



КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
ФГБНУ «МГНЦ»

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

24 ноября 2015 года

Конференц-зал
Федерального государственного бюджетного научного
учреждения
«Медико-генетический научный центр»,
Москва, ул. Москворечье, д. 1

**НА ЗАПАД И ВОСТОК ОТ ЮЖНОГО УРАЛА:
ОСОБЕННОСТИ ГЕНОФОНДА ТАТАР ПОВОЛЖЬЯ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**

А.Т. Агджоян, А.Д. Падюкова, Р.А. Схаляхо, М.К. Жабагин
ФГБНУ «МГНЦ»

Многообразие татар Евразии (как антропологическое, так и культурное) и обширная территория их расселения (Западная Сибирь, Поволжье, Северный Прикаспий и Крымский полуостров) позволяют рассматривать их как полисистемную общность со сложной историей формирования. Северное «полушарие» территории расселения этой сложной общности представляют популяции татар Поволжья и Западной Сибири. Географически эти два региона расположены по обе стороны Уральского хребта. Население и Поволжья, и Западной Сибири характеризуется своеобразием этнического состава: по спектру и лингвистических групп, и антропологических типов. В данном исследовании основной задачей стал сравнительный анализ генофондов 7 групп поволжских и сибирских татар как друг с другом, так и в контексте окружающих народов Евразии.

Проведено генотипирование более 600 образцов ДНК представителей 7 групп татар Поволжья (казанские татары, мишари и кряшены) и Западной Сибири (тоболо-иртышские татары: ясколбинские, ялуторовские, искеро-тобольские и иштякско-тогузские) по панели 40 SNP маркеров Y-хромосомы. Анализ генофондов популяций татар Поволжья и Западной Сибири в контексте народов Евразии проведен методами многомерной статистики и картографии как на основе полученных частот гаплогрупп, так и с привлечением информации из базы данных «Y-base».

Спектры гаплогрупп Y-хромосомы для поволжских и сибирских татар в целом различны, хотя некоторые варианты встречаются с разными частотами в обоих регионах (гаплогруппы N1c и R1a). Гаплогруппы или сочетания гаплогрупп, преобладающего в генофонде всех исследованных групп татар, не обнаружено.

Результаты анализа как спектра наиболее частых гаплогрупп Y-хромосомы, так и суммарного разнообразия для трех групп поволжских татар указывают, что их генофонд сформировался с участием генетических компонентов популяций финно-угорских народов Приуралья и тюркоязычного населения степной Евразии.

Генофонд четырех групп тоболо-иртышских сибирских татар в целом ближе к народам Западной Сибири, чем Приуралья. Возможно, это связано с формированием популяций тоболо-иртышских сибирских татар во взаимосвязи с окружающими народами Западной Сибири, благодаря чему в их генофондах сохранились общие генетические компоненты

Исследование поддержано грантом РФФИ №13-06-0670-а.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИСТАЛЬНЫХ ФОРМ ПМД В ВЫБОРКЕ БОЛЬНЫХ ИЗ РФ

Булах М.В., Рыжкова О.П., Дадали Е.Л., Руденская Г.Е., Поляков А.В.
ФГБНУ «МГНЦ»

