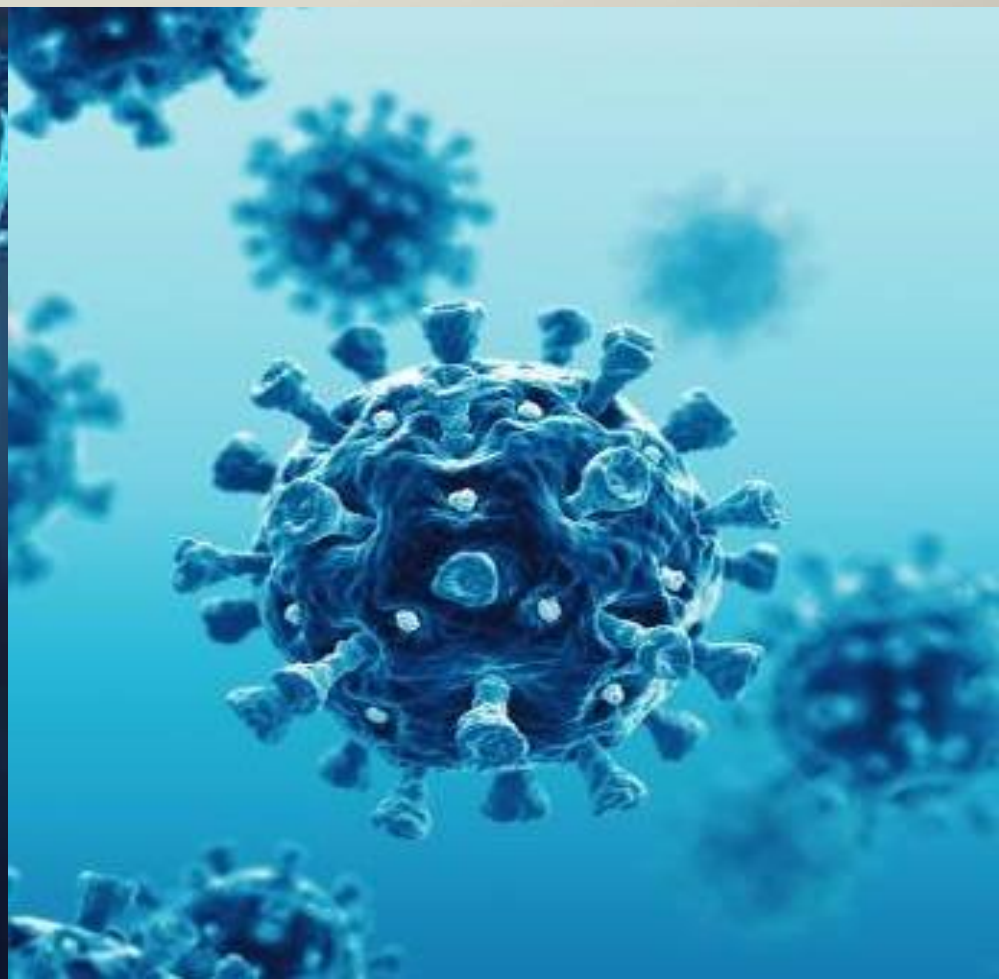


Роля на индивидуалните вирус/геномни характеристики за отговора към инфекцията със SARS-CoV-2





Базова организация: Медицински Университет – София



НАЦИОНАЛЕН УНИВЕРСИТЕТСКИ
КОМПЛЕКС ЗА БИОМЕДИЦИНСКИ
И ПРИЛОЖНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ



ЦЕНТЪР ПО
МОЛЕКУЛНА
МЕДИЦИНА

Партньорски организации и участници в проекта:



Ръководител:
Проф. Радка Кънева, дб, МУ – София

Нашата инициатива

Като част от глобалния отговор на пандемията от COVID-19, **целта** на настоящия проект е да изясни **ролята на индивидуалните вирус-гостоприемник геномни характеристики за моделиране на отговора към инфекция със SARS-CoV-2.**

Чрез използване на най-съвременни геномни технологии:

- 1) да се установяват генетичните детерминанти, определящи чувствителността, тежестта и хода на COVID-19 при български пациенти;
- 2) да се изучи еволюцията на SARS-CoV-2 и как тя влияе върху механизмите за навлизане на вируса в клетката и взаимодействието му с имунната система.



