

7. ZÁVĚR

Výsledky dosažené v této práci lze shrnout následujícím způsobem:

Ve snaze vytvořit nové, dosud nedostupné druhově specifické monoklonální protilátky jsme imunizovali myši jednak rekombinantním proteinem, jednak živými mononukleárními buňkami kostní dřeně. Buněčná fúze dala vzniknout stovkám hybridomových klonů, které byly testovány na produkci protilátek proti příslušným antigenům. Přes veškerou snahu se však nepodařilo vytvořit monoklonální protilátku, rozeznávající nové, unikátní epitopy.

Pomocí panelu monoklonálních protilátek byla detailně studována exprese B buněčných znaků v různých stádiích B lymfopoézy. Za hlavní diferenciací znak B buněčné linie jsme přitom považovali molekulu CD79 α , která se vyskytuje již ve stadiu pro-B buněk. Potvrdili jsme expresi CD2 na B buněčných prekurzorech, pravděpodobně již od stadia pro-B, čímž exprese CD2 předchází povrchové expresi μ řetězce. Zároveň jsme prokázali různé úrovně exprese μ v závislosti na ontogenetickém stadiu B buněk. Frakce velkých (FSC^{hi}) s nízkou expresí μ zároveň reagovala s protilátkou 27.7.1. (anti- λ). To nás vedlo k vyslovení teorie, že protilátka pravděpodobně reaguje s proteinem λ 5, který je součástí pre-B receptoru a jedná se tedy o velké pre-B buňky. Pomocí protilátky proti SWC3 se nám pak podařilo identifikovat velmi časně prekurzory B buněk na pomezí pro- a pre-B buněk. Sledováním lokalizace těchto prekurzorů ve fetálním těle jsme potvrdili ontogenetickou časovou a funkční posloupnost umístění hlavních B lymfopoetických center ve žlutkovém vaku, fetálních játrech a nakonec v kostní dřeni. Část lymfoidních prekurzorů nicméně zřejmě putuje zcela volně fetálním tělem.

Hypotézy vzniklé při výzkumu B lymfopoézy prasat jsme následně ověřovali expresí analýzou mononukleárních buněk kostní dřeně psů různého stáří. Díky existenci specifické protilátky anti-CD34 bylo možno prozkoumat i nejranější stadia B-lymfopoézy psů. Protože zároveň psí mononukleární buňky kostní dřeně křížově reagují s anti-prasečí protilátkou proti SWC3, bylo možné pozorovat expresi této klíčové molekuly u CD34 pozitivních buněk. Tyto testy potvrdily, že všechny CD34 pozitivní mononukleární buňky psí kostní dřeně zároveň nesou na svém povrchu molekulu SWC3. To prokazuje, že SWC3 lze použít jako specifický znak ontogeneticky časných stadií lymfopoézy.