

CCR5-delta32

Назначение

Набор реагентов предназначен для определения мутации гена хемокиновых рецепторов *CCR5*, повышающей устойчивость к ВИЧ инфекции. [ОМIM](#): 609423.

Выявляемая мутация *CCR5-Delta32* представляет собой делецию размером 32 пары нуклеотидов (п.н.).

Метод исследования

Основной. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с последующей детекцией результатов методом электрофореза (агарозные или полиакриламидные гели).

Дополнительные. ПЦР в реальном времени, фрагментный анализ на автоматическом генетическом анализаторе, секвенирование по Сэнгеру (экзон 3 полностью, 3 315 оснований) – по согласованию.

Материал для исследования

ДНК, выделенная из биологического материала человеческого происхождения (кровь, пятна крови, буккальный эпителий, сперма и др.).

Приборное обеспечение

Любые модели амплификаторов (термоциклеров) – для основного метода.

Состав набора и условия хранения компонентов

Набор рассчитан на постановку 100 реакций ПЦР объёмом 25 мкл, включая положительные и отрицательные контроли. В состав набора также включены два реагента для детекции продуктов ПЦР. Формат наборов нераскапанный.

Название реагента	Условия хранения	Количество пробирок / объём (*)
Реакционные компоненты (хранить в зоне для постановки ПЦР)		
Деионизованная вода <i>Deionized water</i>	При комнатной температуре	1 пробирка из расчёта 2 мл на 100 реакций
Смарт 10X ПЦР-буфер <i>Smart 10X PCR Buffer (**)</i>	-20°C	1 пробирка 250 мкл, на 100 реакций
12,5X Смесь праймеров <i>12,5X Set of primers</i>	-20°C	1 пробирка 200 мкл, на 100 реакций
Вазелиновое масло <i>Paraffinic Oil (***)</i>	При комнатной температуре	1 пробирка из расчёта 2 мл на 100 реакций
Контрольная ДНК <i>Control DNA</i>	-20°C (+4°C)	1 пробирка из расчёта 15 мкл на 1 набор
Пост-реакционные компоненты (хранить в электрофоретической зоне)		
6X Буфер для нанесения на гель <i>6X Loading Solution</i>	-20°C (+4°C)	1 пробирка из расчёта 500 мкл на 1 набор
Высокомолекулярный стандарт ДНК <i>DNA Marker (****)</i>	-20°C (+4°C)	1 пробирка из расчёта 15 постановок на 1 набор

(*) При одновременной поставке нескольких наборов (на 200 и более реакций) отдельные компоненты поставляются в единичных пробирках, с пропорциональным увеличением объёмов соответствующих реагентов (вода, масло, контрольная ДНК, а также все пост-реакционные компоненты).

(**) *Смарт 10X ПЦР-буфер*. Универсальный реакционный буфер, уже содержит смесь дезоксирибонуклеозидтрифосфатов и *Смарт Таq-полимеразу*. Состав: 166mM (NH₄)₂SO₄; 670mM Tris-HCl (pH 8.8 при 25°C); 0.1% Tween-20; 20mM MgCl₂; 2mM каждый dNTP; 0,5 ед./мкл *Смарт Таq-полимеразы*; стабилизатор. При использовании *Смарт 10X ПЦР-буфера* все реакции автоматически начинаются в режиме «горячего старта». *Стабилизатор* обеспечивает воспроизводимость результатов после большого количества циклов замораживания-оттаивания (более 100) в процессе хранения без снижения активности *Смарт Таq-полимеразы*.

(***) Вазелиновое масло используется только с амплификаторами без нагреваемой крышки.

(****) Доступны различные высокомолекулярные стандарты ДНК: для использования как в агарозных, так и в полиакриламидных гелях, по согласованию.

