

# **Cytofluorometrické třídění periferních lymfocytů pacientů s kolorektálním karcinomem pro stanovení specifických molekulárních markerů**

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Petr Hanák, PhD

[petr.hanak@iem.cas.cz](mailto:petr.hanak@iem.cas.cz).

Ústav experimentální medicíny AVČR

Oddělení molekulární biologie nádorů

+420241062251

Kolorektální karcinom představuje světově třetí nejčastěji se vyskytující nádorové onemocnění. V minulosti byla popsána souvislost závažnosti onemocnění i prognózy přežití s délkou telomer nejen v nádorové tkáni, ale i v lymfocytech periferní krve. Vzorky krve jsou pravidelně odebírány v průběhu léčby a po ní (tzv. tekutá biopsie), a jsou tak dostupné pro dlouhodobé monitorování vývoje nemoci. Podobně je u lymfocytů studována souvislost počtu kopií mitochondriální DNA (mtDNA CN) a exprese řady genů jako např. TERT (telomerase reverse transcriptase), TFAM (transcription factor A, mitochondrial) atd.

Lymfocyty v krvi jsou však velmi variabilní a vnášejí do kvantitativní analýzy pomocí qPCR chaos. Náplní práce proto bude roztřídění izolovaných leukocytů pacientů pomocí průtokové cytofluorometrie („cell sorteru“) do subpopulací odpovídajících přesněji na nádorový proces, jako jsou NK, T<sub>c</sub>, T<sub>reg</sub> a pod. Analýza DNA i genové exprese u takto roztříděných buněk by měla poskytnout mnohem specifitější výstup ve srovnání s analýzou směsi lymfocytů. Dílčím cílem projektu je nalézt přesnější markery odpovědi na léčbu, průběhu nemoci a/nebo její závažnosti. Alternativně bude použita i digitální PCR a bude ověřena její použitelnost u méně zastoupených subpopulací lymfocytů s nižším předpokládaným výtěžkem DNA.

Cílem projektu je posoudit přínos třídění lymfocytů periferní krve u pacientů s kolorektálním karcinomem pro sledování molekulárních markerů onemocnění porovnáním s dosud používanou plnou lymfocytovou frakcí. Hodnoty jednotlivých molekulárních markerů z vytříděných subpopulací budou korelovány také s rutinně používanými markery nádorového onemocnění. Diplomová práce by tak měla přispět k rozšíření spektra molekulárních markerů, respektive vést k markerům specifitějším.