Поясно - конечностные прогрессирующие мышечные дистрофии (ПКМД) – наиболее распространенная группа клинически полиморфных и генетически гетерогенных ПМД, характеризующихся преимущественным поражением мышц тазового и плечевого поясов. Среди ПКМД выделяют две дистальные формы - ПКМД 2В и ПКМД 2L, обусловленные мутациями в генах *DYSF* и *ANO5*, соответственно. Исследований данных двух форм ПКМД в РФ ранее не проводилось. На основании анализа литературных данных и базы LOVD были отобраны 2 наиболее часто встречающиеся в европейской популяции мутации гена *ANO5* и 14 мутаций гена *DYSF* для скринирующего исследования на наличие выбранных мутаций в выборке 350 больных ПКМД из РФ. В результате проведенного исследования в гене *DYSF* была выявлена мутация с.3191_3196dup CGGAGG у 14 человек (13,2%) на 14 хромосомах (13,2%). Других мутаций в гене *DYSF* не обнаружено. По результатам биоинформатического анализа было показано, что с.3191_3196dup CGGAGG является полиморфизмом. Мутации с.191dupA гена *ANO5* обнаружено не было. Миссенс-мутация с.2272C>T(p.Arg758Cys) в гене *ANO5* обнаружена у 4(1,14%) больных на 5 хромосомах(0,71%). При дальнейшем исследовании всей кодирующей последовательности гена *ANO5* у гетерозиготных носителей по мутации с.2272C>T, в одном случае была обнаружена нонсенс-мутация с.412G>T (Gly138Stop). В исследуемой выборке больных доля больных ПКМД 2L типа составила не менее 1,16%. Больных ПКМД 2В выявлено не было.

Для подтверждения патогенности мутации с.2272C>T гена *ANO5* был проведен ее поиск в выборке 764 необследованных жителей различных регионов РФ. Частота гетерозиготного носительства данной мутации в выборке составила 1:191.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЬНЫХ ФКУ С ЦЕЛЬЮ ИХ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ЛЕЧЕНИЯ ПРЕПАРАТАМИ ВН4

Гундорова П., Степанова А.А., Поляков А.В.
Лаборатория ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ»

Фенилкетонурия – аутосомно-рецессивное заболевание из группы ферментопатий, связанное с нарушением обмена фенилаланина. Мутации в гене *PAH* приводят к снижению активности или полному отсутствию фермента фенилаланингидроксилазы (ФАГ) и развитию фенилкетонурии (ФКУ). Мутации в генах синтеза и обмена кофактора ФАГ тетрагидробиоптерина (ВН4) являются причинами гиперфенилаланинемий (ГФА). В настоящее время распространяется практика лечения больных ФКУ и ГФА препаратами тетрагидробиоптерина (ВН4). Было предложено использовать эти препараты не только при лечении пациентов с гиперфенилаланинемиями, с мутациями в генах *PTS*, *QDPR*, *GCHI* и *PCBD*, но и пациентов с мутациями в гене *PAH*. Показано достоверное снижение уровня фенилаланина в крови пациентов, использующих данные препараты, если имеется остаточная активность ФАГ. Причем, чем больше остаточная активность фермента, тем больше эффект от лечения.

Выборка неродственных больных с направляющими диагнозами ФКУ и ГФА составила 435 человек из 13 регионов Российской Федерации.

ДНК пробандов из выборки была проанализирована на наличие 19 частых мутаций в гене *PAH* методом MLPA: R408W, P281L, R261Q, R158Q, R252W, IVS4+5G>T, IS10-11G>A, IVS 12+1G>A, ex5del, L48S, A403V, Y414C, E280K, E390G, R243Q, R243X, R261X, IVS2+5G>A, IVS2+5G>C. У части пробандов было проведено прямое секвенирование по Сенгеру генов *PAH*, *PTS*, *QDPR*.

В результате анализа были подсчитаны суммарные аллельные частоты тяжелых и легких мутаций в разных регионах РФ, в среднем они составили 64,8% и 13,3% соответственно. Определена аллельная частота мутации R408W в каждом регионе, в среднем по выборке она равна 49,9%. Выявлены пациенты-ответчики на лечение препаратами ВН4 (3%), среди которых как пробанды с двумя мягкими мутациями в гене *PAH* (8 чел.), так и пациенты с подтвержденным диагнозом ГФА и мутациями в генах *PTS* (4 чел.) и *QDPR* (1 чел.). Определена группа пациентов, не отвечающих на лечение, в составе 193 человек. Среди них 122 пробанда с генотипом R408W/R408W, также выявлены другие «тяжелые» генотипы.

Выявлена группа пациентов с неизвестным эффектом от лечения (229 чел.), разработана тактика дальнейшего исследования этой группы.

