

IgH-VNTR

Хромосомная локализация: 14q32.33 (позиции 105 867 200 – 105 868 200)



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

*Тандемные повторы: 50 нуклеотидов, усреднённого мотива
{aaaggccgcg tcctaaacag tgcgtgggcc acgtgagcgg agcaggctct}*

Другие названия: IgH-5'VNTR, IGH, IGHJ, HVR-Ig, HVR-IgH, Ig-J_H, Ig-JH.

Референтные генотипы

ДНК K562	ДНК L-68	ДНК 007	ДНК 2800M	ДНК CO
8/8	12/12	10/16	10/16	12/16

Подчёркнуты аллели, визуально более интенсивные в гелях.

Общие сведения и диагностическая значимость

Полиморфный минисателлит *IgH-VNTR* впервые был описан в работе *Silva et al., 1987*. На тот момент он был локализован авторами в области 5' от гена, кодирующего тяжёлую цепь иммуноглобулина человека: *Human Ig heavy chain J (H)-5'-region* (нуклеотидная последовательность Y00130). По уточнённым современным данным, этот минисателлит расположен в локусе IGH (кластер генов, immunoglobulin heavy locus, Gene ID: [3492](#)), между участками, кодирующими IGHJ1, IGHD7-27 (immunoglobulin heavy diversity 7-27) и IGHD1-26 (immunoglobulin heavy diversity 1-26). Сам локус IGH (другие названия IGD1; IGH@; IGHJ; IGHV; IGHD@; IGHJ@; IGHV@; IGH.1@; IGHDY1) имеет общий размер 1 293 408 нуклеотидов (по данным GRCh38.p7, release 108) и включает V (variable), D (diversity), J (joining) и C (constant) сегменты.

Минисателлит *IgH-VNTR* состоит из тандемно повторяющихся последовательностей со средней длиной 50 п.н., внутренне гетерогенных из-за делеций и замен отдельных нуклеотидов. Этот маркер может быть использован для картирования делеций и транслокаций на длинном плече хромосомы 14 при ряде патологий (например, ОММ: [613457](#), синдром Темпла, синдром Кагами-Огата, предрасположенность к коронарной болезни сердца 4, *Bonthron et al., 1993*).

В 1990 г. этот локус был предложен для использования в приложениях по идентификации личности и установлению спорного родства (*Decorte et al., 1990*). В 1993 г. был разработан набор реагентов для использования этого полиморфного маркера для аналогичных приложений на территории России (*Чистяков и др., 1993*). В 2002 г. были опубликованы результаты исследования аллельного полиморфизма *IgH-VNTR* на выборке из 462 неродственных человек, проживающих на территории Урала, Сибири и Северного Казахстана (*Бинько и др., 2002*). В этой же работе была установлена нуклеотидная последовательность одного из «новых» аллелей этого маркера.

Необходимо отметить, что в различных литературных источниках была использована разная нумерация аллелей для этого локуса. При этом число тандемных повторов для одного и того же аллеля, исходя из разных обозначений, может различаться как минимум на один повтор. В различных популяциях показано существование аллелей 7 (420 п.н.) – ~30 (>1500 п.н.).

Исходя из хромосомной локализации, локус *IgH-VNTR* может быть сцеплен со следующими маркерами, используемыми в приложениях по идентификации личности: *D14S1434*.

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	30-35 циклов	Последний синтез цепи
95°C, 2 мин	94°C, 30 сек 65-68°C, 30 сек 72°C, 60 сек	72°C, 5 мин

Регистрация результатов

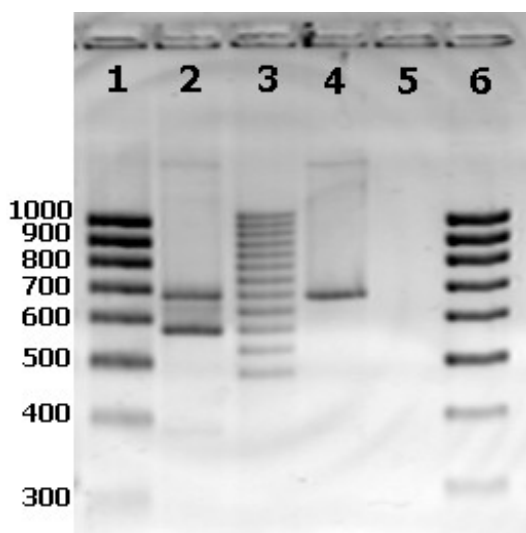
Разделение продуктов ПЦР и определение аллелей (генотипов) можно проводить как в неденатурирующих ПАГ (6-10%Т, 3-4%С, длина гелей 10-20 см), так и в 1,5-2% агарозных гелях (длина гелей 10-15 см).

Для простой и уверенной идентификации аллелей по данному локусу рекомендуется использовать соответствующую «псевдоаллельную лестницу», которая содержит 12 фрагментов ДНК размером от 470 до 1020 п.н. и соответствует аллелям 8 ... 19. Эти аллели выделены зелёным цветом в таблице аллельных частот.

