

## IL1RN-VNTR

**Хромосомная локализация:** 2q14.1 (позиции 113 130 400 – 113 131 000)



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

**Тандемные повторы:** 86 нуклеотидов мотива

{atcctgggga aagtgagga aatatggaca tcacatgga caacatccag gagactcagg cctctaggag taactgggta gtgt gc}.

**Другие названия:** *IL-1RN VNTR*, *IL1RN (VNTR)*, *IL-1RA VNTR*, *IL1-ra VNTR*, [rs2234663](#).

### Референтные генотипы

ДНК K562	ДНК 9947A	ДНК 9948	ДНК L-68	ДНК 007	ДНК 2800M	ДНК CO	ДНК CP
2/4	4/4	2/4	2/4	4/4	2/4	2/4	2/5

Подчёркнуты аллели, визуально более интенсивные в гелях.

### Общие сведения и диагностическая значимость

Цитокины представляют собой небольшие молекулы-медиаторы, которые участвуют в формировании и регуляции защитных реакций организма. По механизму действия интерлейкины семейства 1 (*IL-1*) являются *провоспалительными* цитокинами, то есть они обеспечивают *активацию* воспалительного ответа на проникновение в организм патогенов, повреждение тканей и пр. Однако сверх-продукция этих цитокинов часто приводит к развитию системной воспалительной реакции и является одной из причин развития целого ряда патологий. Интерлейкины 1α (альфа, *IL1A*) и 1β (бета, *IL1B*) являются сходными по структуре и функциям, при этом у человека доминирующей формой является *IL1B*. Биологическая активность этих двух интерлейкинов реализуется посредством их взаимодействия с рецепторами *IL1R1*, расположенными на поверхности клеточных мишеней. Этот провоспалительный сигнальный каскад деактивируется при связывании с рецептором *IL1R1* соответствующего белка, *конкурентного антагониста*, *IL-1RA*. Структура этого антагониста ближе к *IL1B*, чем к *IL1A*. При недостаточном уровне антагониста *IL-1RA* воспалительный процесс в организме остаётся активным, и в ряде случаев при терапии воспалительных заболеваний используется искусственно синтезируемый белок-антагонист (препарат *анакинра*).

Кластер из нескольких генов, кодирующих белки семейства 1 интерлейкинов, в том числе *IL1A*, *IL1B*, *IL-1RA* имеет общую протяжённость около 400 т.п.н. и расположен на длинном плече хромосомы 2 человека (2q14.1). Ген *IL1RN* (*interleukin 1 receptor antagonist*, NCBI Gene ID: [3557](#)) состоит из 11 экзонов и имеет общую протяжённость около 35 т.п.н. Другие названия этого гена: *DIRA*, *IRAP*, *IL1F3*, *IL1RA*, *MVCD4*, *IL-1RN*, *IL-1ra*, *IL-1ra3*, *ICIL-1RA*. В результате альтернативного сплайсинга образуются разные изоформы антагониста, внутриклеточные и секретируемые (*icIL-1Ra* и *sIL-1Ra*, соответственно; *Redlitz et al., 2004*). В гене *IL1RN* описан ряд мутаций, приводящих к различным патологиям (ОМIM: [147679](#)).

Полиморфный минисателлит *IL1RN-VNTR* расположен в интроне 2 гена *IL1RN* и состоит из тандемных повторов размером 86 п.н. (*Lennard et al., 1992*; *Tarlow et al., 1993*). Область повторов содержит белок-связывающие регуляторные участки, поэтому число повторов имеет функциональное значение, регулирующее уровень экспрессии этого гена (*Tarlow et al., 1993*). Механизмы такой регуляции окончательно неясны, была предложена и экспериментально обоснована модель аллель-специфического накопления соответствующей мРНК (*Redlitz et al., 2004*). Было также отмечено, что носители гомозиготного генотипа 2/2, в отличие от обладателей других генотипов, в целом демонстрируют более длительный и сильный провоспалительный иммунный ответ (*Witkin et al., 2002*).

