

УДК 616-056.7:616.153.922

О.С.Тихомирова (6 курс, каф. БФ), Н.А.Грудинина, асп. (ГУ НИИЭМ РАМН)

ИДЕНТИФИКАЦИЯ 5-ТИ НУКЛЕОТИДНОЙ ДЕЛЕЦИИ 3819del 5 В 11 ЭКЗОНЕ ГЕНА BRCA1 У ДВУХ НЕРОДСТВЕННЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В развитых странах мира около 10% женщин заболевают раком молочной железы в течение жизни. В результате изучения семей с несколькими случаями рака молочной железы в родословной были изолированы гены предрасположенности к данному заболеванию, BRCA – гены (от английского - BReast CAncer). В отделе молекулярной генетики НИИЭМ РАМН проводится исследование, направленное на изучение спектра мутаций гена BRCA1 у больных раком молочной железы и яичника Санкт-Петербурга. Важным результатом этой работы станет разработка быстрых методов диагностики мутаций в гене, что позволит проводить генетическое консультирование в семьях больных и осуществлять диспансерное наблюдение больных и их родственников - носителей мутаций, еще не имеющих признаков заболевания.

Целью данной работы является исследование одного из участков 11 экзона гена BRCA1 – фрагмента 110 – на наличие мутаций у больных раком молочной железы города Санкт-Петербурга.

Материалом для исследования являлась коллекция ДНК пациентов с семейными формами рака молочной железы, состоящая из 40 образцов. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов крови и амплифицировали исследуемый фрагмент 110 методом полимеразной цепной реакции. Поиск мутаций осуществляли методами гетеродуплексного анализа и анализа конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК (SSCP-анализ), перед секвенированием аномальные последовательности ДНК клонировали.

Мы провели амплификацию участка экзона 11 гена *BRCA1* – фрагмента 110 всех образцов коллекции ДНК. При проверке продуктов амплификации ДНК у двух пациентов (2031, 2311) мы наблюдали образование гетеродуплекса. При изменении условий электрофореза нам удалось разделить гомодуплексы этих образцов, один из которых – мутантный – располагался ниже нормального. Это позволило предположить, что мутация, являющаяся причиной образования гетеродуплекса – делеция. Прямое секвенирование амплификатов 110 фрагмента гена *BRCA1* этих пациентов невозможно, так как образцы содержат и мутантный, и нормальный аллели. Разделение аллелей было достигнуто клонированием. Секвенирование мутантного образца подтвердило наличие делеции 3819-3823del5. Данная мутация не является новой. Она приводит к сдвигу рамки считывания и образованию терминирующего кодона (стоп 1241) в последовательности гена *BRCA1*. Все образцы были проверены методом SSCP-анализа, который показал наличие аномальной электрофоретической подвижности только в образцах 2031 и 2311.

Выводы:

1. Мутация 3819-3823del5 в гене *BRCA1* была обнаружена у двух неродственных больных с семейной формой рака молочной железы в популяции Санкт-Петербурга.
2. Мутация 3819del5 приводит к сдвигу рамки считывания в гене *BRCA1* и, как следствие, к синтезу нефункционального белка.
3. Мутация легко идентифицируется методом гетеродуплексного анализа.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Манделъштам М.Ю., Голубков В.И., Ламбер Е.П., Шапиро И.М., Брежнева Т.В., Семиглазов В.Ф., Липовецкий Б.М., Хансон К.П., Гайцхоки В.С. Поиск часто встречающихся мутаций в генах предрасположенности к раку молочной железы. Генетика, 2001, том 37, 12:1681-1686.
2. Miki Y. et al., 1994. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1 . Science 266:66-71.