

Беловой, О.Н. Щепетовой – М.: АОЗТ «АНТИ-ДОР». 1998.

*Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке гранта РГНФ, 2003,*

*№ 1419 и гранта 2003 года министерства образования РФ, и администрации Белгородской области на проведение молодыми учеными научных исследований. № ГМ 12-03.*

## ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИН ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА У РУССКИХ И УКРАИНЦЕВ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

*Песик В.Ю., Рудых Н.А., Чурносов М.И., Балановская Е.В., Костоглодова И.Н.*

Белгородский государственный университет  
Медико-генетический научный центр РАМН

Проблемы сравнительного анализа популяций и реконструирование на этой основе их истории и взаимоотношений, представляющих глян историю человечества, являются вечными и самоценными. Изучение генофонда населения Центрального Черноземья, процессов его исторического формирования и влияния на здоровье населения является особенно актуальными и перспективными, т.к. аутосомный ДНК-полиморфизм южных популяций России мало изучен, а эти данные имеют важное значение при рассмотрении структуры генофонда населения Российской Федерации.

Одним из видов монолокусного полиморфизма ДНК является диаллельный инсерционно-делеционный полиморфизм. В качестве такого маркера можно использовать ген ангиотензин-превращающего фермента. Известно, что ангиотензин превращающий фермент (АСЕ) занимает центральное место в регуляции гемодинамики и поддержании сосудистого тонуса и тем самым участвует в регуляции уровня артериального давления. Этот фермент превращает прогормон ангиотензин I в ангиотензин II (белок, обладающий сосудосуживающим действием и регулирующий рост гладкомышечных клеток сосудов и кардиомиоцитов). АСЕ также способен инактивировать брадикинин [1].

Ген АСЕ расположен на хромосоме 17q23, состоит из 26 экзонов общей длиной 4,3 тпн и кодирует белок из 1306 аминокислотных остатков, включая сигнальный пептид из 29 аминокислот. В интроне 16 гена находится участок, полиморфизм ко-

торого обусловлен наличием или отсутствием (соответственно, инсерцией (от "insertion"-I) или делецией (от "deletion"-D)) участка длиной 287 пар нуклеотидов в так называемом Alu-повторе [1].

Целью настоящей работы было изучение инсерционно-делеционного полиморфизма гена АСЕ у 380 коренных жителей Белгородской области. Из них 285 индивидуумов русской национальности, проживающих в Прохоровском и Красненском районах (138 и 147 соответственно), и 95 коренных украинцев, жителей Красногвардейского и Грайворонского районов (46 и 49 соответственно). Материалом для исследования послужили образцы венозной крови, собранные в экспедиционном обследовании в 2000-2001 годах. Образцы крови для выборки были взяты у неродственных лиц, рожденных на данной территории, родители которых относятся к русскому или украинскому этносу. Кроме того, учитывались места рождения всех бабушек и дедушек индивидуума. Такой подход к формированию выборки, позволяет избежать случайных влияний миграционного потока и учесть в выборке только наиболее устойчивые миграции, генетический след которых сохранился в популяции по прошествии двух поколений. Именно такая выборка даст наиболее полное представление о распределении аллелей локуса АСЕ среди жителей нашего региона.

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции, описанному Mathew (1985 г). Анализ локуса АСЕ проводили методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с

использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров [2]:

После денатурации (5 мин при 95°C) выполняли 33 цикла амплификации по схеме:

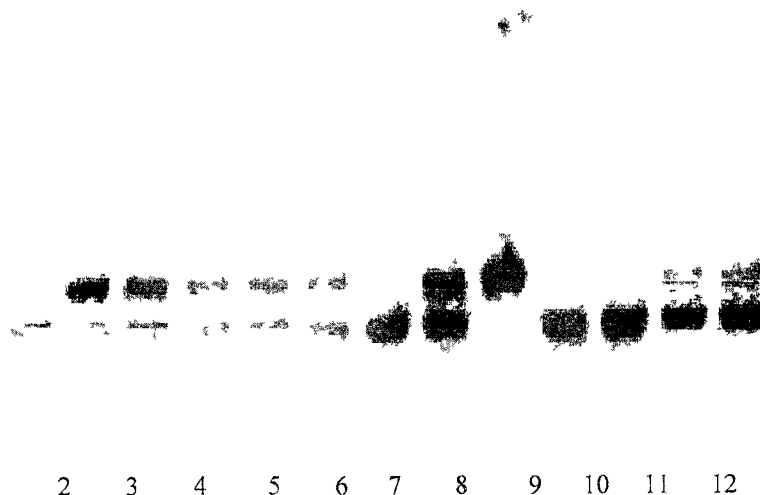
денатурация – 40 сек при 94°C;

огжиг праймеров – 40 сек при 57°C;

элонгация – 30 сек при 72°C.

Затем пробы выдерживали 6 мин при 72°C и охлаждали. Продукты амплифика-

ции анализировали в 2%-ном агарозном геле, окрашивали бромистым этидием и идентифицировали в УФ-свете. При анализе амплифицируемых фрагментов применяли следующую номенклатуру аллелей гена ACE: аллель I (490 пн) – наличие (инсерция) Alu-повтора, аллель D (190 пн) – его отсутствие (делеция).



