

УДК 575.174:599.9

ЛИНИИ мтДНК И Y-ХРОМОСОМЫ В ПОПУЛЯЦИИ ЯКУТОВ

© 2003 г. В. П. Пузырев¹, В. А. Степанов¹, М. В. Голубенко¹, К. В. Пузырев²,
Н. Р. Максимова³, В. Н. Харьков¹, М. Г. Спиридонова¹, А. Н. Ноговицына³

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского научного центра
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Томск 634050;
факс: (3822)51-37-44; e-mail: vadimst@img.tsu.ru

² Научно-исследовательский институт кардиологии Томского научного центра Сибирского отделения
Российской академии медицинских наук, Томск

³ Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины, Якутск

Поступила в редакцию 27.05.2002 г.

Исследована структура женских (мтДНК) и мужских (гаплотипы Y-хромосомы) линий в популяции якутов. Гаплотипирование мтДНК осуществляли с помощью секвенирования гипервариабельного сегмента I и типирования гаплотип-специфичных точечных замен в других участках молекулы мтДНК. Гапогруппы Y-хромосомы выявляли с помощью типирования диаллельных полиморфизмов в рекомбинантной части хромосомы. Анализ гаплотипов внутри гапогрупп проводили с помощью семи микросателлитных локусов. Митохондриальный генный пул якутов представлен в основном линиями восточно-евразийского происхождения (гапогруппы А, В, С, D, G и F). Самыми частыми и наиболее разнообразными гапогруппами мтДНК у якутов оказались гапогруппы С и D (с суммарной частотой около 80%), представленные 12 и 10 различными гаплотипами соответственно. Общая доля линий западноевразийского происхождения (“европеоидных”) составила около 6% (4 гаплотипа, гапогруппы H, J, U). Большая часть Y-хромосом в якутской популяции (87%) принадлежит к гапогруппе N3 (HG16), характеризующейся транзицией T–C в локусе *Tat*. На хромосомах гапогруппы N3 обнаружено 19 микросателлитных гаплотипов, наиболее частый из которых охватывает 54% хромосом этой гапогруппы. Медианная сеть гапогруппы N3 у якутов демонстрирует ярко выраженную “звездообразную филогению”. Показано, что мужские линии у якутов наиболее близки к таковым у восточных эвенков.

Этногеномика, задачей которой является анализ разнообразия генома в популяциях и этнических группах, является одним из наиболее продуктивных и бурно развивающихся направлений геномных исследований. Наибольшие успехи этого направления связаны с анализом распределения гаплоидных линий, передающихся по материнской (мтДНК) и отцовской (Y-хромосома) линиям. Результаты работ по изучению распределения линий мтДНК и Y-хромосомы позволили, в первом приближении, реконструировать картину происхождения и расселения современного человека в глобальном масштабе [1–3]. Однако вопросы истории формирования и структуры региональных генофондов, в том числе и народов, проживающих в Сибири, остаются открытыми. В полной мере это относится и к генному пулу якутского этноса, являющегося предметом настоящей работы.

Якуты (саха) относятся к центральноазиатскому антропологическому типу монголоидной расы и говорят на языке, принадлежащем к тюркской группе алтайской языковой семьи. Общая численность якутского этноса составляет около 380 тыс. человек [4]. В эпоху позднего палеолита и неолита на территории современной Якутии про-

живали племена охотников и собирателей, позднее ассимилированные предками тунгусо-маньчжурских эвенков и эвенов и некоторых других народов. Формирование якутского этноса началось лишь в первой половине II тысячелетия н. э., когда тюркоязычные племена скотоводов, теснимые более развитыми порто-бурятскими племенами, переместились с юга (по-видимому, из Прибайкалья) в бассейн среднего течения Лены, поглотив местные палеоазиатские и тунгусоязычные племена [5–7]. Первая волна тюркоязычных мигрантов достигла средней Лены, низовий Вилюя и Алдана в XIII веке, а последующие группы южных мигрантов переселялись на территорию Якутии вплоть до XV в. К XVII в. якуты широко расселились по долинам крупных рек (Лены, Яны, Индигирки), ассимилируя жившие там немногочисленные народы [5, 7]. В некоторых случаях смешение якутов с тунгусоязычными группами привело к формированию своеобразных этнографических групп, таких, как, например, оленеводы северо-запада Якутии, являющиеся продуктом смешения якутов среднего течения Лены с эвенками [7]. Несмотря на выраженное господство тюркского языка и материальной культуры, принесенной южными мигрантами, остается неясным вопрос о

вкладе мигрантов и локального населения в генофонд современного якутского этноса.

