

DỰ ÁN:

ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ METHYL HÓA DNA Ở CÁC YẾU TỐ VẬN ĐỘNG LINE-1 VÀ ALU NHẰM PHÁT TRIỂN CHỈ THỊ PHÂN TỬ NGOẠI GEN (EPI-BIOMARKERS)

ĐỂ CHẨN ĐOÁN UNG THƯ SỬ DỤNG MẪU MÁU NGOẠI VI

Tổ chức chủ trì: Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐH Quốc Gia Hà Nội
Chủ nhiệm dự án: PGS.TS. Võ Thị Thương Lan

MÃ SỐ

VINIF.2022.DAO36

TÓM TẮT VỀ DỰ ÁN

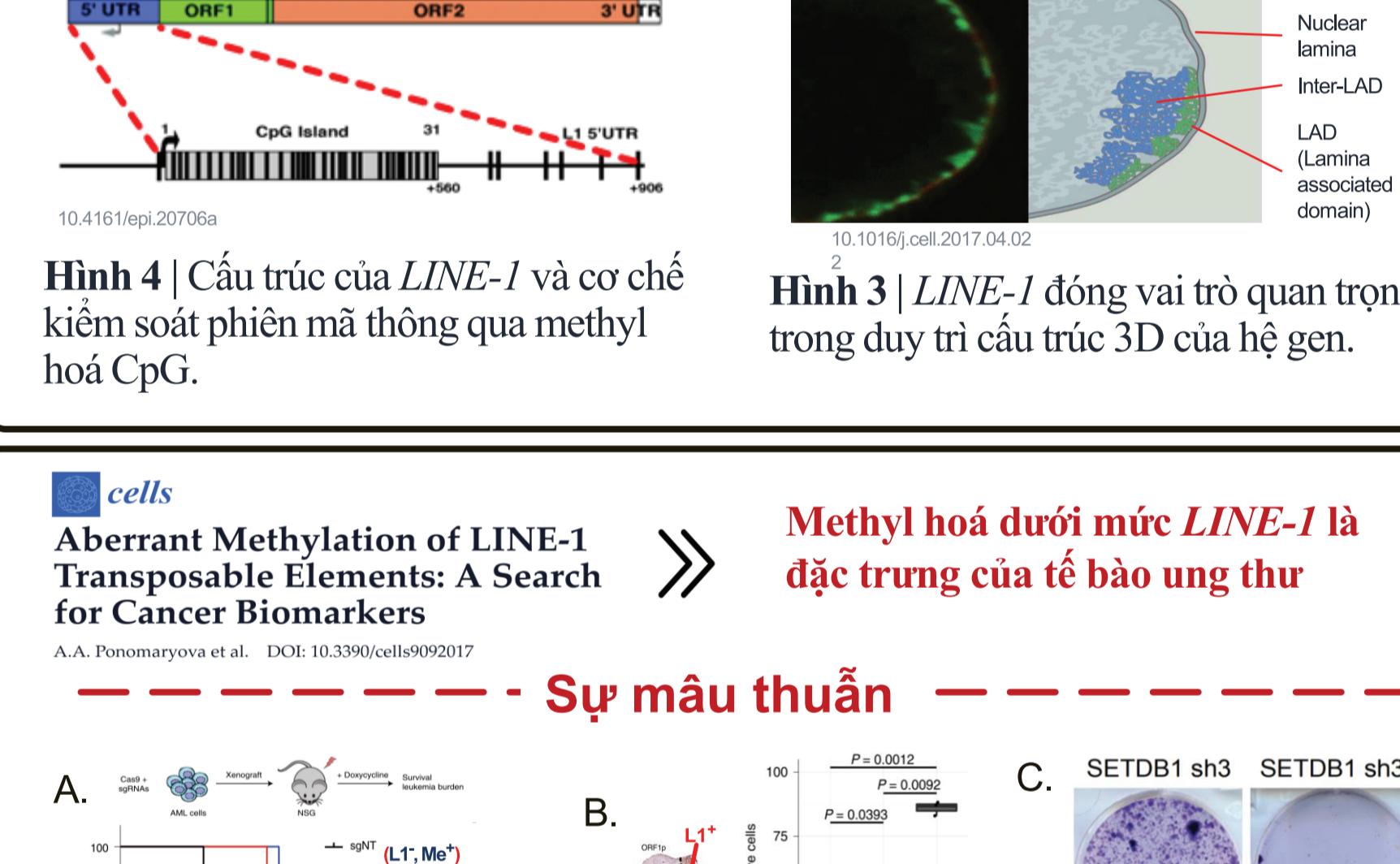
Các yếu tố vận động LINE-1 và Alu là DNA lặp có số bản copy đến 106/genome (trong khi gen đơn bả chỉ có 2 copy/genome). Sự vận động của LINE-1 và Alu được kiểm soát bởi methyl hóa ở CpG có trong trình tự của hai yếu tố này. Tỷ lệ methyl hóa LINE-1 và Alu thay đổi rõ ràng giữa người khỏe mạnh và bệnh nhân ung thư, và đáp ứng mọi yếu cầu khắt khe của dấu chuẩn methyl hóa DNA trong sàng lọc, chẩn đoán, tiên lượng và điều trị ung thư khi sử dụng mẫu không xâm lấn (máu, dịch, nước tiểu). Tuy nhiên, trên thế giới hiện tại chưa có một quy trình chuẩn để xác định tỷ lệ methyl hóa của LINE-1 và Alu. Vì vậy, dự án có mục tiêu:

- Xây dựng quy trình định lượng chính xác mức độ methyl hóa DNA của các yếu tố vận động LINE-1 and Alu ở bệnh nhân ung thư phổi, vú và đại trực tràng.
- Phát triển chỉ thị phân tử ngoại gen “methyl hóa LINE-1 và Alu” cho chẩn đoán ung thư sử dụng mẫu sinh phẩm không xâm lấn.

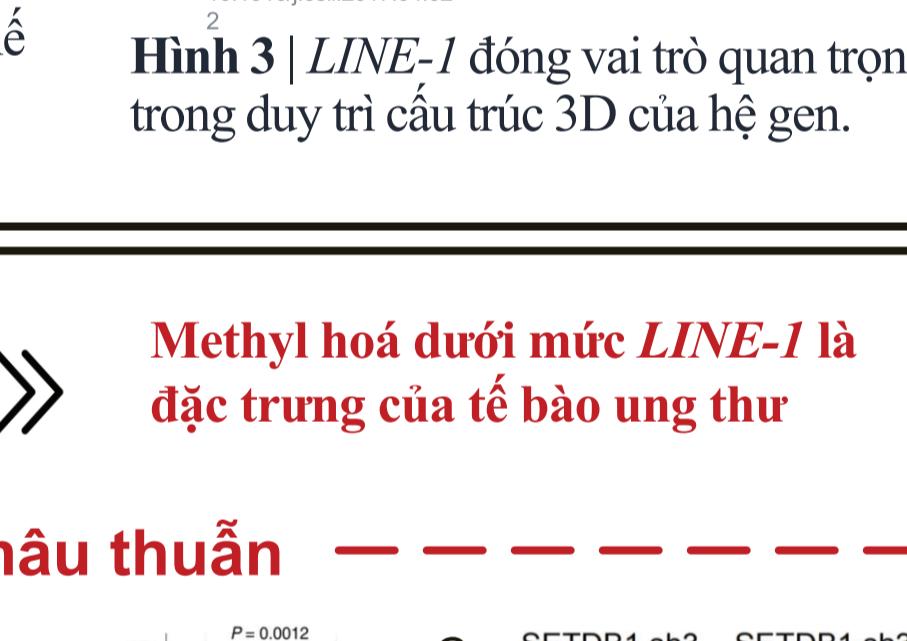
THÔNG TIN NỔI BẬT VỀ DỰ ÁN

Giới thiệu

LINE-1 là dấu chuẩn cho ung thư



Hình 2 | Thành phần các yếu tố vận động trong hệ gen người.

