

МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ Y-ХРОМОСОМЫ И АНАЛИЗ ЕГО ГАПЛОТИПИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ

И.Н. Лепендина¹
Л.А. Цапкова¹
Е.В. Балановская²
М.И. Чурносов¹

¹Белгородский
государственный
университет

²Медико-генетический
научный центр РАМН

e-mail: Lependina@bsu.edu.ru

В настоящей работы проведено изучение генофонда русского населения юга Центральной России по данным о полиморфизме Y-хромосомы. Изучено распределение 10 STR маркеров Y хромосомы в русских популяциях юга Центральной России (на модели Белгородской области). С помощью стандартных методов многомерной статистики оценены генетические соотношения между изученными популяциями юга Центральной России. Определено место генофонда населения юга Центральной России в системе русского и украинского генофондов.

Ключевые слова: молекулярно-генетические маркеры, Y-хромосома, STR-полиморфизм, популяционная генетика, методы многомерной статистики, генофонд.

В настоящее время исследования, связанные с историей происхождения человека, временем и этапами его расселения по земному шару, предрасположенностью и устойчивостью к различным заболеваниям являются одними из приоритетных в генетике [1, 2, 3].

Одним из методов изучения генетической структуры популяций является анализ линий Y-хромосомы. Вследствие низкой эффективной численности пула Y хромосом в популяции (в 4 раза меньше, чем для аутосом) Y хромосома в большей степени подвержена эффектам генетического дрейфа и характеризуется большей степенью межпопуляционной вариабельности по сравнению с аутосомными и митохондриальными маркерами, что приводит к высокому уровню географической дифференциации популяций и может быть использовано для решения популяционных и эволюционных задач, исследования миграционных потоков народов в историческом прошлом [4].

Полиморфизм Y-хромосомы на протяжении последних лет изучался довольно интенсивно в различных популяциях: Европы, Африки, Центральной Азии [5, 6, 7]. В настоящее время исследуются различные расово-этнические группы в пределах России [8, 9]. Тем не менее, еще относительно мало работ, посвященных изучению генофонда русского населения, проживающего в пределах его исторического ареала, с использованием широкого спектра маркеров Y-хромосомы.

Генофонд населения юга Центральной России складывался на протяжении долгого исторического периода в результате различных межэтнических контактов славянских и неславянских племен, разнонаправленных миграционных потоков разных территориальных групп русских [4, 8, 9]. До сих пор остается нерешенной проблема определения времени появления первых людей, путей их миграций и расселения на данной территории. В генофонде русского населения встречается широкий спектр гаплогрупп Y-хромосомы, различающихся по месту и времени их возникновения. Это говорит о происходивших в эпоху палеолита и мезолита миграциях в этом регионе [8, 9].

Таким образом, изучение генофонда населения юга Центральной России с использованием полиморфных маркеров Y-хромосомы является особо актуальным в силу того, что сможет дать объяснение историческим процессам, происходившим в ходе формирования генофонда современного населения рассматриваемой территории. Применение маркеров Y-хромосомы обеспечит более точное понимание этногенеза и расселения людей по территории юга Центральной России.

Объекты и методы исследования. Проведено изучение генетической структуры русских популяций юга Центральной России по данным о полиморфизме 10 STR маркеров Y хромосомы на модели Белгородской области. Население именно этой области юга Центральной России выбрано не случайно. Во-первых, ее территория является исконным ареалом проживания русских. Однако, население области формировалось за счет миграционных потоков различных территориальных групп русских. Во-вторых, территориально Белгородская область расположена на стыке России и Украины, и ее население исторически формировалась в XVI-XVII вв. под значимым влиянием, как русского, так и украинского этносов.

В качестве объектов исследования были выбраны русский и украинцы Белгородской области. Территориально область располагается на юго-западных и южных склонах Среднерусской возвышенности. С юга и запада Белгородская область граничит с Украиной (Сумской и Харьковской областями), с севера и северо-запада – с Курской областью, а с востока – с Воронежской (рис.1). Протяженность ее границ – 1150 км, из них 540 км. – с Украиной. 93% населения Белгородской области составляют русские, 4% – украинцы, 2,7% населения составляют представители других этнических групп.



Рис. 1. Карта Белгородской области (отмечены районы, в которых производился сбор материала для исследования, без штриховки – у русского населения, со штриховкой – у украинского населения)

Суммарный объем выборки составил 403 человека, из которых 350 русских проживающих в Яковлевском (140 человек), Прохоровском (114 человек), Красненском (96 человек) районах и 53 украинцев Красногвардейского (33 человека) и Грайворонского районов Белгородской области (20 человек) (рис.1).

