

ApoB-3'VNTR

Хромосомная локализация: 2p24.1 (позиции 21 000 400 – 21 001 450)



По данным BLAT: <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgBlat> (версия Dec. 2013, GRCh38/hg38).

Тандемные повторы: комплексные, усреднённой длины 15 или $2 \times 15 = 30$ нуклеотидов.

Другие названия: Apo(B)-HVR, Apo B VNTR, 3' apoB VNTR, 3'APOB-VNTR, ApoB/3'HVR, APOB3'MAR-HVR.

Референтные генотипы

ДНК К562	ДНК 9947A	ДНК 9948	ДНК L-68	ДНК 007	ДНК CO	ДНК CP
37 / 37	37 / 51	37 / 37	31 / 37	37 / 37	33 / 37	33 / 37

Красным курсивом выделены данные, требующие уточнения на данный момент. Следите за обновлениями.

Общие сведения и диагностическая значимость

Гипервариабельный регион (*hypervariable region, HVR*), обогащённый парами АТ-оснований и расположенный в 3'-концевом участке непосредственно после гена *APOB* (*apolipoprotein B*, Gene ID: [338](#)), впервые был описан в 1986 году (*Knott et al., 1986*). Белковые продукты, кодируемые этим геном (apoB-48 и apoB-100), являются основными аполипопротеинами хиломикронов и липопротеинов низкой плотности. Мутации в гене *APOB* ассоциированы с гиперхолестеринемией и гипобетапопротеинемией (ОМIM: [107730](#)). Минисателлит ApoB-3'VNTR расположен в регуляторной области *APOB3'MAR* (*matrix attachment region, DNase I hypersensitive site*, Gene ID: [106632268](#)), примерно в 180-190 нуклеотидах от гена *APOB*.

Для полиморфного локуса ApoB-3'VNTR описано два преобладающих типа повторяющихся единиц (*hypervariable elements, HVE*) со средней длиной 15 п.н., внутренне гетерогенных из-за делеций-вставок и замен нуклеотидов (не менее 11 под-вариантов, размером 11-16 нуклеотидов, *Boerwinkle et al., 1989; Hixson et al., 1993; Knott et al., 1986; Ludwig et al., 1989*):



Соответственно, соседние аллели в этом локусе обычно отличаются друг от друга на **30 п.н.** (на два тандемных повтора по 15 п.н., то есть на звено **XY**). Следует, однако, учитывать, что существуют и относительно редкие «промежуточные» аллели, отличающихся от «основных» всего на 11-16 п.н., то есть только на одну из повторяющихся единиц, X, X', X'' или Y, Y', Y''. Точно отдельные под-аллели маркера ApoB-3'VNTR могут быть определены только методом прямого секвенирования, что весьма существенно увеличивает дискриминирующий потенциал этого локуса (*Ellsworth et al., 1995*).

С 1990-х годов прошлого века этот маркер начал широко использоваться как в сравнительно-популяционных исследованиях, так и для идентификации личности, установления спорного родства, мониторинга трансплантации костного мозга, например: *Хуснутдинова и др., 1995; Чистяков и др., 1993; Decorte et al., 1990; Deka et al., 1992; Latorra et al., 1994; Rand et al., 1992; Smolyanitsky et al., 2003; Sreenan et al., 1997; Sullivan et al., 1992*.

Исходя из обширного популяционного материала, показано существование не менее **35 аллелей** с числом повторов от 15 до 60. Значения индекса гетерозиготности по данному локусу варьируют от 53 до 88% в различных популяциях. Показаны существенные межрасовые и межпопуляционные различия в частотном распределении аллелей (*ALFRED; Deka et al., 1992; Hixson et al., 1993; Mahdieh et al., 2005; Verbenko et al., 2003; Verbenko et al., 2004; Verbenko et al., 2005*). Средняя частота мутаций для этого маркера составляет 0,05% (*Sajantila et al., 1999*).

Имеется также большое количество работ «случай-контроль», описывающих ассоциацию локуса ApoB-3'VNTR с липидным профилем крови, атеросклерозом, сердечно-сосудистыми заболеваниями, долгожительством, например: *Погода и др., 1995; De Benedictis et al., 1997; Evans et al., 1993; Garasto et al., 2004; Marz et al., 1993; Nishimura et al., 1998; Varcasia et al., 2001; Wu et al., 1996*.

