométerrel. Ahogy Western blot módszert alkalmazva már tapasztaltuk egészséges kontroll esetén a staurosporin hatására a pSTAT1 szintje lecsökkent, a betegeknél a pSTAT1 intenzitása alig változott staurosporin kezelés hatására. Feltételezésünk szerint a foszforiláció elhúzódik, tovább tart a betegeknél, tehát a defoszforiláció folyamatának károsodása állhat a háttérben.

4.1.7 *Candida*-stimulált mononukleáris sejtek citokin termelése

A T385M mutáns allélt hordozó beteg (P8) és a kontroll sejtek közel hasonló mennyiségben termeltek IFN- γ , IL-1 β és IL-6 citokineket, viszont az IL-17A és IL-22 citokinek mennyisége jelentősen kevesebb volt a P8 beteg esetén, mint a kontroll sejteken. A R274W (P4 és P5) allélt hordozó betegek esetén szintén nagyon alacsony mértékben detektáltunk IL-17A, IL-22 citokineket egészséges kontrollokhoz képest, habár az IFN- γ szekréció a P4 és P5 betegek esetében az egészséges kontrollnak megfelelő volt. Az eredményeink jól működő, normál „Th1-típusú” válaszokat mutattak, ugyanis az IL-6 és IL-1 β citokinek mennyisége hasonló volt, mint a kontroll sejtekben *Candida* stimulálást követően, viszont csökkent „Th17-típusú” válaszokat feltételeztünk P4, P5 és P8 betegek esetében köszönhetően a nagyon alacsony IL-17A és IL-22 citokin koncentrációnak.

4.1.8 A CMCD betegek CD4+IL-17+ és CD4+IL-22+ T sejtek arányának vizsgálata

A R274W és T385M mutáns allélokat hordozó betegek „IL-17-termelő” és „IL-22-termelő” T sejteinek aránya alacsonyabb volt egészséges kontrollokéhoz képest, amely összhangban áll az alacsonyabb IL-17A és IL-22 citokinek mennyiségével.

4.2 X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegség

4.2.1 Az *SH2D1A* gén molekuláris genetikai analízise

Az *SH2D1A* génen azonosítottunk egy új intronikus mutációt (c.137+5G>A) hemizigóta formában P10 beteg esetében teljes vérből izolált genomiális DNS-t használva. Ez a mutáció megtalálható volt heterozigóta formában az anyánál és az anyai nagymamánál. A P10 beteg édesapja vad típusú volt az azonosított mutációra nézve. A P11 beteg esetében prenatális genetikai vizsgálattal már magzati korban detektáltuk a mutációt hemizigóta formában. A P11 beteg édesapja nem volt elérhető genetikai vizsgálat céljából. Az *SH2D1A* cDNS amplitikonok agaróz gélelektroforézissel történő vizsgálatakor egy kisebb méretű sáv (352 bp) volt látható a P11 beteg esetében a kontrollhoz képest, az édesanyánál az egészséges kontrollnak megfelelő (374 bp) sávot láttunk. A cDNS szekvenálása, egy 22 bp-t érintő deléciót mutatott (116_137del22bp) a P11 beteg esetében, egészséges kontrollnál és az édesanyánál normál szekvenciát figyeltünk meg.

Nagy valószínűséggel a c.137+5G>A genetikai eltérés egy alternatív donor hasító helyet eredményez, aminek következtében megváltozik a cDNS szekvenciája és nem megfelelő fehérje expresszióhoz vezet.

Az *SH2D1A* relatív expresszióját kvantitatív real-time PCR módszerrel határoztuk meg, a vizsgálat során az *SH2D1A* csökkent expresszióját mértük az édesanyában, míg a P11 beteg esetében a teljes hiányát mutattuk ki.

4.2.2 A SAP fehérje expressziójának kimutatása Western blot módszerrel és áramlási citometriával

A beteg (P11) esetében a SAP fehérje teljes hiánya volt megfigyelhető, míg a heterozigóta édesanyánál egy vékonyabb fehérje sávot láttunk. A Western blot során aktin jelölést, mint háztartási fehérjét („housekeeping protein”) használtunk kontrollnak. A vizsgálat Dr. Lányi Árpád laboratóriumában, kollaborációs vizsgálat keretében történt.

