

## 55 Banka biologického materiálu v Masarykově onkologickém ústavu. Změna archivace vzorků – zkušenosti s ročním provozem.

Knoflíčková D., Šmerdová T., Nenutil R., Žaloudík J.  
Masarykův onkologický ústav, Brno

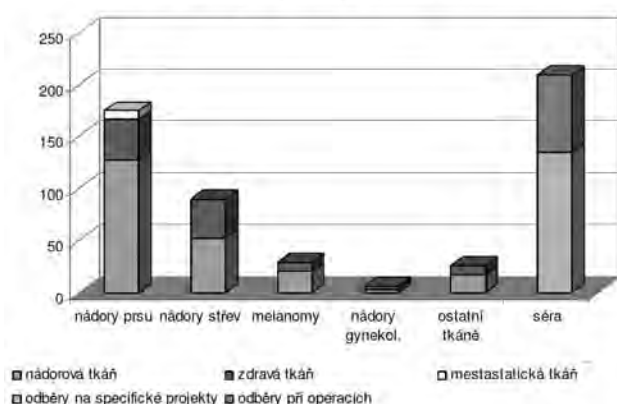
Nové vědecké a technologické pokroky v oblasti genomové a proteomové analýzy umožňují stále detailnější poznávání dynamiky a funkčních aspektů onemocnění.

Dostupnost nativní nefixované tkáně a dalšího biologického materiálu je základním požadavkem pro rozvoj a validaci nových molekulárně biologických metod, založených na testování nukleových kyselin a proteinových analýzách. Archivovaná nativní tkáň, v případě relapsu onemocnění individuálního pacienta, může také posloužit k prognostickým a prediktivním účelům.

Banka biologického materiálu (BBM) v Masarykově onkologickém ústavu organizuje sběr, identifikaci, uchování, výdej a kontrolu kvality uložených vzorků. Dále zajišťuje nepřetržitou kontrolu zařízení sloužícího k vlastní archivaci biologického materiálu. Samozřejmě je také dostupnost relevantních klinických dat.

Od doby svého vzniku tj. koncem roku 2000 až do roku 2006 byly veškeré vzorky archivovány v hlubokomrazícím boxu při teplotě  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Tato teplota je uváděna jako dostačující pro uložení nativních tkání. Z hlediska dlouhodobé archivace je ovšem výhodnější upřednostnit uskladnění tkání pomocí tekutého dusíku či jeho par. Zkušenosti dokazují, že výtěžnost DNA a RNA takto archivovaných vzorků zůstává nezměněna po desetiletí i déle. Tento způsob uskladnění také garantuje udržení nižší ( $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  či  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) a stabilnější teploty v porovnání s hlubokomrazícím boxem. Kontaminaci ústící z uložení tkání v tekutém dusíku lze potlačit archivací vzorků pomocí dusíkových par.

Počet vydaných tkání a sér z BBM v roce 2007



V roce 2007 došlo k vybudování nového kryoskladu na oddělení klinické a experimentální patologie a tím ke změně v uskladnění vzorků pomocí par tekutého dusíku. Stávající vzorky tkání i sér byly za přesně definovaných podmínek přestěhovány z hlubokomrazícího boxu a nově naskladněny k definitivní archivaci. Vzorky sbírané od roku 2007 jsou již přímo archivovány v dusíkových parách.

V průběhu roku také docházelo ke zkvalitňování provozu BBM. Byly vypracovány standardní operační procedury, dle kterých se celý provoz BBM řídí. Na prvním místě byla snaha o zajištění co nejrychlejšího dodání nativního materiálu z operačního sálu na oddělení patologie. Ve spolupráci s týmy operačních sálů bylo zavedeno sledování času od přerušení cévního zásobení tkáně do okamžiku jejího zamrazení. Tento časový údaj je velice důležitý z hlediska další využitelnosti vzorků

a neměl by přesáhnout 30 minut. Při větší časové prodlevě významně narůstá degradace nukleových kyselin, čímž se tkáň stává méně vhodnou pro molekulárně biologické analýzy.

Z hlediska vlastních zamrazovacích technik se také začalo testovat zamrazování tkání pomocí isopentanu, vychlazeného v tekutém dusíku. Cílem je zhodnotit rozdíly v kvalitě tkání mrazených pomocí tekutého dusíku či isopentanu a vybrat co nejoptimálnější způsob zamrazení vedoucí k získání kvalitních vzorků.

K odběru nádorových tkání do RNA Lateru byl zaveden navíc odběr zdravých tkání do tohoto stabilizátoru. Došlo také ke změně v archivaci těchto vzorků. Dostačující teplotou, která nezpůsobí zmrznutí stabilizačního roztoku RNA Later a tím případné narušení struktury tkáně je teplotě  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

V průběhu celého roku probíhala stálá kontrola identifikace ukládaných vzorků, včetně kompletnosti patomorfologických dat. Pro výdej vzorků z BBM byly vypracovány detailní žádosti, ať už pro interní či externí žadatele, které jsou dostupné na webových stránkách MOÚ. Samozřejmě byla také kontrola kvality vzorků, které byla hodnocena pomocí extrahované RNA (výtěžnost, čistota, degradace). Nezbytná byla denní kontrola samotného zařízení sloužícího k archivaci vzorků. V roce 2007 nedošlo k žádné závažné poruše v celém systému, ať již sloužícího k monitorování prostoru kryoskladu či k vlastní archivaci.

Do prostoru kryoskladu bylo na konci roku 2007 nainstalováno zvedací zařízení, umožňující snadnější manipulaci při práci se vzorky.

V roce 2007 bylo naskladněno 645 tkání tj. 2378 alikvotů, 610 sér tj. 1830 alikvotů a 640 tkání uchovaných v RNA Lateru tj. 1038 alikvotů. Z lokalit převládaly nádory prsu, které činily přes 45% všech archivovaných tkání.

Bylo provedeno cca 550 izolací nukleových kyselin (430 z nativního materiálu) a vydáno 332 alikvotů tkání a 210 alikvotů sér (viz graf).

BBM MOÚ archivuje veškeré maligní, metastatické či zdravé tkáně a od roku 2005 také krevní séra. Celkově je nyní naskladněno cca 3600 tkání tj. přes 12000 alikvotů a cca 1560 sér tj. 4680 alikvotů. V RNA Lateru je archivováno cca 830 tkání tj. 1234 alikvotů.

**ONKOPATOLOGIE**

Hlavním úkolem BBM je poskytnutí kvalitního nativního materiálu, který lze využít nejen pro výzkumné a grantové projekty MOÚ či dalších pracovišť, ale který by také napomohl ovlivnit terapeutické procesy individuálního pacienta.

*Projekt podpořen výzkumným záměrem MZO 00209805*