РП1. Управление на проекта

РП2. Събиране и клинично охарактеризиране на български пациенти с Ковид-19

Военномедицинска Академия, гр. София
УМБАЛСМ "Н. И. Пирогов", гр. София
Аджибадем Сити Клиник Болница Токуда

Критерии за включване на пациентите

Клинични данни; Положителен PCR тест за SARS-CoV-2;
Информирано съгласие; Кръвна проба; Вирусна проба (PHK, изолирана от вируса)

Разпределяне на пациентите в клинични групи

Тежки/критични, среднотежки, леки

РП3. Създаване на биобанка, съдържаща клинична информация и ДНК от български пациенти с Ковид-19

Център по молекулна медицина, МУ - София

Създаване на биобанка

Събиране и архивиране на биологичен материал.
Регистър на клинични и епидемиологични данни
Изолиране на ДНК, Вирусна PHK

РП4. Генетичен анализ

Център по молекулна медицина, МУ - София

Секвениране на човешки екзом/геном (WES/WGS) при подбрана група пациенти с Ковид-19

Технология: NGS на апарат NovaSeq 6000

РП5. Корелация между характеристиките на генома-гостоприемник и чувствителността, тежестта и изхода от Ковид-19

Център по молекулна медицина, МУ – София
Военномедицинска Академия, гр. София
УМБАЛСМ "Н. И. Пирогов", гр. София
Аджибадем Сити Клиник Болница Токуда

Биоинформатичен и статистически анализ

Определяне на редки и чести генетични варианти, имащи отношение към хода на Ковид-19;
GWAS

РП6. Секвениране на SARS-CoV-2 вирусни геноми, изолирани от пациенти с Ковид-19

Център по молекулна медицина, МУ - София

Секвениране на SARS-CoV-2 вирусни геноми

Технология: NGS на апарат NovaSeq 6000

Биоинформатичен анализ на данните

РП7. Популяризиране сред обществеността

Център по молекулна медицина, МУ – София
Военномедицинска Академия, гр. София
УМБАЛСМ "Н. И. Пирогов", гр. София
Аджибадем Сити Клиник Болница Токуда

Обобщение и анализ на резултатите спрямо литературата

Подготовка на публикация

Фокус

ПАЦИЕНТИ – ДНК БИОБАНКА

Клинични бази данни -
компютърно
приложение за
унифицирано
въвеждане на
клинична информация

ДНК банка

Разпределяне по
групи:
✓асимптоматични
✓леки
✓среднотежки
✓тежки

SARS-CoV-2 РНК

Събиране на РНК
банка
от български
пациенти, заразени
със SARS-CoV-2

ГЕНЕТИЧЕН АНАЛИЗ

Секвениране от ново
поколение на
➤геномна ДНК от
пациенти
➤вирусни геноми
➤анализ на данни