Áramlási citometriával a beteg (P11) sejtjeiben elhanyagolható mennyiségben detektáltunk SAP fehérje expressziót az egészséges kontrollhoz viszonyítva a CD3+CD8+CD56- (CD8 sejtek), CD3-CD56+ (NK sejtek), CD3+CD56+ (CD56 T sejtek) sejteken belül. A vizsgálatok a DE KK III. Belgyógyászati Intézet Immunológiai Laboratóriumával kollaborációban történtek.

5 ÚJ EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Kilenc krónikus mucocutan candidiasis beteg esetében sikerült azonosítanunk a *STAT1* (jelátvivő és transzkripció aktiváló 1) génen bekövetkezett mutációkat, amelyek a betegség kialakulásáért tehető felelőssé.
2. Két új, mutációs adatbázisokban és irodalomban nem szerepelt *STAT1* szekvencia variánst azonosítottunk. A két új *STAT1* mutáció esetében igazoltuk, hogy a STAT1 protein fokozott működését eredményezi.
3. További két beteg esetében bizonyítottuk, hogy a *STAT1* génen bekövetkezett mutációk funkcionyerő foszforilációhoz és a defoszforiláció károsodásához vezethetnek.
4. A *STAT1* funkcionyerő mutáció az IL-17+ T és IL-22+ T helper sejtek kialakulásának és differenciálódásának károsodását eredményezi a krónikus mucocutan candidiasisban szenvedő betegeknél.
5. A *STAT1* mutációt hordozó betegekben alacsonyabb IL-17A és IL-22 citokin szekréciót tapasztaltunk, ami összefüggésben áll a gomba elleni immunválasz csökkenésével.
6. X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegségben szenvedő magyar testvérpár esetében új, intronban elhelyezkedő mutációt azonosítottunk a *SH2D1A* génen.
7. A c.137+5G > A nukleotid csere hasítási defektust okozva károsítja a SAP protein expresszióját. A SAP protein hiánya tehető felelőssé az X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegség kialakulásáért.

6 ÖSSZEFOGLALÁS

A celluláris (T sejt) immunválasz hiányára vagy csökkent működésére utalhatnak a gyakori és visszatérő intracelluláris patogén (pl. *Candida albicans*) vagy vírus (pl. Epstein-Barr vírus) fertőzések (Cooper, 2003). Az IL-17+ T sejt immunitás károsodik a *STAT1* funkciónyerő genetikai defektusának következtében, ezáltal a szervezet védekezőképessége lecsökken a gombafertőzésekkel szemben és kialakul a krónikus mucocutan candidiasis betegség (CMCD) (Puel, 2012). Az X-kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegségben (XLP) az Epstein-Barr vírusfertőzést követően a természetes ölő sejtek nem képesek a szervezetből eltávolítani a kontrollálatlan osztódásnak indult B sejteket és a CD8+ T és NK sejtek általi citotoxicitás sem alakul ki. Mind a CMCD, mind a XLP az elsődleges immunhiány betegségek közé sorolható (Maródi és Notarangelo, 2007).

Kutatómunkám során vizsgáltam a CMCD és az XLP molekuláris patológiai mechanizmusait. Mindkét esetben bidirekcionális DNS szekvenálással erősítettük meg a betegségek kialakulásáért felelős genetikai eltéréseket, sejt vizsgálatokkal és különböző molekuláris biológiai módszerekkel bizonyítottuk a mutációk patogenitását.