В литературе наблюдаются существенные разночтения при обозначении аллелей минисателлита *IL1RN-VNTR*. В исходной работе, характеризующей полиморфизм этого маркера, обозначения A1 и A2 были присвоены наиболее частым аллелям (с четырьмя и двумя повторами, соответственно, *Tarlow et al., 1993*). Это обозначение было широко использовано во многих последующих работах других авторов, но при этом остальные аллели маркировались достаточно произвольно и по-разному (см., например, *Jaiswal et al., 2012*; *Rueda et al., 2005*; *Vamvakopoulos et al., 2002*). Однако к настоящему времени общеупотребительной для всех локусов с тандемными повторами является нумерация аллелей по числу содержащихся в них повторов. Именно эта нумерация будет использоваться далее. В этой связи можно отметить, что аллелю с двумя повторами повезло – он именно так (аллель 2) и обозначается во всех работах.

В различных популяциях показано существование шести аллелей №1 – 6, содержащих от одного до шести повторов, соответственно. При этом наиболее частым во всем мире является аллель 4 (с четырьмя повторами). Вторым по встречаемости, опять же во всех исследованных выборках, является аллель 2, в азиатских популяциях частота этого аллеля самая низкая, по сравнению с другими популяциями (Zhang et al., 2017). Остальные аллели встречаются существенно реже, но все они выявлены, в том числе, и у белых европейцев (например, Vamvakopoulos et al., 2002). Показаны достоверные различия в распределении частот аллелей внутри одной мета-популяции в зависимости от этнической принадлежности: например, среди китайцев (Xu et al., 2011).

Начиная с 1993 г., опубликовано огромное количество работ «случай-контроль» по исследованию ассоциации минисателлита *IL1RN-VNTR* с повышенным риском в самых разных патологиях и синдромах. Вот далеко неполный список: коронарный атеросклероз, кардиомиопатия, ишемический инсульт, ревматические пороки сердца, артериовенозная мальформация головного мозга, диабет и сопутствующие осложнения, посттрансплантационная бактериемия, аутизм, биполярное расстройство, шизофрения, болезнь Альцгеймера, болезнь Бехтерева, болезнь Вильсона-Коновалова, болезнь Грейвса, наноптальмия, лихорадочные состояния, осложнения при ортодонтическом лечении, агрессивный периодонтит, остеоартрит, анкилозирующий спондилит, рассеянный склероз, псориаз, ювенильная идиопатическая воспалительная миопатия, иммунная тромбоцитопения, идиопатический легочный фиброз, цирроз печени, пиелонефрит, воспалительные заболевания кишечника, язва двенадцатиперстной кишки, осложнения при внебольничной пневмонии, хиральность, индекс массы тела (*BMIQ13*) и др. Несмотря на отдельные противоречия между разными работами, по совокупности накопленных данных аллель 2 («короткий») ассоциирован как маркер повышенного риска с различными воспалительными заболеваниями.

В 2000 г. этот локус был охарактеризован на выборке из российской популяции и в том числе предложен для использования в приложениях по идентификации личности и установлению спорного родства (Chistyakov et al., 2000). К настоящему времени на различных выборках из российской популяции выполнено большое количество исследований по типу «случай-контроль» (например, Голумбет и др., 2012; Сиротина и др., 2014).

По результатам мета-анализа 86 опубликованных работ, аллель 2 является маркером повышенного риска при системной красной волчанке (*Systemic lupus erythematosus, SLE*):  $OR=1,34$  (Cai et al., 2014). Другой мета-анализ показал ассоциацию *IL1RN-VNTR* с отдельными видами рака, в первую очередь – с раком желудка (71 исследование случай-контроль, усредненно для аллеля 2  $OR=1,23$ , Zhang et al., 2012). Отдельный мета-анализ показал значимую ассоциацию этого маркера с хеликобактерной инфекцией желудка (для аллеля 2  $OR=1,18$ , Zhang et al., 2017). Для хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ, *chronic obstructive pulmonary disease, COPD*) повышенный риск также оказался значимым по результатам мета-анализа ( $OR=1,7$ , Smolonska et al., 2009).