Электрофоретическое разделение продуктов амплификации локуса ACE гена ангиотензин-превращающего фермента. 1,7, 10, 11 – гомозигота 190/190 пн (D/D); 9 – гомозигота 490/490 пн (I/I); 2-6, 12, 13 – гетерозигота 490/190 пн (I/D).

Математическая обработка полученных результатов проводилась общепринятыми статистическими методами. Распределение генотипов, оценки соответствия равновесию Харди-Вайнберга и частоты аллелей локуса ACE в обследованных популяциях приведены в таблице 1.

Вариабельность аллельных частот рассматриваемого генетического маркера сопоставима с изменчивостью частот, наблюдаемой в ранее изученных европеоидных и азиатских популяциях [3]. Распределение в трех исследованных популяциях соответствовало ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга. В популяции Красненского района наблюдалось отклонение от ожидаемого распределения Харди-Вайнберга. Отклонение распределения от ожидаемого может отражать особенности популяционно-генетических процессов в этом регионе.

При оценке аллельного полиморфизма выявлено преобладание аллеля I у русских Красненского района, у русских Прохоровского района частоты аллелей I и D оказа-

лись одинаковыми. В обеих популяциях украинцев частота аллеля D преобладала. Максимальная частота аллеля D наблюдалась в популяции Грайворонского района (0,5816), а минимальная в популяции Красненского района (0,4558).

Обращает на себя внимание преобладание аллеля I и генотипа I/I в популяции русских Красненского района. Частота аллеля I была равна 0,5442, а доля генотипа I/I – 35,37%. Однако частота аллеля I (0,4184) и доля генотипа I/I (12,24%) в популяции украинцев Грайворонского района были одними из самых низких по сравнению со всеми исследованными популяциями.

Таким образом, сравнительный анализ характера полиморфизма гена ACE в популяциях Белгородской области позволил установить популяционные особенности распределения основных показателей данной полиморфной системы в исследуемом регионе и выявить определенные тенденции изменения частот аллелей и генотипов гена ACE в зависимости от этнической принадлежности популяции.

Работа частично финансировалась грантами РФФИ (№ 01-06-80085), РГНФ (№ 01-06-00146), РГНФ(№ 03-06-00409г/ц),

«Конкурса молодых ученых Министерства образования России и администрации Белгородской области».

Таблица

**Распределение генотипов, оценки соответствия равновесию Харди-Вайнберга и частоты аллелей по исследуемым популяциям**

Район	N	Генотипы			Частоты аллелей		$\chi^2$
		II	ID	DD	I	D	
Прохоровский	138	23,91%	52,18%	23,91%	0,5000	0,5000	0,2609 p>0,05
Красненский	147	35,37%	38,1%	26,53%	0,5442	0,4558	7,9182 p<0.01
Красногвардейский	46	26,09%	43,48%	30,43%	0,4793	0,5217	0,7630 p>0,05
Грайворонский	49	12,24%	59,18%	28,58%	0,4184	0,5816	2,2890 p>0,05

#### Литература

1. Foy C., McCormak L., Knouler W. et al. The angiotensin-1 converting enzyme (ACE) gene I/D polymorphism and ACE levels in Pima Indians //Med. Genet. 1996. V. 33. P. 336-337.

2. Спиридонова М.Г., Степанов В.А., Пузырев В.П., Карпов Р.С. Анализ генных ком-

плексов подверженности к коронарному атеросклерозу // Генетика. 2002. Т. 38. №3. С. 383-392.

3. Лимборская С.А., Хуснутдинова Э.К., Балановская Е.В. Этногеномика и геогеография народов Восточной Европы. – М.:Наука, 2002.-261с.

### **РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ДЕЛЕЦИИ 32 ПН В ГЕНЕ РЕЦЕПТОРА ХЕМОКИНОВ CCR5 СРЕДИ СЕЛЬСКОГО НАСЕЛЕНИЯ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Рудых Н.А., Песик В.Ю., Чурносоев М.И., Балановская Е.В., Костоглодова И.Н.**

Белгородский государственный университет,  
Медико-генетический научный центр РАМН

В настоящее время резко возрос интерес к изучению русского генофонда. В предшествующие годы основное внимание уделялось изучению малых народов (изолятов Сибири, Кавказа и др.). К настоящему времени получена обширная информация о вариабельности ядерной ДНК в популяциях человека, однако изученность этого аспекта генетики в популяциях России явно недостаточна. Полиморфизм ДНК как генетический маркер обладает рядом полезных качеств и методических удобств. Во-первых, его использование решает проблему ограниченности числа генетических маркеров,

во-вторых, возможность изучения полиморфизма практически в любом участке любого гена являются явным преимуществом молекулярно-генетических маркеров.

Примером диаллельного полиморфизма ДНК может служить инсерционно - делеционный полиморфизм в гене рецептора хемокинов CCR5. У ВИЧ-1 инфицированных больных с медленным прогрессированием заболевания в этом гене была обнаружена делеция 32 пн в области, кодирующей вторую внеклеточную петлю CCR5-рецептора[1]. Показано, что данная мутация ( $\Delta$ CCR5) блокирует процесс проникно-