

ДИАГНОСТИКА МУТАЦИЙ В ГЕНЕ CYP21A2



© Е.С. Подшивалова*, Е.А. Ветчинкина, Т.В. Погода, М.В. Уткина

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

АКТУАЛЬНОСТЬ. Популяционные исследования клинических случаев предполагают наличие ассоциаций между ВДКН и развитием опухолей надпочечников [1]. Дефицит 21-гидроксилазы, опосредованный наличием мутаций в гене *CYP21A2*, является причиной развития врожденной дистрофии коры надпочечников (ВДКН) в 90–95% случаев. Ген *CYP21A2* расположен внутри *RCCX* локуса на коротком плече 6-й хромосомы, содержащего более чем в 65% случаев псевдоген *CYP21A2*. Из-за гомологии между геном и псевдогеном около 96–98% сложность при анализе мутаций в гене *CYP21A2* существенно возрастает. Высокая достоверность результатов генетического анализа является важнейшим фактором для диагностики и терапии патологических состояний, ассоциированных с геном *CYP21A2*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. С помощью метода ПЦР, с использованием набора LongAmp Taq PCR Kit, NEB амплифицировали участок 6179 bp (NC_000006.12), включающий в себя целевой полный ген *CYP21A2*, с праймеров *CYP749f* (AGGTGCTCTGGTGGCTAAAGG) и *Tena36F2* (AGGCGCTCGCTATGAGGTGAC). ПЦР-продукт очищали согласно инструкции производителя с применением магнитных частиц AMPure XP (Beckman Coulter). Очищенный ПЦР-продукт использовали для постановки сиквенсовой реакции и ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Сиквенсовую реакцию проводили с помощью BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit с 8 внутренними праймерами, универсальных для гена *CYP21A2* и псевдогена *CYP21A2P*, перекрывающих кодирующие области гена *CYP21A2*. ПЦР-РВ использовали для детекции 9 частых мутаций (rs9378251, rs6475, rs6471, rs6445, rs7755898, rs7769409, rs12530380, rs1554299737, rs6476) с помощью собственной разработанной тест-системы на основе технологии TaqMan-зондов и 5x qPCRmix-HS (Евроген).

РЕЗУЛЬТАТЫ. Благодаря универсальности праймера *CYP749f*, расположенного в 5'-области перед геном *CYP21A2* и псевдогеном *CYP21A2P*, и специфичности праймера *Tena36F2*, расположенного в 35 экзоне гена *TNXB*, в ходе ПЦР амплифицируется только участок локуса *RCCX*, предположительно содержащий транскрибируемую версию гена *CYP21A2*. При этом для анализа доступны химерные варианты с крупными делециями между геном и псевдогеном. Достоверность анализа 10 групп сибсов подтверждена методом секвенирования по Сэнгеру. Результаты, полученные методом ПЦР-РВ с использованием TaqMan-зондов на 84 образцах, согласуются с данными, полученными методом секвенирования по Сэнгеру в 100% случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Разработанные методики секвенирования по Сэнгеру и ПЦР-РВ с применением TaqMan-зондов позволяют обнаруживать мутации в транскрибируемых вариантах гена *CYP21A2* как в норме, так и в случаях конверсий между геном и псевдогеном, либо в случаях крупных делеций с образованием химерных вариантов. Ограничением методик является неспособность детектировать аллели с крупными делециями, затрагивающими область отжига праймеров *CYP749f* или *Tena36F2*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *CYP21A2*; секвенирование по Сэнгеру; ПЦР-РВ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Sahlander F, et al. Congenital adrenal hyperplasia in patients with adrenal tumors: a population-based case-control study. *J Endocrinol Invest* 46, 559–565 (2023). doi: <https://doi.org/10.1007/s40618-022-01933-0>

ЦИТИРОВАТЬ:

Подшивалова Е.С., Ветчинкина Е.А., Погода Т.В., Уткина М.В. Диагностика мутаций в гене *CYP21A2* // *Эндокринная хирургия*. — 2023 — Т. 17 — №4. — С. 80. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12902>

TO CITE THIS ABSTRACT:

Podshivalova ES, Vetchinkina EA, Pogoda TV, Utkina MV. Diagnosis of mutations in the *CYP21A2* gene. *Endocrine surgery*. 2023;17(4):80. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12902>

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

