

УДК: 577.213

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ ДНК У ДЕТЕЙ КОРЕННОГО И ПРИШЛОГО НАСЕЛЕНИЯ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Минина В.И.^{1,2}, Дружинин В.Г.^{1,2}, Тимофеева А.А.^{1,2}, Ларионов А.В.¹

¹ ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный университет».

² Учреждение Российской академии наук Институт экологии человека СО РАН.

Проведено исследование полиморфизмов генов эксцизионной репарации оснований ДНК: hOGG1Ser326Cys, ADPRT Val762Ala, XRCC1Arg194Trp, Arg280His и Arg399Gln у детей шорцев и русских, проживающих в Кемеровской области. Частота минорных аллелей Trp, His и Gln гена XRCC1 в группе детей-шорцев сопоставима со встречаемостью этих вариантов у русских. Минорные аллели hOGG1 Cys и ADPRT Ala у шорцев встречаются чаще, чем у русских.

Ключевые слова: генетический полиморфизм XRCC1, hOGG1, ADPRT.

POLYMORPHISM BASE EXCISION REPAIR GENES AMONG INDIGENOUS AND MIGRANT POPULATIONS OF THE KEMEROVO REGION

V.I Minina, V.G.Druzhinin, A.A.Timopheeva, A.V.Larionov

Kemerovo State University.

Establishment of the Russian Academy of Sciences Institute of Human Ecology SB RAS.

Analyses of gene polymorphisms XRCC1Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln, hOGG1Ser326Cys and ADPRT Val762Ala in two ethnic groups of Kemerovo region (Shors, Russian) are conducted. The frequency of minor alleles: hOGG1 Cys and ADPRT Ala in group Shors significantly higher than the incidence of these alleles in a group of Russian Kemerovo region. The frequencies of minor alleles His, Gln and Trp of XRCC1 in group Shors comparable with frequency of this allele in Russian group of Kemerovo region.

Key words: gene polymorphism XRCC1, hOGG1, ADPRT.

В настоящее время динамично развиваются молекулярно-генетические методы, позволяющие выявить этнические различия на молекулярном уровне. Индивидуальный набор полиморфных вариантов генов способен оказывать существенное влияние на адаптационные возможности организма. В этой связи активно изучается вклад генов репарации ДНК в формирование индивидуальной чувствительности генома к повреждающим мутагенным воздействиям.

В настоящее время известно более 150 генов, принимающих участие в различных путях репарации [9]. Считается, что большинство повреждений ДНК удаляется белками эксцизионной репарации оснований (base excision repair, BER). Среди генов, кодирующих ферменты BER, особое внимание привлекают *hOGG1*, *ADPRT* и *XRCC1*.

Ген XRCC1 (x-ray cross-complementing group 1) кодирует регуляторный белок репарации, который не имеет ферментативной активности, но осуществляет координационную функцию. XRCC1 взаимодействует с поли-АДФ-полимеразой, ДНК-лигазой 3, ДНК-полимеразой β , APE1. [8]. К числу наиболее изученных полиморфизмов гена XRCC1 относятся: XRCC1 Arg194Trp, XRCC1 Arg280His, XRCC1 Arg399Gln.

Ген *hOGG1* (human 8-oxoguanine DNA glycosylase) кодирует ключевой фермент BER, удаляющий из ДНК остатки 8-оксогуанина, образующегося под действием активных форм кислорода. Один из полиморфизмов гена *hOGG1*, приводящий к замене Ser на Cys в 326 положении, ассоциирован со сниженной активностью фермента 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы [2]. Ген *ADPRT* (adenosine diphosphate ribosyl transferase) кодирует ассоциированный с хроматином фермент поли-АДФ-рибозилполимеразу (PARP). Данный фермент вовлечён в реакции репарации ДНК, поврежденной химическими мутагенами, активными формами кислорода и ионизирующей радиацией. Аллель гена *ADPRT*, который несет трансверсию T→C в 40 676 положении, приводящую к аминокислотной замене Val762Ala в кодируемом белке, ассоциирован с пониженной способностью связывать XRCC1 и другие белки репарации, сниженной функциональной активностью фермента [5].

В связи с вышесказанным целью исследования стал анализ полиморфизмов генов репарации ДНК XRCC1, ADPRT, hOGG1 у представителей коренного (шорцы) и пришлого населения (русские) Кемеровской области.

