
Rekombináns és összejtekben termeltetett TRAIL apoptotikus hatása rhabdomyosarcoma sejtekre

Doktori tézisek

Barti-Juhász Helga

Semmelweis Egyetem

Patológiai Tudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Peták István, tud. főmunkatárs, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Prof. Szondy Zsuzsa, egyetemi tanár, az MTA doktora
Dr. Csóka Mónika, egyetemi docens, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Fekete György, egyetemi tanár, az MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Prof. Kulka Janina, egyetemi tanár, Ph.D.
Dr. Orosz Zsolt, főorvos, Ph.D., Habil.

Budapest, 2012.

I. BEVEZETÉS

A rhabdomyosarcoma (RMS) a leggyakoribb gyermek és ifjúkori lágyrész daganat és disszeminált stádiumban a gyógyulás esélyei rosszak. Új terápiás lehetőségek kutatására lenne szükség. Peták és mtsai kimutatták, hogy az általuk vizsgált 7 RMS sejtvonalban kifejeződik a TRAIL DR5 receptora és jelentős részük (7-ből 4) *in vitro* körülmények között oligomerizált TRAIL kezelésre a teljes sejtpoptulációt érintő apoptózissal válaszol. Vizsgálataik szerint az RMS sejtvonalak TRAIL érzékenysége jól korrelál a kaszpáz-8 proteáz expressziós szintjével.

TRAIL alapú terápiás terméket több biotechnológiai cég és gyógyszer-gyár is fejleszt, melyek a klinikai kipróbálás különböző fázisaiban tartanak. Ezek között a rekombináns human TRAIL (dulanermin) monoterápiában előrehaladott szolid daganatok esetén fázis I, kombinációban fázis II vizsgálatokon esett át. Az eddigi klinikai vizsgálatok azonban nem hoztak átütő sikert, monoterápiában 71 kezelt betegből kétfő esetében tapasztaltak tartósan részleges választ, és két betegnél a daganat gyors lízise okozott súlyos mellékhatást. A DR4 és DR5 agonista ellenanyagok szintén fázis II vizsgálatban tartanak. Preklinikai vizsgálatok eredményeire alapozva az RMS is része annak, a fázis I/II vizsgálatnak, mely az anti-DR5 antitest (drozitumab) kezelése klinikai hatását nézi gyermekkori sarcomák esetében.

Ahhoz, hogy a TRAIL és a TRAIL-R antagonistá ellenanyagok daganatellenes hatását fokozni tudjuk, meg kell ismernünk a TRAIL-R-okhoz kapcsolódó jelpályákat, annak érzékenyítő és rezisztenciát okozó elemeit, hogy megfelelő diagnosztikai eljárással kiválasztható legyen a terápiára alkalmas beteg csoport vagy a rezisztenciát legyőző kombinált kezelés.

A TRAIL egy II-es típusú transzmembrán fehérje, melyet egy sejtfelszíni cisztein proteáz hasít le szolúbilis formára (114-281 aminosav), aktív formája trimerizált. Daganatok terápiájában a halálligandok közül a TRAIL felhasználása tűnik legalkalmasabbnak, mivel igen sok, különböző eredetű malignus sejtvonal esetében írtak le TRAIL érzékenységet, azonban normál szövetek nem érzékenyek rá és állatkísérletekben sem volt toxikus a használata. A TRAIL-nek két, teljes haláldoménrel rendelkező receptora van: a DR4 és DR5, melyek képesek apoptotikus jelet közvetíteni. Ezen kívül két új csalétek receptora (DcR1 és DcR2) és egy szekretált receptor forma (OPG) létezik. A TRAIL homotrimer ligand kapcsolódása után a DR4/DR5 receptorok intracelluláris részéhez kapcsolódik a FADD, a kaspáz-8 és kaspáz-10 vagy a gátló c-FLIP, létrehozva a DISC (death initiation signal complex) szignál komplexet. Az I-es típusú sejtekben elegendő mennyiségű kaspáz-8 aktiválódik, ami közvetlenül aktiválja a végrehajtó kaspázokat legyőzve az kaspázellenes XIAP hatását. A II-es típusú sejtekben a kaspáz-8 aktivitás alacsonyabb intenzitással próbálja beindítani a kaspázkaskádót, amit az XIAP fehérje még képes blokkolni, ezért további jelerősítő mechanizmusra, a mitokondriális út bekapcsolására van szükség. A mitokondriális úton az apoptotikus szignált a Bcl-2 család proapoptotikus és antiapoptotikus tagjai szabályozzák. A II-es típusú sejtekben Bcl-2 vagy Bcl-X_L overexpresszióval mitokondriális utat gátolni lehet, aminek következtében elmarad az apoptózis lejátsszódása.

