

Скринінг мутацій гена ТРБМ методом електрофорезу в денатуруючому градієнтному гелі в осіб високого ризику муковісцидозу із Західного регіону України

Г. В. Макух, С. Кочева¹, Д. В. Заставна Ю. О. Корнієнко, О. З. Гнатейко

Інститут спадкової патології АМН України
Вул. Лисенка, 31а, Львів, 79000, Україна

¹ Центр генетичної інженерії та біотехнології Македонської академії наук
м. Скоп'є, Македонія

У статті представлено результати скринінгу 60 не-delF508-хромосом хворих з високим ризиком муковісцидозу (МВ) із Західного регіону України. Методом електрофорезу в денатуруючому градієнтному гелі проаналізовано екзони 11; 14b; 17b; 21; 9; 6a; 20; 14a; 15; 12; 3; 23; 8; 15; 18 гена ТРБМ на наявність можливих аберацій. В обстеженій групі виявлені мутації МВ зустрічаються з такою частотою: G542X (екзон 11) — 3,7 %; W1282X (екзон 20) — 3,4 %; N1303K (екзон 21) — 3,4 %. Окрім мутацій, детектовано окремі поліморфні варіанти гена, що можуть служити інформативними маркерами для допологової діагностики МВ.

Вступ. Правильне розуміння етіології, виявлення атипичних форм та проведення профілактики найпоширенішого аутосомно-рецесивного захворювання осіб європейсько-азіатської популяції муковісцидозу (МВ) стали можливими лише після запровадження для проведення його діагностики сучасних молекулярно-генетичних методів дослідження [1, 2]. Проведення пре- та постнатальної діагностики МВ можливе лише за умови детекції мутацій гена ТРБМ.

Велика кількість мутацій (900) та поліморфізмів (300) у межах гена ТРБМ (The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium, CFGAC: <http://genet.sickkids.on.ca>) і різна частота їхнього розповсюдження у різних популяціях та регіонах вимагають попередніх досліджень у кожній конкретній популяції чи етнічній групі для визначення найпоширеніших і, отже, найінформативніших мутацій, які є причиною МВ у цих групах [3, 4]. Рекомендації щодо стратегії проведення молекулярно-генетичного тестування МВ на основі частот

ТРБМ мутацій у конкретних популяціях є також сформульовані Європейською робочою групою з проблем МВ (ECCACF) [5]. Діагностика власне цих мутацій повинна здійснюватися після негативного результату детекції мажорної delF508 мутації. Такий підхід дозволяє зменшити фінансові та робочі витрати на проведення молекулярно-генетичної діагностики МВ, одночасно підвищуючи її ефективність. Метою даної роботи було встановити спектр найпоширеніших мутацій та поліморфізмів гена ТРБМ у хворих на МВ із Західного регіону України.

Група найрозповсюдженіших мутацій ТРБМ у Центральній та Східній Європі виглядає наступним чином (%): delF508 — 53,21; G542X — 2,11; N1303K — 1,6; CFTRdele2,3 (21 kb) — 1,3; 3849 + 10 kb C → T — 0,63; R553X — 0,60; 621 + 1 G → T — 0,59; W1282X — 0,53; 1677delTA — 0,44; G551D — 0,42; 1717 — 1G → A — 0,33. [6]. Проте кожна окремо взята популяція має свої відмінності у спектрі таких мутацій, і підходить до проведення молекулярно-генетичної діагностики МВ формуються відповідно до цього [6—8]. Вивчення приро-

© Г. В. МАКУХ, С. КОЧЕВА, Д. В. ЗАСТАВНА
Ю. О. КОРНІЄНКО, О. З. ГНАТЕЙКО, 2001

ди, походження та шляхів розповсюдження окремих мутацій гена ТРБМ загалом по Україні здійснено у роботах Лівшиць та співавт. [9—11].