БУРЯТЫ В СТРУКТУРЕ ГЕНОФОНДОВ НАРОДОВ ЮЖНОЙ СИБИРИ И ЦЕНТРАЛЬНОЙ АЗИИ

Дибирова Х.Д.¹, Балаганская О.А.², Жабагин М.К.³, Чухряева М.И.¹

¹Лаборатория популяционной генетики человека ФГБНУ «МГНЦ», Москва,

²ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва,

³Центр наук о жизни, Назарбаев Университет, Казахстан, Астана.

Буряты – один из многочисленных народов Восточной Сибири - сформировался на основе племен булагатов, эхиритов, хонгодоров, хоринцев и других популяций, кочевавших на территории Центральной Азии и Сибири. После присоединения к Российской Империи эти племена и родовые группы объединились под этнонимом «буряты».

Цель данного исследования: изучить генетическое разнообразие трех групп бурят и выявить долю субстратного и местного компонентов в современном генофонде бурят.

Изучение генофонда трех групп бурят (N=616) - Иркутской области (N=122), Республики Бурятия (N=267) и Забайкальского края (N=227) – проведено по расширенной панели SNP (45 маркеров) и STR маркеров Y-хромосомы. Анализ проведен с учетом родовой принадлежности с привлечением обширного массива литературных данных. Филогенетический анализ полных сиквенсов Y-хромосомы (технология BigY) позволил выделить новые высокоинформативные субгаплогруппы внутри гаплогруппы N1c1-M178, имеющие определяющее значение при анализе сибирских народов.

Анализ генетических расстояний выявил два кластера. В первый вошли тюркские народы Южной Сибири и Центральной Азии, а второй кластер объединил монголоязычные популяции (монголы, буряты), тюркоязычные (казахи, якуты), популяции говорящие на языках тунгусо-манчжурской языковой семьи (нанайцы и ульчи) и палеоазиатов (нивхи).

Показано, что генофонд бурят чрезвычайно гетерогенен. Буряты Забайкальского края дистанцированы от всех народов Сибири и Центральной Азии за счет преобладания «бурятского» варианта гаплогруппы N1c1. Анализ гаплотипического разнообразия этого варианта показал, что этногенез Забайкальских бурят восходит к Центрально-азиатскому региону и не связан с Сибирским регионом. Буряты Иркутской области и Республики Бурятии генетически неотличимы от халха-монголов и казахов рода керей и конират, гаплогруппа N1c1 слабо характерна для них.

Таким образом, в генофонде бурят выявлено два генетических пласта: первый сформировал основу для бурят Иркутской области и Республики Бурятия и характеризуется преобладанием центрально-азиатских вариантов гаплогрупп C и O. Этот компонент преобладает у народов Восточной Сибири, относящихся к разным языковым семьям. Второй пласт образован вариантом гаплогруппы N1c1, связывающий Забайкальских бурят с барга-монголами, а не с народами Восточной Сибири и Дальнего Востока.

Проект поддержан грантом РФФ 14-14-00827

РОЛЬ ЛОМКОГО САЙТА *FRA14B* В ФОРМИРОВАНИИ ХРОМОСОМНЫХ ПЕРЕСТРОЕК В ГЕНЕ *GPHN*

Жегло Д.¹, Брюкнер Л.М.², Савельева Л.²

¹ Лаборатория мутагенеза ФГБНУ «МГНЦ», Москва,

² Немецкий центр исследования рака (DKFZ), Гейдельберг, Германия

Конститутивные фрагильные сайты (КФС) — это специфические участки хромосом, предрасположенные к формированию разрывов, наблюдаемых при цитогенетическом анализе метафазных хромосом, в ответ на репликативный стресс. В отличие от редких ломких сайтов, КФС выявляются у всех людей как нормальный структурный компонент хромосом. Многочисленные исследования свидетельствуют о вовлечении этих районов в формирование точек разрывов соматических и герминальных хромосомных перестроек, ассоциированных, в частности, с онкогенезом и аутизмом. Молекулярное картирование КФС позволяет локализовать участки повышенной хромосомной нестабильности и выявить расположенные в них гены-кандидаты различных заболеваний.