Была показана ассоциация *IL1RN-VNTR* с мужским бесплодием и привычным невынашиванием беременности в индийской популяции (аллель 2 являлся маркером повышенного риска, Jaiswal et al., 2012; Nair et al., 2014). Дополнительный мета-анализ показал значимую ассоциацию риска привычного невынашивания беременности для носителей аллеля 2 именно в азиатских популяциях ( $OR=1,29$ ; Nair et al., 2014).

Относительно ВИЧ-инфекции следует отметить результаты о повышении секреции антагониста *IL-1RA* в клетках под воздействием белка Tat вируса (Reinhold et al., 1996). По генетике спортивной успешности опубликованы данные о повышенной частоте генотипа 2/4 среди профессиональных атлетов по сравнению со спортсменами-любителями (европеоиды Италии,  $OR=1,92$ , Cauci et al., 2010).

Исходя из хромосомной локализации, минисателлит *IL1RN-VNTR* может быть сцеплен с такими полиморфными локусами, используемыми в приложениях по идентификации личности, как *D2S44 (YNH24)*, *D2S1776*.

Другие наиболее значимые и охарактеризованные полиморфные маркеры, исследованные разными авторами вместе с *IL1RN-VNTR*: *rs16944*, *rs1143634* (ген *IL1B*), *rs1800587* (ген *IL1A*), *IL4-VNTR*.

## 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
	56-58°C, 30 сек	
	72°C, 30 сек	

(\*) **Внимание.** Исходя из собственного опыта, 30 циклов ПЦР может оказаться недостаточно для уверенной детекции второго аллеля в гетерозиготных образцах в условиях «предпочтительной амплификации».

### Регистрация результатов

**Аллельная «лестница» в состав наборов по этому локусу не входит.**

Продукты ПЦР могут быть уверенно проанализированы как в агарозных, так и в неденатурирующих полиакриламидных гелях (ПАГ) с использованием различных нелокусных высокомолекулярных стандартов ДНК (например, *100 bp DNA Ladder*, «псевдоаллельная лестница» *D17S5*) и / или образцов положительных контролей с популяционно частым гетерозиготным генотипом 2/4.

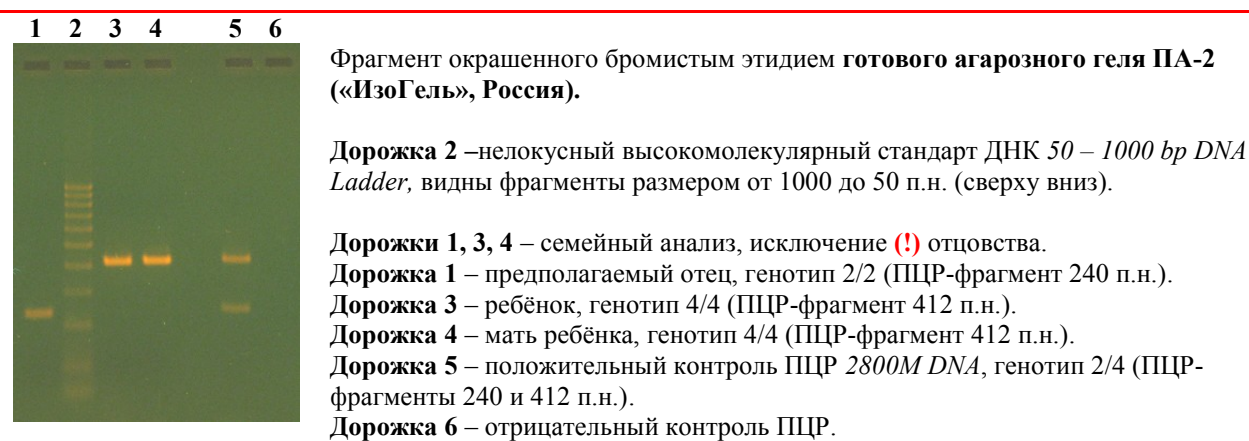
При использовании 1,5-2% агарозных гелей их длина должна составлять не менее 7 см (см. рисунок ниже).

