



kat, amelyek a célfehérjéhez kötődtek. Ezután ezeket az első generációs antitesteket random módon tovább változtatta, és újabb fágkönyvtárat létesített. Ebben már olyan antitestek voltak, melyek még nagyobb affinitással kötődtek a célfehérjéjé.

Winter nevéhez fűződik például az adalimumab, a tumornekrozis faktor-alfa-elleni humán antitest kifejlesztése, mely első-

sorban autoimmun betegségek kezelésére alkalmas. De hasonló innovatív folyamatok eredményeképpen előállítottak már antitesteket, melyek metasztatikus daganatos betegségek egyes típusainak, a lupus, a reumathoid arthritisz, a gyulladásoos bélbetegségek vagy az Alzheimer-kór kezelésére nyújtanak terápiás megoldást.

Ormos Pál – Börzsönyi Ádám

■ MTA SZBK | [pal.ormos@rbc.mta.hu](mailto:pal.ormos@rbc.mta.hu)

■ ELI-HU | [Adam.Borzsonyi@eli-alps.hu](mailto:Adam.Borzsonyi@eli-alps.hu)

## Nobel-díj a lézerfizikának

**A** 2018. évi fizikai Nobel-díjat Arthur Ashkin az optikai csipesz megalkotásáért és az eszköz biológiai rendszerekben való alkalmazásáért, Gérard Mourou és Donna Strickland a nagy intenzitású, ultrarövid lézerimpulzusok létrehozásának kidolgozásáért kapta.

Az indoklás szerint az idei kitüntetettek forradalmasították a lézerfizikát. Rendkívül kis, precíz eszközök megalkotásával új kutatási területek nyíltak meg nemcsak az orvostudományban, hanem az iparban is.

Az **Arthur Ashkin** által feltalált optikai csipeszek részecskéket, atomokat, vírusokat és más élő sejteket képesek megragadni lézernyaláb-„ujjaikkal”. Az alkalmazás a fény mechanikai hatásán alapul. Már 1619-ben észrevette Kepler, hogy az üstökösök csövája a nappal ellentétes irányba mutat, és úgy vélte, ez a fény nyomása miatt van így. Az elektromágnesség Maxwell-féle elmélete azután megmagyarázta, hogy az elektromágneses sugárzás nyomást fejt ki, és a nagyságát is pontosan megadta 1873-ban. Ekkor az is látszott, hogy a hatás makroszkopikus testek esetén, termikus fényforrásokból származó fényvel nagyon kicsiny, gyakorlati jelentősége igazából nincsen. Csak 1900-ban sikerült Pjotr Lebegyev orosz fizikusnak kísérletben kimutatni a jelenséget. A lézerek megjelenése nagy változást hozott. A lézerek tökéletesen fókuszálható fénysugarat produkálnak, és e „tankönyvi” nyalábok mikroszkopikus, a fény hullámhosszával összemérhető méretű testekre olyan erővel hatnak, amelyek mechanikai manipulációra: mozgatásra, csapdázásra alkalmasak. A jelenséget tehát a Nobel-díjas Ashkin, a Bell Laboratórium kutatója mutatta ki. A nevéhez fűződik az optikai manipuláció szinte minden fontos ágának leírása, bevezetése.

Az első lépés a dielektromos részecskék fókuszált fény általi mozgatása volt vízben és levegőben – erre 1970-ben került sor. A részecskék alapvetően a fény terjedésének irányában mozognak. Ashkin azt is kimutatta, hogy a terjedési irányba mutató ún. szórási erőn kívül fellép egy, a fényintenzitás gradienseinek irányába mutató, ezért gradienserőnek nevezett erő, amely a nyalábban tartja a környezeténél nagyobb törésmutatójú részecskéket. Ebben az 1970-es, forradalmi közleményben azt is megmutatta, hogy egymással szemben haladó fókuszált nyalábokkal a részecskék háromdimenziós csapdázása is megvalósítható. A csapdázás technikájában fontos mérföldkő a gyűjtőlencsés megoldás: elegendően nagy numerikus apertúrájú mikroszkóp-objektívekkel lehet olyan fókuszot létrehozni, amelyben a gradienserő meghaladja a szórási erő nagyságát, vagyis csapdázás érhető el. Ezt 1986-ban közölték le. Jelenleg ez a kivétel a legszélesebb körben

használt elrendezés – bár más elrendezéseknek is van létjogosultsága.

