

D17S5**Хромосомная локализация:** 17p13.3 (позиции 2 052 300 – 2 053 200)По данным BLAT: <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgBlat> (версия Dec. 2013, GRCh38/hg38).**Тандемные повторы:** простые, усреднённой длины 70 нуклеотидов.**Другие названия:** D17S22, D17S30, pYNZ22, D17S1167, UniSTS:146828, GDB:178624.**Референтные генотипы**

ДНК K562	ДНК 9947A	ДНК 9948	ДНК L-68	ДНК 007	ДНК 2800M	ДНК CO	ДНК CP
2 / 2	5 / 8	1 / 12	<u>2</u> / 12	9 / 11	2 / 4	10 / 10	<u>7</u> / 10

Подчеркнуты аллели, визуально более интенсивные в гелях.**Общие сведения и диагностическая значимость**

Полиморфный минисателлит *D17S5* впервые был описан в конце 1980-х годов прошлого века (*Horn et al., 1989; Nakamura et al., 1987*). Он расположен в межгенной области, между генами *MIR212* (микро-РНК) и *HIC1* (регуляторный ген, в том числе опухолевый супрессор).

С 1990-х годов прошлого века локус *D17S5* начал широко использоваться в сравнительно-популяционных исследованиях, для идентификации личности, установления спорного родства, мониторинга трансплантации костного мозга (*Ivey et al., 1994; Rand et al., 1992; Sreenan et al., 1997; Sullivan et al., 1992*). Также этот маркер может быть использован для диагностики синдрома лиссэнцефалии Миллера-Дикера, обусловленного делецией нескольких генов в области 17p13 (*Miller-Dieker lissencephaly syndrome, MDLS, OMIM: 247200, Batanian et al., 1990*).

В различных популяциях для этого маркера показано существование более **19 аллелей**: 1 (168 п.н.) – >19 (**1 428 п.н.**), при этом были выявлены и редкие экстра-длинные аллели с числом повторов 24-25 (*Deka et al., 1992; Kijas et al., 1994*). Для европеоидных популяций уровень гетерозиготности по этому локусу составляет более 80% (*ALFRED*). Средняя частота мутаций составляет 0,05% (*Sajantila et al., 1999*).

На популяциях России этот минисателлит охарактеризован достаточно фрагментарно (*Чистяков и др., 1993; Smolyanitsky et al., 2003*).

Существенно, что для гетерозиготных образцов во многих работах отмечена заметная «предпочтительная амплификация» коротких аллелей этого локуса, что при неоптимальных условиях ПЦР может приводить к ложному генотипированию таких образцов как гомозиготных (*Иванов и Гыскэ, 1998; Deka et al., 1992; Gécz, 1991; Walsh et al., 1992*).

Исходя из хромосомной локализации, локус *D17S5* может быть сцеплен с микросателлитным маркером *D17S974*, используемым в приложениях по идентификации личности.

Условия ПЦР

ПЦР следует проводить только с использованием Смарт Таq-полимеразы или Смарт 10X ПЦР-буфера во избежание эффекта «ложной гомозиготности», обусловленной существенной предпочтительной амплификацией коротких аллелей в гетерозиготных образцах.

Первая денатурация	30-35 циклов (*)	Последний синтез цепи
95°C, 2 мин	94°C, 30 сек 56÷58°C, 30 сек 72°C, 30 сек	72°C, 5 мин

(*) 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 *Taq*-полимеразы, вносимой в реакционную смесь.

