

Abstrakt

Tato práce je součástí projektu zabývající se variabilitou HCMV, jejímž dlouhodobým cílem je zmapovat geografické rozložení genotypů, zjistit vliv variability genotypů na průběh HCMV asociovaných onemocnění a vytipovat úseky genomu s potenciálním využitím pro diagnostiku a preventivní terapii. Práce je zaměřena na metodiku přípravy materiálu z klinických izolátů HCMV pro nově vyvinutou metodu celogenomového sekvenování (next-generation sequencing, NGS) a na postupy pro vyhodnocení získaných sekvenačních dat.

V práci byly použity vzorky krve a moči od pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk a od kongenitálně infikovaných dětí. Vybrané vzorky vhodné pro NGS byly sekvenovány platformou Illumina a sekvence složeny postupem anglicky označovaným jako *de novo* assembly v kombinaci s mapping assembly.

Vzorky moči ve srovnání s krví vykazovaly vyšší výtěžnost materiálu pro NGS. Ze vzorků pozitivních na HCMV DNA (7 z 50) po amplifikaci na tkáňových kulturách měl pouze jeden vysoký podíl virové buněčné DNA (98 %), u 6 vzorků činil tento podíl méně než 7 %. Ze vzorku obsahujícího 98% virové DNA byla vytvořena sekvence celého genomu a srovnána se sekvencemi dalších klinických izolátů z Belgie v 11 polymorfních oblastech. Analýza těchto oblastí ukázala, že pouze 2 izoláty vykazují shodu ve všech 11 oblastech. Srovnání sekvencí celých genomů klinických izolátů HCMV svědčí o jejich vysoké variabilitě. Analýzou bylo zjištěno, že jednotlivé geny tvoří vzájemně nezávislé shluky. Pro stanovení genetických odlišností mezi izoláty bude třeba sekvenovat obrovské množství izolátů, což umožňuje pouze metodika NGS.

Klíčová slova

Cytomegalovirus, celý genom, variabilita, sekvenování nové generace, kongenitální infekce, imunosuprimovaní pacienti, izolace, klinické izoláty, genotypy