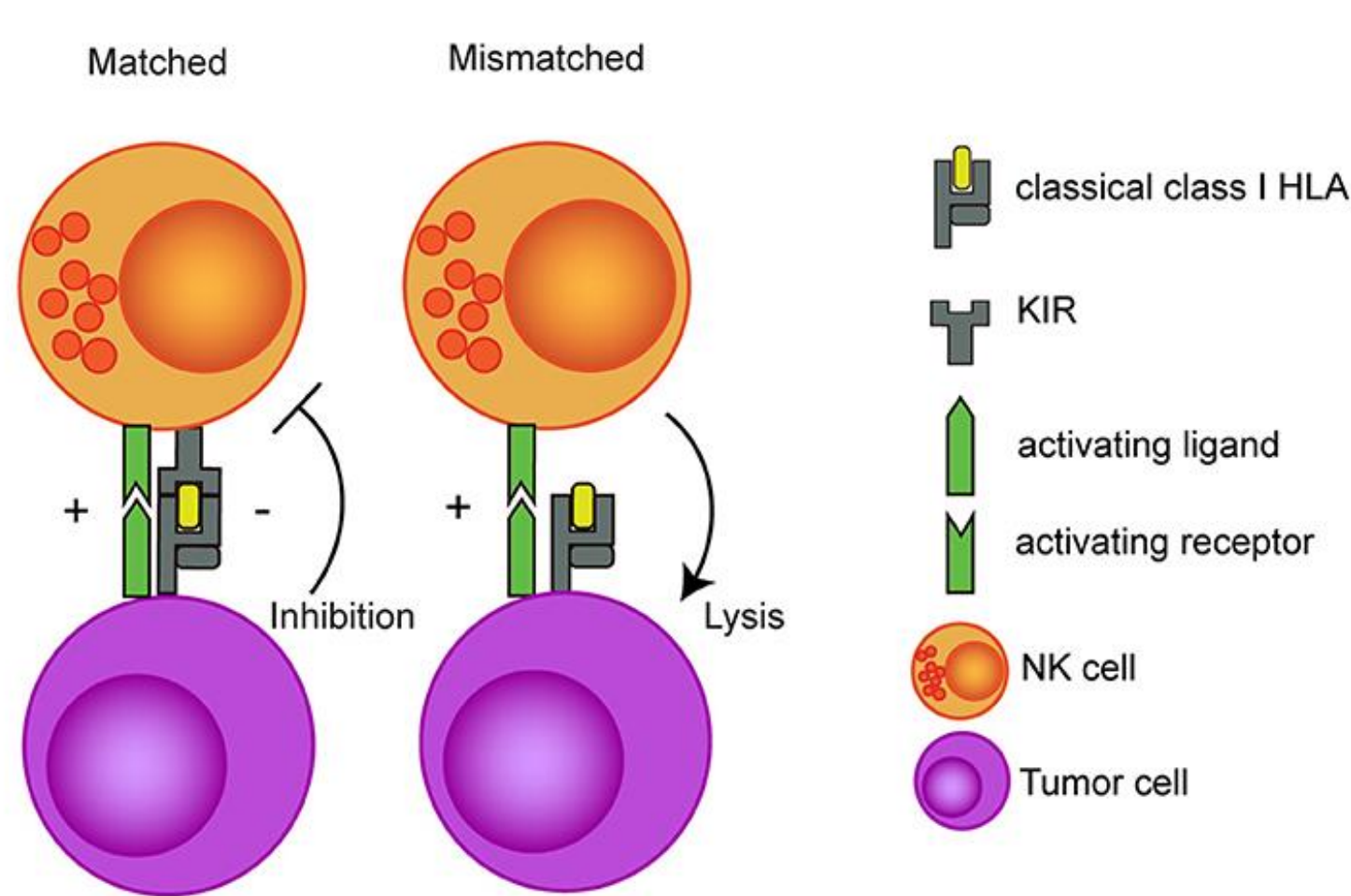


## ÚVOD

Killer-cell immunoglobulin-like receptory (KIR) jsou skupinou povrchových transmembránových proteinů a jsou odpovědné za aktivaci nebo inhibici funkce NK buněk. 14 KIR genů a 2 pseudogeny je diferencováno v celkem 977 alel, které jsou kombinované do specifických haplotypů. Polymorfismus KIR genů může ovlivnit sílu inhibičního signálu nebo úroveň povrchové exprese a ovlivňovat tak chování NK buněk. Vzhledem k důležité funkci NK buněk u hematopoetických transplantací, kde může přítomnost/nepřítomnost KIR genu ovlivnit výsledek transplantace, se stala KIR genotypizace velmi důležitou součástí mechanismu vyhledání vhodného dárce pro pacienty indikované k alogenní transplantaci hematopoetických buněk.



