

DAT-3'VNTR

Хромосомная локализация: 5p15.33 (позиции 1 393 500 – 1 394 100)



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

Тандемные повторы: 40 нуклеотидов, при этом размер одного тандемного повтора (в середине) может составлять 45 нуклеотидов.

Другие названия: DAT; DAT1; dopamine transporter 1; SLC6A3-40bp-VNTR; [rs28363170](#).

Референтные генотипы

ДНК K562	ДНК 9948	ДНК 007	ДНК 9947A	ДНК L-68	ДНК 2800M
все 9 / 10			все 10 / 10		

Общие сведения и диагностическая значимость

Минисателлит *DAT-3'VNTR* расположен в 3'-нетранслируемой области гена, кодирующего **переносчик дофамина** (транспортёр дофамина, *dopamine transporter*, ген *SLC6A3*, *solute carrier family 6 member 3*, NCBI Gene ID: [6531](#); OMIM: [126455](#)). Функцией соответствующего фермента является обратный захват дофамина из синаптической щели в пресинаптический нейрон для последующего использования или метаболизма, то есть **инактивация секретированного дофамина**. Вернувшийся в клетку нейромедиатор разрушается с помощью ферментов катехол-О-метилтрансферазы (*COMT*) и моноаминоксидаз (*MAOA*, *MAOB*).

В целом, «дофаминовая система» мозга участвует в формировании депрессивных, аддиктивных и агрессивных поведенческих реакций. Дофаминергические нейроны играют важную роль в когнитивных процессах, в том числе внимании, памяти, мышлении. В научно-популярных публикациях дофамин (допамин, *dopamine*, *DA*) часто называют «гормоном счастья», наряду с серотонином и эндорфинами. Уровень дофамина естественным образом повышается при положительном опыте (по субъективному представлению самого человека). Дофамин относится к биогенным аминам и входит в группу катехоламинов, наряду с адреналином и норадреналином. В разных дофаминергических системах мозга дофамин играет роль как стимулирующего, так и тормозящего нейромедиатора.

Помимо мозга, дофамин, уже как тканевый гормон, секретируется и в других тканях, в том числе в надпочечниках, поджелудочной железе и сердце. Повышение уровня дофамина в плазме крови происходит при различных стрессовых ситуациях, болевых синдромах, кровопотере, травмах, тревоге и страхе. Однако через гематоэнцефалический барьер дофамин проникает мало, поэтому такое повышение его уровня в плазме крови мало влияет на функции ЦНС.

Ген транспортёра дофамина *SLC6A3* имеет общую протяжённость более 52 тысяч пар нуклеотидов (п.н.) и состоит из 15 экзонов. Другие (устаревшие) названия гена – *DAT*, *DAT1*, *PKDYS*, *PKDYS1*. Полиморфный маркер *DAT-3'VNTR* расположен в пятнадцатом экзоне, в 3'-нетранслируемой регуляторной области (*3'-untranslated region*, *3'UTR*) этого гена.

Первоначально для минисателлита *DAT-3'VNTR* было показано существование семи аллелей, с 3, 5, 7, 8, 9, 10 и 11 повторами, и размером повторяющегося звена **40 нуклеотидов** (*Sano et al., 1993; Vandenberg et al., 1992*). К 1999 году полиморфизм этого маркера был охарактеризован уже в общемировом масштабе, при обследовании 1 528 человек из 30 популяций (*Kang et al., 1999*). Было показано, что **аллель №10 является доминирующим** практически во всех человеческих популяциях («предковый» аллель, аллель «дикого типа», *WT, wild type*).

Существенно позже, при исследовании очень большой популяционной выборки из населения США (14 766 человек) во всех пяти расах было также показано доминирование именно аллеля №10 (частота от 0,74 до 0,89). Вторым по встречаемости во всех расах был аллель №9 (частота от 0,10 до 0,25). Остальные аллели оказались чрезвычайно редкими, с частотами не более 0,02. Для белых европеоидов было показано существование как минимум шести аллелей: 3, 7, 8, 9, 10 и 11 (*Haberstick et al., 2014*).