Приготовление смеси для ПЦР

Смарт 10X ПЦР-буфер, 12,5X смесь праймеров и образцы исследуемой ДНК перед каждым использованием следует полностью разморозить при комнатной температуре. Затем перемешать содержимое пробирок, встряхнув на Вортексе в течение нескольких секунд. Осадить содержимое всех используемых пробирок на дно коротким центрифугированием.

Для постановки ПЦР для одного образца ДНК в амплификационную пробирку вносят следующие реагенты в указанном порядке:

Реагент	Объём
Деионизованная вода	19,5 мкл
Смарт 10X ПЦР-буфер	2,5 мкл
12,5X смесь праймеров	2 мкл
Исследуемый образец ДНК с концентрацией 10-100 нг/мкл (*)	1 мкл
<i>Суммарный объём реакционной смеси</i>	<i>25 мкл</i>

(*) При работе с низкими концентрациями ДНК (<10 нг/мкл) следует увеличить вносимый в реакционную смесь объём исследуемого образца за счёт соответствующего уменьшения объёма деионизованной воды.

Внимание!

Количество анализируемой ДНК 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.

В каждом раунде ПЦР обязательно осуществляется постановка «положительного» и «отрицательного» контролей амплификации (образцы К+ и К-). Образец К- необходим для контроля как возможного загрязнения компонентов наборов чужеродной ДНК, так и соблюдения чистоты условий в конкретном раунде пробоподготовки. В пробирку «отрицательного контроля» вместо исследуемого образца ДНК добавляют такой же объём деионизованной воды.

Образец К+ необходим для контроля работоспособности всех компонентов набора, корректности приготовления реакционной смеси и проведения ПЦР. В пробирку «положительного контроля» добавляют **1 мкл** (10 нг) поставляемой контрольной ДНК.

При использовании амплификаторов без нагреваемой крышки во все пробирки добавляют по одной капле вазелинового масла (примерно 20-25 мкл) для предотвращения испарения реакционной смеси.

После добавления всех компонентов реакционную пробирку следует сразу закрыть. Пробирки откручивают в течение нескольких секунд на Вортексе для осаждения капель реакционной смеси со стенок и удаления возможных пузырьков воздуха между реакционной смесью и маслом. Рекомендуется начинать ПЦР в течение 30 минут после смешивания образцов ДНК с остальными компонентами реакционной смеси.

Помещают пробирки в амплификатор и проводят ПЦР по соответствующей программе.

Условия ПЦР

Первая денатурация	30-35 циклов (*)	Последний синтез цепи
95°C, 2 мин	94°C, 20 сек 58°C, 20 сек 72°C, 20 сек	72°C, 5 мин

(*) Указанные интервалы времени подразумевают использование тонкостенных пробирок для ПЦР.

Внимание!

Количество анализируемой ДНК 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. При работе с низкими (или неизвестными) концентрациями стартовой ДНК число циклов ПЦР следует увеличить до 35. Для 35 циклов показана уверенная детекция продуктов реакции для 2,0 нг стартовой ДНК.

После завершения ПЦР все пробирки следует собрать в штатив и перенести в электрофоретическую зону. Образцы можно сразу же анализировать методом электрофореза или хранить при 2-8°C несколько недель, а при -20°C – несколько месяцев. Допустимо хранение пост-реакционных образцов при комнатной температуре.

Регистрация результатов

Аmplифицированные фрагменты ДНК можно анализировать в агарозных (1,5-2,5%) или в 6-12% неденатурирующих полиакриламидных гелях (ПАГ).

Перед нанесением на гель анализируемые образцы смешиваются с *буфером для нанесения на гель (6X Loading Solution)* в объёмном соотношении 5:1. Можно сразу по окончании ПЦР добавить во все пробирки по 5-6 мкл этого буфера. Присутствие красителей в буфере облегчает нанесение образцов на гель и позволяет в процессе электрофореза контролировать, в какой части геля находятся фрагменты ДНК нужного размера.