Особое внимание было уделено формированию репрезентативных выборок. В обследование включались только неродственные лица (до третьей степени родства), все предки которых (на глубину не менее трех поколений по мужской линии) относятся к русскому или украинскому этносу и происходят из данной популяции. Забор образцов крови проводился согласно международным стандартам с письменного согласия обследуемых и под контролем Этической комиссии ГУ МГНЦ РАМН.

Полевой сбор образцов проведен Л.А. Цапковой, В.Ю. Песик, И.Н. Лепендиной, М.С. Жерлицыной, Н.А. Рудых, И.Н. Сорокиной под руководством д.б.н. Е.В. Балановской и д.м.н. проф. М.И. Чурносова.

Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 8-9 мл, взятая из локтевой вены обследуемого. ДНК выделяли из периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции.

В рамках данной работы был изучен полиморфизм полиаллельных высоковариабельных микросателлитов (STR) Y-хромосомы. Анализ Y-STR-полиморфизма проводили с использованием десяти микросателлитных маркеров нерекombинирующей части Y- хромосомы: DYS385a/b, DYS388, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS19 (DYS394). Выбор данной системы маркеров обусловлен тем, что именно эти микросателлиты входят в состав так называемого минимального гаплотипа, являющегося основным для проведения популяционно-генетических исследований, который наиболее изучен во многих мировых популяциях. Анализ всех локусов осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК. Полимеразная цепная реакция проводилась в конечном объеме 25 мкл со стандартными праймерами. Прямые праймеры для каждого локуса несли флюоресцентную метку FAM, NED или VIC. Продукты ПЦР отдельных локусов объединяли в денатурирующем буфере и разделяли методом капиллярного гель-электрофореза на генетическом анализаторе ABI Prism 310 в присутствии стандарта длины молекул ДНК GeneScan500-LIZ в условиях, рекомендуемых производителем. Анализ фрагментов проводили с помощью программного обеспечения GeneScan Analysis 3.7. Аллели обозначали по количеству повторов тамдемного мотива в соответствующем STR-локусе.

Статистический анализ. Для расчета частот генов, генного разнообразия, генетической дифференциации популяций были использованы стандартные статистические методы [10]. Ожидаемую гетерозиготность, индекс разнообразия гаплотипов (D_{hg}) рассчитывали по Nei.

Для микросателлитов оценивали также такие показатели разнообразия, как дисперсия числа повторов (V), число аллелей (K), разброс числа повторов в популяции (R – разница между аллелями с минимальным и максимальным числом повторов).

Попарное сравнение популяций по частотам аллелей локусов проводили с помощью критерия χ^2 . Генетические характеристики разнообразия популяций оценивались при помощи следующих показателей: генной идентичности (IT) и общего генетического разнообразия (HT), его внутривидового (гетерозиготность субпопуляций -HS) и межвидового компонентов (DST), а также коэффициента генной дифференциации (GST) [10].

Генетические расстояния между популяциями были рассчитаны с помощью программы DJ genetic (версия 0,03 beta), разработанной Ю.А. Серегиним и Е.В. Балановской в ГУ МГНЦ РАМН. Для вычисления расстояний использовали общепринятый в популяционно-генетических исследованиях метод сравнения популяций по частотам аллелей полиморфных маркеров по M. Nei. На основе полученных матриц генетических расстояний были построены дендрограммы, проведено многомерное шкалирование; по корреляционным матрицам – факторный анализ [11] с использованием пакета статистических программ Статистика (версия 5).

Результаты и обсуждение.

Частоты STR маркеров Y-хромосомы среди русского и украинского населения Белгородской области

Среди населения Белгородской области частоты аллелей семи микросателлитных локусов Y-хромосомы составили: DYS388*11 – 0,25%, DYS388*12 – 78,20%, DYS388*13 – 14,28%, DYS388*14 – 5,01%, DYS388*15 – 2,26%, DYS390*22 – 3,00%, DYS390*23 – 16,00%, DYS390*24 – 28,00%, DYS390*25 – 48,57%, DYS390*26 – 4,25%, DYS391*8 – 0,25%, DYS390*9 – 1,75%, DYS390*10 – 44,86%, DYS390*11 – 51,12%, DYS390*12 – 2,01%, DYS392*10 – 0,75%, DYS392*11 – 81,30%, DYS392*12 – 5,23%, DYS392*13 – 0,25%, DYS392*14 – 12,47%, DYS393*11 – 0,25%, DYS393*12 – 4,52%, DYS393*13 – 84,17%, DYS393*14 – 10,80%, DYS393*15 – 0,25%, DYS19*13 – 4,75%, DYS19*14 – 15,00%, DYS19*15 – 23,00%, DYS19*16 – 47,75%, DYS19*17 – 9,50%, частые аллели по локусу DYS385a/b: 11/14 – 33,84%, 11/15 – 13,78%, 11/13 – 8,77%.