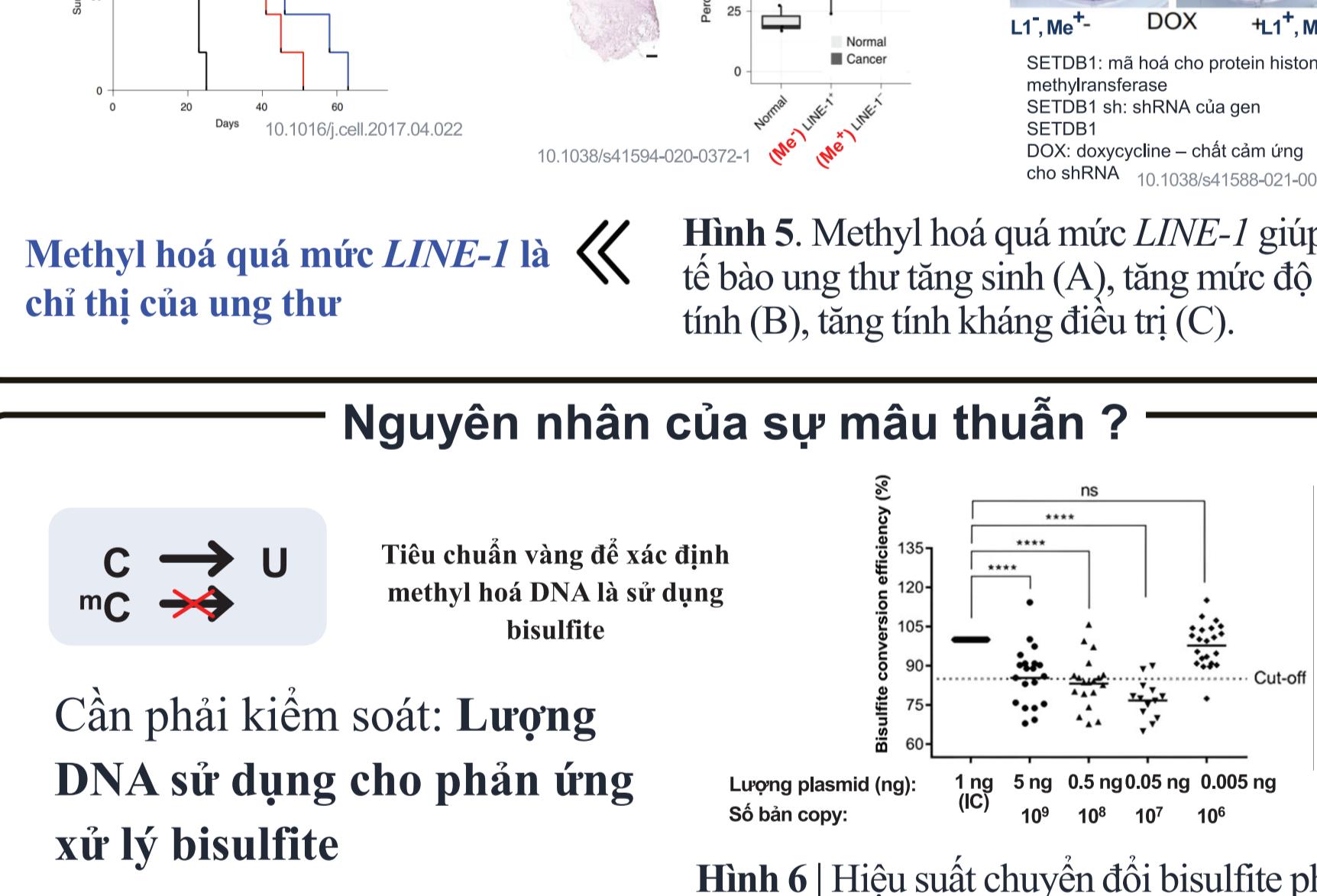


Hình 4 | Cấu trúc của LINE-1 và cơ chế kiểm soát phiên mã thông qua methyl hóa CpG.

Hình 5 | Methyl hóa quá mức LINE-1 giúp tế bào ung thư tăng sinh (A), tăng mức độ ác tính (B), tăng tính kháng điều trị (C).

Sự mâu thuẫn

Methyl hóa dưới mức LINE-1 đặc trưng của tế bào ung thư



Nguyên nhân của sự mâu thuẫn?