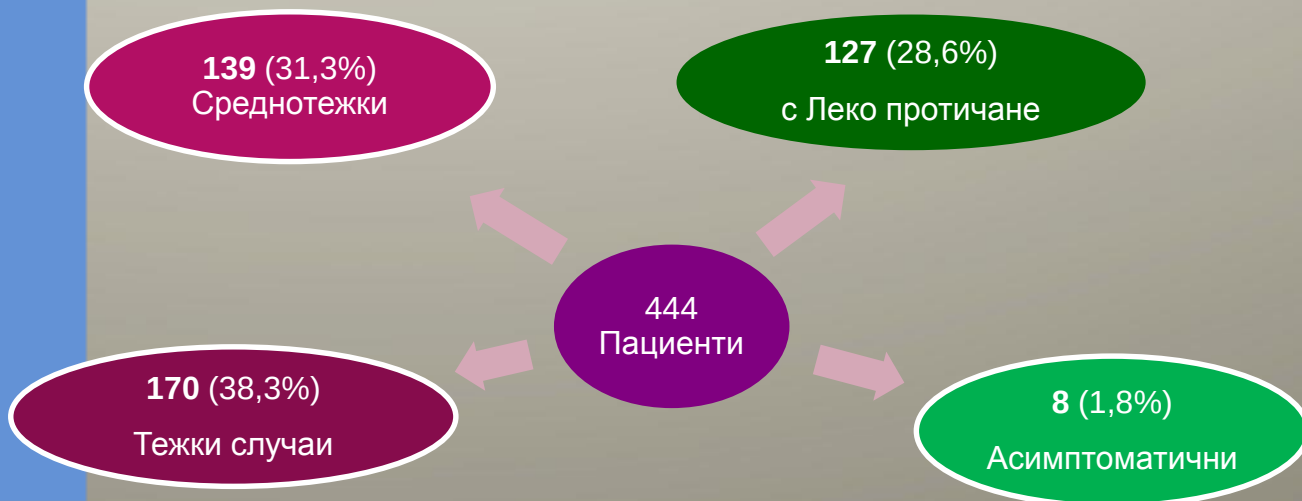
Резултати

ПАЦИЕНТИ – ДНК БИОБАНКА

Клинични бази данни –
компютърно
приложение
COVIDBOX за
унифицирано
въвеждане на
клинична информация

ДНК банка – 444
събрани ДНК проби

Разпределяне по
клинични групи:
✓асимптоматични - 8
✓леки - 127
✓среднотежки - 139
✓тежки - 170



COVIDBOX

Demographics
Exposure
Risk Factors
Comorbidities: Immune system
Comorbidities: Respiratory system
Comorbidities: Accessory digestive organs
Comorbidities: Renal
Comorbidities: Cardiovascular system
Comorbidities: Neurological
Comorbidities: Cancer
Comorbidities: Rare disorder
Hospitalization information
Symptoms at admission / longitudinal
Medication / Treatment
Lab Tests
Lab Tests at discharge

Visit date ДД.ММ.ГГГГ Г. COVID19 test result -Select an option- ▼ Dry Cough -Select an option- ▼ Cough with mucus -Select an option- ▼ Highest temp (degrees in Celsius, -1: Don't know)	COVID-19 Vaccination status Up to the date of hospitalization First dose -Select an option- ▼ Second dose -Select an option- ▼ Booster shot -Select an option- ▼
---	--

- **Какво**
 - Клинични данни от 3 болници в София
- **Къде**
 - MySQL база данни за съхранение
- **Как**
 - Онлайн достъп на сървъра на МУ София
 - Последваща статистическа обработка

