

DIS111

Хромосомная локализация: 1q24.2 (позиции 167 434 800 – 167 435 500)



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

Тандемные повторы: 37 нуклеотидов, усреднённого мотива
{*tggaaggaagg gctggaggag ggctccggag gaagggc*}

Другие названия: *DIS61, MS336, p33.6*.

Референтные генотипы

ДНК K562	ДНК L-68	ДНК 9947A	ДНК CO
15/18 (*)	12/20	15/18	18/18

Подчеркнуты аллели, визуально более интенсивные в гелях.

Общие сведения и диагностическая значимость

Минисателлит *DIS111* расположен в интроне 5 гена *CD247* (Homo sapiens CD247 molecule, Gene ID: [919](#)), кодирующего рецептор Zeta Т-клеток. Другие названия этого гена: *T3Z, CD3H, CD3Q, CD3Z, TCRZ, IMD25, CD3-ZETA*. Показано сцепление этой области хромосомы 1 с несиндромальной глухотой, спастической параплегией, палочко-колбочковой дистрофией (*CORD8*), болезнью Шарко-Мари-Туа и другими патологиями (например, *Franco et al., 1991; Hentati et al., 1992*). Мутации в гене *CD247* могут являться причиной иммунодефицитов человека (IMD25, OMIM: [186780](#)).

Тандемный повтор *DIS111* имеет в среднем длину 37 п.н. и состоит, в свою очередь, из трёх субповторов. В некоторых случаях длина каждого из этих субповторов может различаться на 1-2 п.н. из-за внутренних делеций или вставок. На ещё более углублённом уровне область тандемных повторов можно охарактеризовать как диспергированные повторы (СССТ)п.

Полиморфный минисателлит *DIS111* впервые был выявлен с использованием мультилокусного зонда 33.6 на длинном плече хромосомы 1 (*Jeffreys et al., 1985a,b*). Позже его локализация была уточнена, и были опубликованы первые популяционные исследования (*Deka et al., 1991; Jeffreys et al., 1988, 1990; Loupart et al., 1991*).

В 1996 г. был разработан набор реагентов для использования этого полиморфного маркера в приложениях по идентификации личности и установлению спорного родства на территории России (*Ефремов и др., 1996*). Для российской популяции было показано существование не менее 18 аллелей, содержащих от 9 до 26 повторов (*Ефремов и др., 2005a, b*).

В настоящее время минисателлит *DIS111* используется в составе различных панелей полиморфных маркеров (именно минисателлитных) для проверки идентичности образцов в биобанках, а также для мониторинга химеризма у пост-трансплантационных пациентов (*Choong et al., 2011; Pellerin et al., 2016*).

Исходя из хромосомной локализации, локус *DIS111* может быть сцеплен со следующими маркерами, используемыми в приложениях по идентификации личности: *DIS1677, F13B*.

Условия ПЦР

ПЦР настоятельно рекомендуется проводить только в формате «Смарт» (горячий старт) во избежание эффекта «ложной гомозиготности» и/или наработки неспецифических продуктов реакции.

Первая денатурация	35 циклов	Последний синтез цепи
95°C, 2 мин	94°C, 30 сек	72°C, 5 мин
	58°C, 30 сек	
	72°C, 60 сек	

