

УДК 575.174:599.9

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ПИГМЕНТАЦИИ (*OCA2* И *ASIP*) В НЕКОТОРЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ РОССИИ

© 2009 г. Б. А. Малярчук, М. А. Перкова, М. В. Деренко

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

Поступила в редакцию 03.10.2007 г.

В российских популяциях исследован полиморфизм двух генов системы пигментации: *OCA2* (локусы 305, 355 и 419, проанализированные у русских, бурят, чукчей, коряков и эвенов) и *ASIP* (локус 8818, проанализированный у русских и бурят). При попарных межпопуляционных сравнениях F_{ST} -дистанций обнаружено, что лишь популяции Северо-Восточной Азии (чукчи, коряки и эвены) достоверно отличаются как минимум по одному из локусов гена *OCA2* от всех остальных популяций. У русских Псковской и Новгородской областей обнаружена повышенная (до 6%) частота аллеля 419A гена *OCA2*, для которого ранее была показана ассоциативная связь с зеленым цветом глаз. Полученные данные обсуждаются с точки зрения их применимости для решения проблем этнической популяционной генетики.

Наряду с исследованиями изменчивости митохондриальной ДНК и Y-хромосомы – генетических систем, широко используемых в эволюционной и популяционной генетике, – в последние годы усилился интерес к аутосомным локусам, аллельные варианты которых характеризуются этнорасовой специфичностью и поэтому могут быть использованы для определения происхождения отдельных индивидуумов, субпопуляций и популяций, а также степени межрасового/межэтнического смешения в популяциях [1–3]. Такого рода маркеры, называемые в зарубежной литературе AIMs (Ancestry Informative Markers), широко используются также для картирования генома, изучения неравновесия по сцеплению и ассоциативных связей между различными участками генома в норме и при патологии. При создании панелей AIMs в качестве последних, как правило, выступают маркеры, ассоциированные с определенными фенотипическими проявлениями, из которых наиболее изучаемыми являются система пигментации (кожи, глаз, волос) и некоторые другие антропологически-информативные признаки – например, особенности черепно-лицевого скелета. В качестве модельных фенотипов чаще всего используются системы пигментации кожи и глаз [4, 5].

Известно, что генетическая система, определяющая разнообразие оттенков пигментации кожи, волос и глаз человека, является очень сложной как по числу участвующих в ней генов, так и по характеру взаимодействия между ними [2, 5, 6]. К настоящему времени уже сформирован набор информативных генов пигментации (например, *OCA2*, *ASIP*, *DCT*, *MC1R*, *MYO5A*, *TYR*, *TYRP1*) [4]. Примерно половина этих генов, включая ген

кожно-глазного альбинизма второго типа (*OCA2*), локализована в интервале q11.2-q12 хромосомы 15. Ген *OCA2* имеет большое значение в функционировании системы пигментации. Повреждения *OCA2*-белка могут приводить к изменениям в характере кожно-глазной пигментации и, как следствие, к появлению риска развития рака кожи [7]. Между тем популяционные исследования нормально пигментированных индивидуумов показали, что аллельная изменчивость гена *OCA2* связана с вариативностью цвета глаз человека [4, 6, 8].

К числу антропологически информативных маркеров, связанных с системой пигментации человека, относится полиморфизм (транзиция G>A) в позиции 8818 3'-нетранслируемого участка гена *ASIP*, кодирующего сигнальный белок агутти у человека [9]. Ранее было установлено, что наиболее высокие частоты аллеля 8818G (более 0.8) характерны для индивидуумов африканского происхождения. Существенно более низкие частоты (менее 0.3) зарегистрированы у индивидуумов азиатского и европейского происхождения [5]. Установлено также, что аллель 8818G является предковым для человека, а мутация G > A предположительно маркирует некоторые приспособительные реакции, связанные с адаптацией человека и независимым посветлением его кожи в некоторых регионах мира [10]. Между тем данные о распространенности аллельных вариантов позиции 8818 гена *ASIP* в популяциях мира довольно фрагментарны [4, 5]. Анализ полиморфизма генов пигментации в популяциях Российской Федерации представляется вполне актуальной задачей, особенно принимая во внимание тот факт,