В настоящем исследовании мы описываем распределение гаплогрупп и гаплотипов мтДНК и Y-хромосомы в якутской популяции и анализируем его в контексте информации о генофонде населения Евразии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для настоящего исследования послужила популяционная выборка якутов из пос. Чериктей, который находится в 150 км к северо-востоку от Якутска. Выборка состояла из 83 неродственных индивидов и включала 46 мужчин и 37 женщин.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови стандартными методами. Генотипирование проводили с помощью полимеразной цепной реакции.

Гаплотипирование мтДНК. В мтДНК изучали изменчивость первого гиперварибельного сегмента D-петли (16 024–16 380, по [8]). Для секвенирования амплифицировали с помощью ПЦР участок D-петли, содержащий ГВС1 (праймеры L15998 и H16540) [9, 10]. Прямое секвенирование ПЦР-продуктов проводили на автоматическом анализаторе ABI PRISM 310 (“Perkin Elmer”), с использованием BigDye Terminator cycle sequencing kit, по протоколу производителя.

Совокупность нуклеотидных замен по сравнению с референсной последовательностью [8] определяла индивидуальный гаплотип. Гаплогруппы мтДНК идентифицировали по характерным заменам в ГВС1 и подтверждали с помощью гаплогрупп-специфичного полиморфизма (A: +HaeIII 663; B: 9-нуклеотидная делеция в V межгенном районе; C: +AluI 13262; D: –AluI 5176; F: –HincII 12406; G: +HaeII 4830; M: +AluI 10397; H: –AluI 7025; J: –BstOI 13704; U: +HinfI 12308) [9, 10].

Гаплотипирование Y-хромосомы проводили с использованием двух различных систем генетических маркеров в нерекомбинантном участке хромосомы – диаллельных маркеров определяли принадлежность гаплотипа к “бинарной” гаплогруппе (HG). Детальные взаимоотношения между гаплотипами внутри гаплогруппы, определяемой диаллельными маркерами, выявляли с помощью генотипирования микросателлитов.

Использовали номенклатуру гаплогрупп, предложенную недавно Консорциумом по изучению Y-хромосомы (YCC) [11], а также наиболее распространенную до последнего времени номенклатуру по Jobling et al. [12] в последующей модификации [13]. Поскольку номенклатура YCC еще не стала общепринятой и большая часть данных литературы описана с помощью номенклатуры Jobling, для удобства читателя в дальнейшем мы

используем наименование гаплогруппы по YCC, а в скобках с префиксом HG – по Jobling. Например – гаплогруппа R1a1 (HG3).

В исследовании использовали 13 диаллельных маркеров (SRY1532, YAP, M130, M89, 12f2, M9, M20, 92R7, DYF155S2, Tat, M4, DYS199, SRY2627), позволяющих приписать гаплотип к одной из 13 гаплогрупп по Jobling [12]. Протоколы генотипирования для каждого из локусов описаны ранее [14]. Дальнейший анализ гаплотипов внутри гаплогрупп проводили, используя семь микросателлитных локусов в нерекомбинантной части Y-хромосомы: DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393 и DYS394 (DYS19). Шесть из них представляют собой тетрануклеотидные повторы, а один (DYS392) – тринуклеотидный повтор. Последовательности праймеров и условия амплификации опубликованы ранее [15, 16]. Анализ микросателлитных локусов Y-хромосомы проводили с помощью капиллярного гель-электрофореза как описано ранее [17, 18].