Fizikusként először fizikai alkalmazások felé fordult a tudós érdeklődése. Igen hamar felvetette két rendkívül fontos fizikai alkalmazás lehetőségét: 1978-ban arról írt, hogy a lézer fénynyomása alkalmas atomok csapdázására. 1979-ben pedig azt vetette papírra, hogy a csapdázó fényvel lehetséges a csapdázott atomok megfelelő lassítása is, vagyis a direkt hűtés. Ez utóbbi hatás azon a szellemes ötleten alapul, hogy a csapdázó fény és a csapdázott atom rezonáns kölcsönhatását a részecske hőmozgása modulálja a Doppler-effektus révén, így több irányú csapdák frekvenciájának (hullámhosszáinak) megfelelő hangolásával elérhető, hogy a különböző irányból jövő fénynyalábok mind lassítsák a csapdázott atomot, vagyis hőmérsékletének a csökkenését eredményezték. E korai, atom- és molekulafizikára vonatkozó alkalmazások furcsa módon nem szerepeltek a Nobel-díj indoklásában. Valószínűleg ennek az az oka, hogy a két említett alkalmazásnak (a lézeres hűtésnek, ill. atomcsapdázásnak) két korábbi fizikai Nobel-díjban már kulcsszerepe volt. Az 1997-es fizikai Nobel-díjat S. Chu, C. Cohen-Tannoudji és W. D. Phillips kapták a lézeres atomcsapdázás és hűtés megvalósításáért. A lézeres hűtéssel sikerült egy mikrokkelvin foknál alacsonyabb hőmérsékletet elérni. Steven Chu korábban Arthur Ashkin munkatársa volt a Bell Laboratóriumban, nála ismerkedett meg az optikai csapdázással. Nem sokkal később, 2001-ben szintén rokon munkát jutalmaztak Nobel-díjjal: E. A. Cornell, W. Ketterle és C. E. Wieman érdemelték ki döntően a Bose–Einstein-kondenzátum létrehozásáért – e kísérletekben is kulcsszerepe van a lézeres csapdázásnak és hűtésnek. Még az 1920-as években posztulálta Bose és Einstein, hogy ha egy bozongáz atomjai nagyon lehűlnek, hullámfüggvényeik átfedésével újfajta anyagot képeznek, ez a Bose–Einstein-kondenzátum, és ezt sikerült létrehozniuk a kitüntetett tudósoknak. Tekintve, hogy e két említett korábbi Nobel-díj Arthur Ashkin „találmányán” alapult, a szakterület általános véleménye szerint neki is a kitüntetettek között kellett volna szerepelnie akár mind a két esetben.

Azt mondhatjuk, hogy a jelenlegi díj mintegy a korábbi mellőzések kárpótlása is – mindenesetre az idej Nobel-díj rá vonatkozó részében az indoklás a biológiai alkalmazásokat hangsúlyozza. Szerencsére az optikai csapdázás olyan nagy horderejű felfedezés, olyan széles körben alkalmazható különleges hatékonysággal, hogy a jelek szerint egy harmadik fizikai Nobel-díjat is generált. Ezek alapján a biológiai alkalmazás is Arthur Ashkin nevéhez köthető: ő ismerte fel először, hogy biológiai mikrorészecskék is



csapdázhatók ilyen módon. Először mikronnál kisebb méretű biológiai részecskéket, vírusokat próbáltak csapdázni. A kísérletek közben derült ki, hogy (a vizes minták fertőződése nyomán, a felszaporodott baktériumoknak „köszönhetően”) baktériumok is közvetlenül csapdázhatók ily módon.

