

Ny metode for analyse av DNA-mutasjoner

Norske forskere har utviklet en ny metode som kan identifisere lavfrekvente DNA-mutasjoner med høy sensitivitet og spesifisitet i stor skala.

Sekvensering har lenge vært gullstandard ved analyse av mutasjoner i DNA, bl.a. fordi metoden har høy sensitivitet og høy spesifisitet. Den er godt egnet til analyse av arvelige mutasjoner, men ved tilstedeværelse av somatiske mutasjoner i arvematerialet blir ofte deteksjonsgrensen for dårlig.

I ikke-arvelig kreft er mutasjoner i onkogenet ikke til stede i alle cellene i hele svulsten. Dette skyldes at en kreftsvulst består av både kreftceller og andre celler, som endotel og bindevev. Fordi bare det ene av to alleler i f.eks. et onkogen er mutert, vil andelen alleler med mutert onkogen i en kreftsvulst derfor ofte være langt lavere enn 50 %.

Ved sekvenseringsanalyse av DNA fra slike tumorer vil ikke alltid mutasjoner kunne identifiseres. Flere studier har vist at variasjonsfaktoren må være til stede i minst 25 % av prøven for å kunne bli identifisert med sekvensering. En rekke alternative metoder er utviklet for å analysere lavfrekvente mutasjoner. Et problem med mange av disse er at de kun finner mutasjonen, men ikke er i stand til å angi hvilken type mutasjon det dreier seg om.

I en studie fra Radiumhospitalet er nå mutasjoner i onkogenet BRAF blitt analysert med såkalt denaturerende kapillærelektroforese (1). Resultatene viste at det var mulig å identifisere DNA-mutasjoner i cellelinjer og tumorprøver direkte. Det er tidligere rapportert at man ved hjelp av denaturerende kapillærelektroforese kan identifisere muterte alleler hvis de er til stede i ned til 1 % av prøven.

– Sekvensering av DNA-prøver brukes hyppig for å identifisere mutasjoner i tumorprøver, noe som kan føre til at lavgradige mutasjoner overses, sier forsker Per O. Ekstrøm ved Fagområde operativ behandling, Radiumhospitalet.

– Selv om metoden foreløpig kun er prøvd ut på få gener, viser resultatene at det er



Per Olaf Ekstrøm har utviklet en metode som kan identifisere lavfrekvente DNA-mutasjoner. Foto Jens Bjørheim

mulig å bestemme den nøyaktige baseutbyttingen i DNA uten bruk av sekvensering. Det er flere tilgjengelige metoder for å gjøre dette, men disse er ofte teknisk kompliserte og har ingen plass i storskalaundersøkelser. Denaturerende kapillærelektroforese er en enkel metode fordi den kun består av to trinn, polymerasekjedereaksjon og elektroforese.

Metoden er satt opp på kommersielt tilgjengelige kapillærelektroforeseinstrumenter som allerede finnes i de fleste forskningslaboratorier. De fleste typer elektroforeseinstrumenter kan brukes til denne typen analyser, og metoden burde derfor være et interessant alternativ til sekvensering for analyse av DNA-varianter, sier Ekstrøm.

Jens Bjørheim

jens.bjorheim@medisin.uio.no
Tidsskriftet

Litteratur

1. Hinselwood D, Abrahamsen TW, Ekstrøm PO. BRAF mutation detection and identification by cycling temperature capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 2005; 26: 2553–61.

Studerer DNA-variasjon

Kirurgisk forskningsgruppe ved Radiumhospitalet ble etablert i 1999 som et bindeledd mellom Kirurgisk avdeling og Institutt for kreftforskning.

Gruppen ledes av professor Karl-Erik Giercksy. Den består av sju personer, som samarbeider tett med flere grupper ved Institutt for kreftforskning. Gruppen har i de siste årene jobbet med å etablere teknikker for hurtig, sensitiv og spesifikk analyse av DNA-varianter med kapillærelektroforesemetoder.

De samarbeider med flere forskningsgrupper i Norge og med Massachusetts Institute of Technology i Boston. I tiden fremover ønsker de å bruke den utviklede metodologien til å analysere DNA-varianter i ulike populasjoner. Les mer på <http://radium.no/srg>



www.tidsskriftet.no/norskforskning

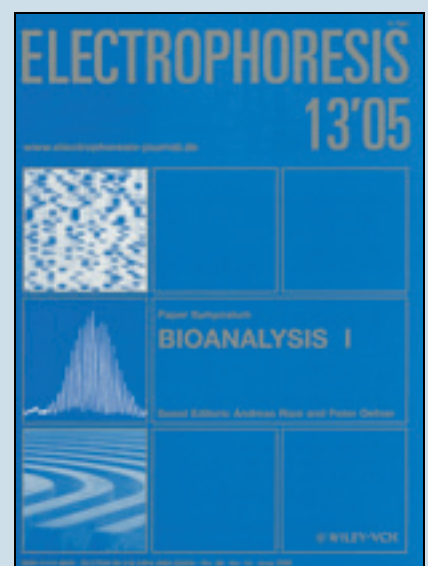
Ordforklaring

Onkogen: Et protoonkogen er den normale varianten av et onkogen. Et onkogen har, i motsetning til et protoonkogen, en mutasjon som gjør genproduktet og dermed cellen mer autonom. Dette kan fremme ukontrollert celledeling.

Denaturerende kapillærelektroforese:

Metode som bygger på DNA-smeltings-teori. Denne teorien beskriver oppsmelting av dobbeltrådig DNA til enkeltrådig ved hjelp av temperaturendringer eller kjemisk denaturant. Forskjellige DNA-sekvenser (med samme lengde og ned til en bases forskjell) smelter på en karakteristisk måte og kan separeres med denaturerende kapillærelektroforese.

Er du i ferd med å publisere eller har du nylig publisert forskningsresultater i et internasjonalt tidsskrift? Send tips til erlend.hem@medisin.uio.no



Artikkelen ble publisert 10.6. 2005 i det velrenommerte tidsskriftet *Electrophoresis* (<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/jhome/10008330>).