Точные границы *FRA14B* были определены с помощью шестицветного FISH с ВАС-зондами на метафазных препаратах иммортализованных культур лимфоцитов, обработанных ингибитором репликации афидиколином. Было установлено, что ломкий сайт занимает 765 Кб внутри 14q23.3 и включает 1-10 экзоны гена *GPHN*. *GPHN* кодирует белок, участвующий в биосинтезе молибденового кофактора и «заякоривании» тормозных нейромедиаторных рецепторов в постсинаптической мембране. Все 12 ранее описанных мутаций в *GPHN*, ассоциированных с риском аутизма, шизофрении и эпилепсии, представляют собой редкие или *de novo* субмикроскопические делеции с нестандартными точками разрывов, расположенные в ломкой части гена. При анализе ДНК-профилей 1046 раковых клеточных линий из Broad-Novartis Cancer Cell Line Encyclopedia мы выявили аккумуляцию фокальных делеций (< 1 Mb) внутри *FRA14B*. Методом район-специфического микроматричного анализа ДНК 160 раковых образцов было детектировано 12 вариаций числа копий, подтверждённых с помощью FISH и ПЦР, включая 9 делеций, 2 дупликации и 1 комплексную перестройку. В точках разрывов обнаружены микрогомологии или короткие нуклеотидные вставки, являющиеся признаками негомологичных механизмов репарации, таких как негомологичное соединение концов и переключение матрицы в процессе репликации. Расположение и структура выявленных перестроек характерны для районов ломких сайтов хромосом и указывают на вклад нестабильности *FRA14B* в формирование патогенных мутаций гена *GPHN*.

ТАРГЕТНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПРИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

Иткис Ю.С.¹, Крылова Т.Д.¹, Михайлова С.В.², Печатникова Н.Л.³,
Захарова Е.Ю.¹

¹ Лаборатория наследственных болезней обмена ФГБНУ «МГНЦ», Москва,

Митохондриальные заболевания – гетерогенная группа редких наследственных заболеваний, вызванная нарушениями в дыхательной цепи митохондрий, что обусловлено мутациями в ядерном и митохондриальном геномах. Такое «двойное кодирование» объясняет трудность молекулярной диагностики митохондриальных патологий. Однако в совокупности это довольно распространенная группа наследственных болезней обмена веществ, и поиск эффективных методов диагностики весьма актуален. Появление современных методов высокопроизводительного секвенирования позволило в некоторой степени упростить диагностику данной группы заболеваний.

Так, в лаборатории НБО ФГБНУ «МГНЦ» была разработана панель для параллельного секвенирования 62 ядерных митохондриальных генов, которые ассоциированы с митохондриальными заболеваниями. Это гены, кодирующие структурные белки и белки-сборщики комплексов дыхательной цепи митохондрий, а также ряд других важных митохондриальных белков.

Для составления выборки пациентов для данного исследования мы использовали несколько критериев: 1) типичные изменения на МРТ головного мозга; 2) высокий уровень фактора роста фибробластов-21 (потенциальный биомаркер митохондриальных миопатий); 3) клинические проявления РЕО/РЕО+. К настоящему моменту проанализировано 46 пациентов, у 10 из них найдены патогенные замены в следующих генах: NDUF52, NDUFV1 SCO2, C10orf2, SUCLG1. Интересно, что у троих пациентов со схожими клиническими проявлениями - полинейропатия, офтальмоплегия, миоклонусы, задержка психоречевого развития - в гене C10orf2 найдена компаунд-гетерозиготная замена с.G1199T (p.R400L), которая не описана в базах данных по мутациям и полиморфизмам, но является с высокой вероятностью патогенной согласно программам по предсказанию патогенности замен. Еще у троих пациентов с тяжелой миопатической формой митохондриального заболевания обнаружена описанная гомозиготная замена с.G418A (p.E140K) в гене SCO2. Мы предполагаем, что данные две мутации являются частыми для российской популяции. Вероятно, их стоит внести в скрининг-панели для поиска частых митохондриальных мутаций.