Важно отметить, что в различных литературных источниках используется разная нумерация аллелей для этого локуса. И это может являться препятствием для сравнения результатов, выполненных в разных лабораториях.

При этом число тандемных повторов для одного и того же аллеля, исходя из разных обозначений, различается на один суб-повтор (15 п.н.). Так, самые частые для европеоидов аллели были обозначены как **35 и 37** (*Boerwinkle et al., 1989*) и **34, 36** (*Ludwig et al., 1989*). При этом указанные авторы использовали разные пары праймеров. Соответственно, последующие авторы использовали одно из этих предложенных обозначений.

Причина такого разночтения в том, что сама область тандемных повторов дополнительно фланкирована **тремя** повторами размером 14 п.н. каждый. И **один** из этих повторов учитывается при нумерации аллелей локуса *ApoB-3'VNTR* в работе *Boerwinkle et al., 1989*, тогда как в работе *Ludwig et al., 1989* этого не делается.

В настоящем описании использованы обозначения аллелей, предложенные в работе *Boerwinkle et al., 1989*.

Исходя из хромосомной локализации, локус *ApoB-3'VNTR* может быть сцеплен со следующими микросателлитными маркерами, используемыми в приложениях по идентификации личности: *TPOX, D2S1360, D2S441*.

Условия ПЦР

ПЦР следует проводить только с использованием Смарт Таq-полимеразы или Смарт 10X ПЦР-буфера во избежание эффекта «ложной гомозиготности», обусловленной предпочтительной амплификацией коротких аллелей в гетерозиготных образцах.

Первая денатурация	30 циклов	Последний синтез цепи
95°C, 2 мин	94°C, 30 сек	72°C, 5 мин
	58°C, 30 сек	
	72°C, 30 сек	

Регистрация результатов

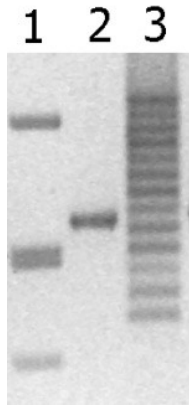
Для идентификации аллелей разделение продуктов реакции по данному локусу можно проводить в 1,5-2% агарозных гелях (длина гелей 15-20 см) или (что надёжнее) в полиакриламидных гелях (ПАГ, 4-6%Т, 3,3%С, длина геля 20-30 см).

Идентификация аллелей может осуществляться с использованием нелокусных высокомолекулярных стандартов ДНК, например **100 bp DNA Ladder**, в сочетании с компьютерными программами, позволяющими рассчитывать размер фрагментов ДНК по сравнительным длинам пробегов в гелях.

Следует также учитывать аномально высокое содержание оснований (АТ) в локусе *ApoB-3'VNTR*. Вследствие этого подвижность амплифицированных аллелей этого маркера относительно фрагментов ДНК в нелокусных высокомолекулярных стандартах при разделении в агарозных и полиакриламидных гелях существенно различается. Это приводит к «сдвигу» аллелей: размер ПЦР-фрагмента, определяемый в агарозном геле, оказывается «короче» размера того же самого фрагмента, определяемого в **ненатурирующем** ПАГ. Такие различия могут достигать 90 п.н. (собственные данные; *Heliö, 1991; Marz et al., 1993; Prinz et al., 1996*).

В таблице аллельных частот приводятся истинные размеры аллелей, и этим значениям более точно соответствуют длины, определяемые именно в агарозных гелях.

Для более простой, удобной и точной идентификации аллелей по данному локусу рекомендуется использовать соответствующую «псевдоаллельную лестницу», которая изображена на рисунке ниже (на следующей странице, фрагмент окрашенного бромистым этидием 2%-го агарозного геля).



Электрофорез проводился в горизонтальной камере с буфером IX TBE при напряжении 200В в течение 60 минут (длина геля 20 см).

