

The background of the slide is a dark, textured image featuring a close-up of a person's face, likely Dr. Gregory House, with a serious expression. The eyes are prominent, and the overall color palette is dark with some orange and yellow highlights. The word "HOUSE" is written in large, white, serif capital letters. The letter "H" is enclosed in a white square frame. Below the word "HOUSE", there is a horizontal line that ends with "M.D." in a smaller font.

HOUSE M.D.

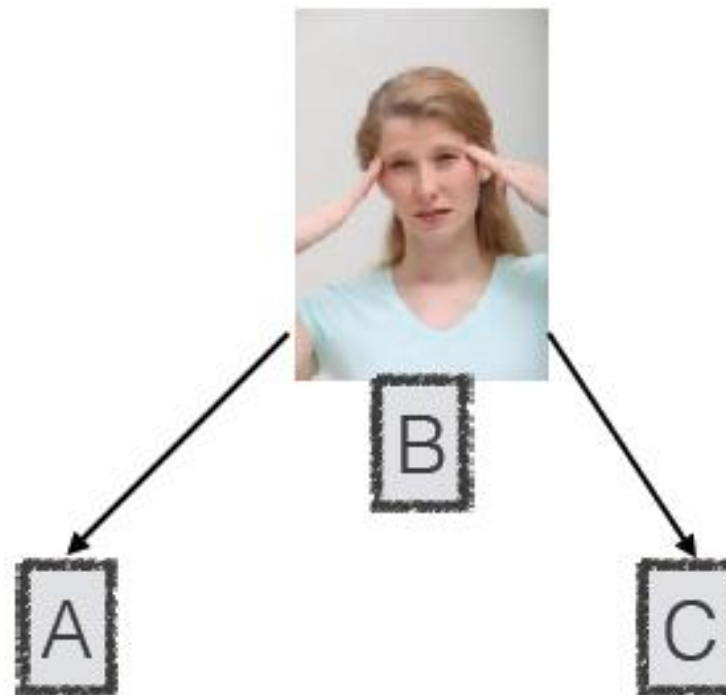
Dr. House. Biokémiai és
sejtbiológiai módszerek
alkalmazása az orvoslásban

Vírusok

- DNS Vírusok
 - Egyszálú (parvovírusok)
 - Kétszálú (adenovírusok, herpeszvírusok, himlővírusok)
- Retrovírus
 - Kettős szálú RNS (rotavírus)
 - Egyszálú RNS
 - + = mRNS (HIV, SARS)
 - - = át kell íródni +-ra (Influenza)
 - RNS dependens RNS szintetáz
 - Reverz transzkriptáz

HIV fertőzés kimutatása - (fiktív) esettanulmány

- 35 éves nő, HIV fertőzöttség gyanúja. Két partner az elmúlt időszakban.
- Fertőzött-e a nő, ha igen, átadta-e a partnereinek?

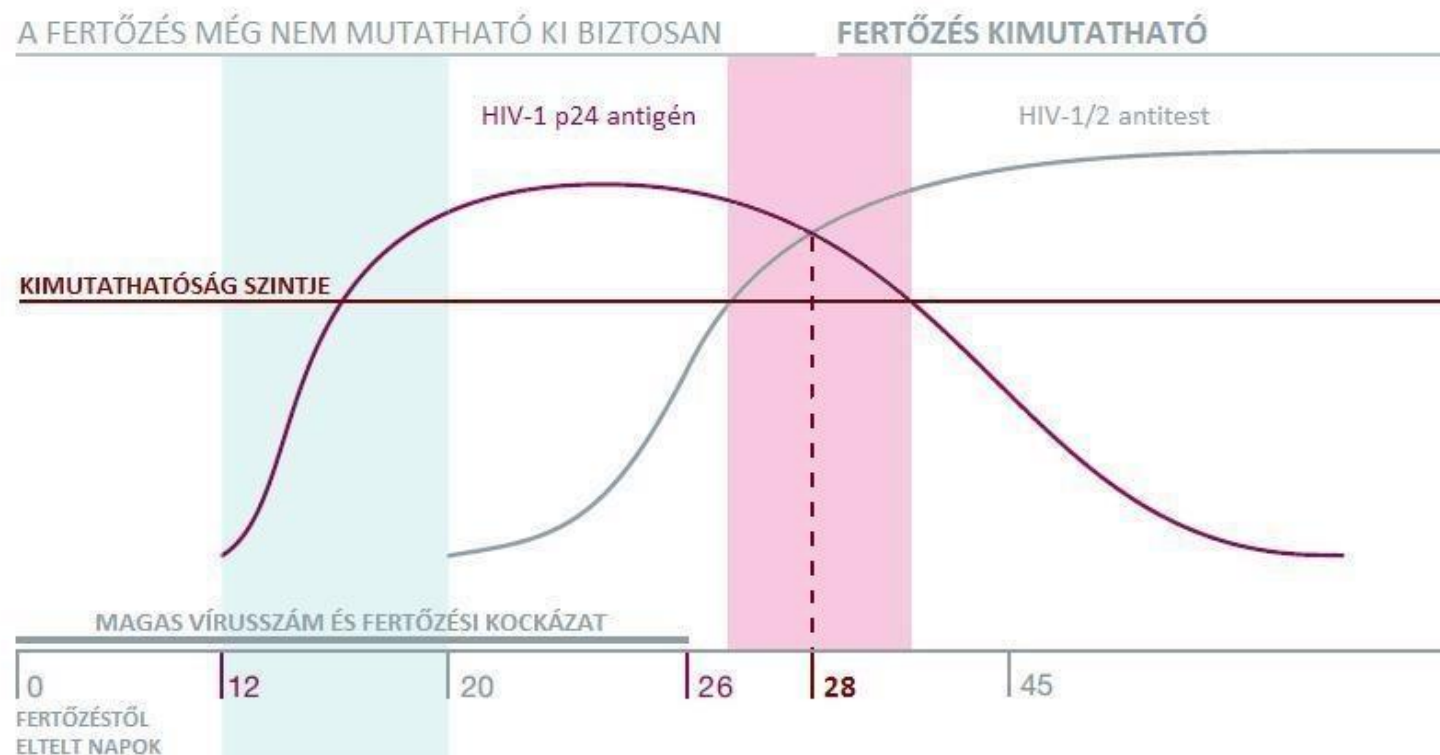


HIV

- Humán Immundeficiencia Vírus
- Retrovírus (+ mRNS)
 - RNS -> DNS -> beépül a kromoszómába
- T-limfocitákat támadja (pl. CD4+ sejtek)
- Lecsökken a számuk (AIDS)

TUDNIVALÓK A GYORSTESZTEKRŐL ÉS AZ ABLAKPERIÓDUSRÓL

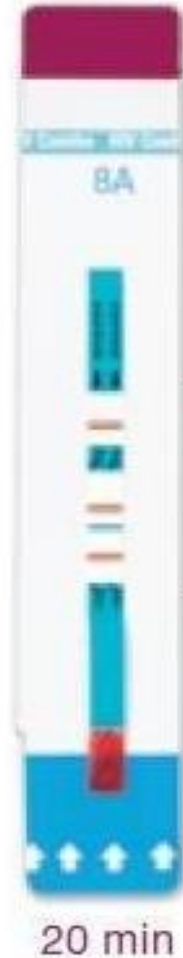
Fertőzés kimutathatósága - Ablakperiódus



HIV-1/2 antitest Megjelenését követően (fertőzés után 28 nap) mindig kimutatható szinten van jelen!

Kérjük kedves klienseinket, hogy a biztos eredmény érdekében a 4 hetes ablakperiódus letelte után jöjjenek szűrésre!