Сравнительный анализ распределения аллелей анализируемых STR локусов Y-хромосомы среди русского и украинского населения Белгородской области, а также



в «среднерусской» популяции показал следующее. Во-первых, аллельный спектр микросателлитных локусов и их распределение среди населения Белгородской области в целом соответствуют их распределению в восточнославянском генофонде. Среди русского населения Белгородской области частоты аллелей $DYS390^{*25}$, $DYS390^{*26}$, $DYS393^{*13}$ достоверно выше среднерусских показателей ($p < 0,05-0,001$), а концентрация аллелей $DYS392^{*13}$, $DYS393^{*14}$, $DYS19^{*13}$, $DYS19^{*14}$ – ниже среднерусских значений ($p < 0,05-0,001$).

Во-вторых, у русского населения Белгородской области выявлен тренд повышения частот аллелей $DYS385a/b^{*11/14}$, $DYS385a/b^{*11/15}$, $DYS385a/b^{*11/13}$, $DYS388^{*12}$, $DYS391^{*11}$, $DYS391^{*12}$, $DYS392^{*11}$, $DYS393^{*13}$, $DYS19^{*16}$ и снижения концентрации редких аллелей локуса $DYS385a/b$, а также аллелей $DYS388^{*13}$, $DYS390^{*25}$, $DYS391^{*10}$, $DYS392^{*12}$, $DYS393^{*12}$, $DYS19^{*17}$ с запада на восток. Высоковариабельными из изученных нами маркеров являются локусы $DYS385a/b$, $DYS390$, $DYS19$ ($H_e = 0,65-0,83$), а низким уровнем разнообразия отличаются локусы $DYS388$, $DYS391$, $DYS392$, $DYS393$ ($H_e = 0,28-0,53$).

В-третьих, русское и украинское население Белгородской области достоверно отличается по частотам трех аллелей двух STR локусов Y-хромосомы: концентрация аллелей $DYS390^{*24}$ и $DYS19^{*13}$ у украинцев области выше ($p < 0,05-0,001$), а распространенность аллеля $DYS19^{*14}$ – ниже ($p < 0,05$) по сравнению с русским населением области.

Генетическая дифференциация населения Белгородской области рассчитанный по данным о частотах 63 аллелей 7 STR локусов Y- хромосомы составил $G_{ST} \bullet 100 = 0,66$. Выполненный нами сравнительный анализ генетической изменчивости русского населения Белгородской области с использованием SNP-полиморфизма (по данным о частотах 16 гаплогрупп Y- хромосомы) показал примерно такие же результаты – $G_{ST} \bullet 100 = 0,78$, что гораздо выше уровня генетического разнообразия полученного как по аутосомным ДНК маркерам $d = 0,006$ так и по иммунобиохимическим маркерам $d = 0,007$ [12,13].

Генетическая вариабельность STR локусов Y-хромосомы у русского населения.

Проведенный анализ генетической изменчивости рассмотренных семи STR локусов Y-хромосомы среди русского населения Белгородской области показал (табл. 1), что у 6 из них ($DYS388$, $DYS390$, $DYS391$, $DYS392$, $DYS393$, $DYS19$) выявлено по 5 аллельных вариантов. По локусам $DYS385a$ и $DYS385b$ выявлено по 9 аллелей. К относительно высоковариабельным локусам можно отнести следующие: $DYS390$, $DYS19$, $DYS385a/b$, которые характеризуются наибольшим уровнем генного разнообразия (H_e в пределах $0,65-0,84$) и высокими значениями дисперсии числа повторов ($V=0,84-1,85$). Самый большой показатель генного разнообразия характерен для локуса $DYS385a/b$ ($H_e = 0,84$). По локусам $DYS388$, $DYS391$, $DYS392$, $DYS393$ наблюдается низкий уровень изменчивости: уровень генного разнообразия по этим локусам равнялся $0,28 - 0,53$, показатели дисперсии числа повторов для локусов $DYS388$ и $DYS391$ составили $0,46$ и $0,33$ соответственно, а для локусов $DYS392$ и $DYS393 - V = 1,06$ и $V = 1,18$ соответственно.