Таблица 1. Характеристика локусов генов *OCA2* и *ASIP*, проанализированных в настоящей работе

Локус, аминокислотная замена (кодировка)	Нуклеотидная замена	Локализация	Номер в базе данных dbSNP (www.ncbi.nlm.nih.gov)	Рестрикционный полиморфизм, литературный источник
Ген <i>OCA2</i>				
Arg305Trp (R305W)	C305T	Экзон 9	rs1800401	<i>MspI</i> [8]
Ala355Ala (A355A)	G355A	Экзон 10	rs1800404	<i>HaeIII</i> [1]
Arg419Gln (R419Q)	G419A	Экзон 13	rs1800407	<i>Ama871</i> [8]
Ген <i>ASIP</i>				
G8818A	G8818A	3'-нетранслируемая область	rs6058017	<i>BsrBI</i> [3]

что популяции нашей страны исследованиями подобного рода практически не охвачены.

Целью настоящей работы является анализ полиморфизма генов *OCA2* и *ASIP* в некоторых популяциях Российской Федерации: в Восточной Европе (у русских), Южной Сибири (у бурят) и Северо-Восточной Азии (у чукчей, коряков и эвенов).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованы выборки нормально пигментированных индивидуумов, представляющих различные популяции России: русские Белгородской ($n = 56$), Псковской ($n = 70$) и Новгородской ($n = 73$) областей, буряты ($n = 95$), чукчи ($n = 15$), коряки ($n = 32$) и эвены ($n = 14$). Образцы крови от русских индивидуумов собраны в ходе экспедиционных работ 2000–2001 гг. на базе областных больниц (г. Белгород) и центров переливания крови (г. Великий Новгород). Образцы ДНК русского населения Псковской области получены для исследования из банка образцов ДНК лаборатории генетики человека Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Образцы крови коренного населения Сибири собраны в ходе экспедиций на территории Республики Бурятия (буряты), Магаданской области (коряки, эвены) и Чукотского Автономного Округа (чукчи).

Исследован полиморфизм трех локусов гена *OCA2*, соответствующих кодонам 305, 355 и 419 (табл. 1). Условия полимеразной цепной реакции и рестрикционного анализа амплифицированных участков ДНК приводятся в работах [1, 8] (табл. 1). Полиморфизм позиции 8818 гена *ASIP* анализировали, как описано в работе [3].

Для оценки степени генетической дифференциации популяций использовали статистику F_{ST} (AMOVA, пакет программ Arlequin 3.0 [11]). Достоверность различий значений F_{ST} -статистик при попарных сравнениях популяций тестировали с помощью непараметрического пермутационного подхода (10100 пермутаций) [11]. Для расчета ожидаемой гетерозиготности (H_e) и соответствия

распределения генотипов равновесию Харди–Вайнберга, оцениваемого с помощью точного теста Фишера, использовали пакет статистических программ Arlequin 3.0 [11]. Генетические различия между выборками оценивали также с помощью псевдовероятностного теста хи-квадрат, реализованного в программе CHIRXC [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведено исследование полиморфизма трех локусов гена *OCA2* в популяциях трех регионов Северной Евразии: Восточной Европы (у русских), Южной Сибири (у бурят) и Северо-Восточной Сибири (у эвенов, коряков и чукчей) (табл. 2). В проанализированных выборках выявлено восемь комбинированных трехлокусных генотипов, из которых наиболее частым является генотип *CC/GG/AA* по локусам 305, 419 и 355 соответственно (табл. 2). В выборках коренного населения Северо-Восточной Азии выявлено всего три генотипа, различающихся только полиморфизмом в локусе 355. Выборки чукчей, коряков и эвенов характеризовались сходным распределением частот генотипов *OCA2* ($P > 0.09$, псевдовероятностный тест) и поэтому были объединены в одну выборку во всех последующих видах анализа. В выборках населения Восточной Европы (у русских) и Южной Сибири (у бурят) выявлено семь и шесть генотипов соответственно. В целом уровень разнообразия (гетерозиготности) гена *OCA2* варьировал от 48.3% в Восточной Европе (у русских) и 49% в Южной Сибири (у бурят) до 29% в Северо-Восточной Азии (у чукчей, коряков и эвенов). Различия между исследованными региональными группами населения составили примерно 1% ($F_{ST} = 0.99\%$, $P = 0.02$).