Постійно зростаюче число виявлених мутацій у межах гена ТРБМ стає суттєвою перешкодою для проведення молекулярно-генетичної діагностики згаданої спадкової патології. У зв'язку з цим перспективними є ті методи, що дозволяють одночасно досліджувати багато різних мутацій.

Метод мультилокусної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та наступний аналіз продуктів шляхом електрофорезу у денатуруючому градієнтному гелі (DGGE) дозволяють проводити скринінг можливих мутацій одночасно у декількох екзонах гена.

Матеріали і методи. Матеріалом для проведення досліджень служили зразки ДНК, отримані з лейкоцитів периферичної крові дітей, хворих на МВ, та членів їхніх сімей, що проходили клінічне та медико-генетичне консультування в Інституті спадкової патології АМН України, Львівському міжобласному медико-генетичному центрі, Львівській обласній спеціалізованій клінічній лікарні, Івано-Франківському та Тернопільському медико-генетичному кабінетах.

Для формування груп пацієнтів, що підлягають молекулярно-генетичному обстеженню на МВ, проводили вимірювання концентрації хлоридів у поті за методом Гібсона та Кука. Пацієнти, у яких концентрація хлоридів поту була вищою за 40—50 мекв/л та спостерігалися клінічні прояви МВ, підлягали молекулярно-генетичній діагностиці гена ТРБМ.

Молекулярно-генетичне обстеження здійснювали у 100 сім'ях, де була дитина з клінічними ознаками МВ. На першому етапі наших досліджень аналізували 10-й екзон гена ТРБМ для виявлення найпоширенішої мутації ТРБМ — *delF508*, яку ідентифікували, як описано раніше [12]. Наступним етапом був скринінг мутацій гена ТРБМ методом DGGE. Досліджено 15 екзонів гена ТРБМ: 11; 14b; 17b; 21; 9; 6a; 20; 14a; 15; 12; 3; 23; 8; 15; 18. Для скринінгу мутацій ТРБМ методом DGGE було відібрано 60 алелей *ne-delF508*-хромосом 40 хворих на МВ. У сім'ях, де у пробанда були виявлені різного роду МВ мутації, члени даної родини також підлягали молекулярно-генетичній діагностиці.

Досліджувану ділянку ДНК ампліфікували за допомогою ПЛР. Застосовували мультилокусну ПЛР, у якій одночасно синтезувалися ділянки трьох екзонів гена ТРБМ. Для кожної групи екзонів проводили 40 циклів ПЛР із наступними параметрами: 1 хв — 95 °С; 1 хв — при температурі відпалу, оптимальній для кожної групи прай-

мерів; 2 хв — 72 °С [13]. Мультилокусну ПЛР здійснювали в автоматичному режимі на термоциклері «Perkin-Elmer-Cetus» 4800 та 2400 (США). Реакційна суміш містила три пари праймерів для кожної мультилокусної ПЛР із концентрацією кожного з них 0,2 мкМ. Використовували послідовності олігопраймерів та температуру відпалу, як описано [14]. Для позбавлення від синтезу неспецифічних продуктів застосовували методику «hot start»: ДНК денатурували при температурі 95 °С протягом 5 хв та додавали по 2 од. акт. термо-стабільної ДНК-полімерази. Наявність та специфічність продуктів ПЛР перевіряли шляхом горизонтального електрофорезу в 1,5 %-му агарозному гелі. Використовували маркери молекулярної маси DNA Molecular Weight Marker IX (72—1353 bp). Три фрагменти ДНК, синтезовані в одній ПЛР, аналізували електрофорезом на одній смужі у денатуруючому градієнтному (10—60 %) 8 %-му поліакриламідному гелі.

