

Республики Саха (Якутия) наследственной патологией и анализ работы региональной медико-генетической консультации: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. - Томск, 2001. - 24 с.

8. Окладников А.П. История Якутской АССР. М.: Ленинград: Из-во АН СССР, 1957. - Т.II. - 418 с.

9. Платонов Ф.А. Наследственная мозжечковая атаксия в Якутии: Автореф. дис. ...д-ра мед. наук. - Москва, 2003. - 49 с.

10. Пузырев В.П., Эрдыниева Л.С., Кучер А.Н., Назаренко Л.П. Генетико-демографическое исследование населения Тувы. - Томск: STT, 1999. - 256 с.

11. Пузырев В.П., Назаренко Л.П. Генетико-

эпидемиологическое исследование наследственной патологии в Западной Сибири. Томск: Наука. - 2000. - 187 с.

12. Сухомясова А.Л. Аутосомно-доминантная миотоническая дистрофия в Республике Саха (Якутия): Дисс. ... канд. мед. наук. - Томск, 2005. - 189 с.

13. Федорова Е.Н. Населения Якутии: Прошлое и настоящее (геодемографическое исследование). - 2-е изд. - Новосибирск: Наука, 1999. - 207 с.

14. Barrai I., Formica G., Scapoli C. et al. Microevolution in Ferrara - isonymy 1890-1990 // Ann. of Hum. Biol. - 1992. - V. 19. - № 4. - P. 371-385.

15. Carvajal-Carmona L.G., Soto I.D., Pineda N. Stron Amerind/white sex bias and a possible sephardic contribution among the founders of a population in Northwest Colombia // Am. J. Hum. Genet. - 2000. - V. 67. - P. 1287-1295.

16. Lasker G.W. Surnames in the study of human biology // Am. J. Anthropol. - 1977. - V. 82. - P. 525.

17. Lasker G.W., Kaplan B.A. Demography in biological anthropology - human-population structure and evolution // Am. J. Hum. Biol. - 1995. - V. 7. - №4. - P. 425-430.

18. Zei G., Guglielmino C.R., Siri E. et al. Surnames as Neutral alleles: Observations in Sardinia // Hum. Biol. - 1983. - V. 55. - № 2. - P. 357-365.

Е.А. Трифонова, М.Г. Спиридонова, Н.Р. Максимова, А.Н. Ноговицына, В.А. Степанов

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И СТРУКТУРА ГАПЛОТИПОВ ЛОКУСА MTHFR В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

УДК 575.22

Архитектура неравновесия по сцеплению в геноме человека является в настоящее время предметом интенсивных исследований. В представленной работе изучены генетическая дифференциация и структура неравновесия по сцеплению в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в популяции якутов в сравнении с выборками европеоидов, китайцев и японцев из проекта HapMap. Показаны частоты аллелей, генотипов и гаплотипов 10 полиморфизмов гена MTHFR (rs2066470, rs17037397, rs4846052, rs1801133 (C677T), rs6541003, rs2066462, rs1801131 (A1298C), rs17375901, rs2274976 (G1793A) и rs1537516) в исследованных группах. Продемонстрирован популяционно-специфический характер структуры неравновесия по сцеплению в гене MTHFR.

Ключевые слова: ген метилентетрагидрофолатредуктазы, неравновесие по сцеплению, однонуклеотидный полиморфизм.

The architecture of linkage disequilibrium (LD) in human genome is now the subject of intensive studie. In the present work genetic differentiation and structure of LD in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) was examined in population of Yakuts in comparison with the samples of Caucasians, Chineses and Japaneses from HapMap project. In the explored groups we examined haplotype, genotype and allele frequencies at 10 SNPs of MTHFR gene: rs2066470, rs17037397, rs4846052, rs1801133 (C677T), rs6541003, rs2066462, rs1801131 (A1298C), rs17375901, rs2274976 (G1793A) and rs1537516). Population-specific nature of structure of LD in MTHFR gene was demonstrated.

