

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики**

**ЛУЦКОВИЧ
Дмитрий Викторович**

**КЛОНАЛЬНЫЕ РЕАРАНЖИРОВКИ ГЕНОВ ИММУНОГЛОБУЛИНА И
Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА ДЛЯ МОНИТОРИНГА ЛЕЧЕНИЯ
ЛИМФОБЛАСТНЫХ ЛЕЙКОЗОВ И ЛИМФОМ**

**Аннотация
к дипломной работе**

**Научный руководитель:
Зав. лаб. молекулярно-генетических
исследований, кандидат
биологических наук Мелешко А.Н.**

Минск, 2016

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 66 с., 4 таблицы, 21 рисунок, 66 источников.
КЛОНАЛЬНЫЕ РЕАНЖИРОВКИ ГЕНОВ ИММУНОГЛОБУЛИНА И Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА ДЛЯ МОНИТОРИНГА ЛЕЧЕНИЯ ЛИМФОБЛАСТНЫХ ЛЕЙКОЗОВ И ЛИМФОМ.

Ключевые слова: реаранжировка, иммуноглобулин, Т-клеточный рецептор, острый лимфобластный лейкоз, минимально «резидуальная» болезнь, В-лимфоциты, Т-лимфоциты, ПЦР, секвенирование, гетеродуплексный анализ, АСО-праймер.

Объект исследования: Лейкозные клетки костного мозга детей, больных ОЛЛ.

Целью данной работы является изучение реаранжировки генов Ig/TCR в качестве генетических маркеров лимфобластного лейкоза и лимфом.

Методы исследования: Методология исследования базировалась на оценке генетических изменений ДНК опухолевых клеток детей, больных ОЛЛ. Основным методом исследования – ПЦР, дополненный гетеродуплексным анализом полученных продуктов в полиакриламидном геле. Также применялось субклонирование ПЦР продуктов путем вырезания из геля определенных фрагментов и реамплификация с той же или «внутренней» парой праймеров. Для разработки АСО-подхода применялось секвенирование ДНК на ДНК-анализаторе, анализ нуклеотидной последовательности с помощью программ BioEdit и MEGA-3, дизайн праймеров (АСО) и последующая аллель-специфическая ПЦР. Эксперименты по определению МРБ выполнялись методом ПЦР «в реальном времени».

Согласно результатам исследования эффективности терапии лимфобластных лейкозов, у детей при выявлении МРБ, в количестве более чем одной опухолевой клетки на десять тысяч нормальных, после фазы индукции терапии, риск развития рецидива увеличивается с 15 до 80%. Данные пациенты относятся к группе высокого риска. С другой стороны, есть группа пациентов, у которых наблюдается быстрая и полная элиминация опухолевого клона, в результате чего МРБ не определяется уже на фазе индукции ремиссии и безрецидивная выживаемость составляет 100%. Так же, мониторинг МРБ может служить как оценка эффективности терапии, сравнения различных лечебных протоколов, контроль за сохранением для своевременной коррекции тактики лечения. Принимая все это во внимание, можно сделать вывод, что отслеживание МРБ важно не только для контроля течения и прогноза заболевания, но также для выбора наиболее эффективной и сопряженной с меньшим риском стратегии лечения, и поэтому определение МРБ необходимо включать во все протоколы лечения с целью выяснения эффективности выбранной лечебной процедуры для данного пациента.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 66 с., 4 табліцы, 21 малюнак, 66 крыніц.
КЛОНАЛЬНЫЕ РЕАРАНЖИРОВКИ ГЕНАЎ ІМУНАГЛАБУЛІНАЎ І Т-КЛЕТКАВЫХ РЭЦЭПТАРАЎ ДЛЯ МАНІТОРЫНГУ ЛЯЧЭННЯ ЛИМФОБЛАСТНЫХ ЛЕЙКОЗУ І ЛІМФА.

Ключавыя словы: реаранжировка, імунаглабулін, Т-клеткавы рэцэптар, востры лимфобластный лейкоз, мінімальна «резидуальная» хвароба, У-лімфацыты, Т-лімфацыты, ПЦР, секвенирование, гетеродуплексный аналіз, АСА-праймер.

Аб'ект даследавання: лейкозныя клеткі касцявога мозгу дзяцей, хворых ОЛЛ.

Мэтай дадзенай працы з'яўляецца вывучэнне реаранжировки генаў Ig / TCR ў якасці генетычных маркераў лимфобластного лейкозу і лимфа.

