

## DIS80

*Хромосомная локализация:* 1p36.32 (позиции 2 459 200 – 2 459 900)



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

*Тандемные повторы:* простые, усреднённой длины 16 нуклеотидов мотива (**GAGGACCACCGGCAAG**).

*Другие названия:* *pMCT118*, *MCT118*, *DIS58*, *UniSTS:146832*, *GDB:178639*.

### Референтные генотипы

ДНК K562	ДНК 9947A	ДНК 9948	ДНК L-68	ДНК 007	ДНК CO
18 / 29	18 / 31	18 / 25	18 / 25	29 / 33	24 / 33

Подчёркнуты аллели, визуально более интенсивные в гелях.

### Общие сведения и диагностическая значимость

Полиморфный минисателлит *DIS80* расположен в некодирующей межгенной области, между генами *PEX10* и *PLCH2*. Впервые этот локус, как *DIS58*, был описан в 1988 году, с использованием гибридизационного зонда *pMCT118* (Nakamura et al., 1988).

Минисателлит *DIS80* состоит из тандемно повторяющихся последовательностей со средней длиной 16 п.н., внутренне гетерогенных из-за делеций и замен нуклеотидов (Kasai et al., 1990). При секвенировании отдельных аллелей было показано, что существует не менее 21 варианта тандемного повтора (*Type A – Type U*), и эта вариабельность объясняется в основном точечными заменами (Balamurugan et al., 2012; Duncan et al., 1997). При этом первый повтор в большинстве аллелей является укороченным и состоит из 14 п.н. Было показано существование и экстра-длинных аллелей, с размером ПЦР-фрагментов более 1000 п.н., содержащих 52-55 повторов (Kádasi & Bohusová, 1995).

Соответственно, точно отдельные под-аллели маркера *DIS80* могут быть определены только методом прямого секвенирования, что весьма существенно увеличивает дискриминирующий потенциал этого локуса (Balamurugan et al., 2012; Duncan et al., 1997).

С 1990-х годов прошлого века локус *DIS80* начал широко использоваться в сравнительно-популяционных исследованиях, для идентификации личности, установления спорного родства, мониторинга трансплантации костного мозга, например: Budowle et al., 1991; Rand et al., 1992; Sajantila et al., 1992; Sreenan et al., 1997; Sullivan et al., 1992; Thymann et al., 1993.

Достаточно продолжительное время, с 1991 года и до начала 2000-х, компанией *Perkin-Elmer-Cetus* (США) выпускались коммерческие наборы на этот локус для приложений по идентификации личности в формате детекции аллелей с использованием соответствующих аллельных лестниц в гелях агарозы или ПАГ, а также на приборах для капиллярного электрофореза (*DIS80 Forensic DNA Amplification Reagent Set; U.S. patent #4,963,663; AmpliFLP DIS80 PCR amplification kit; Zhang & Yeung, 1996*). Аналогичные наборы реагентов, с детекцией аллелей преимущественно в ПАГ, были развиты отдельными лабораториями самостоятельно (Budowle et al., 1991; Fujii et al., 2004; Sajantila et al., 1992; Skowasch et al., 1992).

В настоящее время этот локус продолжает использоваться отдельными экспертными лабораториями, в том числе в формате фрагментного анализа на генетических анализаторах (например, Jung et al., 2018).

В различных популяциях для этого маркера показано существование не менее **35** «основных» аллелей, с шагом между соседними аллелями 16 п.н. и с числом тандемных повторов от 10 до 52-55. При этом для большинства популяций основной массив составляют аллели 15- 42 (*ALFRED; Deka et al., 1994*). Для различных популяций уровень гетерозиготности по этому локусу варьирует от 52 до 89% (*ALFRED*). Средняя частота мутаций для минисателлита *DIS80* составляет, по разным оценкам, от 0,008 до 0,05% (Balamurugan et al., 2012; Sajantila et al., 1999).

На популяциях России этот маркер также охарактеризован достаточно подробно, например: Корниенко и др., 2002; Чистяков и др., 1993; Smolyanitsky et al., 2003; Verbenko et al., 2003; Verbenko et al., 2004; Verbenko et al., 2006.

Существенно, что для гетерозиготных образцов помимо «предпочтительной амплификации» коротких аллелей этого локуса, были отмечены и другие артефакты ПЦР, например – «экстра-фрагменты», являющиеся ДНК-гетеродуплексами (Watanabe et al., 1996). Соответственно, неоптимальные условия ПЦР могут приводить к ложному генотипированию отдельных образцов.