Kilenc beteg esetében azonosítottunk heterozigóta missense mutációkat a *STAT1* génen. Az azonosított mutációk közül egy esetben a mutáció a DNS-kötő domént (DBD) érinti, 8 betegnél olyan mutációkat azonosítottunk, ami a *STAT1* gén kettős tekercs doménjére (CCD) hat. A kilenc beteg közül kettő esetben új, mutációs adatbázisokban és irodalomban nem leírt mutációkat találtunk. Kettő beteg esetében PMA (phorbol 12-myristát 13-acetát) és IMC (ionomycin) kezelés után csökkent IL-17+ T sejteket (áramlási citometriával) és *Candida* stimulust követően elhanyagolható mennyiségű IL-17A és IL-22 szekréciót (ELISA-val) figyeltünk meg egészséges kontrollhoz képest. A differenciáltatott IL-17+ T sejteket PMA/IMC-vel kezeltük, az új mutációt hordozó beteg esetén alacsony koncentrációban volt jelen az IL-17A és IL-22 citokin az egészséges kontrollhoz képest. A CMCD betegek és egészséges kontrollok Epstein-Barr vírus (EBV)- transzformált sejtvonalát IFN- γ -val stimuláltuk és tirozin-kináz gátló kezelést követően a betegek sejteiből kivont nukleáris extraktumban magasabb mértékben detektáltunk foszforilált STAT1 fehérjét, a defoszforiláció képességének elvesztése miatt. Luciferáz transzkripciós riporter rendszer alkalmazása során az új mutációt hordozó plazmidot tartalmazó U3C sejtvonalban IFN- γ stimulus hatására magasabb luciferáz aktivitást tudtunk kimutatni a kontrollhoz (vad típusú plazmid) képest, ami szintén alátámasztotta a funkciónyerés tényét.

Jelen munkában egy XLP-s testvérpár esetében azonosítottunk új, korábban még nem leírt intronikus mutációt, ami kimutatható volt az édesanya és az anyai nagymama esetében is heterozigóta formában. A *SH2DIA* relatív expressziója a betegnél teljesen hiányzott, az anyánál csökkent volt az egészséges kontrollhoz viszonyítva. A SAP fehérje expressziója a betegnél nem volt kimutatható sem Western blot módszerrel, sem áramlási citometriával, az anyánál csökkent fehérje expressziót detektáltunk, ami utalt a hordozó állapotra.

Az eredményeink azt mutatják, hogy a *STAT1* gént ért mutáció fokozza a STAT1 funkcióját, fokozódik az IL-17+ T sejtek differenciálódásának a gátlása. Az IL-17+ T sejtek csökkent jelenléte fokozza a beteg *Candida* fertőzések iránti érzékenységet.

A *SH2DIA* gént érintett mutáció vizsgálatának eredményeként azt kaptuk, hogy nem szintetizálódik SAP fehérje, tehát nem jön létre az EBV-fertőzött B sejtek citotoxikus eltávolítása NK és CD8+ T sejtek által, ami hozzájárul a súlyos XLP fenotípus kialakulásához.

7 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt, hálás köszönettel tartozom Prof. Dr. Maródi László professzor úrnak, témavezetőmnek és az Infektológiai és Gyermekimmunológiai Tanszék korábbi vezetőjének, hogy támogatásával megteremtette kutatómunkám feltételeit. Köszönöm Professzor úrnak a kutatómunkám során adott sok hasznos szakmai tanácsait, útmutatásait, mindenre kiterjedő figyelmét, amely elősegítette szakmai fejlődésem és a laboratóriumi munkám.

Köszönöm Dr. Erdős Melinda egyetemi docensnek, hogy tanszékvezetőként támogatta és segítette kutatómunkám folytatását az Infektológiai és Gyermekimmunológiai Tanszéken.

Szeretném köszönetem kifejezni Lajszné Dr. Tóth Beáta, tudományos munkatársnak a kutatómunkám során kapott szakmai tanácsaiért, akihez bármikor fordulhattam kérdéseimmel a kísérletek megtervezését és kivitelezését illetően, aki segítette a laboratóriumi kutatómunkám és ezáltal nagyban hozzájárult a kísérletek eredményességéhez.

Köszönettel tartozom Dr. Gyimesi Editnek, korábbi témavezetőmnek, az áramlási citometriás kísérletek során adott szakmai tanácsaiért és segítségéért.

