

УДК 575.174:599.9

ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ Y-ХРОМОСОМЫ У РУССКОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

© 2009 г. И. В. Корниенко^{1,2}, Е. В. Бондаренко², Л. С. Михалкович²,
Б. А. Малярчук³, Е. Н. Котова²

¹Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону 344006;
e-mail: ikornienko@yandex.ru

²16-й Государственный центр судебно-медицинских и криминалистических экспертиз
Северо-Кавказского военного округа, Ростов-на-Дону, 344010,

³Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук,
Магадан 685000; e-mail: malyarchuk@ibprn.ru

Поступила в редакцию 13.09.2007 г.

Исследованы частоты гаплотипов и распределение аллелей 11 STR-локусов Y-хромосомы у 180 неродственных индивидуумов в выборках русского населения Южного Федерального округа Российской Федерации (Ростовская область, Краснодарский и Ставропольский края). Из 153 обнаруженных гаплотипов Y-хромосомы 62 относятся к числу уникальных. Наиболее частым в исследуемой выборке русского населения (частота 5.56%) является гаплотип 16–11, 14–13–30–25–11–11–13–14–11–10 (для локусов *DYS19*, *DYS385a,b*, *DYS389I*, *DYS389II*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS437*, *DYS438*, *DYS439* соответственно). Несмотря на высокое разнообразие гаплотипов Y-хромосомы в популяциях русского населения юга России (величина *h* составила 0.997, 0.995 и 0.994 в ростовской, краснодарской и ставропольской выборках соответственно), анализ молекулярной изменчивости AMOVA показал отсутствие межпопуляционной дифференциации ($\Phi_{ST} = 0.1\%$, $P = 0.36$). Результаты сравнительного анализа дифференциации 13 русских популяций европейской части России свидетельствуют о низкой степени межпопуляционной дифференциации русских популяций по линиям Y-хромосомы ($\Phi_{ST} = 0.52\%$, $P = 0.03$).

Повышенная криминогенная обстановка на Северном Кавказе тесно связана с ростом тяжких преступлений, совершаемых лицами мужского пола. Для раскрытия таких преступлений часто требуется использование современных методов ДНК-анализа. Наряду с традиционным исследованием микросателлитных (или STR) локусов аутосомной ДНК дополнительный анализ профилей Y-хромосомы наиболее эффективен в случаях биологических образцов со смесью мужской и женской ДНК, а также при непрямой идентификации личности, когда сравнительный материал представлен в основном родственниками по мужской линии [1]. В 16-м Государственном центре судебно-медицинских и криминалистических экспертиз Северо-Кавказского военного округа (бывшая 124-я Центральная лаборатория medico-криминалистической идентификации министерства обороны Российской Федерации) исследование STR-локусов Y-хромосомы нашло широкое применение при идентификации террористов, уничтоженных при захвате школы №1 в городе Беслане в сентябре 2004 г., а также боевиков, уничтоженных в городе Нальчике в октябре 2005 г., и в других криминалистических случаях.

В России судебно-медицинские ДНК-исследования маркеров Y-хромосомы еще не нашли широкого применения. Это можно объяснить, с одной стороны, отсутствием нормативных документов, определяющих, какие из микросателлитных локусов Y-хромосомы необходимо исследовать при ДНК-идентификации личности. С другой стороны, полиморфизм STR-локусов Y-хромосомы еще недостаточно изучен среди многонационального населения Российской Федерации. Следует отметить, что русские составляют наибольшую популяционную группу в Российской Федерации (81.5% населения). В настоящее время для нескольких русских популяций европейской части России (Новгород [2], Курск, Архангельская область [3], Москва [4]) и Дальнего Востока (Владивосток [5]) получены данные о полиморфизме нескольких STR-локусов Y-хромосомы (например, *DYS19*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392* и *DYS393*), составляющих “минимальный Y-гаплотип”. В базе данных YHRD (Y Chromosome Haplotype Reference Database) [4] представлены также данные о распределении гаплотипов для 10 локусов Y-хромосомы (*DYS19*, *DYS385a,b*, *DYS389I*, *DYS389II*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS438*, *DYS439*) в ряде популяций русского населения ев-

ропейской части Российской Федерации. Тем не менее следует отметить дефицит данных об изменчивости Y-хромосомы в популяциях русского населения юга России.