Таблица 1

Генетическая изменчивость 7 STR локусов Y-хромосомы среди русского населения Белгородской области

Локус	Генное разнообразие (H_e)	Дисперсия повторов (V)	Число аллелей (K)	Эффективное число аллелей (n_e)	Разброс повторов (R)
$DYS385a/b$	0,8371	1,85/0,99	9	0,1628	8
$DYS388$	0,3678	0,46	5	0,6322	4
$DYS390$	0,6514	0,84	5	0,3485	4
$DYS391$	0,5312	0,33	5	0,4688	4
$DYS392$	0,3367	1,06	5	0,6633	4
$DYS393$	0,2885	1,18	5	0,7115	4
$DYS19$	0,6742	1,93	5	0,3258	4
Среднее на локус	0.5267	0.95	5.5714	0.4733	4.5714

Таксономический анализ населения Белгородской области и оценка места его генофонда в системе русского и украинского генофондов.

На основе методов многомерной статистики (кластерный анализ, многомерное шкалирование, факторный анализ) по данным о частотах гаплогрупп Y-хромосомы проведено исследование генетических расстояний между русским (популяции Яковлевского, Прохоровского и Красненского районов) и украинским (популяции Грайворонского и Красногвардейского районов) населением Белгородской области и изучено их место среди «среднерусской» и «среднеукраинской» популяций.

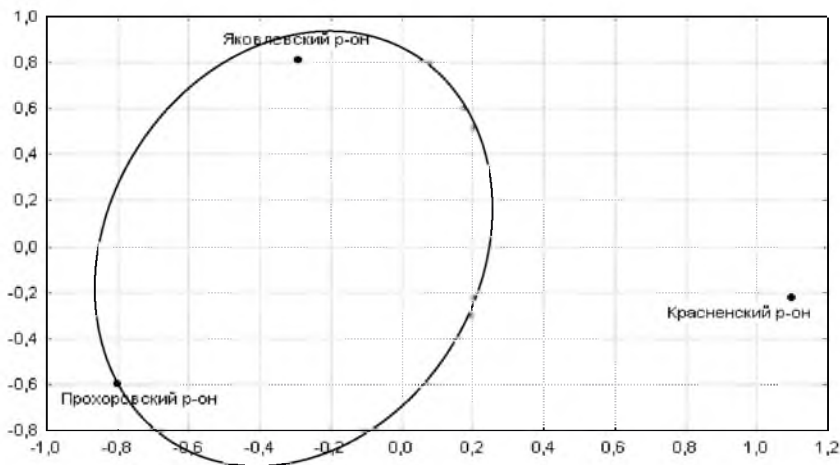


Рис. 2. График двухмерного шкалирования трех районных популяций Белгородской области (построен по частотам 16 гаплогрупп Y-хромосомы)

При исследовании генетических соотношений между русским населением Яковлевского, Прохоровского, Красненского районов Белгородской области выявлено объединение в один кластер Яковлевского и Прохоровского районов. Красненский район оказался генетически удален от данного кластера (рис.2). Установленная генетическая дифференциация изучаемых популяций согласуется с их географическим положением. Яковлевский и Прохоровский районы расположены на северо-западе области и непосредственно граничат друг с другом, Красненский район территориально отдален от них и расположен на востоке области (рис 1). Коэффициент корреляции Спирмена между матрицами генетических и географических расстояний составляет $\rho = 1,00$ ($p = 0,03$).

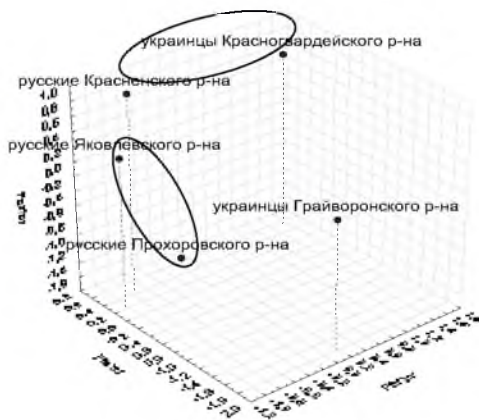


Рис. 3. Расположение в пространстве трех главных факторов пяти популяций Белгородской области (ось X – первый фактор, ось Y – второй фактор, ось Z – третий фактор) (по частотам 16 гаплогрупп Y-хромосомы)



