

Abstrakt

Leukémie jsou nejčastěji se vyskytujícím nádorovým onemocněním u dětských pacientů. Na našem pracovišti (CLIP) byl nedávno zdokumentován nový subtyp dětské akutní B-prekurzorové leukémie (preB-ALL) s liniovým přesmykem během časně fáze léčby do myeloidní linie, jehož incidence mezi preB-ALL tvoří téměř 4 % (Slámová et al., 2014). Methylace DNA (přítomnost 5-methylcytosinu), patří společně s post-translačními úpravami histonů a nekódujícími RNA mezi epigenetické mechanismy, které regulují genovou expresi bez nutnosti změny genetické informace. Mimoto je methylace DNA snadno detekovatelná konverzí bisulfitem sodným a následnou sekvenací. Cílem této práce bylo porovnat metylaci DNA na celogenomové úrovni (tzv. methylační vzory) mezi pacienty s preB-ALL s liniovým přesmykem a kontrolními preB-ALL.

Nejprve bylo třeba revidovat a zlepšit bioinformatický protokol na zpracování dat získaných metodou eRRBS využívající masivně paralelní sekvenování. V rámci zlepšení protokolu jsem porovnála čtyři bioinformatické nástroje na ořez adapterových sekvencí – FAR, cutadapt, Trimmomatic a fastx_clipper. Nejrychlejší a nejúčinnější z nich, program Trimmomatic, jsem následně zařadila do protokolu.

Dále jsem získaná data zpracovala vylepšeným protokolem a následně zanalyzovala v prostředí programovacího jazyka R.

Při porovnání methylačních vzorů pacientů s preB-ALL s liniovým přesmykem a kontrolních preB-ALL ze dne diagnózy jsem našla 84338 významně rozdílně methylovaných cytosinů, 321 významně rozdílně methylovaných CpG ostrůvků a 2295 významně rozdílně methylovaných oken o délce 100 bází. Naprostá většina významně rozdílně methylovaných cytosinů se nacházela v genových regionech (promotor, exon nebo intron). V oblasti promotoru jsem našla 176 rozdílně methylovaných genů mezi skupinami, ke kterým jsem přidala některé další geny, které nás zajímaly a priori. Z nich jsem vizuálně vybrala 20 genů, u kterých 1) byla viditelná souvislá oblast jednotné methylace, 2) byla míra methylace těchto oblastí podobná uvnitř skupin a zároveň 3) se velmi výrazně mezi skupinami lišila. Patřily mezi ně např. CEBPA, CEBPE, KLF14 a další geny související s myeloidní diferenciací představující tak kandidáty na objasnění liniového přesmyku u preB-ALL.

Klíčová slova: leukémie u dětí, akutní B-prekurzorová leukémie s liniovým přesmykem, preB-ALL, methylace DNA, methylační vzory, eRRBS, masivně paralelní sekvenování, bioinformatika