Köszönettel tartozom az Infektológiai és Gyermekimmunológiai Tanszék valamennyi munkatársának, külön kiemelve az Immunológiai és Molekuláris Genetika Laboratórium valamennyi korábbi dolgozóját, akik segítették a kutatómunkám: Barótáné Taskó Szilviának az ELISA mérések, Csorba Gabriellának és Pistár Zsuzsannának a molekuláris genetikai vizsgálatok során nyújtott segítségükért.

Továbbá külön köszönet illeti minden kollaborátor partnerünket, orvost és nővért. Szeretném megköszönni a külföldi orvosoknak és kutatóknak az együttműködést és a bizalmat: Dr. Nadejda Shabashova, Dr. Anastasiia Bondarenko, Dr. Satoshi Okada, Dr. Sophie Cypowj, Dr. Avinash Abhyankar, Prof. Dr. Pavel Rozsival, Prof. Dr. David Neumann, Prof. Dr. Lyudmyla Chernyshova, Prof. Dr. Jean-Laurent Casanova, Prof. Dr. Anna Sediva, Prof. Dr. Jiri Litzman, illetve külön megköszönöm Dr. Anne Puel-nek, a Descartes Egyetem kutatójának és munkatársainak a párizsi laborban eltöltött szakmai tréningen adott hasznos tanácsaikat és segítségüket. Szintén köszönet illeti a magyarországi orvosokat és kutatókat, akik hozzájárultak kutatómunkánkhoz: Dr. Sarkadi Adrien Katalin, Dr. Méhes Leonóra, Prof. Dr. Tulassay Zsolt, Dr. Lányi Árpád, és Dr. Kovács Gábor.

Szeretném megköszönni a betegeknek és a családtagjaiknak is az együttműködést.

Végül, de nem utolsó sorban hálásan köszönöm családom támogatását, akik minden körülmények között támogattak.

8 IRODALOMJEGYZÉK

1. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, Kondrashov AS, Sunyaev SR. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods*. 2010;7(4):248-9.
2. Cooper MA, Pommering TL, Korányi K. Primary immunodeficiencies. *Am Fam Physician*. 2003;68(10):2001-8.
3. Cypowyj S, Picard C, Maródi L, Casanova JL, Puel A. Immunity to infection in IL-17-deficient mice and humans. *Eur J Immunol*. 2012; 42(9):2246-54.
4. den Dunnen JT, Antonarakis SE. Nomenclature for the description of human sequence variations. *Hum Genet*. 2001;109(1):121-4.
5. Hirata O, Okada S, Tsumura M, Kagawa R, Miki M, Kawaguchi H, Nakamura K, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Takihara Y, Kobayashi M. Heterozygosity for the Y701C STAT1 mutation in a multiplex kindred with multifocal osteomyelitis. *Haematologica*. 2013;98(10):1641-9.
6. Ives ML, Ma CS, Palendira U, Chan A, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Arkwright PD, Engelhard D, Averbuch D, Magdorf K, Roesler J, Peake J, Wong M, Adelstein S, Choo S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Cook MC, Picard C, Durandy A, Tsumura M, Kobayashi M, Uzel G, Casanova JL, Tangye SG, Deenick EK. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) mutations underlying autosomal dominant hyper-IgE syndrome impair human CD8(+) T-cell memory formation and function. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(2):400-11.e9.
7. Latour S, Veillette A. Molecular and immunological basis of X-linked lymphoproliferative disease. *Immunol Rev*. 2003;192:212-24.
8. Liu L, Okada S, Kong XF, Kreins AY, Cypowyj S, Abhyankar A, Toubiana J, Itan Y, Audry M, Nitschke P, Masson C, Toth B, Flatot J, Migaud M, Chrabieh M, Kochetkov T, Bolze A, Borghesi A, Toulon A, Hiller J, Eyerich S, Eyerich K, Gulácsy V, Chernyshova L, Chernyshov V, Bondarenko A, Grimaldo RM, Blancas-Galicia L, Beas IM, Roesler J, Magdorf K, Engelhard D, Thumerelle C, Burgel PR, Hoernes M, Drexel B, Seger R, Kusuma T, Jansson AF, Sawalle-Belohradsky J, Belohradsky B, Jouanguy E, Bustamante J, Bué M, Karin N, Wildbaum G, Bodemer C, Lortholary O, Fischer A, Blanche S, Al-Muhsen S, Reichenbach J, Kobayashi M, Rosales FE, Lozano CT, Kilic SS, Oleastro M, Etzioni A, Traidl-Hoffmann C, Renner ED, Abel L, Picard C, Maródi L, Boisson-Dupuis S, Puel A, Casanova JL. Gain-of-function human

