

EGYETEMI DOKTORI (Ph. D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ tumor-szuppresszor gének genetikai és promóter metilációs változásainak szerepe a CML progressziójában és az EBV-fertőzött B-sejtek tumorgenezisében

Nagy Etelka

Témavezető: Dr. Beck Zoltán

DEBRECENI EGYETEM
Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Mikrobiológiai Intézet
2005

BEVEZETÉS

Az *INK4A* gén a 9-es kromoszóma rövid karján (9p21) lokalizálódik. Erről a génről két – a sejtmagban lokalizálódó – tumor-szuppresszor fehérje íródik át. Az egyik az exon 1 α , exon 2 és exon 3 kódoló régiók felhasználásával létrejött p16^{INK4A}. A másik az exon 1 β és ugyanazon exon 2 alkalmazásával létrejött fehérje, melynél a közös második exon eltérő leolvasási kerettel íródik át, ezért ezt a génterméket p14^{ARF}-nek (alternative reading frame) nevezték el.

A p16^{INK4A} fehérje 148 aminosavból áll, az első exon az 1-42, a második a 43-144, a harmadik exon pedig az utolsó 4 aminosav kódolásáért felelős. A p16^{INK4A} proteinben egy citoskeletonális fehérjekötő (ankyrin) domént azonosítottak, mely a protein-protein interakciókban játszik szerepet. Ezáltal a fehérje kötődni képes a CDK4 és CDK6-hoz, így a CDK-k inaktív állapotba kerülnek, nem tudnak a ciklin D-hez kapcsolódni. A CDK-ciklin D komplex kialakulásának hiányában az RB fehérje foszforilálatlan marad. Mivel az RB hipofoszforiláltan köti az E2F transzkripciósfaktort, ezáltal a p16^{INK4A} fehérje közvetett úton gátolja meg a sejtproliferációt, a G₁/S átmenetet.

A p14^{ARF} fehérje 132 aminosavból épül fel, az exon 1 β kódolja az első 64 aminosavat, a többi a közös második exonról különböző leolvasási keretet alkalmazva íródik át. A p14^{ARF} protein is a sejtciklus negatív szabályozásában vesz részt. A protein N-terminálisával az MDM-2 C-terminálisához tud kötődni, melynek eredményeként a p14^{ARF} gátolja az MDM-2 kotranszformációs aktivitását. Mivel az MDM-2 N-terminálisán keresztül a p53-hoz képes kapcsolódni, a p14^{ARF} az MDM-2 proteinen keresztül indirekten szabályozza a p53 fehérjét, megakadályozza annak MDM-2-függő poliubiquitinációs mechanizmuson alapuló lebontását. Nemcsak a p14^{ARF} stabilizálja a p53 proteint, de a p53 is visszahat negatív *feedback* mechanizmussal a p14^{ARF} expressziójára.

A $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ tumor-szuppresszor gének genetikai és epigenetikai inaktivációjának gyakoriságát számos malignus kórképben vizsgálták. Azonban ezen gének károsodása és a tumor progressziója közötti összefüggést kevésbé tanulmányozták. Vizsgálataink egy részét az egyik leggyakoribb leukémia típus, a krónikus mieloid leukémia (CML) különböző fázisaiból származó mintákon végeztük. A CML progressziójával kapcsolatos korábbi molekuláris biológiai vizsgálatok döntően a krónikus fázis (KF) és a blasztos krízis összehasonlítására szorítkoztak. Akcelerált fázisból (AF) származó mintákat kevés esetben vizsgáltak, és a kis esetszám miatt ezek az eredmények nem voltak alkalmasak definitív következtetések levonására. Ezekből az előzményekből kiindulva követéses vizsgálatokban hasonlítottuk össze a $p16^{INK4A}$ és a $p14^{ARF}$ tumor-szuppresszor gének változásait a CML krónikus és akcelerált fázisában.