В настоящей работе представлены частоты аллелей и гаплотипов для 11 Y-STR-локусов в русских популяциях Южного Федерального округа Российской Федерации – Ростовской области, Краснодарского и Ставропольского краев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования STR-локусов Y-хромосомы служили образцы крови от неродственных индивидуумов мужского пола. Выборки составлялись по месту проживания доноров. Все биологические образцы протоколировались в порядке поступления с указанием места сбора и национальности донора (со слов донора). В исследование взяты биологические образцы, полученные от 180 человек русской национальности. Широта выборки охватывала три административные единицы Южного Федерального округа Российской Федерации: Ростовская область ($n = 61$), Краснодарский край ($n = 55$) и Ставропольский край ($n = 64$).

Основная процедура выделения ДНК включала очистку от металлосодержащих соединений и протеинов с последующим кипячением образца в присутствии ионообменной смолы Chelex 100 [6]. Мультиплексную амплификацию 11 STR-локусов (*DYS19*, *DYS385a,b*, *DYS389I*, *DYS389II*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS437*, *DYS438*, *DYS439*) проводили с помощью набора PowerPlex Y System (Promega, США) в соответствии с руководством пользователя [7]. Для оценки специфичности реакции амплификации использовали положительный (проба мужской ДНК 9948) и отрицательный (проба женской ДНК 9947A) контроли.

Электрофорез образцов проводили в 5%-ном полиакриламидном геле на приборе ABI PRISM 377. В процессе электрофореза результаты лазерного сканирования геля автоматически передавались на управляющий компьютер и обрабатывались программой ABI Prism 377 Gel Collection (PE Applied Biosystems). Обработка результатов и идентификация аллелей проходила автоматически с помощью программы GeneScan (версия 3.7, PE Applied Biosystems).

Величину разнообразия гаплотипов (haplotype diversity, h) локуса оценивали по формуле [8]

$$h = \frac{n \left(1 - \sum_{i=1}^i f_i^2 \right)}{n-1},$$

где f_i – частота встречаемости i -го гаплотипа, n – величина выборки.

Вероятность случайного совпадения гаплотипов (matching probability, MP) рассчитывали по формуле

$$MP = \sum_{n=1}^i f_i^2,$$

где f_i – частота встречаемости i -го гаплотипа.

Для оценки степени генетической дифференциации популяций использовали анализ Ф-статистик (AMOVA, пакет программ Arlequin 3.0 [9]). Достоверность различий значений Ф-статистик при попарных сравнениях популяций тестировали с помощью непараметрического пермутационного подхода (10100 пермутаций) [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование изменчивости 11 STR-локусов Y-хромосомы у 180 неродственных мужчин из Южного Федерального округа позволило выявить 153 различных гаплотипа (список гаплотипов в изученных популяциях может быть получен от авторов статьи по запросу). Наибольшее распространение в исследованной выборке русского населения имеют гаплотипы 16–11, 14–13–30–25–11–11–13–14–11–10 и 16–11, 14–13–29–25–10–11–13–14–11–11 (для локусов *DYS19*, *DYS385a,b*, *DYS389I*, *DYS389II*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS437*, *DYS438*, *DYS439* соответственно), выявленные с частотами 5.56 и 3.89% соответственно. Гаплотип 16–11, 14–13–30–25–11–11–13–14–11–10 зарегистрирован в краснодарской, ростовской и ставропольской популяциях с частотами 7.27, 6.56 и 3.13% соответственно. Частота этого гаплотипа в базах данных YHRD [4] и PowerPlex Y Haplotype Database [7] составила 0.24 и 0.08% соответственно. Гаплотип 16–11, 14–13–29–25–10–11–13–14–11–11 обнаружен с частотой 7.81% в ставропольской, 1.82% в краснодарской и 1.64% в ростовской популяциях. Согласно сведениям базы данных YHRD, этот Y-гаплотип распространен с низкой частотой в других популяциях России (Белгород, Новгород, Тула, Волот), Польши, Чешской Республики (Центральная Богемия), Венгрии, Македонии, Боснии-Герцеговины, Германии и Албании. Наиболее часто встречающийся в базе данных YHRD Y-гаплотип 16–14, 15–13–31–24–11–11–13–15–10–13 имел частоту 0.43%, тогда как в русских популяциях Южного Федерального округа его частота была на порядок ниже и составила 0.04%. Сопоставление с базами данных показало также, что существенная часть гаплотипов Y-хромосомы (62 из 153), зарегистрированных в популяциях юга России, являются уникальными.