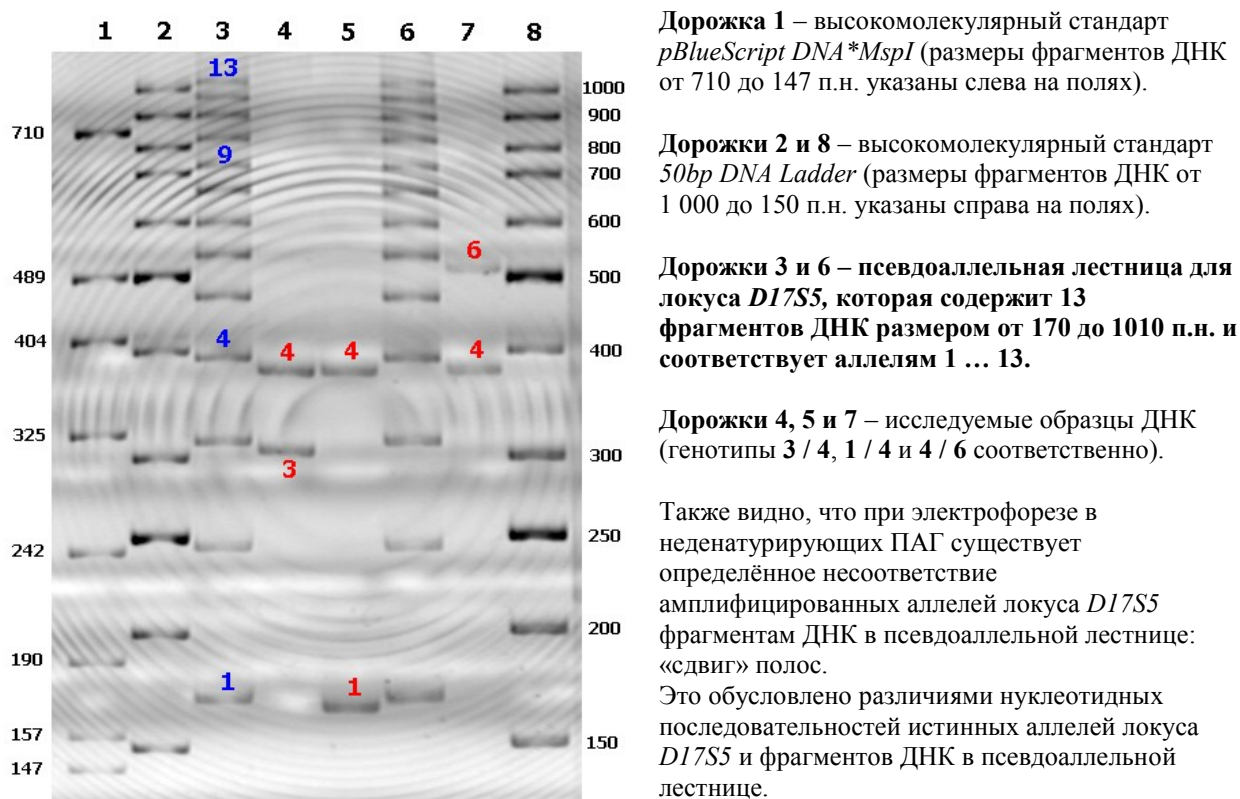
Регистрация результатов

Разделение продуктов реакции и генотипирование можно проводить как в неденатурирующих полиакриламидных гелях (ПАГ, 6-10%Т, 3,3%С, длина гелей 20-30 см), так и в 1,5-2% агарозных гелях (длина гелей 10-15 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.

Для наиболее простой и удобной идентификации аллелей по данному локусу рекомендуется использовать соответствующую «псевдоаллельную лестницу», которая изображена на рисунке ниже (фрагмент окрашенного бромистым этидием неденатурирующего ПАГ – 10%, 29:1).

Электрофорез проводился в вертикальной камере размером 20x20 см (VE-20, «Хеликон», Россия) с буфером IX ТБЕ при напряжении 500В в течение 2 ч 30 мин. Видеозахват изображения осуществлялся в формате с concentрическими линиями во избежание возможных вопросов о «подрисовке».



Интенсивность такого «сдвига фрагментов» может варьировать и зависит от конкретных условий проведения электрофореза в ПАГ (вольтаж, температура). Это не является критичным для уверенного генотипирования. В агарозных гелях такой эффект не наблюдается.

В связи с усовершенствованием наборов состав псевдоаллельной лестницы может изменяться. Актуальная версия псевдоаллельной лестницы на локус *D17S5* включает 15 фрагментов ДНК размером от 170 до 1150 п.н., которые соответствуют аллелям 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15. Эти аллели также выделены **цветом** в таблице аллельных частот. Шаг между соседними фрагментами ДНК в псевдоаллельной лестнице на локус *D17S5* составляет 70 п.н.

Предыдущие версии псевдоаллельной лестницы *D17S5*:

- 13 фрагментов (соответствуют аллелям 1 – 13), до 04-2011.