Для проведення DGGE-аналізу використовували DCode System («Bio-Rad», США). DGGE є методом, що застосовується для детекції точкових перебудов у певних ділянках ДНК. Молекула ДНК, яка містить точкові мутації, буде мати змінну рухливість у гелі та візуалізуватися в іншій точці, ніж нормальна ДНК. У DGGE денатуруюче середовище створюється комбінацією постійної температури (50—60 °С), сечовини та формаміду. ПЛР-продукт в об'ємі 10—20 мкл змішували з такою ж кількістю фарби для електрофорезу (0,5 %-й бромфенол, 0,5 %-й ксилолціанол); денатурували протягом 5 хв при температурі 95 °С та повільно охолоджували до кімнатної температури протягом 25 хв і наносили на гель. Електрофорез проводили при постійній температурі (60 °С) та напрузі 100 В протягом 14—18 год залежно від величини ампліфікованих фрагментів. Гелі фарбували бромистим етидієм та сканували на УФ-транслікуматорі.

Результати і обговорення. Першою проводили мультилокусну ПЛР для ампліфікації екзонів 11; 14b; 17b. Здійснювали 40 циклів ПЛР з наступними параметрами: 95 °С — 1 хв, 50 °С — 1 хв, 72 °С — 2 хв. У результаті утворюються три фрагменти величиною 266, 223 і 168 п. н. відповідно для екзонів 17b, 11 та 14b, які далі аналізували в 10—60 %-му DGGE (рис. 1). У межах екзону 11 ідентифіковано другу по частоті розповсюдження мутацію МВ — G542X (2,4 %) [8]. Окрім неї, в екзоні 11 детектовано мутації G551D та R553X, що мають вищі частоти поширення, та 27 мутацій, які описані в поодиноких випадках. На даний час відомо про 4 та 48 мутацій відповідно в екзонах

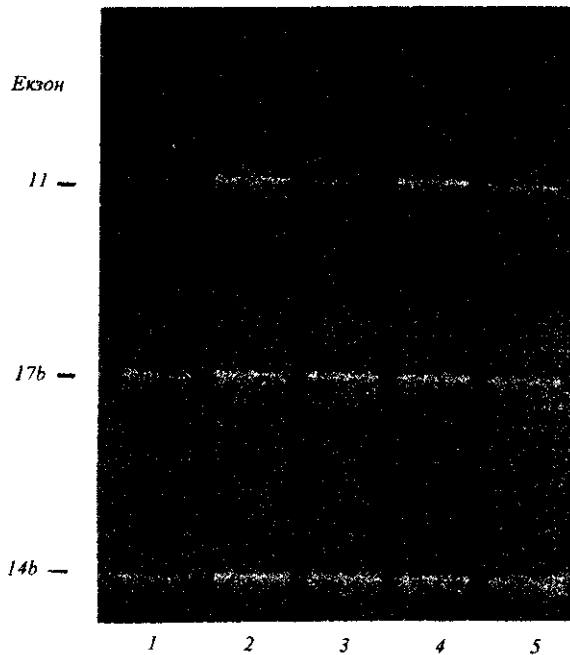


Рис. 1. Аналіз мутацій методом DGGE в екзонах 11, 17b, 14b: 1, 3 — мутація G542X (екзон 11); 2, 4, 5 — нормальна структура ДНК

17b та 14b. Крім мутацій в межах кожного з екзонів гена, відомі варіанти нейтральних перебудов — поліморфізми.

53 алелі МВ хромосом з невідомими мутаціями були проаналізовані на наявність можливих аберацій в екзонах 11, 17b та 14b. Нами виявлено дві хромосоми з мутацією G542X. В обох випадках у пробандів з даною мутацією в іншому алелі виявлено мутацію delF508. В кожному разі при однакових генотипах G542X/delF508 мали місце різні клінічні прояви: у хворого *P.* спостерігалася змішана форма МВ з важким перебігом, діагноз встановлено у віці 2 місяців, значення пілокарпінового тесту — 68 мекв/л.; у пробанда *I.* спостерігалася кишкова форма МВ середньої важкості перебігу, на час проведення молекулярно-генетичної діагностики вік хворого був 8 років, значення пілокарпінового тесту — 75 мекв/л. Обидва пробанди були другими дітьми, хворими на МВ у сім'ї, причому мала місце смерть дітей на перших місяцях життя. Такі дані свідчать про складні механізми клінічних проявів МВ при наявності аналогічної комбінації алелей МВ. При дослідженні даної групи екзонів в