Obrázek č. 1:

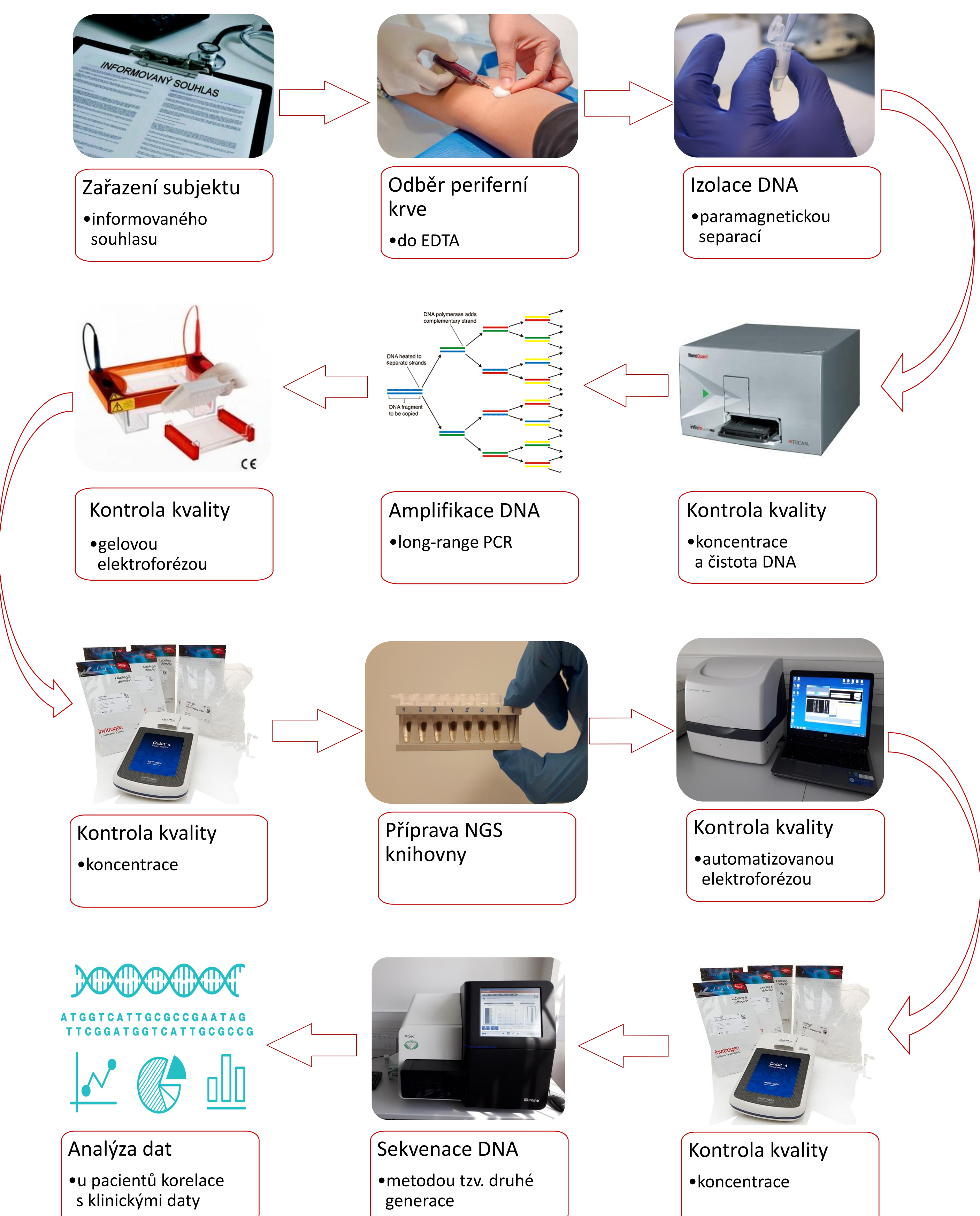
Mechanismus účinku inhibičních KIR receptorů na aktivitu NK buněk. Po navázání ligandu na inhibiční KIR receptor je NK buňka inhibována a nedochází k lýze nádorové buňky. Pokud ligand chybí, tak je NK buňka plně aktivována a cílová buňka je zlyžována.