HIV gyorseszteszt



Az eredményről

Az eredmény leolvasható -
HIV-1 p24 antigénre (Ag) és
HIV 1/2 antitestre (Ab) is -
20 perc múlva

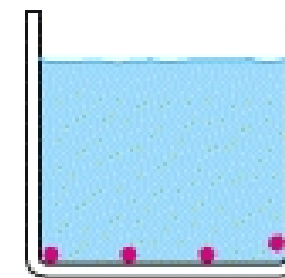
A kontroll csík minden eredmény esetén megjelenik.
Ha nem jelent meg, az eredmény érvénytelen.

Eredmény kulcs

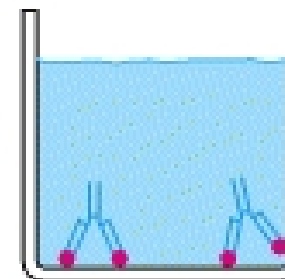
Sáv	Pozitív	Negatív	Érvénytelen
Control			
Ag			
Ab			

HIV fertőzés kimutatása - (esettanulmány)

- HIV ELISA - első és legalapvetőbb teszt a HIV fertőzés kimutatására
- Az edény alját HIV-antigénnel borítják
- A szérumban különféle ellenanyagok találhatóak. Ha a páciens **HIV+**, akkor a **vérében a vírusra specifikus ellenanyag található**. Ez az ellenanyag hozzákötődik az edény alját borító Antigénhez.



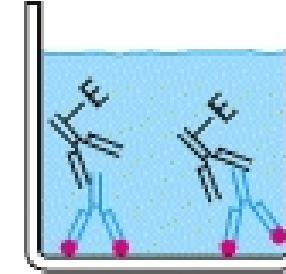
Antigen-coated well



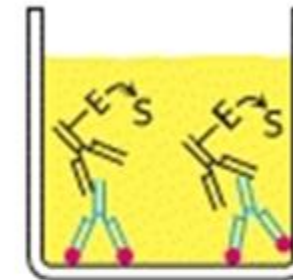
Specific antibody binds to antigen

HIV ELISA teszt

- A második ellenanyag enzimhez kötött.
- A hozzáadott szubsztrátból színes anyag keletkezését katalizálta. Így a vérben lévő ellenanyag-mennyiség arányában kapunk színes terméket.
- Érzékeny, reprodukálható, gyors, de nem 100% specifikus teszt, általában 2-3 héttel a fertőzést követően alkalmazható

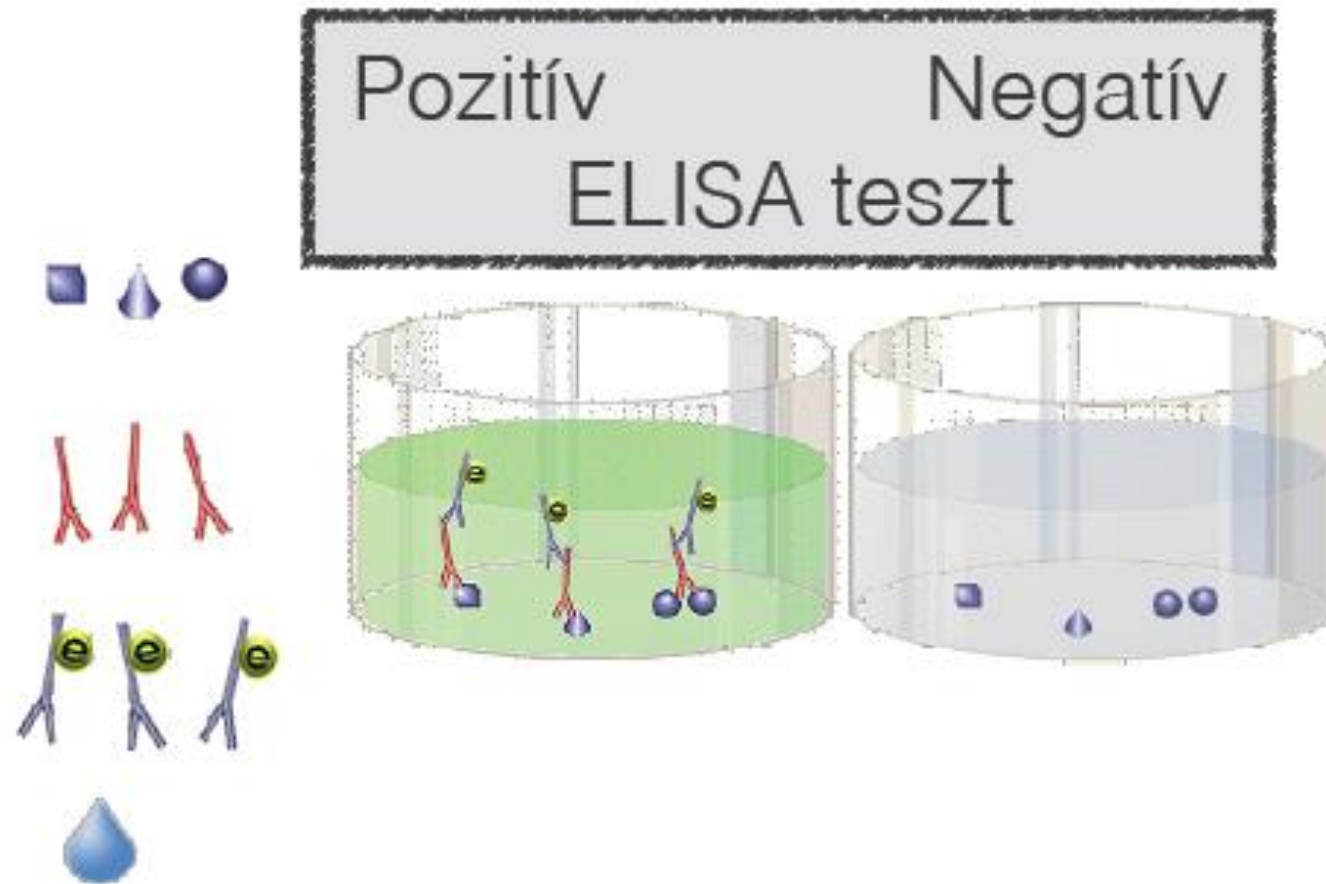


Enzyme-linked antibody binds to specific antibody



Substrate is added and converted by enzyme into colored product; the rate of color formation is proportional to the amount of specific antibody

HIV ELISA teszt

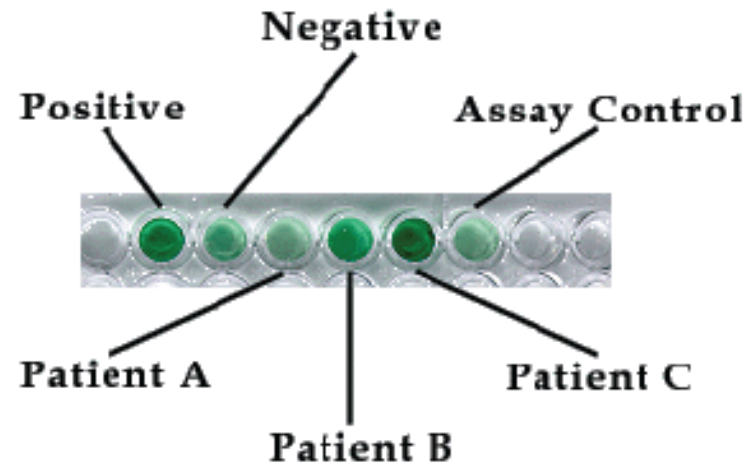


HIV ELISA teszt

- **Álpozitív teszt:** előfordulhat, hogy a teszt pozitív annak ellenére, hogy nincsen HIV fertőzés. Általában HLA (Human Leukocyte Antigen) antigének elleni ellenanyagot hordozó, többször szült nőknél fordulhat elő, a HIV ugyanis magába építheti ezen antigéneket, amikor lefűződik egy sejtről
- **Álnegatív teszt:** negatív a HIV fertőzés ellenére. Akkor fordul elő, amikor a fertőzés és az ellenanyag-válasz megjelenése közötti ablakperiódusban történik a vizsgálat.

