

Баньковский А.А., Байроченко Д.С.

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ И КОРОТКИХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗОНДОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ HEV В ОБРАЗЦАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Научные руководители: канд. хим. наук, доц. Бабенко А.С.¹,

канд. физ.-мат. наук Грушевская Г.В.²

¹Кафедра общей химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

²Кафедра компьютерного моделирования

Белорусский государственный университет, г. Минск

Актуальность. Геном вируса гепатита E (HEV) характеризуется высокой вариабельностью, что затрудняет его обнаружение в образцах биологического материала с помощью методов, основанных на ПЦР. Более того, их чувствительность и специфичность часто не превышают 75%. Это связано с тем, что геном вируса практически лишен консервативных зон достаточной длины для проведения ОТ-ПЦР. Технологии, основанные на сборках из углеродных нанотрубок, позволяют использовать короткие олигонуклеотидные зонды для преодоления внутригеномной гетерогенности вируса.

Цель: оценка эффективности использования углеродных нанотрубок и коротких олигонуклеотидных зондов для выявления HEV в клинических образцах.

Материалы и методы. В исследование были включены образцы биологического материала $n = 20$ (стула и плазмы крови) пациентов, проходивших лечение на базе инфекционной больницы г. Минска и у которых были изменены уровни печеночных ферментов и/или выявлены иные признаки острых инфекционных заболеваний. Тотальную РНК выделяли с помощью набора РНК+ДНК (Jena Bioscience GmbH, Германия), обратную транскрипцию проводили с помощью ArtMMLV Total (LLC "ArtBioTech", Беларусь). Эталонным методом был HEV RT-PCR Kit 2.0 (RealStar®, Altona Diagnostics GmbH, Германия). Короткие олигонуклеотидные зонды (24 пары оснований) произведены ОДО Праймтех (Беларусь). Для распознавания гибридизации олигонуклеотидных зондов в комплексе с кДНК HEV использовали оборудование, разработанное ООО Умные ДНК-технологии (Беларусь).

Результаты и их обсуждение. С помощью ОТ ПЦР были обнаружены образцы, содержащие РНК HEV, $n = 5/20$ (25%). Образцы, не содержащие вирусной РНК ($n = 5$), были случайным образом отобраны из оставшихся отрицательных образцов. Было обнаружено, что метод, основанный на сборках из углеродных нанотрубок, распознает геномную РНК HEV как при высокой, так и при низкой вирусной нагрузке. В ходе анализа не было зафиксировано ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

Выводы. Мы установили, что разработанная технология сборки из углеродных нанотрубок с короткими олигонуклеотидными зондами обладает потенциалом в качестве инструмента для клинической диагностики РНК вируса гепатита E.