

Использование методов масштабного параллельного секвенирования при поиске мутаций,  
ответственных за патогенез менделирующих заболеваний

Т.В. Тяжелова<sup>1</sup>, М.С. Протасова<sup>1</sup>, А.Э. Лаптенко<sup>2</sup>, Д.А. Решетов<sup>1</sup>, Е.И. Рогаев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН

<sup>2</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет)

Появление и развитие новых методов масштабного параллельного секвенирования позволяет сократить время и трудоемкость, которое характерно для других методов поиска мутаций [1-3]. В представленной работе эти методы применялись для определения генетических изменений, наблюдаемых при менделирующем заболевании X-связанная непрогрессивная врожденная гипоплазия мозжечка – редкая форма мозжечковой атаксии. Этим заболеванием болеют мужчины, и считается, что оно передается по женской линии.

Для исследований использовали геномную ДНК членов большой бурятской семьи, подробно описанной в статье [4].

Целью работы было определить мутации, возможно, ответственные за возникновение заболевания X-связанная непрогрессивная врожденная гипоплазия мозжечка.

Для поиска мутаций проводили биоинформатический анализ последовательностей, полученных в результате масштабного параллельного секвенирования на приборе Illumina HiSeq 2000 полногеномной библиотеки ДНК, выделенной из крови пациента с диагнозом X-связанная непрогрессивная врожденная гипоплазия мозжечка.

В результате биоинформатического анализа было предсказано 4 154 084 однонуклеотидных полиморфизмов, инсерций и делеций. Из них 398 203 структурных вариаций (больших делеций, инсерций, полиморфизмов длинных повторяющихся элементов и инверсий).

Наши коллеги с помощью метода позиционного клонирования определили область X хромосомы, в которой находится участок генома, поврежденный при исследуемом заболевании: X:55519052-119836873 [4]. В этой области было обнаружено две уникальных делеции: делеция в гене ATR7A (X:77190005-77231471) и делеция в гене MAGT1 (X:77850614-77854211).

Для подтверждения найденных мутаций в геноме больного и для проверки наличия этих мутаций в геномах его родственников использовали полимеразные цепные реакции с разными специально подобранными парами праймеров.

Делеция в гене АТР7А проверена и подтверждена во всех образцах больных мужчин, а также она присутствует в виде гетерозиготы во всех образцах женщин и отсутствует во всех образцах здоровых мужчин (в том числе сыновей этих женщин). Делеция в гене MAGT1 есть как у больных, так и у здоровых людей.

Таким образом, так как делеция в гене MAGT1 есть как у больных, так и у здоровых людей, то эта полиморфная вариация является популяционной.

Наличие делеции в гене АТР7А коррелирует с фенотипом (наличие заболевания) у членов исследованной семьи, поэтому эта мутация отобрана для последующих функциональных исследований.

#### Литература

1. *Mardis E.* A decade's perspective on DNA sequencing technology. – *Nature*. – 2011. – 470. – 198-203.
2. *Metzker M.L.* Sequencing technologies — the next generation. – *Nature Rev. Genet.* – 2010. – 11. – 31-46.
3. *Shendure J. and Hanlee J.* Next-generation DNA sequencing. – *Nature biotechnology*. – 2008. – 26(10). – 1135-1145.
4. *Illarioshkin S.N., Tanaka T.H., Markova E.D., Nikolskaya N.N., Ivanova-Smolenskaya I.A. and Tsuji S.* X-linked Nonprogressive Congenital Cerebellar Hypoplasia: Clinical Description and Mapping to Chromosome Xq. – *Ann Neurol*. – 1996. – 40. – 75-83.