Keywords: methylenetetrahydrofolate reductase gene, linkage disequilibrium, single nucleotide polymorphisms.

Введение

Выявление структуры неравновесия по сцеплению (НС) вносит значительный вклад в изучение генома человека. Последние исследования показали, что человеческий геном организован в дискретные блоки низкого гаплотипического разнообразия, в пределах которых маркеры находятся в состоянии сильного НС. Степень гаплотипического разнообразия и протяженность блоков варьируют в разных популяциях, отражая демографическую историю населения, давление естественного отбора, мутации, и рекомбинации [1]. Тем не менее существуют сведения о согласованности в пространственном размещении некоторых гаплотипических блоков в различных популяциях, указывая на возможность существования общего механизма образования данных блоков [2].

В данном исследовании в качестве локуса для изучения неравновесия по сцеплению в популяциях был выбран

ген метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). Метилентетрагидрофолатредуктаза - катализатор единственной внутриклеточной реакции образования 5-метилтетрагидрофолата, который необходим для восстановления гомоцистеина до метионина. Снижение активности данного фермента приводит к накоплению гомоцистеина и развитию умеренной гипергомоцистеинемии [3].

Материалы и методы исследования

В представленной работе обследована выборка якутов из поселка Дюяса (Республика Саха). Изучены 10 полиморфных вариантов гена MTHFR: rs2066470, rs17037397, rs4846052, rs1801133 (C677T), rs6541003, rs2066462, rs1801131 (A1298C), rs17375901, rs2274976 (G1793A) и rs1537516. Данные SNPs равномерно распределены в кодирующей части гена MTHFR [NSBI]. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Про-

дукты амплификации и рестрикции анализировались с помощью электрофореза в 2 или 3 % агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Искомые бенды визуализировали в ультрафиолетовом трансиллюминаторе. Структура праймеров, условия амплификации и рестрикции для локусов C677T, A1298C, rs17037397, rs4846052, rs1537516, rs17375901, rs2274976 гена MTHFR описаны ранее [4, 5, 6, 7]. Для 3 SNPs: в настоящей работе были подобраны праймеры, условия генотипирования, специфические эндонуклеазы и условия рестрикции (табл.1).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакетов статистических программ «STATistica 7.0», «ARLEQUIN» и «Haploview4.0». Частоты гаплотипов определялись с помощью ЕМ-алгоритма. НС между парами однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) оценивалось

Таблица 1

Исследуемый локус	Праймеры	Температура отжига	Фермент рестрикции
rs2066462	F: 5'-ATTCCAGCCTTGGGTTGA-3' R: 5'-CAAAACCCAGCAACAGTGTG-3'	60°C	BstSI I
rs2066470	F: 5'-GAGGAAACAGCAGCCTCAAC-3' R: 5'-ACCCACTCTGCCTTCTCCTT-3'	60°C	Bpu10 I
rs6541003	F: 5'-ATTCCAGCCTTGGGTTGA-3' R: 5'-CAAAACCCAGCAACAGTGTG-3'	62°C	Erh I

ТРИФОНОВА Екатерина Александровна - аспирант, врач-биохимик НИИ медицинской генетики СО РАМН (г.Томск), ekaterina.trifonova@medgenetics.ru; **СПИРИДОНОВА Мария Геннадьевна** - к.б.н., н.с. ГУ НИИ МГ СО РАМН, e-mail: maria.spiridonova@medgenetics.ru; **МАКСИМОВА Надежда Романовна** - к.м.н., гл.н.с. ЯНЦ КМП СО РАМН; **НОГОВИЦЫНА Анна Николаевна** - к.м.н., зав. лаб. ЯНЦ КМП СО РАМН; **СТЕПАНОВ Вадим Анатольевич** - д.б.н., зам. директора по науке ГУ НИИ СО РАМН.

