

УДК: 577.213

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *XRCC1* У ДЕТЕЙ КОРЕННОГО И ПРИШЛОГО НАСЕЛЕНИЯ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2011 А.А. Тимофеева^{1,2}, В.И. Минина^{1,2}, В.Г. Дружинин^{1,2}, А.В. Ларионов¹¹ Кемеровский государственный университет² Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово

Поступила в редакцию 16.09.2011

Проведено исследование полиморфизмов гена *XRCC1Arg194Trp*, *Arg280His* и *Arg399Gln* в двух этнических группах Кемеровской области (шорцы, русские). Частоты встречаемости минорных аллелей His и Gln гена *XRCC1* соответствуют данным, полученным для монголоидов, и согласуются с данными, полученными для группы русских Кемеровской области. Частота встречаемости минорного аллеля *Trp* гена *XRCC1Arg194Trp* в группе шорцев меньше значений, характерных для монголоидов (в различных популяциях мира) и сопоставима с частотой встречаемости этого аллеля в группе русских Кемеровской области.

Ключевые слова: *генетический полиморфизм, шорцы, русские*

В настоящее время динамично развиваются молекулярно-генетические методы, позволяющие выявить этнические различия на молекулярном уровне. Индивидуальный набор полиморфных вариантов генов способен оказывать существенное влияние на адаптационные возможности организма. В этой связи активно изучается вклад генов репарации ДНК в формирование индивидуальной чувствительности генома к повреждающим мутагенным воздействиям. В настоящее время известно более 150 генов, принимающих участие в различных путях репарации [14].

Считается, что большинство поврежденных ДНК удаляется белками эксцизионной репарации оснований (base excision repair, BER). Одним из генов, кодирующих ферменты BER, является ген *XRCC1*. *XRCC1* (x-ray cross-complementing group 1) относится к регуляторным белкам репарации, не имеет ферментативной активности, но осуществляет координационную функцию. *XRCC1* взаимодействует с поли-АДФ полимеразой, ДНК-лигазой 3, ДНК-полимеразой β , *APE1* [12]. В ряде исследований установлена связь полиморфизма гена *XRCC1* с увеличением чувствительности к мутагенам, которое проявляется, в том числе в

увеличении хроматидных aberrаций и сестринских хроматидных обменов [11, 12]. К числу наиболее изученных полиморфизмов гена *XRCC1* относятся: *XRCC1 Arg194Trp*, *XRCC1 Arg280His*, *XRCC1 Arg399Gln*. Замена *XRCC1 Arg194Trp* располагается в гидрофобном регионе белка, между доменом, взаимодействующим с ДНК-полимеразой β и ADPRT-взаимодействующим доменом [9]. Имеются данные о повышении риска раковых заболеваний у носителей фенотипа дикого типа *XRCC1 Arg194Arg* [2, 3]. В ряде исследований была также выявлена связь полиморфизмов гена *XRCC1 Arg280His* и *XRCC1 Arg 399Gln* с увеличением риска возникновения онкологических заболеваний у носителей мутантных аллелей. Особый интерес приобретает изучение полиморфных генетических маркеров у жителей экологически неблагоприятных регионов, т.к. остаётся неясной причина межэтнических отличий процессов адаптации у коренного и пришлого населения при условии однотипной нагрузки.

Цель исследования: анализ полиморфизма генотипов гена репарации ДНК *XRCC1* у представителей коренного (шорцы) и пришлого населения (русские) Кемеровской области.

Материалы и методы. Исследуемая выборка включала 263 человека (123 мальчика и 140 девочек, средний возраст $12,81 \pm 0,18$ лет). Среди них: шорцев – 143 человек, русских – 120 человек (из них 54 человека проживает в школе-интернате г. Таштагол Кемеровской

Тимофеева Анна Александровна, аспирантка. E-mail: coldunica@mail.ru

Минина Варвара Ивановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики, старший научный сотрудник. E-mail: vminina@mail.ru

Дружинин Владимир Геннадьевич, доктор биологических наук, заведующий кафедрой генетики. E-mail: druzhinin_vladim@mail.ru

Ларионов Алексей Викторович, аспирант

области, 28 человек проживает с. Красное Ленинск-Кузнецкого района и 38 в с. Пача Яшкинского района Кемеровской области).

