

5-HTT-LPR

Хромосомная локализация: 17q11.2 (позиции 30 236 900 – 30 237 500)



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

Тандемные повторы: 20-23 нуклеотида.

Другие названия: 5-HTT LPR, 5-HTTLPR, 5HTTLPR, 44-bp VNTR in the 5-HTT promoter region, HTT, 5HTT, 5-HTT, SERT1, hSERT, SERT.

Референтные генотипы

ДНК L-68	ДНК 2800M	ДНК 9947A	ДНК 007	ДНК K562	ДНК 9948
все 14 / 16 (S / L)				все 16 / 16 (L / L)	

Общие сведения и диагностическая значимость

Минисателлит 5-HTT-LPR расположен в промоторной части гена, кодирующего **переносчик серотонина** (транспортёр серотонина, *serotonin transporter*, *5-hydroxytryptamine transporter*, ген *SLC6A4*, *solute carrier family 6 member 4*, NCBI Gene ID: [6532](#); OMIM: [182138](#)). Функцией соответствующего фермента является обратный захват серотонина из синаптической щели в пресинаптический нейрон или глиальную клетку для последующего использования или метаболизма, то есть **инактивация секретируемого серотонина**. Вернувшийся в клетку нейромедиатор разрушается с помощью фермента моноаминоксидазы типа А (*MAOA*).

В целом, «серотониновая система» мозга участвует в формировании депрессивных, аддиктивных и агрессивных поведенческих реакций. В научно-популярных публикациях серотонин (5-гидрокситриптамин, *5-hydroxytryptamine*, *5-HT*) часто называют «гормоном счастья», уровень которого повышается при эйфории и понижается при депрессии. Серотонин синтезируется преимущественно в мозге, где играет роль тормозящего нейромедиатора, и тонком кишечнике, где уже как тканевый гормон вызывает сокращение гладкой мускулатуры.

Ген транспортёра серотонина *SLC6A4* имеет общую протяжённость более 41 тысячи пар нуклеотидов (п.н.) и состоит из 15 экзонов. Полиморфный маркер 5-HTT-LPR расположен в промоторной (регуляторной) части этого гена, на расстоянии около 1 200 оснований выше от старт-кодона, *linked polymorphic region*, *LPR*.

Первоначально (в 1996 году) полиморфизм 5-HTT-LPR был описан именно как двух-аллельный, то есть инсерционно-делеционный, *In-Del*, с размером вставки **44 нуклеотида**, аллели «короткий» (*short*, *S*) и «длинный» (*long*, *L*), содержащие 14 и 16 повторов соответственно. При этом было показано, что **транскрипционная активность гена *SLC6A4* при наличии аллеля *S* понижена**, что проявляется в более низком уровне обратного захвата серотонина, нежели для носителей аллеля *L* (*Collier et al., 1996; Heils et al., 1996; Lesch et al., 1996; Mortensen et al., 1999*).

Уже к 2000 году возможная ассоциация отдельных аллелей (генотипов) этого полиморфного маркера была изучена в таких исследованиях «случай-контроль», как аффективные и панические расстройства, шизофрения, расстройства аутистического спектра, личностные особенности. При этом результаты различных работ оказались в существенной степени противоречивыми, как с положительными, так и отрицательными ассоциациями, например: *Collier et al., 1996; Cook et al., 1997; Flory et al., 1999; Klauck et al., 1997; Kunugi et al., 1997; Lesch et al., 1996; Malhotra et al., 1998; Matsushita et al., 1997; Mendes de Oliveira et al., 1998; Mortensen et al., 1999*.

В 2000 году полиморфизм 5-HTT-LPR был охарактеризован существенно более детально, на уровне дополнительных и «под-аллелей» (*Nakamura et al., 2000*). Методом секвенирования, то есть анализа именно «полиморфизма последовательностей» было показано существование **не менее 14 аллелей**. При этом *S*-аллель с 14 повторами разбивался на четыре подкласса («под-аллели» 14-A, 14-B, 14-C, 14-D), а аллель *L*, с 16 повторами, – на шесть подклассов (16-A, 16-B, 16-C, 16-D, 16-E, 16-F). Дополнительно были выявлены достаточно редкие аллели 15, 19, 20 и 22 (в японской популяции). Также было показано, что единичный тандемный повтор (шаг между аллелями) незначительно варьирует как по последовательности, так и по длине (20-23 нуклеотида).

Существенно позже, при исследовании очень большой популяционной выборки (8 215 человек) для белых европеоидов США было также показано существование очень редких «длинных» аллелей с 17, 18, 20 и 22 повторами (*Haberstick et al., 2014*). В этой же работе было показано, что именно два аллеля 14 (S) и 16 (L) практически полностью доминируют во всех человеческих расах.