При интерпретации результатов следует учитывать возможный эффект «*предпочтительной амплификации*», особенно в условиях **переизбытка** стартовой ДНК.

В частности, для гетерозигот **2 / 4** (240 и 412 п.н.) весьма часто наблюдается предпочтительная амплификация именно более длинного аллеля **№4** (412 п.н.).

**В сомнительных случаях следует повторить ПЦР, внося в реакцию не более 50 нг ДНК и увеличив число циклов до 40.**

### Пример электрофоретического разделения продуктов ПЦР для полиморфного маркера *IL1RN-VNTR*.



### Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *IL1RN-VNTR*

Аллели (*)	Размеры аллелей, п.н.	Частоты аллелей в выборке из русской популяции (**)	Частоты аллелей, которые рекомендуется использовать для вероятностных расчётов по русской популяции (***)
<b>1</b> (A6)	154	0	0,005
<b>2</b> (A2)	240	0,280	0,284
<b>3</b> (A3)	326	0,032	0,037
<b>4</b> (A1)	412	<b>0,618</b>	0,620
<b>5</b> (A4)	498	0,038	0,043
<b>6</b> (A5)	584	0,032	0,037
> 6	> 584	0	0,005

(\*) **Нумерация аллелей международная согласно числу содержащихся в них тандемных повторов.** В скобках приводится альтернативное обозначение аллелей, по *Jaiswal et al., 2012; Rueda et al., 2005*.

(\*\*) По данным *Chistyakov et al., 2000*; популяционная выборка 93 неродственных человека (контрольная группа здоровых лиц).

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

### Использование мало-полиморфных маркёров в экспертизах спорного отцовства (на примере локуса *IL1RN-VNTR*).

По сравнению со многими микро- и мини-сателлитными локусами, у *IL1RN-VNTR* весьма низкий уровень полиморфизма: к настоящему времени выявлено только шесть аллелей. При этом суммарная частота аллелей 2 и 4 составляет более 80% практически во всех исследованных мировых популяциях. Российские популяции в этом плане не являются исключением: например, для использованной нами «опорной» выборки сумма частот этих двух аллелей составляет **0,898** (0,280+0,618, таблица аллельных частот). Отсюда следует, что в подавляющем большинстве случаев (81%) будут наблюдаться лишь три генотипа: 2/4, 4/4 и 2/2 (перечислены в порядке убывания частоты).

Несмотря на низкий уровень полиморфизма, локус является достаточно информативным в прикладных исследованиях по установлению спорного отцовства (родства).

Например, на изображении геля на предыдущей странице приведён практический случай **исключения отцовства**. Для *IL1RN-VNTR* была установлена следующая комбинация генотипов: предполагаемый отец = 2/2, ребёнок = мать = 4/4. В этом анализируемом случае отцовство мужчины было исключено после исследования в общей сложности 22 полиморфных локусов. При этом исключающий отцовство результат был получен по другим 11 независимым маркёрам. Уместно отметить, что *не-исключающими* в этом случае оказались следующие 10 микросателлитных локусов: *TPOX, D3S1358, CSFIPO, D5S818, D7S820, LPL, D10S1248, TH01, CD4, D22S1045*.

