

Определение частоты гетерозиготного носительства частых наследственных болезней в якутской этнической группе с использованием биологических микрочипов

Саввина М. Т., Максимова Н. Р., Сухомясова А. Л.

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова»
677000, г. Якутск, ул. Кулаковского д. 46

Цель: определение частоты гетерозиготного носительства частых мутаций среди здоровых индивидов якутской этнической группы с использованием ДНК-биочипа. При генотипировании 120 образцов были выявлены 5 носителей мутации в гене *CUL7*, 4 – в гене *NBAS*, 6 носителей мутации в гене *DIA1* и 8 – в гене *GBJ2*. Полученные данные подтверждают ранее полученные данные и свидетельствуют о высокой частоте носительства мутаций в якутской популяции.

Ключевые слова: наследственные заболевания, якуты, гетерозиготное носительство, биологический микрочип, 3-М синдром, SOPH-синдром, тирозинемия 1 типа, метгемоглобинемия 1 типа, несиндромальная глухота 1 типа

Для цитирования: Саввина М. Т., Максимова Н. Р., Сухомясова А. Л. Определение частоты гетерозиготного носительства частых наследственных болезней в якутской этнической группе с использованием биологических микрочипов. *Медицинская генетика* 2020; 19(7): 27-28.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.27-28

Автор для корреспонденции: Саввина Мира Таиржановна; e-mail: mira@savv.in

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки РФ (проект FSRG-2020-0014: «Геномика Арктики: эпидемиология, наследственность и патология»).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Estimation of the heterozygote carrier frequency of frequent hereditary diseases in the Yakuts using oligonucleotide microarray

Savvina M. T., Maksimova N. R., Sukhomyasova A. L.

M.K. Ammosov North-East Federal University
Kulakovskogo st, 46, Yakutsk, 677000, Russia

The aim of current research is to estimate the heterozygote carrier frequency of often found mutations. After genotyping of 120 samples from healthy individuals of yakut ethnic group 5 carriers of mutation in *CUL7*, 4 carriers of mutation in *NBAS*, 6 carriers of mutation in *DIA1* and 8 carriers in *GBJ2* were revealed. The results confirming once again the data previously described by other authors and indicate a high frequency of mutation carriage in the studied genes in population of yakut origin.

Key words: inherited diseases, Yakuts, heterozygous carriage, DNA-microarray, diagnostics, 3-M syndrome, SOPH syndrome, tyrosinemia type 1, methaemoglobinaemia type 1, nonsyndromic hearing loss and deafness (DFNB1) type 1A

For citation: Savvina M. T., Maksimova N. R., Sukhomyasova A. L. Estimation of the heterozygote carrier frequency of frequent hereditary diseases in the Yakuts using oligonucleotide microarray. *Medical genetics*. 2020; 19(7): 27-28. (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.27-28

Corresponding author: Savvina Mira Tairzhanovna, e-mail: mira@savv.in

Funding. The research is conducted under the state target program of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation: project FSRG-2020-0014 «Genomic of Arctic: epidemiology, hereditary and pathology»

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Существующие в настоящий момент методы ДНК-диагностики: ПЦР-ПДРФ, секвенирование ДНК, ПЦР в реальном времени (Real-Time PCR), имеют ряд недостатков, ограничивающих число анализов для проведения массового скрининга. Созданный в начале 90-х годов метод, в котором комбинируются наработки нескольких отраслей от биоло-

гии до электроники — технология биологических микрочипов, позволяет проводить анализ по нескольким тысячам генетических маркеров одновременно. Наиболее интенсивно идет внедрение биочипов средней и малой плотности печати. Подобные биочипы имеют относительно низкую себестоимость и доступную технологию печати.

Многолетние медико-генетические исследования врачей-генетиков населения республики Саха (Якутия) свидетельствуют о наличии мажорных мутаций, характерных для якутской этнической группы, частота которых во много раз выше показателей мировых популяций [1]. Стоит острая необходимость в проведении массового репродуктивного молекулярно-генетического скрининга на гетерозиготное носительство с последующей пренатальной диагностикой для профилактики распространения наследственных заболеваний в популяции, который уже широко практикуется в некоторых странах. Такие меры оказались весьма эффективными, снизив частоты встречаемости β -талассемии, серповидно-клеточной анемии на 70% в популяциях Средиземноморья, на 90% заболеваемость TSD (болезнь Тея-Сакса) у еврейского населения в Соединенных Штатах Америки и в Канаде [2].