Дорожка 1 – фрагменты ДНК нелокусного высокомолекулярного стандарта *pBR322 DNA* AluI* размером 908, 659, 656 и 521 п.н. (сверху вниз).

Дорожка 2 – образец ДНК *K562*, гомозиготный генотип 37 / 37, размер ПЦР-фрагмента 687 п.н.

Дорожка 3 – псевдоаллельная лестница для локуса *ApoB-3'VNTR*, включающая **13** фрагментов ДНК, которые соответствуют «нечётным» аллелям **29 (567 п.н.), 31, 33, 35... 53 (927 п.н.)**.

Однако и при использовании псевдоаллельной лестницы наблюдается определённое несоответствие амплифицированных аллелей локуса *ApoB-3'VNTR* фрагментам ДНК в псевдоаллельной лестнице. Это обусловлено различиями нуклеотидных последовательностей истинных аллелей локуса *ApoB-3'VNTR* и фрагментов ДНК в псевдоаллельной лестнице. Интенсивность такого «сдвига фрагментов» может варьировать и зависит от конкретных условий проведения электрофореза (вольтаж, температура). В целом, это не является критичным для уверенного генотипирования при условии постановки на каждом геле образцов положительных контролей с уже известными генотипами.

В связи с усовершенствованием наборов состав псевдоаллельной лестницы может изменяться. Актуальная версия псевдоаллельной лестницы на локус *ApoB-3'VNTR* включает **13** фрагментов ДНК размером от 570 до 930 п.н., которые соответствуют аллелям **29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53**. Эти аллели также выделены **цветом** в таблице аллельных частот. Шаг между соседними фрагментами ДНК в псевдоаллельной лестнице на локус *ApoB-3'VNTR* составляет **30 п.н.**

Референтные нуклеотидные последовательности

Доступ к GenBank	Дата публикации	Число тандемных повторов в референтной последовательности (*)	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
AC115619	26-JUL-2016	35	657
NC_000002	02-MAR-2020	35	657
J02775	31-OCT-1994	36	671
X04682	06-JUL-1989	37	687
S61712	23-JUL-1993	37	687

(*) Число тандемных повторов согласно номенклатуре аллелей, предложенной в работе *Boerwinkle et al., 1989*.

AC115619: “Homo sapiens BAC clone RP11-116D2 from 2, complete sequence”.

NC_000002: “Homo sapiens chromosome 2, GRCh38.p13 Primary Assembly”. /note="AT-rich hypervariable region (HVR); approximately 34 copies of 15 nt consensus repeat length”.

J02775: “Human restriction fragment length polymorphism 3' to the apolipoprotein B gene”.

X04682: “Human hypovariable DNA 3' to apolipoprotein B gene”. *Knott et al., 1986*.

S61712: “Apo(B) (**HVE36**)=Apolipoprotein B {3' region, AT rich minisatellite, VNTR} [human, caucasian, Genomic, 802 nt]”.

GC-состав ПЦР-продукта: **9,7%** (по последовательности NC_000002).

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *ApoB-3'VNTR*

Аллели	Размеры аллелей, п.н. (*)	Частоты аллелей в выборке из русской популяции (**)	Частоты аллелей, которые рекомендуется использовать для вероятностных расчётов по русской популяции (***)
26	522	0,001	0,002
27	537	0	0,001
28	552	0	0,001
29	567	0	0,001
30	582	0	0,001
31	597	0,079	0,080
32	612	0	0,001
33	627	0,071	0,072
34	642	0,001	0,002
35	657(seq)	0,238	0,239
36	671 (seq)	0,004	0,005
37	687 (seq)	0,393	0,394
38	702	0,001	0,002
39	717	0,036	0,037
40	732	0,001	0,002
41	747	0,014	0,015
42	762	0	0,001
43	777	0,001	0,002
44	792	0	0,001
45	807	0,042	0,043
46	822	0,006	0,007
47	837	0,033	0,034
48	852	0	0,001
49	867	0,067	0,068
50	882	0	0,001
51	897	0,011	0,012
52	912	0	0,001
53	927	0,001	0,002
>53	>927	0	0,001

Нумерация аллелей международная и отражает число содержащихся в них тандемных повторов.

