

ANALISIS FRAGMEN GEN FUSI BCR-ABL YANG BELUM TERIDENTIFIKASI PADA KASUS CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA (CML) DI YOGYAKARTA

Tri Agusti Sholikah¹, Susanna Hilda Hutajulu², Dewi Kartikawati Paramita³

INTISARI

Latar belakang : Diagnosis standar *Chronic Myelogenous Leukemia* (CML) adalah pemeriksaan keberadaan gen fusi BCR-ABL beserta tipe *breakpoint*-nya. Gen fusi BCR-ABL paling sedikit mempunyai 7 macam tipe *breakpoint* yang digolongkan menjadi 3 *breakpoint cluster region* gen BCR yaitu mayor, minor dan mikro. Di Yogyakarta, metode deteksi gen fusi BCR-ABL dan tipe *breakpoint*-nya menggunakan RT-PCR multiplex dan *nested*. Pemeriksaan terhadap 200 pasien menemukan fragmen dengan ukuran yang belum pernah dilaporkan sebelumnya, yaitu 500 bp (n=11) dan 600-700 bp (n=4). Analisis lebih lanjut terhadap fragmen tersebut perlu dilakukan untuk mengidentifikasi kemungkinan adanya fragmen baru selain yang telah ada.

Tujuan Penelitian : Penelitian ini secara umum bertujuan untuk melakukan identifikasi fragmen ukuran 500 bp dan 600-700 bp dan secara khusus melakukan konfirmasi fragmen tersebut dengan RT-PCR konvensional dan *nested* serta melakukan analisis sekuen.

Metode Penelitian : Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan desain *cross sectional*. Fragmen ukuran 500 bp dan 600-700 bp mula-mula dikonfirmasi dengan RT-PCR konvensional serta *nested* menggunakan primer mayor. Jika konfirmasi tersebut memberikan hasil negatif, maka metode RT-PCR multiplex serta *nested* pada penelitian awal diulang kembali untuk meyakinkan keberadaan fragmen tersebut. Semua pita yang mewakili tipe *breakpoint* yang ditemukan pada tahap konfirmasi, baik yang telah maupun belum dilaporkan sebelumnya akan disekuensing dan dibandingkan dengan sekuen yang ada di *genbank*.

Hasil : Konfirmasi terhadap 15 sampel menunjukkan bahwa 7 sampel terkonfirmasi sebagai tipe *breakpoint* mayor b3a2, 5 sampel terkonfirmasi tipe *breakpoint* mayor b2a2, 1 sampel terkonfirmasi tipe kombinasi b3a2 dan b2a2, dan 2 sampel terkonfirmasi tipe kombinasi b3a2 dan b2a2 serta mempunyai pita tambahan ukuran sekitar 500 bp. Hasil analisis sekuen menunjukkan terdapat 3 macam variasi sekuen pada 2 sampel tipe *breakpoint* mayor b3a2. Dua variasi yang ditemukan belum pernah dilaporkan sebelumnya yaitu c.3245C>T, c.3359T>C, sedangkan 1 variasi pernah dilaporkan sebelumnya yaitu c.3296T>C. Pita ukuran 500 bp menunjukkan sekuen yang sama dengan tipe *breakpoint* mayor b3a2 dari *genbank*.

Kesimpulan : Fragmen ukuran 500 bp dan 600-700 bp terkonfirmasi sebagai tipe *breakpoint* mayor. Terdapat variasi sekuen pada tipe *breakpoint* mayor b3a2 pada pasien CML di Yogyakarta.

Kata Kunci : CML, Gen fusi BCR-ABL, tipe *breakpoint*.

ANALYSIS OF UNIDENTIFIED BCR-ABL FUSION GENE FRAGMENTS IN INDONESIAN CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA (CML) PATIENTS

Tri Agusti Sholikhah¹, Susanna Hilda Hutajulu², Dewi Kartikawati Paramita³

1. Post Graduate Student in Basic Medical Science and Biomedical Programme with main interest in Histology and Cell Biology, Faculty of Medicine, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Indonesia; Departement of Histology, Faculty of Medicine, Universitas Sebelas Maret Surakarta, Indonesia.
2. Departement of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
3. Departement of Histology and Cell Biology, Faculty of Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.

Detection of BCR-ABL fusion gene and its breakpoint type is established as diagnosis of Chronic Myelogenous Leukemia (CML). At least, 7 breakpoint types was reported and classified into 3 breakpoint cluster regions in BCR gene, which are major, minor and micro. In Yogyakarta Indonesia, detection of BCR-ABL fusion gene in CML patients was performed using multiplex RT-PCR and nested PCR. Initial study to 200 CML patients had been done and new fragments was found at size 500 bp (n=11) and 600-700 bp (n=4). The aim of this study is to identify fragments at 500 bp and 600-700 bp in size and particullary to confirm the fragments by conventional RT-PCR and nested PCR and to do DNA sequencing to those fragments. This descriptive study was performed using cross sectional design. Fragments at 500 bp and 600-700 bp in size was amplified by using conventional RT-PCR and nested PCR using primer specific for major breakpoint type. When the amplification gave negative result, amplification initial multiplex RT-PCR and nested PCR was done. All breakpoint type found in every stage of confirmation were analyzed by DNA sequencing. Seven of 15 samples was confirmed as b3a2 major breakpoint type, 5 samples was confirmed as b2a2 major breakpoint type, 1 sample has a combination of both b3a2 and b2a2 type and 2 samples have a combination of both b3a2 and b2a2 type with additional band at 500 bp. Sequence analysis result shows that there are 3 sequence variations. Two new variations found are c.3245C>T and c.3359T>C. One variation has been reported by other previous study is c.3296T>C. Fragments at 500 bp size confirmed as b3a2 breakpoint type, which similar with the sequence in genbank.

Keyword : CML, BCR-ABL fusion gene, breakpoint type, RT-PCR, sequences variation.