

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

ЕРМАКОВИЧ

Донат Павлович

**ПОИСК И АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ LMNA У
ПАЦИЕНТОВ С ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ**

Аннотация

к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
доцент Н.Г. Даниленко

Минск, 2017

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 71 с., 24 рис., 18 табл., 60 источников.

Ключевые слова: ген LMNA; ДКМП; секвенирование по Сэнгеру и секвенирование нового поколения; биоинформатика.

Объект исследования: пациенты с идиопатической формой дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) с фенотипическими маркерами ламиновых аномалий: нарушения сердечного ритма и проводимости.

Цель: провести поиск мутаций в гене LMNA у пациентов с ДКМП типа 1А.

Методы исследования: выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, электрофорез в агарозном геле, секвенирование по Сэнгеру, секвенирование нового поколения (NGS). Методы биоинформатической обработки данных были проведены с помощью online-сервисов (Human Splicing Finder, Jpred4, Align-GVGD, Condel) и дополнительного программного обеспечения на платформе Linux (Trimmomatic, Bowtie2, Samtools, Bcftools).

ДКМП типа 1А – заболевание миокарда, характеризующееся растяжением левого желудочка без увеличения его толщины и возникновением систолической дисфункции. Мутации в гене ламина А/С (LMNA) вызывают развитие аутосомно-доминантной формы ДКМП 1А. Ламины А/С участвуют в регуляции формы ядра, экспрессии генов и клеточного цикла.

Поиск мутаций в гене LMNA у 155 пациентов с ДКМП был выполнен методом прямого секвенирования. Из 12 активно транскрибируемых экзонов были проанализированы 7 экзонов: 1, 3, 4, 5, 8, 9, 10. Методом NGS был выполнен поиск мутаций в гене LMNA у 21 пациента.

Были обнаружены 5 различных мутаций у пяти неродственных пациентов, которые приводят к заменам аминокислотных остатков на уровне белка и с большой вероятностью отвечают за развитие ДКМП – Arg189Trp - rs267607626, Arg190Pro - rs267607571, Arg249Gly – rs121912496, Trp520Arg – rs267607557, Thr528Arg – rs57629361. Кроме того, у 82 человек обнаружено 18 однонуклеотидных замен, патогенная роль которых представляется маловероятной.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 71 с., 24 мал., 18 табл., 60 крыніц.

Ключавыя словы: ген LMNA; ДКМП; секвеніраванне па Сэнгеру і секвеніраванне новага пакалення; біяінфарматыка.

Аб'ект даследавання: пацыенты з ідыяпатычнай формай дылатацыйнай кардыяміяпатыі (ДКМП) з фенатыпічнымі маркерамі ламінавых анамалій: парушэнне сардэчнага рытму і праводнасці.

Мэта: правесці пошук мутацый у гене LMNA у пацыентаў з ДКМП, тып 1А.

Метады даследавання: вылучэнне ДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, электрофарэз у агарозным гелі, секвеніраванне па Сэнгеру, секвеніраванне новага пакалення (NGS). Метады біяінфарматычнай апрацоўкі дадзеных былі праведзены з дапамогай online-сэрвісаў (Human Splicing Finder, Jpred4, Align-GVGD, Condel) і дадатковага праграмнага забеспячэння на платформе Linux (Trimmomatic, Bowtie2, Samtools, Bcftools).

ДКМП тыпа 1А - захворванне міякарда, якое характарызуецца расцяжэннем левага жалудачка без павялічэння яго таўшчыні і ўзнікненнем сісталічнай дысфункцыі. Мутацыі ў гене ламіна А/С (LMNA) выклікаюць развіццё аўтасомна-дамінантнай формы ДКМП 1А. Ламіны А/С удзельнічаюць у рэгуляцыі формы ядра, экспрэсіі генаў і клеткавага цыклу.

Пошук мутацый у гене LMNA у 155 пацыентаў з ДКМП быў выкананы метадам прамога секвеніравання. З 12 актыўна транскрыбіруемых экзонаў былі прааналізаваныя 7 экзонаў: 1, 3, 4, 5, 8, 9, 10. Метадам NGS быў выкананы пошук мутацый у гене LMNA у 21 пацыента.

Былі выяўлены 5 розных мутацый у пяці няроднасных пацыентаў, якія прыводзяць да замены амінакіслотных астаткаў на ўзроўні бялку і з вялікай верагоднасцю адказваюць за развіццё ДКМП - Arg189Trp - rs267607626, Arg190Pro - rs267607571, Arg249Gly - rs121912496, Trp520Arg - rs267607557, Thr528Arg - rs57629361. Акрамя таго, у 82 чалавек выяўлена 18 аднануклеатідных замен, патагенная роля якіх уяўляецца малаверагоднай.

ABSTRACT

Graduate work 71 p., 24 pict., 18 tabl., 60 references.

Key words: LMNA gene; DCM; Sanger sequencing and next generation sequencing; bioinformatics.

The object of research: patients with an idiopathic form of dilated cardiomyopathy (DCM) with phenotypic markers of lamin anomalies: conduction system disease and/or arrhythmias.

The aim of work: to search for mutations in the LMNA gene in patients with DCM, type 1A.

Methods of investigation: DNA isolation, polymerase chain reaction, agarose gel electrophoresis, Sanger sequencing, next generation sequencing (NGS). Bioinformatic data processing was carried out using online services (Human Splicing Finder, Jpred4, Align-GVGD, Condel) and additional software on the operating system Linux (Trimmomatic, Bowtie2, Samtools, Bcftools).

DCM type 1A is a myocardial disease that is characterized by enlargement of the left ventricle without thickening of the cardiac walls and the occurrence of systolic dysfunction. Mutations in the lamin A/C gene (LMNA) cause the development of an autosomal-dominant form of DCM 1A. Lamins A/C are involved in the regulation of the shape of the nucleus, the expression of genes, and the cell cycle.

The search for mutations in the LMNA gene in 155 patients with DCM was performed by Sanger sequencing. Of the 12 transcribed exons, 7 exons were analyzed: 1, 3, 4, 5, 8, 9, 10. NGS was used to search for mutations in the LMNA gene in 21 patients.

Five different mutations were found in five unrelated patients. The mutations lead to change of the amino acid residues in the protein and are most likely responsible for the development of DCM - Arg189Trp – rs267607626, Arg190Pro – rs267607571, Arg249Gly – rs121912496, Trp520Arg – rs267607557, Thr528Arg – rs57629361. In addition, 18 single nucleotide replacements were found in 82 individuals. Their pathogenic role is unlikely.