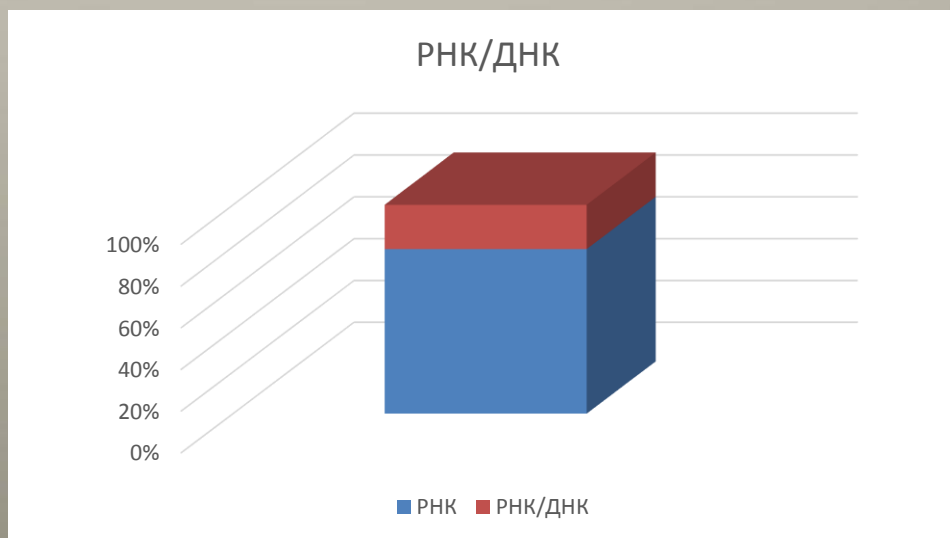
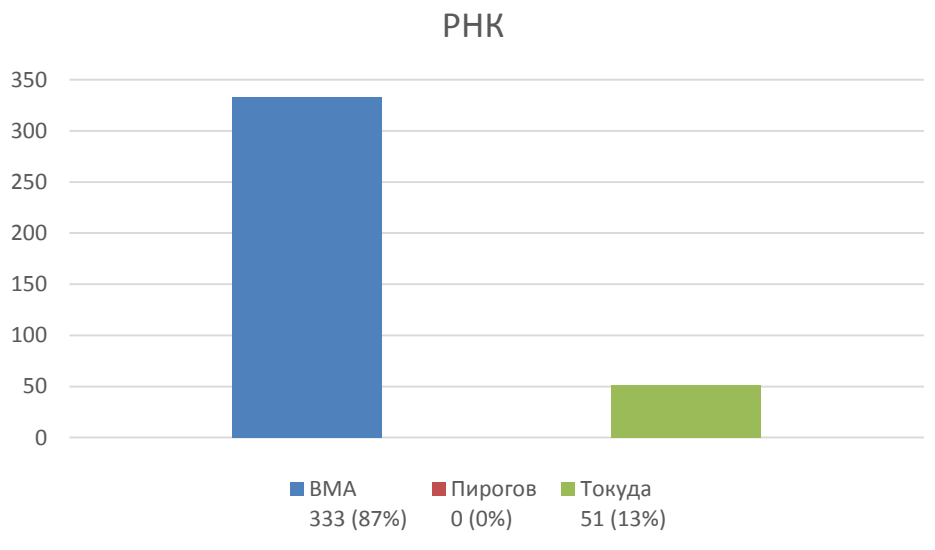
- **ЦЕЛ:** унифициран формат за съхранение на клиничните данни в съответствие с международните изисквания

Резултати

SARS-CoV-2 РНК

Събиране на РНК
банка
от български
пациенти, заразени
със SARS-CoV-2

- събрани са 384 РНК проби
- 103 РНК/ДНК



БОЛНИЦИ

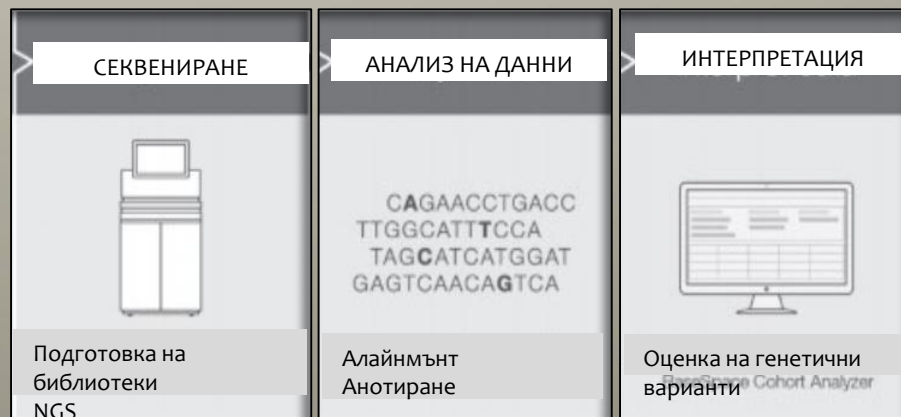
- ВМА
- Токуда

Резултати

ГЕНЕТИЧЕН АНАЛИЗ

Секвениране от ново поколение на:

- геномна ДНК от пациенти – проведено е WES на 228 пациенти
- вирусни геноми - предстои
- анализ на данни - предстои