Анализ попарных F_{ST} -дистанций показал, что только популяции Северо-Восточной Азии (чукчи, коряки и эвены) достоверно отличаются от остальных популяций (значения F_{ST} составили 4–6%). Межпопуляционная генетическая дифференциация (в значениях F_{ST}) по отдельным локусам гена *OCA2* составила 0.78% ($P = 0.076$), 0.95%

Таблица 2. Распределение частот генотипов для трех локусов гена *OCA2* в некоторых популяциях России

Трехлокусные генотипы (характер полиморфизма в скобках)			Регионы/популяции						
305 (С/Т)	419 (G/A)	355 (G/A)	Южная Сибирь	Северо-Восточная Азия			Восточная Европа (русские)		
			Буряты (n = 96)	Чукчи (n = 15)	Эвены (n = 14)	Коряки (n = 32)	Белгород (n = 56)	Великий Новгород (n = 71)	Псков (n = 70)
CC	GG	GG	0.06 (6)	0.07 (1)	0	0	0	0.01 (1)	0.01 (1)
CC	GG	GA	0.29 (28)	0.20 (3)	0.29 (4)	0.38 (12)	0.23 (13)	0.35 (25)	0.21 (15)
CC	GG	AA	0.51 (49)	0.73 (11)	0.71 (10)	0.62 (20)	0.59 (33)	0.41 (29)	0.61 (43)
CC	GA	GA	0.03 (3)	0	0	0	0.04 (2)	0.13 (9)	0.09 (6)
СТ	GG	GG	0.01 (1)	0	0	0	0	0	0
СТ	GG	GA	0.09 (9)	0	0	0	0.11 (6)	0.10 (7)	0.04 (3)
CC	GA	GG	0	0	0	0	0.04 (2)	0	0.01 (1)
CC	GA	AA	0	0	0	0	0	0	0.01 (1)

Таблица 3. Гетерозиготность трех локусов гена *OCA2* в популяциях России

Регионы/популяции	Локусы (характер полиморфизма в скобках)		
	305 (С/Т)	419 (G/A)	355 (G/A)
Южная Сибирь (буряты)	0.1 ± 0.03	0.03 ± 0.02	0.41 ± 0.03
Северо-Восточная Азия (чукчи, эвены, коряки)	0	0	0.29 ± 0.04
Русские (Белгород)	0.1 ± 0.04	0.07 ± 0.03	0.35 ± 0.04
Русские (Великий Новгород)	0.09 ± 0.03	0.12 ± 0.04	0.43 ± 0.03
Русские (Псков)	0.04 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.32 ± 0.04

($P = 0.05$) и 1.49% ($P = 0.015$) для локусов 305, 355 и 419 соответственно. В табл. 3 приводятся значения ожидаемой гетерозиготности (H_e) для трех локусов гена *OCA2*. Наиболее разнообразным является локус 355, в то время как в остальных локусах наблюдаются более низкие значения гетерозиготности ($H_e < 0.15$). Значимое отклонение от равновесия Харди–Вайнберга было обнаружено только в одном случае – в новгородской популяции для локуса 355. Причиной отклонения, по всей видимости, является достоверно повышенная ($P < 0.03$, точный тест Фишера) частота гетерозигот GA в этой выборке в сравнении с остальными популяциями (табл. 2).

При попарных F_{ST} -сопоставлениях популяций обнаружено, что популяции Северо-Восточной Азии достоверно отличаются по локусам 305 и 355 от бурят и по локусу 419 от каждой из трех выборок русского населения Восточной Европы. В свою очередь, буряты при сопоставлении с русскими достоверно отличаются только от новгородских русских по локусу 419. Этот локус представляет отдельный интерес, поскольку ранее была показана ассоциативная связь полиморфизма 419 (G/A) с различиями в цвете глаз; так, ал-

лель 419A достоверно чаще встречается у индивидуумов с зеленым цветом глаз [6, 8]. Исследованные нами выборки также различаются по частоте аллеля 419A (табл. 4). У русских Псковской и Новгородской областей частота этого аллеля составила в среднем 0.06, у русских Белгородской области – 0.036, у бурят – 0.016.

