

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии

КОВАЛЁВ
Кирилл Александрович

СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
ОЦЕНКИ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ ОСТРОМ
МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Дипломная работа

Научный руководитель:
Ст.н.с лаборатории
иммунологических исследований
РНПЦ детской онкологии,
гематологии и иммунологии
Мигас А.А

Допущен к защите
« ____ » _____ 2021 года

Зав. кафедрой биохимии
кандидат биологических наук, доцент И.В. Семак

Минск, 2021

РЕФЕРАТ

Данная работа выполнена на семидесяти двух страницах, включает тридцать три таблицы и двадцать один рисунок. Для написания использовалось пятьдесят два источника литературы.

Объект исследования: метод АСО ПЦР при ОМЛ.

Цель исследования: оценка эффективности мониторингирования минимальной остаточной болезни у пациентов с ОМЛ методом АСО ПЦР.

Основные методы исследования: ПЦР, АСО ПЦР, секвенирование методом Сэнгера, трансформация.

Наблюдения и исследования проводили в лаборатории генетических биотехнологий на базе РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии в период с сентября 2018 года по апрель 2021 года.

Основные результаты исследования:

1. Разработана последовательность аллель-специфических праймеров для количественной полимеразной цепной реакции для всех пациентов (исходя из имеющихся генетических aberrаций для данных пациентов, которые были верифицированы методом секвенирования по Сэнгеру).

2. Перед постановкой qPCR для всех выбранных пациентов была определена специфичность АСО-праймеров, что является важным критерием для проведения реакции.

3. Для пациентов была проведена оценка динамики соотношения мутантного и дикого аллелей aberrантных генов в ходе терапии методом qPCR. Результатом данного мониторингирования является наглядное снижение мутантных аллелей относительно первичной точки у части пациентов и нахождение этих пациентов в ремиссии; у некоторых пациентов был диагностирован рецидив.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, полимеразная цепная реакция в реальном времени, минимальная остаточная болезнь, аллель-специфичные олигонуклеотиды.

Область применения: при лечении острых миелоидных лейкозов.

РЭФЕРАТ

Змест дадзенай работа выкладзены на сямідзесяці двух старонках, месціць трыццаць тры табліцы і дваццаць адзін малюнак. Пры напісанні выкарыстаны пяцьдзесят дзве літаратурныя крыніцы.

Аб'ект даследвання: метаад алель-спецыфічнай палімеразнай ланцуговай рэакцыі пры вострым міелоідным лейкозе (АСО ПЛР пры ВМЛ).

Мэта даследвання: ацэнка эфектыўнасці маніторынга мінімальнай рэшткавай хваробы ў пацыентаў з ВМЛ метадам АСО ПЛР.

Асноўныя метады даследвання: ПЛР, АСО ПЛР, секвеніраванне па метадазе Сэнгера, трансфармацыя.

Назіранні і даследванні праводзіліся ў лабараторыі генетычных біятэхналогій РНПЦ дзіцячай анкалогіі, гематалогіі і іммуналогіі ў перыяд з верасня 2018 года па красавік 2021 года.

Асноўныя вынікі даследвання:

1. Распрацавана паслядоўнасць алель-спецыфічных праймераў для колькаснай палімернай ланцуговай рэакцыі для усіх пацыентаў (зыходзячы з маючыхся генетычных аберацый для дадзеных пацыентаў, якія былі верыфікаваныя метадам секвеніравання па Сэнгера).

2. Напярэдадні пастаноўкі qPCR для усіх адабраных пацыентаў была вызначана спецыфічнасць АСО-праймераў, што з'яўляецца значным крытэрыем для правядзення рэакцыі.

3. Для пацыентаў была праведзеная ацэнка дынамікі суадносін мутантнага і дзікага алелей аберантных генаў у працэсе тэрапіі метадам qPCR. Вынікам дадзенага маніторынгу з'яўляецца відавочнае зніжэнне мутантных алелей адносна першаснай кропкі ў часткі пацыентаў і знаходжанне дадзенных пацыентаў у стане рэмісіі; у некаторых пацыентаў быў дыягнаставаны рэцыдыў.

Ключавыя словы: востры міелоідны лейкоз, палімеразная ланцуговая рэакцыя ў рэальным часе, мінімальная рэшткавая хвароба, алель-спецыфічныя алігануклеаіды.

Сфера выкарыстання: у лячэнні вострых міелоідных лейкозаў.

The bachelor thesis consists of seventy-two pages and includes thirty-three tables and twenty-one pictures. Fifty-two references were used.

The research subject is the method of the polymerase chain reaction using allele-specific oligonucleotides during the acute myeloid leukaemia (ASO PCR during AML).

The goal of the research is to evaluate the efficiency of ASO PCR as a method of monitoring the minimal residual disease among children with the acute myeloid leukaemia.

PCR, ASO PCR, Sanger sequencing and transformation are the main methods of the research.

The research was conducted at the laboratory of genetic biotechnology at Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology in the period of time from September, 2018 to April, 2021.

The results of the research include:

1. The allele-specific primers for quantitative polymerase chain reaction were designed for all patients (based on the genetic aberrations, which were verified by the Sanger sequencing method).
2. Before conducting qPCR for the selected patients, the specificity of the ASO-primers was evaluated. This step is an essential criterion for the procedure.
3. The dynamic of the MRD for the selected patients during the therapy was evaluated by means of qPCR. The results of this monitoring is a clear decrease of the mutant alleles comparing to the primary point for some patients and being in the remission; some patients have been diagnosed with a relapse.

Keywords: acute myeloid leukaemia, real-time polymerase chain reaction, minimal residual disease, allele-specific oligonucleotides.

Field of implementation: during treatment of the acute myeloid leukaemia.