Для выполнения молекулярно-генетических исследований забирали венозную кровь на антикоагулянте (0,25 мМ ЭДТА-Na), с последующим получением лейкоцези. Выделение ДНК из этого биологического материала проводили методом фенол-хлороформной экстракции [8]. Образцы ДНК растворяли в 10 мМ Tris/1 EDTA, pH 8,0 и хранили при -20°C. Для типирования полиморфизмов в гене *XRCC1*: *Arg194Trp*, *XRCC1 Arg280His*, *XRCC1 Arg399Gln* использовали коммерческую тест-систему «SNP-express» (НПФ «Литех», г.Москва). ПЦР проводили на амплификаторе ТЕРЦИК (НПФ «ДНК-Технология», Россия) по программе, рекомендованной производителем набора. Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в горизонтальном 3% агарозном геле. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия и визуализировали в

проходящем ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе. Статистический анализ первичных данных осуществляли средствами STATISTICA for WINDOWS v.8.0. Оценку достоверности различий в распределении полиморфных вариантов проводили стандартным методом χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Оценку соответствия распределений полиморфных вариантов равновесию Харди-Вайнберга осуществляли с использованием доступного интернет-ресурса: <http://www.genes.org.uk/software/hardy-weinberg.shtml> [7].

Результаты и обсуждение. В изученных выборках детей распределения частот аллелей и генотипов изученных полиморфных маркеров не имели отклонений от равновесия Харди-Вайнберга. Полученные в результате проведенного исследования значения частот аллелей и генотипов у шорцев и русских в сравнении с данными литературы представлены в таблицах 1, 2 и 3.

Таблица 1. Полиморфизм гена *XRCC1 Arg194Trp* в различных этнических группах

Объем вы-борки	Генотип n (%)			Частота минорно-го аллеля q (Trp)	Группа
	Arg/ Arg	Arg /Trp	Trp / Trp		
N=142	120 (84,51) ^b	22 (15,49) ^{ad}	0 ^c	0,077	шорцы КО [СД]
N=120	103 (85,83) ^c	16 (13,33) ^f	1 (0,83)	0,075	русские КО [СД]
N=405	368 (90,86)	35 (8,64)	2 (0,49)	0,048	европеоиды (Норвегия) [14]
N=315	275 (87,30)	40 (13,70)	0	0,063	европеоиды (Италия) [5]
N=524	259 (49,40)	228 (43,50)	37 (7,10)	0,288	монголоиды (Тайвань) [4]
N=102	57 (55,88)	40 (39,22)	5(4,90)	0,245	монголоиды (Китай) [4]

Примечание: здесь и далее: КО – Кемеровская область; СД – собственные данные; ^ap<0,0001($\chi^2=36,22$) отличие частоты встречаемости гетерозигот в группе шорцев от частоты встречаемости гетерозигот в группе монголоидов (Тайвань); ^bp<0,0001($\chi^2=54,64$) отличие частоты встречаемости гомозигот по аллелю дикого типа в группе шорцев от частоты встречаемости в группе монголоидов (Тайвань); ^cp<0,05 ($\chi^2=9,31$), отличие частоты встречаемости генотипа *XRCC1 Trp194Trp* в группе шорцев от частоты встречаемости данного генотипа в группе монголоидов (Тайвань); ^dp<0,05 ($\chi^2=4,58$) отличие частоты встречаемости гетерозигот в группе шорцев от частоты встречаемости гетерозигот в группе европеоидов (Норвегия); ^ep<0,0001 ($\chi^2=51,11$) отличие частоты встречаемости генотипа *XRCC1 Arg194Arg* в группе европеоидов КО от частоты встречаемости данного генотипа в группе монголоидов; ^fp<0,0001 ($\chi^2=36,51$), отличие частоты встречаемости гетерозигот в группе европеоидов КО от частоты встречаемости гетерозигот в группе монголоидов

Частоты генотипов гена *XRCC1 Arg194Trp* в группе шорцев не согласуются с данными, полученными для монголоидов (например, китайцев и жителей Тайваня). У шорцев снижена частота встречаемости минорного аллеля *Trp* (7,7%), тогда как в группах сравнения она составила 28,8% и 24,5%. Распределение частот встречаемости генотипов гена

XRCC1 Arg194Trp в группе русских сопоставимы с данными, полученными для представителей белой расы (европеоиды). При сравнении представителей коренного (шорцы) и пришлого (русские) населения Кемеровской области не было выявлено статистически значимых отличий в распределении частот встречаемости генотипов гена *XRCC1 Arg194Trp*.