одному із зразків ДНК виявлено абераційний фрагмент в екзоні 14b. У цього пацієнта діагностовано класичну форму МВ у віці 9 місяців, значення хлоридів поту — 100 мекв/л. Така ж аберація знайдена у матері пробанда. Ніяких інших мутацій гена ТРБМ у цього пацієнта не виявлено.

58 хромосом з неідентифікованими мутаціями в межах гена ТРБМ було перевірено на наявність можливих аберацій в екзонах 21, 9, ба. В межах даних екзонів детектовано наступне число МВ мутацій та поліморфізмів: екзон 21 — 12; екзон 9 — 16; екзон ба — 17. У межах екзона 21 ідентифіковано третю за частотою розповсюдження мутацію МВ — N1303K (1,6 %) [8]. Проводили 40 циклів ПЛР з наступними параметрами 95 °C — 1 хв; 55 °C — 1 хв; 72 °C — 2 хв. В результаті даної мультилокусної ПЛР утворюються три фрагменти величиною 272, 375 або 298 та 245 п. н. відповідно для екзонів 21, 9 та ба, які проаналізовано в 10–60 %-му DGGE (рис. 2). Виявлено два зразки ДНК з мутацією N1303K (екзон 21). В іншому алелі в обох випадках мутацій не виявлено. В обох пацієнтів діагностовано змішану форму МВ.

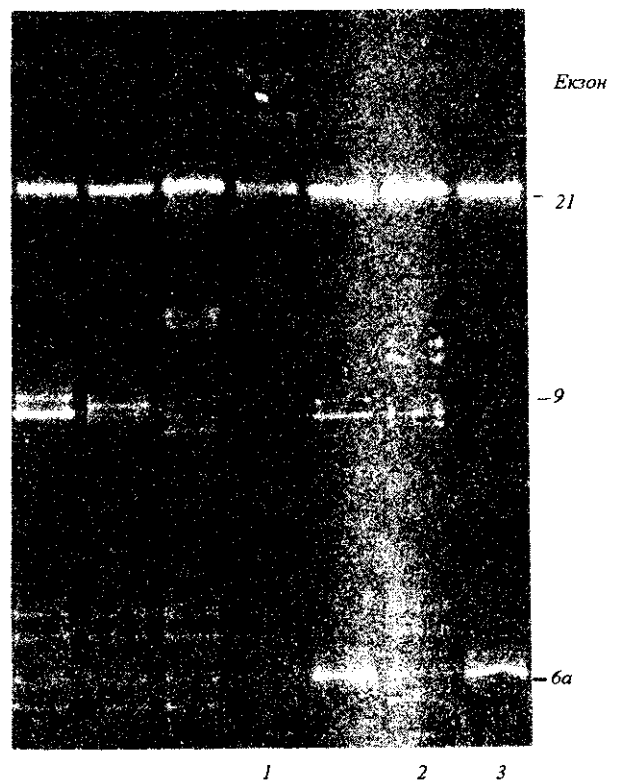


Рис. 2. Аналіз мутацій методом DGGE в екзонах 21, 9, ба: 1 — мутація N1303K (екзон 21); 2 — поліморфізм 875 + 40 A → G (екзон ба); 3 — нормальна структура ДНК

Шість хромосом з однаковими абераціями знайдено в екзоні ба. Після порівняння з контрольними зразками ДНК встановлено, що в даних зразках присутній поліморфізм 875 + 40 A → G. У всіх пацієнтів з даним поліморфізмом клінічно діагностовано кишкову форму МВ середнього ступеня важкості. Тільки в одного з них виявлено мутацію гена ТРБМ. Різні варіанти фрагмента ексона 9 зумовлені GC-повторами, що зустрічаються в інtronі 8 гена ТРБМ.

