

**Патогенный вариант сплайсинга в гене *PALB2* при анемии Фанкони,
выявленный с помощью экспрессионного анализа**

Научный руководитель – Скоблов Михаил Юрьевич

Вяхирева Юлия Владимировна

Аспирант

Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

E-mail: yuliya-vyakhireva@yandex.ru

Введение. Анемия Фанкони - редкое тяжелое аутосомно-рецессивное заболевание системы репарации, проявляющееся поражением кроветворной системы, еще одними из тяжелых осложнений являются онкологические новообразования. Выделяют 12 групп комплементарности, отличающиеся друг от друга по тяжести фенотипических проявлений, причиной и типом наследования. Выделяют формы с аутосомно-рецессивным типом наследования (большинство) и более редкие X-сцепленные. Одна из наиболее тяжелых форм заболевания вызывается мутациями в гене *PALB2*. Это онкосупрессор, принимающий участие в молекулярных механизмах репарации ДНК, а именно - принимает участие в правильной локализации белка BRCA2. Большинство описанных патогенных вариантов приводят к сдвигу рамки считывания или образованию стоп-кодона, и могут быть локализованы в любой части гена.

Материалы и методы. Анализ структуры мРНК гена *PALB2* в крови отца пробанда проводился с помощью метода ОТ-ПЦР с последующим секвенированием изоформ, отличных от изоформ дикого типа (по сравнению с контролем). РНК для анализа выделялась методом стандартной фенол-хлороформной экстракции. Для поиска вариантов на уровне ДНК проводился ПЦР с праймерами, специфичными к фланкирующим интронным областям экзона 11. Анализ полученных продуктов проводился методом секвенирования по Сенгеру. Анализ влияния варианта на сплайсинг в системе *in vitro* был проведен с помощью системы *minigene*. Клетки линии НЕК293Т в количестве 50 000 на лунку были трансфецированы плазмидами, содержащими участок ДНК с 11 экзон с прилегающими интронными областями гена *PALB2* дикого типа или с изучаемым вариантом. Далее, из трансфецированных клеток выделялась РНК методом фенол-хлороформной экстракции и проводился анализ структуры образующихся химерных транскриптов проводился методом ОТ-ПЦР с секвенированием.

Результаты. Семья с единственным ребенком, больным анемией Фанкони. Ребенок умер в возрасте 4г. 10 мес. от медуллобластомы. Поиск причин заболевания у ребенка проводился методами MLPA (анализ делеций/дупликаций генов *FANCA*, *FANCB*, *FANCD2*, *PALB2*, *RAD50*, *RAD51*) и МПС экзона. Была найдена ранее описанная мутация в гене *PALB2* с.172_175delTTGT, унаследованная от матери. Для поиска второй мутации, унаследованной от отца, был проведен анализ структуры мРНК гена *PALB2*. В ходе анализа была обнаружена РНК, не включающая в себя 11 экзон и отсутствовавшая в контрольных образцах. В результате поиска мутаций на ДНК была найдена делеция 6 нуклеотидов в 10 интроне (NC_000016.9: g. 23625423delAAAAATA). Биоинформатический анализ выявил влияние этого варианта на консенсусный сайт сплайсинга. Для верификации эффекта был проведен анализ влияния делеции на сплайсинг в системе *in vitro*, подтвердивший эффект пропуска экзона.

Выводы. Таким образом, анализ структуры мРНК с последующим функциональным анализом найденного варианта позволил верифицировать причину развития анемия Фан-

кони у ребенка, что позволит в будущем семье провести профилактику заболевания с помощью пренатальной диагностики или ВРТ с ПГТ.