Если говорить об информативности *IL1RN-VNTR* в исследованиях, когда отцовство обследуемого мужчины в отношении ребёнка **подтверждается**, то ситуация видится следующим образом. В самом простом случае, *не-исключения* (выявлено совпадение по одному или двум аллелям) в паре *предполагаемый отец – ребёнок* для всех допустимых комбинаций трёх самых частых генотипов 2/2, 2/4 и 4/4 численные значения индекса отцовства (PI) будут следующими:

Генотип отца	Генотип ребёнка	Частоты аллелей (*)	Формула расчёта PI	Индекс отцовства, PI
2 / 2	2 / 2	p(2)=0,284		<b>3,52</b>
2 / 2	2 / 4	p(2)=0,284		<b>1,76</b>
2 / 4	2 / 2	p(2)=0,284		<b>1,76</b>
2 / 4	2 / 4	p(2)=0,284; p(4)=0,620		<b>1,28</b>
2 / 4	4 / 4	p(4)=0,620		0,81
4 / 4	4 / 4	p(4)=0,620		<b>1,61</b>
4 / 4	2 / 4	p(4)=0,620		0,81

(\*) использованы консервативные оценки аллельных частот для русской популяции.

Из таблицы видно, что для пары *предполагаемый отец – ребёнок* численные значения индекса отцовства являются информативными в пользу подтверждающей родство гипотезы в 71% возможных комбинаций генотипов (5 из 7 вариантов, для которых PI>1).

Таким образом, несмотря на относительно низкий уровень полиморфизма, минисателлит *IL1RN-VNTR* оказывается в высокой степени актуальным для прикладных исследований по установлению спорного отцовства (родства).

### Референтные нуклеотидные последовательности

Доступ к GenBank	Дата публикации	Число tandemных повторов в референтной последовательности	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
<a href="#">AF387734</a>	02-JUL-2001	4	412
<a href="#">AY196903</a>	23-DEC-2002	4	412
<a href="#">X64532</a>	14-NOV-2006	4	412
<a href="#">AJ289235</a>	14-NOV-2006	1	>137 (154)