В зависимости от количественного выхода продуктов ПЦР и метода визуализации фрагментов ДНК для одного нанесения на гель следует брать **5-8 мкл** амплифицированного образца. Как минимум одну дорожку в геле используют для нанесения *высокомолекулярного стандарта ДНК*.

Электрофорез проводят при напряжённости поля не более 15 В/см (агарозные гели) или 25 В/см (ПАГ), помещая гель стартовыми лунками к катоду (-). В среднем, в зависимости от используемых источников питания и камер для электрофореза, для агарозных гелей реальное значение напряжения составляет 150-250 В, основным критерием завышенных значений напряжения (мощности) является перегрев геля и буфера, а также появление эффекта «улыбки» для фронта красителей.

По окончании электрофореза окрашивают гель и документируют полученные результаты. Любые гели можно окрашивать в растворе бромистого этидия (концентрация раствора 0,5 мкг/мл, окрашивание в течение 20-40 мин) с последующей промывкой в дистиллированной воде и просмотром в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе (длина волны 254 или 302 нм). ПАГ можно также окрашивать нитратом серебра.

Полученные результаты документируют фотографированием (видеосъёмкой, сканированием) гелей с использованием при необходимости оранжевого или интерференционного (594 нм) светофильтра или в виде высушенных гелей (в случае окрашивания ПАГ серебром).

Учёт результатов

Визуализация каких-либо полос в диапазоне от 100 до 1000 п.н. на дорожках *отрицательного контроля* свидетельствует о загрязнении реакционной смеси чужеродной ДНК (контаминации). Результаты анализа в таких случаях не подлежат учёту для всех образцов.

Визуализация *одной (320 п.н.)* или *двух (320 и 288 п.н.)* отчётливых полос указанных размеров (зависит от используемой контрольной ДНК) на дорожках *положительного контроля* свидетельствует об успешном прохождении ПЦР. Результаты анализа в таких случаях могут быть успешно учтены.

Для исследуемых образцов на дорожках в геле должны отчетливо выявляться **один** (для двух разных гомозиготных генотипа) или **два** (для единственного гетерозиготного генотипа) амплифицированных фрагмента ДНК.

Выявление в образце только одного фрагмента ДНК размером 320 п.н. свидетельствует о гомозиготном нормальном генотипе (*Wild Type, WT, +/+*). Это наиболее частый результат исследования.

Выявление в образце двух фрагментов ДНК размером 320 и 288 п.н. свидетельствует о гетерозиготном, частично протективном в отношении ВИЧ инфекции генотипе *+ / del*. Это второй по частоте наблюдений результат исследования.

Выявление в образце только одного фрагмента ДНК, размером 288 п.н., свидетельствует о гомозиготном *мутантном* генотипе *del/del*. Это наиболее редкий результат исследования. Практически полностью протективный в отношении ВИЧ инфекции генотип.

Референтные генотипы

ДНК K562	ДНК 9947A	ДНК 9948	ДНК 2800M	ДНК 007	ДНК L-68	ДНК CO
+ / + (WT)	+ / + (WT)	+ / + (WT)	+ / + (WT)	+ / + (WT)	+ / + (WT)	+ / del

Полиморфизм: *вставка / отсутствие вставки, INDEL, 32 нуклеотида (- / gtcagtatcaattctggaagaattccagaca).*

Другие названия: *CCR5 Δ32, CCR5del32, CKR-5-d32, rs333 (rs4646963, rs56030631, rs62627090)*

Хромосомная локализация: *3p21.31 (позиции 46 373 300 – 46 373 700)*



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

Общие сведения и диагностическая значимость

Хемокинами называются небольшие белки (размером от 8 до 10 кДа), основной функцией которых является контроль клеточной миграции. Рецепторы хемокинов являются трансмембранными белками. К настоящему времени идентифицировано около 50 хемокинов и 20 хемокиновых рецепторов.

