

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

КОРЖЕЕВА
Александра Дмитриевна

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИГРАЮЩИХ
КЛЮЧЕВУЮ РОЛЬ В ИНФИЦИРОВАНИИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА
ВИРУСОМ SARS-CoV-2

Аннотация
к дипломная работа

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Фомина Елена Георгиевна

Минск, 2024

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 53 страниц, 23 рисунка, 3 таблицы, 62 использованных источников.

Ключевые слова: ACE2, TMPRSS2, CTSL, SARS-COV-2, ПОЛИМОРФИЗМ, ЭКСПРЕССИЯ, ПОЛИМОРФИЗМ ДЛИН РЕСТРИКЦИОННЫХ ФРАГМЕНТОВ (ПДРФ), АЛЛЕЛЬ-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПЦР, ОТ-ПЦР.

Объект исследования: полиморфизм и экспрессия генов ACE2, TMPRSS2 и CTSL.

Цель работы: провести сравнительный анализ полиморфизмов и оценить уровень экспрессии генов играющих ключевую роль в инфицировании клеток человека вирусом SARS-CoV-2.

Методы исследования: методики полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и аллель-специфической ПЦР для полиморфизмов rs12329760 и rs17854725 соответственно; уровень экспрессии генов оценивали методом количественной ОТ-ПЦР.

Актуальность: гены ACE2 и TMPRSS2 имеют ряд полиморфизмов, которые влияют на уровень экспрессии и структурную организацию белка, что в свою очередь может влиять на восприимчивость организма к COVID-19 и степень тяжести течения заболевания. Выявление и изучение таких полиморфизмов может объяснить различия в проявлении заболевания у различных групп людей. Также, важным является изучение уровня экспрессии ключевых генов, в частности ACE2, TMPRSS2 и CTSL, для понимания патогенеза и предсказания возможных последствия заболевания COVID-19.

Полученные результаты: в период за 2021-2024 гг. были отработаны и применены две методики для выявления полиморфизмов rs12329760 и rs17854725 в гене сериновой протеазы TMPRSS2. Это позволило идентифицировать полиморфные аллели исследуемого нами гена в образцах двадцати двух пациентов. Частота встречаемости аллелей в нашей выборке составила: T=0,364 и G=0,545 для полиморфизмов rs12329760 и rs17854725 соответственно.

Результаты анализа экспрессии исследуемых генов в различных клеточных культурах показал, что клеточные культуры (в частности Vero E6, Caco-2 и HEK293T), экспрессирующие ключевые для инфицирования вирусом SARS-CoV-2 молекулы ACE2, TMPRSS2, катепсин L, могут быть использованы в качестве модельных систем в исследованиях по изучению механизмов взаимодействия между SARS-CoV-2 и различными клеточными мишенями.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа ўтрымвае 53 старонкі, 23 малюнка, 3 табліцы, 62 выкарыстаных крыніц.

Ключавыя словы: ACE2, TMPRSS2, CTSL, SARS-COV-2, ПАЛІМАРФІЗМ, ЭКСПРЭСІЯ, ПОЛИМОРФИЗМ ДЛИН РЕСТРИКЦИОННЫХ ФРАГМЕНТОВ (ПДРФ), АЛЕЛЬ-СПЕЦЫФІЧНАЯ ПЛР, АТ-ПЛР.

Аб'ект даследавання: полімарфізм і экспрэсія генаў ACE2, TMPRSS2 і CTSL.

Мэта работы: правесці параўнальны аналіз полімарфізмаў і ацаніцьровень экспрэсіі генаў якія маюць ключавую ролю ў інфектаванні цэляў чалавека вірусам SARS-CoV-2.

Метады даследавання: методыкі полімарфізму даўжынь рэстрыкцыйных фрагментаў і алель-спецыфічнай ПЛР для полімарфізмаў rs12329760 і rs17854725 адпаведна;ровень экспрэсіі генаў ацанялі метадам колькаснай АТ-ПЛР.