На наявність можливих аберацій в екзонах 20, 14а, 15 гена ТРБМ було перевірено 58 хромосом з невідомими МВ мутаціями. В межах даних екзонів детектовано наступне число МВ мутацій та поліморфізмів: екзон 20 — 17; екзон 15 — 28; екзон 14а — 15. Здійснено 40 циклів ПЛР з наступними параметрами 95 °С — 1 хв; 55 °С — 1 хв; 72 °С — 2 хв. В результаті даної мультилокусної ПЛР утворюються три фрагменти величиною 302, 390 та 276 п. н. відповідно для екзонів 20, 15 та 14а, які далі аналізували в 10—60 %-му DGGE (рис. 3). Виявлено два зразки ДНК з мутацією W1282X (екзон 20). Дана мутація має частоту поширення більше 1 % в Європейській популяції, а в окремих регіонах її частота є ще вищою. В обох випадках у пацієнтів з W1282X мутацією в іншому алелі гена мутацій не виявлено. Пробанд Г.: 8 років, клінічний діагноз МВ поставлений на перших місяцях життя, концентрація хлоридів у поті 80 мекв/л, діагностовано кишкову форму МВ. У даній родині п'ятеро дітей. Старша дитина померла від МВ у віці чотирьох років. Інші троє дітей є старшими 10 років і в них немає ніяких клінічних проявів МВ, проте у двох з них виявлено носійство W1282X мутації. Також виявлено три хромосоми з абераціями в межах ексона 20, відмінними від мутації W1282X. Після порівняння з контрольними пробами ДНК встановлено, що в даних зразках присутній поліморфізм Р1209Р. У межах ексона 14а виявлено різні абераційні фрагменти: 15 пацієнтів є гетерозиготними та 2 — гомозиготними носіями Т854Т поліморфізму. Даний інтрагенний поліморфізм може бути використаний для внутрішньосімейного аналізу сегрегації хромосом та проведення допологової діагностики в сім'ях, де не ідентифіковано мутації гена ТРБМ.

Окрім цих поліморфних варіантів у межах ексона 14а гена ТРБМ, в одному зразку нами було виявлено відмінний від поліморфізму Т854Т абераційний фрагмент. Для встановлення характеру даної перебудови було секвеновано ділянку ексона 14а у цього пацієнта. В результаті нами ідентифіковано мутацію 2724del11. В іншому алелі гена ТРБМ у цієї пацієнтки виявлено delF508-мутацію.

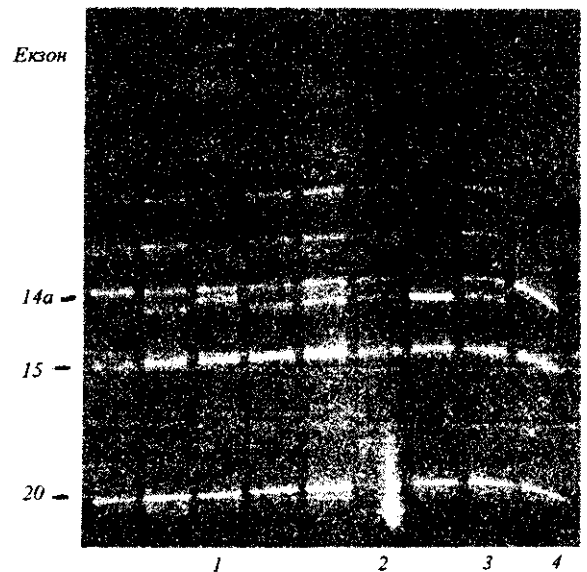


Рис. 3. Аналіз мутацій методом DGGE в екзонах 14а, 15, 20: 1 — мутація 2721del11 (екзон 14а); 2 — мутація W1282X (екзон 20); 3 — поліморфізм Т854Т (екзон 14а); 4 — нормальна структура ДНК