A proteaszómagátlók TRAIL érzékenyítő hatásáról viszonylag sokat tudunk háms eredetű daganatokban, ezekben a jelpálya számos résztvevőjének expresszióját kedvezően, proapoptotikus irányába tolja el. Proteaszómagátló-szerek a DR4 és DR5 receptor számának növelésével, a DISC kialakulásának elősegítésével, a c-FLIP molekula expressziójának csökkentésével és a kaspáz-8 bomlásának gátlásával hatnak az apoptózis

külső útjára. A mitokondriális útra a Bim és/vagy Bik felhalmozódásán, a Bax és a tBid stabilitásának növelésén és a Bcl-2, Bcl-X_L termelődés gátláson keresztül hat többek között. Emellett a gátolja az NF- κ B túlélési faktor aktivációját, ezen keresztül pedig a XIAP termelődését csökkenti, így is érzékenyítve a TRAIL indukált apoptózisra. Szarkómákról csak elvétve vannak eredmények, azok is Ewing szarkómák esetében. A proteaszómagátlók között az első klinikumban is használt szer, a peptidboronátok közé tartozó bortezomib.

Kimutatták, hogy a membránkötött és a szolúbilis TRAIL formák jelút aktiváló hatása között különbségek vannak. A DR5 receptorról, ellentétben a DR4-gyel, csak membránkötött vagy ellenanyaggal keresztükötött TRAIL ligand kötődése esetén indul el a jelút. Mivel a rhabdomyosarcoma sejtvonalakon elsősorban DR5 expressziót muattak ki, felvetődik annak lehetősége, hogy a TRAIL-t sejtekben expresszálva membránkötött formában juttassuk a daganat sejtekhez. A mesenchymalis őssejtek azon tulajdonsága, hogy képesek tumorba illetve annak környezetébe vándorolni emellett állatkísérletek, és klinikai vizsgálatok is igazolják, hogy az MSC-k allogén, esetenként xenogén recipiensbe oltva sem váltanak ki immunválaszt (hipoimmunogének), alkalmassá teszi őket, hogy genetikailag módosítva TRAIL célbajuttatására legyenek felhasználhatóak.

II. CÉLKITÚZÉSEK

1. Rhabdomyosarcoma sejtvonalak estén a szolúbilis r.h. TRAIL[114-281] hatását szeretnénk javítani a rezisztenciája lehetséges mechanizmusainak feltárásával és a rezisztencia felfüggesztését eredményező kombinációs kezelések alkalmazásával.
 - a.) Észrevettük, hogy a TRAIL-nek ellenállóbb RD sejtekben emelkedett a Bcl-2 protein kifejeződése. Azt kérdeztük, hogy vajon az RD sejtek esetében Bcl-2 termelődése valóban rezisztencia tényező-e.
 - b.) A proteaszóma gátlásával lehetséges-e a Bcl-2 közvetítette apoptózis-rezisztencia felfüggesztése rhabdomyosarcoma sejtekben?
 - c.) Másfajta, TRAIL-receptor közeli rezisztenciával rendelkező rhabdomyosarcoma sejtvonalak TRAIL érzékenységét is fokozni lehet-e proteaszómagátlással?
2. MSC sejtekben kifejezett TRAIL hatásának vizsgálata daganatos sejtekre
 - a.) A trimerizációs doménnel rendelkező szekretálódó (ILZ-TRAIL) és a teljes TRAIL szekvenciát tartalmazó expressziós vektorok tervezése és elkészítése.
 - b.) Nukleoporációs génbevitel alkalmazása MSC sejtekkel és a TRAIL gének expressziójának vizsgálata.
 - c.) A TRAIL- expresszió apoptotikus hatása az MSC sejtekre és a velük közös sejtkultúrában tartott daganatsejtekre (RD és HeLa carcinoma).

