

*Т.С. БАЛМУХАНОВ¹, Е.К. БЕКСЕИТОВ¹, И.А. АХМЕТОЛЛАЕВ¹,
А.К. ХАНСЕИТОВА¹, Д.М. БОТБАЕВ¹, А.М.БЕЛКОЖАЕВ¹,
О.И. ИСМАГУЛОВ², А.О. ИСМАГУЛОВА², АЙТХОЖИНА Н.А.*

(¹ РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А.Айтхожина» КН МОН РК,
Алматы;

² РГП «Институт истории и этнологии им. Ч.Ч.Валиханова» КН МОН РК, Алматы)

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ STR- ЛОКУСОВ Y-ХРОМОСОМЫ В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Аннотация

Приведено описание аллельного полиморфизма Y-хромосомы (STR—short tandem repeat) по шестнадцати локусам у 100 современных казахов, представителей трех жузов. Для исследованной популяции выявлена сравнительно небольшая норма реакции аллелей, что предварительно указывает на генетическую гомогенность и историческую близость происхождения представителей тестируемой группы.

Ключевые слова: Y-хромосома, микросателлиты, казахи.

Кілт сөздер: Y-хромосома, микросателлиттер, қазақтар.

Keywords: Y-chromosome, microsatellite, Kazakhs.

Одним из наиболее продуктивных инструментов в руках популяционных генетиков, эволюционных биологов и антропологов, занимающихся исследованиями в области этногеномики, в настоящее время стала Y-хромосома. В связи с этим был создан Международный консорциум по изучению и стандартизации мировых гаплогрупп Y-хромосомы (YCC - YChromosome Consortium), который в 2002 году предложил классификацию и номенклатуру линий Y-хромосомы, основанную на последовательности происхождения маркеров (The Y Chromosome Consortium, 2002).

Y-хромосома, в большей своей части, не подвергается рекомбинации в ходе мейоза и передается как целое по отцовской линии, в связи с чем каждый конкретный набор маркерных локусов, составляющих нерекombинирующую часть Y-хромосомы, рассматривается как единый гаплотип. Благодаря отсутствию рекомбинации в основном сегменте и её небольшой эффективной численности, по сравнению с аутосомами и

молекулами митохондриальной ДНК, Y-хромосома в большей степени подвержена эффектам генетического дрейфа и характеризуется большей степенью межпопуляционной вариабельности. Это приводит к высокому уровню географической дифференциации, которая используется для исследования миграционных событий в истории тех или иных этносов. В популяциях человека, принадлежащих традиционным обществам, как правило, мужчины чаще остаются в местах своего рождения, чем женщины, что проявляется в низком (по сравнению с мтДНК) внутривнутрипопуляционном разнообразии и значительной дифференциации между группами популяций по маркерным системам нерекombинирующей части Y-хромосомы. Кроме того, одним из несомненных преимуществ Y-хромосомы, как инструмента для эволюционных и популяционных исследований, является большое число разнообразных ДНК-маркеров, имеющих разные темпы мутирования, которые позволяют проводить анализ мужских линий.

На филогенетическом древе Y-хромосомы современного человека выделено 18 основных клад, обозначаемых буквами латинского алфавита от А до R, и эта классификация включает примерно 250 маркеров, по которым можно выделить примерно 160 конечных кластеров, характеризующихся определенным аллельным состоянием группы последовательных по происхождению бинарных маркеров. Публикации, описывающие современные представления о структуре, эволюции и генетическом разнообразии Y-хромосомы человека достаточно широко представлены в современной литературе, в качестве примера можно привести обзорную статью В.А. Степанова [1].

К наиболее цитируемым работам в области изучения связи вариабельности Y-хромосомы с историей расселения человечества относится объемное исследование Underhill P.A. соавторами, 2000 [2]. В 2001 году вышла в свет статья Wells R.S. et al [3], ставшая предметом интенсивной дискуссии, в которой на основании изучения диверсификации Y-хромосомы Евразии определяется роль центра второй волны расселения человеческих популяций.

Генеалогия казахского этноса, основанная на устных шежере (родословных) в сочетании с немногочисленными письменными источниками XIX века, в настоящее время детализируется при помощи современных методов молекулярной биологии. Функционирует «Открытый Казахский ДНК-проект» [4], опубликованы исследования, посвященные изучению генеалогии казахских родов [5, 6]. Ранее была описана генетическая структура народов Волго-Уральского региона и Средней Азии по данным Alu-полиморфизма [7] и генетическая дифференциация в популяциях Казахстана по митохондриальной ДНК [8].