У даного пробанда діагностовано змішану форму МВ з важким перебігом. Обстежений пацієнт є другою хворою на МВ дитиною в родині. В цій сім'ї перша дитина, хвора на МВ, померла у віці шести місяців. У цій же родині є ще одна молодша дитина, у якої не спостерігається клінічних проявів МВ: у неї виявлено мутацію delF508, проте не виявлено мутації 2721del11 в екзоні 14а. В матері пробанда діагностовано носійство мутації delF508 (екзон 10), а в батька — мутації 2721del11 (екзон 14а). Мутацію 2721del11 було виявлено серед обстежених хворих на МВ в одиничному випадку. Треба зазначити, що в Україні ця мутація виявлена нами вперше.

58 хромосом з невідомими МВ мутаціями було перевірено на наявність можливих аберацій в екзонах 12; 3; 23 гена ТРБМ. У результаті даної мультилокусної ПЛР утворюються три фрагменти величиною 516, 323 та 242 п. н. відповідно для екзонів 12, 3 та 23, які далі аналізували в 10—60 %-му DGGE. Виявлено один зразок ДНК з абераційним фрагментом в екзоні 12. В іншому алелі у даного пацієнта виявлено мутацію delF508. В обох пацієнтів діагностовано змішану форму МВ. Пробанд С.: 6 місяців, клінічний діагноз МВ встановлений у віці одного місяця, концентрація хлоридів у поті становить 124 мекв/л. Обстежений

Спектр виявлених мутацій та поліморфізмів у досліджуваній групі хворих на МВ із Західного регіону України

Екзон	Мутація			Поліморфізм		
	Назва	Абсолютне число алелей	Частота, %	Назва	Абсолютне число алелей	Частота, %
11	G542X	2	3,7	—	—	—
21	N1303K	2	3,4	—	—	—
6a	—	—	—	875 + G → A	6	8,6
20	W1282X	2	3,4	R1209P	3	5,1
14a	2724del11	1	1,7	T854T	15	32,7

пробанд є другою дитиною, хворою на МВ, у цій сім'ї, старша дитина померла від меконеального ілеусу. В матері пробанда виявлено delF508-мутацію, а в батька — аберантний фрагмент в екзоні 12.

На наявність можливих аберацій в екзонах 8; 5; 18 гена ТРБМ було проаналізовано 58 хромосом з невідомими МВ мутаціями. Здійснювали 40 циклів ПЛР із наступними параметрами 95 °С — 1 хв; 45 °С — 1 хв; 72 °С — 2 хв. У результаті даної мультилокусної ПЛР утворюються три фрагменти величиною 302, 235 та 277 п. н. відповідно для екзонів 8, 5 та 18, які потім проаналізовано в 10—60 %-му DGGE. При аналізі даної групи екзонів не виявлено жодних мутацій чи поліморфних варіантів у даних ділянках гена ТРБМ.

З вищевикладеного випливає, що в обстеженій групі пацієнтів найпоширенішими після delF508 є ті ж мутації, що й у європейській популяції. Спектр виявлених мутацій і поліморфізмів та їхні частоти в досліджуваній групі хворих з високим ризиком МВ представлені у таблиці.

Таким чином, необхідно зазначити, що у пацієнтів, хворих на МВ, із Західного регіону України найпоширенішими після delF508 є мутації W1282X, G542X, N1303K. Специфічною можна вважати вперше виявлену в Україні мутацію 2721del11 (екзон 14a). Загальна частота ідентифікованих не-delF508 алелів МВ у групі обстежених пацієнтів, хворих на МВ (12,2 %), є нижчою від очікуваної. Проте високими є частоти виявлених поліморфізмів гена ТРБМ. Вплив поліморфних варіантів гена ТРБМ на формування фенотипу при МВ не є однозначно запереченим. У літературі існує повідомлення про роль 5T алеля інтрона 8 гена ТРБМ, який за своєю природою є поліморфним варіантом, у проявах захворювання [15]. У біль-