III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

III. 1. Sejttenyésztés

Az RD, RD-GFP, RD-Bcl2 és Rh41 rhabdomyosarcoma sejt vonalakat RPMI 1640 + 10% FBS médiumban, a HeLa sejt vonalat pedig DMEM + 10 % FBS + 1% pen/strp médiumban tenyésztettük. 24 lyukú tálcán végeztük a kezeléseket, a sejteket proteaszómagátló LLnL-lel (1 μ M, 60p.) és bortezomibbal (Bzb) (1 μ M, 30 nM 30p.) előkezeltünk, majd h.r. TRAIL-lel (25 ng/ml, 24 óra) indukáltunk apoptózist.

III. 2. TRAIL gént tartalmazó vector konstrukciók készítése

Az ILZ-TRAIL génkonstrukció készítéséhez megterveztük a 223 bp hosszú szintetizálendő szakaszt, majd az ehhez “építőköckaként” használt oligonukleotidokat megrendeltük. A génszintézis során duális aszimmetrikus, átfedéssel-növekvő és teljes hosszúságú terméket amplifikáló PCR technikákat használtunk (DA-PCR, OE-PCR, FA-PCR), így hoztuk létre a 223 bp hosszú szintetizált részből és a TRAIL extracelluláris részéből álló szekvenciát, amit expressziós vektorba klónoztunk. Emelett készítettünk egy teljes TRAIL-t tartalmazó expressziós vektort is. A TRAIL szekvencia forrásaként ill az elkészült szekvenciák klónozásához a pORF-hTRAIL, pCR-Blunt II-TOPO, pcDNA3.1/V5His-TOPO vektorokat alkalmaztuk. Az elkészült szekvenciákat ABI Prism 310 automata kapilláris szekvenáló készülékkel ellenőriztük.

III. 3. MSC sejtek izolálása tenyésztése és nukleofekciója

A karakterizált mesenchymalis őssejteket csontvelőből és zsírszövetből izoláltuk. A mononukleáris sejteket sűrűség gradiens centrifugálással szeparáltuk, a mesenchymalis őssejteket adherenciájuk alapján különítettük el. A sejteket DMEM (1000 mg/ l glu) + 10 % FBS

médiumban tenyésztettük. Az MSC sejteket a kémiai transzfekciót és az elektroporációt ötvöző nukleofekcióval (AMAXA-nukleofektor) transzfektáltuk. A nukleofekció hatékonyságát pmax-GFP kontroll vektorral transzfektált mintákban fluoreszcens mikroszkóppal és áramlásos citometriával ellenőriztük.

III. 4. Daganatsejtek és MSC sejtek együtt-tenyésztése

Az együtt-tenyésztéseket a sejtek közvetlen kapcsolatát megengedő módon és szeparált tenyésztő edényben végeztük.

A BM-MSC sejteket a teljes TRAIL tartalmazó vektorral nukleofektáltuk és 6 lyukú tálcán tenyésztettük együtt RD sejtekkel vegyes médiumban. A sejteket 5 nap elteltével Bürker kamrában számoltuk meg. Az áteresztő tálcás kísérletekben (Corning transwell, 0,4 µm) ILZ-TRAIL-t és teljes TRAIL-t tartalmazó vektorral nukleofektált BM-MSC sejteket és RD sejteket tenyésztettünk együtt, majd 24 óra elteltével az apoptotikus subG1 sejteket áramlásos citometriával határoztuk meg.

Az AD-MSC-TRAIL sejteket HeLa sejtekkel tenyésztettük együtt normál vagy szeparált tenyésztőtálcán (Corning transwell, 0,4 µm) 1:1, 1:2 és 1:5, T:E arányban. A pusztult sejtek arányát PI festés után áramlásos citometriával határoztuk meg.

III. 5. Apoptotikus DNS fragmentáció vizsgálata áramlásos citometriával

Az apoptózis során a DNS nukleoszómális fragmentációja figyelhető meg. A kezelt mintákat etanolban fixáltuk, majd a fragmentált DNS-t extraháló puffer segítségével vontuk ki. Ennek következtében az apoptotikus sejtek DNS tartalma alacsonyabb lett, mint az élő sejteké. A minták DNS tartalmát DNS kötő, fluoreszcens festék (propidium jodid-PI) hozzáadásával mértük áramlásos citométeren (FACSCalibur, Becton Dickinson).