Целью настоящей работы явилось описание аллельного полиморфизма Y-хромосомы по шестнадцати локусам у 100 современных казахов, представителей различных родов.

Материалы и методы

В качестве источника материала – ДНК современных казахов использовано 100 образцов букального эпителия, собранные среди студентов и интернов мужского пола Казахского национального медицинского университета им. С.А. Асфендиярова. Среди участников исследования - 52 представителя Старшего, 29 - Среднего и 19 - Младшего

жузов. Все участники исследования подписали информированное согласие на его участие в соответствии с требованиями комиссии по этике АМУ, разрешение которой было получено до начала исследования.

ДНК выделяли из Buccal epithelial cells с использованием наборов "Blood&TissueKit" в соответствии с протоколом производителя – "Qiagen" и амплифицировали при помощи ПЦР.

Реакционная смесь для проведения ПЦР в объеме 20 мкл содержала 10-20 нг ДНК, 67 мМ Трис-НСI (рН 8,8); 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄; 6 мМ Mg Cl₂; 0,01% твин-20; 0,15 мг/мл альбумина; по 4 пМ праймера; смесь dNTP по 200 мкМ каждого и 1 ед. Taq-ДНК-полимеразы. Амплификацию проводили в следующем режиме: денатурация при 95°C в течение 3 мин, с последующими 40 циклами амплификации (94°C - 1 мин, 37°C - 30с, 72°C - 40 с).

Анализ распределения аллельных вариантов микросателлитных локусов STR (short tandem repeat) Y-хромосомы выполнен в соответствии с рекомендациями по унификации номенклатуры Y-STR локусов, согласно Butler J.M. et al. [9].

Электрофорез проводили в 8% полиакриламидном геле при силе тока 30-40 мА/ч и напряжении 100 В.

Результаты и обсуждение

Исследование полиморфизма микросателлитных STR локусов Y-хромосомы проводилось по полиморфным системам DYS393, DYS390, DYS19, DYS391, DYS385a/b, DYS439, DYS389I, DYS389II, DYS392, DYS458, DYS447, DYS437, DYS448, Y-GATA-H4, DYS456 и DYS438.

Представленные маркеры относятся к тетра-нуклеотидным микросателлитным повторам, за исключением локусов DYS392 (три-нуклеотидный), DYS438 и DYS447 (пента-нуклеотидные) и DYS448 (гекса-нуклеотидный) микросателлит. Частоты аллелей по исследованным локусам представлены в таблицах 1 и 2.

DYS393. По локусу DYS393 выявлено 4 аллельных варианта, из 13 возможных аллелей. С максимальной частотой во всех индивидах встречался аллель 13 (0.75), вторым по численности является аллель 14 (0.18).

DYS390. Молекулярно-генетический анализ по локусу DYS390 выявил 5 аллелей из 24 возможных аллельных вариантов. Наиболее часто встречаемыми аллелями оказались 24 и 25.

DYS19. Из 15 возможных аллельных вариантов в исследованных образцах по локусу DYS19 было выявлено 5 аллелей. Аллели 15 и 16 имели наибольшую частоту встречаемости в исследованной популяции (0.34 и 0.58, соответственно).

Как следует из данных, приведенных в таблице 1, у каждого исследованного индивида выявляется один аллельный вариант по локусам DYS393, DYS390, DYS19, DYS391, DYS439, DYS392, DYS458, DYS447, DYS437, DYS448, Y-GATA-H4, DYS456 и DYS438, в то время как локусы DYS389 и DYS385 представлены двумя аллелями.

DYS391. В ходе изучения полиморфного локуса DYS391 выявлено три аллеля из 11 возможных. Аллель 10 представлен у 88% исследованных индивидов. DYS385 a/b.

Таблица 2 – Частота встречаемости аллелей STR-локусов в исследованных образцах, локус: DYS385a/b

	Аллель	Частота
DYS385a/b	11-14	0.01
	11-17	0.02
	11-18	0.02
	11-20	0.02
	12-12	0.02
	12-13	0.38
	12-14	0.30
	12-15	0.10
	12-16	0.01
	13-13	0.01
	13-17	0.03
	13-18	0.02
	13-19	0.01
	13-20	0.01
	14-17	0.01
	15-17	0.01

DYS385 a/b. Микросателлитный локус DYS385 a/b имеет 25 аллельных вариантов. В изученных образцах по локусу DYS385 было обнаружено 13 аллелей, сочетание которых образуют в общей сложности 16 гаплотипов по данному локусу. Наиболее распространенными сочетаниями оказались гаплотипы 12-13 и 12-14.