Таблица 2. Полиморфизм гена *XRCC1 Arg280His* в различных этнических группах

Объем вы-борки	Генотип (%)			Частота минорно-го аллеля	Популяция
	Arg / Arg	Arg / His	His / His	q (His)	
N=143	123 (86,01) ^a	20 (13,00) ^b	0	0,070	шорцы КО [СД]
N=114	97 (85,09) ^c	17 (14,91) ^d	0	0,075	русские КО [СД]
N=377	350 (92,84)	24(6,37)	3(0,80)	0,040	европеоиды (Норвегия) [14]
N=479	406 (84,80)	70 (14,60)	3(0,60)	0,079	европеоиды (Финляндия) [6]
N=195	180 (92,31)	13(6,67)	2(1,03)	0,044	европеоиды (США) [10]
N=120	95(79,20)	23 (19,20)	2(1,60)	0,113	монголоиды (Тайвань) [4]
N=172	137 (79,70)	35 (20,30)	0	0,102	монголоиды (Корея) [4]

Примечание: ^ap<0,05 ($\chi^2=5,07$), отличие частоты встречаемости генотипа *XRCC1 Arg280Arg* в группе шорцев от частоты встречаемости данного генотипа в группе европеоидов (Норвегия); ^bp<0,01 ($\chi^2=6,82$), отличие частоты встречаемости гетерозигот в группе шорцев от частоты встречаемости гетерозигот в группе европеоидов Норвегии и США; ^cp<0,05 ($\chi^2=5,53$), отличие частоты встречаемости генотипа *XRCC1 Arg280Arg* в группе европеоидов КО от частоты встречаемости данного генотипа в группе европеоидов (Норвегия); ^dp<0,05 отличие частоты встречаемости гетерозигот в группе русских КО от частоты встречаемости гетерозигот в группе европеоидов (Норвегия, США)

Распределение частот генотипов гена *XRCC1 Arg280His* в группе русских КО отличается от данных по частотам генотипов, полученных для групп европеоидов Норвегии и США. У русских КО повышена частота минорного аллеля His (7,5%), а в группах сравнения она составила 4,0% и 4,4%. В группе шорцев КО наблюдается сходство распределения генотипов гена *XRCC1 Arg280His* с группой

корейцев, жителями Тайваня и статистически значимое отличие от распределений в группах европеоидов Норвегии и США. При сравнении представителей коренного и пришлого населения Кемеровской области не было выявлено статистически значимых отличий в распределении частот встречаемости генотипов гена *XRCC1 Arg280His*.

Таблица 3. Полиморфизм гена *XRCC1 Arg399Gln* в различных этнических группах

Объем выборки	Генотип (%)			Частота минорно-го аллеля	Популяция
	Arg / Arg	Arg / Gln	Gln/ Gln	q (Gln)	
N=129	69 (53,49) ^{ac}	52 (40,31)	8 (6,20) ^b	0,264	шорцы КО [СД]
N=109	49 (44,95)	44 (40,37)	16 (14,68)	0,275	русские КО [СД]
N=391	151 (38,62)	186 (47,57)	54 (13,81)	0,376	европеоиды (Норвегия) [14]
N=248	100 (40,32)	115 (46,37)	33 (13,31)	0,365	европеоиды (Ирландия) [1]
N=524	279 (53,20)	196 (37,40)	49 (9,40)	0,281	монголоиды (Тайвань) [4]

Примечание: ^ap<0,01 ($\chi^2=8,19$), отличие частоты встречаемости генотипа *XRCC1 Arg399Arg* в группе шорцев от частоты встречаемости данного генотипа в группе европеоидов (Норвегия); ^bp<0,05 ($\chi^2=4,65$), отличие частоты встречаемости генотипа *XRCC1 Gln399Gln* в группе шорцев от частоты встречаемости данного генотипа в группе европеоидов (Норвегия); ^cp <0,05 ($\chi^2=5,43$), отличие частоты встречаемости генотипа *XRCC1 Arg399Arg* в группе шорцев от частоты встречаемости данного генотипа в группе европеоидов (Ирландия)

Выводы: частоты генотипов гена *XRCC1 Arg399Gln* в группе шорцев согласуются с данными, полученными для монголоидов (например, жителей Тайваня) и статистически значимо отличаются от распределений в группах европеоидов Норвегии и Ирландии. Распределение частот встречаемости генотипов гена *XRCC1 Arg399Gln* в группе русских сопоставимы с данными, полученными для европеоидов Норвегии и Ирландии, а также согла-

суются с данными, полученными для монголоидов. При сравнении групп шорцев и русских КО статистически значимых отличий в распределении частот генотипов гена *XRCC1 Arg399Gln* выявлено не было.