Для характеристики дискриминирующей способности Y-маркеров системы PowerPlex Y Sys-

Таблица 1. Частоты аллелей и генетические характеристики локусов *DYS19*, *DYS389I*, *DYS389II*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS437*, *DYS438*, *DYS439* и *DYS385a,b*

Аллель	<i>DYS19</i>	<i>DYS389I</i>	<i>DYS389II</i>	<i>DYS390</i>	<i>DYS391</i>	<i>DYS392</i>	<i>DYS393</i>	<i>DYS437</i>	<i>DYS438</i>	<i>DYS439</i>	Аллели	<i>DYS385</i>
9					0.0167				0.0444		10.14	0.0556
10					0.4500	0.0056			0.3722	0.3833	10.15	0.0056
11					0.5167	0.7833	0.0111		0.4944	0.3056	10.18	0.0056
12		0.1222			0.0111	0.0222	0.0944		0.0889	0.1778	11.12	0.0056
13	0.0333	0.7500			0.0056	0.0944	0.7444	0.0111		0.1222	11.13	0.0778
14	0.2000	0.1167				0.0944	0.1333	0.6444		0.0111	11.14	0.3389
15	0.2500	0.0056					0.0167	0.2444			11.15	0.1278
16	0.4111	0.0056						0.0944			11.16	0.0167
17	0.1056							0.0056			12.12	0.0056
18											12.13	0.0167
19				0.0056							12.14	0.0278
20											12.15	0.0056
21				0.0111							12.20	0.0056
22				0.0667							13.13	0.0111
23				0.1278							13.14	0.0278
24				0.3556							13.15	0.0222
25				0.3944							13.17	0.0167
26				0.0389							13.18	0.0056
27			0.0111								14.14	0.0333
28			0.0667								14.15	0.1111
29			0.3222								14.16	0.0167
30			0.3889								14.17	0.0056
31			0.1722								15.15	0.0111
32			0.0167								16.16	0.0056
33			0.0167								16.17	0.0167
34			0.0056								16.18	0.0111
											17.17	0.0056
											17.18	0.0056
MP	0.284	0.591	0.290	0.304	0.470	0.632	0.581	0.484	0.393	0.287		0.158
<i>h</i>	0.720	0.411	0.714	0.700	0.533	0.370	0.421	0.519	0.610	0.717		0.847

тем были рассчитаны величины разнообразия (h) и случайного совпадения (MP) гаплотипов. Величина разнообразия гаплотипов с учетом типирования всех 11 локусов (h) составила 0.995, а вероятность того, что два случайно выбранных из популяции индивида будут иметь один и тот же гаплотип, – 0.01. Среди 11 исследованных локусов наиболее информативными являются *DYS385*, *DYS19*, *DYS439*, *DYS389II* и *DYS390* (приведены в порядке уменьшения идентификационной значимости). Так, для локуса *DYS385* обнаружено 28 аллельных комбинаций (табл. 1). Три локуса (*DYS389I*, *DYS393* и *DYS392*) продемонстрировали наименьший дискриминирующий потенциал

(табл. 1). Следует отметить, что типирование 11 STR-локусов Y-хромосомы в дополнение к аутосомным маркерам позволяет повысить индивидуализирующую способность ДНК-идентификации в среднем в 100 раз (исходя из значения величины случайного совпадения гаплотипов) (данные не приводятся). Между тем в случае учета только уникальных Y-гаплотипов дискриминирующая способность метода окажется в $n + 1$ раз выше, где n – это объем рассматриваемой выборки.