ЦЕНТЪР ПО
МОЛЕКУЛНА
МЕДИЦИНА
МФ, МУ - София

Генетичен анализ

Технология:

СЕКВЕНИРАНЕ ОТ НОВО ПОКОЛЕНИЕ

- ✓ Паралелно секвениране (прочитане) на голям брой фрагменти ДНК
- ✓ ДНК-секвениране на човешки екзом/геном
- ✓ ДНК-секвениране на вирусен геном

Апаратура:

СЕКВЕНАТОРИ ОТ НОВО ПОКОЛЕНИЕ

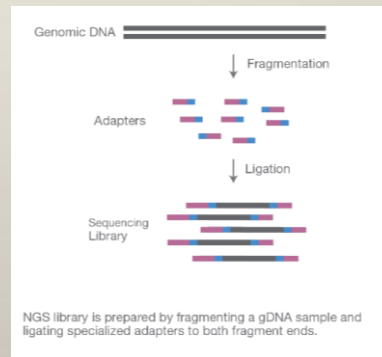
NovaSeq 6000



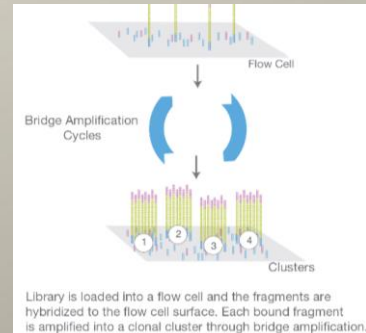
MiSeq



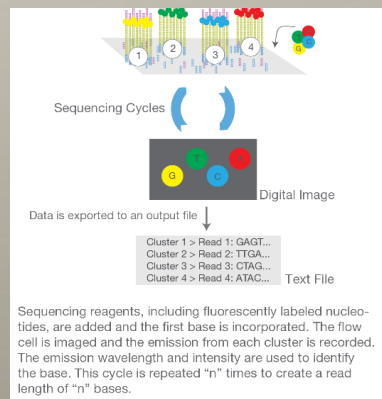
1. Подготовка на библиотеки



2. Намножаване на клъстери



3. Секвениране



4. Анализ на данните



Reads are aligned to a reference sequence with bioinformatics software. After alignment, differences between the reference genome and the newly sequenced reads can be identified.

КАКВО ПРЕДСТОИ...

NGS подходи:

➤ търсене на редки варианти

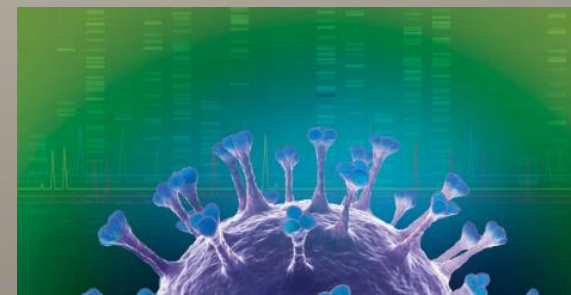
определяне на характеристиките на генома-гостоприемник и чувствителността, тежестта и изхода от COVID-19

➤ търсене на чести варианти и GWAS

установяване на геномни локуси, свързани със SARS-CoV-2 инфекция или с тежки прояви на COVID-19

➤ секвениране на генома на SARS-CoV-2

молекулярна еволюция на SARS-CoV-2 при български пациенти



Генетични характеристики на гостоприемника при различните клинични форми на COVID-19

Търсене на:

Моногенни или дигенни вродени грешки в имунитета, редки или чести варианти, водещи до тежко протичане, дълъг Ковид, пост Ковид и т.н.