Актualityнасць: гены ACE2 і TMPRSS2 маюць шэраг полімарфізмаў, якія ўплываюць наровень экспрэсіі і структурную арганізацыю бялку, што ў сваю чаргу можа ўплываць на ўспрымальнасць арганізма да COVID-19 і ступень цяжару плыні захворвання. Таксама, выяўленне і вывучэнне такіх полімарфізмаў можа вытлумачыць адрозненні ў праяве захворвання ў розных груп людзей. Важным з'яўляецца вывучэнне роўню экспрэсіі ключавых генаў, у прыватнасці ACE2, TMPRSS2 і CTSL, для разумення патагенезу і прадказання магчымых наступства захворвання COVID-19.

Атрыманыя вынікі: у перыяд за 2021-2024 гг. былі адпрацаваны і ўжыты дзве методыкі для выяўлення полімарфізмаў rs12329760 і rs17854725 у гене сярынавай пратэазы TMPRSS2. Гэта дазволіла ідэнтыфікаваць паліморфныя алелі які даследуюцца намі гена ва ўзорах дваццаці двух пацыентаў. Частасць сустраканасці алеляў у нашай выбарцы склала: T=0,364 і G=0,545 для полімарфізмаў rs12329760 і rs17854725 адпаведна.

Вынікі аналізу экспрэсіі доследных генаў у розных клеткавых культурах паказаў, што клеткавыя культуры (у падрабязнасці Vero E6, Caco-2 і HEK293T), якія экспрэсуюць ключавыя для інфектавання вірусам SARS-CoV-2 малекулы ACE2, TMPRSS2, катэпсін L, могуць быць скарыстаны ў якасці мадэльных сістэм у даследаваннях па вывучэнні механізмаў узаемадзеяння паміж SARS-CoV-2 і рознымі клеткавымі мішэнямі.

ABSTRACT

Graduated work contains 53 pages, 23 figures, 3 tables, 62 sources used.

Keywords: ACE2, TMPRSS2, CTSL, SARS-COV-2, POLYMORPHISM, EXPRESSION, RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP), ALLELE-SPECIFIC PCR, RT-PCR.

Object of the study: polymorphism and expression of ACE2, TMPRSS2 and CTSL genes.

Purpose: to conduct a comparative analysis of polymorphisms and evaluate the expression level of genes that play a key role in the infection of human cells with the SARS-CoV-2 virus.

Research methods: methods of restriction fragment length polymorphism and allele-specific PCR for polymorphisms rs12329760 and rs17854725, respectively; the level of gene expression was assessed by quantitative RT-PCR.

Relevance: The ACE2 and TMPRSS2 genes have a number of polymorphisms that affect the level of expression and structural organization of the protein, which in turn can affect the body's susceptibility to COVID-19 and the severity of the disease. Also, the identification and study of such polymorphisms can explain the differences in the manifestation of the disease in different groups of people. It is important to study the expression level of key genes, in particular ACE 2, TMPRSS2 and CTSL, in order to understand the pathogenesis and predict the possible consequences of COVID-19 disease.

Results: in the period from 2021-2024, two methods were developed and applied to identify polymorphisms rs12329760 and rs17854725 in the TMPRSS2 serine protease gene. This made it possible to identify polymorphic alleles of the gene under study in the samples of twenty-two patients. The frequency of occurrence of alleles in our sample was: T=0.364 and G=0.545 for polymorphisms rs12329760 and rs17854725, respectively.

The results of the analysis of the expression of the studied genes in various cell cultures showed that cell cultures (in particular Vero E6, Caco-2 and HEK293T) expressing the key molecules for infection with the SARS-CoV-2 virus ACE2, TMPRSS2, cathepsin L, can be used as model systems in studies on the mechanisms of interaction between SARS-CoV-2 and various cellular targets.