(*) Обозначение (seq) использовано для аллелей, размер ПЦР-продуктов которых рассчитан по референтным нуклеотидным последовательностям.

(**) по данным *Verbenko et al., 2003*; популяционная выборка 428 неродственных человек. **Жирным шрифтом** выделены наиболее частые аллели в русской популяции.

(***) «консервативная» оценка частот аллелей проведена для исследованной выборки (предыдущий столбец таблицы) согласно рекомендациям *Gjertson et al., 2007*.

Ссылки

- Погода Т.В., Никонова А.Л., Колосова Т.В., Людвикова Е.К., Перова Н.В., Лимборская С.А. (1995) Аллельные варианты генов аполипопротеинов В и СII у больных ишемической болезнью сердца и у здоровых лиц из московской популяции. – Генетика, 31 (7), 1001-1009. PMID: [7590197](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7590197/).
- Хуснутдинова Э.К., Погода Т.В., Просняк М.И., Хидиятова И.М., Рафиков Х.С., Лимборская С.А. (1995) Анализ аллельных вариантов гипервариабельного локуса аполипопротеина В в популяциях башкир и коми. – Генетика, 31 (7), 995-1000. PMID: [7590210](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7590210/).
- Чистяков Д.А., Гаврилов Д.К., Овчинников И.В., Носиков В.В. (1993) Анализ распределения аллелей четырех гипервариабельных тандемных повторов среди неродственных представителей русской нации, проживающих в Москве, с помощью полимеразной цепной реакции. – Молекулярная биология, 27 (6), 1304-1314. PMID: [7904327](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7904327/).
- ALFRED: [S1001000B](https://alfred.csi.cmu.edu/entry/S1001000B).