с помощью коэффициента D' , предложенного Левонтином и коэффициента корреляции r^2 Пирсона. Блочная структура определялась посредством алгоритма «Правило четырех гамет» [8], предусмотренного программным обеспечением «Haploview 4.0».

Результаты

Частоты аллелей, генотипов и гаплотипов в исследованных группах

Частоты генотипов и аллелей по 10 изученным ОНП представлены в табл.2. В исследованных группах практически по всем изученным локусам выполняется равновесие Харди-Вайнберга, исключение составляет только rs2066470 в популяции якутов.

В исследованных выборках обнаружено 40 гаплотипов из 1024 возмож-

ных. Наибольшее число гаплотипов (31) выявлено в выборке якутов, наименьшее (4) – в выборке китайцев, в популяциях японцев и европеоидов наблюдались 6 и 10 гаплотипов соответственно.

Гаплотипы, встречающиеся с частотой более 5% обозначены как основные гаплотипы (табл.3). Гаплотипы с частотой менее 1% были исключены из анализа. Всего найдено 6 основных гаплотипов, частоты которых в сумме составляют более 90% наблюдаемых хромосом в выборках европеоидов, китайцев и японцев, и более 70% – в популяции якутов.

Структура неравновесия по сцеплению в гене MTHFR

На рисунке показана структура НС между исследованными локусами в четырех популяционных

Таблица 3

Распределение частот гаплотипов гена *MTHFR* в исследованных выборках

№	Гаплотип	Частота, %			
		Яку- ты	Ки- тайцы	Япон- цы	Евро- пеоиды
1	CCCCACACGC	0,466	0,289	0,456	0,293
2	CCCTACACGC	0,110	0,511	0,342	0,225
3	CCTCGCCCGC	0,142	0,100	0,058	0,250
4	TATCGTCCAT	0,029	0,100	0,089	0,042
5	CCTCGCACGC	-	-	-	0,092
6	TCTCGTCTGT	-	-	-	0,050
7	CCCTACACAC	0,012	-	-	0,017
8	CCTCGCACAC	0,013	-	-	0,008
9	CCTCGTCTGC	-	-	-	0,008
10	TATCGTACGT	-	-	-	0,008
11	TATCGTCCGC	-	-	-	0,008
12	CCCTATACGC	-	-	0,025	-
13	CCTCGTCCGC	-	-	0,031	-
14	CATCGCCCAT	0,018	-	-	-
15	CCCCACACAC	0,011	-	-	-
16	CCCCGCCCGC	0,012	-	-	-
17	CCTTGACACGC	0,023	-	-	-
18	CCTTGCCCGC	0,028	-	-	-
19	TATTGCCCGT	0,013	-	-	-
20	TCCTACACGC	0,012	-	-	-
21	TCCACACGC	0,014	-	-	-
Число наблюдаемых гаплотипов		31	4	6	10