Работа поддержана государственным контрактом ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» № 16.512.11.2062; грантом РФФИ, 10-04-00497-а

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Ferguson, H.R.* No Association between hOGG1, XRCC1, and XPD polymorphisms and risk of reflux esophagitis, barrett's esophagus, or esophageal adenocarcinoma: results from the factors influencing the barrett's adenocarcinoma relationship case-control study / *H.R. Ferguson, C.P. Wild, L.A. Anderson et al.* // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008. V. 17 (3). P. 736-739
2. *Goode, E.L.* Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk / *E.L. Goode, C.M. Ulrich, J.D. Potter* // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2002. V. 11. P. 1513-1530.
3. *Hu, J.J.* Symposium overview: genetic polymorphisms in DNA repair and cancer risk / *J.J. Hu, Y.W. Mohrenweiser, D.A. Bell et al.* // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2002. V. 185. P. 64-73.
4. *Kiffmeyer, W.R.* Genetic Polymorphisms in the Hmong Population / *W.R. Kiffmeyer, E. Langer, S.M. Davies et al.* // *Cancer.* 2004. V. 100, №2. P. 411-417.
5. *Matullo, G.* Polymorphisms / Haplotypes in DNA Repair Genes and Smoking: A Bladder Cancer Case-Control Study / *G. Matullo, S. Guarrera, C. Sacerdote et al.* // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005. V. 14 (11). P. 2569-2578.
6. *Metsola, K.* XRCC1 and XPD genetic polymorphisms, smoking and breastcancer risk in a Finnish case-control study / *K. Metsola, V. Kataja, P. Sillanpaa et al.* // *Breast Cancer Research.* 2005. V. 7. P. 987-997.
7. *Rodriguez, S.* Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Ascertainment for Mendelian Randomization Studies / *S. Rodriguez, T.R. Gaunt, I.N.M. Day* / *American Journal of Biological Epidemiology.* 2009. DOI 10.1093/aje/kwn359.
8. *Sambrook, J.* Molecular cloning: a laboratory manual (Third edition) / *J. Sambrook, D.W. Russell* // Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001. V.1. Chapter 6. P. 237-245.
9. *Shen, M.R.* Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans / *M.R. Shen, I.M. Jones, H. Mohrenweiser* // *Cancer Res.* 1998. V. 58. P. 604-608.
10. *Stern, M.C.* DNA Repair Gene XRCC1 Polymorphisms, Smoking, and Bladder Cancer Risk / *M.C. Stern, D.M. Umbach, R.M. Lunn et al.* // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001. V. 10. P. 125-131.
11. *Tebbs, R.S.* Requirement for the Xrcc1 DNA base excision repair gene during early mouse development / *R.S. Tebbs, M.L. Flannery, J.J. Meneses et al.* // *Dev. Biol.* 1999. V. 208. P. 513-529.
12. *Thompson, L.H.* XRCC1 keeps DNA from getting stranded / *L.H. Thompson, M.G. West* // *Mutat. Res.* 2000. P. 1-18.
13. *Wood, R.D.* Human DNA repair genes / *R.D. Wood, M. Mitchell, T. Lindahl* // *Mutat. Res.* 2005. V. 577. P. 275-283.
14. *Zienolddiny, S.* Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer / *S. Zienolddiny, D. Campa, H. Lind et al.* // *Carcinogenesis.* 2006. V. 27. №. 3. P. 560-567.

**MOLECULAR-GENETIC ANALYSIS OF GENE XRCC1
POLYMORPHISMS AT CHILDREN OF NATIVE AND
ALIEN POPULATION IN KEMEROVO OBLAST**

© 2011 A.A. Timofeeva^{1,2}, V.I. Minina^{1,2}, V.G. Druzhinin^{1,2}, A.V. Larionov¹

¹ Kemerovo State University

² Institutes of Human Ecology SB RAS, Kemerovo

Analyses of gene polymorphisms *XRCC1Arg194Trp*, *Arg280His* и *Arg399Gln* in two ethnic groups of Kemerovo oblast (shorts, Russians). Frequencies of occurrence minor alleles His and Gln gene XRCC1 correspond to the data received for Mongoloids, and will be coordinated with the data received for group of Russians in Kemerovo oblast. Frequency of occurrence minor allele Trp gene XRCC1Arg194Trp in shorts group is less than values, characteristic for Mongoloids (in various populations of the world) also is comparable to frequency of occurrence of it allele in group of Russians in Kemerovo oblast.

Key words: *genetic polymorphism, shorts, Russians*

Anna Timofeeva, Post-graduate Student. E-mail: coldunica@mail.ru
Varvara Minina, Candisate of Biology, Associate Professor at the Genetic Department, Senior Research Fellow. E-mail: vminina@mail.ru
Vladimir Druzhinin, Doctor of Biology, Head of the Genetic Department. E-mail: druzhinin_vladim@mail.ru
Aleksey Larionov, Post-graduate Student