Анализ генетических соотношений пяти районных популяций с русским и украинским населением Белгородской области показал дифференцировку рассматриваемых районов на два кластера (рис.3). Первый – «северо-западный», включающий Яковлевский и Прохоровский районы Белгородской области, второй – «северо-восточный», представлен Красненским и Красногвардейским районами области. Генетически отдаленным от этих популяций оказался Грайворонский район, территориально расположенный на юго-западе области.



Рис. 4. Территориальное расположение пяти изучаемых районов Белгородской области (овалом обведены популяции, которые формируют кластеры при кластерном анализе, многомерном шкалировании и факторном анализе)

Такое объединение популяций обнаруживается всеми методами многомерной статистики – кластерным анализом, многомерным шкалированием, факторным анализом, что подтверждает реальность выявленных кластеров. Следует отметить, что выявленная подразделенность популяций Белгородской области соответствует их реальному географическому положению (рис. 4).

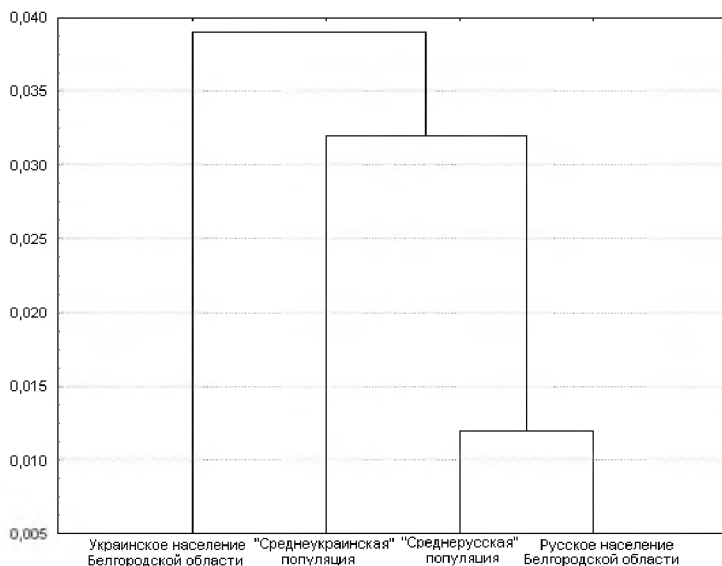


Рис. 7. Дендрограмма генетических соотношений русского и украинского населения Белгородской области со «среднерусской» и «среднеукраинской» популяциями (построена методом Уорда по частотам 13 гаплогрупп Y-хромосомы)

Изучение положения русского и украинского населения Белгородской области в системе русского и украинского генофондов было проведено на основании собственных данных о распределении частот 13 гаплогрупп Y-хромосомы среди населения Белгородской области и литературных данных по частотам этих же гаплогрупп в «среднерусской» и «среднеукраинской» популяциях. Установлено, что русское население Белгородской области имеет минимальные генетические расстояния со «среднерусской» популяцией. Украинское население Белгородской области, как и «среднеукраинская» популяция генетически удалены от них (рис. 5). Сходные результаты были получены и по другим системам генетических маркеров [14].

Выводы

1. Дана характеристика структуры генофонда русских и украинских популяций Белгородской области (5 популяций, 403 человека) по данным о распределении частот 66 аллелей семи высоковариабельных микросателлитных локусов Y-хромосомы.
2. Генетическая дифференциация населения Белгородской области по данным о микросателлитном полиморфизме составляет 0,66, что выше аналогичных показателей по аутосомным ДНК ($d = 0,006$) и иммунобиохимическим ($d = 0,007$) маркерам.
3. Популяции Белгородской области дифференцируются на два кластера – «северо-западный» и «северо-восточный», в соответствии с географическими расстояниями между ними.
4. Русское население Белгородской области имеет минимальные генетические расстояния со «среднерусской» популяцией, а украинское население Белгородской области, как и «среднеукраинская» популяция генетически удалены от них.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” (государственный контракт №02.740.11.0496 “Генетические факторы мультифакториальных заболеваний человека”).