Цель исследования — оценка частоты гетерозиготного носительства пяти частых наследственных болезней у здоровых индивидов якутской этнической группы с использованием разработанного ДНК-микрочипа.

Материалы и методы

В работе использовались образцы ДНК из выборки Нюрбинского района республики Саха (Якутия). Для формирования диагностической панели биочипа был проанализирован генетический регистр наследственных болезней МГЦ НЦМ РБ №1.

ПЦР проводилась с использованием биотинированных праймеров с наработкой биотинилированных продуктов с последующей денатурацией для получения односторонних фрагментов ДНК и инкубацией со стрептавидином, меченным красителем Cy5, для их визуализации. Зонды с амиолинкером на 5' конце наносились вместе с зондами контроля качества (QC probes) на стеклянную подложку с альдегидным покрытием бесконтактным способом печатающей станцией PixSys nQUAD 4500 Microarrayer (Cartesian Technologies, Inc., США). Этапы нанесения зондов, ПЦР, гибридизации и последующей промывки проводились в соответствии с методикой, разработанной коллегами с Gene In, Inc. (Пусан, Южная Корея). Визуализация флуоресцентных сигналов с гибридизованных на биочипе ампликонов производилась на сканере Scan Ri, (Perkin Elmer, США). Интерпретация результатов производилась с использованием программного обеспечения CombiView software (Gene In, Inc., Пусан, Южная Корея) [3].

Результаты и выводы

В результате совместной работы с компанией «Gene In» был разработан олигонуклеотидный биочип, который позволяет проводить одномоментную детекцию точковых мутаций: 4582_4583insT в гене *CUL7*, с.5741G>A в гене *NBAS*, с.806C>T в гене *DIAI*, с.1090G>C в гене *FAH*, с.-23+1G>A в гене *GBJ2*, вызывающих 3-М синдром, SOPH синдром, наследственную энзимопеническую метгемоглобинемию 1 типа, тирозинемию 1 типа, наследственную несиндромальную глухоту 1А типа, соответственно. Исследованы образцы ДНК (n=120) здоровых людей из неродственных семей якутской этнической группы. В результате проведенного анализа были получены следующие данные: число гетерозигот по мутации 4582_4583insT в гене *CUL7* составило 2% (5 носителей), с.5741G>A в гене *NBAS* — 1,6% (4 носителя), с.806C>T в гене *DIAI* — 2,5% (6 носителей), с.-23+1G>A в гене *GBJ2* — 3,3 % (8 носителей). Полученные результаты соответствуют ранее опубликованным данным, что свидетельствует о достоверности и эффективности разработанного метода диагностики и дальнейшей перспективе его использования в практике.

Литература

1. Пузырев В.П. и др. Наследственные болезни у якутов. *Генетика* 2008; (44): 1308–1314.
2. Langlois S., Wilson R.D.; GENETICS COMMITTEE; CCMG PRE-NATAL DIAGNOSIS COMMITTEE. Carrier screening for genetic disorders in individuals of Ashkenazi Jewish descent. *J Obstet Gynaecol Can.* 2006 Apr;28(4):324–332.
3. Song E.J., Jeong H.J., Lee S.M., Kim C.M., Song E.S., Park Y.K., Bai G.H., Lee E.Y., Chang C.L. A DNA chip-based spoligotyping method for the strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Microbiol Methods.* 2007 Feb;68(2):430–433. doi: 10.1016/j.mimet.2006.09.005.

References

1. Puzyrev V.P. et al., Nasledstvennye bolezni u yakutov. *Genetika* [Hereditary diseases in Yakuts. *Genetics*]. *Genetika* [Genetics] 2008; (44): 1308–1314. (In Russ.)
2. Langlois S., Wilson R.D.; GENETICS COMMITTEE; CCMG PRENATAL DIAGNOSIS COMMITTEE. Carrier screening for genetic disorders in individuals of Ashkenazi Jewish descent. *J Obstet Gynaecol Can.* 2006 Apr;28(4):324–332.
3. Song E.J., Jeong H.J., Lee S.M., Kim C.M., Song E.S., Park Y.K., Bai G.H., Lee E.Y., Chang C.L. A DNA chip-based spoligotyping method for the strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Microbiol Methods.* 2007 Feb;68(2):430–433. doi: 10.1016/j.mimet.2006.09.005.