В восьмидесятых годах прошлого века начался поиск генов, полиморфные варианты которых могут влиять на процесс заражения и развития инфекции, обусловленной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Последующие открытия выявили тесную связь между хемокинами, хемокиновыми рецепторами и ВИЧ-инфекцией.

Гликопротеины *gp120* и *gp41* оболочки ВИЧ связываются с поверхностью клетки-мишени благодаря своему высокому родству к *CD4*, основному вирусному рецептору. Последующее взаимодействие с хемокиновыми рецепторами запускает конформационные изменения, приводящие к слиянию вирусной оболочки и клеточной мембраны.

В 1996 году был идентифицирован бета-хемокиновый рецептор *CCR-5* (позже переименованный в *CCR-5, chemokine (C-C) receptor 5*), представленный на поверхности многих клеток, включая *CD4*, *CD8* и активированные *T*-клетки (*Samson et al., 1996a*). *CCR-5* является основным корецептором для таких подвидов ВИЧ, как *NSI* и *R5-HIV-1* (*Deng et al., 1996; Dragic et al., 1996*).

Ген, кодирующий этот хемокиновый рецептор, *CCR5* (Gene ID: [1234](#)), расположен на коротком плече хромосомы 3 человека (3p21.31), имеет размер 6 065 н.о., и для него показано существование двух транскриптов. Первоначально этот ген был описан как состоящий из четырёх экзонов и только двух интронов (*Mummidi et al., 1997*).

Мутация *Delta32* (*D32*) в гене *CCR5* впервые была описана в 1996 г. (*Liu et al., 1996; Samson et al., 1996b*). Делеция в третьем экзоне 32 нуклеотидных оснований приводит к сдвигу рамки считывания на 185-ом аминокислотном основании, что вызывает преждевременное окончание трансляции остающихся 168 аминокислотных оснований (*Ansari-Lari et al., 1997*). Такой мутантный белок лишается трёх последних (из семи) трансмембранных сегментов и теряет функциональность. При этом мутация находится в области второй трансмембранной петли.

В 1996 году было высказано обоснованное предположение, что эта мутация в гомозиготном состоянии приводит к невозможности присоединения вируса ВИЧ к клетке-хозяину (невозможности инфицирования носителя мутации ВИЧ). А мутация в гетерозиготном состоянии существенно уменьшает шанс инфицирования ВИЧ: *a recessive restriction gene against HIV-1 infection* (*Dean et al., 1996; Liu et al., 1996; Samson et al., 1996b*). Во многих последующих работах была показана тесная связь между мутацией *CCR5-delta32* и ВИЧ-инфекцией.

Гетерозиготные носители мутации *CCR5-Delta32* имеют в два раза меньше *нормальных* рецепторов *CCR-5*, что значительно замедляет репликацию вируса и манифестацию заболевания. *Гомозиготные* носители мутантного аллеля вообще приобретают устойчивость к заражению вирусом *R5-HIV-1*.

Начиная с 1997 года, было опубликовано огромное количество работ по частотам этой мутации в различных популяциях, например (одни из первых): *Aceev et al., 1997; Галеева и др., 1998; Libert et al., 1998; Voevodin et al., 1998; Yudin et al., 1998; Zimmerman et al., 1997*. Суммарно, популяционная частота делетированного аллеля для белых (*европеоидных-кавказоидных*) европейцев составила около 10%, и существенно реже этот аллель встречался в других популяциях (*Lucotte, 1997; Martinson et al., 1997*). Сравнительное распределение частот аллелей для маркера *CCR5-delta32* в мировом масштабе можно найти, например, в обновляемой базе данных [ALFRED](#).

К настоящему времени можно заключить, что частота мутации максимальна на севере Европы (около Белого и Балтийского морей) и плавно снижается от этой области во всех направлениях. По отдельным данным, высокая частота мутации наблюдается для некоторых популяций Западной Сибири (шорцы, ханты): «второй мировой максимум» (*Балановская & Балановский, 2007; Yudin et al., 1998*).

