

Lekce z analýz genových expresních profilů u MM a návrh panelu genů pro ČR

Mgr. Silvie Dudová

Centrum základního výzkumu pro monoklonální gamapatie a mnohočetný myelom, ILBIT LF MU Brno

Laboratoř experimentální hematologie a buněčné imunoterapie, OKH FN Brno



Sledování genové exprese

Real-time PCR

Real time cykler

Microarray

scanner

hybridizační pec

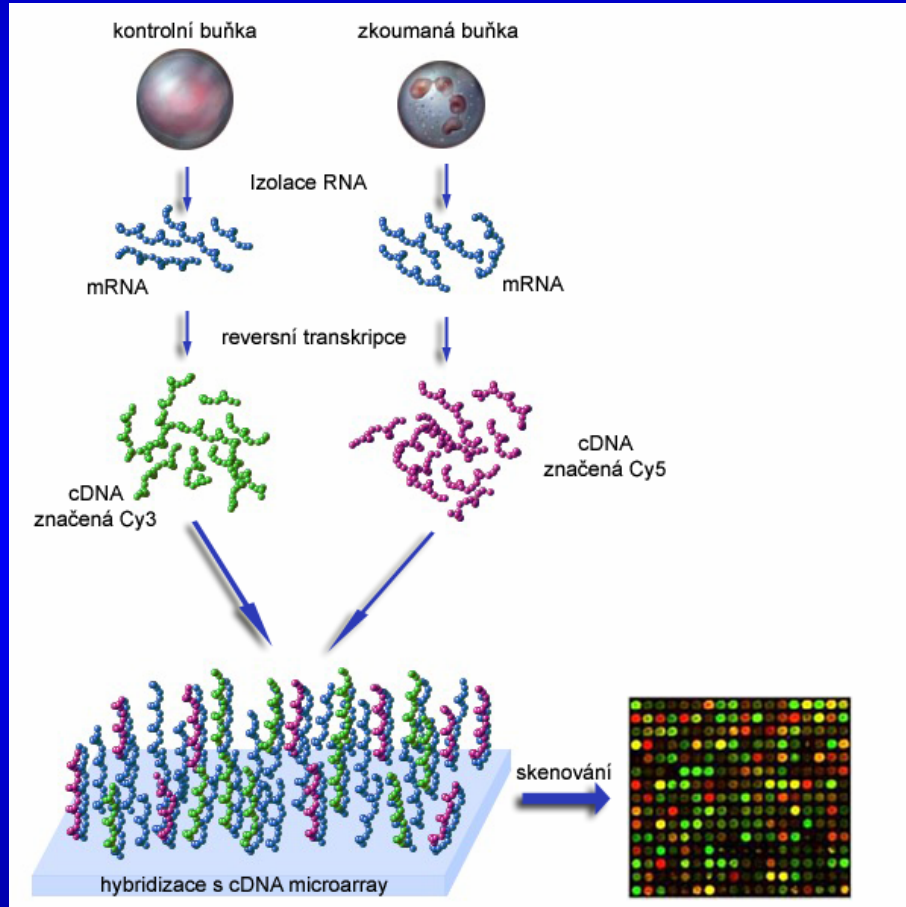
Stanovení čistoty a kvality RNA/DNA:

-Spektrofotometr

-Bioanalyzer



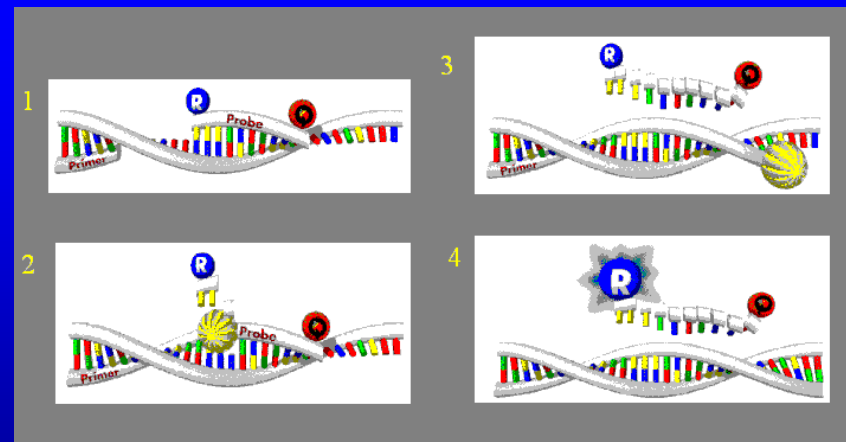
Microarray



- mikroskopická sklíčka (membrány), na povrchu ukotvené fragmenty komplementární DNA, oligonukleotidů nebo fragmenty chromosomální DNA
- sledování transkripční aktivity až několika tisíců genů najednou
- ucelený obraz genové exprese

Real time (kvantitativní) PCR

- Stanovení přítomnosti sekvence a počtu jejich kopií
- Kvantifikace DNA v každém cyklu - "real-time,, sledováním fluorescence
- TaqMan Sondy: 5' reportér (fluorescenční barva), 3' zhášeč
- štěpení sondy 5' nukleázovou aktivitou DNA Polymerázy → zvětšení vzdálenosti, emise fluorescence



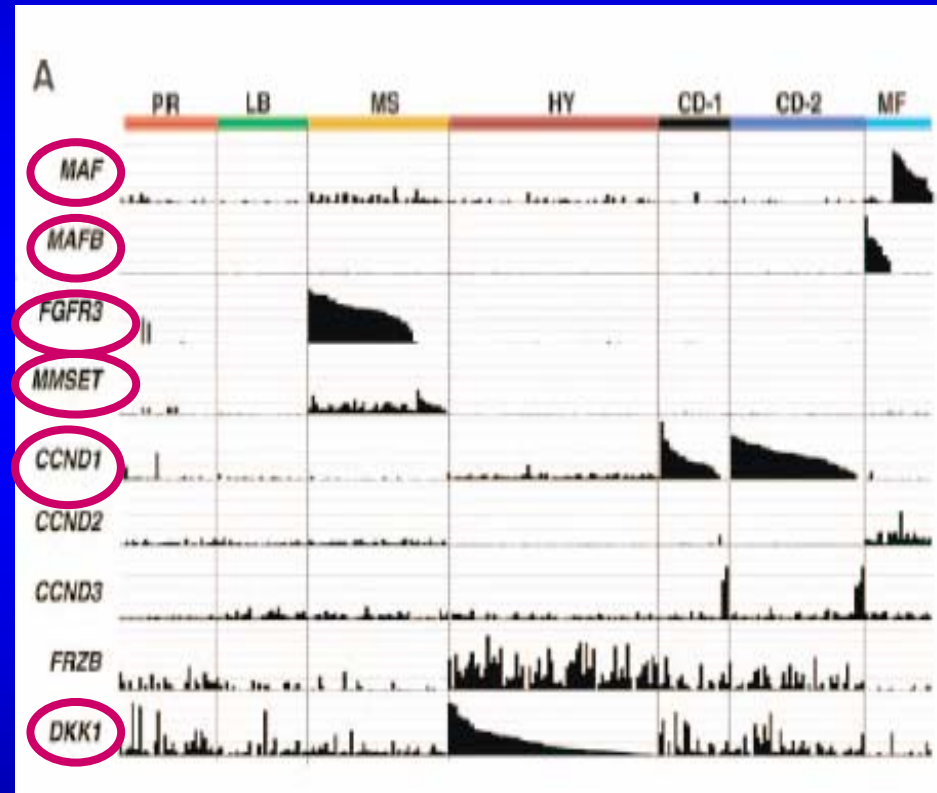
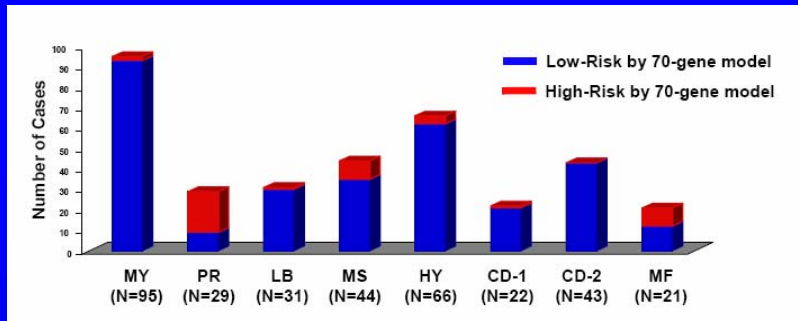
Výběr genů