В связи с различиями нуклеотидных последовательностей истинных аллелей локуса *IgH-VNTR* и фрагментов ДНК в «псевдоаллельной лестнице», возможно определенное несоответствие амплифицированных аллелей фрагментам в «лестнице» («сдвиг» полос, в основном – при использовании ПАГ). Это не является критичным для уверенного генотипирования, но интенсивность такого «сдвига» сложным образом зависит от конкретных условий проведения электрофореза.

Идентификация аллелей по этому маркеру может осуществляться и без «псевдоаллельной лестницы», только по различным нелокусным высокомолекулярным стандартам ДНК (например, *100 bp DNA Ladder*), в сочетании с компьютерными программами, позволяющими рассчитывать размер фрагментов ДНК по сравнительным длинам пробега в гелях.

Пример генотипирования исследуемых образцов по локусу *IgH-VNTR* в агарозном геле с использованием нелокусного высокомолекулярного стандарта и «псевдоаллельной лестницы». Фрагмент окрашенного бромистым этидием 2%-го агарозного геля.



Электрофорез проводился в горизонтальной мини-камере *Wide Mini-Sub Cell GT* (#170-4468, Bio-Rad Laboratories, США) с 1X «быстрым» *SB*-буфером (Brody & Kern, 2004).

Условия электрофореза: длина геля 5 см, расстояние между электродами камеры 15 см, напряжение 200В, общее время электрофореза 30 мин.

Дорожки 1 и 6 – нелокусный высокомолекулярный стандарт *100 bp DNA Ladder* (размеры фрагментов ДНК от 1000 до 300 п.н. указаны слева на полях).

Дорожка 3 – «псевдоаллельная лестница» для локуса *IgH-VNTR*, которая соответствует аллелям 8 ... 19.

Дорожки 2 и 4 – исследуемые образцы ДНК. Генотипы 10/12 и 12/12 соответственно.

Дорожка 5 – отрицательный контроль ПЦР.

Ссылки:

- Бинько И.А., Шорохова Д.А., Шварц Ю.Б., Демаков С.А., Новоселов В.П. (2002) Анализ распределения аллелей гипервариабельного локуса HVR-IgH среди неродственных представителей населения, проживающего на территории Урала, Сибири и северного Казахстана. – Генетика, 38 (4), 529-533, PMID: [12018171](#).
- Чистяков Д.А., Гаврилов Д.К., Овчинников И.В., Носиков В.В. (1993) Анализ распределения аллелей четырех гипервариабельных tandemных повторов среди неродственных представителей русской нации, проживающих в Москве, с помощью полимеразной цепной реакции. – Молекулярная биология, 27 (6), 1304-1314, PMID: [7904327](#).
- Bonthron D.T., Smith S.J., Fantes J., Gosden C.M. (1993) De novo microdeletion on an inherited Robertsonian translocation chromosome: a cause for dysmorphism in the apparently balanced translocation carrier. – Am J Hum Genet., 53 (3), 629-637. PMID: [8352273](#).
- Brody J.R., Kern S.E. (2004) Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. – Biotechniques, 36 (2), 214-216. Erratum in: Biotechniques, 2005, 38 (1), 60. PMID: [14989083](#).

- 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](#).
- Matsuda F., Ishii K., Bourvagnet P., Kuma K., Hayashida H., Miyata T., Honjo T. (1998) The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus. – J. Exp. Med., 188 (11), 2151-2162, PMID: [9841928](#).
- Silva A.J., Johnson J.P., White R.L. (1987) Characterization of a highly polymorphic region 5' to J_H in the human immunoglobulin heavy chain. – Nucleic Acids Res., 15 (9), 3845-3857, PMID: [2884636](#).
- 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_H, D17S30, ApoB and D1S80 loci in northwestern Russians. – Forensic Sci. Int., 137 (1), 100–103, PMID: [14550622](#).

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *IgH-VNTR*

Аллели	Размеры аллелей, п.н.	Консервативная оценка частот аллелей для европейского населения России
7	420	0,01
8	470	0,17
9	520	0,07
10	570	0,38
11	620	0,01
12	670	0,3
13	720	0,05
14	770	0,01
15	820	0,01
16	870	0,15
17	920	0,02
18	970	0,01
19	1020	0,01
20 и больше	>= 1070	0,01

Нумерация аллелей отражает число содержащихся в них tandemных повторов.

Использована нумерация, предложенная в работе *Silva et al., 1987* (референтная последовательность *Y00130*).

Референтные нуклеотидные последовательности

Доступ к GenBank	Дата публикации	Число tandemных повторов в референтной последовательности	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
Y00130	07-MAY-1992	13 (позиции повторов 47...696)	720
X97051	26-JUL-2016	11	670
NT_026437	06-JUN-2016	8	520
NG_001019	01-FEB-2017	8	520

Y00130: “Human Ig heavy chain J (H)-5'-region. /note="region of 13 50bp repeats”.

X97051: “DNA sequence of the human immunoglobulin D segment locus”.

NT_026437: “Homo sapiens chromosome 14 genomic scaffold, GRCh38.p7 Primary Assembly HSCHR14_CTG1”.

NG_001019: “Homo sapiens immunoglobulin heavy locus (IGH) on chromosome 14”.

GC-состав ПЦР-продукта: **64%** (по последовательности *Y00130*).

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 [ОКПД](#) (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.