

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии

СИНЯВСКАЯ
Елизавета Сергеевна

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
ЮВЕНИЛЬНОГО МИЕЛОМОНОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
научный сотрудник
Мигас А. А.

Минск, 2017

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 80 с., 13 рис., 4 табл., 58 источника.

ЮВЕНИЛЬНЫЙ МИЕЛОМОНОЦИТАРНЫЙ ЛЕЙКОЗ, *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *CBL*, *ASXL1*, МИНИМАЛЬНАЯ ОСТАТОЧНАЯ БОЛЕЗНЬ, АСО-ПЦР.

Объектом исследования являлись биоптаты костного мозга пациентов детского возраста с диагнозом ЮММЛ, полученные на момент постановки диагноза и на разных этапах терапии ЮММЛ.

Целью работы была оптимизация молекулярно-генетической диагностики ЮММЛ у детей на базе ГУ «Центр детской онкологии, гематологии и иммунологии».

Методы исследования включали обработку первичного материала, выделение ДНК из различных источников, полимеразную цепную реакцию, метод однонитевого конформационного полиморфизма, секвенирование по методу Сэнгера, молекулярное клонирование, аллель-специфическую ПЦР.

Основными результатами выполненной работы являются:

- Проведен мутационный скрининг генов *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *CBL*, *ASXL1* в группе пациентов детского возраста с подтвержденным диагнозом ЮММЛ. Выявлено шесть соматических мутаций: *PTPN11* с.227A>G (p.Glu76Gly) и с.227A>C (p.Glu76Ala), *CBL* с.1198A>G (p.Met400Val), *NRAS* с.38G>A (p.Gly13Asp).
- Проведен количественный анализ минимальной остаточной болезни для пациентов с диагнозом ЮММЛ методом аллель-специфической ПЦР в реальном времени с использованием однонуклеотидной мутации по гену *NRAS* с.38G>A в качестве молекулярного маркера.
- Созданы плазмидные контроли для оптимизации анализа минимальной остаточной болезни методом АСО-ПЦР для пациента с мутацией в гене *PTPN11* (с.227A>G) на основе вектора pTZ57R/T.

Проведенное исследование является актуальным в рамках протоколов диагностики и терапии ЮММЛ у пациентов детского возраста.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца – 80 с., 13 мал., 4 табл., 58 крыніцаў.

ЮВЕНІЛЬНЫ МІЕЛАМАНАЦЫТАРНЫ ЛЕЙКОЗ, *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *CBL*, *ASXL1*, МІНІМАЛЬНАЯ АСТАТКАВАЯ ХВАРОБА, АСО-ПЛР.

Аб'ектам даследавання з'яўляліся біяпаты касцявога мозгу пацыентаў дзіцячага ўзросту з дыягназам ЮММЛ, атрыманых на момант дыягнаставання і на розных этапах тэрапіі ЮММЛ.

Мэтай працы з'яўлялася аптымізацыя малекулярна-генетычнай дыягностыкі ў дзяцей базе ДУ «Цэнтр дзіцячай анкалогіі, гематалогіі і імуналогіі».

Метады даследавання ўключалі ў сябе апрацоўку першаснага матэрыялу, вылучэнне ДНК з розных крыніцаў, палімеразную ланцуговую рэакцыю, метады аднаніткаснага канфармацыйнага палімарфізму, секвеніраванне, малекулярнае кланаванне, алеля-спецыфічная ПЛР.

Асноўнымі вынікамі выкананай працы з'яўляюцца:

- Праведзен мутацыйны скрiнiнг генаў *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *CBL*, *ASXL1* у групе пацыентаў дзіцячага ўзросту з пацверджаным дыягназам ЮММЛ. Выяўлена шэсьць саматычных мутацый: *PTPN11* с.227A>G (p.Glu76Gly) and с.227A>C (p.Glu76Ala), *CBL* с.1198A>G (p.Met400Val), *NRAS* с.38G>A (p.Gly13Asp).
- Зроблены колькасны аналіз мінімальнай астаткавай хваробы метадам АСО-ПЛР у рэальным часе для пацыентаў з дыягназам ЮММЛ з выкарыстоўваннем аднануклеатыднай мутацыі па гене *NRAS* с.38G>A ў якасці малекулярнага маркера.
- Створаны плазмідныя кантролі для аптымізацыі аналізу мінімальнай астаткавай хваробы метадам АСО-ПЛР для пацыента з мутацыяй ў гене *PTPN11* (с.227A>G) на аснове вектара pTZ57R/T.

Праведзенае даследаванне з'яўляецца актуальным у рамках пратаколаў дыягностыкі і лячэння ЮММЛ у пацыентаў дзіцячага ўзросту.

ABSTRACT

Graduate work – 80 pages, 13 figures, 4 tables, 58 sources.

JUVENILE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA, *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *CBL*, *ASXL1*, MINIMAL RESIDUAL DISEASE, ASO-PCR.

Research objects were bone marrow biopsy samples obtained at the time of diagnosis and on different stages of treatment protocol for JMML from pediatric patients with a diagnosis of JMML.

The purpose of this work was to improve the molecular diagnostics of JMML in children at the «Center for pediatric oncology, hematology and immunology».

Research methods included processing of raw material, extraction of DNA from various sources, polymerase chain reaction, a method of single-strand conformational polymorphism, DNA sequencing, molecular cloning, allele-specific PCR.

Main results of this research are:

- Mutational screening of *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *CBL*, *ASXL1* genes was carried out in group of pediatric patients with confirmed diagnosis of JMML. Six somatic mutations were identified: *PTPN11* c.227A>G (p.Glu76Gly) и c.227A>C (p.Glu76Ala), *CBL* c.1198A>G (p.Met400Val), *NRAS* c.38G>A (p.Gly13Asp).
- Quantitative minimal residual disease assessment (in two patients) based on ASO-PCR in real time was conducted using single nucleotide mutation of *NRAS* gene (c.38G>A) as a molecular marker.
- The pTZ57R/T-based plasmid controls were made for optimization of MRD assessment by allele-specific oligonucleotide PCR in real time for patient carrying mutation in *PTPN11* (c.227A>G).

This work can be readily integrated in routine diagnostics and therapy of JMML in pediatric patients.