- STAT1 mutations impair IL-17 immunity and underlie chronic mucocutaneous candidiasis. *J Exp Med*. 2011; 208(8):1635-48.
9. Maródi L, Cypowj S, Casanova J, Puel A. The Role of Human IL-17 Immunity in Fungal Disease. *Curr Fungal Infect Rep*. 2013; 7(2): 132-7.
 10. Maródi L, Cypowj S, Tóth B, Chernyshova L, Puel A, Casanova JL. Molecular mechanisms of mucocutaneous immunity against *Candida* and *Staphylococcus* species. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 130(5):1019-27.
 11. Maródi L, Notarangelo LD. Immunological and genetic bases of new primary immunodeficiencies. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(11):851-61.
 12. Maródi L. Local and systemic host defense mechanisms against *Candida*: immunopathology of candidal infections. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16(8):795-801.
 13. Mogensen TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22(2):240-73.
 14. Puel A, Cypowj S, Bustamante J, Wright JF, Liu L, Lim HK, Migaud M, Israel L, Chrabieh M, Audry M, Gumbleton M, Toulon A, Bodemer C, El-Baghdadi J, Whitters M, Paradis T, Brooks J, Collins M, Wolfman NM, Al-Muhsen S, Galicchio M, Abel L, Picard C, Casanova JL. Chronic mucocutaneous candidiasis in humans with inborn errors of interleukin-17 immunity. *Science*. 2011; 332(6025):65-8.
 15. Puel A, Cypowj S, Maródi L, Abel L, Picard C, Casanova JL. Inborn errors of human IL-17 immunity underlie chronic mucocutaneous candidiasis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2012; 12(6):616-22.
 16. Puel A, Picard C, Cypowj S, Lilic D, Abel L, Casanova JL. Inborn errors of mucocutaneous immunity to *Candida albicans* in humans: a role for IL-17 cytokines? *Curr Opin Immunol*. 2010; 22(4):467-74.
 17. Recher M, Fried AJ, Massaad MJ, Kim HY, Rizzini M, Frugoni F, Walter JE, Mathew D, Eibel H, Hess C, Giliani S, Umetsu DT, Notarangelo LD, Geha RS. Intronic SH2D1A mutation with impaired SAP expression and agammaglobulinemia. *Clin Immunol*. 2013;146(2):84-9.
 18. Seemayer TA, Gross TG, Egeler RM, Pirruccello SJ, Davis JR, Kelly CM, Okano M, Lanyi A, Sumegi J. X-linked lymphoproliferative disease: twenty-five years after the discovery. *Pediatr Res*. 1995;38(4):471-8.
 19. Soltész B, Tóth B, Sarkadi AK, Erdős M, Maródi L. The Evolving View of IL-17-Mediated Immunity in Defense Against Mucocutaneous Candidiasis in Humans. *Int Rev Immunol*. 2015; 34(4):348-63.

20. Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4⁺ T cells in immunity to viruses. *Nat Rev Immunol.* 2012;12(2):136-48.
21. Takezaki S, Yamada M, Kato M, Park MJ, Maruyama K, Yamazaki Y, Chida N, Ohara O, Kobayashi I, Ariga T. Chronic mucocutaneous candidiasis caused by a gain-of-function mutation in the STAT1 DNA-binding domain. *J Immunol.* 2012;189(3):1521-6.
22. Tóth B, Méhes L, Taskó S, Szalai Z, Tulassay Z, Cypowj S, Casanova JL, Puel A, Maródi L. Herpes in STAT1 gain-of-function mutation [corrected]. *Lancet.* 2012; 379(9835):2500.
23. <http://exac.broadinstitute.org/gene/ENSG00000115415>
24. <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>
25. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>



Nyilvántartási szám: DEENK/298/2016.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Soltész Beáta
Neptun kód: KP9JNT
Doktori Iskola: Petrányi Gyula Klinikai Immunológiai és Allergológiai Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10044751

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Lajszné Tóth, B., **Soltész, B.**, Gyimesi, E., Csorba, G. É., Veres, Á., Lányi, Á., Kovács, G., Maródi, L., Erdős, M.: Severe XLP Phenotype Caused by a Novel Intrinsic Mutation in the SH2D1A Gene.
J. Clin. Immunol. 35 (1), 26-31, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10875-014-0117-1>
IF: 3.094
2. **Soltész, B.**, Tóth, B., Sarkadi, A. K., Erdős, M., Maródi, L.: The Evolving View of IL-17-Mediated Immunity in Defense Against Mucocutaneous Candidiasis in Humans.
Int. Rev. Immunol. 34 (4), 348-363, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/08830185.2015.1049345>
IF: 4.438
3. **Soltész, B.**, Lajszné Tóth, B., Shabashova, N., Bondarenko, A., Okada, S., Cypowij, S., Abhyankar, A., Csorba, G. É., Taskó, S., Sarkadi, A. K., Méhes, L., Rozsival, P., Neumann, D., Chernyshova, L., Tulassay, Z., Puel, A., Casanova, J. L., Sediva, A., Litzman, J., Maródi, L.: New and recurrent gain-of-function STAT1 mutations in patients with chronic mucocutaneous candidiasis from Eastern and Central Europe.
J. Med. Genet. 50 (9), 567-578, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2013-101570>
IF: 5.636





További közlemények

4. Gulácsy, V., **Soltész, B.**, Petrescu, C., Bataneant, M., Gyimesi, E., Serban, M., Maródi, L., Lajszné Tóth, B.: A novel large deletion and single nucleotide insertion in the Wiskott-Aldrich syndrome protein gene.
Eur. J. Haematol. 95 (1), 93-98, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/ejh.12424>
IF: 2.544

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 15,712

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 13,168

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

Debrecen, 2016.11.10.



Előadások angol nyelven

1. 79th J Project Meeting
A novel large deletion and single nucleotide insertion in the Wiskott-ALdrich syndrome protein gene
Beáta Soltész, Alexandra Bársony, Vera Gulácsy, Carmen Petrescu, Mihaela Bataneant, Margit Serban, László Maródi
Timisoara, Románia, 2012. október 25. – 26.
2. 84th J Project Meeting
STAT1 mutations in chronic mucocutan candidiasis
Beáta Soltész, Beáta Tóth, László Maródi
Munkachevo, Ukrajna, 2013. április 18.
3. 85th J Project Meeting
STAT1 mutations in chronic mucocutan candidiasis
Beáta Soltész, Beáta Tóth, László Maródi
Bratislava, Szlovákia, 2013. április 24.
4. IMPULSE EFIS-EJI symposium
Impaired development of IL-17-mediated immunity in patients with *STAT1* gain-of-function mutation
Beáta Soltész, Beáta Tóth, László Maródi
Mátraháza, Magyarország, 2013. augusztus 31. - szeptember 4.
5. Magyar Tudomány Ünnepe, JAK/STAT jelátviteli útvonalak, Magyar Tudományos Akadémia
Impaired development of IL-17-mediated immunity in patients with *STAT1* gain-of-function mutations
Beáta Soltész, Beáta Tóth, László Maródi
Budapest, Magyarország, 2013. november 22.
6. 1st J Project Congress
Novel *STAT1* GOF mutations in ECE patients with CMCD
Beáta Soltész, Beáta Tóth, László Maródi
Antalya, Törökország, 2014. március 11. - 15.
7. 5th Symposium on Primary Immunodeficiencies
Impaired development of IL-17-mediated immunity in a patient with a novel *STAT1* mutation
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Gabriella Csorba, Szilvia Taskó, Adrien Katalin Sarkadi, László Maródi
Bratislava, Szlovákia, 2015. április 22.
8. ESID Spring School
A novel *STAT1* mutation and impaired development of Th17 immunity in a Hungarian patient
Beáta Soltész, Adrien Katalin Sarkadi, Szilvia Taskó, Gabriella Csorba, Melinda Erdős, Beáta Tóth, László Maródi
Slavonice, Csehország, 2015. május 13. – 17.