Наши результаты демонстрируют эффективность применения секвенирования следующего поколения как для диагностики гетерогенных заболеваний, так и для исследования распространенности мутаций в популяции.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ И ПОЛИМОРФИЗМОВ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК

Кириллова К.И.

Лаборатория эпигенетики ФГБНУ «МГНЦ»

Рак желудка (РЖ) – злокачественная опухоль, происходящая из эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка. В структуре онкологической заболеваемости России занимает второе место после рака легкого у мужчин и рака молочной железы у женщин с частотой 1: 3900 и частотой смертности 1:4500. Основная часть случаев РЖ sporadicкая. Однако существование семейных случаев РЖ представляет особый интерес в изучении герминальных форм. Наличие определенных наследственных факторов может повышать риск развития рака желудка. Одним из главных генетических факторов риска развития рака желудка являются врожденные мутации генов супрессоров опухолевого роста, а изучение мутаций и полиморфизмов этих генов служит основной целью данного исследования.

В работу было включено 50 больных с местнораспространенным раком желудка. Поиск мутаций и полиморфизмов в 51 гене, вовлеченном в канцерогенез, проводили высокопроизводительным параллельным секвенированием ДНК на платформе IonTorrent PGM (LifeTechnologies). Наибольшее количество мутаций выявлено в генах: *TP53* (p.R116W, p.E298X, p.R26H, p.R248Q, p.V41L, p.G113D, p.A86fs, p.H179R, p.I100T, p.R273H), *CDH1* (c.-71C>G, p.K182N, p.T303P, p.S838G, c.1320+2T>G), *PIK3CA* (p.K111E, p.E545K, p.H1047R), *STK11* (p.M289K, c.-311C>T, c.-127T>C, p.S283fs), *SMAD* (p.V158A, p.R445X). В других генах, вовлеченных в канцерогенез, мутации обнаружены в единичных случаях: *ATM* (p.S1691R), *CDKN2A* (p.R103W), *FBXW7* (p.R387C), *PTEN*, (p.L265fs), *FGFR3* (p.F348L), *EGFR* (p.V292M), *SMO* (p.W206X), *KRAS* (p.G12D), *NOTCH* (c.5019-50G>A), *MET* (p.N375S) и *RB1* (p.H686N).

Частые полиморфизмы обнаружены в генах: *KDR* (p.Q472H) - в 52%, *KIT* (p.M541L) - в 10%, *KIT* (p.M373L) - в 6% и *MET* (p.S178S) - в 6% случаев. Редкие полиморфизмы в генах: *MET* (p.R970C), *JAK3* (p.V722I), *RET* (p.S649L), *APC* (p.P1442P, p.I1289K), *ATM* (p.F858L), *RB1* (p.L564F), *CDKN2A* (p.D86N, p.T992I) выявлены в единичных случаях. Герминальный характер мутаций в генах *MET* (p.N375S) и *RB1* (p.H686N) подтвержден у двух пациентов, требуется дальнейшее изучение с точки зрения влияния этих мутаций на риск развития заболевания. К развитию наследственного диффузного РЖ приводят герминальные мутации в гене *CDH1*(16q22.1). Нами выявлены новые мутации в гене *CDH1* (c.-71C>G, p.K182N, p.T303P, p.S838G, c.1320+2T>G), в исследованной выборке пациентов.