Cần phải kiểm soát: Lượng

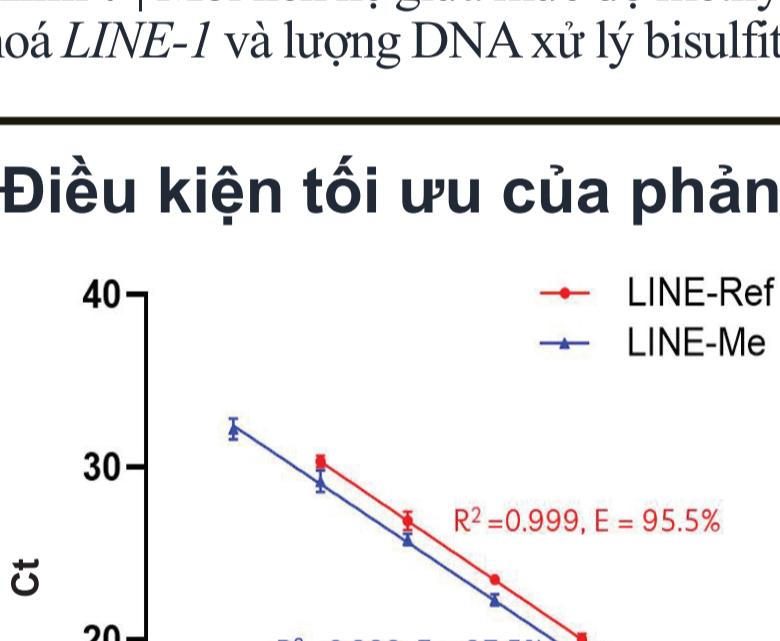
DNA sử dụng cho phản ứng

xử lý bisulfite

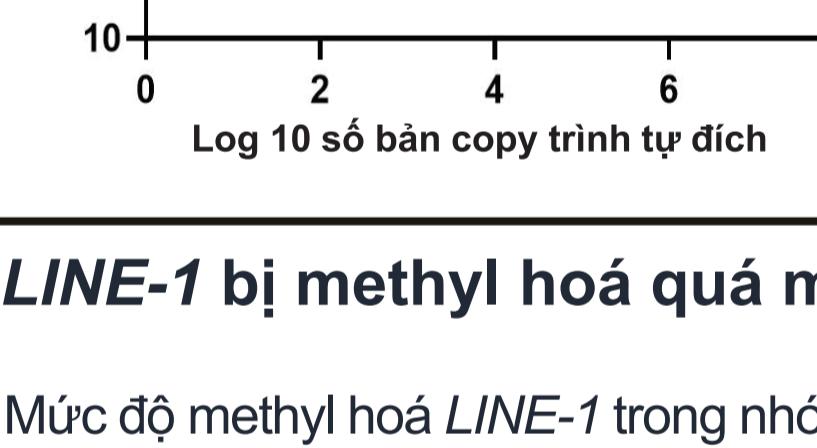


0.5 ng DNA hệ gen đảm bảo xử lý bisulfite hoàn toàn, nhỏ hơn rất nhiều so với lượng đã được sử dụng trong các công bố trước đây (500 ng-2 µg).

Lượng DNA tối ưu cho phản ứng chuyển đổi bisulfite LINE-1



Điều kiện tối ưu của phản ứng qMSP



LINE-1 bị methyl hóa quá mức trong ung thư vú

Mức độ methyl hóa LINE-1 trong nhóm ung thư đều cao hơn nhóm không ung thư ở cả mẫu mô và mẫu huyết tương ($p<0.0001$) (Hình 9, 10). Đồng thời, mức độ methyl hóa LINE-1 cũng liên quan với mức độ ác tính của khối u (Hình 11).

Wilcoxon matched-pairs signed rank test

Mann Whitney U test

Mann Whitney U test

c. cfBC - cfDNA từ bệnh nhân ung thư vú

c. cfNC - cfDNA từ từ người không ung thư

d. G2 - histological grade 2

d. G3 - histological grade 3

Hình 10 | Tỷ lệ methyl hóa LINE-1 ở mẫu cfDNA ung thư (cfBC) và khỏe mạnh (cfNC).

Hình 11 | Mối liên hệ giữa methyl hóa LINE-1 và độ mô học (G) của khối u.

Kết luận

Lượng DNA đầu vào ảnh hưởng đếm hiệu suất của phản ứng xử lý bisulfite, quyết định tính chính xác của tỷ lệ methyl hóa LINE-1.

Methyl hóa quá mức trình tự LINE-1, không phải methyl hóa dưới mức, là dấu chuẩn tiềm năng cho chẩn đoán và tiên lượng cho ung thư.

Kiến nghị

Cập nhật bổ sung lượng DNA đầu vào tối ưu cho chuỗi phản ứng chuyển đổi bisulfite của các trình tự lặp trong hướng dẫn sử dụng của các kit thương mại.

Cập nhật thông tin vào trong tất cả các nghiên cứu cơ bản và ứng dụng có sử dụng phương pháp phân tích methyl hóa dựa trên phản ứng chuyển đổi bisulfite.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự tài trợ của quỹ Đổi mới sáng tạo VinGroup (VINIF) với mã dự án: VINIF.2022.DAO0036.

Tài liệu tham khảo chính

1. Ponomaryova AA, Rykova EY, Gerasov PA, Cherdintseva NV, Mamedov IZ, Azhikina TL. Aberrant Methylation of LINE-1 Transposable Elements: A Search for Cancer Biomarkers. Cells. 2020 Sep 2(9):2017. doi: 10.3390/cells9092017. PMID: 32887319; PMCID: PMC7563416.

2. Gu Z, Liu Y, Zhang Y, Cao H, Lyu J, Wang X, Wylie A, Newkirk SJ, Jones AE, Lee M Jr, Bottem GA, Deng M, Dickerson KE, Zhang CC, An W, Abrams JM, Xu J. Silencing of LINE-1 retrotransposons is a selective dependency of myeloid leukemias. Nat Genet. 2021 May;53(5):672-682. doi: 10.1038/s41588-021-00829-8. Epub 2021 Apr 8. PMID: 33833453; PMCID: PMC8270111.

Kết quả đã được gửi đăng trên tạp chí PlosOne

Pham et al. Recension of the LINE-1 methylation profile in cancer

THÔNG TIN LIÊN HỆ

0988551068

vothithuonglan@hus.edu.vn