A DNS tumorvírusok onkoproteinjei beavatkozhatnak a sejtciklus szabályozásába. Mivel kontrollálatlan sejtproliferációt is eredményezhetnek, ezért kísérleteinket Epstein-Barr vírussal (EBV) fertőzött mintákon is elvégeztük. Korábban Burkitt limfomás (BL) sejtvonalakon, biopsziákon és EBV-vel immortalizált limfoblasztoid sejtvonalakon (LCL) más szerzők már beszámoltak a $p16^{INK4A}$ gént érintő mutációs és metilációs változásokról. A $p14^{ARF}$ gént illetően azonban kevés vizsgálat történt. Nem tanulmányozták EBV-vel transzformált B-limfocitákban, frissen kialakított LCL-ekben és folyamatos passzálon átesett LCL-ekben a $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ génben bekövetkező genetikai és epigenetikai változások szerepét sem. Normál B-limfocitákban, frissen kialakított LCL-ekben, immortalizált LCL-ekben és BL sejtvonalakban vizsgáltuk a fent említett 2 tumor-szuppresszor gén változásait.

CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálatainkkal választ kívántunk adni az alábbi kérdésekre:

1. Szerepet játszik-e a CML progressziójában a $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ gének inaktivációja? Ha igen, ebben milyen mechanizmusok vesznek részt, és ezek milyen gyakorisággal következnek be?
2. A genetikai változások milyen jellegűek, érintik-e mindkét gént, illetve egy-egy gén mindkét allélját? Vannak-e mutációs forrópontok? Ezek a genetikai változások mekkora kromoszómaszakaszt érintenek? Milyen a citogenetikai háttér a CML akcelerációja során? A citogenetikai vizsgálatok eredménye korrelál-e a $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ gént érintő változásokkal?
3. A $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ promótereinek metilációja az esetek hány százalékában figyelhető meg a CML AF-ában? Előfordul-e mindkét promóter együttes metilációja?
4. A tumoros sejtvonalakban az EBV jelenléte befolyásolja-e a tumor-szuppresszor génekben bekövetkező eltérések gyakoriságát?
5. Van-e különbség normál B-sejtek, EBV-vel *de novo* transzformált LCL-ek, immortalizált LCL-ek, és BL sejt kultúrákban detektált $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ alterációk között?
6. A B-sejtek tumorigenezisében a $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ génben bekövetkező genetikai vagy a promóter metilációs eltéréseknek van jelentősebb szerepe?
7. A limfómagenezis mely stádiumában következik be ezen tumor-szuppresszor gének inaktivációja?

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Granulociták szeparálása

Kísérleteink során a DE OEC II. számú Belgyógyászati Klinikáján kezelt CML-es betegek perifériális vérmintáit használtuk. Mindegyik beteg esetén 2 mintát vizsgáltunk. Az egyiket a diagnózis felállításakor, a terápia megkezdése előtt, a másikat az akceleráció megjelenésekor, a terápiaváltást megelőzően vették le. A CML fázisainak a diagnózisa az általánosan elfogadott klinikai és hematológiai kritériumok alapján történt. A vérmintákból Percoll oldatból készített discontinuus gradiens centrifugálással granulocita sejteket szeparáltunk. A granulocitapopuláció tisztasága meghaladta a 97%-ot.

Sejtvonalak

Kísérleteink második részében EBV-negatív BL sejtvonalakat: BL 41, Ramos és EBV-pozitív BL sejt kultúrákat: AG 876, Akata, Akuba, Daudi, Jijoye, Mutu III clone 99, Namalwa, Rael, Raji, valamint kétféle LCL csoportot alkalmaztunk. Az egyikbe a normál B-sejtek EBV-vel történő infekciójával *de novo* létrehozott, transzformált sejtvonalak tartoztak: LCL_{Mutu}, LCL_{Akuba}, LCL_{Jijoye}, LCL_{Rael}. A másikba a korábban kialakított, 160 osztódást meghaladó immortalizált LCL-ek: CB-M1-Ral-STO, Cherry, IARC 171, JY, LCL-721.

B-limfociták szeparálása

Az EBV fertőzéshez szükséges perifériális vér mononukleáris sejteket Ficoll-Histopaque sűrűséggradiens centrifugálással "buffy coat" preparátumokból nyertük ki. A normál B-sejteket pan-B Dynabeads M450 vasgyöngyöt tartalmazó anti CD 19 ellenanyaggal gyűjtöttük össze.