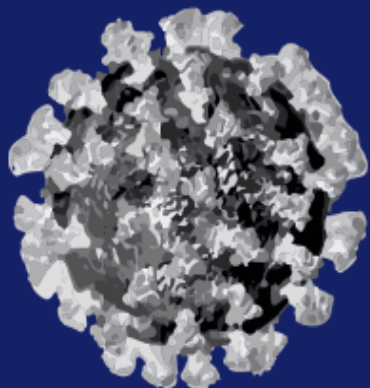
Фенокопия* на тези моногенни грешки в имунитета, като авто-антитела неутрализиращи генни продукти от локуси

Варианти в единични гени, чести или редки, които правят определени хора резистентни към инфекция със SARS-CoV2, въпреки многократното излагане на вируса или резистентност към развитие на клинични симптоми въпреки наличие на инфекция

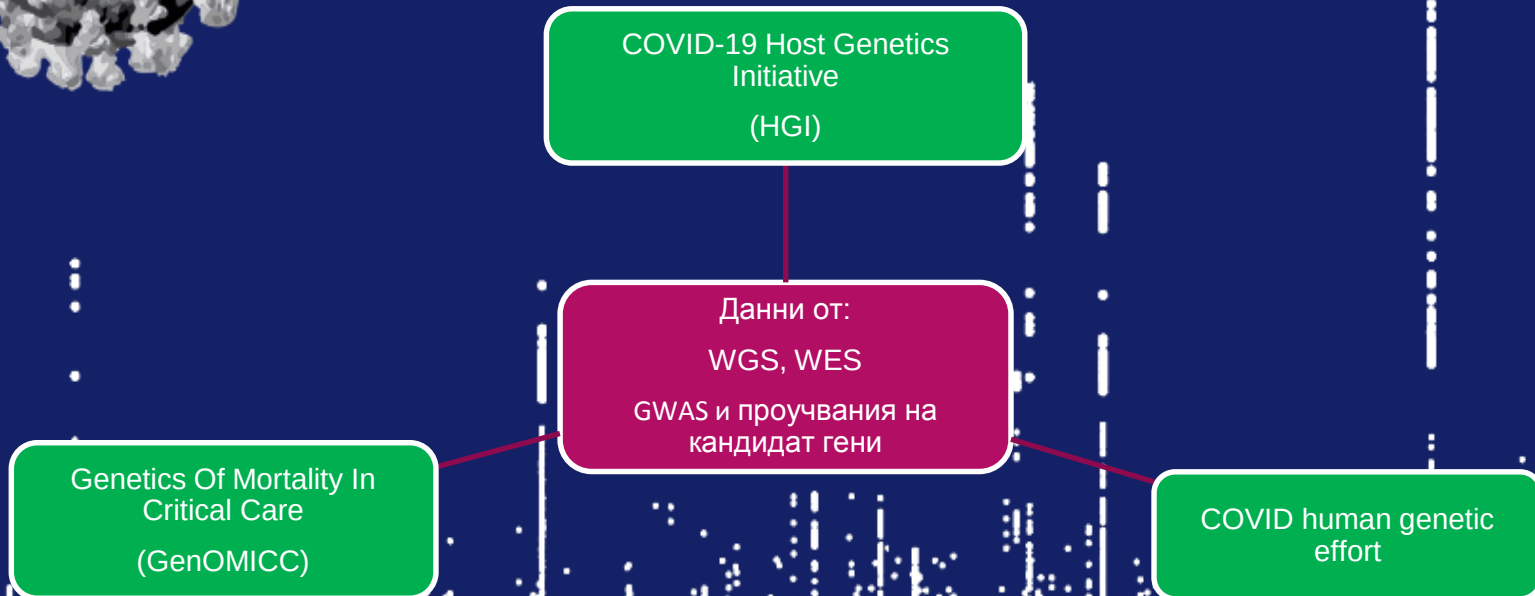
*Фенокопия са специална група от имунни дефицити, които са причинени от соматична мутация (а не от герминативна мутация) или автоантитела срещу различни цитокини, като по този начин предизвикват клинични прояви

Геномно асоциативно проучване (GWAS)