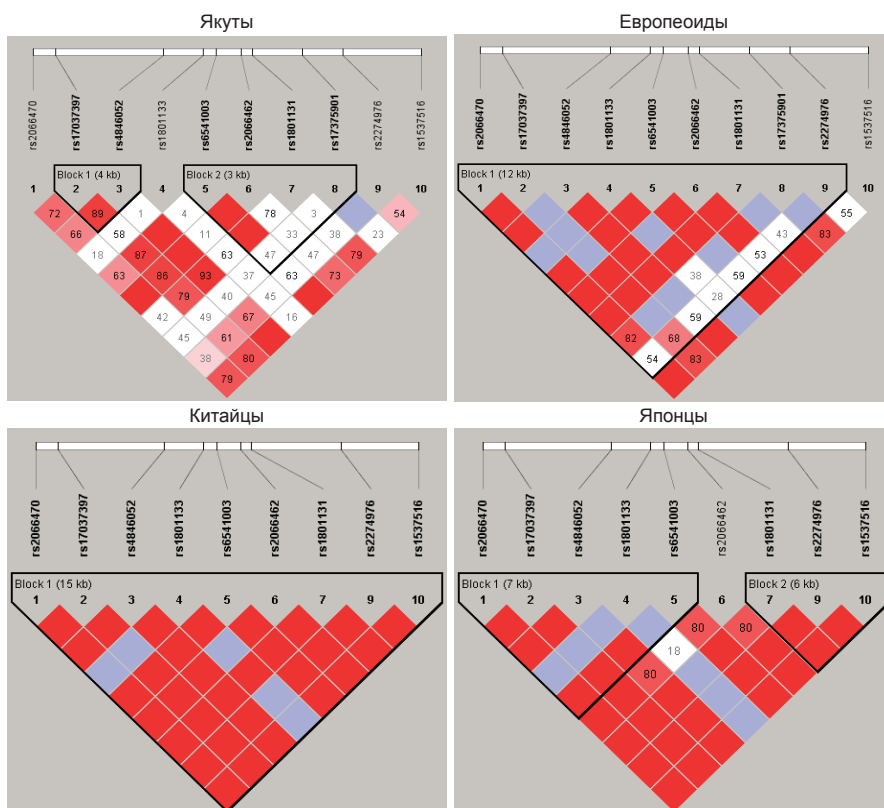
*Нумерация SNPs: 1 – rs2066470, 2 – rs17037397, 3 – rs4846052, 4 – rs1801133 (C677T), 5 – rs16541003, 6 – rs2066462, 7 – rs1801131 (A1298C), 8 – rs17375901, 9 – rs2274976 (G1793A) и 10 – rs1537516; жирным шрифтом выделены основные гаплотипы.

Таблица 2

Распределение генотипов и аллелей изученных полиморфных вариантов гена *MTHFR* в исследованных выборках

№	Иссле- дованные SNPs	Частоты, %				
		Генотип, аллель	Якуты (N=81)	Китайцы, (N=45)	Японцы, (N=45)	Европейцы, (N=60)
1	rs2066470	CC	76	82	82	78
		CT	19	16	18	22
		TT	5	2	-	-
		C	86	90	91	89
		T	14	10	9	11
2	rs17037397	AA	3	2	-	-
		AC	17	16	18	12
		CC	80	82	82	88
		A	11	10	9	6
		C	89	90	91	94
3	rs4846052	CC	40	64	67	27
		CT	53	31	31	53
		TT	7	5	2	20
		C	66	80	82	53
		T	34	20	18	47
4	rs1801133 (C677T)	CC	61	27	40	58
		CT	33	44	47	35
		TT	6	29	13	7
		C	77	71	63	76
		T	23	29	37	24
5	rs6541003	AA	37	64	67	27
		AG	52	31	31	53
		GG	11	5	2	20
		A	63	80	82	53
		G	37	20	18	47
6	rs2066462	CC	89	82	71	77
		CT	11	16	29	23
		TT	-	2	-	-
		C	94	90	86	88
		T	6	10	14	12
7	rs1801131 (A1298C)	AA	46	64	67	42
		AC	48	31	31	45
		CC	6	5	2	13
		A	70	80	82	64
		C	30	20	18	36
8	rs17375901	CC	94	100	100	88
		CT	6	-	-	12
		TT	-	-	-	-
		C	97	100	100	94
		T	3	-	-	6
9	rs2274976 (G1793A)	AA	3	2	-	-
		AG	17	16	18	13
		GG	80	82	82	87
		A	11	10	9	7
		G	89	90	91	93
10	rs1537516	CC	80	82	82	80
		CT	17	16	18	20
		TT	3	2	-	-
		C	89	90	91	90
		T	11	10	9	10