К настоящему времени для минисателлита *DAT-3'VNTR* показано существование аллелей 3 – 13, но, по всей видимости, пока не был выявлен аллель именно с четырьмя повторами. По причине чрезвычайной редкости всех аллелей, за исключением №№9 и 10, во всех исследованиях «случай-контроль» этот полиморфный локус исследовался и анализировался именно как **двух-аллельный полиморфизм**, «носители аллеля №9» и «носители аллеля №10».

Из общих соображений о регуляторных областях 3'-*UTR* можно ожидать, что экспрессия транскрипта с более длинным регуляторным участком будет понижена, что в ряде случаев обусловлено, например, наличием дополнительного участка связывания подавляющих трансляцию микроРНК. В рамках такой модели применительно к *DAT-3'VNTR* для носителей более короткого аллеля №9 (и остальных более коротких аллелей) можно ожидать **более высокий уровень** обратного захвата дофамина, нежели для «диких гомозигот» 10/10.

Возможная ассоциация отдельных аллелей (генотипов) этого полиморфного маркера была изучена во множестве работ в отношении таких патологий и синдромов, как дистония-паркинсонизм (*parkinsonism-dystonia*), обусловило устарелое название самого гена как *PKDYS*), синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), синдром Туретта, различные виды рака, нейропсихиатрические нарушения (в том числе биполярное расстройство, невроз навязчивых состояний), никотиновая зависимость, алкоголизм, наркомания (в первую очередь – кокаиновая), антисоциальное и агрессивное поведение, стрессоустойчивость, ожирение (индекс массы тела), нарушения пищевого поведения (*food abuse*), отдельные личностные особенности (например, *Марусин и др., 2008; Azzato et al., 2009; Banoei et al., 2008; Blum et al., 2013; Cherepkova et al., 2019; Cotrin et al., 2019; Gordiev et al., 2013; Kazantseva et al., 2011; Stogner, 2015*). При этом результаты различных работ оказались в определённой степени противоречивыми: как с наличием, так и с отсутствием предполагавшихся ассоциаций.

На 2020 год существует большое 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, в первую очередь – СДВГ (*attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD*), алкоголизма и курения (например, *Du et al., 2011; Grünblatt et al., 2019; Ma et al., 2016-a, 2016-b*).

Накопленные данные позволяют заключить, что **носительство аллеля №9 является фактором повышенного риска при алкоголизме** и его осложнениях (синдром отмены, белая горячка *delirium tremens*). И, напротив, для курильщиков носительство этого аллеля является благоприятным прогностическим признаком для отказа от никотиновой зависимости. По всей видимости, степень выраженности таких протективных и предрасполагающих эффектов может существенно варьировать между разными расами. Это тем более справедливо, что различия в частотном распределении аллелей и генотипов по этому локусу между отдельными расами и популяциями весьма существенны (например, *Галеева и др., 2001; Haberstick et al., 2014*).

Другие (существенно хуже охарактеризованные по функциональной значимости) полиморфные маркеры, локализованные в гене транспортёра дофамина *SLC6A3*, приведены в БД *ALFRED*: более 30 локусов, изученных на разных популяциях (на 2020 год). Из этих полиморфных маркеров в первую очередь можно отметить следующие: *G2319A* (анализ гаплотипов с *DAT-3'VNTR*), *30bp-TaqI-VNTR* (интрон 8), *SNP-RFLP-Taq492, -839C/T, -660G/C, -67A/T*.

Исходя из хромосомной локализации, полиморфный минисателлит *DAT-3'VNTR* может быть сцеплен с таким полиморфным локусом, использовавшимся в приложениях по идентификации личности, как *D5S110 (MS621)*.

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 DAT-3'VNTR</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!