Регистрация результатов

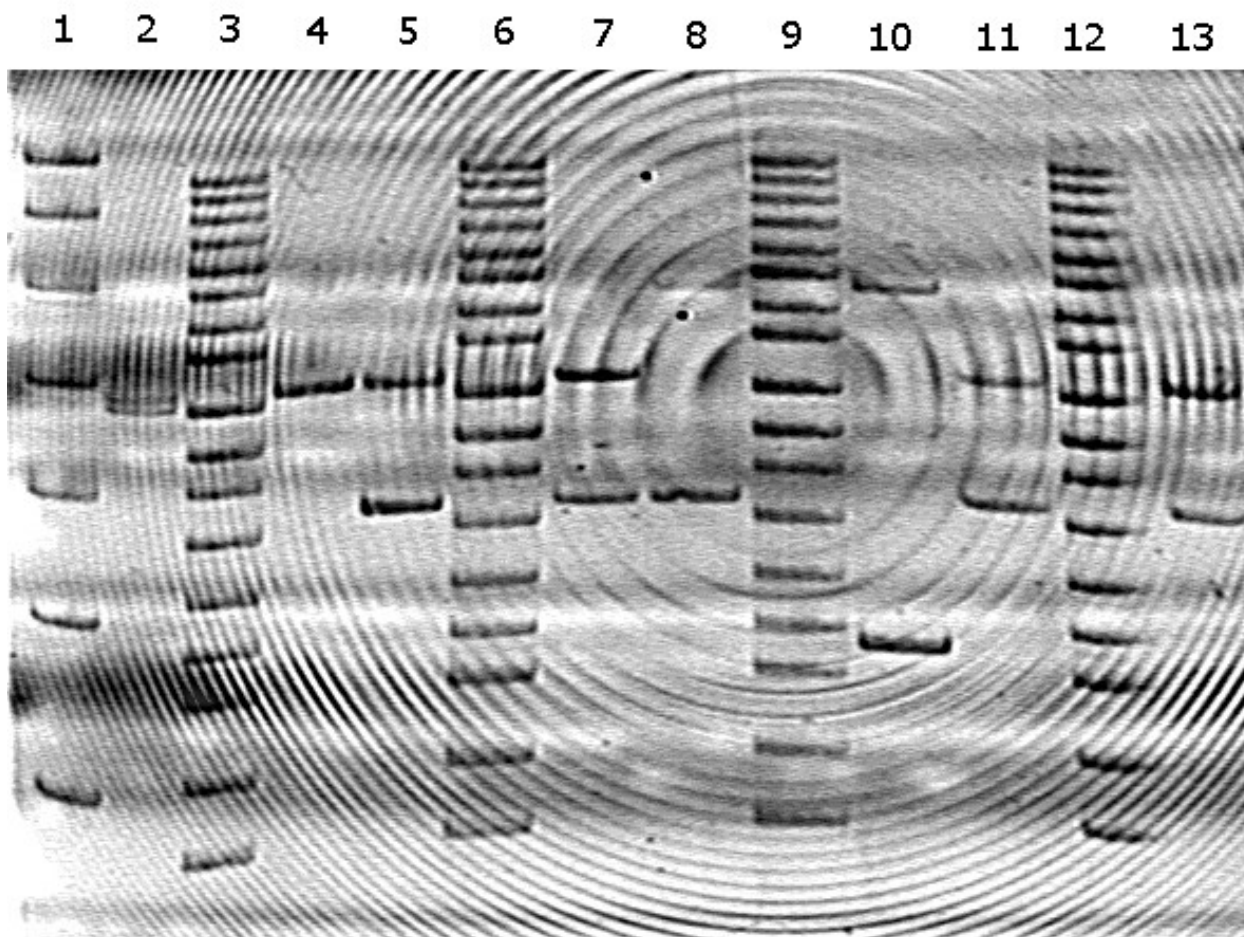
Разделение продуктов ПЦР и определение аллелей (генотипов) рекомендуется проводить в 1,5-2% агарозных гелях (длина гелей 15 см). Допустимо также использование неденатурирующих ПАГ (6-10%Т, 3-4%С, длина гелей 10-20 см) с учётом оговорок, обсуждаемых ниже.

Для простой и уверенной идентификации аллелей по данному локусу рекомендуется использовать соответствующую «псевдоаллельную лестницу», которая содержит 17 фрагментов ДНК размером от 381 до 973 п.н. и соответствует аллелям 9 ... 25. Эти аллели выделены зелёным цветом в таблице аллельных частот.

Идентификация аллелей по некоторым другим нелокусным высокомолекулярным стандартам ДНК в агарозных гелях затруднительна: например, при использовании маркера *pBR322 DNA / AluI* было показано наличие системной ошибки, приводящей к ошибочному определению аллелей (Ефремов и др., 2005a,b).

Пример генотипирования восьми исследуемых образцов с использованием псевдоаллельной лестницы для локуса *DIS111* в неденатурирующем ПАГ (10%, 29:1). Фрагмент окрашенного бромистым этидием геля.

Электрофорез проводился в вертикальной камере размером 20x20 см (VE-20, «Хеликон», Россия) с буфером *IX TBE* при напряжении 500 В в течение 4 ч 15 мин. Видеозахват изображения осуществлялся системой *Gel-Imager-2* («Хеликон», Россия) в формате с концентрическими линиями во избежание возможных вопросов о «подрисовке».