Частый полиморфизм в гене *KDR* (p.Q472H), с популяционной частотой минорного аллеля 21%, в исследованной нами выборке больных РЖ имеет значительное повышение частоты до 52%, что позволяет рассматривать его в качестве потенциального генетического фактора повышенного риска развития заболевания.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА СИНДРОМА ПЕНДРЕДА И АЛЛЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФОРМ СИНДРОМА ШИРОКОГО ВОДОПРОВОДА ПРЕДДВЕРИЯ И АНОМАЛИИ УЛИТКИ ВНУТРЕННЕГО УХА ТИПА МОНДИНИ

Миронович О.Л.¹, Близнец Е.А.¹, Маркова Т.Г.², Поляков А.В.¹

¹ Лаборатория ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ», Москва,

² ФГБУН «Российский Научно-Практический Центр аудиологии и слухопротезирования ФМБА», Москва

Синдром Пендреда – наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, характеризующееся сочетанием нарушения слуха с формированием эутиреоидного зоба. Нарушение слуха при синдроме обычно сопровождается аномалиями развития структур костного лабиринта внутреннего уха (широким водопроводом преддверия – EVA, иногда в сочетании с дисплазией Мондини). У новорожденных пациентов с синдромом Пендреда щитовидная железа не увеличена, зоб формируется в раннем подростковом возрасте у 40% пациентов, у остальных – во взрослом состоянии. Это затрудняет дифференциальную диагностику у детей синдрома Пендреда, изолированной тугоухости с EVA и несиндромальной сенсоневральной тугоухости. За развитие как синдрома Пендреда так и EVA с/без дисплазий улитки Мондини ответственны мутации в гене *SLC26A4*, кодирующем транспортный белок пендрин – многофункциональный анионный обменник.

Синдром Пендреда является одним из самых частых синдромальных вариантов тугоухости. Его распространенность оценивается как 7,5-10 случаев на 100000 новорожденных, что составляет до 10% всех случаев наследственной потери слуха. В России исследования с. Пендреда и аллельной тугоухости с EVA ранее не проводились, поэтому распространенность и этиология данных заболеваний у российских пациентов неизвестна. В данной работе исследована геномная ДНК 20 пациентов с с. Пендреда и/или EVA и/или дисплазией Мондини на наличие мутаций в гене *GJB2* и *SLC26A4*. Среди 7 пациентов с синдромом Пендреда у одного была обнаружена известная мутация с.35delG в гене *GJB2* в гомозиготном состоянии. Биаллельные мутации в гене *SLC26A4* обнаружены у четверых из 19 пациентов, что составляет 20% выборки. Таким образом установлен значительный вклад генетической патологии, обусловленной биаллельными мутациями в гене пендрина, в заболеваемость как с.Пендреда, так и EVA у российских пациентов: в 30% - с.Пендреда (2 пациента из 6) и 30% - тугоухости с широким водопроводом преддверия без/с аномалией Мондини (2 пациента из 6). Среди 7 пациентов с мальформацией Мондини с нормальным водопроводом преддверия мутации в гене пендрина не обнаружены.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИЗОЛЯЦИИ И АНАЛИЗУ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЧИСЛЕННЫХ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ

Мусатова Е.В.

Лаборатория цитогенетики ФГБНУ «МГНЦ»

Большой интерес представляет получение информации о генетическом статусе развивающегося плода без угрозы прерывания данной беременности. Одним из типов плодных клеток, присутствующих в крови беременных женщин, являются трофобласты. Принципиальным отличием трофобластов от других клеток плода, циркулирующих в крови беременной женщины, является их эпителиальная природа, определяющая крупные размеры этих клеток и характерную морфологию. Это позволяет не просто «обогащать» исследуемый образец клетками интереса, получая смешанную клеточную фракцию, а делает возможной изоляцию трофобластов по их размеру, отличающемуся от размеров клеток крови.

Для оценки возможности выделения трофобластов из образцов периферической крови, основанной на крупном размере этих клеток, и их последующего анализа был выполнен модельный эксперимент. Материалами послужили 11 образцов искусственно созданных (артифициальных) смесей, являющихся имитацией состава периферической венозной крови беременных женщин. Артифициальные смеси получали смешиванием образцов венозной крови взрослых индивидуумов с образцами клеток ворсин хориона замерших беременностей с известным кариотипом. Для последующего анализа были выбраны трофобласты двух образцов артифициальных смесей, для приготовления которых использовали клетки хориона с численными хромосомными аномалиями.