Метады даследавання: Метадалогія даследавання грунтавалася на ацэнцы генетычных змяненняў ДНК опухолевых клеток дзяцей, хворых ОЛЛ. Асноўны метад даследавання - ПЦР, дапоўнены гетеродуплексным аналізам атрыманых прадуктаў у полиакриламидном гелі. Таксама ўжывалася субклонирование ПЦР прадуктаў шляхам выразання з геля пэўных фрагментаў і реамп्लीфикация з той жа або «унутранай» парай праймер. Для распрацоўкі АСА-падыходу ўжывалася секвенирование ДНК на ДНК-аналізатары, аналіз нуклеотидной паслядоўнасці з дапамогай праграм BioEdit і MEGA-3, дызайн праймер (АСА) і наступная алель-спецыфічная ПЦР. Эксперыменты па вызначэнні МРБ выконваліся метадам ПЦР «у рэальным часе».

Паводле вынікаў даследавання эфектыўнасці тэрапіі лимфобластных лейкозаў, у дзяцей пры выяўленні МРБ, ў колькасці больш чым адной пухліннай клеткі на дзесяць тысяч нармальных, пасля фазы індукцыі тэрапіі, рызыка развіцця рэцыдыву павялічваецца з 15 да 80%. Дадзеныя пацыенты ставяцца да групы высокай рызыкі. З іншага боку, ёсць група пацыентаў, у якіх назіраецца хуткая і поўная элімінацыя опухолевого клона, у выніку чаго МРБ ня вызначаецца ўжо на фазе індукцыі рэмісіі і безрецидивная выжывальнасць складае 100%. Гэтак жа, маніторынг МРБ можа служыць як ацэнка эфектыўнасці тэрапіі, параўнання розных лячэбных пратаколаў, кантроль за захаваннем для своєчасовай карэкцыі тактыкі лячэння.

Прымаючы ўсё гэта пад увагу, можна зрабіць выснову, што адсочванне МРБ важна не толькі для кантролю плыні і прагнозу захворвання, але таксама для выбару найбольш эфектыўнай і спалучанай з меншым рызыкай стратэгіі лячэння, і таму вызначэнне МРБ неабходна ўключаць ва ўсе пратаколы лячэння з мэтай высвятлення эфектыўнасці абранай лячэбнай працэдуры для дадзенага

ABSTRACT

Thesis 66 p., 4 tables, 21 picture, 66 sources.

THE CLONED REARRANGEMENT OF IMMUNOGLOBULIN GENES AND T-CELL RECEPTOR TO MONITOR TREATMENT OF LYMPHOBLASTIC LEUKEMIAS AND LYMPHOMAS.

Keywords: the rearrangement, immunoglobulin, T cell receptor, acute lymphoblastic leukemia, the minimum "residual" disease, B-lymphocytes, T-lymphocytes, PCR, sequencing, heteroduplex analysis, primer-ASO

The object of study: bone marrow leukemic cells of children with ALL. The aim of this work is to study gene rearrangement Ig / TCR as genetic markers lymphoblastic leukemia and lymphomas.

Methods: The research methodology was based on the assessment of genetic changes DNA of children tumor cells with ALL.

The basic method of research - PCR supplemented heteroduplex analysis of the products obtained by polyacrylamide gel electrophoresis

Also applied subcloning of PCR products by cutting from the gel fragments and certain Reamplification with the same or "inner" primer pair. For the development of ASO approach applied to DNA sequencing of DNA analyzer, nucleotide sequence analysis using the BioEdit program and MEGA-3 design primers (ASO) and subsequent allele-specific PCR. The experiments were carried out to determine the MRD by PCR "in real time".

According to the study efficacy lymphoblastic leukemia in children in detecting MRD in an amount of more than one tumor cells ten thousand normal after induction therapy phase, the risk of recurrence is increased from 15 to 80%. These patients are at high risk. On the other hand, there is a group of patients in which there is rapid and complete elimination of the tumor clone, bringing the RFI is not determined already in the phase of induction of remission and relapse-free survival rate is 100%.

Just MRD monitoring may serve as an assessment of the effectiveness of therapy, the comparison of different treatment protocols, monitoring for conservation of timely correction of treatment.

Taking all this into consideration, it can be concluded that MRD monitoring is important not only to monitor the course and prognosis of the disease, but also to select the most efficient and less-risk treatment strategy, and therefore the definition of SRM should be included in all treatment protocols in order to clarify effectiveness of the selected treatment procedure for the patient.