Дорожка 1 – фрагменты ДНК нелокусного высокомолекулярного стандарта *1000-50 bp DNA Ladder*: 1000, 900, 800, 700, 600, 500 п.н. (сверху вниз).

Дорожки 3, 6, 9, 12 – псевдоаллельная лестница для локуса *DIS111*, которая содержит 17 фрагментов ДНК размером от 381 до 973 п.н. и соответствует аллелям 9 – 25.

Дорожки 2, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13 – исследуемые образцы ДНК.

Истинные амплифицируемые аллели маркера *DIS111* несколько отличаются от соответствующих фрагментов ДНК в псевдоаллельной «лестнице» как по нуклеотидному составу, так и по размерам. **Эти различия в подвижности фрагментов ДНК не выявляются при электрофорезе в агарозных гелях.**

Однако при электрофорезе в ПАГ позиционное несоответствие амплифицированных аллелей соответствующим фрагментам ДНК в «псевдоаллельной лестнице» выявляется, и это отчётливо видно на представленном выше рисунке. Пояснения следующие.

Степень наблюдаемого на ПАГ «сдвига полос» сложным образом зависит от конкретных условий проведения электрофореза (% геля, используемый буфер, температура геля, время электрофореза и пр.). Этот «сдвиг полос» не является критичным для уверенного генотипирования при постановке на каждом ПАГ образцов *положительных контролей* с известными генотипами.

Для приведённого примера на дорожках 7 и 13 на ПАГ нанесен образец ДНК *K562*, для которого известен генотип: 15/18. При этом аллель 15 для этого образца позиционно находится между фрагментами, соответствующими аллелям 14 и 15 в «псевдоаллельной лестнице». Аналогично, аллель 18 находится между аллелями 17 и 18 в «псевдоаллельной лестнице». Таким образом, в приведенном примере истинные амплифицированные аллели локуса *DIS111* при электрофорезе *определили* соответствующие фрагменты ДНК в «псевдоаллельной лестнице».

После определения генотипа для образца *положительного контроля* легко устанавливаются генотипы и для исследуемых образцов. Дорожка 4 = **18/18**, дорожки 5 и 11 = **15/18**, дорожка 8 = **15/20**, дорожка 10 = **12/20**.

На дорожке 2 генотип исследуемого образца соответствует *гетерозиготному 18/18'*: отчётливо видно, что аллели, находящиеся на гомологичных хромосомах, несколько различаются между собой по размерам, и на ПАГ видны два фрагмента ДНК. Такое различие в размерах аллелей не будет выявлено в агарозных гелях, и результатом для этого образца будет гомозиготный генотип **18/18**.

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *DIS111*

Аллели	Размеры аллелей, п.н.	Частоты аллелей в выборке из русской популяции (*)	Частоты аллелей, которые рекомендуется использовать для расчётов индекса и вероятности родства (**)
9	383	0,023±0,004	0,031
10	420	0,015±0,004	0,023
11	457	0,004±0,002	0,008
12	494	0,110±0,009	0,128
13	531	0,008±0,003	0,014
14	568	0,009±0,003	0,015
15	605	0,338±0,014	0,366
16	642	0,010±0,003	0,016
17	679	0,019±0,004	0,027
18	716	0,376±0,014	0,404
19	753	0,036±0,005	0,046
20	790	0,008±0,003	0,014
21	827	0,018±0,004	0,026
22	864	0,017±0,004	0,025
23	901	0,003±0,001	0,005
24	938	0,003±0,001	0,005
25	975	0,002±0,001	0,004
26	1012	0,001±0,001	0,003

Нумерация аллелей отражает число содержащихся в них тандемных повторов.

(*) по данным *Ефремов и др., 2005*; популяционная выборка 594 неродственных человека. ± стандартная ошибка.

(**) по данным *Ефремов и др., 2005*; верхняя граница 95%-ного доверительного интервала (рассчитана как частота аллеля плюс удвоенная стандартная ошибка).

Референтные нуклеотидные последовательности

Доступ к GenBank	Дата публикации	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
M30548	03-AUG-1993	518
AK128376	09-JAN-2008	604
AL359962	24-JAN-2013	531

M30548: "Human minisatellite region detected by myoglobin 33-repeat probe, clone lambda 33.6".

