

СТРАТЕГИЯ ВЫБОРА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ИЗ GWAS ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ "СЛУЧАЙ–КОНТРОЛЬ" И ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗРАБОТКИ ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМ НА ПРИМЕРЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ПРЕЭКЛАМПСИИ

Карпова Н.С., Дмитренко О.П.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия; nataliiakarpova.sp@gmail.com

Для выявления полиморфизмов, связанных с риском преэклампсии, был использован системный подход на основе данных GWAS (Genome-Wide Association Studies). Поиск ассоциированных вариантов проводился по запросам “preeclampsia - EFO_0000668” и “hypertension, pregnancy-induced - MONDO_0024664” в базе GWAS-catalog (версия 2023), что позволило сформировать список релевантных полиморфизмов. Все варианты, ассоциированные с “preeclampsia”, также входили в перечень “hypertension, pregnancy-induced”. Данные были экспортированы в формате “.tsv” [Sollis и др., 2023]. Для каждого полиморфизма учитывались число независимых ассоциаций с преэклампсией, p-value, популяция, платформа секвенирования и PUBMEDID. Локализация вариантов определялась с помощью баз Ensembl и UCSC Genome Browser (дата доступа: 07.07.2024). Основным критерием отбора для исследований «случай–контроль» была частота альтернативной аллели (minor allele frequency, MAF) в целевой популяции. Для оценки распространённости MAF всех вариантов использовалась база dbSNP с частотами для общей и европейской популяций [Sherry и др., 2001]. Также из dbSNP бралась информация о числе публикаций по каждому варианту (дата доступа: 07.07.2024). Все данные соответствуют сборке генома человека GRCh38.p14.

Анализ фланкирующих областей полиморфизмов позволил оценить возможность разработки ПЦР-тестов для каждого варианта. В приоритете были TaqMan ПЦР-тесты, а при невозможности их создания применяли альтернативные методы - RFLP-анализ и секвенирование по Сэнгеру. Для разработки ПЦР тест-систем использовался дизайн специфических праймеров, компьютерная валидация тест-систем, оптимизация условий амплификации (температурные режимы, концентрации реагентов). В результате были разработаны ПЦР тест-системы для 37 генетических вариантов.

Исследование выполнено в рамках гос. задания FGFU-2025-0007 и при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2024-108-05».

STRATEGY FOR SELECTING GENETIC VARIANTS FROM GWAS FOR CASE–CONTROL STUDIES AND KEY STAGES OF PCR TEST SYSTEM DEVELOPMENT USING THE EXAMPLE OF GENETIC PREDISPOSITION TO PREECLAMPSIA

Karpova N.S., Dmitrenko O.P.

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia, nataliakarpova.sp@gmail.com

A systematic approach based on GWAS (Genome-Wide Association Studies) data was used to identify polymorphisms associated with the risk of preeclampsia. Associated variants were searched for using the queries “preeclampsia - EFO_0000668” and “hypertension, pregnancy-induced - MONDO_0024664” in the GWAS-catalog database (version 2023), which allowed us to create a list of relevant polymorphisms. All variants associated with "preeclampsia" were also included in the “hypertension, pregnancy-induced” list. The data was exported in the format “.tsv” [Sollis et al., 2023]. For each polymorphism, the number of independent associations with preeclampsia, p-values, population, sequencing platform, and PUBMEDID were taken into account. Localization of variants was determined using the Ensembl and UCSC Genome Browser databases (access date: 07.07.2024). The main selection criterion for case–control studies was the minor allele frequency (MAF) in the target population. The dbSNP database with frequencies for the general and European populations was used to estimate the MAF prevalence of all variants (Sherry et al., 2001). Information about the number of publications for each variant (access date) was also taken from dbSNP.: 07.07.2024). All data correspond to the human genome assembly GRCh38. p14.

Analysis of the flanking regions of polymorphisms allowed us to evaluate the possibility of developing PCR tests for each variant. Priority was given to TaqMan PCR tests, and if they could not be created, alternative methods were used - RFLP analysis and Sanger sequencing. The design of specific primers, computer validation of test systems, and optimization of amplification conditions (temperature conditions, reagent concentrations) were used to develop PCR test systems. As a result, PCR test systems were developed for 37 genetic variants.

The study was carried out within the framework of the state task FGFU-2025-0007 and with the financial support of the Ugra Scientific and Technological Development Fund within the framework of the scientific project No. 2024-108-05"