

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

**Кафедра генетики**

**ШУЛЯКОВСКАЯ**  
Рената Викторовна

**МУТАЦИОННЫЙ СКРИНИНГ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С**  
**МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, У ПАЦИЕНТОВ ДЕТСКОГО**  
**ВОЗРАСТА**

Аннотация  
к дипломной работе

Научный руководитель:  
М.н.с. лаборатории генетических  
биотехнологий научного отдела  
РНПЦ детской онкологии,  
гематологии и иммунологии  
Луцкович Екатерина Сергеевна

Минск, 2024

## РЕФЕРАТ

*Дипломная работа* содержит 47 страниц, 13 рисунков, 8 таблиц, 52 использованных источника.

*Ключевые слова:* миелодиспластический синдром (МДС), ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ), минимальная остаточная болезнь (МОБ), *SF3B1, U2AF1, KRAS, NRAS, PTPN11*, ПЦР в режиме реального времени.

*Объект исследования:* биоптаты костного мозга пациентов детского возраста с подозрением на МДС и ЮММЛ. Материал для исследования был предоставлен лабораторией генетических биотехнологий РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии.

*Цель работы:* поиск мутаций в генах, ассоциированных с МДС и ЮММЛ у пациентов детского возраста для оценки прогностического значения, а также использования в качестве маркеров для отслеживания минимальной остаточной болезни и качества проводимого лечения с целью достижения ремиссии.

*Методы исследования:* методики, позволяющие провести мутационный скрининг генов: ПЦР, электрофоретический анализ, конформационный анализ (SSCP) и секвенирования по Сэнгеру; ПЦР с применением аллель-специфических олигонуклеотидов в режиме реального времени для отслеживания минимальной остаточной болезни.

*Полученные результаты:* в период за 2023-2024 гг. были отработаны и применены методики выделения мононуклеаров из образцов костного мозга для последующего выделения ДНК. Отработаны методики постановки ПЦР реакции и проведения конформационного анализа с целью выявления молекулярно-генетических изменений.

Это позволило обнаружить мутации в гене *NRAS* NG\_007572.1:g.5769 G>A p.12 Gly>Asp, а также в гене *PTPN11* NM\_002834.5:c.227 A>G p.76 Glu>Gly. Мутация гена *NRAS* была определена как герминальная по результатам секвенирования ДНК буккального эпителия. Мутация *PTPN11* была определена как соматическая и использована в качестве маркера для отслеживания минимальной остаточной болезни с помощью ПЦР в режиме реального времени.

Проведенное исследование является актуальным в рамках протоколов диагностики и лечения МДС и ЮММЛ у пациентов детского возраста в Республике Беларусь.

## РЭФЕРАТ

*Дыпломная праца* ўтрымлівае 47 старонак, 13 малюнкаў, 8 табліц, 52 выкарыстаныя крыніцы.

*Ключавыя словы:* міеладыспластычны сіндром (МДС), ювенільны міеламанацытарны лейкоз (ЮММЛ), мінімальна рэшткавая хвароба (МРХ), *SF3B1, U2AF1, KRAS, NRAS, PTPN11*, ПЦР у рэальным часе.

*Аб'ект даследавання:* біаптаты касцявога мозгу пацыентаў дзіцячага ўзросту з падазрэннем на МДС і ЮММЛ. Матэрыял для даследавання быў прадстаўлены лабараторыяй генетычных біятэхналогій РНПЦ дзіцячай анкагалогіі, гематалогіі і імуналогіі.

*Мэта работы:* пошук мутацый у генах, асацыяваных з МДС і ЮММЛ у пацыентаў дзіцячага ўзросту для ацэнкі прагнастычнага значэння, а таксама выкарыстання ў якасці маркераў для адсочвання мінімальнай рэшткавай хваробы і якасці праводзімага лячэння з мэтай дасягнення рэмісіі.

*Метады даследавання:* метады, якія дазваляюць правесці мутацыйны скрынінг генаў: ПЦР, электрафарэтычны аналіз, канфармацыйны аналіз (SSCP) і секвенаванне па Сэнгеру; ПЦР з прымяненнем алель-спецыфічных алігануклеатаў у рэальным часе для адсочвання мінімальнай рэшткавай хваробы.

*Атрыманыя вынікі:* у перыяд за 2023-2024 гг. былі распрацаваны і ўжыты метады вылучэння манануклеараў з касцявога мозгу для наступнага вылучэння ДНК. Распрацаваны метады пастаноўкі ПЦР-рэакцыі і правядзення канфармацыйнага аналізу з мэтай выяўлення малекулярна-генетычных змяненняў.

Гэта дазволіла выявіць мутацыі ў гене *NRAS* (NG\_007572.1:g.5769 G>A, p.12 Gly>Asp), а таксама ў гене *PTPN11* (NM\_002834.5:c.227 A>G, p.76 Glu>Gly). Мутацыя гена *NRAS* была вызначана як гермінальная па выніках секвенавання ДНК букальнага эпителия. Мутацыя *PTPN11* была вызначана як саматычная і выкарыстана ў якасці маркера для адсочвання мінімальнай рэшткавай хваробы з дапамогай ПЦР у рэальным часе.

Праведзенае даследаванне з'яўляецца актуальным у рамках пратаколаў дыягностыкі і лячэння МДС і ЮММЛ у пацыентаў дзіцячага ўзросту ў Рэспубліке Беларусь.

## ABSTRACT

*The diploma project* comprises 47 pages, 13 figures, 8 tables, and 52 references.

*Keywords:* myelodysplastic syndrome (MDS), juvenile myelomonocytic leukemia (JMML), minimal residual disease (MRD), SF3B1, U2AF1, KRAS, NRAS, PTPN11, real-time PCR.

*Research object:* bone marrow biopsies from pediatric patients suspected of MDS and JMML. The research material was provided by the Laboratory of Genetic Biotechnology at the «Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology».

*Purpose of research:* to identify mutations in genes associated with MDS and JMML in pediatric patients to assess their prognostic significance and to use them as markers for tracking minimal residual disease and evaluating treatment quality with the aim of achieving remission.

*Research methods:* methodologies for conducting gene mutation screening, including PCR, electrophoretic analysis, single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis, and Sanger sequencing; real-time PCR using allele-specific oligonucleotides for tracking minimal residual disease.

*Main results:* during the period from 2023 to 2024, methodologies for isolating mononuclear cells from bone marrow samples and subsequent DNA extraction were developed and applied. Techniques for setting up PCR reactions and conducting conformation analysis to identify molecular-genetic changes were refined.

This allowed the detection of mutations in the *NRAS* gene (NG\_007572.1:g.5769 G>A, p.12 Gly>Asp) and the *PTPN11* gene (NM\_002834.5:c.227 A>G, p.76 Glu>Gly). The *NRAS* gene mutation was identified as germline based on DNA sequencing of buccal epithelium. The *PTPN11* mutation was identified as somatic and used as a marker for tracking minimal residual disease using real-time PCR.

This study is relevant within the protocols for the diagnosis and treatment of MDS and JMML in pediatric patients in the Republic of Belarus.