На 2020 год существует огромное количество уже именно мета-обзоров литературы, в существенной степени взвешанно и на большом популяционном материале характеризующих значимость носительства определённых генотипов (или конкретного аллеля) для риска развития отдельных психических и / или поведенческих патологий. К настоящему времени показаны также существенные различия в частотном распределении аллелей и генотипов по этому локусу между отдельными расами и популяциями (например, *Haberstick et al., 2014; Noskova et al., 2008*).

Внутри минисателлита *5-HTT-LPR* локализованы как минимум два точечных полиморфизма (*SNPs*), для которых есть литературные данные о том, что они также в существенной степени влияют на уровень экспрессии гена: *rs25531* и *rs25532*. При этом *rs25531* был исследован при «дифференциальной диагностике» аллелей (гаплотипов) *La/S* и *Lg/S* (*Kazantseva et al., 2008*). В этой же работе, касающейся поиска генов, участвующих в развитии черт личности и темперамента, был исследован и ещё один, тоже уже достаточно хорошо охарактеризованный полиморфный маркер гена *SLC6A4*: он расположен во втором интроне и включает как минимум три аллеля с 9, 10 и 12 повторами (*STin2.VNTR*).

Дополнительные (минорного влияния или мало-охарактеризованные) полиморфизмы, локализованные в гене транспортера серотонина *SLC6A4*, приведены, например, в БД *ALFRED*.

Исходя из хромосомной локализации, полиморфный маркер *5-HTT-LPR* может быть сцеплен с таким микросателлитным локусом, используемым в приложениях по идентификации личности, как *D17S1301*.

Условия ПЦР

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

Смарт 10X ПЦР-буфер и *12,5X смесь праймеров* перед каждым использованием следует полностью разморозить при комнатной температуре и перемешать, встряхнув пробирки на Вортексе в течение нескольких секунд. Затем следует осадить все используемые компоненты на дно пробирок.

Для проведения анализа одного образца в каждую амплификационную пробирку вносят следующие компоненты в указанных количествах:

Деионизованная вода (<i>Deionized water</i>)	19,5 мкл
Смарт 10X ПЦР-буфер (<i>Universal Smart 10X PCR Buffer</i>)	2,5 мкл
12,5X Смесь праймеров (<i>12,5X Set of primers 5'-HTT-LPR</i>)	2 мкл
Исследуемый образец ДНК в концентрации 10-100 нг/мкл (<i>Sample DNA</i>)	1 мкл
Суммарный объём ПЦР	25 мкл

В каждом раунде ПЦР осуществляется также постановка «положительного» (образец К+) и «отрицательного контроля амплификации» (образец К-). В пробирку «отрицательного контроля» вместо исследуемого образца ДНК добавляют такой же объем деионизованной воды. В пробирку «положительного контроля» добавляют **1,0 мкл** поставляемой контрольной ДНК.

Помещают пробирки в амплификатор и проводят ПЦР по следующей программе.

Первая денатурация	30 циклов	Последний синтез цепи
95°C, 2 мин	94°C, 30 сек 62-68°C, 30 сек 72°C, 30 сек	72°C, 5 мин

Внимание!

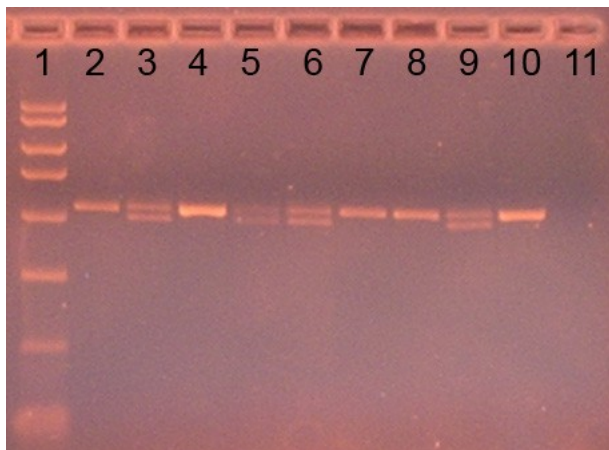
Количество матрицы ДНК, вносимой в ПЦР-смесь, должно быть **не менее 5,0 нг** на 25 мкл реакционной смеси. При использовании меньшего количества ДНК производитель не гарантирует адекватную наработку специфических продуктов реакции при 30 циклах ПЦР. При работе с низкими концентрациями стартовой ДНК число циклов ПЦР следует увеличить до 35.