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02848/full>

## CÍL

Cílem naší studie je charakterizovat KIR haplotypy běžné u české populace a prozkoumat možnost podrobného KIR haplotypování v klinické praxi.

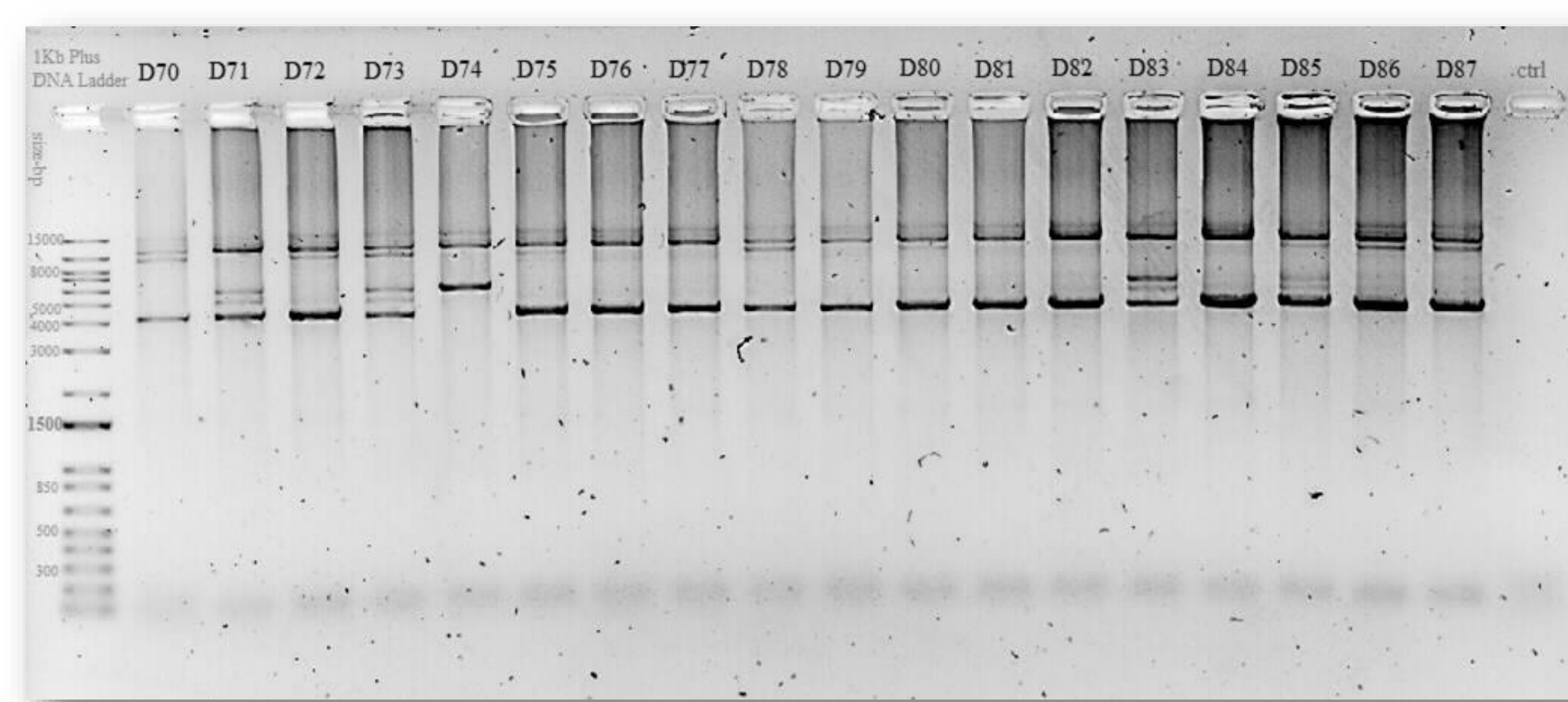
## WORKFLOW



## METODIKA

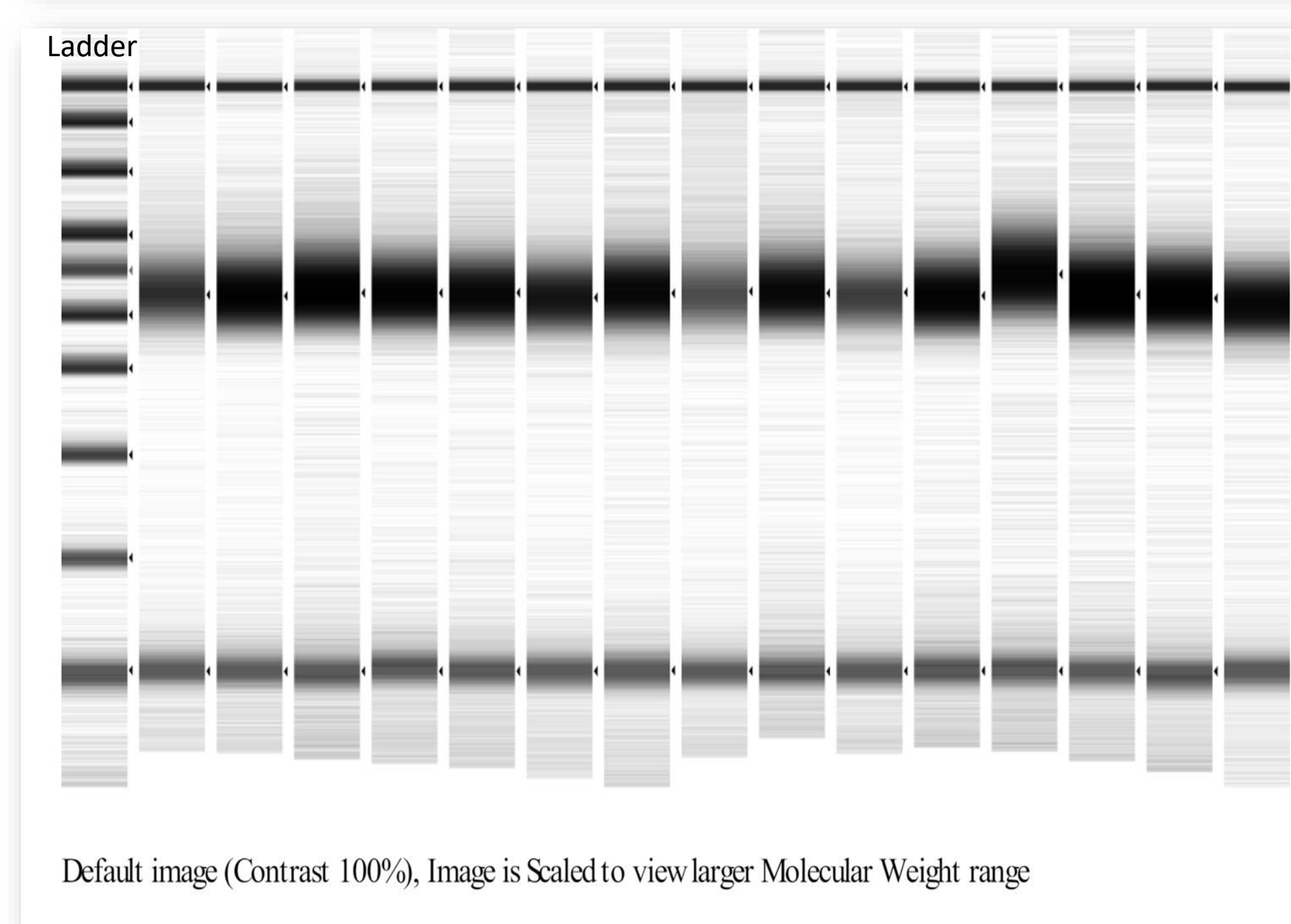
Kompletní KIR genom je amplifikován z izolované DNA pomocí long-range PCR za použití směsi 6 primerů. Sekvenační knihovna je připravena modifikovaným protokolem NEBNext® Ultra™ II FS DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs) a knihovny jsou sekvencovány v pair-end režimu na přístroji Illumina Miseq. Data jsou zpracovávána interními algoritmy a KIR haplotyp je hodnocen až na úroveň detekce konkrétních alel.

