

АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОЙ ЧАСТОТЫ МУТАЦИЙ ГЕНА CFTR С ПОМОЩЬЮ ДНК-ДИАГНОСТИКИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Ищенко И.О.

Научный руководитель: м. н. с. Иванова М.А.
Лаборатории сравнительной нейрофизиологии ИЭФБ РАН,
Лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врождённых болезней
НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта
Кафедра медицинской биологии
Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

Актуальность исследования: муковисцидоз (МВ) — заболевание, связанное с мутацией гена CFTR [2]. С помощью ДНК-диагностики мутацию можно определить на пренатальной стадии и при планировании семьи. Ранняя диагностика МВ важна для прогноза жизни больного и подбора терапии [1].

Цели исследования: определить аллельную частоту мутаций в CFTR в Санкт-Петербурге с декабря 2018 — по февраль 2019 и сравнить ее с 2015 годом. Определить достоинства и недостатки выбранных методов для диагностики МВ.

Материалы и методы: методами ПЦР, рестрикционного анализа и секвенирования по Сенгеру были определены генотипы по разным вариантам мутаций в гене CFTR. В качестве материала использовались пробы ДНК у 5 больных детей до 10 лет, 42 мужчин и 45 женщин в возрасте от 25 до 30 лет.

Результаты: из 92 проб ДНК методом амплификации в ходе гетеродуплексного анализа на электрофорезе 86 проб прошли успешно. Мутацию delF508 определили в 55 случаях, из них 28 оказались гомозиготами по delF508, 26 — гетерозиготами по delF508, 1 — гетерозигота по delF508/R117H. Аллельная частота мутации delF508 составила 61,957%. Мутация W1282X обнаружена у 3-х человек (3,26%). Мутация 2143delT — у 5 человек (5,435%). Также методом амплификации обнаружены мутации N1303K (4,35%), R334W (2,17%), 2184insA (4,35%), W1310X (1,09%), G542X (2,17%), E92K (1,09%), E1104X (2,17%), W1282R (1,09%), 394delTT (1,09%). В результате секвенирования в 6 пробах ДНК были выявлены разные варианты в гене CFTR: мутация delF508 в гетерозиготном состоянии у 1го человека, в гомозиготном — у 2-х, ещё у двух других пациентов обнаружены мутации 2184delA, CFTRdele2,3 соответственно. В последней пробе ДНК обнаружена мутация 3849+10kbC>T, подтвержденная рестрикционным анализом. Данная мутация широко распространена в МВ-популяции по СПб. [2,3]

Выводы: в ходе выявления нарушений в гене CFTR с помощью метода амплификации определены 93,47% полиморфных вариантов гена. По сравнению с 2015 годом аллельная частота мутации delF508 увеличилась на 8,107% [3]. Появление мутаций R114H, 2184delA, CFTR21kb в МВ-популяции связаны с увеличением общей численности населения в СПб. Метод амплификации — эффективный, наиболее простой в исполнении, сравнительно

бюджетный и менее затратный по времени. Амплификация не позволяет идентифицировать точечные замены в экзонах гена МВ, как метод рестрикционного анализа. Методы рестрикции и секвенирования являются более дорогостоящими и затратными по времени, но позволяют точно определить мутацию в геноме [2].

Литература

1. Ивашенко, Т.Э. Биохимические и молекулярно-генетические основы патогенеза муковисцидоза / Т.Э. Ивашенко, В.С. Баранов. СПб.: Интермедика, 2002. 256 с.
2. Клиническая генетика: учебник для вузов / В.Н. Горбунова, Д.Л. Стрекалов, Е.Н. Суспицын, Е.Н. Имянитов. СПб.: Фолиант, 2015. 400 с.
3. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2015 год. /Под редакцией Е.И. Кондратьевой, С.А. Красовского, А.Ю. Воронковой, Е.Л. Амелиной, А.В. Черняка, Н.Ю. Каширской. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2016, 72 с.