

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

Рокало
Диана Валентиновна

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ
ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОФИЛИЕЙ В НА ТЕРРИТОРИИ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
заведующий лаборатории
молекулярно-генетических
исследований научного отдела
государственного учреждения
«Республиканский научно-
практический центр детской
онкологии, гематологии и
иммунологии»
И.Е. Гурьянова

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 51 страниц, 13 рисунков, 2 таблицы, 26 источников.

Ключевые слова: гемофилия В, ген *F9*, фактор свертывания IX, секвенирование по Сэнгеру, высокопроизводительное секвенирование, мутация, однонуклеотидная замена, миссенс мутация, нонсенс-мутация.

Целью данной работы является определение молекулярно-генетического профиля гемофилии В среди пациентов детского возраста на территории Республики Беларусь.

В данной работе использовались молекулярно-генетические методы исследования: выделение ДНК, высокопроизводительное секвенирование для параллельного прочтения множества участков генома и секвенирование по Сэнгеру для идентификации конкретных генетических изменений в гене *F9*.

Гемофилия В является наследственным нарушением свертываемости крови и встречается 1:30000. Изучение молекулярно-генетических аспектов позволяет выявить особенности данного заболевания, что в дальнейшем поможет при применении адресной терапии, а также для более эффективной диагностики.

В результате высокопроизводительного секвенирования генетические нарушения в гене *F9* были выявлены у 100% пациентов (n=17) и подтверждены с помощью секвенирования по Сэнгеру. При этом процентное соотношение получилось следующим: 58,82% (n=10) миссенс-мутаций, 23,53% (n=4) нонсенс-мутаций, 5,88% (n=1) мутаций в промоторной области, 5,88% (n=1) небольших делеций, приводящих к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона, 5,88% (n=1) крупных делеций, затрагивающих всю кодирующую последовательность гена *F9*. Определение молекулярно-генетического профиля гемофилии В способствует верификации клинического диагноза гемофилии В, установлению взаимосвязи между генотипом и фенотипом, индивидуализации тактики проводимого лечения и проведению генетического консультирования, а также используется для выявления носителей гемофилии В и для пренатальной диагностики.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 51 старонак, 13 малюнкаў, 2 табліцы, 26 крыніц.

Ключавыя словы: гемафілія В, ген *F9*, фактар згортвання IX, секвеніраванне па Сэнгеру, высокапрадукцыйнае секвеніраванне, мутацыя, аднануклеатыдная замена, місэнс мутацыя, нонсэнс-мутацыя.

Мэта гэтай работы - вызначэнне малекулярна-генетычнага профілю гемафіліі В сярод дзіцячага кантынгенту пацыентаў на тэрыторыі Рэспублікі Беларусь.

У дадзенай працы выкарыстоўваліся малекулярна-генетычныя метады даследавання: вылучэнне ДНК, высокапрадукцыйнае секвеніраванне для паралельнага чытання мноства участкаў геному і секвеніраванне па Сэнгеру для ідэнтыфікацыі канкрэтных генетычных змен у гене *F9*.

Гемафілія В з'яўляецца генетычным парушэннем згусальнасці крыві і сустракаецца 1: 30000. Вывучэнне малекулярна-генетычных аспектаў дазваляе выявіць асаблівасці дадзенага захворвання, што ў далейшым дапаможа пры распрацоўцы і паляпшэнні спосабаў лячэння, а таксама для больш эфектыўнай дыягностыкі.

У выніку высокапрадукцыйнага секвеніравання генетычныя парушэнні ў гене *F9* былі выяўлены ў 100% пацыентаў і пацверджаны з дапамогай секвеніравання па Сэнгеру. Пры гэтым атрымалася 58,82% (n=10) місэнс-мутацый, 23,53% (n=4) нонсэнс-мутацый, 5,88% (n=1) мутацый у праматорнай вобласці, 5,88% (n = 1) невялікіх выдаленняў, якія прыводзяць да зруху рамкі счытвання і адукацыі заўчаснага стоп-кодону, 5,88% (n = 1) вялікіх выдаленняў, якія закранаюць усю паслядоўнасць гена *F9*. За кошт вызначэння малекулярна-генетычнага профілю гемафіліі В адбываюцца верыфікацыі клінічнага дыягназу гемафіліі В, устанаўленне ўзаемасувязі паміж генатыпам і фенатыпам, індывідуалізацыі тактыкі праводзімага лячэння і правядзенню генетычнага кансультавання, а таксама выкарыстоўваецца для выяўлення носьбіта гемафіліі В і для прэнатальнай дыягностыкі.

ABSTRACT

Diploma project: 51 p., 13 figures, 2 tables, 26 sources.

Keywords: hemophilia B, gene *F9*, coagulation factor IX, Sanger sequencing, next generation sequencing, mutation, single nucleotide polymorphism, missense mutation, nonsense mutation.

The aim of this work was to determine the molecular genetic profile of hemophilia B among pediatric patients in the territory of the Republic of Belarus.

In this work, molecular genetic research methods were used: DNA isolation, next generation sequencing for parallel reading of multiple genome regions, and Sanger sequencing to identify specific genetic changes in the *F9* gene.

Hemophilia B is an inherited bleeding disorder that occurs in 1:30,000. The study of molecular genetic aspects makes it possible to identify the features of this disease, which will further help in the development and improvement the treatment methods, as well as for more effective diagnosis.

As a result of next generation sequencing, genetic disorders in the *F9* gene were detected in 100% of patients and were confirmed using Sanger sequencing. The percentage ratio was as follows: 58.82% (n=10) missense mutations, 23.53% (n=4) nonsense mutations, 5.88% (n=1) mutations in the promoter region, 5.88% (n=1) small deletions resulting in a frameshift and the formation of a premature stop codon, 5.88% (n=1) large deletions affecting the entire coding sequence of the *F9* gene. By determining the molecular genetic profile of hemophilia B, the clinical diagnosis of hemophilia B is verified, the relationship between the genotype and phenotype is established, the tactics of treatment are individualized and genetic counseling is carried out, and is also used to identify the carrier of hemophilia B and for prenatal diagnosis.