



УДК 577.213.3

© 1990 г.

О. В. Воронина, В. С. Гайцхоки, Е. И. Шварц,*
О. Ю. Потапова*, Ю. А. Берлин**, О. В. Плуталов**,
Т. Е. Гембицкая***

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В АНАЛИЗЕ ДЕЛЕЦИИ F-508 ПРИ КИСТОЗНОМ ФИБРОЗЕ

Институт экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград;

* *Институт ядерной физики им. Б. П. Константинова АН СССР, Гатчина;*

** *Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР, Москва;*

*** *Институт пульмонологии МЗ СССР, Ленинград*

Кистозный фиброз (КФ), или муковисцидоз, представляет собой одно из наиболее часто встречающихся аутосомно-рецессивных наследственных заболеваний человека, в основе которого лежат нарушения секреторной функции эпителиальных клеток различных органов. У представителей белой расы частота КФ составляет 1 : 2500, а частота гетерозиготного носительства мутантного гена — 1 : 25 [1]. В гене КФ, картированном на длинном плече хромосомы 7 [2], в результате секвенирования кодирующих участков была идентифицирована делеция трех нуклеотидов (ТТТ в смысловой цепи) в экзоне 10, приводящая к делеции Phe-508 в продукте гена КФ [3, 4]. Эта мутация (F-508) обнаружена при скрининге больных КФ в странах Северной Европы, Канады и США в 70—80% хромосом, несущих мутантный ген КФ [4, 5], причем в большинстве случаев она встречалась у больных с недостаточностью поджелудочной железы. В то же время данные по полиморфизму длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) маркерных локусов ДНК, сцепленных с геном КФ, свидетельствуют о генетической гетерогенности КФ [6—8]. Значительное разнообразие клинических проявлений этого заболевания также позволяет предполагать существование соответствующих им различных первичных дефектов в гене КФ.

Мы проанализировали ДНК из клеток крови 40 больных КФ двух групп — с недостаточностью и с нормальной функцией поджелудочной железы — на наличие делеции F-508 с целью обнаружения ассоциации этой мутации с клиническими проявлениями КФ в Советском Союзе. Для этого с помощью полимеразной цепной реакции с праймерами dGTTTTCCTGGATTATGCCTGGGCAC и dGTTGGCATGCTTTGATGA.CCCTTC [3], фланкирующими кодон 508 и синтезированными амидофосфитным методом [9], были получены соответствующие мутантный и нормальный фрагменты экзона 10 гена КФ. Продукты амплификации (94-мер в случае делеции F-508 в гомозиготном состоянии, 97-мер при нативной структуре этой части гена в обоих аллелях и смесь обоих фрагментов у гетерозиготных носителей) анализировали электрофорезом в 12% ПААГ в неденатурирующих условиях.

Оказалось, что среди больных КФ с поражением поджелудочной железы частота делеции составляла 47,5% (19 из 40 хромосом). Из 20 больных этой группы пять (25%) оказались гомозиготами по этой делеции, у 9 больных (45%) она была найдена только в одном аллеле и лишь у шести больных (30%) вовсе не была обнаружена. В то же время среди 20 больных КФ с нормальной функцией поджелудочной железы делеция F-508 в гетерозиготном состоянии имела у 20% больных (8 из 40 хромосом), а гомозиготных носителей делеции в составе этой группы вообще не ока-

залось. Существенные различия в частоте встречаемости делеции F-508 между обеими клиническими группами больных свидетельствуют об ассоциации этой делеции с поражением поджелудочной железы.

Суммарная частота делеции F-508 в обеих группах составила 34% (27 из 80 хромосом), что существенно ниже, чем у больных КФ в странах Северной Европы и Северной Америки (см. выше), за исключением евреев-ашкенази в США (30,3%) [8], но близко к результатам для больных КФ в Италии и Испании (соответственно 43 и 49%) [7].

Дальнейший анализ природы мутаций гена КФ важен для изучения генетических основ фенотипического разнообразия КФ и для разработки эффективных прямых методов ДНК-диагностики этого заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Harris A., Super M. // Cystic Fibrosis. The Fact. Oxford, University Press. 1987. P. 133.
2. Wainwright B. J., Scam'ler P. J., Schmidtke J., Watson E. A., Law H.-Y., Farrell M., Cooke H. J., Eiberg H., Williamson R. // Nature. 1985. V. 318. № 6044. P. 384—385.
3. Riordan J. R., Rommens J. M., Kerem B., Alon N., Rozmahel R., Grzelczak Z., Zielinski J., Lok S., Plavsic N., Chou J.-L., Drumm M. L., Iannuzzi M. C., Collins F. S., Tsui L.-C. // Science. 1989. V. 245. № 4922. P. 1065—1073.
4. Kerem B., Rommens J. M., Buchanan J. A., Markiewicz D., Cox T. K., Chakravarti A., Buchwald M., Tsui L.-C. // Science. 1989. V. 245. № 4922. P. 1073—1080.
5. McIntosh I., Lorenzo M. L., Brock D. J. H. // Lancet. 1989. V. ii. № 8676. P. 1404—1405.
6. Lemur W. K., Feldman G. L., Kerem B., Fernbach S. D., Levkovich E. P., O'Brien W. E., Riordan J. R., Collins F. S., Tsui L.-C., Beaudet A. L. // New Engl. J. Med. 1990. V. 322. № 5. P. 291—296.
7. Eastvill X., Chillon M., Casals T., Bosch A., Morral N., Nunes V., Gasparini P., Ceya A., Pignatti P. F., Novelli G., Dallapiccola S., Fernandez E., Benitez I., Williamson R. // Lancet. 1989. V. ii. № 8676. P. 1404.
8. Stuhrman M., Maczk M., Reis A., Schmidtke J., Tummler B., Dork T., Vavrova T., Maczk M., Krawczak M. // Lancet. 1990. V. i. № 8694. P. 738—739.
9. Sinha N. D., Biernat J., McManus J., Koster H. // Nucleic Acids Res. 1984. V. 12. P. 4539—4557.

Поступило в редакцию
25.V.1990

O. V. VORONINA, V. S. GAITSKHOKI, E. I. SCHWARTZ*, O. Yu. POTAPOVA*,
Yu. A. BERLIN**, O. V. PLUTALOV**, T. E. GEMBITSKAYA***

POLYMERASE CHAIN REACTION IN THE ANALYSIS OF DELETION F-508 IN CYSTIC FIBROSIS

Institute of Experimental Medicine, Academy of Medical Sciences of the USSR, Leningrad;

**B. P. Konstantinov Institute of Nuclear Physics, Academy of Sciences of the USSR,
Gatchina, Leningrad Region;*

***M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR,
Moscow;*

****Institute of Pulmonology, Ministry of Health of the USSR, Leningrad*

Search for the F-508 deletion in the cystic fibrosis (CF) locus in patients with different forms of this disease has been carried out using polymerase chain reaction followed by gel-electrophoretic characterization of the amplified fragments. This mutation is shown to be associated preferentially with pancreatic insufficiency as the main trait of CF phenotype (<45% homozygotes and 30% heterozygotes in F-508 among CF patients with pancreatic disorder). On the other hand, in CF patients with pancreatic sufficiency this mutation was detected rarely and only in the heterozygous state (20% patients).