- Boerwinkle E., Xiong W., Fourest E., Chan L.C. (1989) Rapid typing of tandemly repeated hypervariable loci by the polymerase chain reaction: application to the apolipoprotein B 3' hypervariable region. – Proc Natl Acad Sci USA, 86 (1), 212-216. PMID: [2911570](#).
- De Benedictis G., Falcone E., Rose G., Ruffolo R., Spadafora P., Baggio G., Bertolini S., Mari D., Mattace R., Monti D., Morellini M., Sansoni P., Franceschi C. (1997) DNA multiallelic systems reveal gene/longevity associations not detected by diallelic systems. The APOB locus. – Hum Genet., 99 (3), 312-318. PMID: [9050915](#).
- Decorte R., Cuppens H., Marynen P., Cassiman J.J. (1990) Rapid detection of hypervariable regions by the polymerase chain reaction technique. – DNA Cell Biol., 9 (6), 461-469, PMID: [2206402](#).
- Deka R., Chakraborty R., DeCruo S., Rothhammer F., Barton S.A., Ferrell R.E. (1992) Characteristics of polymorphism at a VNTR locus 3' to the apolipoprotein B gene in five human populations. – Am J Hum Genet., 51 (6), 1325-1333. PMID: [1463014](#).
- Ellsworth D.L., Shriver M.D., Boerwinkle E. (1995) Nucleotide sequence analysis of the apolipoprotein B 3' VNTR. – Hum Mol Genet., 4 (5), 937-944. PMID: [7633455](#).
- Evans A.E., Zhang W., Moreel J.F.R., Bard J.M., Ricard S., Poirier O., Tiret L., Fruchart J.C., Cambien F. (1993) Polymorphisms of the apolipoprotein B and E genes and their relationship to plasma lipid variables in healthy Chinese men. – Hum Genet., 92 (2), 191-197. PMID: [8370587](#).
- Garasto S., Berardelli M., DeRango F., Mari V., Feraco E., De Benedictis G. (2004) A study of the average effect of the 3'APOB-VNTR polymorphism on lipidemic parameters could explain why the short alleles (<35 repeats) are rare in centenarians. – BMC Med Genet., 5, 3. PMID: [15028112](#).
- Gjertson D.W., Brenner C.H., Baur M.P., Carracedo A., Guidet F., Luque J.A., Lessig R., Mayr W.R., Pascali V.L., Prinz M., Schneider P.M., Morling N. (2007) ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing. – Forensic Science International Genet., 1 (3-4), 223-231. PMID: [19083766](#).
- Heliö T. (1991) Concept of VNTR alleles: comparison of apolipoprotein B 3' hypervariable region genotyping results obtained by three methods. – Biochem Biophys Res Commun., 181 (2), 846-851. PMID: [1755863](#).
- Hixson J.E., Powers P.K., McMahan C.A. (1993) The human apolipoprotein B 3' hypervariable region: detection of eight new alleles and comparisons of allele frequencies in blacks and whites. – Hum Genet., 91 (5), 475-479. PMID: [8314560](#).
- Knott T.J., Wallis S.C., Pease R.J., Powell L.M., Scott J. (1986) A hypervariable region 3' to the human apolipoprotein B gene. – Nucleic Acids Res., 14 (22), 9215-9216. PMID: [3786150](#).
- Latorra D., Stern C.M., Schanfield M.S. (1994) Characterization of human AFLP systems apolipoprotein B, phenylalanine hydroxylase, and D1S80. – PCR Methods Appl., 3 (6), 351-358. PMID: [7920240](#).
- Ludwig E.H., Friedl W., McCarthy B.J. (1989) High-resolution analysis of a hypervariable region in the human apolipoprotein B gene. – Am J Hum Genet., 45 (3), 458-464. PMID: [2773938](#).
- Mahdih N., Tafsi E., Karimipour M., Akbari M.T. (2005) Heterozygosity and allele frequencies of the two VNTRs (ApoB and D1S80) in Iranian population. – Indian Journal of Human Genetics, 11 (1), 31-34.
- Marz W., Ruzicka V., Fisher E., Russ A.P., Schneider W., Gross W. (1993) Typing of the 3' hypervariable region of the apolipoprotein B gene: Approaches, pitfalls, and applications. – Electrophoresis, 14 (3), 169-173. PMID: [8486126](#).
- Nishimura A., Tshako M., Miki T., Ogihara T., Baba Y. (1998) Analysis of a variable number of tandem repeats in a heart disease gene by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detector. – Chem Pharm Bull (Tokyo), 46 (2), 294-297. PMID: [9501464](#).
- Prinz M., Schmitt C., Staak M., Baum H. (1996) Resolution of apolipoprotein B repeat unit position variants on agarose, denaturing, and native polyacrylamide gels. – Electrophoresis, 17 (7), 1190-1193. PMID: [8855402](#).
- Rand S., Puers C., Skowasch K., Wiegand P., Budowle B., Brinkmann B. (1992) Population genetics and forensic efficiency data of 4 AMPFLP's. – Int J Leg Med., 104 (6), 329-333. PMID: [1355354](#).
- Smolyanitsky A.G., Smolyanitskaya A.I., Popov V.L., Zaslavsky G.I., Khromov-Borisov N.N. (2003) Polymorphism of LDLR, GYPA, HBG, D7S8, GC, HLA-DQA1, Ig-J_H, D17S30, ApoB and D1S80 loci in northwestern Russians. – Forensic Sci Int., 137, 100-103. PMID: [14550622](#).
- Sajantila A., Lukka M., Syvänen A.C. (1999) Experimentally observed germline mutations at human micro- and minisatellite loci. – Eur J Hum Genet., 7 (2), 263-266. PMID: [10196715](#).
- Sreenan J.J., Pettay J.D., Tbakhi A., Totos G., Sandhaus L.M., Miller M.L., Bolwell B., Tubbs R.R. (1997) The use of amplified variable number of tandem repeats (VNTR) in the detection of chimerism following bone marrow transplantation. A comparison with restriction fragment length polymorphism (RFLP) by Southern blotting. – Am J Clin Pathol., 107 (3), 292-298. PMID: [9052379](#).
- Sullivan KM, Pope S, Gill P, Robertson JM. (1992) Automated DNA profiling by fluorescent labeling of PCR products. – PCR Methods Appl., 2 (1), 34-40. PMID: [1490173](#).