Другим локусом, для которого сообщалось существование ассоциаций с карим цветом глаз и темной кожей, является позиция 8818 3'-нетранслируемого участка гена *ASIP*, кодирующего сигнальный белок агуты у человека [5]. Проведенное нами исследование полиморфизма G/A в этом локусе у русских Белгородской ($n = 56$) и Псковской ($n = 70$) областей показало, что частота аллеля 8818G у русских в среднем составляет 0.115, что соответствует значениям, обнаруженным и в других популяциях Европы – от 0.07 до 0.16 [5]. Между тем у бурят, представляющих коренное население Южной Сибири, также выявлена сходная частота этого аллеля (0.14), хотя для населения Восточной Азии ранее сообщались более высокие частоты – от 0.17 у китайцев до 0.28 у японцев [5]. Однако у якутов – единственной из изученных до настоящего времени популяции Сибири – от-

Таблица 4. Частота аллелей трех локусов гена *OCA2* в популяциях России

Регионы/популяции	Размер выборки	Частота аллелей		
		305T	355A	419A
Северо-Восточная Азия				
Чукчи	15	0	0.833	0
Эвены	14	0	0.857	0
Коряки	32	0	0.813	0
Южная Сибирь				
Буряты	96	0.052	0.719	0.016
Восточная Европа				
Русские (Белгород)	56	0.054	0.777	0.036
Русские (Великий Новгород)	71	0.049	0.697	0.063
Русские (Псков)	70	0.021	0.800	0.057

мечалась очень низкая частота аллеля 8818G (всего 0.02 [5]). В табл. 5 представлены данные о распределении частот генотипов локуса 8818 гена *ASIP* у русских и бурят. Изученные популяции характеризуются сходным распределением частот и разнообразия этого локуса; значение гетерозиготности H_e составило 0.24 ± 0.04 у бурят, 0.21 ± 0.05 у русских Белгородской области и 0.20 ± 0.04 у русских Псковской области. Проведенный нами анализ F_{ST} -дистанций показал отсутствие достоверных различий во всех парах сравнений популяций русских и бурят. По-всей видимости, несмотря на ценность данного локуса гена *ASIP* в плане изучения эволюции пигментации кожи у человека [5, 9], его применимость для географических исследований популяций Северной Евразии весьма ограничена.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное нами исследование позволило охарактеризовать степень полиморфизма двух генов, связанных с функционированием системы пигментации, в нескольких популяциях России и наметить тем самым направление дальнейших исследований в этой области популяционной генетики. Наиболее важными нам представляются полученные данные, свидетельствующие о существовании генетических различий между популяциями русского населения Восточной Европы по распределению аллелей и генотипов гена *OCA2*, имеющего большое значение в функционировании системы пигментации человека. Хотя различия по распределению частоты аллеля 419A в русских популяциях и не достигают статистически значимых уровней ($P > 0.4$, псевдовероятностный тест), полученные данные можно рассматривать в связи с существующими межэтническими и межпопуляционными различиями по цвету глаз у населения Северной Евразии и, в частности, у славян. Так, согласно антропологическим данным, размах изменчивости цвета глаз (в баллах цветности) у славянского населения довольно значителен – от 0.3 до 0.9 [13]. В соответствии с данными антропологии, население Новгородской и Псковской областей, где нами обнаружена повышенная частота аллеля 419A, граничит с наименее пигментированным населением Прибалтики и Онежско-Двинского бассейна, а русское население Белгородской области, характеризующееся более низкой частотой аллеля 419A, – с умеренно темноглазым населением Украины. Согласно результатам недавнего исследования [6], вариант 419A ассоциируется с зеленым цветом глаз. Подобная высокодостоверная ассоциация была выявлена и для аллеля 355A [6], однако полученные нами в настоящей работе данные не позволили обнаружить достоверные межпопуляционные различия в распределении частот аллелей локуса 355. Поэтому дальнейшие исследования полиморфизма генов системы пигментации человека в популяциях России представляются вполне актуальными.

