

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии

Аннотация к дипломной работе

ЗАХАРЕВИЧ
Ольга Александровна

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИГНОСТИКА ИНВАЗИВНЫХ
МИКОЗОВ

Дипломная работа

Научный руководитель:
младший научный сотрудник
лаборатории молекулярно-
генетических исследований ГУ
«РНПЦ детской онкологии,
гематологии и иммунологии»,
Е. Я. Скоповец,
кандидат биологических наук,
доцент Е. А. Николайчик

Минск, 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 43 страницы, 10 рисунков, 6 таблиц, 28 источников.

Ключевые слова: инвазивный микоз, ПЦР–диагностика, подбор праймеров, ПЦР в режиме «реального времени».

Объекты исследования: грибы родов *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*.

Цель исследования: разработка методики молекулярно-генетической диагностики инвазивных микозов, вызываемых грибами родов *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*.

Методы исследования: микробиологические, молекулярно-генетические, биоинформатические.

Результаты работы:

1. Выделены ДНК микромицет из микробиологически выделенных культур дрожжевых и плесневых грибов. Проведена оценка их качества.

2. Разработаны праймеры, специфичные для родов *Fusarium* и *Aspergillus*. Подобраны видоспецифичные праймеры для ряда часто встречаемых таксономических видов возбудителей инвазивных микозов: *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*.

3. Подобраны универсальные праймеры для микромицетов к ITS1–ITS4 региону. Отработаны условия протекания ПЦР для амплификации участков геномов с подобранными праймерами.

4. Выполнен дизайн олигонуклеотидных зондов с флюоресцентными метками FAM, HEX и ROX для ДНК наиболее частых возбудителей инвазивных микозов (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*).

5. Проведены ПЦР-исследования в режиме «реального времени» для выявления в экспериментальных образцах нуклеиновых кислот, экстрагированных из микробиологически выделенных культур дрожжевых грибов. Экспериментальным путем подобран температурный режим, необходимый для амплификации ДНК дрожжевых микромицет и отработана соответствующая методика проведения ПЦР-анализа в режиме «реального времени».

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 43 старонкі, 10 малюнкаў, 6 табліц, 28 крыніц.

Ключавыя словы: інвазіўныя мікозы, ПЦР–дыягностыка, падбор праймераў, ПЦР у рэжыме «рэальнага часу».

Аб'екты даследавання: грыбы родаў *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*.

Мэта даследавання: распрацоўка методыкі малекулярна–генетычнай дыягностыкі інвазіўных мікозаў, выкліканых грыбамі родаў *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, малекулярна-генетычныя, біяінфарматычныя.

Вынікі працы:

1. Вылучаны ДНК мікраміцэт з мікрабіялагічна выдзеленых культур дражджавых і плесневых грыбоў. Праведзена ацэнка іх якасці.

2. Распрацаваны праймеры, спецыфічныя для родаў *Fusarium* і *Aspergillus*. Падабраны видоспецифические праймеры для шэрагу часта сустракаемых таксанамічных відаў узбуджальнікаў інвазіўных мікозаў: *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*.

3. Падабраны ўніверсальныя праймеры для мікраміцэтаў да ITS1-ITS4 рэгіёну. Адпрацаваны ўмовы праходжання ПЦР для ампліфікацыі участкаў геномаў з падабранымі праймерамі.

4. Выкананы дызайн олигонуклеотидных зондаў з флюарэсцэнтнымі пазнакамі FAM, HEX і ROX для ДНК найбольш частых узбуджальнікаў інвазіўных мікозы (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*).

5. Праведзены ПЦР-даследаванні ў рэжыме «рэальнага часу» для выяўлення ў эксперыментальных узорах нуклеінавых кіслот, экстрагаваных з мікрабіялагічна выдзеленых культур дражджавых грыбоў. Эксперыментальным шляхам падабраны тэмпературны рэжым, неабходны для ампліфікацыі ДНК дражджавых мікраміцэт і адпрацавана адпаведная методыка правядзенні ПЦР-аналізу ў рэжыме "рэальнага часу".

ABSTRACT

Diploma project 43 pages, 10 figures, 6 tables, 28 sources.

Key words: invasive mycosis, PCR-diagnostics, primer selection, real-time PCR.

Objects of research: fungi of *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium* genera.

The aim of the research: development of molecular genetic methodology of invasive mycoses caused by fungi of the genera *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*.

The research methods: microbiological, molecular-genetic, bioinformatics.

Results of the work:

1. DNA micromycetes were isolated from microbiologically isolated cultures of yeast and mold fungi. Their quality was assessed.

2. Primers specific for the genera *Fusarium* and *Aspergillus* have been developed. Species-specific primers were selected for a number of frequently encountered taxonomic species of pathogens of invasive mycoses: *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*.

3. Universal primers for micromycetes were selected for the ITS1–ITS4 region. The conditions for PCR to amplify genomic regions with selected primers have been developed.

4. Oligonucleotide probes with fluorescent labels FAM, HEX and ROX were designed for the DNA of the most common pathogens of invasive mycoses (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*).

5. Real-time PCR studies were carried out to identify nucleic acids extracted from microbiologically isolated yeast cultures in experimental samples. The temperature regime required for DNA amplification of yeast micromycetes was experimentally selected and the appropriate methodology for performing PCR analysis in “real time” was developed.