B-limfociták fertőzése EBV-vel

Az EBV törzseket a kísérleteinkhez használt EBV-pozitív BL sejt kultúrákon termeltük tetra-forbol-észterrel (TPA) való kezeléssel. A vírust ultracentrifugálással ülepítettük ki. Nyugvó B-limfocitákból EBV-vel történő infekcióval LCL-eket alakítottunk ki.

Polimeráz láncreakció (PCR)

CML-es mintákból származó granulocitákból, vizsgált EBV-negatív és EBV-pozitív BL sejtvonalakból, korábban és frissen kialakított LCL-ekből valamint normál B-limfocitákból QIAGEN Blood kittel DNS-t izoláltunk. A $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ gén 4. exonját PCR-rel amplifikáltuk. Az amplifikáció hatékonyságát agaróz-gélelektroforézissel ellenőriztük.

Egyszálú konformációs polimorfizmus (SSCP) analízis

Az amplimerekben bekövetkező genetikai változást ezzel a nagy érzékenységű eljárással vizsgáltuk. Az elektroforézis után a futási mintázatot az ezüst-festés alkalmazásával tettük láthatóvá.

DNS szekvenálás

Az SSCP nem alkalmas a mutáció helyének megadására, ezért a $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ gén exonjainak szekvenciáit *ABI Prism Big Dye Terminator Ready Reaction Kit* segítségével direkt szekvenálással határoztuk meg. A mintákat ABI Prism 310 automata szekvenátorban futtattuk.

Metiláció-specifikus polimeráz láncreakció (MSP)

A $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ gének promótereinek metilációját metiláció-specifikus PCR-rel vizsgáltuk. Az MSP során a metilált és a nem metilált allél megkülönböztethető az eltérő szekvenciák alapján. Na-biszulfit hatására a modifikált DNS nem metilált alléljában a CpG sziget citozinja uracilra cserélődik, míg a metilált allélban változatlan marad. Modifikáció után a metilált és a nem metilált DNS PCR alkalmazásával megkülönböztethető. A DNS szakaszokat etidium-bromidos festést követő agaróz-gélelektroforézissel mutattuk ki.

Citogenetikai vizsgálatok

A CML-es minták citogenetikai vizsgálatait a Debreceni Egyetem Gyermekgyógyászati Klinikájának genetikai laboratóriumában végezték. A kromoszómák identifikálása a G és Q sávozási technikával történt, klasszifikálásnál az „International System for Human Cytogenetic Nomenclature” szabályai voltak a mérvadóak.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Munkánk első részében a CML krónikus és akcelerált fázisából származó vérmintákból granulocitákat szeparáltunk, melyből DNS-t izoláltunk. Vizsgálataink második felében szintén DNS-t izoláltunk BL sejtvonalakból, immortalizált és transzformált LCL-ekből, valamint normál B-sejtekből. A fent felsorolt DNS mintákat használtuk fel a $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ gének genetikai és promóter metilációs eltéréseinek tanulmányozására.

Hematológiai és citogenetikai adatok

Vizsgálatainkhoz 30 beteg krónikus és akcelerált fázisából levett vérmintapárok álltak rendelkezésünkre. A betegek átlagéletkora 55 év volt, közülük 16 volt nő és 14 férfi. Valamennyi betegnél szignifikáns granulocitózist figyelhettünk meg. Az akcelerált fázis kezdetén blasztsejtek jelentek meg a vérben. Az AF további hematológiai jellegzetessége közé tartozott a bazofil sejtek nagy százalékos aránya, a trombocitózis és az anémia.

A krónikus fázisú mintákban – eltekintve a Ph kromoszóma jelenlététől – a kariotípus normális volt. Azonban 30 betegből 14 esetben az AF kezdetekor a Ph kromoszóma mellett további kromoszomális eltérések jelentek meg. A 13-as kromoszóma vagy annak hosszú karjának elvesztését 3 esetben, a 17-es kromoszóma, illetve annak rövid karjának rövidülését vagy hosszú karjából kialakult izokromozómát 5 betegnél figyeltünk meg. Második Ph kromoszóma jelent meg 2 beteg esetében. További kromoszomális aberrációk közé sorolható a 8-as, 19-es, 21-es kromoszóma triszómiája, az 5-ös, 7-es, 18-as, 20-as, 21-es kromoszómák, valamint a 2-es kromoszóma hosszú karjának, a 16-os kromoszóma rövid karjának az elvesztése. Citogenetikai vizsgálattal kimutatható, a 9-es kromozómát érintő aberráció nem volt.