Исходя из хромосомной локализации, локус *DIS80* может быть сцеплен со следующими маркерами, используемыми в приложениях по идентификации личности: микросателлит *DIGATA113*, ПЦРФ-зонд *DIS7* (*MS1*), резус-фактор *RHD* (+/- blood group D antigen).

### 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
	65°C, 30 сек	
	72°C, 30 сек	

**(\*) Внимание.** При недостаточном количественном выходе продуктов реакции, в том числе для образцов «положительных контролей», число циклов ПЦР следует увеличить до **35**, при этом нет необходимости увеличивать количество Таq-полимеразы, вносимой в реакционную смесь.

### Регистрация результатов

Разделение продуктов реакции и генотипирование можно проводить как в неденатурирующих полиакриламидных гелях (ПАГ, 4-6%Т, 3,3%С, длина гелей 20-30 см), так и в 1,5-2,5% агарозных гелях (длина гелей 15-20 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. Однако, учитывая относительно небольшой размер тандемного повтора (16 п.н.), точная идентификация амплифицированных аллелей для локуса *DIS80* без аллельных «лестниц» весьма затруднительна.

Рекомендуется идентификация амплифицированных аллелей с использованием специальных **псевдоаллельных «лестниц»** для этого локуса. Эти псевдоаллельные лестницы (*DIS80-№1* и *DIS80-№2*) содержат по 11 фрагментов ДНК и соответствуют аллелям **15-36**. Эти аллели выделены **цветом** в таблице аллельных частот.

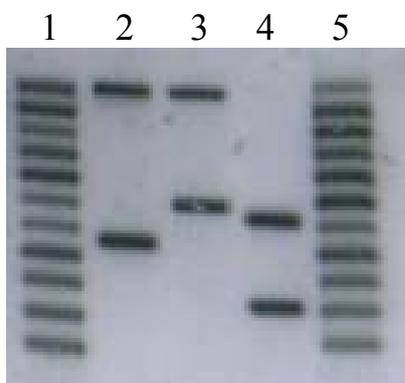
Следует учитывать, что амплифицируемые аллели в локусе *DIS80* различаются с соответствующими фрагментами ДНК в псевдоаллельных лестницах как по нуклеотидному составу, так и по размерам (см. таблицу аллельных частот). Эти различия могут являться причиной возможного «сдвига фрагментов» на электрофорезе, то есть некоторого позиционного несоответствия амплифицированных аллелей соответствующим фрагментам ДНК в псевдоаллельных лестницах. Такое несоответствие не является критичным для уверенного генотипирования, но величина сдвига сложным образом зависит от конкретных условий проведения электрофореза (вольтаж, температура). Как следствие, для уверенного генотипирования в спорных случаях предпочтительно использование обеих псевдоаллельных лестниц.

В связи с усовершенствованием наборов состав псевдоаллельных лестниц может изменяться. Актуальные версии псевдоаллельных лестниц на локус *DIS80* включают по **11** фрагментов ДНК, которые соответствуют аллелям **15-36**, при этом шаг между соседними фрагментами ДНК в каждой из псевдоаллельных лестниц составляет **32** п.н.

Псевдоаллельная лестница *DIS80-№1* (нечётная): фрагменты ДНК размером **382, 414, 446, 478, 510, 542, 574, 606, 638, 672, 702** п.н.

Псевдоаллельная лестница *DIS80-№2* (чётная): фрагменты ДНК размером **398, 430, 462, 494, 526, 558, 590, 622, 654, 686, 718** п.н.

Пример регистрации результатов и генотипирования по локусу *DIS80* с использованием псевдоаллельных лестниц (фрагмент окрашенного бромистым этидием 2%-го агарозного геля).



**Дорожка 1** – псевдоаллельная лестница *DIS80-№1*.

**Дорожка 5** – псевдоаллельная лестница *DIS80-№2*.

**Дорожки 2, 3 и 4** – исследуемые образцы ДНК.

**Дорожка 2** – генотип 22 / 35 (498 / 706 п.н.).

**Дорожка 3** – генотип 25 / 35 (546 / 706 п.н.).

**Дорожка 4** – генотип **18 / 24** (434 / 530 п.н.). Наиболее частый генотип для русской популяции.

Изображение предоставлено разработчиками псевдоаллельных лестниц: лаборатория фармакопротеомики, Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, РАМН, г. Москва.