Несмотря на высокое разнообразие гаплотипов Y-хромосомы в популяциях русского населения юга России (величина h составила 0.997, 0.995 и 0.994 в ростовской, краснодарской и ставро-

Таблица 2. Межпопуляционная дифференциация русского населения европейской части России, основанная на значениях Φ_{ST}

Популяция	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Тула	0.000											
2. Калуга	-0.011	0.000										
3. Владимир	-0.003	0.008	0.000									
4. Псков	0.026*	0.047*	0.028*	0.000								
5. Белгород	-0.014	-0.007	0.000	0.023*	0.000							
6. Великий Новгород	0.002	0.005	0.000	0.048*	-0.003	0.000						
7. Саратов	-0.010	0.000	-0.010	0.000	-0.016	-0.005	0.000					
8. Орел	0.004	0.017	-0.005	0.019	0.013	0.005	-0.005	0.000				
9. Нижний Новгород	0.007	0.014	0.021*	0.003	0.003	0.022*	-0.002	0.016	0.000			
10. Волот	-0.003	0.002	-0.003	0.038*	-0.001	-0.004	0.002	-0.001	0.019*	0.000		
11. Краснодар	-0.013	-0.006	-0.007	0.022*	-0.008	-0.004	-0.014	-0.006	0.007	-0.004	0.000	
12. Ростов-на-Дону	-0.005	-0.008	0.016*	0.043*	-0.002	0.008	0.005	0.024*	0.017*	0.002	0.004	0.000
13. Ставрополь	-0.004	0.000	-0.001	0.020*	-0.008	-0.004	-0.014	-0.000	0.007	0.004	-0.006	0.005

Примечание. Звездочками указаны достоверные ($P < 0.05$) межпопуляционные различия.

польской выборках соответственно), анализ молекулярной изменчивости AMOVA показал отсутствие межпопуляционной дифференциации ($\Phi_{ST} = 0.1\%$, $P = 0.36$). Все значения Φ_{ST} при попарных межпопуляционных сопоставлениях оказались недостоверными ($P > 0.1$), что свидетельствует о гомогенности мужского русского населения юга России на популяционном уровне исследований.

Для более точной оценки степени генетической дифференциации русских популяций нами сопоставлены данные настоящей работы с результатами исследования десяти других русских популяций европейской части России (Калужской, Тульской, Владимирской, Нижегородской, Белгородской, Орловской, Саратовской, Новгородской (г. Великий Новгород и с. Волот) и Псковской областей), представленных в базе данных YHRD. Результаты анализа межпопуляционной дифференциации в 13 русских популяциях (табл. 2) свидетельствуют о низкой степени межпопуляционной дифференциации русских популяций по линиям Y-хромосомы ($\Phi_{ST} = 0.52\%$, $P =$

$= 0.03$). Лишь псковская популяция достоверно отличается от большинства популяций русского населения, включая южнорусское (табл. 2). Как показали более ранние исследования [10], своеобразие генетической структуры псковской популяции (в сравнении с остальными русскими популяциями) обусловлено пониженной частотой гаплогруппы R1a1 и повышенной частотой (до 35%) гаплогруппы N3a, что сближает псковскую популяцию с финно-угорскими и балтскими популяциями. Следует отметить также, что ростовская выборка демонстрирует достоверные отличия от ряда русских популяций – владимирской, нижегородской и орловской (табл. 2).