Примечание: N – количество индивидуумов в выборке



Структура неравновесия по сцеплению в гене *MTHFR* в исследованных группах. В ячейках указано значение коэффициента сцепления D' (пустая ячейка – $D'=1$), цветовая гамма отображает силу сцепления между SNPs: темно-серый – сильное ($D'=1$, $LOD>2$), серый и светло-серый – значительное ($D'<1$, $LOD>2$), белый – слабое ($D'<1$, $LOD<2$). Ячейка светло-серого цвета без указанного значения D' обозначает невозможность расчета неравновесия по сцеплению вследствие низкой частоты минорного аллеля полиморфизма ($D'=1$, $LOD<2$)

выборках. У якутов обнаружено 2 небольших сцепленных блока. Первый, охватывающий примерно 4 т.п.н. в 5'-области гена, включает 2 ОНП (rs17037397 и rs4846052). Второй блок в 3'-области MTHFR длиной около 3 т.п.н. составляют 4 ОНП (rs 654100, rs2066462, rs180113 и rs17375901). В популяции японцев из проекта HarMap также найдено два блока сцепления (1-й блок включает в себя rs2066470, rs17037397, rs4846052, rs1801133 (C677T), и rs16541003; 2-й – 8 - rs17375901, 9 - rs2274976 и 10 - rs1537516). В то же время китайцы демонстрируют тесное сцепление всех 10-и проанализированных в настоящей работе ОНП, формирующих единый блок длиной 15 т.п.н. Также сильное сцепление исследованных локусов наблюдается в выборке европеоидов (выявлен один гаплотипический блок из 9 ОНП).

Заключение

Ранее на меньшем количестве маркеров нами была выявлена популяци-

онная специфичность структуры НС гена MTHFR в различных популяциях Евразии [6]. Настоящая работа подтверждает наличие межпопуляционных различий в структуре НС локуса MTHFR. Предполагается, что характеристика НС в геноме человека позволит реконструировать демографическую историю популяций и займет центральное место при картировании генов мультифакториальных заболеваний [9, 10, 11].

Данная работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 07-04-01629-а).

Литература

1. Трифонова Е.А., Спиридонова М.Г., Степанов В.А. Генетическое разнообразие и структура неравновесия по сцеплению в локусе метилентетрагидрофолатредуктазы // Генетика. – 2008. – № 10. С. 1410-1419.
2. Трифонова Е.А., Спиридонова М.Г., Пузырёв В.П., Степанов В.А. Структура гаплотипов локуса метилентетрагидрофолатредуктазы: популяционная специфичность и ассоциация с коронарным атеросклерозом // Медицинская генетика. – 2009. – № № 1(79) стр. 39-47.
3. Barrett J.C., Fry B., Maller J., Daly M. J. Haploview: analysis and visualization of LD and

haplotype maps // Bioinformatics. 2005. № 21. P. 263-265.

4. Daly M.J., Rioux J.D., Schaffner S.F., et al. High-resolution haplotype structure in the human genome // Nature genetics. 2001. V. 29. P. 229-232.

5. Friedman G., Goldschmidt N., Friedlander Y. A common mutation A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene: association with plasma total homocysteine and folate concentrations // J Nutr. 1999. № 129. P. 1656-1661.

6. Frosst P., Blom H.J., Milos R., et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation methylenetetrahydrofolate reductase // Nat Genet. 1995. № 10. P. 111-113.

7. Gabriel S.B., Schaffner S.F., Nguyen H., et al. The Structure of Haplotype Blocks in the Human Genome // Science. 2002. V. 296. P. 2225-2229.

8. Goyette P., Pai A., Milos R., et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase // Mammalian Genome. 1998. V. 9. P. 652-656.

9. Rana N.A., Ebenezer N.D., Webster A.R., et al. Recombination hotspots and block structure of linkage disequilibrium in the human genome exemplified by detailed analysis of PGM1 on 1p31 // Human Molecular Genetics. 2004. V. 24. P. 3089-3102.

10. Reich D.E., Cargill M., Bolk S., Ireland J., Sabeti P.C. Linkage disequilibrium in the human genome // Nature. 2001. V. 411. P. 199-204.