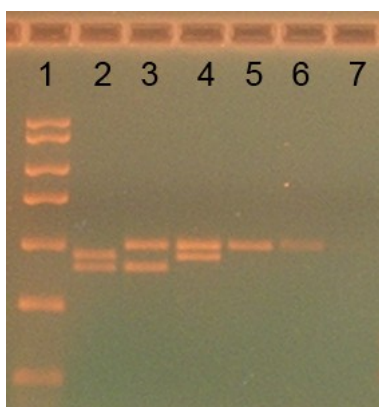
Количество матрицы ДНК, вносимой в ПЦР-смесь, должно быть **не менее 5,0 нг** на 25 мкл реакционной смеси. При использовании меньшего количества ДНК производитель не гарантирует адекватную наработку специфических продуктов реакции при 30 циклах ПЦР. При работе с низкими концентрациями стартовой ДНК число 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 *DAT-3'VNTR* 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 п.н.

Дорожка 2 – гетерозиготный генотип **8 / 9**.

Дорожка 3 – гетерозиготный генотип **8 / 10**.

Дорожка 4 – гетерозиготный генотип **9 / 10**.

Дорожки 5 и 6 – гомозиготные генотипы **10 / 10**: один ПЦР-фрагмент размером 483 п.н.

Дорожка 7 – отрицательный контроль ПЦР.

Размеры и популяционные частоты аллелей в локусе *DAT-3'VNTR*

Аллели (*)	Размеры аллелей, п.н.	Частоты аллелей в выборке из русской популяции (**)	Частоты аллелей, которые рекомендуется использовать для вероятностных расчётов по русской популяции (***)
3 (3R)	203	0	0,008
4	243	0	0,008
5	283	0	0,008
6	323	0	0,008
7	363	0	0,008
8	403	0,015	0,023
9	443	0,146	0,153
10	483	0,831	0,832
11	523	0,008	0,016
12	563	0	0,008
13 (13R)	603	0	0,008

(*) Нумерация аллелей согласно числу содержащихся в них тандемных повторов. В скобках приводится альтернативное обозначение аллелей. **Жирным** шрифтом выделены наиболее частые аллели для европеоидов. (**) по данным *Галева и др., 2001*; популяционная выборка 65 неродственных человек из русской популяции. (***) «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.
NC_000005	09-SEP-2019	10	483

NC_000005: "Homo sapiens chromosome 5, GRCh38.p13 Primary Assembly. /gene="SLC6A3"; /note="solute carrier family 6 member 3"".

GC-состав ПЦР-продукта: **67%** (для аллеля с 10 повторами).