HIV ELISA teszt

- $A = 0,300$ alatt negatív, $0,300 - 0,499$ közt meg kell ismételni a tesztet; $0,500$ felett pozitív
- Ha a teszt pozitív, megismétlik, majd megerősítésként Western blotot csinálnak
- Fertőzött-e A, B és C?



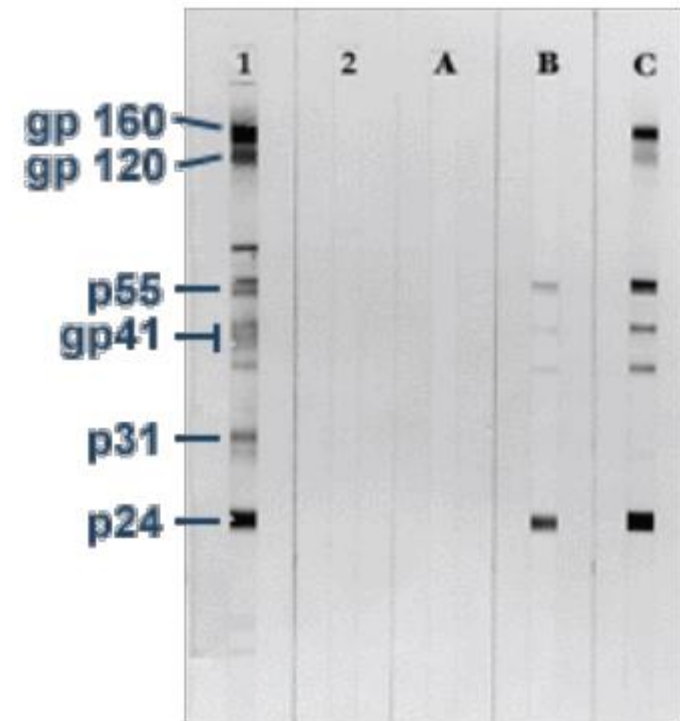
Positive ct.	Negative ct	Patient A	Patient B	Patient C	Assay ct
1.689	0.153	0.055	0.412	1.999	0.123

HIV Western Blot

- Láthatóvá teszi az egyes vírusproteinek elleni ellenanyagot
- HIV fertőzött sejtekből készült fehérjekivonatot futtatják, blottolják, majd első ellenanyag gyanánt az egyes páciensek szérumát használják. A második ellenanyag enzim-jelölt anti-humán ellenanyag volt.
- Specifikus, ám hosszadalmas, nem kvantitatív
- ELISA megerősítésére használják

HIV Western Blot

- Poztív teszt kritériumai
- Nincs csík: **Negatív**
- p31 vagy p24 ÉS gp160 vagy gp120 csíkok: **Pozitív**
- Vannak csíkok, de a mintázat nem felel meg a fenti kritériumoknak: **Bizonytalan**
- Mi diagnózis, A, B és C esetében?



Band pattern	Interpretation
Lane 1, HIV+ serum (positive control)	
Lane 2, HIV- serum (negative control)	
Lane A, Patient A	
Lane B, Patient B	
Lane C, Patient C	

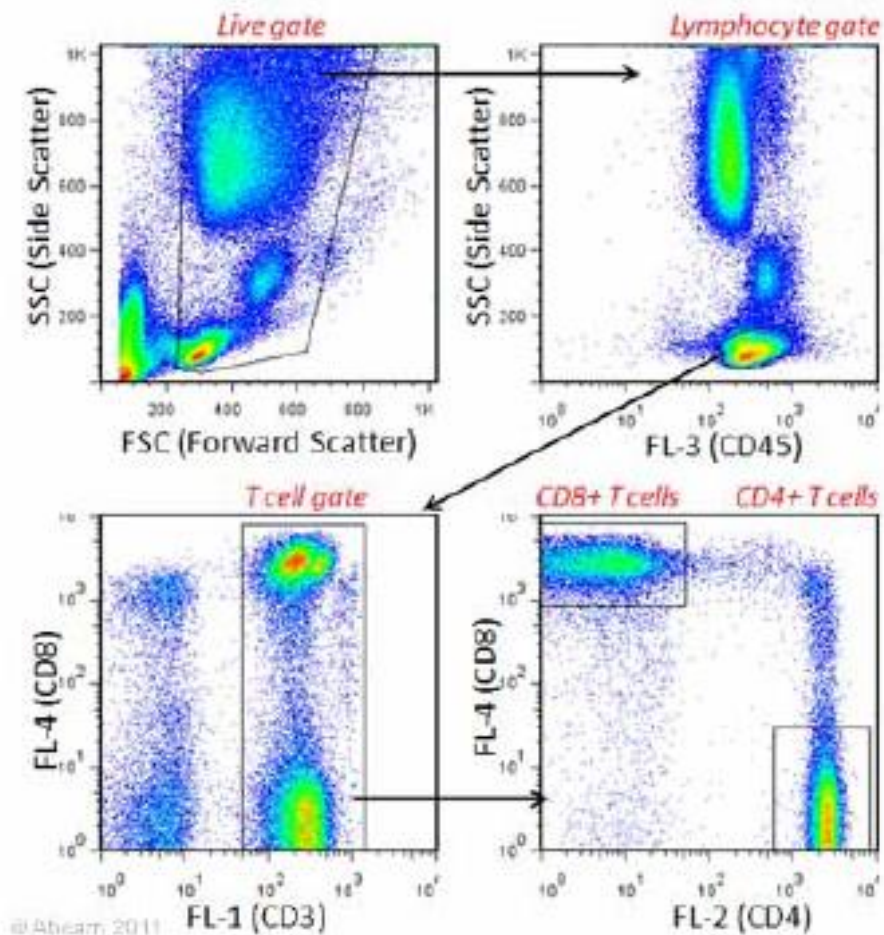
HIV vagy AIDS?

- AIDS: HIV fertőzés nyomán kialakuló szerzett immunhiányos betegség
- T-sejteket érinti
- Az összes T sejt száma, és a CD4+ T sejtek száma, valamint a CD4 (helper) / CD8 (killer) sejtek aránya lecsökken
- Mérés áramlási citometriával

	Normál	AIDS
T limfocita	> 1000	< 600
Teljes T sejt szám	> 60%	< 30%
Abszolút CD4+	> 600	< 200
CD4/CD8	0.9 - 1.9	< 1