9. ESID Summer School
Impaired development of IL-17+ T cells in a Hungarian patient with a novel *STAT1* mutation
Beáta Soltész, Adrien Katalin Sarkadi, Szilvia Taskó, Gabriella Csorba, Melinda Erdős, Beáta Tóth, László Maródi
Pisa, Olaszország, 2015. szeptember 15. – 20.
10. A Magyar Immunológiai Társaság 44. vándorgyűlése
Impaired development of IL-17-mediated immunity in a patient with a novel *STAT1* mutation
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Gabriella Csorba, Szilvia Taskó, Adrien Katalin Sarkadi, Eszter Jakobicz, Zsuzsanna Bata-Csörgő, Lajos Kemény, László Maródi
Velenice, Magyarország, 2015. október 14-16.
11. A Magyar Immunológiai Társaság 44. vándorgyűlése
Molecular characterization of a novel intronic mutation in the *SH2D1A* gene
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Edit Gyimesi, Gabriella Csorba, Ágota Veres, Árpád Lányi, Gábor Kovács, Melinda Erdős, László Maródi
Velenice, Magyarország, 2015. október 14-16.
12. 2nd J Project Congress
Splicing mutations causing XLP
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Edit Gyimesi, Gabriella Csorba, Ágota Veres, Árpád Lányi, Gábor Kovács, Melinda Erdős, László Maródi
Antalya, Törökország, 2016. március 2. – 5.
13. TÁMOP VÉD-elem szakmai beszámoló
STAT1 mutations in chronic mucocutan candidiasis
Beáta Soltész, Adrien Katalin Sarkadi, Szilvia Taskó, Vera Gulácsy, Melinda Erdős, Beáta Tóth, László Maródi (group leader: László Maródi)
Debrecen, Magyarország, 2013. május 24.
14. TÁMOP VÉD-elem szakmai beszámoló
Novel sequence variants in patients with primary immunodeficiencies
Beáta Soltész, Adrien Katalin Sarkadi, Szilvia Taskó, Vera Gulácsy, Melinda Erdős, Beáta Tóth, László Maródi (group leader: László Maródi)
Debrecen, Magyarország, 2014. június 13.
15. TÁMOP VÉD-elem szakmai beszámoló
STAT1 gain of function mutations in patients with chronic mucocutaneous candidiasis
Beáta Soltész, Adrien Katalin Sarkadi, Szilvia Taskó, Vera Gulácsy, Melinda Erdős, Beáta Tóth, László Maródi
Debrecen, Magyarország, 2015. január 29.

Előadások magyar nyelven

16. Magyar Infektológiai és Klinikai Mikrobiológiai Társaság 41. kongresszusa
STAT1 mutáció krónikus mukokután candidiasis betegségben
Soltész Beáta, Tóth Beáta, Sarkadi Adrien Katalin, Taskó Szilvia, Csorba Gabriella, Maródi László
Szolnok, Magyarország, 2013. október 05.
17. Magyar Gyermekeimmunológiai Konferencia
STAT1 funkciónyerő mutáció patológiai szerep krónikus mukokután candidiasisban
Soltész Beáta, Tóth Beáta, Sarkadi Adrien Katalin, Taskó Szilvia, Csorba Gabriella, Maródi László
Bükfürdő, Magyarország, 2013. december 06. – 07.
18. Magyar Immundeficiencia Társaság tudományos ülése
Luciferáz assay alkalmazása funkciónyerő mutációkban
Soltész Beáta, Tóth Beáta, Maródi László
Debrecen, Magyarország, 2016. április 29.