De novo LCL-ek kialakítása

A különböző BL sejtvonalakban termelt EBV törzsekkel fertőztük a frissen szeparált B-sejteket. Négy-hat hét elteltével limfoblasztoid sejtkultúrák (LCL_{Mutu}, LCL_{Akuba}, LCL_{Jijoye}, LCL_{Rael}) alakultak ki Mutu, Akuba, Jijoye és Rael sejtvonalakból származó EBV-vel fertőzött nyugvó B-limfocitákból.

INK4A/ARF lókuszt kódoló szakaszainak PCR-SSCP analízise

A krónikus és akcelerált fázisból származó CML-es vérmintákból Percoll gradiensen történő centrifugálással granulocitákat szeparáltunk. Ezekből a sejtekből, „régiből”, és *de novo* kialakított LCL-ekből, EBV-negatív és pozitív BL sejtvonalakból, valamint normál B-sejtekből DNS-t izoláltunk. Az INK4A/ARF lókuszt exonjait PCR-rel sokszoroztuk fel. Az amplimereket SSCP technikával elemeztük. A futási különbségeket mutató mintákat szekvenáltuk.

INK4A/ARF lókuszt szekvencia analízise

Az PCR-SSCP módszer alkalmas ugyan az adott DNS szakaszon belüli genetikai eltérések kimutatására, azonban a mutáció helyéről és jellegéről csak a szekvenálás adhat pontos választ. A $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ gén exonjainak szekvenálása során nem találtunk genetikai változást egyetlen CML-es krónikus fázisú mintában sem. Ezzel szemben 17 AF minta esetén tudtunk mutációt kimutatni, azonban a szekvenáló kromatogramm alapján valamennyi eltérés heterozigóta mutáció volt. Mivel a KF-ben, azaz a kezeléseket előtt, genetikai eltérést egyetlen esetben sem tapasztaltunk, nem zárható ki az a feltevés, hogy a kemoterápiás kezelés indukálta a mutációk létrejöttét.

A $p16^{INK4A}$ 1. exonjában 10 betegnél találtunk mutációt. Egyik esetben a 12. kodonban a G→A átmenet nem eredményezett aminosavváltozást

(Ala→Ala). Mivel ez a nukleotidcsere a KF-ben nem jelent meg, inkább tekinthető csendes mutációnak, mint polimorfizmusnak. Hat AF mintában a 35. kodonban az AGT→ATT változás szerin→izoleucin aminosavváltást okozott. Egy mintában a 26. kodonban bekövetkező pontmutáció (GCG→GTG) az alanint valinra változtatta. A fennmaradó 2 beteg esetén a 18. kodonban detektáltunk nonszensz mutációt (GAG→TAG).

A *p16^{INK4A}* 2. exonjában 11 mutációt tudtunk kimutatni. A 80. kodonban csendes mutációt (Glu→Glu) 5 minta esetében, a 61. (Glu→Gln), 105. (Leu→Met), 123. (Arg→His), 130. (Arg→Ile) kodonokban misszensz mutációt 6 esetben figyeltünk meg. Mivel a *p16^{INK4A}* and *p14^{ARF}* géneknek eltérő ugyan a leolvasási keretük, de közös a 2. exonjuk, ezért a *p16^{INK4A}* génben talált mutációk 7 esetben érintették a *p14^{ARF}* gént is. A 80. kodonban bekövetkező csendes mutáció a *p14^{ARF}* gén 103. kodonjában misszensz mutációt (Gly→Arg) eredményezett. A 61. és a 105. kodonban detektált misszensz mutáció a *p14^{ARF}* gén 83. és 127 kodonjában szintén misszensz mutációt okozott.