Материалы и методы

Исследуемая выборка включала 263 человека (123 мальчика и 140 девочек, средний возраст $12,81 \pm 0,18$ лет). Среди них: шорцев – 143 человек, русских – 120 человек (из них 54 человека проживает в школе-интернате г. Таштагол Кемеровской области (КО), 28 человек проживает в с. Красное Ленинск-Кузнецкого района и 38 – в с. Пача Яшкинского района Кемеровской области).

Все обследованные доноры не имели хронических заболеваний в стадии обострения. На каждого обследуемого ребенка был оформлен протокол информированного согласия, подписанный родителями либо лицами, осуществляющими опеку несовершеннолетних.

Для выполнения молекулярно-генетических исследований забирали венозную кровь на антикоагулянте (0,25 мМ ЭДТА-Na), с последующим получением лейкоцези. Выделение ДНК из этого биологического материала проводили методом фенол-хлороформной экстракции [6]. Образцы ДНК растворяли в 10 мМ Tris/1 EDTA, pH 8.0 и хранили при -20°C .

Для типирования полиморфизмов генов использовали коммерческую тест-систему «SNP-express» (НПФ «Литех», г. Москва). ПЦР проводили на амплификаторе «Герцик» (НПФ «ДНК-Технология», Россия) по программе, рекомендованной производителем набора.

Аmplифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в горизонтальном 3%-ном агарозном геле. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе.

Статистический анализ первичных данных осуществляли средствами STATISTICA for WINDOWS v.8.0. Оценку достоверности различий в распределении полиморфных вариантов проводили стандартным методом χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Оценку соответствия распределений полиморфных вариантов равновесию Харди–Вайнберга осуществляли с использованием доступного интернет-ресурса: <http://www.genes.org.uk/software/hardy-weinberg.shtml>.

Результаты и обсуждение

В изученных выборках детей распределения частот аллелей и генотипов изученных полиморфных маркеров не имели отклонений от равновесия Харди–Вайнберга. Полученные значения частот аллелей и генотипов у шорцев и русских представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Полиморфизм генов эксцизионной репарации оснований ДНК у шорцев и русских

Генотип	Русские n (%)	Шорцы n (%)
<i>XRCCI Arg194Trp</i>		
<i>Arg/ Arg</i>	120 (84,51)	103 (85,83)
<i>Arg /Trp</i>	22 (15,49)	16 (13,33)
<i>Trp / Trp</i>	0	1 (0,83)
<i>XRCCI Arg280His</i>		
<i>Arg / Arg</i>	123 (86,01)	97 (85,09)
<i>Arg / His</i>	20 (13,00)	17 (14,91)
<i>His / His</i>	0	0
<i>XRCCI Arg399Gln</i>		
<i>Arg / Arg</i>	49 (44,95)	69 (53,49)
<i>Arg / Gln</i>	44 (40,37)	52 (40,31)
<i>Gln/ Gln</i>	16 (14,68)	8 (6,20)
<i>hOGGI Ser326Cys</i>		
<i>Ser/Ser</i>	56 (56,57)*	37 (27,61)
<i>Ser/Cys</i>	37 (37,37)*	73 (54,48)
<i>Cys/Cys</i>	6 (6,06)*	24 (17,91)

<i>ADPRT Val762Ala</i>		
<i>Val/Val</i>	40 (28,37)*	60 (53,57)
<i>Val/Ala</i>	71 (50,35)	44 (39,29)
<i>Ala/Ala</i>	30 (21,28)*	8 (7,14)

* $p < 0.05$.

При сравнении представителей коренного (шорцы) и пришлого (русские) населения КО были выявлены статистически значимые отличия в распределении генотипов гена *hOGG1*: *Ser/Ser* ($\chi^2=18,71$; $p=0,00001$), *Ser/Cys* ($\chi^2 =6,01$; $p=0,01$), *Cys/Cys* ($\chi^2=19,58$; $p=0,00001$) и генотипов *ADPRT Val/Val* ($\chi^2 =15,55$; $p=0,0001$) и *Ala/Ala* ($\chi^2=8,69$; $p=0,003$). Аллель *hOGG1 Cys* в 1,8 раза чаще встречается в группе шорцев, чем в группе русских ($\chi^2=19,58$; $p=0,00001$). Аллель *ADPRT Ala* в группе шорцев встречался в 1,7 раза чаще, чем в группе русских ($\chi^2=19,72$; $p=0,00001$). Отличий в распределении генотипов и аллелей гена *XRCC1* в группах шорцев и русских выявлено не было.