- Varcasia O., Garasto S., Rizza T., Andersen-Ranberg K., Jeune B., Bathum L., Andreev K., Tan Q., Yashin A.I., Bonafè M., Franceschi C., De Benedictis G. (2001) Replication studies in longevity: puzzling findings in Danish centenarians at the 3'APOB-VNTR locus. – *Ann Hum Genet.*, 65(Pt 4), 371-376. PMID: [11592926](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11592926/).
- Verbenko D.A., Knjazev A.N., Mikulich A.I., Khusnutdinova E.K., Bebyakova N.A., Limborska S.A. (2005) Variability of the 3'APOB minisatellite locus in Eastern Slavonic populations. – *Hum Hered.*, 60 (1), 10-18. PMID: [16103681](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16103681/).
- Verbenko DA, Pocheshkhova EA, Balanovskaya EV, Marshanija EZ, Kvitzinija PK, Limborska SA. (2004) Polymorphisms of D1 S80 and 3'ApoB minisatellite loci in Northern Caucasus populations. – *J Forensic Sci.*, 49 (1), 178-180. PMID: [14979371](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14979371/).
- Verbenko D.A., Pogoda T.V., Spitsyn V.A., Mikulich A.I., Bets L.V., Bebyakova N.A., Ivanov V.P., Abolmasov N.N., Pocheshkhova E.A., Balanovskaya E.V., Tarskaya L.A., Sorensen M.V., Limborska S.A. (2003) Apolipoprotein B 3'-VNTR polymorphism in Eastern European populations. – *Eur J Hum Genet.*, 11 (6), 444-451, PMID: [12774037](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12774037/).
- Wu J.H., Chern M.S., Lo S.K., Wen M.S., Kao J.T. (1996) Apolipoprotein B 3' hypervariable repeat genotype: association with plasma lipid concentration, coronary artery disease, and other restriction fragment polymorphisms. – *Clin Chem.*, 42 (6 Pt 1), 927-932. PMID: [8665685](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8665685/).

Дополнительная информация

- Наборы **ТАПОТИЛИ** предназначены для исследовательских работ *in vitro* (то есть в пробирке, вне живого организма).
- Наборы не подлежат обязательной сертификации и декларированию соответствия в Системе сертификации ГОСТ Р.
- Коды продукции [ОКПД2](#) (ОК 034-2014, КПЕС 2008): **20.59.52.190** (Реагенты сложные диагностические или лабораторные, не включенные в другие группировки), **20.59.52.199** (Реагенты сложные диагностические или лабораторные прочие, не включенные в другие группировки).
- Наборы **ТАПОТИЛИ** не являются изделием медицинского назначения, не предназначены для использования в целях медицинской диагностики, для диагностических процедур, для профилактики и лечения заболеваний. По этим причинам наборы **ТАПОТИЛИ** не подлежат государственной регистрации на территории РФ (в том числе в Росздравнадзоре) в качестве медицинского изделия.
- Молекулярно-генетические исследования (МГИ) по установлению генотипов отдельных лиц, в том числе по идентификации личности и установлению спорного родства методом анализа полиморфных локусов генома человека не являются медицинской деятельностью: устанавливаются именно биологические факты (генотипы обследуемых лиц).
- Результаты МГИ мы рекомендуем оформлять в виде Заключения специалиста, отчёта о НИР и аналогичных документов, не являющихся медицинскими документами.
- Интерпретация медицинской значимости полученных данных и принятие клинического решения относится к компетенции врача.
- The *Tapotili* Kit is intended for molecular biology applications, including forensic or paternity usage. This product is not intended for the diagnosis, prevention, or treatment of a disease.

Техническое содействие / информация

Благодарим Вас за то, что Вы предпочли нашу продукцию и будем рады продолжить сотрудничество.

Дополнительная информация о других наборах **Тапотили** (полная инструкция) доступна по ссылке:

<http://tapotili.ru/doc/tapotili.pdf>.

Актуальная версия непосредственно этого описания доступна здесь: http://tapotili.ru/doc/apob_vntr.pdf.

Адресуйте все вопросы, предложения, а также возможные рекламации:

Интернет: www.tapotili.ru

Электронная почта: info@tapotili.ru

Моб. тел.: +7-903-786-4-789.

Ефремов Илья Алексеевич, кандидат биологических наук