

Разработка тест-системы молекулярной диагностики мутаций гена TGM1 при ламеллярном ихтиозе для ПГТ-М

Научный руководитель – Гигани Ольга Олеговна

Муретова Василиса Данииловна

Студент (бакалавр)

Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Медицинский факультет, Москва, Россия
E-mail: muretovav@gmail.com

Разработка тест-системы молекулярной диагностики мутаций гена TGM1 при ламеллярном ихтиозе для ПГТ-М

Руководитель-Гигани Ольга Олеговна

Российский Университет Дружбы Народов.

Медицинский институт. Кафедра биологии и общей генетики, Москва, Россия

Ламеллярный ихтиоз (ЛИ) – редкое аутосомно-рецессивное заболевание кожи, связанное с нарушением процесса кератинизации. По данным литературы, приблизительно в 55% случаев ЛИ вызван мутациями в гене TGM1, кодирующем фермент трансглутаминазу 1, необходимый для формирования рогового слоя эпидермиса [1, 2]. Разработка надежных методов молекулярной диагностики для семей с отягощенным анамнезом является актуальной задачей медицинской генетики, особенно в контексте проведения преимплантационного генетического тестирования моногенных заболеваний (ПГТ-М) в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

Целью исследования являлась разработка и валидация тест-системы для детекции наследования патогенных вариантов в гене TGM1, выявленных в конкретной семье с ЛИ.

Объектом исследования являлась семья с ребенком с врожденным ЛИ. По результатам полноэкзомного секвенирования у пробанда выявлены два гетерозиготных варианта в гене TGM1: ранее описанный патогенный вариант c.1135G>C (p.Val379Leu) и ранее не описанный вероятно патогенный вариант c.352del (p.Leu118Ter). Для данной семьи была разработана комбинированная система прямой и косвенной ДНК-диагностики для последующего применения в ПГТ-М.

Для прямой детекции варианта c.1135G>C был разработан метод ПЦР-ПДРФ. Для косвенной диагностики (гаплотипирования) обоих вариантов была разработана панель из 12 STR-маркеров.

Валидация тест-системы была выполнена на образцах ДНК членов семьи. ПЦР-ПДРФ-анализ подтвердил наличие материнского варианта c.1135G>C у пробанда. Фрагментный анализ 12 STR-локусов позволил установить гаплотипы, сцепленные с патогенными вариантами в семье. Разработанная тест-система была использована для ПГТ-М трех эмбрионов. Установлено, что эмбрион №1 унаследовал оба патогенных варианта и не рекомендован к переносу; эмбрион №2 является носителем материнского варианта c.1135G>C; а эмбрион №3 – носителем отцовского варианта c.352del; оба эмбриона могут быть рекомендованы для переноса. У эмбриона №2 выявлена рекомбинация между локусом D14S3502 и геном TGM1, что было учтено при интерпретации результатов гаплотипирования.

Таким образом, разработанная комбинированная тест-система, включающая методы прямой и косвенной детекции патогенных вариантов гена TGM1, продемонстрировала эффективность при проведении ПГТ-М. Предложенный подход может быть использован при медико-генетическом консультировании семей с мутациями в гене TGM1 и способствует повышению точности молекулярной диагностики наследственного ламеллярного ихтиоза.

Источники и литература

1) Almazroea A., Ijaz A., Aziz A. et al. Identification and In Silico Analysis of a Homozygous Nonsense Variant in TGM1 Gene Segregating with Congenital Ichthyosis in a Consanguineous Family // Medicina (Kaunas). 2023. Vol. 59, № 1. P. 103.

2) Sercia L., Romano O., Marini G. et al. A cellular disease model toward gene therapy of TGM1-dependent lamellar ichthyosis // Molecular Therapy. Methods & Clinical Development. 2024. Vol. 32. P. 101311.