#### Другие версии аллельных лестниц на локус *DIS80*.

В коммерческих наборах компании *Perkin-Elmer-Cetus* (США, Cat. No. N808-0054) в разное время использовались следующие аллельные лестницы:

- ✓ содержащая 15 аллелей: **14, 16, 18, 20, 22, 24, 25, 27, 29, 31, 32, 34, 36, 37, 40**;
- ✓ содержащая 27 аллелей: **14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41**.

#### Референтные нуклеотидные последовательности

Доступ к GenBank	Дата публикации	Число тандемных повторов в референтной последовательности	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
<a href="#">AB121699</a>	18-SEP-2008	13	354
<a href="#">D28507</a>	24-OCT-2008	24	530
<a href="#">AL139246</a>	13-DEC-2012	30	626
<a href="#">AB121730</a>	18-SEP-2008	44	850

**AB121699**: “Homo sapiens DNA, D1S80 (MCT118) marker, 13 repeat units”.

**D28507**: “Homo sapiens DNA, D1S80 (MCT118) marker, 24 repeat units”.

**AL139246**: “Human DNA sequence from clone RP3-395M20 on chromosome 1p36.11-36.33, complete sequence”.

**AB121730**: “Homo sapiens DNA, D1S80 (MCT118) marker, 44 repeat units”.

GC-состав ПЦР-продукта: **62%** (для последовательностей D28507, AB121699, AB121730).

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *D1S80*

Аллели	Размеры аллелей, п.н. (*)	Размеры фрагментов в «нечётной» псевдоаллельной лестнице (D1S80-№1), п.н.	Размеры фрагментов в «чётной» псевдоаллельной лестнице (D1S80-№2), п.н.	Частоты аллелей	
				в выборке из русской популяции (**)	рекомендуемые для вероятностных расчётов по русской популяции (***)
13	354 (seq)			0	0,002
14	370			0	0,002
15	386	382		0	0,002
16	402		398	0,014	0,016
17	418	414		0	0,002
18	434		430	0,261	0,262
19	450	446		0	0,002
20	466		462	0,027	0,029
21	482	478		0,017	0,019
22	498		494	0,063	0,065
23	514	510		0,006	0,008
24	530 (seq)		526	0,339	0,340
25	546	542		0,051	0,053
26	562		558	0,010	0,012
27	578	574		0,006	0,008
28	594		590	0,055	0,057
29	610	606		0,041	0,043
30	626 (seq)		622	0,010	0,012
31	642	638		0,074	0,076
32	658		654	0,002	0,004
33	674	672		0,002	0,004
34	690		686	0	0,002
35	706	702		0,004	0,006
36	722		718	0,012	0,014
37	738			0,006	0,008
38	754			0	0,002
39	770			0	0,002
40	786			0	0,002
41	802			0	0,002
> 41	> 802			0	0,002

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

(\*) Обозначение (seq) приведено для аллелей, размер которых рассчитан по референтным нуклеотидным последовательностям с используемой в наборах парой праймеров.

(\*\*) по данным Корниенко и др., 2002; популяционная выборка 255 неродственных человек.

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

## Ссылки

- Корниенко И.В., Щербакова Е.В., Земскова Е.Ю., Иванов П.Л. (2002) Распределение аллелей локуса D1S80 в случайной выборке населения Российской Федерации. – Судебно-медицинская экспертиза, 45 (6), 27-31. PMID: [12516304](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12516304/).
- 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: [SI000567S](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10005675/).
- Balamurugan K, Tracey ML, Heine U, Maha GC, Duncan GT. (2012) Mutation at the human D1S80 minisatellite locus. – ScientificWorldJournal, 2012:917235. PMID: [22645469](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22645469/).