шості в обстеженій групі хворих на МВ поліморфізми були виявлені у пацієнтів, у яких не було ідентифіковано жодної мутації в гені ТРБМ (у 15 осіб) чи ідентифіковано одну мутацію (у 5 осіб), і лише в одного пацієнта — з двома ідентифікованими мутаціями. Проте в усіх цих пацієнтів спостерігалися клінічні прояви МВ і був підвищений рівень електролітів у поті. Наші дані дозволяють швидше підтвердити роль поліморфізмів гена ТРБМ у формуванні МВ фенотипу, ніж заперечити її.

У результаті проведеного аналізу вперше у хворих на МВ в Україні проведено скринінг можливих мутацій у 15 екзонах гена ТРБМ. Це дослідження дає змогу підтвердити або заперечити наявність більше як 50 % мутацій, зареєстрованих у межах гена ТРБМ. Окрім мутацій, виявлено поліморфізми, що можуть бути використані як для проведення аналізу сегрегації хромосом, так і для різного роду популяційно-генетичних досліджень.

Роботу виконано за фінансової підтримки Західно-українського біомедичного наукового центру (WUBMRS).

Автори висловлюють щире подяку проф. Г. Єфремову (Центр Генетичної інженерії та Біотехнології Македонської Академії Наук, м. Скоп'є) за надану можливість проведення досліджень на базі центру та лікарям В. І. Бертрам, Л. В. Бобер, Я. В. Возниці, О. Р. Ничці, В. І. Шуварській, Н. М. Фоменко за співпрацю.

H. V. Makukh, S. Kocheva, D. V. Zastavna, Y. O. Kornijenko, O. Z. Hnatejko

Mutation analysis of CFTR gene by DGGE method in CF patients from West Ukraine

Summary

The results of DNA analysis of 60 non-delF508 chromosomes from

West Ukraine patients with high risk of CF are shown. The spectrum of CF mutations was determined in 15 CFTR gene exons using DGGE method. The frequencies of CF mutations are found to be: G542X (exon 11) — 3,7%; W1282X (exon 20) — 3,4%; N1303K (exon 21) — 3,4%. Besides we found some polymorphic gene variants, which can be used as markers for prenatal CF diagnostics.

Г. В. Макух, С. Кочева, Д. В. Заставна, Ю. О. Корниенко, О. З. Гнатейко

Скрининг мутацій гена ТРБМ методом електрофореза в денатурируючому градієнтному гелі у пацієнтів с високим ризиком муковісцидоза із Західного регіону України

Резюме

В статті представлені результати скрининга 60 не-delF508 хромосом больних с високим ризиком муковісцидоза (МВ) із Західного регіону України. Методом електрофореза в денатурируючому градієнтному гелі (DGGE) на наявність можливих аберацій проаналізовані 15 екзонів гена ТРБМ. В обстеженій групі встановлені частоти ідентифікованих мутацій: G542X (екзон 11) — 3,7%; W1282X (екзон 20) — 3,4%; N1303K (екзон 21) — 3,4%. Крім мутацій, встановлені деякі поліморфні варіанти гена ТРБМ, які можуть бути інформативними маркерами для пренатальної діагностики МВ.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Горovenko Н. Г. Узгоджені рекомендації щодо діагностики, лікування і профілактики муковісцидозу // Укр. пульмонолог. журн.—1999.—№ 1.—С. 14—17.
2. Горovenko Н. Г. Стандартизація методів діагностики і лікування хворих різного віку на муковісцидоз // Укр. мед. часопис.—1999.—13, № 5.—С. 43—49.
3. Лівшиць Л. А., Кравченко С. А., Гришко В. І., Малайчук С. Г., Екшиян О. Ю., Нечипоренко М. В., Пампуха В. М., Бичкова Г. М., Бариляк І. Р., Михайлець М. П., Сопко М. І., Скибан Г. В., Антупкін Ю. Г., Лук'янова О. М., Бужівська Т. І., Мацука Г. Х. ДНК-діагностика найбільш поширених в Україні спадкових захворювань моногенної природи (10-річний досвід проведення ДНК-діагностики в Україні) // Перинатологія та педіатрія.—2000.—№ 1.—С. 3—7.
4. Collee J. M., de Vries H. G., Scheffer H., Halley D. J., ten Kate L. P. Relative frequencies of cystic fibrosis mutations in The Netherlands as an illustration of significant regional variation in a small country // Hum. Genet.—1998.—102, N 5.—P. 587—590.
5. Dequeker E., Cuppens H., Dodge J., Estivill X., Goossens M., Ignatty E., Shwartz M., Tümmler B., Cassiman J.-J. Recom-