## VÝSLEDKY



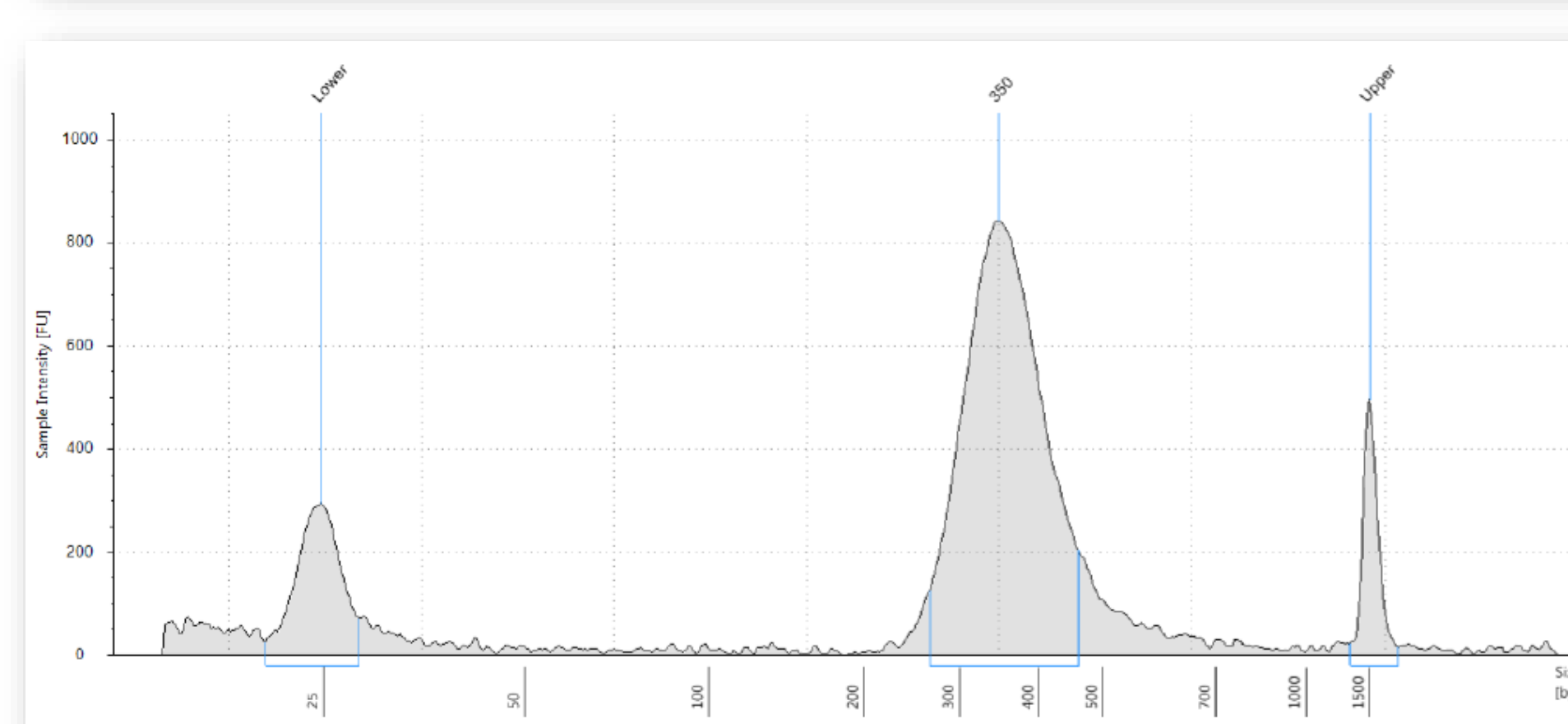
Obrázek č. 2:

Kontrola kvality amplifikovaných KIR genů pomocí elektroforetické separace na agarózovém gelu.