В более поздних исследованиях в области молекулярной генетики были описаны и другие полиморфные локусы, влияющие на взаимодействие ВИЧ и организма человека, в первую очередь – *CCR2* и *SDF1* (например, *Кофуади и др., 2007; Apostolakis et al., 2005; Ryabov et al., 2004*). В работе 2016 г. мы насчитали уже не менее 25 генов человека, которые в разной степени были изучены в отношении восприимчивости к ВИЧ-инфекции, и этот список генов (полиморфных маркеров) абсолютно не претендовал на исчерпывающую полноту (*Лебедева и др., 2016*). Однако на сегодняшний день, пожалуй, только для локуса *CCR5-delta32* на большом популяционном материале достоверно показан протективный эффект мутантного аллеля в отношении ВИЧ-инфекции. Для большинства остальных исследуемых в этом плане маркеров данные остаются в разной степени противоречивыми.

Исходя из хромосомной локализации, маркер *CCR5-delta32* может быть сцеплен со следующими полиморфными микросателлитными локусами, используемыми в настоящее время в приложениях по идентификации личности: *D3S1358, D3S4529*.

Таким образом, установление генотипа по полиморфному маркеру *CCR5-delta32* имеет достаточно важное прогностическое значение как для ВИЧ-инфицированных пациентов, так и для здоровых лиц.

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *CCR5-delta32*

Аллели	Размеры аллелей, п.н.	Частоты аллелей в выборке из русской популяции (*)	Частоты аллелей, которые рекомендуется использовать для расчётов индекса и вероятности родства (**)
del32	288	0,0865	0,087
wild	320	0,9135	0,914
новый (другой)	-	0,0000	0,001

(*) по данным *Кофиади и др., 2007*; **объединённая популяционная выборка** из 480 неродственных человек.

(**) «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	Аллель по референтной последовательности	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
KM355945	27-SEP-2014	Wild, INS = gtcagatca attctggaag aatttcaga ca	320
NG_012637	19-MAR-2016	Wild	320

KM355945: “Homo sapiens clone V201 CC chemokine receptor 5 (CCR5) gene, complete cds”.

NG_012637: “Homo sapiens C-C motif chemokine receptor 5 (gene/pseudogene) (CCR5), RefSeqGene on chromosome 3”.

Ссылки

- Асеев М.В., Шапи А., Дин М., Баранов В.С. (1997) Популяционные особенности частот мутации гена хемокинового рецептора CKR-5, определяющие чувствительность к вирусу СПИДа. – Генетика, 33, 1724-1726. PMID: [9493032](#).
- Балановская Е.В., Балановский О.П. (2007) Русский генофонд на Русской равнине. 2007, Москва, «Луч», 416 с. Ссылка: http://www.historylib.org/historybooks/E-V--Balanovskaya--O-P--Balanovskiy_Russkiy-genofond-na-Russkoy-ravnine/
- Галева А.Р., Хуснутдинова Е.К., Сломинский П.А., Лимборская С.А. (1998) Распространенность делеции 32 пн в гене рецептора хемокинов CCR5 в популяциях волго-уральского региона. – Генетика, 34, 1160-1162. PMID: [977363](#).
- Кофиади И.А., Ребриков Д.В., Трофимов Д.Ю., Алексеев Л.П., Хаитов Р.М. (2007) Распределение аллелей генов CCR5, CCR2 и SDF1, ассоциированных с устойчивостью к ВИЧ-инфекции, в российских популяциях. – Доклады Академии наук, 415 (6), 842-845. PMID: [17929678](#).
- Лебедева Н.Н., Ефремов И.А., Туракулов Р.И., Кондрашова Т.В. (2016) Общий генетический балл как метод численной оценки вклада аллельных вариантов ряда полиморфных локусов генома человека в формирование невосприимчивости к заражению ВИЧ-инфекцией. – ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии, 8 (3), 113-128.
- Ansari-Lari M.A., Liu X.-M., Metzker M.L., Rut A.R., Gibbs R.A. (1997) The extent of genetic variation in the CCR5 gene. – Nature Genet., 16, 221-222. PMID: [9207783](#).
- Apostolakis S., Baritaki S., Krambovitis E., Spandidos D.A. (2005) Distribution of HIV/AIDS protective SDF1, CCR5 and CCR2 gene variants within Cretan population. – J. Clin. Virol., 34 (4), 310-314. PMID: [16286055](#).
- Dean M., Carrington M., Winkler C., Huttley G.A., Smith M.W., Allikmets R., Goedert J.J., Buchbinder S.P., Vittinghoff E., Gomperts E., Donfield S., Vlahov D., Kaslow R., Saah A., Rinaldo C., Detels R., Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study, Multicenter Hemophilia Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE Study, O'Brien, S.J. (1996) Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. – Science, 273, 1856-1861. Note: Erratum: Science (1996), 274, 1069. PMID: [8791590](#).
- Deng H., Liu R., Ellmeier W., Choe S., Unutmaz D., Burkhart M., Di Marzio P., Marmon S., Sutton R.E., Hill C.M., Davis C.B., Peiper S.C., Schall T.J., Littman D.R., Landau N.R. (1996) Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. – Nature, 381, 661-666. PMID: [8649511](#).
- Dragic T., Litwin V., Allaway G.P., Martin S.R., Huang Y., Nagashima K.A., Cayanan C., Maddon P.J., Koup R.A., Moore J.P., Paxton W.A. (1996) HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. – Nature, 381, 667-673. PMID: [8649512](#).

