

МЕТОДИКА ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ ГЕНА CDH1 МЕТОДОМ SNP-АНАЛИЗА

Е.В. Узлова

*Гродненский государственный университет им. Янки Купалы,
Гродно, Беларусь
uzlovaliza@gmail.com*

Причиной предрасположенности к раку желудка с высоким риском является ряд генов, основные из которых – CDH1, MLH1 и MSH2. Специфическим геном-супрессором семейной формы рака желудка считается ген CDH1, поскольку его соматические мутации приводят к потере контроля над ростом клетки [1]. SNP-анализ является самым точным методом обнаружения SNPs и мутаций и даёт возможность их выявления на самых ранних стадиях опухолевой прогрессии [2, 3].

Адаптацию методики SNP-анализа по гену CDH1 проводили на базе УО «Гродненский Государственный Аграрный Университет» в отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий». Исследованы образцы ткани пациентов I-II степени родства, один из которых – онкобольной, на предмет наличия мутации гена CDH1.

Экспериментальным путем подобрали количество реагентов, составляющих ПЦР-смесь. Подобраны температурные и временные параметры проведения ПЦР. Для каждого из SNPsCDH1 использовали 2 праймера – прямой и обратный. Прямое секвенирование проводили с использованием ABIBigDye[®] Terminatorv3.1 CycleSequencingKit. Анализ был осуществлён с использованием 3500 GeneticAnalyzer (AppliedBiosystems). Обработку результатов проводили с помощью SequencingAnalysisSoftwarev6.0.

Таким образом, была адаптирована методика для выявления мутации в гене CDH1 методом SNP-анализа. Подобраны олигонуклеотиды, реакционная смесь и реагенты для проведения качественного анализа ПЦР гена CDH1, подготовлены протоколы для дальнейшего секвенирования на генетическом анализаторе ABIPrism 3500. Молекулярно-генетический анализ материала выявил наличие клинически значимой мутаций в «критических» районах гена CDH1.

1. Wang H.D. CDH1 germline mutation in hereditary gastric carcinoma /H.D. Wang, J. Ren, L. Zhang // World Gastroenterology. – 2004. – Vol. 10, No 2. – P. 3088–3093.
2. Doublex sequencing in molecular diagnosis of hereditary diseases / J. Plaschke [et al.] // BioTechniques. – 1998. – Vol. 24. – P. 838–841.
3. Loss of E-cadherin expression in early gastric cancer / P. Blok [et al.] // Histopathology. – 1999. – Vol. 34, No 5. – P. 410–5.

METHODOLOGY OF IDENTIFYING CDH1 GENE MUTATIONS WITH SNP-ANALYSIS

L.V. Uzlova

Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

uzlovaliza@gmail.com

The amount of reagents for PCR-mixture picked up by experimental way. PCR temperature and time modes were selected. Two oligonucleotide primers – direct and reverse – were used for every CDH1 SNPs. Direct sequencing was performed with ABI BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. Analysis was carried out on 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The results were processed with Sequencing Analysis Software v6.0.

Methodology of identifying with SPN-analysis was adapted for CDH1 gene mutations. Oligonucleotides, reaction mixture and reagents were selected for qualitative PCR analysis of CDH1. Sequencing protocols were prepared for the following sequencing with ABI Prism 3500. Molecular genetic analysis of the material revealed clinically important mutations in «critical regions» of CDH1.

Field of application: medical science (oncology).

АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ РЕСТРИКЦИИ АМПЛИФИЦИРОВАННЫХ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОВ *CRN1* И *CRN2* В РАЗЛИЧНЫХ ИЗОЛЯТАХ *RHYTORH* *THORAINFESTANS*

А.И. Царь, А.М. Ходосовская

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

fryctori@mail.ru

Выявление генов эффекторных белков фитопатогенов и расшифровка их функций является задачей так называемой «эффекторной биологии» –