

Современные методы в изучении множественной экзостозной хондродисплазии: массовое параллельное секвенирование и AlphaFold в анализе EХТ1

Научный руководитель – Николаев Анатолий Николаевич

Лебедь Д.Н.¹, Жожиков Л.Р.², Яковлева А.Е.³

1 - Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Медицинский институт, Кафедра Госпитальная терапия, профессиональные болезни и клиническая фармакология, Якутск, Россия, *E-mail: pearlday37@gmail.com*; 2 - Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Медицинский институт, Кафедра Неврология и психиатрия, Якутск, Россия, *E-mail: jlr10@mail.ru*; 3 - Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Институт естественных наук, Кафедра Биология, Якутск, Россия, *E-mail: alexerem2013@gmail.com*

Множественная экзостозная хондродисплазия (МЭХД) – это аутосомно-доминантное заболевание, обусловленное вариантами в *EХТ1* и *EХТ2*. Заболевание характеризуется доброкачественными костными новообразованиями на скелете человека <https://www.zotero.org/google-docs/?nwАОКА>. Белки *EХТ1* и *EХТ2* являются гликозилтрансферазами, участвующими в полимеризации гепарансульфата. Они локализируются в ЭР и аппарате Гольджи <https://www.zotero.org/google-docs/?jxhJKL>. Комплекс *EХТ1*/*EХТ2* является фактором каскада сигналов для физиологической регуляции хондроцитов.

Цель: Выявление патогенных вариантов ассоциированных с МЭХД в якутской популяции. Анализ связи патогенного варианта с сайтами связывания белкового комплекса *EХТ1*/*EХТ2*.

Пациенты и методы: Выборка пациентов с МЭХД проводилась из Медико-генетического регистра г. Якутска. Методы массового параллельного секвенирования и метод Сенгера были использованы для выявления патогенных вариантов. В исследовании применяется AlphaFold для моделирования структуры белков и MEGA11 для множественного выравнивания.

Результаты: В семье №1 у пробанда экзостозы разных размеров и деформаций, вызвавшие инвалидность, как у матери и двоюродного брата (рисунок 1.А). В семье №2 у пациента экзостозы на рёбрах, плечевой кости, в области колен, бедренных и большеберцовых костях (рисунок 1.В). Таргетное секвенирование 4800 генов-кандидатов с дальнейшей валидацией методом Сэнгера было проведено в обеих семьях. Обнаружен вариант с.1019G>А (р.Arg340His) в гене *EХТ1* у 4 пациентов из двух неродственных якутских семей (рисунок С). Множественное выравнивание *EХТ1* указывает на консервативность аргинина в позиции 340 (Рисунок 1.Д). С целью оценки важности аргинина в позиции 340 на белке *EХТ1* был сгенерирован комплекс *EХТ1*/*EХТ2* с помощью AlphaFold (Рисунок 1.Е). Тепловая карта расстояний аминокислот в комплексе показывает, что на 340 позицию приходится как минимум два предсказанных сайта контакта *EХТ1* с *EХТ2* (Рисунок 1.Ф).

Заключение: Нами идентифицирован вариант с.1019G>А р. Arg340His гена *EХТ1* в якутской популяции, ассоциированный с МЭХД. По данным моделирования данный участок представляет собой один из сайтов контакта комплекса *EХТ1*/*EХТ2*, нарушение работы которого может лежать в основе патогенеза МЭХД.

Источники и литература

- 1) Jennes I. [и др.]. Multiple osteochondromas: mutation update and description of the multiple osteochondromas mutation database (MOdb) // Human Mutation. 2009

2) 2. Leisico F. [и др.]. Structure of the human heparan sulfate polymerase complex EXT1-EXT2 // Nature Communications. 2022

Иллюстрации

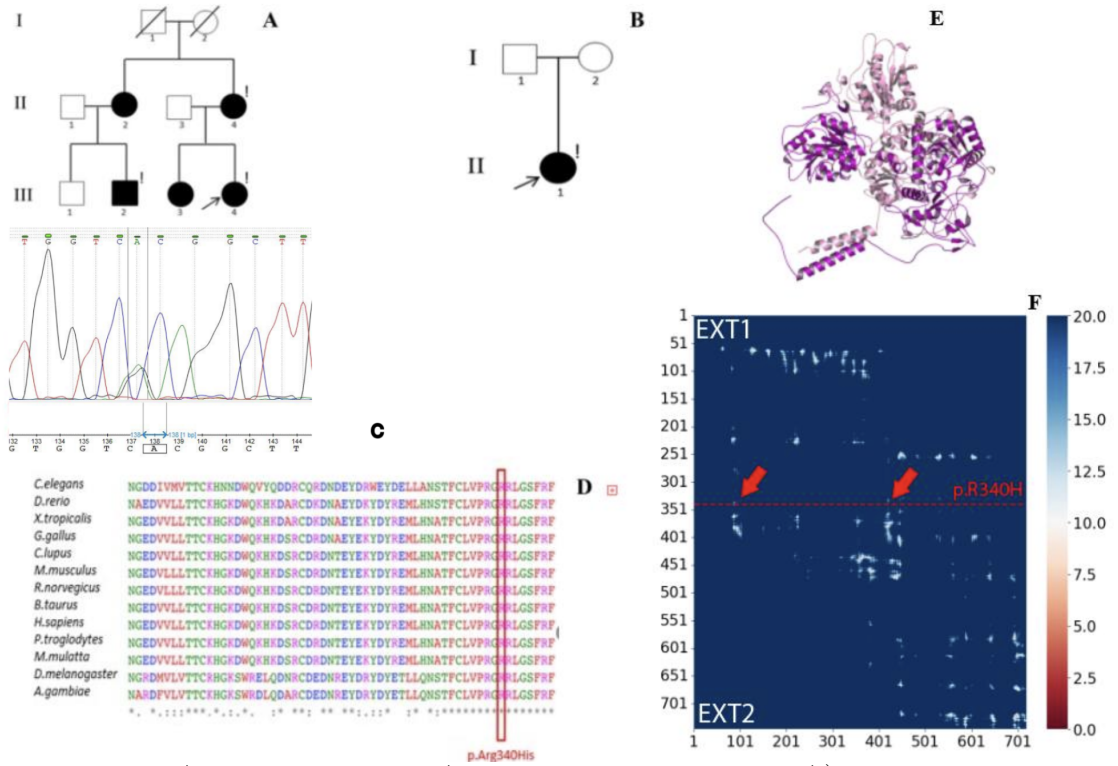


Рис. : Рисунок 1. Анализ варианта Arg340His в гене EXT1. А) Родословная семьи №1. В) Родословная семьи №2. С) Хроматограмма с обозначением причинного варианта. D) Результаты множественного выравнивания EXT1. Е) Трехмерная модель комплекса EXT1/EXT2. F) Тепловая карта расстояний аминокислотных остатков EXT1 и EXT2 в комплексе. Красными стрелками указаны точки контакта 340 аргинина EXT1 с EXT2.