A következő időkben nyilvánvalóvá vált, hogy a biológiában is rendkívül széles körben használható az eljárás. E ténynek számos oka van. A sejtek, baktériumok mikronos méretűek, ez éppen a látható fény hullámhosszának mérettartománya. A lézercsipesz egyszerűen létrehozható: igazából egy nem túl nagy teljesítményű lézer (néhány 10 mW is elég) és egy jó minőségű, nagy numerikus aperturájú mikroszkóp-objektív a minimális szükséglet. E tételek könnyen elérhetőek, nem drágák. Az optikai csapda kivitelezésének számos útja van: lehet mikroszkópra építeni, a csapdázó lézer bevezetésével, de lehet teljesen függetlenül összeállítani a megfelelő komponensekből, a kísérlet követelményeinek megfelelően. Az optikai csapdával természetesen erőt lehet kifejteni, illetve mérni – hiszen a csapda úgy működik, hogy a csapdázott testre a csapda helyétől való kitéréssel arányos, azzal ellentétes irányú erő hat. Szerencsés helyzet, hogy a mW teljesítményű lézerek kb. pN nagyságrendű erők kifejtésére képesek, és ez éppen megfelel a vízben úszkáló biológiai mikroorganizmusok csapdázására – de ezek a lézerek ugyanígy optimálisak a biológiai erőfejlesztő rendszerek erejének a mérésére vagy a biológiai makromolekulák, sejtek mechanikai tulajdonságainak jellemzésére. Az optikai csapda természeténél fogva a hullámhossz mérettartományába eső testek csapdázására optimális. Sokkal kisebb vagy sokkal nagyobb testek manipulálásához segédeszközöket használnak. Például a biológiai óriásmolekulák túl kicsik a közvetlen optikai manipuláláshoz, ezért ezeknél a rendszereknél mikronos műanyag golyócskákat rögzítenek a molekulákra, és ezeket megragadván, közvetett úton folyik a manipuláció. Sejteket akár bonyolult alakú, fotopolimerizációval előállított manipulátorokkal lehet mozgatni. Ki kell emelni még az optikai manipuláció egy jellegzetes sajátosságát: a kísérletek egyes molekulákon folynak, ezért az információk is egyes molekulákra vonatkoznak. Ha a minta egyforma molekulákból áll, akkor az így nyert információ átlagosan megfelel a makroszkopikus mintának. Olyan esetekben viszont, amikor a mintát alkotó molekulák heterogenitásának is szerepe van – és gyakran ez a helyzet –, alapvető többletinformációt is szolgáltat az eljárás.

Korábban említettük, hogy a környezetükénél nagyobb törésmutatójú, de átlátszó anyagok esetében használható az eljárás. Nagyon fontos, hogy a fény ne nyelődjön el, mert bár az összteljesítmény kicsi, azért a fókuszálás miatt a teljesítménysűrűség nagyon nagy, és kárt tehet a biológiai anyagban. Olyan hullámhosszúságú lézertípust kell használni, ami nem nyelődik el se a vízben, se a mintában; ezek általában a közeli infravörös tartományban működnek.

Az alábbiakban felsorolunk néhány jellemző, lézercsipeszen alapuló eredményt, amelyek áttörést jelentettek a biológiában. DNS-molekulák végeire műanyag golyót rögzítve, azokat manipulátorként használva meghatározták a DNS-polimer mechanikai tulajdonságát: hajlító, torziós rugalmasságát, a rugalmasság határait, hogyan lehet mechanikai úton fázisátalakulásokat létrehozni, denaturálni stb. Meghatározták, hogyan kapcsolódnak a DNS-re a benne rejlő információt kinyerő, DNS-t építő, javító enzimek. Megmérték, mekkorákat lépnek és milyen erőt képesek kifejteni a DNS-polimeráz enzimek. DNS-szekvenciát is sikerült meghatározni a DNS-en lépegető polimeráz mozgásának vizsgálatával. Fehérjék mechanikai tulajdonságait is megmérték, rá-

adásul fehérjék denaturálását is elérték, ugyanígy a gombolyodást is tudták szabályozni mechanikai úton. A biológiai erőfejlesztés molekulái az izmokban az aktin és a miozin. Lézercsipeszrel sikerült meghatározni az aktinszálon lépegető miozin lépéseinek nagyságát, az általa kifejlesztett erőt. Más ilyen erőfejlesztő, lépegető fehérjék (dienin, kinezin) mechanikai paramétereit, energiaátalakítási hatásfokát is így sikerült meghatározni. A nem túlságosan régmúlt érdekes felfedezése, hogy a biológiai mikrovilágban nagyon fontos szerepet töltenek be a forgó biológiai motorok, ilyenek a bakteriális flagellák meghajtói, de az energiaátalakításban szereplő, úgynevezett  $F_0F_1$ -ATPáz motorok is. Ezek felfedezésében, jellemzésében fontos szerepet játszottak az optikai manipulációs eljárások. Egész sejtek vizsgálatában is érdekes új lehetőségeket hozott az eljárás: optikai erőket használva sikerült rákos sejtek és egészséges sejtek megkülönböztetése mechanikai tulajdonságaik alapján. Klinikai kidolgozás alatt van egy szájüregi rákra vonatkozó szűrési eljárás, amely korai detektálást ígér.

E felfedező jellegű kísérleteken túl az aktív manipuláció lehetőségei is végtelenek. Optikai manipulációval lehetséges a sejtek szétválogatása bármilyen mérhető tulajdonságaik alapján. Szövetekben egyéb úton azonosított sejteket lézeres vágással elkülöníthetünk, majd optikai manipulációval szortírozhatunk. Mesterséges megtermékenyítésben is használnak már optikai manipulációt.