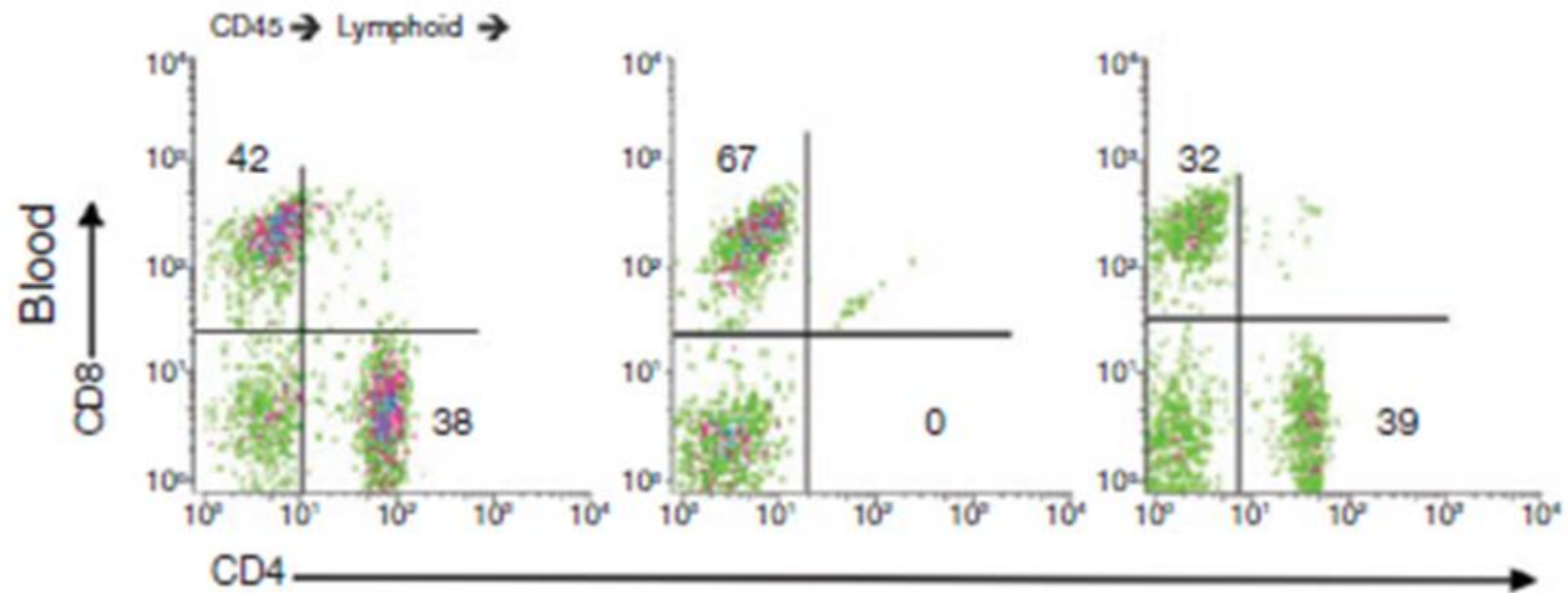
HIV/AIDS - áramlási citometria

CD4/CD8 pozitív sejtek
kiválogatása (kikapuzása)



HIV/AIDS - áramlási citometria

B páciens C páciens negatív



Diagnózis

- A kérdéses személy, B páciens lehet, hogy HIV fertőzött, még nem egyértelmű
- Partnerét, A páciens nem fertőzte meg, ő HIV negatív
- C páciens fertőzött, sőt AIDS-es, valószínűleg ő fertőzte meg B-t

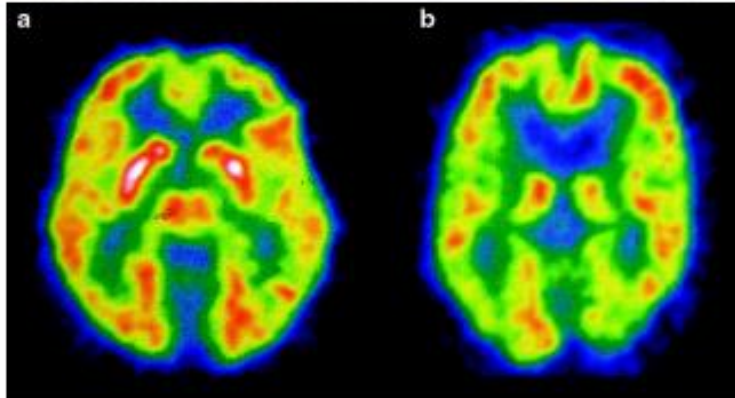
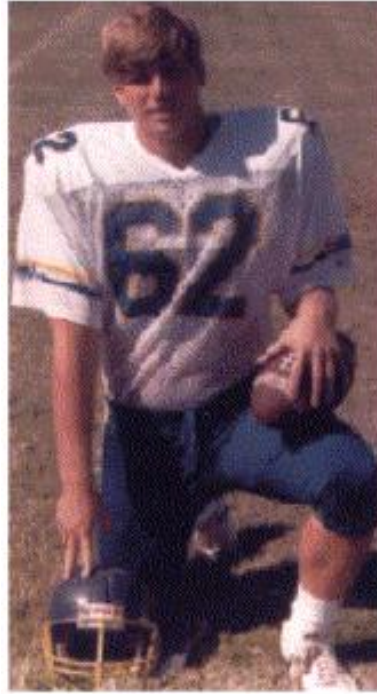
Huntington-kór

- Súlyos idegrendszeri betegség, 10-15 év teljes leépüléshez, végül halálhoz vezet
- Motoros (vitustánc), pszichológiai és értelmi tünetek
- Általában 40 éves kor körül jelentkezik
- Genetikai betegség. Dominánsan öröklődik, azaz egyetlen hibás kópia elég, hogy a betegség megjelenjen (a két allél közül elég, ha az egyik hibás)

Huntington-kór

- 100%-os a penetranciája, azaz ha valaki hordozza a hibás allélt, akkor a betegség mindenképpen megjelenik
- Mivel a tünetek ált. a reprodukciós életszakaszt követően jelentkeznek, a betegség már továbbadódik a következő generációra, mielőtt a páciens tudomást szerez érintettségéről (vö. R. Dawkins: Az önző gén c. művében a sikeres gén leírását)
- Nem gyógyítható.

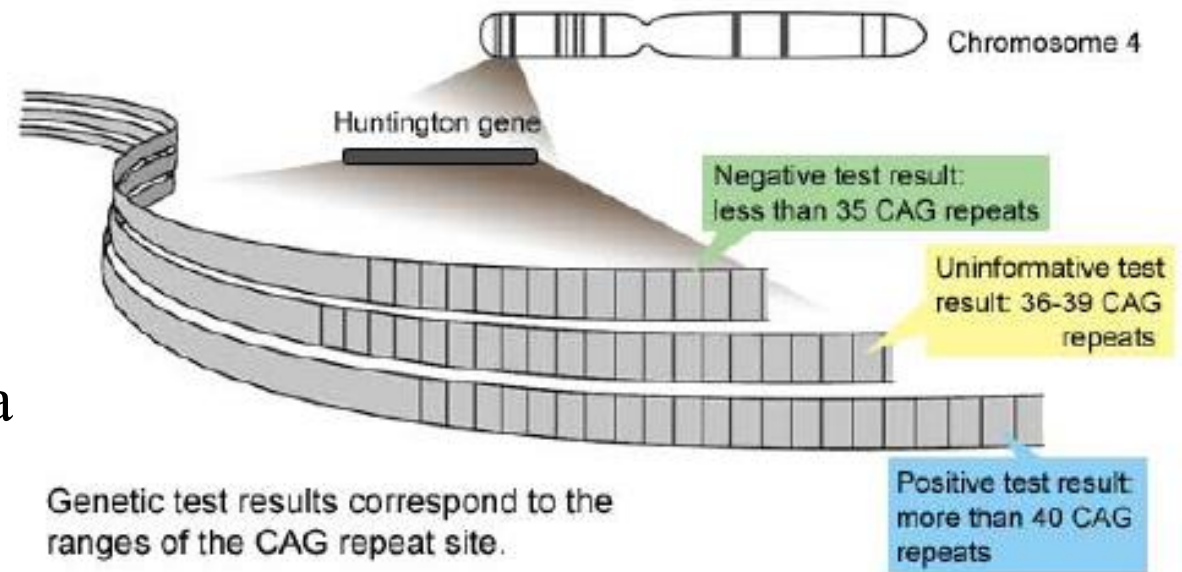
Huntington-kór



A Huntington-kór genetikai háttere

- Trinukleotid (CAG) ismétlődés a huntington génben
- Az ismétlődés száma öröklődik, (sőt, generációról generációra növekedhet, ahogy a másoló mechanizmus hibát ejt a sok ismétlődés másolása közben)

