

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии**

БОНДАРЕНКО
Юлия Владимировна

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ CORE/E1 И NS5A
РЕГИОНОВ ГЕНОМА ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С
АННОТАЦИЯ К ДИПЛОМНОЙ РАБОТЕ**

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
доцент Е.Л. Гасич

Минск, 2019

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа – 62 с., 15 рис., 8 табл., 40 источников.

Ключевые слова: ВГС, молекулярная вариабельность, генотипы, подгенотипы, противовирусная терапия, ПППД, мутации резистентности, ИФА, количественная ПЦР, генотипирование, секвенирование, филогенетический анализ.

Объект исследования: образцы сывороток и плазмы крови.

Цель работы: получение нуклеотидных последовательностей, анализ полиморфизмов NS5A участка гена ВГС, генотипирование и филогенетический анализ вируса гепатита С.

Методы исследования: серологические (ИФА), молекулярно-генетические (выделение ДНК методом органической экстракции, ПЦР, количественная ПЦР, секвенирующая ПЦР, электрофорез, очистка ДНК ферментом, очистка ДНК ацетатом натрия, секвенирование по Сэнгеру).

В ходе выполнения дипломной работы было установлено, что:

1. Среди исследуемых образцов выявлены генотипы 1 (n=26, 86,7%) и 3 (n=4, 13,3%).
2. Доминирующая роль в циркуляции ВГС принадлежит 1 генотипу вируса.
3. Генотип 1 представлен 1a (n=10, 38,5%) и 1b (n=16, 61,5%) подгенотипами; генотип 3 представлен 3a подгенотипом.
4. Генотип 3/3a по частоте распространения встречается реже – 13,3% (4 образца).
5. Впервые в Республике Беларусь установлена частота встречаемости мутаций 1b подгенотипа ВГС, имеющих важное клиническое значение, к лекарственным средствам прямого противовирусного действия. Среди мутаций резистентности в участке генома NS5A наиболее часто встречаются мутации Y93H и L31M – 43% и 29% соответственно.
6. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости тестирования образцов плазмы крови ВГС-инфицированных пациентов с неэффективным лечением лекарственным средством прямого противовирусного действия с целью выявления резистентности к ингибиторам NS5A белка, что позволит своевременно назначить эффективную схему лечения и сократить расходы на повторное лечение и пребывание пациента в стационаре.

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі**

БАНДАРЭНКА
Юлія Уладзіміраўна

**МАЛЕКУЛЯРНАЯ ВАРЫЯБЕЛЬНАСЦЬ CORE/E1 I NS5A
РЭГІЁНАЎ ГЕНОМА ВІРУСАГА ГЕПАТЫТУ С
АНАТАЦЫЯ К ДИПЛОМНАЙ ПРАЦЕ**

Навуковы кіраўнік:
доктар біялагічных навук,
дацэнт Е.Л. Гасіч

Мінск, 2019

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная праца – 62 с., 15 мал., 8 табл., 40 крыніц.

Ключавыя словы: ВГС, малекулярная варыябельнасць, генатыпы, падгенатыпы, антывірусная тэрапія, ПППД, мутацыі рэзістэнтнасці, ІФА, колькасная палімеразная ланцуговая рэакцыя, генатыпаванне, секвеніраванне, філагенетычны аналіз.

Аб'ект даследавання: ўзоры сыворатак і плазмы крыві.

Мэта працы: атрыманне нуклеятыдных паслядоўнасцяў, аналіз палімарфізмаў NS5A участка гена ВГС, генатыпаванне і філагенетычны аналіз віруса гепатыту С.

Метады даследавання: сералагічныя (ІФА), малекулярна-генетычныя (выдзяленне ДНК метадам арганічнай экстракцыі, ПЛР, колькасная ПЛР, секвенуючая ПЛР, электрофарэз, ачыстка ДНК ферментам, ачыстка ДНК ацэтатам натрыя, секвеніраванне па Сэнгеру).

У ходзе выканання дыпломнай працы было вызначана, што:

1. Сярод доследных узораў выяўлены генатыпы 1 (n = 26, 86,7%) і 3 (n = 4, 13,3%).

2. Дамінуючая роля ў цыркуляцыі ВГС належыць 1 генатыпу віруса.

3. Генатып 1 прадстаўлены 1a (n = 10, 38,5%) і 1b (n = 16, 61,5%) падгенатыпамі; генатып 3 прадстаўлены 3a падгенатыпам.

4. Генатып 3 / 3a па частаце распаўсюджвання сустракаецца радзей - 13,3% (4 ўзоры).

5. Упершыню ў Рэспубліцы Беларусь устаноўлена частата сустракання мутацый 1b падгенатыпа ВГС, якія маюць важнае клінічнае значэнне, да лекавых сродкаў прамога супрацьвіруснага дзеяння. Сярод мутацый рэзістэнтнасці ва ўчастку генома NS5A найбольш часта сустракаюцца мутацыі Y93H і L31M - 43% і 29% адпаведна.

6. Атрыманыя вынікі сведчаць аб неабходнасці тэставання узораў плазмы крыві ВГС-інфіцыраваных пацыентаў з неэфектыўным лячэннем лекавымі сродкамі прамога супрацьвіруснага дзеяння з мэтай выяўлення рэзістэнтнасці да інгібітараў NS5A бялку, што дазволіць своєчасова прызначыць эфектыўную схему лячэння і скараціць выдаткі на паўторнае лячэнне і знаходжанне пацыента ў стацыянары.

**MINISTRY OF EDUCATION OF THE REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Department of Microbiology**

BONDARENKO
Yulia Vladimirovna

**MOLECULAR VARIABILITY OF CORE/E1 AND NS5A
REGIONS OF VIRAL HEPATITIS C GENOME**

ANNOTATION TO GRADUATE WORK

Scientific adviser:
doctor of biological sciences
Associate Professor E.L. Gasich

Minsk, 2019

ANNOTATION

Diploma – thesis 62 p., 15 fig., 8 tab., 40 references.

Keywords: HCV, molecular variability, genotypes, subtypes, antiviral therapy, DAAs, mutations of resistance, ELISA, quantitative PCR, genotyping, sequencing, phylogenetic analysis.

Object of study: serum and plasma samples.

Research objects: nucleotide sequences, analysis of NS5A polymorphisms, genotyping and phylogenetic analysis of the hepatitis C virus

Research methods: serological (ELISA), molecular genetic (DNA extraction by salting out method, PCR, quantitative PCR, PCR for Sanger sequencing, electrophoresis, enzyme DNA purification, DNA purification by sodium acetate, Sanger sequencing).

In the course of the research, it was found that:

1. Among the investigated samples, genotypes 1 (n = 26, 86.7%) and 3 (n = 4, 13.3%) were detected.

2. The dominant role in the circulation of HCV belongs to genotype 1 of the virus.

3. Genotype 1 is represented by 1a (n = 10, 38.5%) and 1b (n = 16, 61.5%) subgenotypes; genotype 3 is represented by the 3a subgenotype.

4. The genotype 3 / 3a in terms of frequency of occurrence is less common - 13.3% (4 samples).

5. For the first time in the Republic of Belarus, the frequency of occurrence of mutations 1b of the HCV subgenotype, which are having significant clinical importance, has been established for drugs of direct antiviral action. Among mutations of resistance in the region of the NS5A genome, the most frequent mutations are Y93H and L31M - 43% and 29% respectively.

6. The obtained results indicate the necessity to test plasma samples of HCV-infected patients with ineffective treatment of drugs with direct antiviral action in order