Monitoring chimeryzmu hematopoetycznego metodą STR-PCR

Cel badania: monitoring populacji komórek hematopoetycznych po przeszczepieniu allogenicznym szpiku od dawcy spokrewnionego lub niespokrewnionego.

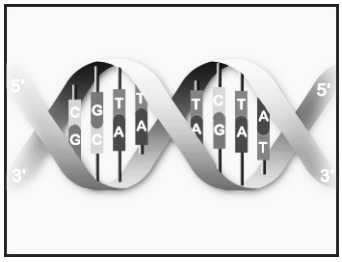
Badanie wykonywane w Pracowni ma charakter półilościowy na poziomie czułości ok. 5% (przy chimeryzmie mieszanym wartości określane są na podstawie analizy całkowej elektroforegramów). Monitoring chimeryzmu pozwala na kontrolę kondycji przeszczepu i na szybką reakcję kliniczną po pojawieniu się chimeryzmu mieszanego. Jest także narzędziem wykrywającym chorobę resztkową, gdy bardziej czułe metody (np. analiza obecności genów fuzyjnych) nie są dostępne.

Procedura badania: pierwszorazowe badanie wykonywane jest u biorcy przed przeszczepieniem oraz u dawcy celem znalezienia najlepiej różnicującego markera polimorficznego. W tym celu wykonywane jest do sześciu reakcji PCR dla obu próbek. Następne badania, prowadzone u pacjenta po przeszczepieniu komórek macierzystych wykonuje się co miesiąc przez pierwsze pół roku po zabiegu (t.j +30,+60,+90, +120 doba), a po upływie tego czasu co pół roku.

Metodyka: reakcja PCR dla obszarów polimorficznych DNA typu STR i VNTR. typy markerów wg bazy UniSTS: 155084, 89846 , 48933, 44093, 146852, 147303, 155443). Metoda detekcji: wysokorozdzielcza elektroforeza kapilarna na aparaturze Qiaxcel High Resolution.

Sposób pobrania materiału:

1. dla badania wstępnego 2x9ml krwi obwodowej pobranej na wersenian (EDTA) od biorcy komórek hematopoetycznych przed przeszczepieniem oraz od dawcy. Pożądane jest wykonanie badania u biorcy przed kondycjonowaniem, zanim pacjent osiągnie leukopenię.
2. w badaniach monitorujących pobietane jest 1x9ml krwi obwodowej pobranej na wersenian (EDTA)
3. W sytuacji, gdy poprzednie badania chimeryzmu wykonywane były w innej placówce możliwa jest kontynuacja badań w naszej pracowni **wyłącznie po dostarczeniu DNA lub zamrożonego lizatu komórkowego od biorcy i dawcy sprzed przeszczepu**
4. DNA można dostarczyć do laboratorium w tych samych warunkach co krew pełną, natomiast lizaty koniecznie w temperaturze zamrożenia (na wkładzie chłodzącym lub w suchym lodzie)
5. W sytuacji, gdy pacjent monitorowany w naszym laboratorium ma zmienić miejsce wykonywania oznaczeń Pracownia udostępnia archiwalny materiał DNA od dawcy i biorcy z zastrzeżeniem, że jest to maksymalnie połowa objętości zbankowanej próbki, rutynowo 1000ng DNA.



Opracowano w Pracowni Biologii Molekularnej
Laboratorium Diagnostyki Hematologicznej
Katedra i Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych
Układu Krwiotwórczego
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu
Kontakt: (061) 854 9597
Dr Michał Gniot, mgr Marzena Pieronkiewicz, mgr Małgorzata Iwoła
Koordynator: Prof. dr hab. Krzysztof Lewandowski