Таблица 5. Распределение частот генотипов и аллелей локуса 8818 гена *ASIP* в некоторых популяциях России

Популяция	Генотип			Аллель	
	AA	AG	GG	A	G
Буряты ($n = 96$)	0.73 (70)	0.26 (24)	0.01 (1)	0.854	0.146
Русские (Белгород; $n = 56$)	0.77 (43)	0.23 (13)	0	0.884	0.116
Русские (Псков; $n = 70$)	0.77 (54)	0.23 (16)	0	0.886	0.114

Примечание. В скобках приводится количество индивидуумов.

Авторы выражают признательность И.К. Дамбуевой и С.Ю. Рычкову за помощь в проведении данного исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 06-04-48136).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Parra E.J., Marcini A., Akey J. et al. Estimating African American admixture proportions by use of population-specific alleles // *Am. J. Hum. Genet.* 1998. V. 63. P. 1839–1851.
2. Shriver M.D., Parra E.J., Dios S. et al. Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping // *Hum. Genet.* 2003. V. 112. P. 387–399.
3. Bonilla C., Shriver M.D., Parra E.J. et al. Ancestral proportions and their association with skin pigmentation and bone mineral density in Puerto Rican women from New York city // *Hum. Genet.* 2004. V. 115. P. 57–68.
4. Frudakis T., Thomas M., Gaskin Z. et al. Sequences associated with human iris pigmentation // *Genetics.* 2003. V. 165. P. 2071–2083.
5. Norton H.E., Kittles R.A., Parra E. et al. Genetic evidence for the convergent evolution of light skin in Europeans and East Asians // *Mol. Biol. Evol.* 2007. V. 24. P. 710–722.
6. Duffy D.L., Montgomery G.W., Chen W. et al. A three-SNP haplotype in the first intron of OCA2 explains most human eye color variation // *Am. J. Hum. Genet.* 2007. V. 80. P. 241–252.
7. Lee S.T., Nicholls R.D., Bunday S. et al. Mutations of the P gene in oculocutaneous albinism, ocular albinism, and Prader-Willi syndrome plus albinism // *N. Engl. J. Med.* 1994. V. 330. P. 529–534.
8. Rebbeck T.R., Kanetsky P.A., Walker A.H. et al. P gene as an inherited biomarker of human eye color // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2002. V. 11. P. 782–784.
9. Kanetsky P.A., Swoyer J., Panossian S. et al. A polymorphism in the agouti signaling protein gene is associated with human pigmentation // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. V. 70. P. 770–775.
10. Bonilla C., Boxill L., Donald S. et al. The 8818G allele of the agouti signaling protein (ASIP) gene is ancestral and is associated with darker skin color in African Americans // *Hum. Genet.* 2005. V. 116. P. 402–406.
11. 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.
12. Zaykin D.V., Pudovkin A.J. Two programs to estimate significance of Chi-square values using pseudo-probability test // *J. Heredity.* 1993. V. 84. P. 152.
13. Алексеева Т.И. Этногенез восточных славян. М.: Изд. МГУ, 1973. 330 с.

Polymorphism of Pigmentation Genes (*OCA2* and *ASIP*) in Some Populations of Russia

B. A. Malyarchuk, M. A. Perkova, and M. V. Derenko

Institute of Biological Problems of the North, Far East Division, Russian Academy of Sciences, Magadan, 685000 Russia
e-mail: malyarchuk@ibpn.ru

In Russian populations, polymorphism of two pigmentation system genes, *OCA2* (loci 305, 355, and 419, tested in Russians, Buryats, Chukchi, Koryaks, and Evens) and *ASIP* (locus 8818, tested in Russians and Buryats) was examined. Pairwise comparisons of the F_{ST} distances between the populations showed that only the populations from Northeast Asia (Chukchi, Koryaks, and Evens) were statistically significantly different from all other populations, at least relative to one of the *OCA2* locus. In Russians from Pskov oblast and Novgorod oblast, increased frequency (up to 6%) of the *OCA2* allele 419A was revealed. In earlier studies, an association of this allele with green eye color was demonstrated. The data obtained in terms of their application for ethnic population genetics.