Таким образом, в настоящей работе впервые представлены данные о разнообразии аллелей микросателлитных локусов и гаплотипов Y-хромосомы в трех популяциях русского населения Южного Федерального округа Российской Федерации. Полученные результаты важны как в плане расширения референтной базы данных о генетической изменчивости населения России, так и

для оценки степени и понимания характера меж-популяционных различий населения России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jobling M.A., Pandya A., Tyler-Smith C. The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing // *Int. J. Legal Med.* 1997. V. 110. P. 118–124.
2. Кравченко С.А., Сломинский П.А., Бец Л.А. и др. Полиморфизм STR-локусов Y-хромосомы у восточных славян в трех популяциях из Белоруссии, России и Украины // *Генетика.* 2002. Т. 38. № 1. С. 97–104.
3. Хрунин А.В., Бебякова Н.А., Иванов В.П. и др. Полиморфизм микросателлитов Y-хромосомы в русских популяциях севера и юга России на примере Курской и Архангельской областей // *Генетика.* 2005. Т. 41. № 8. С. 1125–1131.
4. www.ystr.org <http://www.ystr.org>
5. Lessig R., Edelmann J., Kleemann W.J., Kozhemyako V. Population data of Y-chromosomal STRs in Russian males of the Primorye region population // *Forensic Sci. Int.* 2006. V. 59. P. 71–76.
6. Willard J.M., Lee D.A., Holland M.M. Recovery of DNA for PCR amplification from blood and forensic samples using a Chelating Resin // *Methods in Molecular Biology.* V. 98. Forensic DNA Profiling Protocols / Eds P.J. Lincoln, J. Thomson, N.J Totowa Humana Press Inc., 1998. P. 9–18.
7. PowerPlex® Y System Technical Manual. Promega Corporation: Madison, WI, 2003. 38 p. <www.promega.com>
8. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1973. V. 70. P. 3321–3323.
9. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // *Evol. Bioinform. Online.* 2005. V. 1. P. 47–50.
10. Malyarchuk B., Derenko M., Grzybowski T. et al. Differentiation of mitochondrial DNA and Y chromosome in Russian populations // *Hum. Biol.* 2004. V. 76. P. 877–900.

Polymorphism of Y-Chromosomal Microsatellites in Russian Population from Southern Federal District of the Russian Federation

I. V. Kornienko^{a,b}, E. V. Bondarenko^a, L. S. Mikhalkovich^a, B. A. Malyarchuk^c, and E. N. Kotova^a

^aSouthern Federal University, Rostov-on-Don, 344006 Russia;

e-mail: ikornienko@yandex.ru

^bState Center of Forensic Medicine and Criminalistic Investigations of the North-Caucasus Military District, Rostov-on-Don, 344010 Russia

^cInstitute of Biological Problems of the North, Russian Academy of Sciences, Magadan, 685000 Russia;

e-mail: malyarchuk@ibpn.ru

Haplotype frequencies and allele distributions at 11 STR loci of the Y chromosome were evaluated in 180 unrelated individuals from Russian population of Southern Federal district of the Russian Federation (Rostov oblast, Krasnodar krai, and Stavropol krai). Among 153 Y-chromosomal haplotypes discovered, 63 were unique. In the sample of Russian population, the most frequent haplotype (frequency of 5.56%) was 16-11,14-13-30-25-11-11-13-14-11-10 (for the loci *DYS19*, *DYS385a,b*, *DYS389I*, *DYS389II*, *DYS390*, *DYS391*, *DYS392*, *DYS393*, *DYS437*, *DYS438*, and *DYS439*, respectively). Despite the high diversity of Y-chromosomal haplotypes in the Russian populations from the south of Russia (the *h* value was 0.997, 0.995, and 0.994 in Rostov, Krasnodar, and Stavropol samples, respectively), analysis of molecular variance (AMOVA) showed the absence of differentiation between the populations ($\Phi_{ST} = 0.1\%$, $P = 0.36$). Comparative differentiation analysis performed for 13 Russian populations from the European part of Russia pointed to low among-population differentiation in Y-chromosomal lineages ($\Phi_{ST} = 0.52\%$, $P = 0.03$).