

Závěrečná zpráva grantového projektu IGA MZ ČR, interní číslo NS/9652-4:
Identifikace nových molekulárních signálních drah v procesu alelické exkluze;
chronická lymfocytární leukémie jako modelový systém

2.4. TECHNICKÁ PODPORA A VYBAVENÍ LABORATOŘE

Laboratoře hlavního řešitele i spoluřešitele jsou vybaveny vším laboratorním zařízením, potřebným k úspěšnému uskutečnění projektu (PixCell laser captured microdissection, standardní PCR cyclery, Real-Time PCR cyclery, automatický DNA sekvenátor, zařízení pro tkáňové kultury a molekulární klonování, flow cytometr).

2.5. LITERATURA

1. Busslinger M. Transcriptional control of early B cell development. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:55-79.
2. Chowdhury D, Sen R. Mechanisms for feedback inhibition of the immunoglobulin heavy chain locus. *Curr Opin Immunol.* 2004;16:235-240.
3. Martensson IL, Rolink A, Melchers F, Mundt C, Licence S, Shimizu T. The pre-B cell receptor and its role in proliferation and Ig heavy chain allelic exclusion. *Semin Immunol.* 2002;14:335-342.
4. Mostoslavsky R, Singh N, Tenzen T, et al. Asynchronous replication and allelic exclusion in the immune system. *Nature.* 2001;414:221-225.
5. Kraus M, Pao LI, Reichlin A, et al. Interference with immunoglobulin (Ig)alpha immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM) phosphorylation modulates or blocks B cell development, depending on the availability of an Igbeta cytoplasmic tail. *J Exp Med.* 2001;194:455-469.
6. Baba Y, Hashimoto S, Matsushita M, et al. BLNK mediates Syk-dependent Btk activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:2582-2586.
7. Schweighoffer E, Vanes L, Mathiot A, Nakamura T, Tybulewicz VL. Unexpected requirement for ZAP-70 in pre-B cell development and allelic exclusion. *Immunity.* 2003;18:523-533.
8. Fuxa M, Skok J, Souabni A, Salvagiotto G, Roldan E, Busslinger M. Pax5 induces V-to-DJ rearrangements and locus contraction of the immunoglobulin heavy-chain gene. *Genes Dev.* 2004;18:411-422.

Závěrečná zpráva grantového projektu IGA MZ ČR, interní číslo NS/9652-4:

2 Identifikace nových molekulárních singnálních drah v procesu alelické exkluze; chronická lymfocytární leukémie jako modelový systém

9. Kosak ST, Skok JA, Medina KL, et al. Subnuclear compartmentalization of immunoglobulin loci during lymphocyte development. *Science*. 2002;296:158-162.
10. Rassenti LZ, Kipps TJ. Lack of allelic exclusion in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med*. 1997;185:1435-1445.
11. Xu, D. Dual surface immunoglobulin light-chain expression in B-cell lymphoproliferative disorders. *Arch. Pathol. Lab Med*. 2006; 130: 853-856.
12. Veiby OP, Lyman SD, Jacobsen SE. Combined signaling through interleukin-7 receptors and flt3 but not c-kit potently and selectively promotes B-cell commitment and differentiation from uncommitted murine bone marrow progenitor cells. *Blood*, 1996 Aug 15;88(4):1256-1265.

3. VÝSLEDKY:

Práce na projektu probíhaly v souladu s navrhovaným plánem. Cílem projektu pro rok 2009 bylo vytipovat CLL s alelickou inkluzí pomocí průtokové cytometrie a PCR analýzy na jedné buňce. Vzorky pacientů s alelickou inkluzí byly analyzovány pomocí Affymetrix Human Exon 1.0 ST arrays, ve spolupráci s Affymetrix Core Facility na Ústavu molekulární genetiky AV ČR, Praha.

Flow-cytometrická analýza byla provedena na pracovišti spoluřešitele. Níže jsou zesumarizovány výsledky, které podporují předpokládanou monoklonalitu všech analyzovaných bilalelických CLL vzorků.

Flow cytometric analysis of viably frozen peripheral blood samples from B-CLL patients with two identified clonal IgV_H transcripts (allelic inclusion):

- Frozen peripheral blood mononuclear cells, all patients with high levels of B-CLL cells (80-90% B-lymphocytes)