- Libert F., Cochaux P., Beckman G., Samson M., Aksenova M., Cao A., Czeizel A., Claustres M., de la Rúa C., Ferrari M., Ferrec C., Glover G., Grinde B., Güran S., Kucinskas V., Lavinha J., Mercier B., Ogur G., Peltonen L., Rosatelli C., Schwartz M., Spitsyn V., Timar L., Beckman L., Parmentier M., Vassart G. (1998) The *deltaccr5* mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. – *Hum. Mol. Genet.*, 7 (3), 399-406. PMID: [9466996](#).
- Liu R., Paxton W.A., Choe S., Ceradini D., Martin S.R., Horuk R., MacDonald M.E., Stuhlmann H., Koup R.A., Landau N.R. (1996) Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. – *Cell*, 86, 367-377. PMID: [8756719](#).
- Lucotte G. (1997) Frequencies of the CC chemokine receptor 5 delta 32 allele in various populations of defined racial background. – *Biomed. Pharmacother.*, 51 (10), 469-473. PMID: [9863508](#).
- Martinson J.J., Chapman N.H., Rees D.C., Liu Y.T., Clegg J.B. (1997) Global distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion. – *Nat. Genet.*, 16 (1), 100-103. PMID: [9140404](#).
- Mummidi S., Ahuja S.S., McDaniel B.L., Ahuja S.K. (1997) The human CC chemokine receptor 5 (CCR5) gene: multiple transcripts with 5-prime-end heterogeneity, dual promoter usage, and evidence for polymorphisms within the regulatory regions and noncoding exons. – *J. Biol. Chem.*, 272, 30662-30671. PMID: [9388201](#).
- Ryabov G.S., Kazennova E.V., Bobkova M.R., Bobkov A.F. (2004) Prevalence of alleles associated with HIV resistance in Russia. – *Genet Test.*, 8 (1), 73-76. PMID: [15140377](#).
- Samson M., Labbe O., Mollereau C., Vassart G., Parmentier M. (1996a) Molecular cloning and functional expression of a new human CC-chemokine receptor gene. – *Biochemistry*, 35, 3362-3367. PMID: [8639485](#).
- Samson M., Libert F., Doranz B.J., Rucker J., Liesnard C., Farber C.-M., Saragosti S., Lapoumeroulie C., Cogniaux J., Forceille C., Muyldermans G., Verhofstede C., Burtonboy G., Georges M., Imai T., Rana S., Yi Y., Smyth R.J., Collman R.G., Doms R.W., Vassart G., Parmentier M. (1996b) Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. – *Nature*, 382, 722-725. PMID: [8751444](#).
- Voevodin A., Samilchuk E., Dashti S. (1998) A survey for 32 nucleotide deletion in the CCR-5 chemokine receptor gene (*deltaccr-5*) conferring resistance to human immunodeficiency virus type 1 in different ethnic groups and in chimpanzees. – *J. Med. Virol.*, 55 (2), 147-151. PMID: [9598936](#).
- Yudin N.S., Vinogradov S.V., Potapova T.A., Naykova T.M., Sitnikova V.V., Kulikov I.V., Khasnulin V.I., Konchuk C., Vloschinskii P.E., Ivanov S.V., Kobzev V.F., Romaschenko A.G., Voevoda M.I. (1998) Distribution of CCR5-delta 32 gene deletion across the Russian part of Eurasia. – *Hum Genet.*, 102 (6), 695-698. PMID: [9703433](#).
- Zimmerman P.A., Buckler-White A., Alkhatib G., Spalding T., Kubofcik J., Combadiere C., Weissman D., Cohen O., Rubbert A., Lam G., Vaccarezza M., Kennedy P.E., Kumaraswami V., Giorgi J.V., Detels R., Hunter J., Chopek M., Berger E.A., Fauci A.S., Nutman T.B., Murphy P.M. (1997) Inherited resistance to HIV-1 conferred by an inactivating mutation in CC chemokine receptor 5: studies in populations with contrasting clinical phenotypes, defined racial background, and quantified risk. – *Molec. Med.*, 3, 23-26. PMID: [9132277](#).