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *D17S5*

Аллели	Размеры аллелей, п.н.	Частоты аллелей в выборке из русской популяции (*)	Частоты аллелей, которые рекомендуется использовать для вероятностных расчётов по русской популяции (**)
1	168	0,064	0,066
2	238	0,134	0,136
3	308	0,143	0,145
4	378	0,292	0,293
5	448	0,045	0,047
6	518	0,045	0,047
7	588	0,030	0,032
8	658	0,062	0,064
9	728	0,055	0,057
10	798	0,087	0,089
11	868	0,015	0,017
12	938	0,028	0,030
13	1008	0,002	0,004
14	1078	0	0,002
15	1148	0	0,002
≥ 16	≥ 1218	0	0,002

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

(*) По данным *Smolyanitsky et al., 2003*; популяционная выборка 235 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	Число tandemных повторов в референтной последовательности	Размер амплифицируемого фрагмента, п.н.
AL137038	17-JUN-2001	7	588
AC090617	14-DEC-2002	10	798

AL137038: “Homo sapiens chromosome 17 from PAC PAC RPCI-4 765O05 map 17q13.3 region D17S695-D17S654, complete sequence”.

AC090617: “Homo sapiens chromosome 17, clone RP11-667K14, complete sequence”.

GC-состав ПЦР-продукта: **63%** (по последовательности AC090617).

Ссылки

- Иванов П.Л., Гыскэ Л.И. (1998) Особенности энзиматической амплификации аллелей локуса *D17S5*: необходимость оценки устойчивости амплификационного профиля. – Судебно-медицинская экспертиза, 41 (2), 36-39. PMID: [9608261](#).
- 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](#).
- ALFRED: [SI000541K](#).
- Batanian J.R., Ledbetter S.A., Wolff R.K., Nakamura Y., White R., Dobyns W.B., Ledbetter D.H. (1990) Rapid diagnosis of Miller-Dieker syndrome and isolated lissencephaly sequence by the polymerase chain reaction. – Hum Genet., 85 (5), 555-559. PMID: [2227942](#).
- Deka R., De Croo S., Yu L.M., Ferrell R.E. (1992) Variable number of tandem repeat (VNTR) polymorphism at locus *D17S5* (YNZ22) in four ethnically defined human populations. – Hum Genet., 90 (1-2), 86-90. PMID: [1427793](#).

-
- Gécz J. (1991) PCR amplification of large VNTR alleles of D17S5 (YNZ22) locus. – *Nucleic Acids Res.*, 19 (20), 5806. PMID: [1945869](#).
 - 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](#).
 - Horn G.T., Richards B., Klinger K.W. (1989) Amplification of a highly polymorphic VNTR segment by the polymerase chain reaction. – *Nucleic Acids Research*, 17, 2140. PMID: [2928126](#).
 - Ivey J.N., Atchison B.A., Georgalis A.M. (1994) Assessment of PCR of the D17S30 locus for forensic identification. – *J. Forensic Sci.*, 39 (1), 52-63. PMID: [8113713](#).
 - Kijas J.M., Fowler J.C., Van Daal A. (1994) PCR amplification of alleles at locus D17S5: detection of new and rare long-length alleles by oligoprobing in a survey of Australian populations. – *Hum Biol.*, 66 (2), 329-337. PMID: [8194850](#).
 - Nakamura Y., Leppert M., O'Connell P., Wolff R., Holm T., Culver M., Martin C., Fujimoto E., Hoff M., Kumlin E., White R. (1987) Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. – *Science*, 235 (4796), 1616-1622, PMID: [3029872](#).
 - 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., Lukka M., Syvänen A.C. (1999) Experimentally observed germline mutations at human micro- and minisatellite loci. – *Eur J Hum Genet.*, 7 (2), 263-266. PMID: [10196715](#).
 - Smolyanitsky A.G., Smolyanitskaya A.I., Popov V.L., Zaslavsky G.I., Khromov-Borisov N.N. (2003) Polymorphism of LDLR, GYPA, HBG, D7S8, GC, HLA-DQA1, Ig-J_H, 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](#).
 - Walsh PS, Erlich HA, Higuchi R. (1992) Preferential PCR amplification of alleles: mechanisms and solutions. – *PCR Methods Appl.*, 1 (4), 241-250. PMID: [1477658](#).

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/d17s5.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