A példák is világosan mutatják, hogy a lézerek által nyújtott manipulációs lehetőség rendkívüli távlatokat nyit a kísérleti biológia területén, már eddig is forradalmi újításokkal szolgált, használata egyre terjed, és a jövőben még több ismeretet szerzünk ezen az úton.



Arthur Ashkin, Gérard Mourou, Donna Strickland

**Gérard Mourou és Donna Strickland** követte ki az utat a legrövidebb és legnagyobb intenzitású lézerimpulzusok létrehozásához. Forradalmi jelentőségű tanulmányuk 1985-ben jelent meg. A nagy intenzitású lézerimpulzusok előállítása az általuk kidolgozott fázismodulált impulzuserősítésen (Chirped Pulse Amplification, CPA) alapul. Ennek lényege, hogy az impulzusokat először időben megnyújtják, amivel lecsökkentik a csúcshintenzitásukat. Ezután az impulzusokat erősítik, végül pedig közel eredeti hosszukra nyomják össze őket.

A fázismodulált impulzuserősítés megjelenése a lézerek teljesítményének és intenzitásának drámai növekedéséhez vezetett. Mourou és Strickland felfedezéseinek gyakorlati alkalmazása ma már egyre szélesebb körű, többek közt szemműtétek millióit végzik ennek alapján.

Donna Strickland kanadai tudós mindössze a harmadik nő, akinek odaítélték a fizikai Nobel-díjat. Ezt megelőzően 1963-ban a német-amerikai Maria Goeppert-Mayer, előtte 60 évvel Marie Curie részesült az elismerésben a fizika területén. Érdekesség, hogy a Nobel-díjat kiérdemlő közlemény Donna Strickland legelső tudományos műve volt.

Gerard Morou 2005-ben elsőként javasolta az Európai Unió-



ban, és sikeresen keresztül is vitte, hogy néhány európai ország részvételével hozzanak létre egy nagy energiájú lézer-kutatóközpontot. Így valósul meg és kezd meg működését 2019-re a Cseh

Köztársaság, Magyarország és Románia közreműködésével az Extreme Light Infrastructure (ELI) kutatóközpont, melynek házában a székhelye Szegeden van.

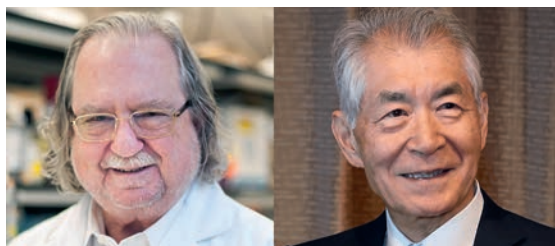
## Spengler Gabriella

■ SZTE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet ■ MTA-SZTE Mikrobiológia és Egészségnevelés Szakmódszertani Kutatócsoport | spengler.gabriella@med.u-szeged.hu

# A rák elleni modern immunterápia

**A** 2018-as orvosi-életteni Nobel-díjat megosztva kapta egy amerikai és egy japán rákkutató, akik olyan új daganatterápiás eljárásokat dolgoztak ki, melyekkel erőteljesebb immunválaszra lehet készíteni a szervezetet a tumorsejtekkel szemben.

**James P. Allison** az 1990-es években a T-limfocitához tartozó CTLA-4 (citotoxikus T-limfocita asszociált antigén-4) fehérjét vizsgálta. A CTLA-4 olyan gátló molekula, amely szabályozza a T-sejthez kapcsolódó immunválaszt. Allison 1996-ban igazolta, hogy ha specifikus antitesttel gátoljuk a CTLA-4 molekulát, akkor fokozódik a tumorelles immunválasz és a tumor kilökődése. A CTLA-4 elleni antitestet (ipilimumab) 2011-ben engedélyezte az USA Élelmiszerbiztonsági és Gyógyszerészeti Hivatala (FDA).



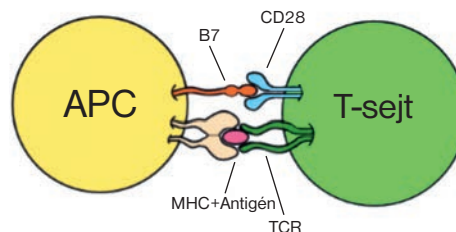
James P. Allison és Tasuku Honjo

**Tasuku Honjo** 1984-től tanulmányozta az immunregulációt, és 1992-ben azonosította a T-sejteken található PD-1 (programozott sejthalál-1) fehérjét, amely a T-sejtes immunválasz negatív regulátora.