Выделение трофобластов из анализируемых образцов осуществлялось с помощью фильтрации через поликарбонатные фильтры. Детекция трофобластов на фильтре осуществлялась иммуноцитохимическим окрашиванием с моноклональными антителами к цитокератину 7 (СК7). Изоляция единичных СК7-положительных клеток производилась с помощью лазерной микродиссекции. Перед непосредственным анализом генетического материала изолированных клеток с помощью метафазной сравнительной геномной гибридизации проводился этап полногеномной амплификации. Полногеномная амплификация генетического материала единичных клеток осуществлялась двумя различными методами, в результате чего был проведен их сравнительный анализ. В обоих случаях профили гибридизации генетического материала диссектированных клеток соответствовали кариотипу клеток хориона, использованных для приготовления соответствующих артифициальных смесей.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МАРКЕРОВ АНОМАЛЬНОГО МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК ПРИ ОСТРОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ У ДЕТЕЙ

В.В. Руденко ¹, А.В. Попа ², В.С. Немировченко ², С.А. Казакова ³

¹Лаборатория эпигенетики ФГБНУ «МГНЦ», Москва,

²ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва,

³ГБОУВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава РФ», Москва

Целью настоящего исследования является поиск и формирование системы маркеров метилирования острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) у детей. Диагностический потенциал aberrантного метилирования может быть использован для определения одного из основных прогностических критериев ОМЛ у детей – минимальной остаточной болезни (МОБ), а также для выявления подтипов ОМЛ, обладающих различной чувствительностью к используемым терапевтическим схемам, в частности, с применением эпигенетических модификаторов.

В исследование вовлечены образцы биологического материала костного мозга пациентов с ОМЛ и донорского костного мозга. Определение аномального метилирования ДНК проводится с использованием метода непредвзятого скрининга дифференциального метилирования геномов на основе амплификации интерметилированных сайтов, а также метилчувствительной и метилзависимой ПЦР.

В ходе исследования выявлено 16 новых геномных локусов, аномально метилированных при ОМЛ у детей. 15 принадлежат промоторным CpG-островкам генов, 1 - межгеному CpG-островку (7p21.1). Предложена система из 13 маркеров метилирования ДНК, соответствующих промоторным областям генов *EGFLAM*, *RXRA*, *MAFA*, *TMEM176A/TMEM176B*, *KHSRP*, *TMEM200B*, *ABCG4*, *GSG1L*, *CLDN7*, *CXCL14*, *DLK2*, *AIFM3* и *SOX8*, для определения МОБ детского ОМЛ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-32295 мол_а.

ГЕНОФОНД НАРОДОВ ЦИРКУМКАСПИЙСКОГО РЕГИОНА ПО ДАННЫМ Y-ХРОМОСОМЫ

Схаляхо Р.А.

Лаборатория популяционной генетики человека ФГБНУ «МГНЦ»

Циркумкаспийский регион (территория, окружающая Каспийское море) со времен палеолита находился на пересечении евразийских миграционных потоков. Данная территория населена народами, контрастными как по происхождению (западноевразийские и восточноевразийские), так и языковой принадлежности (тюркоязычные, монголоязычные и ираноязычные), а также ареалу обитания (горные и степные) и генетическим характеристикам. Поэтому народы этого региона были вовлечены в интенсивный поток генов, происходивший как между ними, так и с населением окружающих регионов Евразии. Нами изучены по маркерам Y-хромосомы ряд популяций данного региона (N=750): туркмен (узбекистанских, ставропольских), азербайджанцев (Дагестана, Азербайджана), кумыков, ногайцев (ставропольских, кубанских, караногайцев), астраханских татар.

