

25. BÖLÜM

ARAŞTIRMALARDAN KLİNİK PRATIĞE: RNA DİZİLEME

Mehmet BUĞRAHAN DÜZ¹

GİRİŞ

RNA dizileme teknolojilerinin ortaya çıkmasıyla birlikte RNA tabanlı çeşitli hastalıklarda tanısallık, prognostik ve terapötik açıdan kullanılabilmesine ilişkin çalışmalar artarak devam etmektedir. Gen füzyonlarının tespiti ve hastalığa neden olabilecek mutasyonların ortaya çıkardığı yeni transkriptlerin tespiti bu teknoloji ile mümkün olmaktadır. Bununla birlikte, RNA-dizileme ile tespit edilen RNA türlerinin çeşitliliği, RNA tabanlı ölçümlerin çok yönlü klinik uygulanabilirliği ve hücre dışı RNA'ların hastalığın non-invaziv tanıtıcı göstergeleri olma potansiyeli gibi birçok durum için umut vaat etmektedir. RNA dizilemenin klinik kullanımını genişletmek için referans standartların oluşturulması, klinik koşullar için test optimizasyonu ve test tekrarlanabilirliğinin gösterilmesi yönünde çalışmaların devamı RNA tabanlı uygulama alanlarını genişletmektedir.

RNA DİZİLEME

RNA dizileme metodu on yıl önce geliştirildi ve genomik fonksiyon anlayışımızın neredeyse her yönünü şekillendiren bir araç haline geldi. RNA-dizileme çoğunlukla gen ekspresyonu değişikliklerini analiz etmek için kullanılır. Gen ekspresyon tespitinin temel aşamaları yıllardır aynıdır. Standart iş akışı laboratuvarında RNA ekstraksiyonu ile başlar, ardından mRNA zenginleştirilmesi veya ribozomal RNA yok edilmesi, cDNA sentezi ve adaptor-ligasyonlu bir dizileme kitaplığının hazırlanması ile başlar. Kitaplık daha sonra yüksek verimli bir plat-

¹ Uzm. Dr., Tıbbi Genetik, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haseki eğitim ve Araştırma Hastanesi, bugrahanduz@hotmail.com

ekspresyon analizlerine dayanarak tedavi planlamalarının yapılmasında güncel olarak kullanılmaktadır. Yapılacak meta analizler ve ileri çalışmalar ile RNA dizileme ıslak laboratuvar algoritmalarının düzenlenmesi, elde edilen verilerin analizlerinin standardize edilmesi ve daha kapsamlı referans veri tabalarının oluşturulması hastalıkların moleküler tanılarının ortaya konulmasında ve prognozlarının tahmininde daha başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

1. Stark R, Grzelak M, Hadfield J. RNA sequencing: the teenage years. *Nat Rev Genet.* 2019;20(11):631-56.
2. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015;26 Suppl 5:v8-30.
3. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, Pritchard KI, Albain KS, Hayes DF, et al. Prospective Validation of a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2015;373(21):2005-14.
4. Zhang W, Yu Y, Hertwig F, Thierry-Mieg J, Thierry-Mieg D, Wang J, et al. Comparison of RNA-seq and microarray-based models for clinical endpoint prediction. *Genome Biol.* 2015;16:133.
5. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood.* 2009;114(5):937-51.
6. Sonu RJ, Jonas BA, Dwyre DM, Gregg JP, Rashidi HH. Optimal Molecular Methods in Detecting p190 (BCR-ABL) Fusion Variants in Hematologic Malignancies: A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Hematol.* 2015;2015:458052.
7. Dehm SM, Schmidt LJ, Heemers HV, Vessella RL, Tindall DJ. Splicing of a novel androgen receptor exon generates a constitutively active androgen receptor that mediates prostate cancer therapy resistance. *Cancer Res.* 2008;68(13):5469-77.
8. Antonarakis ES, Lu C, Wang H, Luber B, Nakazawa M, Roeser JC, et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med.* 2014;371(11):1028-38.
9. Byron SA, Van Keuren-Jensen KR, Engelthaler DM, Carpten JD, Craig DW. Translating RNA sequencing into clinical diagnostics: opportunities and challenges. *Nat Rev Genet.* 2016;17(5):257-71.
10. Szelinger S, Malenica I, Corneveaux JJ, Siniard AL, Kurdoglu AA, Ramsey KM, et al. Characterization of X chromosome inactivation using integrated analysis of whole-exome and mRNA sequencing. *PLoS One.* 2014;9(12):e113036.
11. Marco-Puche G, Lois S, Benitez J, Trivino JC. RNA-Seq Perspectives to Improve Clinical Diagnosis. *Front Genet.* 2019;10:1152.
12. Cummings BB, Marshall JL, Tukiainen T, Lek M, Donkervoort S, Foley AR, et al. Improving genetic diagnosis in Mendelian disease with transcriptome sequencing. *Sci Transl Med.* 2017;9(386).
13. Frsard L, Smail C, Ferraro NM, Teran NA, Li X, Smith KS, et al. Identification of rare-disease genes using blood transcriptome sequencing and large control cohorts. *Nat Med.* 2019;25(6):911-9.
14. Consortium SM-I. A comprehensive assessment of RNA-seq accuracy, reproducibility and information content by the Sequencing Quality Control Consortium. *Nat Biotechnol.* 2014;32(9):903-14.

15. Li S, Tighe SW, Nicolet CM, Grove D, Levy S, Farmerie W, et al. Multi-platform assessment of transcriptome profiling using RNA-seq in the ABRF next-generation sequencing study. *Nat Biotechnol.* 2014;32(9):915-25.
16. Van Allen EM, Miao D, Schilling B, Shukla SA, Blank C, Zimmer L, et al. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science.* 2015;350(6257):207-11.
17. De Vlaminc I, Valantine HA, Snyder TM, Strehl C, Cohen G, Luikart H, et al. Circulating cell-free DNA enables noninvasive diagnosis of heart transplant rejection. *Sci Transl Med.* 2014;6(241):241ra77.
18. De Vlaminc I, Martin L, Kertesz M, Patel K, Kowarsky M, Strehl C, et al. Noninvasive monitoring of infection and rejection after lung transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(43):13336-41.