- Stáž v Myeloma Institute for Research and Therapy, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, AR, USA
Dr. John Shaughnessy
- Studium literatury
- Korelace s proteomickými daty



Real-time panel vyšetření:

Stanovení prognózy:



Zhan F. et al.: The molecular classification of multiple myeloma. Blood. 2006;108(6):2020-8

Real-time panel vyšetření:

Stanovení prognózy:

- **MAF, MAFB** transkripční faktory, regulace hematopoezy
- **FGFR3** (fibroblast growth factor receptor 3), vývoj a údržba kostní tkáně
- **MMSET** (Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1), exprese v časném vývoji
- **CCND1** (cyklin D1), **CCND3** (cyklin D3) tranzice přes G1/S bod buň. cyklu, interakce s Rb nádorovým supresorem

Real-time panel vyšetření:

Stanovení prognózy:

- **DKK1** Dickkopf-1, inhibitor Wnt signalizace, kostní léze
- **CKS1B** regulační podjednotka 1B protein kinázy CDC28
- **Survivin (BIRC5)** člen rodiny inhibitorů apoptózy, vysoká exprese během vývoje plodu a v nádorových buňkách, v dospělých tkáních nízká
- **cIAP1, cIAP2, XIAP** inhibitory apoptózy
- **COX-2** cyklooxygenáza-2, syntéza prostaglandinu

Real-time panel vyšetření:

Odpověď na léčbu: opravy DNA, transport, geny buň. cyklu

Thalidomid-dexametazon:

- 1 z IgH translokací **CCND1**, **CCND3**, **FGFR3**, **MMSET**, **maf-B**
- **CKS1B**
- **CYP5A1** - gen ze superrodiny cytochromu P450, katalýza reakcí metabolismu chemikálií, syntéza cholesterolu, steroidů a lipidů
- **FMR1** - fragile X mental retardation 1

Bortezomib:

- citlivost - ↑ aktivační transkripční faktor 3 - **ATF3**, **ATF4**, **ATF5**, **c-Jun**, **JunD** a **kaspáza-3**, **XBP-1**
- rezistence - ↑ heat shock protein **HSP27**, **HSP70**, **HSP90**



Real-time panel vyšetření:

Melfalan:

- FA/BRCAsignalizace - **FANCA**, **FANCC** (oddaluje apoptózu, podpora oprav poškozené DNA homologní rekombinací), **FANCF** a **FANCL**
- **BRCA1** (breast cancer 1), udržování genomické stability, působí jako nádorový supresor, role v transkripci, DNA opravách ds zlomů a rekombinaci
- *de novo* a získaná rezistence - DNA opravy, syntéza glutathionu, transport, geny buň. cyklu: **RAD51** homologue C



Real-time panel vyšetření:

Mnoholéková (mnohočetná) rezistence (multidrug resistance):

- **MDR1** (ABCB1, P-Glykoprotein p-170), ATP dependentní transportérový protein, odčerpávání cytostatik z buňky a transport metabolitů
- **BCRP** (Breast cancer resistance protein, ABCG2) ATP dependentní transportérový protein
- **MRP1** (Multidrug resistance related protein, ABCC)
- **LRP** (Lung resistance related protein, MVP), nukleocytoplazmatický transport
- **GSTP1** (Gluthathion S-transferase) - detoxikace xenobiotik



PODĚKOVÁNÍ

Centrum základního výzkumu pro monoklonální gamapatie
a mnohočetný myelom, ILBIT LF MU Brno

Laboratoř experimentální hematologie a buněčné imunoterapie
FN Brno

Oddělení klinické hematologie FN Brno

Interní hematoonkologická klinika FN Brno