Литература

1. Рычков, Ю.Г. Генофонд и геногеография народонаселения. Генофонд населения России и сопредельных стран. / Под ред. Ю.Г. Рычкова. – СПб.: Наука, 2000. – т.1. – 611 с.
2. Алтухов, Ю.П. Генетические процессы в популяциях. Монография / Ю.П. Алтухов–М.: Наука, 2003. – 431с.
3. Степанов, В.А. Этногеномика населения Северной Евразии. Монография / В.А. Степанов – Томск.: Печатная мануфактура, 2002. – 243 с.
4. Rosser, Z.H. Y-chromosomal diversity in Europe Is Clinal and Influenced Primarily by Geography, Rather than by Language/ Z.H. Rosser, T. Zerjal, M.E. Hurles et al. // Am. J. Hum. Genet. – 2000. – V.67. – P.1526-1543
5. Semino, O. Origin, Diffusion, and Differentiation of Y-Chromosome Haplogroups E and J: Inferences on the Neolithization of Europe and Later Migratory Events in the Mediterranean Area/ O. Semino, C. Magri, G. Benuzzi et al. // Am. J. Hum. Genet. – 2004. – V. 74. – P.1023-1034
6. Seielstad, M.T. A Novel Y-Chromosome Variant Puts an Upper Limit on the Timing of First Entry into the Americas/ M.T. Seielstad, N. Yuldasheva, N. Singh et al. // Am. J. Hum. Genet. – 2003. – V.73. – P.700-705.
7. Лимборская, С.А. Этногеномика и геногеография народов Восточной Европы / С.А. Лимборская, Э.К. Хуснутдинова, Е.В.Балановская. – М.: Наука, 2002. – 261 с.
8. Балановская, Е.В. Русский генофонд. Взгляд в прошлое / Е.В. Балановская, О.П. Балановский. – М.: Луч, 2006. – 134 с.
9. Седов, В. В. Славяне: историко-археологическое исследование. Монография / В. В. Седов – Москва, 2002. – 628 с.
10. Животовский Л.А. Микросателлитная изменчивость в популяциях человека и методы ее изучения/ Животовский Л.А. // Вестник ВОГиС. – 2006. т.10., №1. – С.74-96
11. Дерябин, В.Е. Многомерные биометрические методы для антропологов. Монография / В.Е. Дерябин – М.: ВИНТИ, 2001. – С. 105-265
12. Чурносков, М.И. Материалы по изучению структуры генофонда русского населения Центральной России/ М.И. Чурносков, В.Ю. Песик, Н.А. Рудых, И.Н. Сорокина,



Л.А. Цапкова, В.С. Ващилин, И.Н. Лепендина, И.К. Аристова, М.С. Жерлицына, Е.В. Балановская // Медицинская генетика.- 2005. – Т.4. №6. С.289.

13. Лепендина, И.Н. Генофонд населения Белгородской области. Распределение иммунобиохимических маркеров генов/ И.Н. Лепендина Е.В. Балановская, М.И. Чурносков // Генетика.- 2008.-т . 44, № 4. – с. 543 – 557

14. Лепендина, И.Н. Генофонд населения Белгородской области. Изучение биохимических маркеров генов в популяциях Украины, Белоруссии и положение белгородской популяции в системе восточнославянского генофонда/ И.Н. Лепендина, , М.И. Чурносков, Л.А Артаментова, М.А. Ишук, О.В. Тегако, Л.И. Тегако, Е.В. Балановская // Генетика.- 2008.-т . 44, № 4. – с. 548 – 569.

MICROSATELLITE POLYMORPHISM OF Y-CHROMOSOME AND ANALYSIS OF ITS HAPLOTYPE VARIETY AMONG THE POPULATION

I.N. Lependina¹

L.A. Tsapkova¹

E.V. Balanovskaja²

M.I. Churnosov¹

¹*Belgorod State University*

²*Mediko-genetic centre of science of the Russian Academy of Medical Science*

e-mail: Lependina@bsu.edu.ru

Studying of a genofund of Russian population of the south of the Central Russia is spent to the present works by data about polymorphism of Y-chromosome. Distribution 10 STR markers Y of a chromosome in Russian populations of the south of the Central Russia (on model of the Belgorod region) are studied. By means of standard methods of multidimensional statistics genetic parities between the studied populations of the south of the Central Russia are estimated. The place of a genofund of the population of the south of the Central Russia in system of Russian and an Ukrainian language of genofunds is defined.

Key words: molecular genetic markers, Y-chromosome, STR-polymorphism, methods of multidimensional statistics, a genofund.