

MEROSLOVNA PODPORA ZA IZBOLJŠANJE GENOMSKEGA PROFILIRANJA V DIAGNOSTIKI RAKA

Mojca Milavec ¹, Alexandra Bogožalec Košir ¹, Metka Novak ², Barbara Breznik ², Carole A. Foy ³, Carla Divieto ⁴

¹ Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana, Slovenija

² Oddelek za genetsko toksikologijo in biologijo raka, Nacionalni inštitut za biologijo, Ljubljana, Slovenija

³ National Measurement Laboratory, LGC, Guildford, UK

⁴ Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica (INRiM), Turin, Italy

Elektronski naslov: mojca.milavec@nib.si

p26

Nedavni tehnološki napredek na področju molekularne biologije, zlasti na področju sekvenciranja nove generacije (NGS), je prinesel pomemben napredek v diagnostiki raka. NGS omogoča genomsko profiliranje, kar vodi do natančnejših diagnoz, prilagojenih načrtov zdravljenja in razvoja novih, ciljnih terapij. Kljub temu napredku se kakovost in zanesljivost genomskega profiliranja med različnimi laboratoriji zelo razlikujeta, kar lahko vpliva na izide zdravljenja pacientov in učinkovitost zdravstvenega sistema. Postopek je kompleksen, večstopenjski in odvisen od številnih dejavnikov kot so priprava vzorca, kvaliteta izolirane nukleinske kisline ali postopek za analizo rezultatov. Večjo zanesljivost genomskega profiliranja bi lahko dosegli z razvojem standardov in uvajanjem meroslovnih pristopov v kritičnih stopnjah postopka.

Meroslovje je znanost o merjenju. Njen namen je zagotoviti, da so rezultati meritev zanesljivi, ne glede na to, kje in kdaj so bile meritve opravljene. Mednarodni projekt Metrology for genomic profiling to support early cancer detection and precision medicine, na kratko GenomeMET, je namenjen razvoju meroslovne podpore za genomsko profiliranje in precizno medicino. V okviru projekta poteka razvoj referenčnih merilnih sistemov za podporo validaciji obstoječih in novih metod za genomsko profiliranje in za zagotavljanje kakovosti analize.

Kot modela za določanje kritičnih točk za kontrolo kakovosti v procesu genomskega profiliranja smo izbrali tkiva tumorjev nedrobnoceličnega pljučnega raka in vzorce tekočinskih biopsij raka prebavil. Genomsko profiliranje partnerji v projektu izvajajo na različnih platformah z različnimi komercialnimi kompleti in z metodami razvitimi v laboratorijih.

Za podporo validaciji metod in za vrednotenje kontrolnih in referenčnih materialov razvijamo in ocenjujemo merilne postopke za izbrane genetske označevalce raka na sledečih genih: *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *MET*, *PIK3CA*, *TP53* in *ESR1*. Merilni postopki temeljijo na digitalnem PCR (dPCR), ki omogoča merjenje absolutne koncentracije izbranega označevalca. Te merilne postopke bomo uporabili kot kontrolne meritve za določanje deleža mutacij in kratkih izbrisov pri izbranih vzorcih za genomsko profiliranje, standardih WHO in materialih za zunanje sheme preverjanja kakovosti za INSTAND (*nem.* Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V.; Društvo za spodbujanje zagotavljanja kakovosti v medicinskih laboratorijih) in GenQA (*angl.* Genomic Quality Assessment; Ocenjevanje kakovosti v genomiki).

Količina in kvaliteta DNA, ki jo izoliramo iz vzorca, sta ključnega pomena za uspešno genomsko profiliranje, zato razvijamo tudi referenčne merilne postopke za določanje količine in kvalitete DNA izolirane iz tkiva tumorja ali tekočinske biopsije. V postopku vrednotenja sta metodi na osnovi dPCR za sočasno določanje petih humanih referenčnih genov in za določanje fragmentacije DNA, s katerima bomo primerjali fluorimetrične in spektrofotometrične metode in metode na podlagi elektroforeze.

Posebno pozornost v projektu namenjamo razvoju zanesljivega načina za določanje merilne negotovosti. Medtem ko so pristopi za določanje merilne negotovosti pri merilnih postopkih za

posamezno tarčo že precej razviti tako na področju klinične kemije kot genetskega testiranja, je določanje merilne negotovosti za večparametričnih genomskih testih zelo slabo podprto, saj mora upoštevati kvantitativne (npr. število branj, pogostost variantnega alela) in kvalitativne (npr. identiteta zaporedja ali variante) parametre. S tem bomo laboratorijem pomagali razumeti vire merilne negotovosti in potencialen razpon napak pri analizah.

Rezultati bodo koristili pacientom, kliničnim laboratorijem, podjetjem, ki razvijajo diagnostične teste, in regulatornim organom. S pridobivanjem zanesljivejših genomskih podatkov bo omogočena širša uporaba personalizirane medicine, kar bo na koncu izboljšalo rezultate zdravljenja pacientov in pomagalo zmanjšati stroške zdravstvenega varstva.

Zahvala

GenomeMET je prejel finančna sredstva iz Evropskega partnerstva za meroslovje, ki ga sofinancirajo program Evropske unije za raziskave in inovacije Obzorje Evropa ter sodelujoče države.