Сравнение представленных в таблице результатов с данными литературы позволило выявить некоторые особенности. Для большинства исследованных маркеров выявлено сходство распределения генотипов у шорцев и монголоидов, у русских и представителей белой расы – европеоидов. Однако у этого общего правила наблюдались и некоторые исключения.

Было установлено, что у русских КО повышена частота минорного аллеля *His* гена *XRCC1 Arg280His* (7,5%), тогда как в группе, например, жителей Норвегии она составила 4,0% [10], у белых США – 4,4% [7]. Кроме того, в группе русских КО повышена частота минорного аллеля *Ala* гена *ADPRT* – 7,14%, тогда как в группах европеоидов США, Мексики, Нидерландов она составила 2,80%; 1,63% и 2,2% соответственно [1; 3; 4].

В группе шорцев оказалась снижена частота встречаемости минорного аллеля *Trp* гена *XRCC1 Arg194Trp* (7,7%), тогда как в группах, например, китайцев и жителей Тайваня она составила 28,8% и 24,5% соответственно [2].

Заключение

Для выявления генетических маркеров риска развития мультифакториальных заболеваний или маркеров повышенной чувствительности организма к тем или иным неблагоприятным факторам (токсикантам, радиации, инфекционным агентам и пр.) необходимо опираться на точную информацию о популяционных частотах генотипов выбранных маркеров. В данной работе представлен один из первых этапов оценки популяционных частот генотипов генов репарации у жителей Кемеровской области.

Получены «ориентировочные» (пока малый объем выборок не позволяет делать окончательное заключение) оценки популяционных частот генотипов генов эксцизионной репарации оснований ДНК в группах детей коренного (шорцы) и пришлого населения (русские) Кемеровской области. Выявлены этноспецифические особенности в распределении генотипов. У шорцев наблюдалась повышенная по сравнению с русскими частота встречаемости минорных аллелей hOGG1 Cys и ADPRT Ala, кодирующих ферменты со сниженной функциональной активностью.

Работа поддержана государственным контрактом ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» № 16.512.11.2062; грантом РФФИ, 10-04-00497-а.

Список литературы

1. Emonts M., Hazes M., Houwing-Duistermaat J.J. et al. Polymorphisms in genes controlling inflammation and tissue repair in rheumatoid arthritis: a case control study // BMC Medical Genetics. – 2011. – V. 12. – P. 36–45.
2. Kiffmeyer W.R., Langer E., Davies S.M. et al. Genetic Polymorphisms in the Hmong Population // Cancer. – 2004. – V. 100. – № 2. – P. 411–417.
3. Li C., Liu Z., Wang Li-E. et al. Genetic variants of the ADPRT, XRCC1 and APE1 genes and risk of cutaneous melanoma // Carcinogenesis. – 2006. – V. 27. – № 9. – P. 1894–1901.
4. Lockett K.L., Hall M.C., Xu J.S. et al. The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function // Cancer research. – 2004. – V. 64. – P. 6344–6348.
5. Rodriguez S., Gaunt T.R., Day I. N.M. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Ascertainment for Mendelian Randomization Studies // American Journal of Biological Epidemiology. – 2009. – DOI 10.1093/aje/kwn359.
6. Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual // Cold Spring Harbor Laboratory Press. – Cold Spring Harbor, 1989.
7. Stern M.C., Umbach D.M., Lunn R. M. et al. DNA Repair Gene XRCC1 Polymorphisms, Smoking, and Bladder Cancer Risk // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2001. – V. 10. – P. 125–131.
8. Thompson L.H., West M.G. XRCC1 keeps DNA from getting stranded // Mutat. Res. – 2000. – P. 1–18.
9. Wood R.D., Mitchell M., Lindahl T. Human DNA repair genes // Mutat. Res. – 2005. – V. 577. – P. 275–283.

10. Zienolddiny S., Campa D., Lind H. et al. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer// Carcinogenesis. – 2006. – V. 27. – № 3. – P. 560–567.

Рецензенты:

Начева Л.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой Общей биологии с основами генетики и паразитологии, ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития РФ, г. Кемерово.

Маюрникова Л.А., д.т.н., профессор, зав. кафедрой Технологии и организации общественного питания ГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности» Министерства образования и науки РФ, г. Кемерово.

Работа получена 11.10.2011