- Budowle B., Chakraborty R., Giusti A.M., Eisenberg A.J., Allen R.C. (1991) Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. – *Am J Hum Genet.*, 48 (1), 137-144. PMID: [1670750](#).
- Deka R., DeCruo S., Jin Li, McGarvey S.T., Rothhammer F., Ferrell R.E., Chakraborty R. (1994) Population genetic characteristics of the D1S80 locus in seven human populations. – *Hum Genet.*, 94 (3), 252-258. PMID: [8076940](#).
- Duncan G.T., Balamurugan K., Budowle B., Smerick J., Tracey M.L. (1997) Microvariation at the human D1S80 locus. – *Int J Legal Med.*, 110, (3), 150-154. PMID: [9228565](#).
- Fujii K., Sekiguchi K., Shimizu K., Kasai K. (2004) A new sequenced allelic ladder marker for D1S80 typing. – *J Hum Genet.*, 49 (3), 169-171. PMID: [14991525](#).
- 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](#).
- Jung JY, Kim SJ, Oh YL, Lim SK, Lee YH, Hwang JH. (2018) A Simple Method of VNTR D1S80 Locus Allelic Ladder Construction for Capillary Electrophoresis-based Genotyping. – *J Forensic Sci.*, 63 (2), 526-529. PMID: [28691776](#).
- Kádasi L, Bohusová T. (1995) A new extremely large allele at the D1S80 (MCT118) locus. – *J Forensic Sci.*, 40 (5), 906-907. PMID: [7595338](#).
- Kasai K., Nakamura Y., White R. (1990) Amplification of a variable number of tandem repeats (VNTR) locus (pMCT118) by the polymerase chain reaction (PCR) and its application to forensic science. – *J Forensic Sci.*, 35 (5), 1196-1200. PMID: [2230693](#).
- Nakamura Y., Carlson M., Krapcho K., White R. (1988) Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence, pMCT118, on chromosome 1p (D1S58). – *Nucleic Acids Res.*, 16 (19), 9364. PMID: [2902591](#).
- 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](#).
- Sajantila A., Budowle B., Strom M., Johnsson V., Lukka M., Peltonen L., Ehnholm C. (1992) PCR amplification of alleles at the D1S80 locus: comparison of a Finnish and a North American caucasian population sample, and forensic casework evaluation. – *Am J Hum Genet.*, 50 (4), 816-825. PMID: [1347970](#).
- Sajantila A, Lukka M, Syvänen AC. (1999) Experimentally observed germline mutations at human micro- and minisatellite loci. – *Eur J Hum Genet.*, 7 (2), 263-266. PMID: [10196715](#).
- Skowasch K., Wiegand P., Brinkmann B. (1992) pMCT 118 (D1S80): a new allelic ladder and an improved electrophoretic separation lead to the demonstration of 28 alleles. – *Int J Leg Med.*, 105 (3), 165-168. PMID: [1358178](#).
- Smolyanitsky A.G., Smolyanitskaya A.I., Popov V.L., Zaslavsky G.I., Khromov-Borisov N.N. (2003) Polymorphism of LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, GC, HLA-DQA1, Ig-J<sub>H</sub>, D17S30, ApoB and D1S80 loci in northwestern Russians. – *Forensic Sci Int.*, 137, 100-103. PMID: [14550622](#).
- 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](#).
- Thymann M., Nellesmann L.J., Masumba G., Irgens-Moller L., Morling N. (1993) Analysis of the locus D1S80 by amplified fragment length polymorphism technique (AMP-FLP). Frequency distribution in Danes, intra and inter laboratory reproducibility of the technique. – *Forensic Sci Int.*, 60 (1-2), 47-56. PMID: [8101829](#).
- Verbenko DA, Kekeeva TV, Pogoda TV, Khusnutdinova EK, Mikulich AI, Kravchenko SA, Livshits LA, Bebyakova NA, Limborska SA. (2003) Allele frequencies for D1S80 (pMCT118) locus in some East European populations. – *J Forensic Sci.*, 48 (1), 207-208. PMID: [12570233](#).
- 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](#).
- Verbenko DA, Slominsky PA, Spitsyn VA, Bebyakova NA, Khusnutdinova EK, Mikulich AI, Tarskaia LA, Sorensen MV, Ivanov VP, Bets LV, Limborska SA. (2006) Polymorphisms at locus D1S80 and other hypervariable regions in the analysis of Eastern European ethnic group relationships. – *Ann Hum Biol.*, 33 (5-6), 570-584. PMID: [17381055](#).
- Watanabe G, Umetsu K, Suzuki T. (1996) [On the origin of extra bands at MCT118 typing]. – *Nihon Hoigaku Zasshi.*, 50 (1), 10-16. Japanese. PMID: [8851082](#).
- Zhang N, Yeung ES. (1996) Genetic typing by capillary electrophoresis with the allelic ladder as an absolute standard. – *Anal Chem.*, 68 (17), 2927-2931. PMID: [8794927](#).

### 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/d1s80.pdf>.

Адресуйте все вопросы, предложения, а также возможные рекламации:

Интернет: [www.tapotili.ru](http://www.tapotili.ru)

Электронная почта: [info@tapotili.ru](mailto:info@tapotili.ru)

Моб. тел.: +7-903-786-4-789.

Ефремов Илья Алексеевич, кандидат биологических наук