Az INK4A/ARF lókuszbán 2 mutációs forrópontot azonosítottunk a *p16^{INK4A}* 1. exon 35. és a 2. exon 80. kodonjában. Ezek a helyeken talált heterozigóta mutációk azért fontosak, mert a heterozigótaság elvesztésével megteremthetik a lehetőséget a tumor-szuppresszor fehérjék funkcióvesztéséhez.

A *p14^{ARF}* 1. exonjában 3 mintában találtunk misszensz mutációt. A 21. kodonban G→A átmenet arginin→lizin aminosavváltást eredményezett 2 beteg esetében. A harmadik mutáció a 34. kodont érintette, mely Trp→Arg váltással járt.

Az 3. exonban mutációt egyik minta esetében sem tudtunk detektálni.

A vizsgált EBV-negatív és pozitív BL sejtvonalak, valamint frissen kialakított LCL-ek és normál B-sejtek szekvenálási eredményei alapján 3 BL sejtvonalban tudtunk heterozigóta mutációt kimutatni. A Namalwa sejtvonalban

a $p16^{INK4A}$ 2. exon 98. kodonjában talált G→T átmenet valin→leucin aminosavváltást eredményezett. Ez a mutáció érintette a $p14^{ARF}$ gén 120. kodonját is (CGT→CTT) és arginin→leucin aminosavcserét okozott.

A $p16^{INK4A}$ 1. exonjában 2 mutációt detektáltunk. A Mutu sejtvonalban a 27. kodonban (GGG→TGG) történő mutáció a glicint triptofánra változtatta. A Daudi sejtvonalban nonszensz mutáció (GAG→TAG) következett be a 18. kodonban (Glu→Stop).

Az 3. exonban, és a $p14^{ARF}$ gén 1. exonjában mutációt egyik minta esetében sem tudtunk kimutatni. A frissen kialakított LCL-ekben és a B-limfocitákban genetikai eltérést nem sikerült detektálni.

A $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ promóterek metilációs vizsgálata

A 30 CML-es beteg mintapárjaiból, valamint 2 EBV-negatív, 9 EBV-pozitív BL sejtvonalból, 5 korábban kialakított, 4 *de novo* LCL-ből és normál B-limfocitákból izolált DNS mintákban a $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ tumor-szuppresszor gének promótereinek hipermetiláltságát MSP módszerrel határoztuk meg. A krónikus fázisú mintákban metilációt nem tudtunk kimutatni egyik gén esetében sem. Azonban a vizsgált akcelerált fázisú minták nagy százalékában volt metilált mind a $p16^{INK4A}$, mind a $p14^{ARF}$ gének promótere.

A 30 mintából a $p16^{INK4A}$ promótere 12 esetben, a $p14^{ARF}$ promótere szintén 12 betegben volt metilált. A két gén együttes metiláltságát 10 esetben figyeltük meg. Nyolc AF mintában a mutációs és a metilációs eltérések együtt jelentkeztek. Hat AF minta esetében genetikai aberráció nélkül detektáltunk promóter metilációt.

Ha a promóter metilált, nem történik génexpresszió, a $p16^{INK4A}$ és a $p14^{ARF}$ proteinek hiányában pedig károsodik mind a p53, mind a retinoblasztóma útvonal sejtciklust szabályzó működése. Így a tumorsejtek szelektív szaporodási előnyre tesznek szert. Eredményeink alapján

megállapíthatjuk, hogy a $p16^{INK4A}$ és a $p14^{ARF}$ gének metiláció okozta transzkripciós inaktiválása egy fontos mechanizmus lehet a CML akcelerációjában.

Valamennyi vizsgált EBV-negatív és pozitív BL sejtvonalban $p16^{INK4A}$ promóter metilációt tudtunk kimutatni. A Ramos, Jijoye, Namalwa sejtvonalakban ezen gén metilációja részleges volt. Ezzel szemben egyik BL kultúrában sem találtunk $p14^{ARF}$ promóter metilációt, kivétel a Ramos sejtvonal, melyben csak részleges metilációt detektáltunk.