6. Macek M., Jr., Macek M., Krebsova A., Dork T., Dequeker E., Cassiman J.-J. and the INCO-BIOMED CF Mutation Analysis Consortium Distribution and ethnic origin of 151 cystic fibrosis mutations in Balkans, Central and Eastern European populations: Abstr. 4-th Int. Symp. for Cystic Fibrosis (Hungary).—Budapest, 2000.—N 11.
7. De Braekeleer M., Mari C., Verlingue C., Allard C., Leblanc J. P., Simard F., Aubin G., Ferec C. Complete identification of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutations in the CF population of Saguenay Lac-Saint-Jean (Quebec, Canada) // Clin. Genet.—1998.—53, N 1.—P. 44—46.
8. Estivill X., Bacells C., Ramos C. And the Biomed CF Mutation Analysis Consortium. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutation in European population // Hum. Mutat.—1997.—10.—P. 135—154.
9. Лівшиць Л. А. Молекулярно-генетичний аналіз у деяких екзонах гена ТРБМ у хворих на муковісцидоз з України // Цитологія і генетика.—2000.—34, № 4.—С. 6—9.
10. Лівшиць Л. А., Кравченко С. А., Мусянко С. И., Малайчук С. Г. Аналіз мутацій в гені муковісцидоза: походження і розповсюдження мажорної мутації delF508 в Україні // Цитологія і генетика.—1995.—29, № 6.—С. 67—73.
11. Лівшиць Л. А. Природа, походження та шляхи розповсюдження мутацій, що спричинюють моногенні спадкові захворювання: Автореф. ... д-ра біол. наук.—Київ, 2001.—36 с.
12. Корниенко Ю. О., Макух Г. В., Фоменко Н. М., Косак І. Б. Ідентифікація мутацій delF508 та G542X гена ТРБМ у Західноукраїнській регіональній популяції // Прак. медицина.—1999.—№ 5—6.—С. 6—9.
13. Costes B., Fanen P., Goossens M., Ghanem N. A rapid, efficient, and sensitive assay for simultaneous detection of multiple Cystic fibrosis mutations // Hum. Mutat.—1993.—N 3.—P. 185—191.
14. Fanen P., Ghanem N., Vidaud M., Besmond C., Martin J., Costes B., Plassa F., Goossens M. Molecular characterization of Cystic fibrosis: 16 novel mutations identified by analysis of the whole Cystic Fibrosis Conductance Transmembrane Regulator (CFTR) coding regions and splice site junctions // Genomics.—1992.—N 13.—P. 770—776.
15. Bienvenu T., Lepercq J., Allard J. P., Hubert D., Francoual C., Beldjord C., Kaplan J. C. Compound heterozygotes for a CF mutation and the 5T splice variant associated with variable presentations in a French family // Ann. Genet.—1998.—41, N 1.—P. 63—64.

УДК 616.37-008.6-056.7:577.21
Надійшла до редакції 05.09.2000