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* или *50–2000 bp PCR Marker*) и образцов положительных контролей с известными генотипами.

Пример регистрации результатов (генотипирования) по локусу *5-HTT-LPR* в агарозном геле:



Фрагмент окрашенного бромистым этидием агарозного геля (2%, буфер *1X TBE*). В лунки геля наносили по 7 мкл ПЦР-продуктов. Параметры электрофореза: 160 В, 45 минут.

Дорожка 1 – нелокусный высокомолекулярный стандарт ДНК *50–2000 bp PCR Marker (Sigma, США)*, сверху вниз фрагменты размером: 2000, 1500, 1000, 750, 500, 300, 150, 50 п.н.

Дорожки 2, 4, 7, 8, 10 – гомозиготные генотипы **16 / 16 (L/L)**: один ПЦР-фрагмент размером 529 п.н.

Дорожки 3, 5, 6, 9 – гетерозиготные генотипы **14 / 16 (S/L)**: два ПЦР-фрагмента размером 486 и 529 п.н.

Дорожка 11 – отрицательный контроль ПЦР.

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе 5-HTT-LPR

Аллели (*)	Размеры аллелей, п.н.	Частоты аллелей в выборке из русской популяции (**)	Частоты аллелей, которые рекомендуется использовать для вероятностных расчётов по русской популяции (***)
14 (S)	486 (14-A, D) 487 (14-B)	0,397	0,398
15	509	0	0,002
16 (L)	528 (16-C) 529 (16-A, D, E, F) 531 (16-B)	0,603	0,604
17 (L)	(549)	0	0,002
18 (L)	(572)	0	0,002
19 (L)	596	0	0,002
20 (L)	612	0	0,002
22 (L)	654	0	0,002

(*) Нумерация аллелей согласно числу содержащихся в них тандемных повторов. В скобках приводится альтернативное обозначение аллелей. **Жирным** шрифтом выделены наиболее частые аллели и под-аллели для европеоидов.

(**) по данным *Алфимова и др., 2014*; популяционная выборка 232 неродственных человека (контрольная группа здоровых лиц).

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

Референтные нуклеотидные последовательности

Доступ к GenBank	Дата публикации	Число тандемных повторов в референтной последовательности	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
NC_000017	09-SEP-2019	16	529

NC_000017: “Homo sapiens chromosome 17, GRCh38.p13 Primary Assembly. /note="5-HTTLPR polymorphic region; 16 copies of a 20-23 bp tandemly repeated unit found in the L allele; 16-A variant described in PMID:10673766”.

GC-состав ПЦР-продукта: **68%** (для аллеля с 16 повторами).

Ссылки

- Алфимова М.В., Голиббет В.Е., Коровайцева Г.И., Лежейко Т.В., Абрамова Л.И., Аксенова Е.В., Болгов М.И. (2014) Влияние полиморфизма 5-HTTLPR гена переносчика серотонина на распознавание мимически выражаемых эмоций при шизофрении. – Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 114 (1), 42-48. PMID: [24637816](#).
- ALFRED: [LO000231G](#).
- Collier D.A., Stöber G., Li T., Heils A., Catalano M., Di Bella D., Arranz M.J., Murray R.M., Vallada H.P., Bengel D., Müller C.R., Roberts G.W., Smeraldi E., Kirov G., Sham P., Lesch K.P. (1996) A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. – Mol Psychiatry, 1 (6), 453-60. PMID: [9154246](#).
- Cook E.H. Jr., Courchesne R., Lord C., Cox N.J., Yan S., Lincoln A., Haas R., Courchesne E., Leventhal B.L. (1997) Evidence of linkage between the serotonin transporter and autistic disorder. – Mol Psychiatry, 2 (3), 247-250. PMID: [9152989](#).
- Flory J.D., Manuck S.B., Ferrell R.E., Dent K.M., Peters D.G., Muldoon M.F. (1999) Neuroticism is not associated with the serotonin transporter (5-HTTLPR) polymorphism. – Mol Psychiatry, 4 (1), 93-96. PMID: [10089017](#).
- 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](#).