A korábban kialakított 5 LCL-ben 4 esetben figyeltük meg mindkét gén promóterének együttes metilációját. Ezek közül a $p14^{ARF}$ promóter csak részleges metilációt mutatott a Cherry sejtvonalban. A CB-M1-Ral-STO limfoblasztoid sejtvonal az egyetlen kivétel, amelyben a $p14^{ARF}$ gén promótere metilálatlan volt. Azonban ebben az LCL-ben is kimutattuk a $p16^{INK4A}$ promóter részleges metilációját. Kimutatták, hogy a metiláció szintje (részleges vagy teljes metiláció) a fehérjeszintézis mértékével korrelál. Minél inkább metilált a gén promótere, annál kisebb mértékű a génről történő fehérjeexpresszió.

A *de novo* kialakított LCL-ekben és normál B-limfocitákban egyik tumor-szuppresszor gén promótere sem volt metilált.

Eredményeinket összefoglalva elmondhatjuk, hogy az EBV-transzformált LCL-ek evolúciója egy többlépcsős folyamat, magában foglalja a tumor-szuppresszor gének inaktiválását, amely a sejtciklus negatív kontrolljának elvesztését eredményezheti. A vizsgált BL sejtvonalak esetén a $p16^{INK4A}$, az LCL-ekben pedig a $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ tumor-szuppresszor gének együttes epigenetikai inaktiválása játszhat fontos szerepet a tumoros fenotípus kiváltásában, illetve az immortalizációban.

ÖSSZEFOGLALÁS

1. Megállapíthatjuk, hogy a CML progressziójában alapvető szerepe van a $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ tumor-szuppresszor gének genetikai és epigenetikai úton való inaktivációjának.
2. Nagyobb genetikai aberrációt, deléciót és a 9-es kromoszómát érintő citogenetikai eltérést nem találtunk. A CML akcelerált fázisában a 30 minta közül $p16^{INK4A}$ 1. exonjában 10, 2. exonjában 11, $p14^{ARF}$ 1. exonjában pedig 3 esetben mutattunk ki heterozigóta mutációt. Két mutációs forráspontot azonosítottunk a $p16^{INK4A}$ 1. exon 35. (Ser→Ile) és a 2. exon 80. kodonjában (Glu→Glu).
3. A $p16^{INK4A}$ gén 12, a $p14^{ARF}$ gén promótere szintén 12 AF-ú betegnél volt metilált. A két gén együttes metiláltságát 10 esetben figyeltük meg.
4. Mivel az EBV-mentes BL sejtvonalak metilációs mintázata nem különbözött jelentősen az EBV-pozitív mintákétól, feltehetőleg a $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ gének metilációjának kiváltásában nem elsődlegesen az EBV látens fehérjei játszanak szerepet.
5. Három BL sejtvonalban azonosítottunk heterozigóta mutációt a $p16^{INK4A}$ 1. és 2. exonjában. Valamennyi vizsgált EBV-negatív és pozitív BL sejtvonalban $p16^{INK4A}$ promóter metilációt tudtunk kimutatni. Ezzel szemben egyik BL kultúrában sem találtunk $p14^{ARF}$ promóter metilációt. A korábban kialakított LCL-ek nagy részében mindkét gén promóterének együttes metilációját figyeltük meg. A *de novo* kialakított LCL-ekben és normál B-limfocitákban a $p16^{INK4A}$ és a $p14^{ARF}$ gén nem volt metilált.
6. Vizsgálati eredményeink alapján, a $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ promóterek metilációja fontosabb mechanizmus lehet a tumor progressziójában és az immortalizációban.
7. A B-sejtek tumorgenezise egy többlépcsős folyamat, melynek csak egy későbbi stádiumában játszik szerepet az INK4A/ARF gén inaktiváció.