DYS439. Молекулярно-генетический анализ исследованных индивидов по этому локусу показал наличие 5 аллелей из 5 возможных аллельных варианта. Аллели 10, 11 и 12 имели частоту встречаемости 0.30, 0.44 и 0.22 соответственно.

DYS389I. Локус **DYS389I** является частью полиморфной системы **DYS389 I/II**. Из 12 возможных аллельных вариантов в исследованной выборке было обнаружено 5 аллельных вариантов. Наиболее распространенным аллелем оказался аллель 13.

DYS389II. Этот локус также входит в состав полиморфной системы **DYS389 I/II**. Из 29 возможных аллельных вариантов в исследованной выборке обнаружено 7 аллелей. Аллель 29 встречался у 48% исследованных индивидов.

DYS392. В ходе исследования микросателлитного локуса **DYS392** из 13 возможных аллелей в исследованных образцах было выявлено 4 аллеля данного локуса, причем аллель 11 идентифицирован в 89 образцах из 100.

DYS458. По этому локусу выявлено 7 аллельных вариантов из 16 возможных. Аллели 16, 17 и 18 имели частоту встречаемости 0.18, 0.45 и 0.23 соответственно.

DYS447. В исследованных образцах пентануклеотидный локус **DYS447** представлен 8 аллельными вариантами из 23 возможных. Самой распространенной аллелью оказалась 25 аллель.

DYS437. Из 16 прогнозируемых аллельных вариантов в изученной популяции были выявлены 4 аллеля. Аллель 14 встречалась с частотой 0.84.

DYS448. Данный гексануклеотидный микросателлит в исследованных образцах представлен 5 аллельными вариантами из 23 возможных. Аллели 20 и 22 наиболее часто представлены в выборке. Y-GATA-H4. Микросателлитный анализ по этому локусу выявил четыре аллельных варианта. Наиболее распространенными оказались аллели 9 и 10.

DYS456. Микросателлитный локус **DYS456** может иметь 15 аллельных вариантов. Однако в исследованной выборке выявлено всего 5 аллелей. Аллель 15 самая распространенная аллель в образцах. При тестировании встречаемости аллелей в локусе **DYS438** из 13 возможных по этому локусу в изученных индивидах определено 3 аллельных варианта.

Выявленное распределение аллелей в 16 микросателлитных локусах Y-хромосомы казахской популяции указывает на то, что тестируемые локусы суммарно представлены 90 аллельными вариантами с максимальным числом аллелей (13) для локуса **DYS385a/b** и минимальным для локусов **DYS391** и **DYS438** с тремя аллельными вариантами для каждого локуса. Практически во всех локусах выявлены аллели, широко представленные в исследованных образцах, а также аллели, имеющие единичное присутствие. Так, 11 аллель локуса **DYS392** идентифицирована у 89% выборки. Аллели, найденные в единичном случае, имеются, более чем у половины исследованных образцов.

Распределение аллельных вариантов STR-локусов Y-хромосомы среди 100 исследованных образцов указывает на сравнительно небольшую норму реакции аллелей в изученной группе, что говорит о генетической гомогенности и исторической близости происхождения её представителей.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Underhill P.A., Shen P., Lin A.A. *et al.* Y chromosome sequence variation and the history of human populations // *Nat. Genet.* 2000. V. 26. P. 358–361.
- 2 Степанов В.А., Харьков В.Н., Пузырев В.П. Эволюция и филогеография линий Y-хромосомы человека. Вестник ВОГиС. 2006. Т. 10. № 1. С. 57-73.
- 3 Wells R.S., Yuldasheva N., Ruzibakiev R. *et al.* The Eurasian Heartland: A continental perspective on Y-chromosome diversity // *Proc. Natl. ACAD. Sci. USA.* 2001. V.98. P. 10244-10249.
- 4 ОткрытыйКазахстанскийДНК-проект. <http://www.familytreedna.com/public/alash/default.aspx?section=yresultst>.
- 5 Сабитов Ж.М. О происхождении казахских родов сары-уйсун, дулат, албан,суан, ысты, шапрашты, ошакты, ергелы. *RussianJournalofGeneticGenealogy.* 2012. Т. 4. №1. С. 94-98.
- 6 Turuspekov Y., SabitovZh., Daulet B., Sadykov M., Khalidullin O. «The Kazakhstan DNA project hits first hundred Y-profiles for ethnic Kazakhs». *Russian Journal of Genetic Genealogy.* 2011. V. 3. № 1. P. 69-84.
- 7 ХусаиноваР.И., АхметоваВ.Л.. Генетическая структура народов Волго-Уральского региона и Средней Азии по данным Alu-полиморфизма // *Генетика.* 2004. №4. С. 552-559.
- 8 Березина Г. М. Генетико-демографические процессы в сельских популяциях Казахстана и их генетическая дифференциация по митохондриальной ДНК : Дис. ... докт. биол. наук: 03.00.15 Алматы, 2005. 307 с.
- 9 Butler J.M., Kline M.C., Decker A.E. Addressing Y-chromosome short tandem repeat (Y-STR) allele nomenclature. *J. Genetic Genealogy.*- 2008.- V.4(2).- P. 125-148.