- Haberstick B.C., Smolen A., Stetler G.L., Tabor J.W., Roy T., Rick Casey H., Pardo A., Roy F., Ryals L.A., Hewitt C., Whitsel E.A., Halpern C.T., Killea-Jones L.A., Lessem J.M., Hewitt J.K., Harris K.M. (2014) Simple sequence repeats in the national longitudinal study of adolescent health: an ethnically diverse resource for genetic analysis of health and behavior. – Behav Genet., 44 (5), 487-497. PMID: [24890516](#).
- Heils A., Teufel A., Petri S., Stöber G., Riederer P., Bengel D., Lesch K.P. (1996) Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. – J Neurochem, 66 (6), 2621-2624. PMID: [8632190](#).
- Kazantseva A.V., Gaysina D.A., Faskhutdinova G.G., Noskova T., Malykh S.B., Khusnutdinova E.K. (2008) Polymorphisms of the serotonin transporter gene (5-HTTLPR, A/G SNP in 5-HTTLPR, and STin2 VNTR) and their relation to personality traits in healthy individuals from Russia. – Psychiatr Genet., 18 (4), 167-176. PMID: [18628678](#).
- Klauck S.M., Poustka F., Benner A., Lesch K.P., Poustka A. (1997) Serotonin transporter (5-HTT) gene variants associated with autism? – Hum Mol Genet., 6 (13), 2233-2238. PMID: [9361027](#).
- Kunugi H., Hattori M., Kato T., Tatsumi M., Sakai T., Sasaki T., Hirose T., Nanko S. (1997) Serotonin transporter gene polymorphisms: ethnic difference and possible association with bipolar affective disorder. – Mol Psychiatry, 2 (6), 457-462. PMID: [9399688](#).
- Lesch K.P., Bengel D., Heils A., Sabol S.Z., Greenberg B.D., Petri S., Benjamin J., Müller C.R., Hamer D.H., Murphy D.L. (1996) Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. – Science, 274 (5292), 1527-1531. PMID: [8929413](#).
- Malhotra A.K., Goldman D., Mazzanti C., Clifton A., Breier A., Pickar D. (1998) A functional serotonin transporter (5-HTT) polymorphism is associated with psychosis in neuroleptic-free schizophrenics. – Mol Psychiatry, 3 (4), 328-332. PMID: [9702741](#).
- Matsushita S., Muramatsu T., Kimura M., Shirakawa O., Mita T., Nakai T., Higuchi S. (1997) Serotonin transporter gene regulatory region polymorphism and panic disorder. Mol Psychiatry, 2 (5), 390-392. PMID: [9322231](#).
- Mendes de Oliveira J.R., Otto P.A., Vallada H., Lauriano V., Elkis H., Lafer B., Vasquez L., Gentil V., Passos-Bueno M.R., Zatz M. (1998) Analysis of a novel functional polymorphism within the promoter region of the serotonin transporter gene (5-HTT) in Brazilian patients affected by bipolar disorder and schizophrenia. – Am J Med Genet., 81 (3), 225-227. PMID: [9603609](#).
- Mortensen O.V., Thomassen M., Larsen M.B., Whitemore S.R., Wiborg O. (1999) Functional analysis of a novel human serotonin transporter gene promoter in immortalized raphe cells. – Brain Res Mol Brain Res, 68 (1-2), 141-148. PMID: [10320791](#).
- Nakamura M., Ueno S., Sano A., Tanabe H. (2000) The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants. – Mol Psychiatry, 5 (1), 32-38. PMID: [10673766](#).
- Noskova T., Pivac N., Nedic G., Kazantseva A., Gaysina D., Faskhutdinova G., Gareeva A., Khalilova Z., Khusnutdinova E., Kovacic D.K., Kovacic Z., Jokic M., Seler D.M. (2008) Ethnic differences in the serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR) in several European populations. – Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 32 (7), 1735-1739. PMID: [18700161](#).

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.

- 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.**

Состав набора и условия хранения компонентов

Компонент	Условия хранения	Количество
Реакционные компоненты (хранить в зоне для постановки ПЦР)		
Деионизованная вода (Deionized water)	При комнатной температуре (-20°C)	1 пробирка (3 мл)
Смарт 10X ПЦР-буфер (Smart 10X PCR Buffer)	-20°C	1 пробирка (250 мкл)
12,5X Смесь праймеров (12,5X Set of primers)	-20°C	1 пробирка (200 мкл)
Вазелиновое масло (Paraffinic Oil)	При комнатной температуре	1 флакон (при необходимости, 4 мл)
Реакционные компоненты (хранить в зоне для обработки клинического материала)		
Контрольная ДНК (Control DNA)	-20°C (+4°C)	1 пробирка (30 мкл)
Пост-реакционные компоненты (хранить в электрофоретической зоне)		
6X Буфер для нанесения на гель (6X Loading Solution)	-20°C (+4°C)	1 пробирка (1 мл)
Высокомолекулярный стандарт ДНК (DNA Marker)	-20°C (+4°C)	1 пробирка (на 30 постановок)
Дополнительные материалы		
Инструкция по применению	При комнатной температуре	1 (при необходимости)

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/5_htt_lpr.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