Популяции Западного Прикаспия (кумыки, азербайджанцы) оказались генетически ближе к другим популяциям Восточного Кавказа. Подразделение выборки азербайджанцев согласно ареалу их расселения показали отличительные особенности, однако для более точной интерпретации требуется увеличение выборки азербайджанцев Азербайджана, которые пополняются в настоящее время. Караногайцы же, несмотря на свою географическую отдаленность от Северного Прикаспия, продемонстрировали сходство с популяциями данного региона (астраханские татары и ставропольские ногайцы) согласно этнографическим данным. Астраханские татары, вопреки данным истории продемонстрировали некоторые отличия от Казанских татар, а ставропольские ногайцы от других двух групп ногайцев. В генофонде астраханских татар доминируют гаплогруппы **R1a**, **C** и **J2**, а в генофонде ставропольских ногайцев **C**, **R1a** и чуть меньше **R1b**. Генетический профиль двух групп туркмен (узбекистанских, ставропольских) оказались резко отличными друг от друга (в генофонде туркмен узбекистана доминирующей оказалась гаплогруппа **Q**, а ставропольских туркмен – **R1a1**), что возможно связано с различной родовой структурой двух популяций туркмен.

Исследование поддержано грантами РФФИ №14-06-31331 и РФФИ №13-06-00670.

СОЗДАНИЕ ПРОГРАММЫ NAPLOMATCH: ВЫЯВЛЕНИЕ СХОДНЫХ ГАПЛОТИПОВ Y-ХРОМОСОМЫ И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ДОНСКИХ КАЗАКОВ

Чухряева М.И., Агджоян А.Т., Схалыхо Р.А.

Лаборатория популяционной генетики ФГБНУ «МГНЦ»

STR-гаплотипы Y-хромосомы широко используются во всем мире как высоко эффективные генетические маркеры при изучении и популяций человека, и в криминалистической ДНК-экспертизе. При этом наиболее сложна задача сравнения гаплотипов отдельных индивидуумов, а тем более целых популяций, - с огромным массивом накопленных данных о гаплотипах. Поскольку имеющиеся программы крайне несовершенны, нами разработан алгоритм анализа сходства STR гаплотипов, пригодный для анализа массовых выборок, и программа Naplomatch, определяющая гаплотипы, идентичные заданному или же отличающиеся от него на любое число мутационных шагов. Программа работает в двух режимах: сравнение индивидов и сравнение популяций. Гибкость программы (возможность использования не встроенной, а любой внешней базы данных), удобство использования (работа с привычными таблицами MS Excel) и возможность анализа гаплотипов других хромосом (и даже других биологических видов) делает ее удобным мощным инструментом популяционной генетики, генеалогии и криминалистики. Программа Naplomatch размещена в свободном доступе на нашем сайте (<http://genofond.invint.net/genofond.ru/default235ef.html?s=0&p=716>). Покажем возможности программы Naplomatch при изучении происхождения донских казаков.

Анализ нашей тщательно собранной выборки (N=131) казаков Верхнего Дона выявил по спектру STR-гаплотипов Y-хромосомы генетическую близость казаков с восточнославянскими популяциями (южными и центральными русскими, украинскими). При этом основной миграционный поток шел из соседних областей: восточной Украины и из южных уездов России. Также обнаружено небольшое генетическое влияние ногайцев, вероятно связано с их вхождением в Войско Донское в составе татарской прослойки. Сходства с народами Кавказа у донских казаков не обнаружено. Эти данные подтверждают так называемую «миграционную» теорию формирования донского казачества – за счет миграций коренного русского и украинского населения, хотя не отрицают и возможность ограниченного влияния степных популяций в лице ногайцев.

Отметим, что анализ столь больших массивов STR-гаплотипов – для реконструкции генофонда казаков использовано 3019 STR-гаплотипов Y-хромосомы из 15 популяций 11 народов Евразии - оказался возможен только благодаря созданной нами программе Naplomatch.

Исследование поддержано грантом РФФ 14-14-00827.