REFERENCES

- 1 Underhill P.A., Shen P., Lin A.A. *et al.* Y chromosome sequence variation and the history of human populations. *Nat. Genet.* **2000**. 26.358–361.
- 2 Stepanov V.A., Har'kov V.N., Puzyrev V.P. *VestnikVOGiS.* **2006**. 10. 1. 57-73. (in Russ.)
- 3 Wells R.S., Yuldasheva N., Ruzibakiev R. *et al.* The Eurasian Heartland: A continental perspective on Y-chromosome diversity. *Proc. Natl. ACAD. Sci. USA.* **2001**. 98. 10244-10249.
- 4 Otkrytyj Kazahstanskij DNK-proekt. <http://www.familytreedna.com/public/alash/default.aspx?section=yresultst>.
- 5 Sabitov Zh.M. *Russian Journal of Genetic Genealogy.* **2012**. 4.1. 94-98.(in Russ.)
- 6 Turuspekov Y., SabitovZh., Daulet B., Sadykov M., Khalidullin O. «The Kazakhstan DNA project hits first hundred Y-profiles for ethnic Kazakhs». *Russian Journal of Genetic Genealogy.* **2011**. 3. 1. 69-84.
- 7 Husainova R.I., Ahmetova V.L. *Genetika.* **2004**. 4. 552-559.(in Russ.)
- 8 Berezina G. M. :*Dis.dokt. biol. nauk:* 03.00.15 Almaty, **2005**. 307 (in Russ.)
- 9 Butler J.M., Kline M.C., Decker A.E. Addressing Y-chromosome short tandem repeat (Y-STR) allele nomenclature. *J. Genetic Genealogy.* **2008**.4(2).125-148.

Резюме

*Т.С. Балмұханов¹, Е.К. Бексейітов¹, И.А. Ахметоллаев¹, А.К. Хансейітова¹,
Д.М. Ботбаев¹, А.М.Белқожаев¹, О.И. Исмағұлов², А.О. Исмағұлова², Н.Ә. Айтқожина¹*

(¹РМК ҚР БҒМ ҒК «М.Ә. Айтхожин атындағы Молекулярлық биология
және биохимия институты», Алматы қ.;

² ҚР БҒМ ҒК «Ш.Ш.Уәлиханов атындағы Тарих және этнология институты», РМК,
Алматы қ.)

ҚАЗАҚ ПОПУЛЯЦИЯСЫНДАҒЫ Y-ХРОМОСОМЫНЫҢ МИКРОСАТЕЛЛИТТИ STR- ЛОКУСТАРЫНЫҢ ПОЛИМОРФИЗМІН ЗЕРТТЕУ

Үш жүздің өкілдері болып табылатын, қазіргі заманғы 100 қазақтың он алты локусы бойынша (STR – short tandem repeat) Y-хромосомасының аллельді полиморфизмінің сипаттамасы көрсетілген. Зерттелген популяция үшін аллель реакциясының салыстырмалы түрде аздаған нормасы табылған, бұл тест жүргізілген топтар өкілдерінің генетикалық гомогендігіне және тарихи жақындығына нұсқайды.

Кілт сөздер: Y-хромосома, микросателлиттер, қазақтар.

Summary

*T.S. Balmukhanov¹, E.K. Bekseitov¹, I.A. Akhmetollaev¹, A.K.Khanseitova¹,
D.M. Botbaev¹, A.M.Belkozhaev¹, O.I. Ismagulov², A.O. Ismagulova², N.A. Aitkhozhina¹*

(¹RSE “Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry” CS ESM RK, Almaty;

²RSE “ValikhanovInstitute of History and Ethnology” CS ESM RK, Almaty)

INVESTIGATION OF Y-CHROMOSOME MICROSATELLITE STR-LOCI IN KAZAKH
POPULATION

The allelic polymorphism of Y-chromosome (STR – short tandem repeat) of 16 microsatellite loci is described in 100 modern Kazakhs from three Zhuses. The relatively low norm of allele reaction was shown and it can be regarded as preliminary indication to the genetic homogeneity and historical propinquity of the representatives of the tested group.

Keywords: Y-chromosome, microsatellite, Kazakhs.

Поступила 12.06.2013 г.