

CLONAJE MOLECULAR DE DOCK10, UN NUEVO FACTOR INDUCIBLE POR INTERLEUQUINA-4 EN LINFOCITOS B HUMANOS

E. Yelo^a, L. Gimeno^a, M.V. Bernardo^a, M.J. Majado^b, M.C. González^b, M.R. Alvarez-Lopez^a y A. Parrado^a

^aServicio de Inmunología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena s/n. 30120. El Palmar. Murcia. ^bServicio de Hematología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena s/n. 30120. El Palmar. Murcia.

La IL4 es una citoquina que induce diferenciación, proliferación y supervivencia en linfocitos B. La IL4 prolonga la supervivencia de células de leucemia linfocítica crónica (LLC) cultivadas *in vitro*. En esta patología, caracterizada por una deficiencia en la apoptosis, recientes investigaciones basadas en el análisis de microarrays sugieren que las rutas de IL4 están activadas. Estudiando la estimulación de IL4 en células LLC hemos detectado, mediante RT-PCR, la presencia de un producto amplificado inesperado. El fragmento fue clonado, secuenciado e identificado como la secuencia de un transcrito de un nuevo gen, llamado DOCK10, del cual se conocían solamente secuencias parciales. Dada la relevancia que puede tener el conocimiento de nuevos factores regulados por IL4 en la biología de los linfocitos B normales y patológicos, procedimos al clonaje molecular de DOCK10 completo, mediante RACE-PCR. La secuencia obtenida se contrastó con las secuencias depositadas en las bases de datos del genoma humano. Se localizó el gen DOCK10 en el cromosoma 2q36 en una región de 170 kb que contenía 56 exones y codificaba una proteína compuesta por 2180 aminoácidos. DOCK10 es un homólogo estructural de DOCK9 y DOCK 11 (Zizimin 1 y Zizimin2) activadores de Cdc42, miembro de la familia de las GTPasas Rho, implicado en la regulación del citoesqueleto de actina. DOCK10 se expresa en diversos tejidos humanos, con niveles prominentes en leucocitos de sangre periférica, y también destacados en ganglios linfáticos, cerebro y riñones. Este perfil de expresión tisular es diferente al de DOCK9 y DOCK11. DOCK10 se expresa en linfocitos T y B, sin embargo solo se observa inducción por IL4 en los linfocitos B. Este efecto inducible no ocurre en DOCK9 ni en DOCK11. En todos los casos de LLC estudiados, la IL4 up-regula fuertemente la expresión de DOCK10, por el contrario esto no se observa en las LLA-B analizadas. Para estudiar la función de DOCK10, se construyeron plásmidos para la expresión inducible de DOCK10 (tet-off system) y se obtuvieron clones estables de la línea celular K562 con expresión de DOCK10 dependiente de la presencia-ausencia de doxíciclin. Nuestros resultados preliminares indican que DOCK10 interacciona con Cdc42 actuando como un activador de esta proteína. El estudio de la función de DOCK10 podría ayudar a entender las actividades biológicas de la IL4, que podrían tener implicaciones terapéuticas en las LLC.