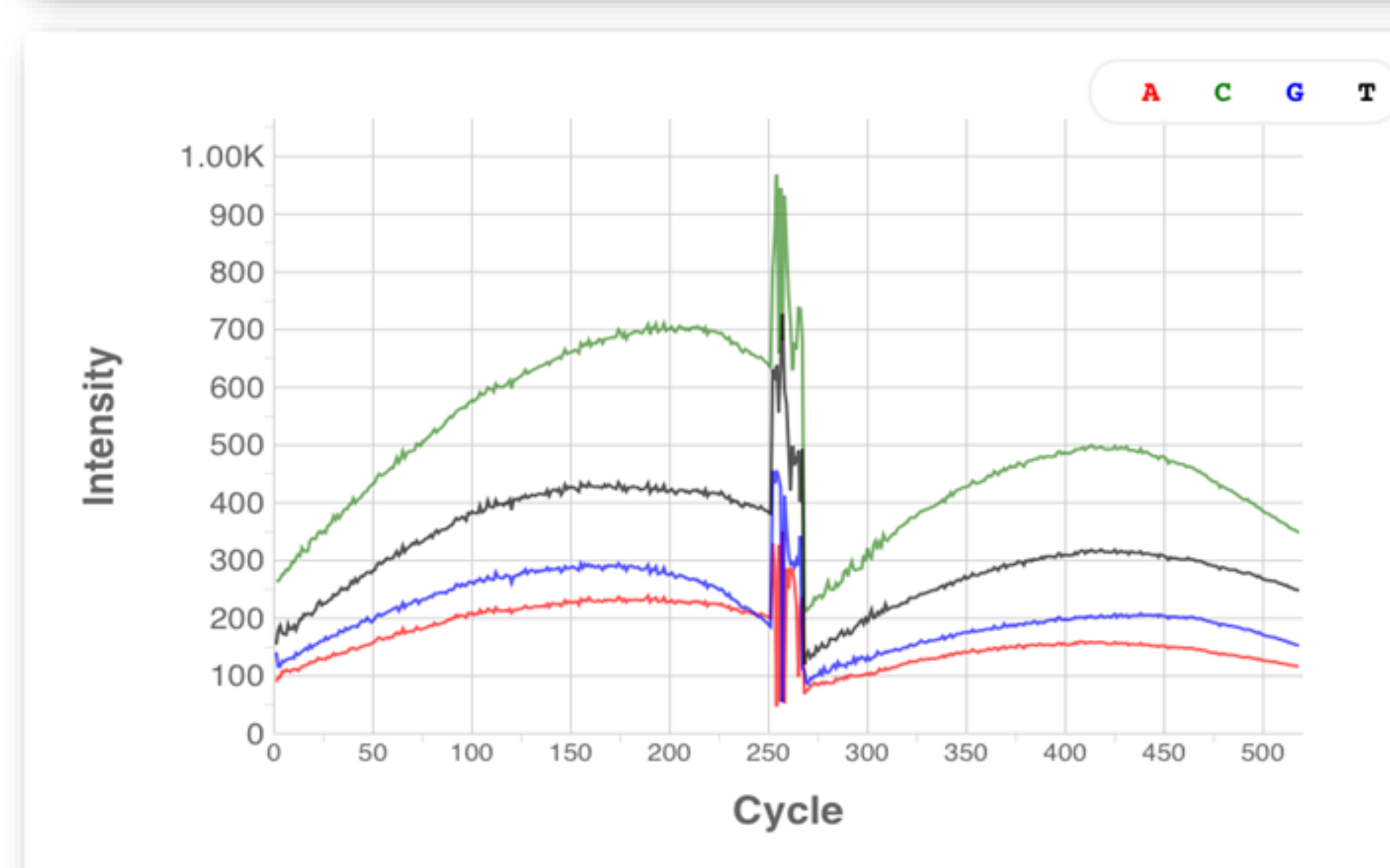
Obrázek č. 3:

Kontrola velikosti fragmentu po přípravě sekvenační knihovny s použitím NEBNext® Ultra™ II FS DNA Library Prep Kit for Illumina.



Obrázek č. 4:

Kontrola velikosti a integrity připravené knihovny pomocí automatizovaného elektroforetického systému Agilent 2200 TapeStation.



Obrázek č. 5:

Intenzita signálu pro detekované báze v jednotlivých cyklech sekvenačního běhu.

## ZÁVĚR

V současné době je dokončena testovací část projektu, byly optimalizovány všechny metody a postupy detekce alelických skupin byly validovány s použitím komerčně dostupných linií se známými alelickými skupinami. Aktuálně je spolu se zařazováním nových vzorků vyvíjen algoritmus zpřesňující vyhodnocování a detekci jednotlivých alel.

## FINANCOVÁNÍ

Práce byla podpořena MZ ČR (projekt č. NV18-03-00277).