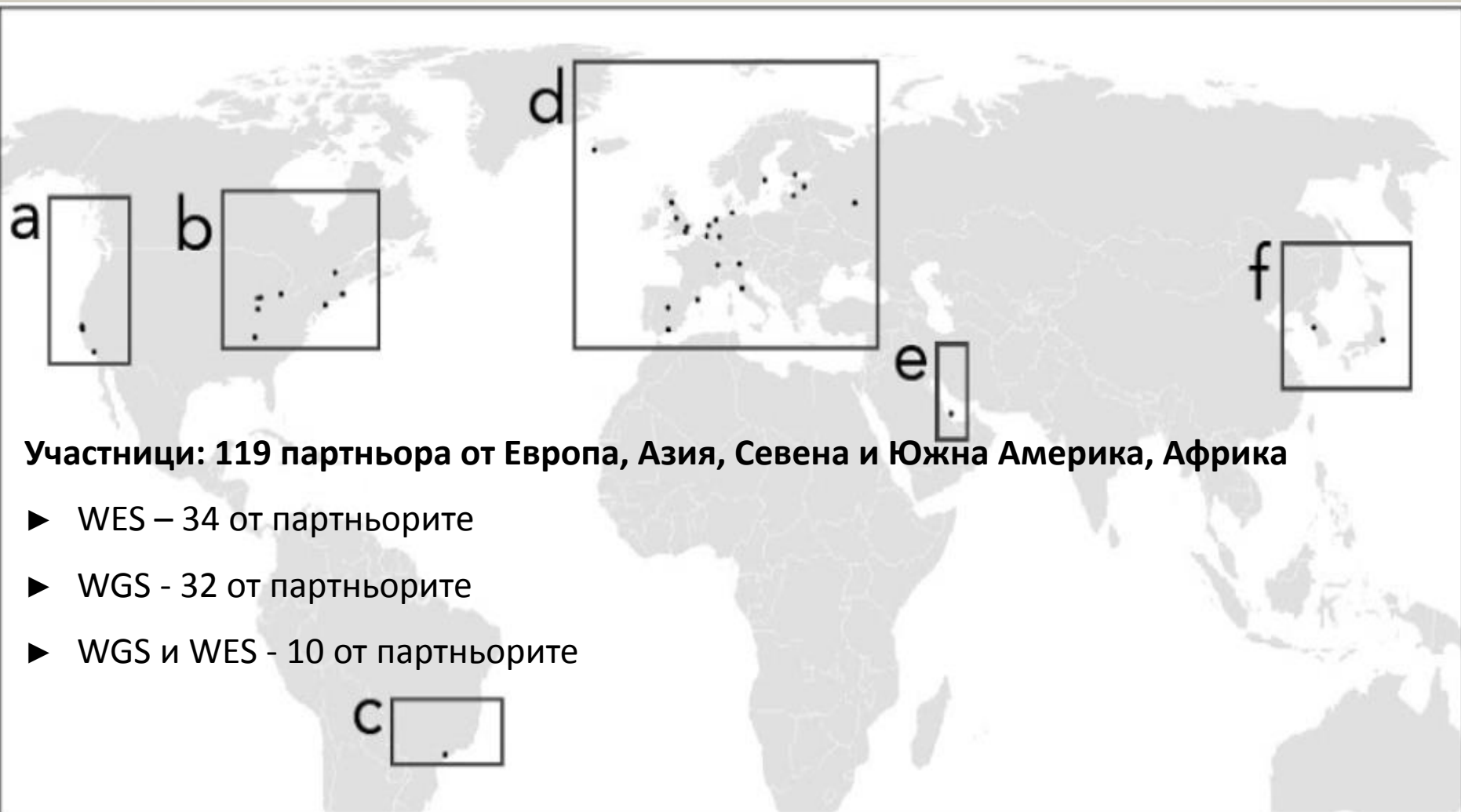
Консорциуми, обединени в търсене на генетичните фактори асоциирани с различния ход на протичане на COVID-19



The COVID-19 Host Genetics Initiative



COVID-19 Host Genetics Initiative



Участници: 119 партньора от Европа, Азия, Северна и Южна Америка, Африка

- ▶ WES – 34 от партньорите
- ▶ WGS - 32 от партньорите
- ▶ WGS и WES - 10 от партньорите