11. Shifman S., Kuypers J., Kokoris M., et al. Linkage disequilibrium patterns of the human genome across populations // Human Molecular Genetics. 2003. V. 7. P. 771-776.

Л.А. Конева, А.В. Конев, А.Н. Кучер

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ СПИНОЦЕРЕБЕЛЛЯРНОЙ АТАКСИИ I ТИПА В СМОДЕЛИРОВАННЫХ ЯКУТСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ

УДК 575.174

Цель исследования. Прогнозирование накопления спиноцеребеллярной атаксии I типа (СЦА1) в смоделированных якутских популяциях.

Материалы и методы. Разработана компьютерная программа для имитационного моделирования распространения болезней экспансии тринуклеотидных повторов в популяциях человека, которая включает в себя моделирование естественного воспроизводства населения и имитацию накопления динамической мутации в популяции.

Результаты. Прогноз накопления заболевания показывает, что для элиминации мутации из популяции за счет сокращения продолжительности жизни больных и снижения у них уровня рождаемости понадобится около 1290 лет. При оказании медико-генетической помощи населению, в результате которой рождаются только потомки без мутации в гене SCA1, в объеме 1% от числа носителей мутантного аллеля на момент 2000 года этот период сокращается до 180 лет.

Ключевые слова: спиноцеребеллярная атаксия I типа, имитационное моделирование, прогнозирование заболеваемости СЦА1.

Aim. Prediction of prevalence of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) in the simulated Yakut populations.

Materials and methods. The computer program for simulation of prevalence of Unstable Triplet Repeat Diseases in human populations which includes modelling natural reproduction of the population and imitation of accumulation of dynamic mutation in a population is developed.

Results. The prediction of the disease accumulation shows that it requires 1290 years to eliminate a mutation from population by reducing life expectancy of the patients and decreasing their birthrate. At rendering medical and genetic assistance to the population, which results in the descendants born without a mutation in SCA1 gene in the volume of 1 % from the number mutant alleles of the carriers by 2000 this period is reduced to 180 years.

Keywords: spinocerebellar ataxia type 1, simulation, prediction of SCA1 prevalence.

Введение

В структуре груза наследственной патологии отдельных этнотерриториальных групп населения могут выявляться специфические заболевания, накопление которых является актуаль-

ной проблемой для популяций. Одно из таких заболеваний - спиноцеребеллярная атаксия I типа (СЦА1) - имеет широкое распространение в Республике Саха (Якутия). СЦА1 – тяжелое нейродегенеративное прогрессирующее заболевание с поздним возрастом манифестации, наследуется по аутосомно-доминантному типу. Частота встречаемости СЦА1 в Якутии составляет около 38 случаев на 100 тыс. населения [10], что является самым высоким показателем по распространенности данной патологии в мире (1-2 случая на 100 тыс. населения) [5].

Работа по профилактике СЦА1 в Якутии началась с 90-х гг. 20-го в. В 1995 г. в лаборатории Института здоровья АН РС(Я) был внедрен метод прямой ДНК-диагностики СЦА1, в 2000 г. – в Отделе молекулярной генетики МГК РБНН-1-НЦМ МЗ РС(Я) внедрен метод ДНК-тестирования пациентов из семей с СЦА1, и в 2002 г. впервые проведена пренатальная диагностика СЦА1 в отягощенной семье [6]. Актуальным представляется прогноз заболеваемости СЦА1 в якутских популяциях при различном уровне оказания медико-генетической помощи населению.

КОНЕВА Лада Анатольевна – м.н.с. НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), e-mail: lada.koneva@ssmu.ru; **КОНЕВ Артур Валерьевич** – руководитель отдела ИТ ОАО «Медтехника», e-mail: artu@medtech.tomsknet.ru; **КУЧЕР Аксана Николаевна** – д.б.н., руководитель лаб. НИИ медицинской генетики СО РАМН, e-mail: aksana.kucher@medgenetics.ru.