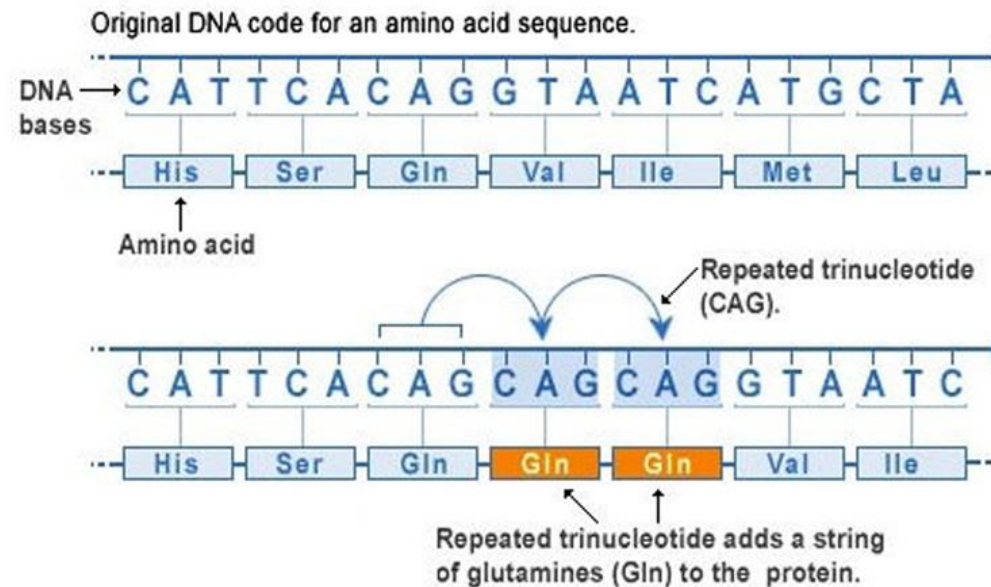
Figure S-3: CAG Repeat Counts on the Huntington gene



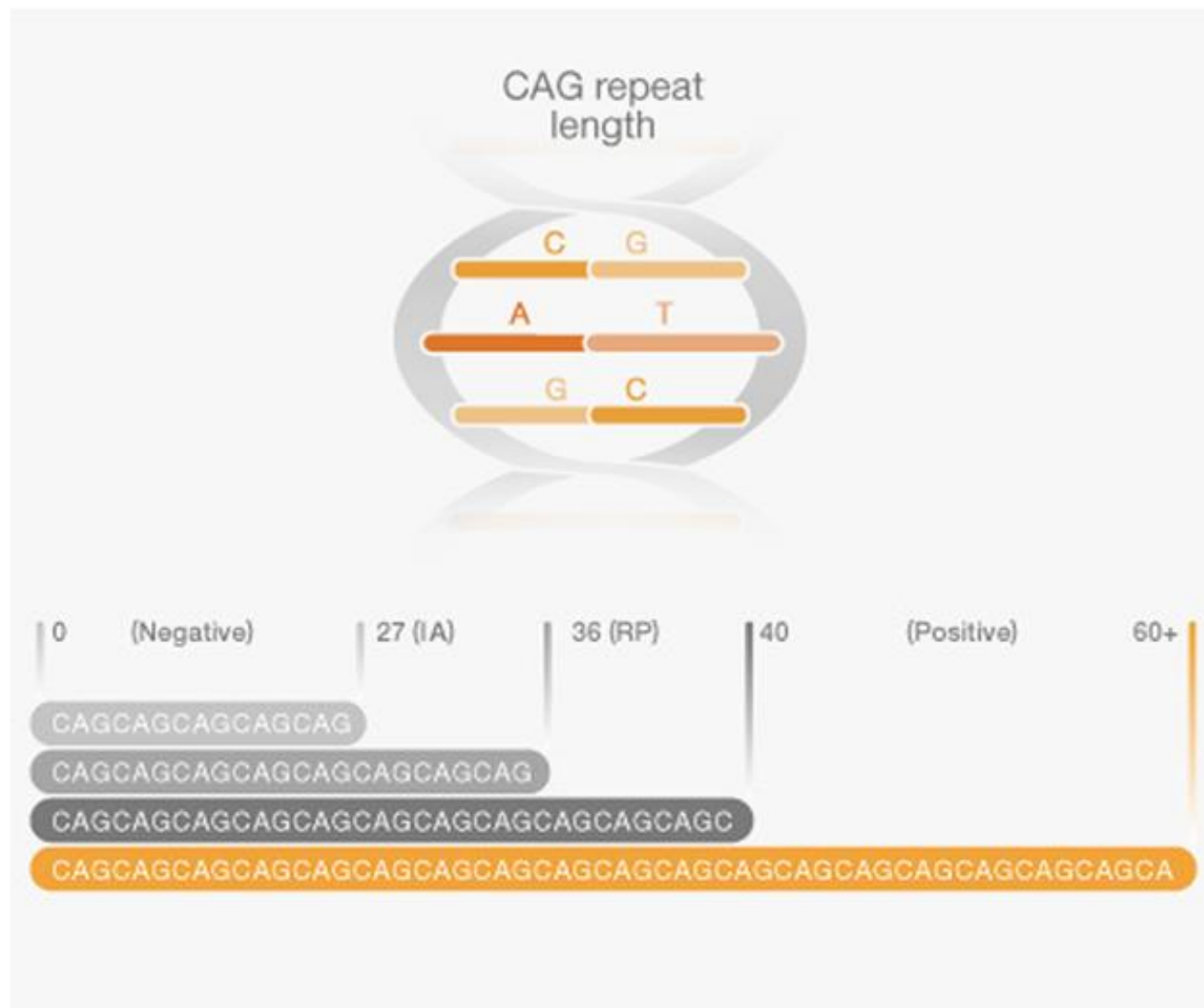
A Huntington-kór genetikai háttere

CAG repeat expansion in *HTT*

- A CAG vagy ugyanannyi, mint a szülőknél, vagy több
- Trinukleotid ismétlődési zavar



CAG repeat expansion in *HTT*



A Huntington-kór biokémiai okai

- A CAG ismétlődések száma okozza a bajt
- CAG glutamint kódol, így poliglutamin jön létre a fehérjében
- A poli-Gln a fehérjék aggregációjához, sejtbeni felhalmozódásához, működésképtelenséghez vezet
- A Huntington gén a neuronokban aktív, illetve ezen sejtek kapacitása az aggregátumok eltávolítására korlátozott, a betegség idegrendszeri tünetekkel jár
- Az aggregáció hosszú távon történik, ezért okoz kései tüneteket
- Minél több az ismétlődés, annál előbb és annál súlyosabban jelentkeznek a tünetek

