

Abstrakt

Cíle: Pro některé typy monoklonálních gamapatií je charakteristické, že aberantní plasmatické buňky jsou obtížně dostupné pro výzkum. Moderní vědecké postupy využívají vysoce výkonné technologie a integrované analýzy pro charakterizaci abnormálních buněk. Tato strategie vyžaduje relativně vysoké množství vstupního materiálu, který pro některé diagnózy není snadné získat bez nadbytečné zátěže pro pacienty. Cílem tohoto metodologického článku je reflektovat naše dlouhodobé laboratorní zkušenosti a na základě našich znalostí nejlépe popsat protokoly zpracování, sortování a analýzy vzorků s ohledem na dostupné množství buněk a následné využití ve výzkumu monoklonálních gamapatií. Pracovní postup zahrnuje také popis nejčastějších komplikací.

Metody: Porovnání a optimalizace protokolů zamrazování a sortování plasmatických buněk monoklonálních gamapatií, s následným testováním různých technik pro izolaci a amplifikaci nukleových kyselin a výsledným stanovením uniformovaného laboratorního postupu zpracování vzorků v hematoonkologickém výzkumu.

Výsledky: Je uveden průměrný počet aberantních buněk, které je možné získat u jednotlivých typů monoklonálních gamapatií (monoklonální gamapatie nejasného významu/amyloidóza lehkých řetězců/mnohočetný myelom (MM)/cirkulující plasmatické buňky MM/minimální zbytková choroba MM – 10123/22846/305501/68641/4000 aberantních plasmatických buněk z 48/30/10/16/37 x 10⁶ mononukleárních buněk kostní dřeně) a očekávatelné výtěžky nukleových kyselin z různých izolačních kitů (výtěžek z 1 – 200 x 10³ buněk byl 2.14 – 427 ng DNA a 0.12 – 123 ng RNA).

Závěr: Testované kity pro paralelní izolaci poskytují obdobné výtěžky jako kity specializované pro jednotlivé typy molekul. V článku je prezentována také pozitivní zkušenost s metodou celogenomové amplifikace, která je vhodným nástrojem k získání komplexní informace při zpracování velmi malé buněčné populace.