

количество клеток на одно наблюдение. Одновременно оценка ИРЧ донора, на лимфоцитах крови которого построены СКК для различных цитогенетических показателей (клеток с абберациями хромосом, суммы аббераций хромосом, дицентрических хромосом), предоставляет возможность получить СКК с учетом его генетических и физиологических особенностей.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНАЛИЗА КРИВЫХ ПЛАВЛЕНИЯ С ВЫСОКОЙ РАЗРЕШАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ (HRM) ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *TP53*

Е.В. ДЕНИСОВ, Н.В. ЛИТВЯКОВ, Е.М. СЛОНИМСКАЯ, Н.В. ЧЕРДЫНЦЕВА

*НИИ онкологии СО РАМН, г.Томск*

Анализ кривых плавления с высокой разрешающей способностью (High Resolution Melting, HRM) представляет собой простую и высокоэффективную технологию для выполнения задач генотипирования и скрининга мутаций. Данный метод имеет ряд преимуществ перед существующими аналогами, прежде всего выражающихся в высокой чувствительности/специфичности (до 100%) и возможности совмещения полимеразной реакции с самим этапом детекции мутаций. Принцип метода основан на дифференциации образцов ДНК, несущих потенциальные мутации, по форме или сдвигу кривых плавления (Montgomery J. et al., 2007).

В текущей работе HRM анализ был применен для скрининга мутаций в 8-м экзоне гена-онкосупрессора *TP53*. В качестве материала исследования использовали ДНК, выделенную из 11 клеточных линий с известным статусом гена *TP53* (wild type (wt) и мутации): A-172 (wt), A431 (C817T), BT-20 (wt), C33A (C817T), HCT-15 (wt), MDA-MB-231 (G839A), MDA-MB-435 (G797A), NCI-H23 (wt), OVCAR-3 (wt), SK-MEL-28 (wt), T47D (wt), а также образцы опухолевой ДНК от больных раком молочной железы (n=5), предварительно проанализированные на мутации *TP53* методом SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism, анализ полиморфизма конформаций одноцепочечных

Таким образом, новый способ реконструкции дозы облучения по хромосомным абберациям с использованием модели сплайновой регрессии и одновременном учете ИР человека объективизирует степень лучевого поражения и может иметь значение при формировании групп повышенного риска развития радиогенного рака.

фрагментов). Праймеры к 8-му экзону были подобраны с расчетом отсутствия в их составе вторичных структур (димеров, палиндромов) и повторов. Анализ кривых плавления проводили на приборе Rotor Gene 6000 (Corbett Research). В качестве флуоресцентного красителя использовали EvaGreen (Biotium).

В результате проведенного анализа кривых плавления нами были подтверждены все *TP53* мутации, характерные для вышеуказанных клеточных линий. Из пяти образцов опухолевой ДНК больных раком молочной железы только в четырех случаях была подтверждена мутация гена *TP53*. Учитывая высокую детекционную способность HRM анализа, можно утверждать, что пятая проба была ошибочно отмечена в SSCP анализе (чувствительность 80-90%) как мутантная.

Таким образом, представленная в данной работе технология анализа кривых плавления с высокой степенью разрешения (HRM) является простым и высокочувствительным методом скрининга мутаций, использовать который можно и в клинической диагностике.

Авторы выражают огромную благодарность профессору Петру Михайловичу Чумакову (Научно-исследовательский институт Лернера, Кливленд, США) за предоставленные клеточные линии.