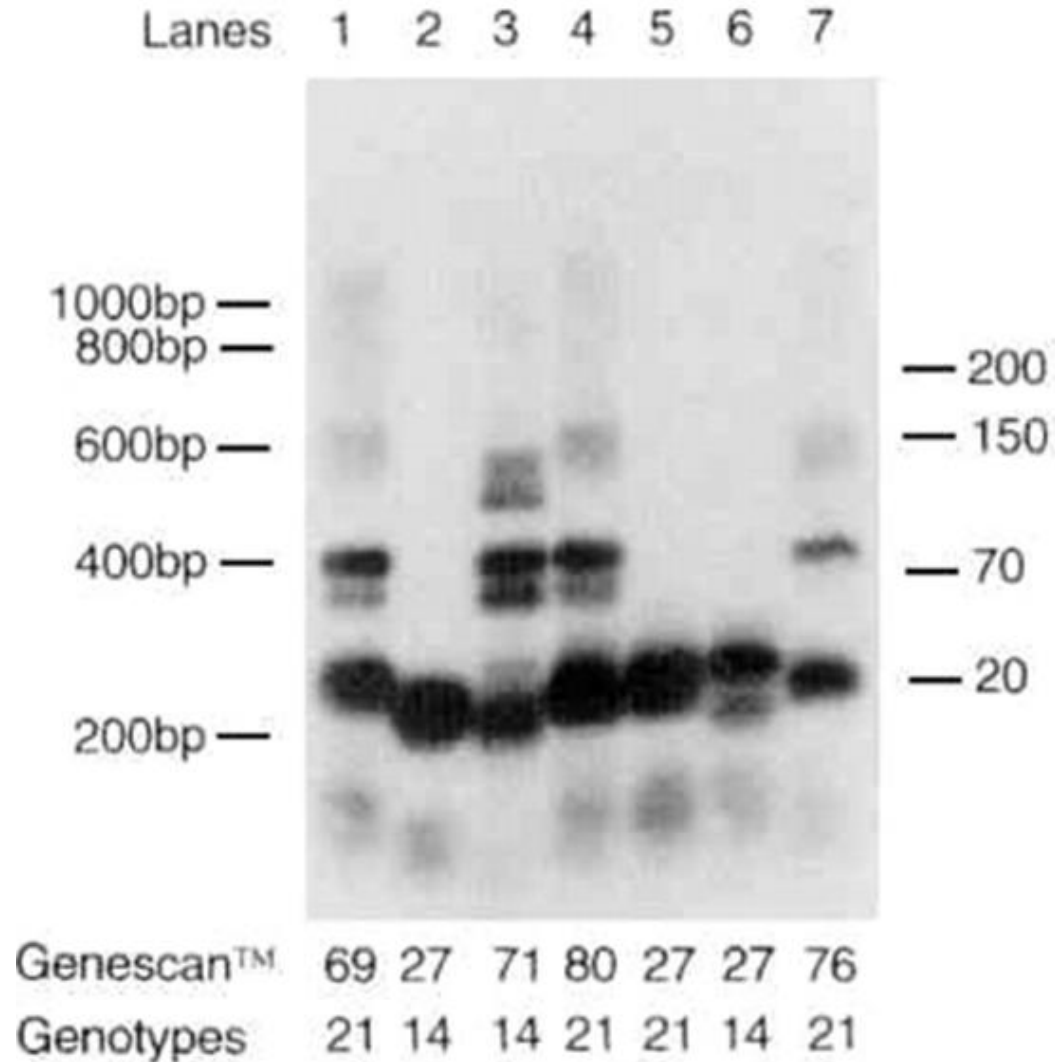
Huntington-kór genetikai analízise (esettanulmány)

- 28 éves apa felkeresi a genetikai szakrendelést, hogy megtudja, gyermekei örökölték-e a családjában előforduló Huntington betegséget. Ő maga azonban nem szeretné tudni, hogy érintett-e.
- Módszer: PCR (jelölt primer a HTT gén mellé)
+ restrikciós hasítás, gélelektroforézis

Huntington-kór genetikai analízise (esettanulmány)

- Jelölés: 1. Apa; 2. Anya; 3 -7. gyerekek
- A vizsgálat alapján melyik családtagok érintettek (> 40 ismétlődés)?
- Miért eltérő az ismétlődések száma az egyes családtagokban?

Huntington-kór genetikai analízise (esettanulmány)



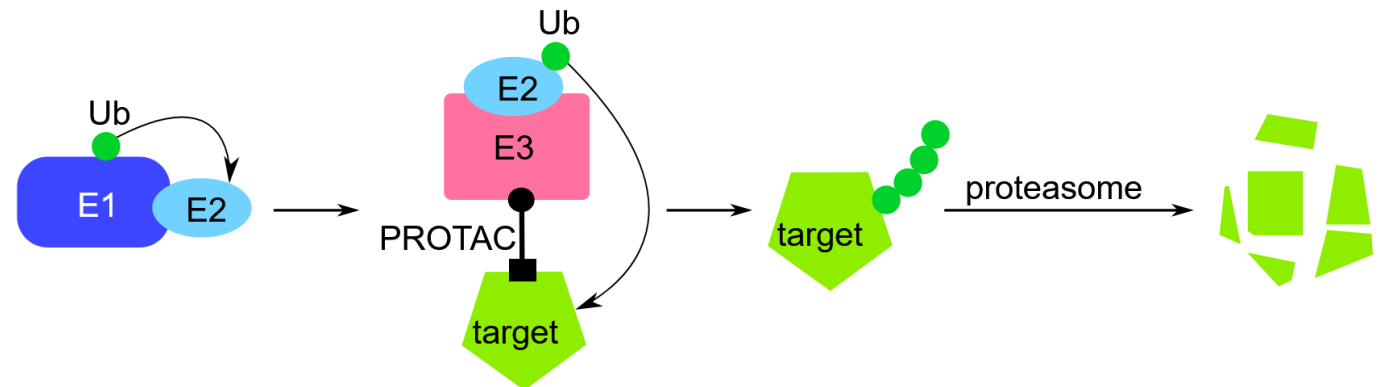
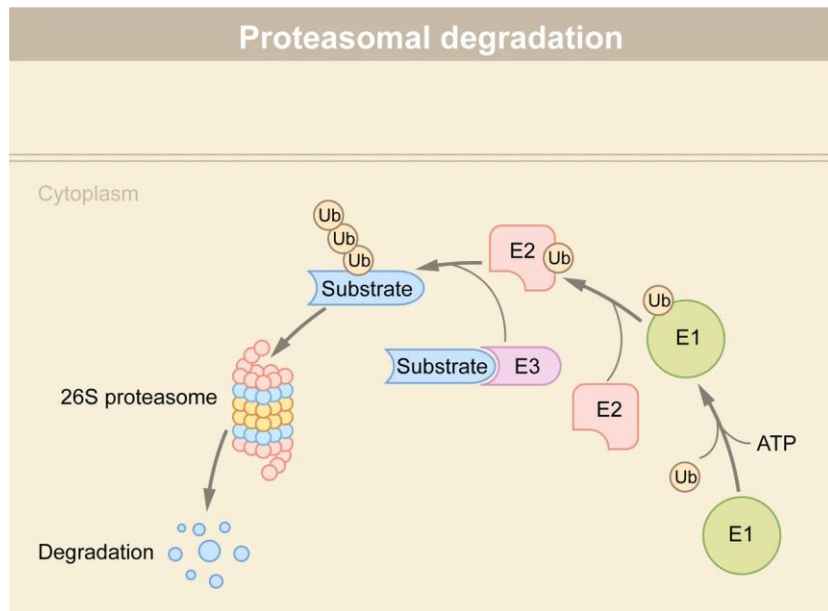
Huntington-kór genetikai analízise (esettanulmány)

- Amennyiben az apa logikus gondolkodású, titokban maradhat-e előtte a saját státusza?
- Hogyan lehetséges, hogy az egyik gyerekek 27/14 az ismétlődés száma, annyi, mint az anyáé?