KÖZLEMÉNYEK

Az értekezésben felhasznált közlemények:

1. Etelka Nagy, Zoltán Beck, Attila Kiss, Eszter Csoma, Béla Telek, József Kónya, Éva Oláh, Kálmán Rák, Ferenc D. Tóth: Frequent methylation of $p16^{INK4A}$ and $p14^{ARF}$ genes implicated in evolution of chronic myeloid leukemia from its chronic to accelerated phase.
European Journal of Cancer, 39 (16), 2298-305 (2003) IF: 3,694

2. Etelka Nagy, György Veress, Krisztina Szarka, Eszter Csoma, Zoltán Beck: Frequent methylation of $p16^{INK4A}/p14^{ARF}$ promoters in tumorigenesis of Epstein-Barr virus transformed lymphoblastoid cell lines
Anticancer Research in press IF: 1,347

Egyéb közlemények:

1. Eszter Csoma, Attila Bácsi, Xiangdong Liu, Judit Szabó, Peter Ebbesen, Zoltán Beck, József Kónya, István Andirkó, Etelka Nagy, and Ferenc D. Tóth: Human Herpesvirus 6 Variant A Infects Human Term Syncytiotrophoblasts In Vitro and Induces Replication of Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Dually Infected Cells.
Journal of Medical Virology, 67, 67-87 (2002) IF: 2,629
2. Zoltán Beck, Attila Bácsi, Xiangdong Liu, Peter Ebbesen, István Andirkó, Eszter Csoma, József Kónya, Etelka Nagy, and Ferenc D. Tóth: Differential Patterns of Human Cytomegalovirus Gene Expression in Various T-Cell Lines Carrying Human T-Cell Leukemia-Lymphoma Virus Type 1: Role of Tax-Activated Cellular Transcription Factors.
Journal of Medical Virology, 71 (1), 94-104 (2003) IF: 2,371

3. Beck, Z., Bácsi, A., Nagy, E., Csoma, E. and Tóth, F.D.: Induction of full replication cycle of human cytomegalovirus by the Tax protein of HTLV-I in CD4+ T cells
AIDS Res. Hum. Retroviruses 19, p:80 (2003) IF: 2,291

FONTOSABB ELŐADÁSOK, POSZTEREK

1. Nagy E., Beck Z., Csoma E., Bácsi A., D. Tóth F.: Az INK4A/ARF lókuszt genetikai változásai a krónikus myeloid leukémia akcelerációjában
Magyar Onkológusok Társaságának Tudományos Konferenciája, 2002. október 4-5., Kecskemét (előadás)
2. Nagy E., Beck Z., Csoma E., D.Tóth F.: Loss of p16^{INK4A} protein expression in Epstein-Barr virus immortalized B-cells: Role of the LMP1 protein
14th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, October 9-11., 2003., Balatonfüred (poszter)
3. Nagy E., Beck Z., D. Tóth F.: Az INK4A gén metilációjának szerepe a krónikus myeloid leukémia progressziójában
Magyar Onkológusok Társaságának XXV. Kongresszusa, 2003. november 12-15., Szeged (előadás)
4. Nagy E., Beck Z., Csoma E., D. Tóth F.: A p16^{INK4A} protein expresszió hiánya Epstein-Barr vírus által immortalizált B-sejtekben: Az LMP1 protein szerepe
Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság I. Kongresszusa, 2003. november 28-29., Pécs (előadás)

5. Nagy E., Csoma E., Beck Z.: A $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ gének genetikai és epigenetikai változásai Epstein–Barr vírus által transzformált B-sejtvonalakban
Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, 2004. október 7-9., Keszthely (előadás)
6. Beck Z., Csoma E., P. Ebbesen, Nagy E., D. Tóth F: Human Immunodeficiency Virus Type I Pseudotype With Envelope Antigens Of Human Cytomegalovirus Permissively Infects Human Syncytiotrophoblasts
14th International Congress of Hungarian Society For Microbiology, Balatonfüred, October 9-11, 2003 (előadás)
7. Beck, Z., Bácsi, A., Nagy, E., Csoma, E. and Tóth, F.D.: Induction of full replication cycle of human cytomegalovirus by the tax protein of HTLV-I in CD4+ T cells
11th International conference on human retrovirology, 2003, San Francisco, USA
8. Beck Z., Nagy E., Csoma E: Gyakori $p16^{INK4A}$ és $p14^{ARF}$ gén deléció, valamint promóter metiláció HTLV-I által fertőzött T-sejtvonalakban
Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, 2004. október 7-9., Keszthely (előadás)