AK128376: "Homo sapiens cDNA FLJ46519 fis, clone THYMU3033649, highly similar to T-cell surface glycoprotein CD3 zeta chain precursor".

AL359962: "Human DNA sequence from clone RP11-104L21 on chromosome 1q23.3-25.1, complete sequence".

GC-состав ПЦР-продукта: **66%** (по последовательности AL359962).

Ссылки

- Ефремов И.А., Лебедева Н.Н., Земскова Е.Ю., Иванов П.Л. (2005а) Характеристика молекулярно-генетической индивидуализирующей системы на основе минисателлитного маркера *DIS111*. – Материалы VI Всероссийского съезда судебных медиков «Перспективы развития и совершенствования судебно-медицинской науки и практики». – «Академия», Москва-Тюмень, 97-99. ISBN [5947250489](#).
- Ефремов И.А., Лебедева Н.Н., Земскова Е.Ю., Иванов П.Л. (2005b) Исследование свойств молекулярно-генетической индивидуализирующей системы на основе хромосомного локуса *DIS111* в аспекте судебно-экспертного типирования ДНК. – Судебно-медицинская экспертиза, 48 (5), 29-33. PMID: [16279497](#).
- Ефремов И.А., Чистяков Д.А., Носиков В.В. (1996) Анализ полиморфизма двух гипервариабельных районов генома человека в русской популяции Москвы с помощью полимеразной цепной реакции. – Молекулярная биология, 30 (2), 307-318. PMID: [8724761](#).
- Choong S.S., Rosmanizam S., Ibrahim K., Gan G.G., Ariffin H. (2011) Development of an algorithm of satellite markers for monitoring chimerism status in post-allogeneic haematopoietic stem cell transplantation patients. – Int J Lab Hematol., 33 (2), 182-186. PMID: [20868447](#).
- Deka R., Chakraborty R., Ferrell R.E. (1991) A population genetic study of six VNTR loci in three ethnically defined populations. – Genomics, 11 (1), 83-92. PMID: [1765387](#).
- Franco B., Lai L.W., Patterson D., Ledbetter D.H., Trask B.J., van den Engh G., Iannaccone S., Frances S., Patel P.I., Lupski J.R. (1991) Molecular characterization of a patient with del(1)(q23-q25). – Hum. Genet., 87 (3), 269-277. PMID: [1677922](#).
- Hentati A., Lamy C., Melki J., Zuber M., Munnich A., de Recondo J. (1992) Clinical and genetic heterogeneity of Charcot-Marie-Tooth disease. – Genomics, 12 (1), 155-157. PMID: [1733853](#).
- Jeffreys A.J., MacLeod A., Neumann R., Povey S., Royle N.J. (1990) "Major minisatellite loci" detected by minisatellite clones 33.6 and 33.15 correspond to the cognate loci D1S111 and D7S437. – Genomics, 7 (3), 449-452. PMID: [2365360](#).
- Jeffreys A.J., Wilson V., Neumann R., Keyte J. (1988) Amplification of human minisatellites by the polymerase chain reaction: towards DNA fingerprinting of single cells. – Nucleic Acids Res., 16 (23), 10953-10971. PMID: [3205737](#).
- Jeffreys A.J., Wilson V., Thein S.L. (1985a) Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. – Nature, 314 (6006), 67-73. PMID: [3856104](#).
- Jeffreys A.J., Wilson V., Thein S.L. (1985b) Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. – Nature, 316 (6023), 76-79. PMID: [2989708](#).
- Loupart M.L., Armour J.A., Jeffreys A.J., Varley J.M. (1991) 33.6 (D1S111) and pMLAJ1 (D1S61) identify the same VNTR on chromosome 1. – Nucleic Acids Res., 19 (17), 4801. PMID: [1679933](#).
- Pellerin C., McKercher G., Aprikian A.G., Saad F., Lacombe L., Carmel M., Chevalier S. (2016) A Simple Variable Number of Tandem Repeat-Based Genotyping Strategy for the Detection of Handling Errors and Validation of Sample Identity in Biobanks. – Biopreserv Biobank., 14 (5), 383-389. PMID: [27327090](#).

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.