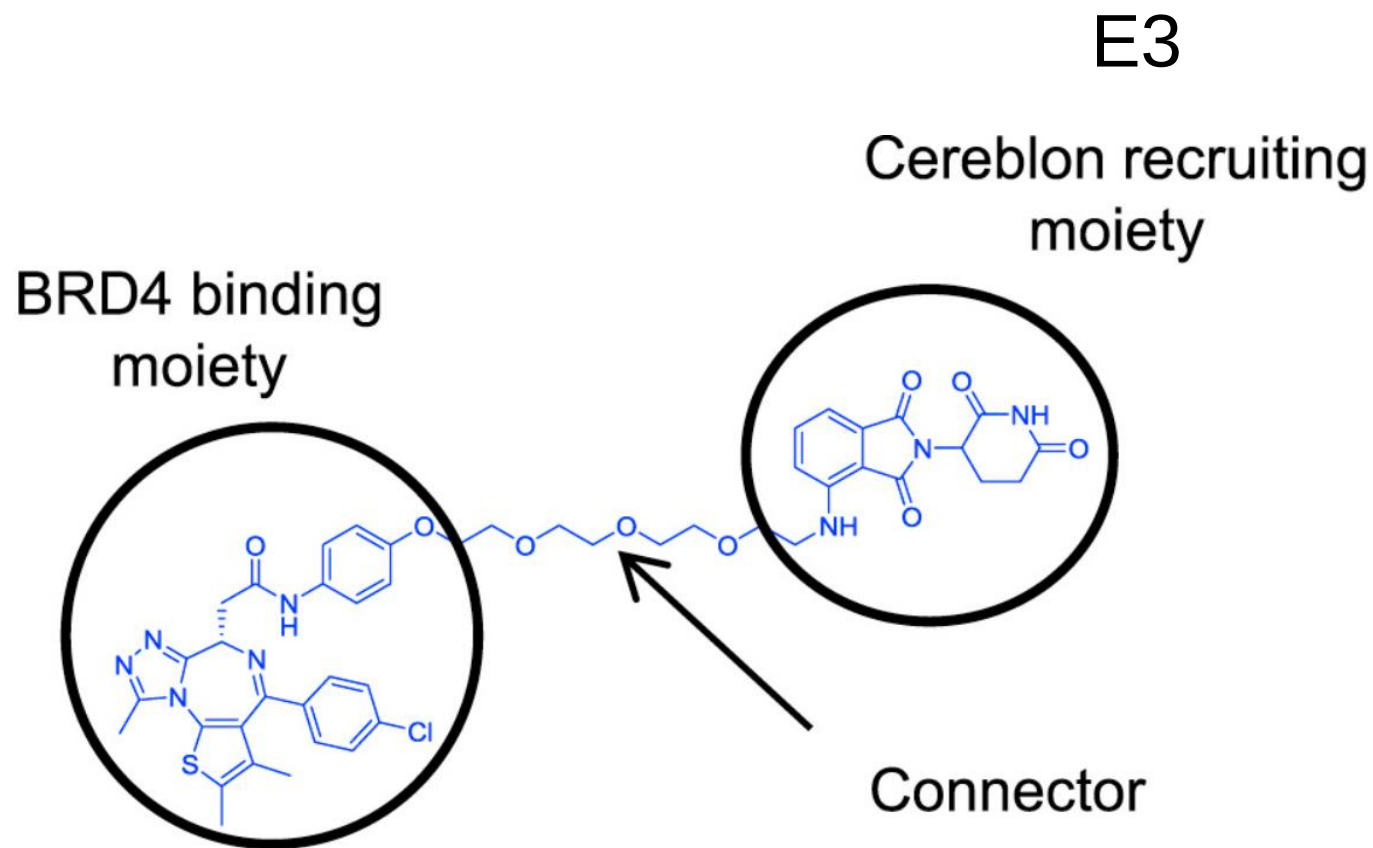
	apa	anya	gyerekek				
Genescan™	69	27	71	80	27	27	76
Genotypes	21	14	14	21	21	14	21

PROTAC

- A sejtek természetes fehérjelebontó folyamata
- Ubikvitin-proteaszóma rendszer
- Degrade undruggable proteins
- E3: ubikvitin-ligáz; E2: ubikvitin konjugáló enzim
- Proteolizis targeting kiméra (PROTAC)

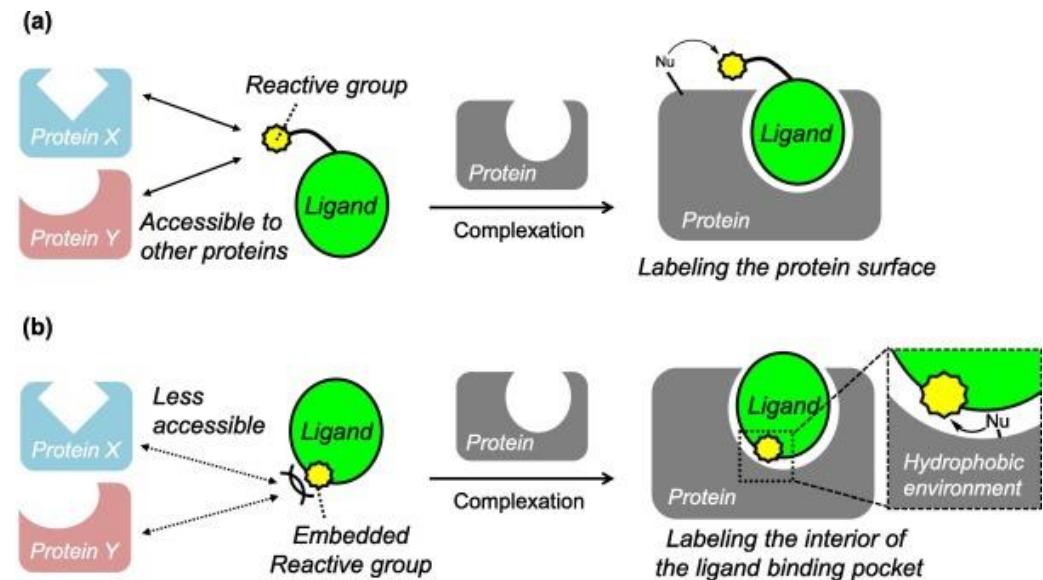


Korábban hatástalannak bizonyult enzim inhibitorok újrafelfedezéseE3



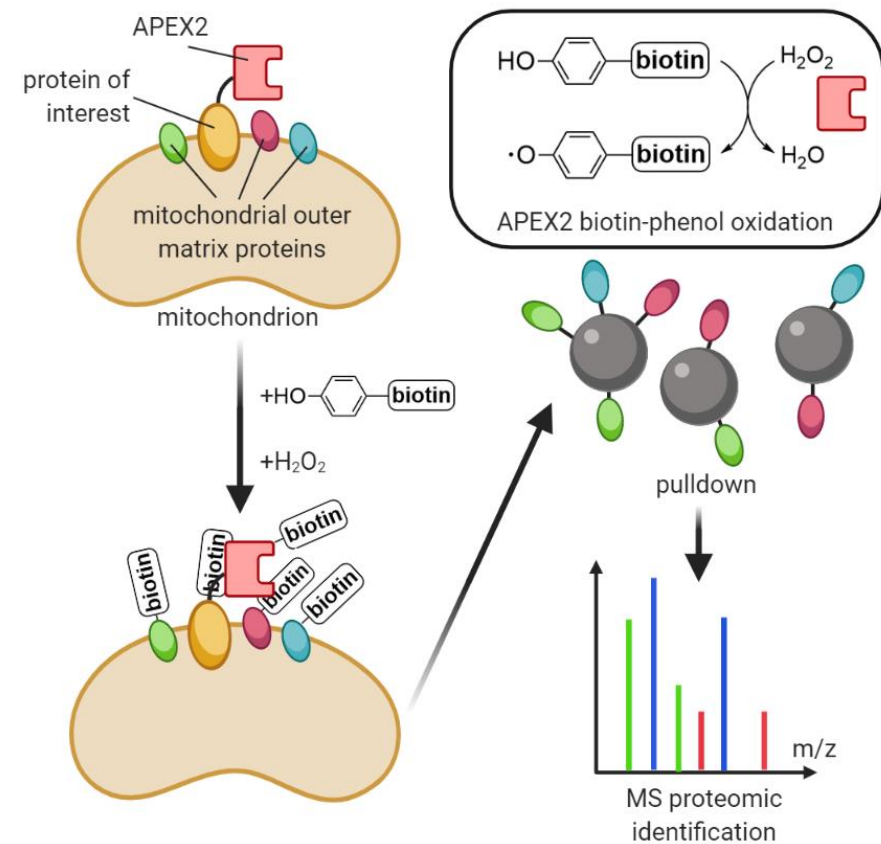
Affinity labeling

- Kovalens, nem-kovalens inhibitor + gyenge reaktivitású csoport
- Vagy blokkolt aktivitású
 - Fény
 - Bioort. reakció
- Inhibitor felfedezés