Ссылки

- Галева А.Р., Юрьев Е.Б., Хуснутдинова Э.К. (2001) Полиморфизм гена переносчика дофамина в популяциях Волго-Уральского региона. – Генетика, 37 (7), 1018-1020. PMID: [11558224](#).
- Марусин А.В., Спиридонова М.Г., Абушаева М.О., Бохан Н.А., Степанов В.А. (2008) Ассоциация полиморфизма 1342 A/G в экзоне 9 и длин tandemных повторов (VNTR) в 3'-некодирующей области (3'-UTR) гена переносчика дофамина DAT1 (SLC6A3) с риском формирования алкогольной зависимости в Западно-Сибирской популяции русских. – Медицинская генетика, 6 (72), 31-35.
- ALFRED: [SI000156M](#).
- Azzato E.M., Morton L.M., Bergen A.W., Wang S.S., Chatterjee N., Kvale P., Yeager M., Hayes R.B., Chanock S.J., Caporaso N.E. (2009) SLC6A3 and body mass index in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial. – BMC Med Genet., 10, 9. PMID: [19183461](#).
- Banoei M.M., Majidizadeh T., Shirazi E., Moghimi N., Ghadiri M., Najmabadi H., Ohadi M. (2008) No association between the DAT1 10-repeat allele and ADHD in the Iranian population. – Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet., 147B (1), 110-111. PMID: [17582621](#).
- Blum K., Oscar-Berman M., Barh D., Giordano J., Gold M. (2013) Dopamine Genetics and Function in Food and Substance Abuse. – J Genet Syndr Gene Ther., 4 (121). PMID: [23543775](#).
- Cherepkova E.V., Maksimov V.N., Kushnarev A.P., Shakhmatov I.I., Aftanas L.I. (2019) The polymorphism of dopamine receptor D4 (DRD4) and dopamine transporter (DAT) genes in the men with antisocial behaviour and mixed martial arts fighters. – World J Biol Psychiatry, 20 (5), 402-415. doi: 10.1080/15622975.2017.1366056. PMID: [28797200](#).
- Cotrin J.C., Fontenelle L.F., Kohlrausch F.B. (2019) Association analyses reveal gender-specific associations of DAT1 40-bp VNTR and -839C/T polymorphisms with obsessive-compulsive disorder and obsessive-compulsive symptoms. – Mol Biol Rep., 46 (5), 5155-5162. PMID: [31325142](#).
- Du Y., Nie Y., Li Y., Wan Y.J. (2011) The association between the SLC6A3 VNTR 9-repeat allele and alcoholism-a meta-analysis. – Alcohol Clin Exp Res., 35 (9), 1625-1634. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01509.x. PMID: [21554332](#).
- 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](#).
- Gordiev M., Engstrom P.F., Khasanov R., Moroshek A., Sitdikov R., Dgavoronkov V., Schnoll R.A. (2013) Genetic analysis of polymorphisms in dopamine receptor and transporter genes for association with smoking among cancer patients. – Eur Addict Res., 19 (2), 105-111. doi: 10.1159/000341711. PMID: [23128675](#).
- Grünblatt E., Werling A.M., Roth A., Romanos M., Walitza S. (2019) Association study and a systematic meta-analysis of the VNTR polymorphism in the 3'-UTR of dopamine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder. – J Neural Transm (Vienna), 126 (4), 517-529. doi: 10.1007/s00702-019-01998-x. PMID: [30923918](#).
- 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., Whitel 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](#).
- Kang A.M., Palmatier M.A., Kidd K.K. (1999) Global variation of a 40-bp VNTR in the 3'-untranslated region of the dopamine transporter gene (SLC6A3). – Biol Psychiatry, 46 (2), 151-160. PMID: [10418689](#).

- Kazantseva A., Gaysina D., Malykh S., Khusnutdinova E. (2011) The role of dopamine transporter (SLC6A3) and dopamine D2 receptor/ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (DRD2/ANKK1) gene polymorphisms in personality traits. – Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 35 (4), 1033-1040. doi: 10.1016/j.pnpbp.2011.02.013. PMID: [21354244](#).
- Ma Y., Fan R., Li M.D. (2016-a) Meta-Analysis Reveals Significant Association of the 3'-UTR VNTR in SLC6A3 with Alcohol Dependence. – Alcohol Clin Exp Res., 40 (7), 1443-1453. Erratum in: Alcohol Clin Exp Res. 2017; 41 (9), 1656-1659. PMID: [27219321](#).
- Ma Y., Yuan W., Cui W., Li M.D. (2016-b) Meta-analysis reveals significant association of 3'-UTR VNTR in SLC6A3 with smoking cessation in Caucasian populations. – Pharmacogenomics J., 16 (1), 10-17. doi: 10.1038/tpj.2015.44. PMID: [26149737](#).
- Sano A., Kondoh K., Kakimoto Y., Kondo I. (1993) A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. – Hum Genet., 91 (4), 405-406. PMID: [8500798](#).
- Stogner J.M. (2015) DAT1 and Alcohol Use: Differential Responses to Life Stress during Adolescence. – Crim Justice Stud (Abingdon). 28 (1), 18-38. PMID: [27011759](#).
- Vandenberg D.J., Persico A.M., Hawkins A.L., Griffin C.A., Li X., Jabs E.W., Uhl G.R. (1992) Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. – Genomics, 14 (4), 1104-1106. PMID: [1478653](#).

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/dat_vntr.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