Poszterek angol nyelven

1. IMPULSE EFIS-EJI szimpózium
Impaired development of IL-17-mediated immunity in patients with *STAT1* gain-of-function mutation
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Nadejda Shabashova, Anastasiia Bondarenko, Satoshi Okada, Sophie Cypowyj, Avinash Abhyankar, Gabriella Csorba, Szilvia Taskó, Adrien Katalin Sarkadi, Leonóra Méhes, Pavel Rozsival, David Neumann, Lyudmyla Chernyshova, Zsolt Tulassay, Anne Puel, Jean-Laurent Casanova, Anna Sediva, Jiri Litzman, László Maródi Mátraháza, Magyarország, 2013. augusztus 31.– szeptember 04.
2. 1st J Project Congress
 - a. Novel *STAT1* GOF mutations in ECE patients with CMCD
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Nadejda Shabashova, Anastasiia Bondarenko, Satoshi Okada, Sophie Cypowyj, Avinash Abhyankar, Gabriella Csorba, Szilvia Taskó, Adrien Katalin Sarkadi, Leonóra Méhes, Pavel Rozsival, David Neumann, Lyudmyla Chernyshova, Zsolt Tulassay, Anne Puel, Jean-Laurent Casanova, Anna Sediva, Jiri Litzman, László Maródi
 - b. Autosomal dominant *STAT3* mutation in a Hungarian HIES patient
Ildikó Csürke, Anett Kassay, Beáta Soltész, Zsuzsanna Pistár, Beáta Tóth, Ferenc Dicső, László Maródi
Antalya, Törökország, 2014. március 11. – 15.
3. EFIS-EJI Tatra Immunológiai Konferencia
A novel *STAT1* mutation and impaired development of IL-17-mediated immunity in a Hungarian patient with CMCD
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Gabriella Csorba, Szilvia Taskó, Adrien Katalin Sarkadi, László Maródi
Strbske Pleso, Szlovákia, 2014. szeptember 06. – 10.

4. 16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID 2014)
 - a. Impaired development of IL-17-mediated immunity in a patient with *STAT1* gain-of-function mutation
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Gabriella Csorba, Szilvia Taskó, Adrien Katalin Sarkadi, László Maródi
 - b. *STAT3* mutational spectrum of newly diagnosed patients with HIES from Eastern and Central European Countries
Zsuzsanna Pistár, Irina Kondratenko, Zoltán Maszárovics, Lyudmila Chernyshova, Anastasiia Bondarenko, Mariana Guseva, Larissa Kostyuchenko, Ygor Romanyshyn, Beáta Soltész, Adrien Katalin Sarkadi, László Maródi, Beáta Tóth
 - c. Molecular characterization of a novel intronic mutation in the *SH2D1A* gene
Beáta Tóth, Beáta Soltész, Edit Gyimesi, Gabriella Csorba, Ágota Veres, Árpád Lányi, Gábor Kovács, Melinda Erdős, László Maródi
 - d. A novel insertion mutation in the *IL2RG* gene
Zsuzsanna Pistár, Beáta Soltész, László Maródi, Beáta Tóth
Prága, Csehország, 2014. október 28. – november 01.

5. 2nd J Project Congress
 - a. Novel *BTK* mutations in patients with XLA from Eastern and Central Europe
Beáta Soltész, Beáta Tóth, Melinda Erdős, Larysa Kostyuchenko, Alla Volokha, Anastasiia Bondarenko, Irina Tuzankina, Nasyrina Tatiana, Jadranka Kelecic, Marina Guseva, Lyudmyla Chernishova, Igor Savchak, Zoltán Ellenes-Jakabffy, Capilna Brindusa, Svetlana Cemirtan, the J Project Study Group, László Maródi
 - b. A novel insertion mutation in the *IL2RG* gene
Zsuzsanna Pistár, Beáta Soltész, László Maródi, Beáta Tóth
Antalya, Törökország, 2016. március 1. – 6.