III.6. Immunfenotipizálás

Az AD-MSK sejteket immunfenotipizálását az alábbi monoklonális antitestekkel jelölték kollaborációs partnereink: PerCP-anti-CD45, APC-anti-CD14, PE-anti-CD34, PE-anti-CD90, PE-anti-CD73, PE-anti-CD105. Transzfekció után az AD-MSK-TRAIL, AD-MSK-GFP, AD-MSK sejteket PE-anti-TRAIL, PE-anti-TRAIL-R1, PE-anti-TRAIL-R2 és izotípus kontroll antitesteket használtunk.

III. 7. Western-blot

A kezelt sejtekből készített fehérjelizátumokat poliakrilamid gél-elektroforézissel választottuk szét, PVDF membránra blottoltuk és anti-Bcl-2, anti-hTRAIL és anti- β -aktin elsődleges ellenanyaggal inkubáltuk. Az előhíváshoz Vectastain ABC-kit-et és ECL-t használtunk. A blotok fényintenzitását géldokumentációs rendszerrel detektáltuk és a képeket ImageJ szoftverrel denzitometráltuk.

III. 8. ELISA

Az ILZ-TRAIL vektorral és a teljes TRAIL vektorral nukleofektált MSK sejteket letapadás után 4 napig tenyésztjük, a felülúszóból naponta ill. a 4. nap végén TRAIL/TNFSF10 ELISA DuoSet kittel határoztuk meg a termelt szolúbilis TRAIL mennyiségét.

III. 9. Statisztika

Sejtelhalás tekintetében a kombinált farmakon kezelések szinergiáját jellemző egyszerű szinergia factor (SF) számításokat végeztünk. A statisztikai kiértékeléshez hasonló szórást adó minták esetében homocedasztikus, míg a jelentősen eltérő szórású minták összehasonlításához nem-homocedasztikus kétszárnyú t-próbát végeztünk, $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

IV. EREDMÉNYEK

IV. 1. A TRAIL és proteaszómagátló-szerek szinergikus apoptózist indukálnak rhabdomyosarcoma sejteken

h.r. TRAIL-lel (114-281 as.) végeztünk 24 órás kezeléseket az RD sejtvonalon. A TRAIL 50%-ban hatásos koncentrációja, $EC_{50} \approx 25$ ng/ml volt és az RD sejtek túlnyomó többsége (~90%) elhalt 200 ng/ml feletti TRAIL-től. A TRAIL kezelést (25 ng/ml) túlélő RD sejtekben a Bcl-2 fehérje expressziója közel kétszeresére fokozódott. Számos sejttípus esetében ismert, hogy a proteaszómagátló szerek képesek érzékenyíteni a daganatsejteket a TRAIL indukálta apoptózisra, ezért az RD sejteket proteaszómagátló-szerekkel (LLnL, bortezomib) kezeltük kombinációban TRAIL-lel a hatás additív vagy szinergikus volt sejtelhalás tekintetében. Emellett a proteaszómagátlók gátolják a spontán vagy TRAIL indukált Bcl-2 kifejeződést.

A Bcl-2 fehérje szerepét vizsgálva a TRAIL rezisztencia kialakulásában, retrovírus transzfekcióval létrehoztunk egy Bcl-2-t stabilan túltermelő sejtvonalat és annak izogenikus kontroll párját (RD-Bcl-2, RD-GFP). A RD-Bcl-2 rezisztens lett TRAIL-re, proteaszómagátlók használatával viszont ez legyőzhető.. A kombinált kezelések magas szinergia faktor eredményeket adtak LLnL esetében $SF_{LLnL}=2.4$, míg bortezomib esetében $SF_{Bzb1\mu M}=14.9$ és $SF_{Bzb 30nM}=4.6$.

A kombinált kezelések mechanizmusát keresve kíváncsiak voltunk, hogy a hatás kaszpáz-függő vagy -független-e. A TRAIL és bortezomib kezelések mellé zVD.fmk kaszpázgátlót használva elmaradt az apoptózis az RD-GFP és az RD-Bcl-2 sejtvonalakban is így a bortezomib és a TRAIL kombinációja kaszpáz-függő úton kerüli meg a Bcl-2 apoptózis gátló hatását.

A TRAIL-rezisztens Rh41 rhabdomyosarcoma sejtvonalon alacsony koncentrációjú bortezomib kezelést alkalmazva szinergikusan fokozható a TRAIL hatása.