A felfedezés jelentőségének megértéséhez tisztában kell lennünk az immunrendszer alapvető működési mechanizmusaival és a T-sejtek szerepével a tumorsejtek elleni immunválaszban. A veleszületett immunrendszer és a szerzett immunitást egymásra építve és összefonódva működik, így biztosítva az idegen struktúrák felismerését és eliminálását. A természetes vagy veleszületett immunválasz kulcsa a granulociták és makrofágok működése, továbbá a veleszületett immunrendszernek alapvető szerepe van az adaptív immunválasz elindításában. Az adaptív immunválaszt a T- és B-limfociták közvetítik, melyek az antigén felismerését követően aktiválódnak. A természetes immunválasz gyors, nem specifikus válaszreakciót eredményez, míg az adaptív immunrendszer aktiválódása elnyújtottabb, specifikus immunválaszt indukál. Az adaptív immunválasz a T-limfociták antigénfelismerő képességéhez kötődik, mivel ezek a T-sejtek ismerik fel az antigénprezentáló sejtek (APC) által felvett és bemutatott antigéneket, amelyek származhatnak egy patogén mikroorganizmusból, fertőzött sejtekből vagy daganatos sejtekből is.

A fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) molekuláinak szerepe van a szövetösszeférhetőség (hisztokompatibilitás) meghatározásában. Ezek a molekulákon múlik, hogy nem lehet egy adott faj egyik egyedének szöveteit egy másik egyedbe átültetni.

Az MHC-molekulák segítségével ismeri fel szervezetünk a saját és nem-saját struktúrákat, továbbá ezek a molekulák alakítják ki a T-sejt készletet is, valamint szabályozzák a fehérjék T-sejtek általi felismerését. Az MHC-molekulák az APC-k felszínén jelennek meg, és az antigén bemutatása során a fehérje-antigének már feldolgozott formáját, vagyis peptidkeket kötnek meg és mutatnak be a felszínükön. A T-sejteken található T-sejt receptor (TCR) liganduma az APC felszínén megjelenő peptid-MHC komplex. Ez a kölcsönhatás biztosítja a T-sejt számára az aktivációs jelet, az első szignált. Ez a szignál azonban önmagában még nem váltja ki a T-sejtek aktiválódását, szükség van egy második szignálra is, melyet az aktivált hivatásos APC-k felszínén kifejeződő adhéziós és kostimulációs molekulák közvetítenek. Az aktivált APC és a T-limfocita kölcsönhatása jelmolekulák (citokinek) termelését váltja ki, ami harmadik jelként erősíti a T-sejtek aktiválódását (**1. ábra**). Az aktivációs eseménysorozat az immunsejtek osztódását és differenciálódását eredményezi, és így lehetővé válik az effektor T-sejtek segítségével a szervezetre veszélyes antigének ártalmatlanítása.



**1. ábra.** A T-sejtek aktiválásához szükséges jelek. Az első szignál a T-sejt receptor (TCR) és a peptid-MHC kölcsönhatása, a második szignál pedig a CD28 segítségével történő kostimuláció

A daganatsejtek azonban számos olyan trükköt alkalmaznak, melyekkel rejtve maradnak az immunrendszer sejtjei elől. Például a tumorsejtek korlátozott mértékben vagy nem fejeznek ki a sejtfelszínén MHC-I molekulákat, vagy olyan gátló jelmolekulákat termelnek, melyek elnyomják a tumorokat pusztító T-sejteket, illetve odavonhatnak gátló immunsejteket is (regulátor T-sejt vagy Treg), így a tumorsejtek megmenekülhetnek.

A T-sejtek aktivációja során számos immunellenőrzési pont működik, amely negatív regulátor molekulák segítségével leállítja a T-sejteket, így tumorelles immunválasz esetén „kikapcsolja” az aktivált T-sejteket. Ez a mechanizmus alapvetően az autoimmunitás kivédésére és a tolerancia fenntartására szolgál, viszont a tumorelles immunválaszban megakadályozhatja a hatékony és hosszú ideig fennálló T-sejtes immunválaszt.

Az immunellenőrzési pontok megértéséhez ismernünk kell a T-sejtek szerepét a tumorelles védelemben. Egyrészt a T-sejtek olyan receptorokat fejeznek ki (TCR), amelyek képesek a sejtfel-