**AF387734**: “Homo sapiens IL1RN gene, IL1RN-1 allele, intron 2”.

**AY196903**: “Homo sapiens interleukin 1 receptor antagonist (IL1RN) gene, complete cds”.

**X64532**: “H.sapiens gene for interleukin-1 receptor antagonist”.

**AJ289235**: “Homo sapiens partial IL1RN gene for interleukin 1 receptor antagonist, intron 2, repeat region”.

**GC-состав** ПЦР-продукта: 47 и 48% (для аллелей 2 и 4, соответственно).

## Ссылки

- Голимбет В.Е., Коровайцева Г.И., Лежейко Т.В., Абрамова Л.И., Каледа В.Г., Колесина Н.Ю., Каспаров С.В., Савельева Т.М. (2012) Полиморфизмы генов интерлейкина-1 (IL-1B) и антагониста рецептора интерлейкина (IL-1RN) при шизофрении. – Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 112 (12), 63-68. PMID: [23388595](#).
- Сиротина С.С., Тикунова Т.С., Прошаев К.И., Ефремова О.А., Батлуцкая И.В., Якунченко Т.И., Собянин Ф.И., Чурносков М.И., Алексеев С.М. (2014) Изучение роли генетических полиморфизмов интерлейкинов при хроническом лимфолейкозе у людей разного возраста. – Успехи геронтологии, 27 (3), 407-411. PMID: [25826984](#).
- Cai L., Zhang J.W., Xue X.X., Wang Z.G., Wang J.J., Tang S.D., Tang S.W., Wang J., Zhang Y., Xia X. (2014) Meta-analysis of associations of IL1 receptor antagonist and estrogen receptor gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus susceptibility. – PLoS One, 9 (10), e109712. PMID: [25286391](#).
- Cauci S., Di Santolo M., Ryckman K.K., Williams S.M., Banfi G. (2010) Variable number of tandem repeat polymorphisms of the interleukin-1 receptor antagonist gene IL-1RN: a novel association with the athlete status. – BMC Med Genet., 11, 29. PMID: [20175886](#).
- Chistyakov D.A., Savost'yanov K.V., Turakulov R.I., Petunina N.A., Trukhina L.V., Kudinova A.V., Balabolkin M.I., Nosikov V.V. (2000) Complex association analysis of graves disease using a set of polymorphic markers. – Molecular Genetics and Metabolism, 70 (3), 214-218. PMID: [10924276](#).
- 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](#).
- Jaiswal D., Trivedi S., Singh R., Dada R., Singh K. (2012) Association of the IL1RN gene VNTR polymorphism with human male infertility. – PLoS One, 7 (12), e51899. PMID: [23251650](#).
- Lennard A., Gorman P., Carrier M., Griffiths S., Scotney H., Sheer D., Solari R. (1992) Cloning and chromosome mapping of the human interleukin-1 receptor antagonist gene. – Cytokine, 4 (2), 83-89. PMID: [1385987](#).
- Nair R.R., Khanna A., Singh K. (2014) Association of interleukin 1 receptor antagonist (IL1RN) gene polymorphism with recurrent pregnancy loss risk in the North Indian Population and a meta-analysis. – Mol Biol Rep., 41 (9), 5719-5727. PMID: [24952603](#).
- Redlitz K.H., Yamshchikov V.F., Cominelli F. (2004) Differential contribution of IL-1Ra isoforms to allele-specific IL-1Ra mRNA accumulation. – J Interferon Cytokine Res., 24 (4), 253-260. PMID: [15144571](#).
- Reinhold D., Wrenger S., Bank U., Bühling F., Hoffmann T., Neubert K., Kraft M., Frank R., Ansorge S. (1996) CD26 mediates the action of HIV-1 Tat protein on DNA synthesis and cytokine production in U937 cells. – Immunobiology, 195 (1), 119-128. PMID: [8852605](#).
- Rueda B., Zhernakova A., López-Nevot M.A., Martín J., Koeleman B.P. (2005) Association study of functional genetic variants of innate immunity related genes in celiac disease. – BMC Med Genet., 6 (29). PMID: [16078996](#).
- Smolonska J., Wijmenga C., Postma D.S., Boezen H.M. (2009) Meta-analyses on suspected chronic obstructive pulmonary disease genes: a summary of 20 years' research. – Am J Respir Crit Care Med., 180 (7), 618-631. Erratum in: Am J Respir Crit Care Med., 2010, 181, (7), 765. PMID: [19608716](#).
- Tarlow J.K., Blakemore A.I., Lennard A., Solari R., Hughes H.N., Steinkasserer A., Duff G.W. (1993) Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. – Hum Genet., 91 (4), 403-404. PMID: [8500797](#).
- Vamvakopoulos J.E., Taylor C.J., Morris-Stiff G.J., Green C., Metcalfe S. (2002) The interleukin-1 receptor antagonist gene: a single-copy variant of the intron 2 variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism. – Eur J Immunogenet., 29 (4), 337-340. PMID: [12121281](#).
- Witkin S.S., Gerber S., Ledger W.J. (2002) Influence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on disease. – Clin Infect Dis., 34 (2), 204-209. PMID: [11740709](#).
- Xu D.P., Ruan Y.Y., Pan Y.Q., Lin A., Li M., Yan W.H. (2011) VNTR polymorphism of human IL1RN in Chinese Han and She ethnic populations. – Int J Immunogenet., 38 (1), 13-16. PMID: [21054807](#).
- Zhang J., Sun X., Wang J., Zhang F., Li X., Han J. (2017) Association of the IL-1RN variable number of tandem repeat polymorphism and Helicobacter pylori infection: A meta-analysis. – PLoS One, 12 (4), e0175052. PMID: [28384207](#).
- Zhang Y., Liu C., Peng H., Zhang J., Feng Q. (2012) IL1 receptor antagonist gene IL1-RN variable number of tandem repeats polymorphism and cancer risk: a literature review and meta-analysis. – PLoS One, 7 (9), e46017. PMID: [23049925](#).

### 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/il1rn\\_vntr.pdf](http://tapotili.ru/doc/il1rn_vntr.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