IV. 2. TRAIL szekvenciákat tartalmazó vector konstrukciók készítése és funkcionális összehasonlítása MSC sejtekben

Két humán TRAIL szekvenciát tartalmazó vektor konstrukciót készítettünk, egyik a teljes vad típusú TRAIL-t tartalmazza, a másikban egy általunk szintetizált részhez kapcsolódik a TRAIL extracelluláris része. Ez utóbbi konstrukció humán növekedési hormon szekréciós szignált, egy konszenzus furin proteáz hasítási helyet és izoleucin zipper szekvenciát tartalmaz, ami szekretálódó trimerizációra hajlamos TRAIL változatot (ILZ-TRAIL (114-281)) eredményez. A vektor konstrukciókat nukleofekcióval juttattuk az MSC sejtekbe, 24 óra elteltével igen magas ($52\pm 17\%$) volt a transzfektáltak aránya.

A TRAIL konstrukciókat tartalmazó vektorokkal nukleofektált MSC sejtek felülúszójában ELISA módszerrel határoztuk meg a szolúbilis TRAIL mennyiségét. A teljes TRAIL-t kifejező MSC-k napi 6-8 ng/ml TRAIL szolubilizáltak, míg az ILZ-TRAIL(114-281) konstrukcióval 112 pg/ml termelést tudunk kimutatni 4 nap alatt. Daganatölő hatásukat is összehasonlítottuk transz-well kísérletekben, RD sejteket és a transzfektált MSC sejteket együtt tenyésztve oly módon, hogy az élősejt-célsejt közvetlen kontaktusát elkerüljük. A nukleofektált MSC-k kismértékű daganatsejt pusztulást eredményezett, de egyik TRAIL konstrukciót hordozó MSC kultúra sem okozott szignifikáns hatást az RD sejteken.

IV. 3. A teljes TRAIL transzgént kifejező csontvelői és zsírszöveti eredetű mesenchymalis stróma/ős-sejtek (MSC) daganatellenes hatásúak in vitro.

Csontvelői eredetű MSC kultúra TRAIL érzékenységét vizsgáltuk, 24 órás r.h. TRAIL(114-281) kezelést követően nem tudtunk apoptózist kimutatni. A teljes TRAIL-t tartalmazó vektorral nukleofektált sejtekben western blottal ellenőriztük a TRAIL expresszióját. Közvetlen sejt-sejt interakciót megengedő együtt-tenyésztéses vizsgálatok az azt tapasztaltuk, hogy az bmMSC-TRAIL sejtek jelentős mértékben (84%) gátolták az RD sejtek szaporodását (T:E=4:1).

AZ AD-MSC sejtek esetében a TRAIL transzfekció retrovírussal történt, a TRAIL termelést immunfestéssel és a tenyészet felülúszójában ELISA vizsgálattal ellenőriztük. Az AD-MSC-TRAIL sejtek direkt sejtkontaktus megengedő együtt-tenyésztéses vizsgálatban 62% sejtelhalást eredményezett a TRAIL érzékeny HeLa sejtekben (T:E=1:5), melyet TRAIL agonista ellenanyaggal jelentősen csökkenteni lehetett. Transz-well kísérletekben a legmagasabb célsejt-effektor aránynál (T:E=1:5) szignifikánsan emelkedett az elhalt HeLa sejtek aránya, de az nem érte el a direkt kontaktus során tapasztalt egyharmadát sem.

Áramlásos citometriai mérések szerint az AD-MSC sejtek nem fejezik ki a TRAIL-R1-et de a TRAIL-R2-t igen, aminek expressziója fokozódott. proteaszómagátló bortezomib (50 nm) hatására. Az MSC sejtekben TRAIL és bortezomib kezelést követően kismértékű, de szignifikáns emelkedést tapasztaltunk az elhalt sejtek arányában.

V. KÖVETKEZTETÉSEK

1. A szolúbilis, rekombináns TRAIL[114-281] (dulanermin) RMS sejteken kifejtett hatásairól a következőket állapíthatjuk meg:

a.) A TRAIL kezelt RD sejtekben a megnövekedett Bcl-2 hozzájárul a túlélő sejtek apoptózis gátlásához. Ebből arra következtethetünk, hogy az RD II-es típusú sejt, vagyis az apoptózis lejátszódásához szükség van a mitokondriális út aktiválódására is.

b.) A Bcl-2 közvetített rezisztenciát fel lehet függeszteni proteaszómagátló-szerek használatával. Feltételezésünk szerint a sejtekben az apoptózis lejátszódása II-es típusról I-esre vált.