Дополнительная информация

- Наборы ТАПОТИЛИ / ТОПОТИЛИ предназначены для работ *in vitro* (то есть в пробирке, вне живого организма).
- **Наборы предназначены для научно-исследовательских целей.**
- Наборы реагентов ТОПОТИЛИ (Точечные ПОлиморфизмы для ТИпирования ЛИчности) по своей сути являются ответвлением наборов ТАПОТИЛИ (ТАндемные ПОВторы для ТИпирования ЛИчности) в направлении общей генетики человека.
- Просим Вас не путать между собой наборы ТАПОТИЛИ и ТОПОТИЛИ: между ними примерно такая же разница, как между АПТЕКОЙ и ОПТИКОЙ.
- Инструкция по применению к наборам именно ТАПОТИЛИ в настоящее время является наиболее полной. Она содержит подробную информацию о методах выделения ДНК, приготовлении агарозных и полиакриламидных гелей и пр. Информация в «Инструкции» изменяется без предварительного уведомления. Полная электронная версия доступна по ссылке: <http://www.tapotili.ru/doc/tapotili.pdf> (файл формата *Adobe Acrobat*, около 4 Мб).
- Наборы ТАПОТИЛИ / ТОПОТИЛИ 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* / *ТОПОТИЛИ* 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* / *ТОПОТИЛИ* 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).
- Мы рекомендуем результаты МГИ 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.

Дополнительные расходные материалы и оборудование

Возможна поставка любого необходимого оборудования (нового и восстановленного), расходного пластика (наконечники, пробирки для ПЦР), наборов для выделения ДНК, а также всех необходимых дополнительных реагентов (например, для приготовления агарозных и полиакриламидных гелей и др.).

Контакты

Группа компаний «Тапотили»

Интернет: www.tapotili.ru

Электронная почта info@tapotili.ru

Моб. тел. +7-903-786-4-789

Ефремов Илья Алексеевич – старший научный сотрудник, кандидат биологических наук

Актуальная лабораторная база:

119334, Россия, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4. ИБХФ РАН. Лаборатория постгеномных молекулярно-генетических исследований.