

**МИНЕСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии**

Аннотация к дипломной работе

КОЛОДКО
Игорь Владимирович

**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
МИКРОФТАЛЬМИИ И АНОФТАЛЬМИИ**

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
доцент А.М. Ходосовская

Минск, 2023

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 39 с., 11 рис., 2 табл., 26 источников литературы.

Ключевые слова: микрофтальмия, анофтальмия, катаракта, ген SOX2, ген OTX2, ген CRYAA.

Объект исследования: ДНК, выделенная из лейкоцитов двух пациентов с микрофтальмией; абортивный материал I и II триместров с различными патологиями.

Цель исследования: Разработать морфологические показатели биометрии лицевых и глазных структур для плодов в первом и втором триместре беременности, а также определить вклад различных генов в этиологию микрофтальмии при семейном случае заболевания.

Методы исследования: Оптическая биометрия, выделение ДНК, Секвенирование по Сэнгеру, полимеразная цепная реакция, высокопроизводительное секвенирование (NGS), Illumina.

Был предложен комплекс из 10 морфометрических показателей для разработки модели дифференциального роста лица плода по его горизонтальной и вертикальной осям и модели развития глаза, необходимых для диагностики глазных патологий. С помощью данных показателей была осуществлена биометрия 65 плодов, элиминированных по генетическим показаниям или в результате самопроизвольных аборт, что является начальным этапом создания базы данных, необходимой для проведения корреляции «возраст/диагноз плода – размер глазных и лицевых структур».

Было проведено секвенирование по методу Сэнгера генов SOX2 и OTX2 у двух пациентов с микрофтальмией. Секвенирование не выявило наличия мутаций в исследуемых генах.

Было проведено высокопроизводительное секвенирование геномной ДНК по методу Illumina с применением панели TruSight One (Illumina Inc., SanDiego, CA, USA), результаты которого свидетельствуют о том, что пациенты являются гетерозиготными носителями патогенного варианта c.346C>T (NM_000394.3, p.Arg116Cys) в гене CRYAA. Согласно проверке данной мутации с помощью алгоритмов установления связей с различными заболеваниями, патогенные варианты в этом гене в гетерозиготном состоянии ассоциируются с развитием различных форм врожденной катаракты 9 (Cataract 9, multipletypes, OMIM 604219), в том числе с синдромом катаракта-микрокорнея, с аутосомно-доминантным и аутосомно-рецессивным типом наследования. Полученные результаты подтверждают связь мутации c.346C>T в гене CRYAA с наличием у пациентов исследуемых глазных патологий.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 39 с., 11 мал., 2 табл., 26 крыніц літаратуры.

Ключавыя словы: мікрафтальмія, анафтальмія, катаракта, ген SOX2, ген OTX2, ген CRYAA.

Аб'ект даследавання: ДНК, выдзеленая з лейкоцытаў двух пацыентаў з мікрафтальміяй; абартыўны матэрыял I і II трыметраў з рознымі паталогіямі.

Мэта даследавання: Распрацаваць марфалагічныя паказчыкі біяметрыі асабовых і вочных структур для пладоў у першым і другім трыметры цяжарнасці, а таксама вызначыць уклад розных генаў у этыялогію мікрафтальміі пры сямейным выпадку захворвання.

Метады даследавання: Аптычная біяметрыя, вылучэнне ДНК, Секвеніраванне па Сэнгеру, палімеразнай ланцуговая рэакцыя, высокапрадукцыйнае секвеніраванне (NGS), Illumina.

Быў прапанаваны комплекс з 10 марфаметрычных паказчыкаў для распрацоўкі мадэлі дыферэнцыяльнага росту асобы плоду па яго гарызантальнай і вертыкальнай восях і мадэлі развіцця вочы, неабходных для дыягностыкі вочных паталогій. З дапамогай дадзеных паказчыкаў была ажыццёўлена біяметрыя 65 пладоў, элімінаваных па генетычных паказаннях або ў выніку самаадвольных абортаў, што з'яўляецца пачатковым этапам стварэння базы дадзеных, неабходнай для правядзення карэляцыі "ўзрост / дыягназ плоду - памер вочных і асабовых структур".

Было праведзена секвеніраванне па метадазе Сэнгера генаў SOX2 і OTX2 у двух пацыентаў з мікрафтальміяй. Секвеніраванне не выявіла наяўнасці мутацый у доследных генах.

Было праведзена высокапрадукцыйнае секвеніраванне геномнай ДНК па метадазе Illumina з ужываннем панэлі TruSight One (Illumina Inc., SanDiego, CA, USA), вынікі якога сведчаць аб тым, што пацыенты з'яўляюцца гетэрозіготнымі носьбітамі патогеннага варыянту c.346C> T (NM_000394.3, p.Arg116Cys) у гене CRYAA. Паводле праверкі дадзенай мутацыі з дапамогай алгарытмаў усталявання сувязяў з рознымі захворваннямі, патогенныя варыянты ў гэтым гене ў гетэрозіготном стане асацыююцца з развіццём розных формаў прыроджанай катаракты 9 (Cataract 9, multipletypes, OMIM 604219), у тым ліку з сіндромам катаракта-мікракарнея, з аўтасомна-дамінантным і аўтасомна-рэцэсіўным тыпам успадкоўвання. Атрыманыя вынікі пацвярджаюць сувязь мутацыі c.346C> T ў гене CRYAA з наяўнасцю ў пацыентаў доследных вочных паталогій.

ABSTRACT

Diploma project 39 pages, 11 figures, 2 tables, 26 sources.

Key words: microphthalmia, anophthalmia, cataract, SOX2 gene, OTX2 gene, CRYAA gene.

The object of the research: DNA isolated from leukocytes of two patients with microphthalmia; abortive material of I and II trimesters with various pathologies.

The aim of the research: To develop morphological indicators of biometrics of facial and ocular structures for fetuses in the first and second trimester of pregnancy, as well as to determine the contribution of various genes to the etiology of microphthalmia in a family case of the disease.

Research methods: Optical biometrics, DNA extraction, Sanger sequencing, polymerase chain reaction, new generation sequencing (NGS), Illumina.

A set of 10 morphometric indicators was proposed to develop a model of differential growth of the fetal face along its horizontal and vertical axes, and a model of eye development necessary for diagnosing ocular pathologies. Using these indicators, biometrics of 65 fetuses eliminated for genetic reasons or as a result of spontaneous abortions was carried out, which is the initial stage in creating a database necessary to conduct a correlation "age/diagnosis of the fetus - the size of the eye and facial structures"

Sanger sequencing of the SOX2 and OTX2 genes was performed in two patients. Sequencing did not reveal the presence of mutations in the investigated genes.

New generation sequencing of genomic DNA was performed using the Illumina method with the TruSight One panel (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), the results of which indicate that patients are heterozygous carriers of the pathogenic variant c.346C>T (NM_000394.3, p.Arg116Cys) in the CRYAA gene. According to the verification of this mutation using algorithms for establishing associations with various diseases, pathogenic variants in this gene in the heterozygous state are associated with the development of various forms of congenital cataract 9 (Cataract 9, multiple types, OMIM 604219), including cataract-microcornea syndrome, with autosomal-dominant and autosomal-recessive mode of inheritance. The obtained results confirm the association of the c.346C>T mutation in the CRYAA gene with the presence of the investigated eye pathologies in patients.