2. A mesenchymalis őssejtekbe (MSC) juttatott TRAIL génkonstrukciók daganatsejt-ölő tulajdonságairól a következőket állapíthatjuk meg:

a.) Mind a csontvelőből, mind a zsírszövetből előállított, TRAIL-lel transzfektált MSC sejtek gátolják a daganatsejtek növekedését *in vitro*.

b.) A nukleoporáció és a retrovirális géntranszfer is alkalmas módszer a TRAIL génnek az MSC sejtekbe juttatására és funkcionális kifejeződésére.

c.) A TRAIL-t expresszáló MSC sejtek daganatsejt-ölő tulajdonságát jelentősen fokozza a célsejttel való közvetlen kontaktus.

d.) Proteaszómagátlás hatására az MSC sejtek is érzékenyebbé válnak a TRAIL-indukált apoptózisra, akár bystander módon funkcionál a maguk termelte TRAIL vagy rekombináns formában adjuk kívülről hozzájuk. Ezért a transzgenikus TRAIL-t expresszáló MSC és a proteaszómagátlás kombináció daganatellenes hatékonyságát további kísérletekkel kell még vizsgálni.

VI. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A disszertációhoz témájában megjelent közlemények

1. **Barti-Juhász H**, Mihalik R, Nagy K, Grisendi G, Dominici M, Petak I. Bone marrow derived mesenchymal stem/stromal cells transduced with full length human TRAIL repress the growth of rhabdomyosarcoma cells in vitro. *Haematologica*. 2011 Mar;96(3):e21-2.
2. Grisendi G, Bussolari R, Cafarelli L, Petak I, Rasini V, Veronesi E, De Santis G, Spano C, Tagliazzucchi M, **Barti-Juhász H**, Scarabelli L, Bambi F, Frassoldati A, Rossi G, Casali C, Morandi U, Horwitz EM, Paolucci P, Conte P, Dominici M. Adipose-derived mesenchymal stem cells as stable source of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand delivery for cancer therapy. *Cancer Res*. 2010 May 1;70(9):3718-29. Epub 2010 Apr 13.

Egyéb témában megjelent közlemények

1. Nagy K, Székely-Szüts K, Izeradjene K, Douglas L, Tillman M, **Barti-Juhász H**, Dominici M, Spano C, Luca Cervo G, Conte P, Houghton JA, Mihalik R, Kopper L, Peták I. Proteasome inhibitors sensitize colon carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis via enhanced release of Smac/DIABLO from the mitochondria. *Pathol Oncol Res*. 2006;12(3):133-42. Epub 2006 Sep 23.
2. Pintér Ferenc, Várkonyi Edit, **Barti-Juhász Helga**, Árvai Kristóf, Órfi Zoltán, Peták István. Az epidermális növekedési faktor receptor

jelátviteli útvai és molekuláris biológiája. The signal transduction and molecular biology of epidermal growth factor. Orvosképzés 2009 LXXXIV éf. 3:163-170

3. **Helga Barti-Juhász**, András Pazsitka, Istvan Petak, Rudolf Mihalik. Altered Expression of a Broad Range of Protease Genes in SH-SY5Y Neuroblastoma Cells after Bortezomib Exposure Biochemica, 2009; 4: 24-26.
4. Balázs Jóri, **Helga Barti-Juhász**, András Pazsitka, Matan Siterman, István Peták. Expression Analysis of ABC Transporters in Lung Cancer Cell Lines Using a RealTime ready qPCR Focus Panel Biochemica, 2009; 4: 27-28.
5. **Helga Barti-Juhász**, András Pazsitka, Balázs Jóri, Kristóf Árvai, Dániel Erős, György Kéri, István Peták¹, Rudolf Mihalik. Altered Expression of a Broad Range of Protease Genes in SH-SY5Y Neuroblastoma Cells after Bortezomib Treatment. Cancer res application note 2010
6. Arvai K, Nagy K, **Barti-Juhász H**, Peták I, Krenács T, Micsik T, Végső G, Perner F, Szende B. Molecular Profiling of Parathyroid Hyperplasia, Adenoma and Carcinoma. Pathol Oncol Res. 2011 Dec 24. [Epub ahead of print]