

Поиск функциональных некодирующих полиморфизмов в локусе 17q12-21 человека, ассоциированных с аутоиммунными заболеваниями

Научный руководитель – Купраш Дмитрий Владимирович

Устюгова Алина Сергеевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия

E-mail: ustugovaalina@yandex.ru

Полногеномный поиск ассоциаций (Genome-Wide Association Study, GWAS) [4] позволяет выявить однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphisms, SNP), ассоциированные с риском возникновения аутоиммунных заболеваний [1]. Однако молекулярные механизмы, обуславливающие связь определенной вариации с повышенным риском заболевания, в большинстве случаев остаются неизвестными.

В данной работе мы отобрали 6 некодирующих SNP в локусе 17q12-21 человека, которые с наибольшей вероятностью являются функциональными, то есть напрямую включены в механизмы, определяющие риск развития аутоиммунных заболеваний. При их выборе мы использовали алгоритм PICS (Probabilistic Identification of Causal SNPs) [2], который позволяет вычислить относительную вероятность каждого SNP быть истинно функциональным среди группы сцепленных полиморфизмов, найденных в ходе GWAS. По эпигенетическим данным проекта ENCODE 2 [3] для первичных иммунных клеток человека мы определили вероятные границы энхансеров, в которых находятся данные SNP, и клонировали их в плазмиду pGL3.

С помощью люциферазного теста мы исследовали влияние аллельных вариантов данных полиморфизмов на работу предполагаемых энхансеров в нескольких лимфоцитарных клеточных линиях (MP1 - модель зрелых В-клеток, MT-2 - модель регуляторных Т-клеток и U937 - моноцитарная клеточная линия). Кроме того, мы оценили влияние аллельного варианта полиморфизма rs12946510, ассоциированного с повышенным риском рассеянного склероза, на связывание транскрипционного фактора MEF2C (различие в силе ДНК-белкового взаимодействия различных вариантов этого полиморфизма с MEF2C было предсказано с помощью программы PERFECTOS-APR [5] при использовании баз данных HOCOMOCS и JASPAR).

В ходе работы было показано, что потенциальные энхансеры, содержащие исследуемые SNP, не проявляют активности в моноцитарной клеточной линии. Однако в клеточной линии зрелых В-клеток и регуляторных Т-клеток риск-аллель полиморфизма rs12946510 понижал активность энхансера более чем в 1,5 раза. Похожие результаты показали полиморфизмы rs2313430 и rs8067378 на модели регуляторных Т-клеток.

Таким образом, мы обнаружили, что наличие риск-аллелей rs12946510, rs2313430 и rs8067378 оказывает влияние на активность соответствующих энхансеров в лимфоидных клетках, подтвердив функциональность трех из шести исследованных полиморфизмов. В дальнейшем мы планируем внести в геном клеточных линий альтернативные аллели данных SNP с помощью системы CRISPR/Cas, что позволит определить гены-мишени этих регуляторных SNP.

Источники и литература

- 1) Yuta Kochi. Genetics of autoimmune diseases: perspectives from genome-wide association studies // Int Immunol. 2016; 28(4): 155–161.

- 2) Farh KK et al. Genetic and epigenetic fine mapping of causal autoimmune disease variants. Nature. 2015; 518(7539):337-43.
- 3) ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. Nature. 2012; 489(7414):57-74.
- 4) GWAS: <http://www.ebi.ac.uk/gwas/>
- 5) PERFECTOS-APE: <http://opera.autosome.ru/perfectosape/>