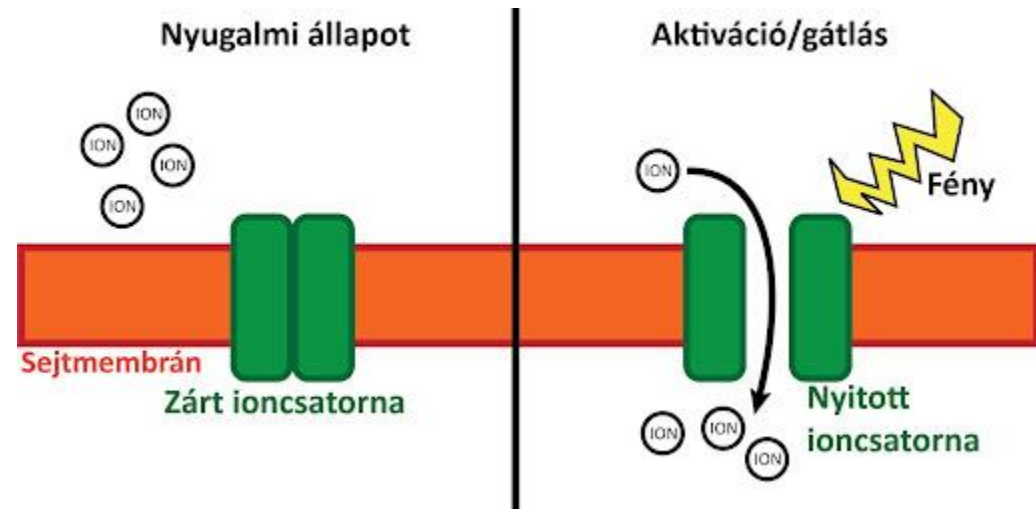
Proximity labeling

- Fehérje-fehérje interakciók
- APEX-biotiniláló enzim



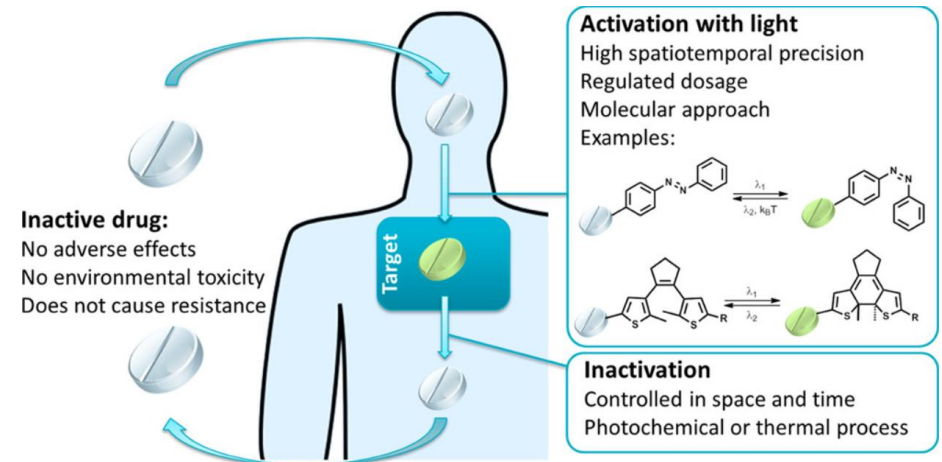
OPTOGENETIKA

- Csatornarodopszin (fényérzékeny ioncsatorna)
- Egysejtű algák fototaxisa
- Emlős sejtekben expresszáva fotokontrollált ingerületi folyamatok
- Látás (Roska Botond)



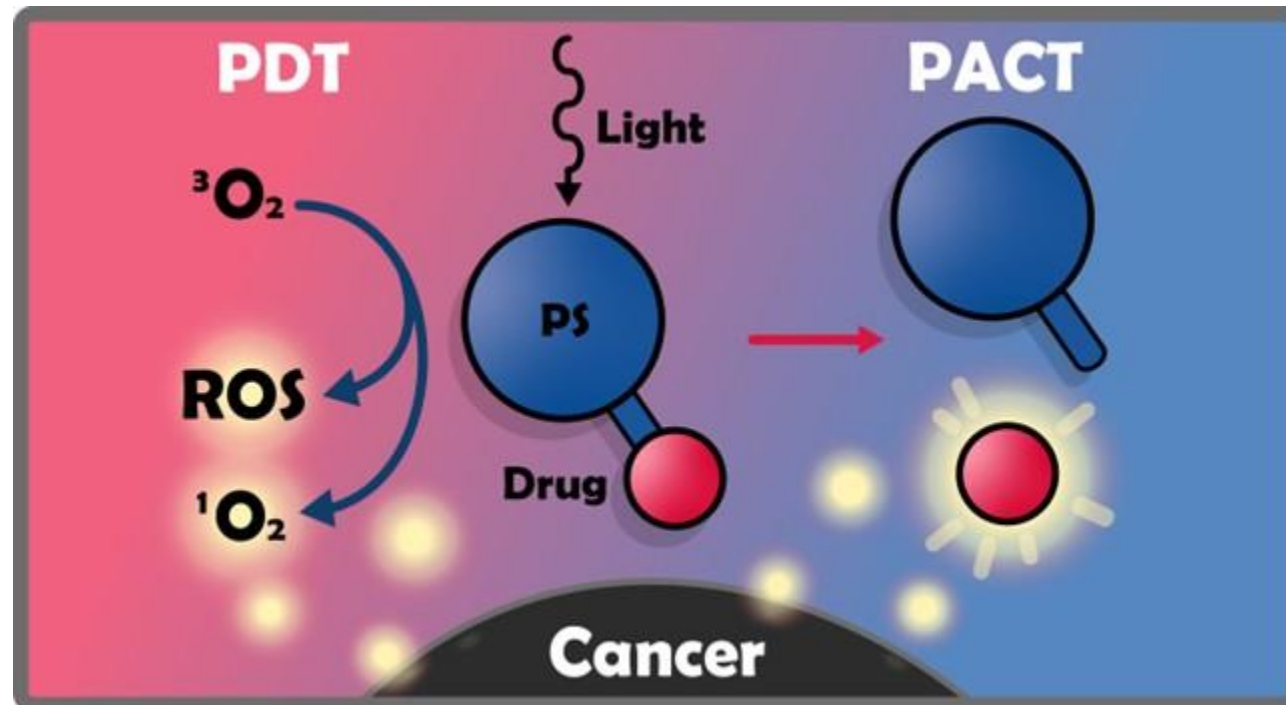
FOTOFARMAKOLÓGIA

- Fénnyel aktivál
- Természetes ligandumok modulálása (nem kell genetikai beavatkozás)
- Fényérzékeny védőcsoportok
- Fotokapcsolók



Fototerápia

- Fotodinámiás terápia (PDT) (reactive oxygen/nitrogen species) (fényérzékenyítők)
- Fényérzékeny védőcsoportok (PACT)



Bioortogonálisan aktiválható fototerápia

- A fotorezponzivitást egy bioortogonális reakció kapcsolja be