Прямые праймеры для каждого локуса, синтезированные Perkin–Elmer Factory (Вайтерштадт, Германия), были мечены флюоресцентным красителем (HEX, FAM или TET). Продукты ПЦР отдельных локусов объединяли в денатурирующем буфере и разделяли на генетическом анализаторе ABI Prism 310 в присутствии стандарта длины молекул ДНК GeneScan500–TAMRA в условиях, рекомендуемых производителем. Анализ фрагментов проводили с помощью программного обеспечения GeneScan Analysis. Аллели обозначали по количеству повторов тандемного мотива в соответствующем STR-локусе [15, 16, 19]. Праймеры на локус DYS389 подобраны так, что одновременно амплифицируется два микросателлитных повтора – DYS389II (DYS389A), которому соответствует фрагмент большей длины (353–385 пн), и DYS389I (DYS389B) с фрагментом длиной 239–263 пн [19]. Число повторов в локусе DYS389II определяли, вычитая из длины большего фрагмента длину фрагмента, соответствующую DYS389I.

Статистический анализ. Филогенетические деревья микросателлитных гаплотипов Y-хромосомы и последовательностей ГВС1 D-петли мтДНК строили по методу медианных сетей Бандельта [20, 21], используя алгоритмы (reduced median) и MJ (median-joining).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение линий мтДНК

При секвенировании ГВС1 мтДНК в выборке 83 якутов было выявлено 35 различных гаплотипов, определяемых 49 полиморфными сайтами. 14 гаплотипов присутствовали более чем у одного индивида; 5 гаплотипов встречались с частотой более 5%, два гаплотипа – с частотой более 10%

Таблица 1. Изменчивость ГВСІ мт ДНК в популяции якутов

Гаплогруппа	№	Характеристика гаплотипа ¹	Частота гаплотипа в выборке (N = 83)	Общая частота гаплогруппы в выборке
A	1	179–223–290–293–319–362	0.0120	0.0120
B	2	086–189–217–256	0.0120	
	3	189–217–261–294–299	0.0241	0.0361
M–C	4	223–298–327	0.0602	
	5	129–223–298–327	0.0361	
	6	129–150–223–298–327	0.0120	
	7	086–129–150–223–298–327	0.0241	
	8	093–129–223–298–327	0.0602	
	9	093–129–223–327	0.0843	
	10	189–223–298–327	0.0120	
	11	223–298–327–344–357	0.0120	
	12	171–223–298–327–344–357	0.1084	
	13	093–223–261–288–298	0.0120	
	14	148–164–223–288–298–327	0.0120	
	15	148–223–288–298–327	0.0482	0.4819
M–D	16	092–172–189–223–266–362	0.1807	
	17	223–319–362	0.0241	
	18	093–223–232–362	0.0241	
	19	223–294–362	0.0241	
	20	092–172–189–223–362	0.0120	
	21	223–232–362	0.0120	
	22	093–192–223–232–362	0.0120	
	23	223–263–362	0.0120	
	24	223–362–368	0.0120	
	25	180–223–294	0.0120	0.3253
M–G	26	223–227–274–278–362	0.0120	
	27	093–223–227–234–278–309–362	0.0120	0.0241
M*	28	145–148–223–381	0.0120	
	29	093–129–148–223	0.0120	0.0241
F	30	172–189–232CA–249–304–311	0.0241	
	31	092TA–245–291–304	0.0120	0.0361
H	32	CRS	0.0241	0.0241
J	33	069–126	0.0120	0.0120
U	34	093–356	0.0120	
	35	223–356	0.0120	0.0241

¹ Индивидуальные гаплотипы описаны путем перечисления позиций нуклеотидных замен (–16000) по сравнению с референтной последовательностью, обозначенной как CRS [8]; в случае транзиций указаны только позиция замены, трансверсии описаны полностью.

(табл. 1). Медианная сеть гаплотипов мтДНК, полученных в настоящей работе, а также описанных ранее Деренко и Малярчуком [22], представлена на рис. 1.

Линиджи мтДНК восточноевропейского происхождения (т. н. “монголоидные” гаплогруппы

[9, 10]) представлены в изученной выборке гаплогруппами A, B, C, D, G и F, а также двумя недифференцированными гаплотипами гаплогруппы M (M*). Общая доля линиджей западноевропейского происхождения (“европеоидных”) составила около 6% (4 гаплотипа, гаплогруппы H, J, U). Самыми ча-

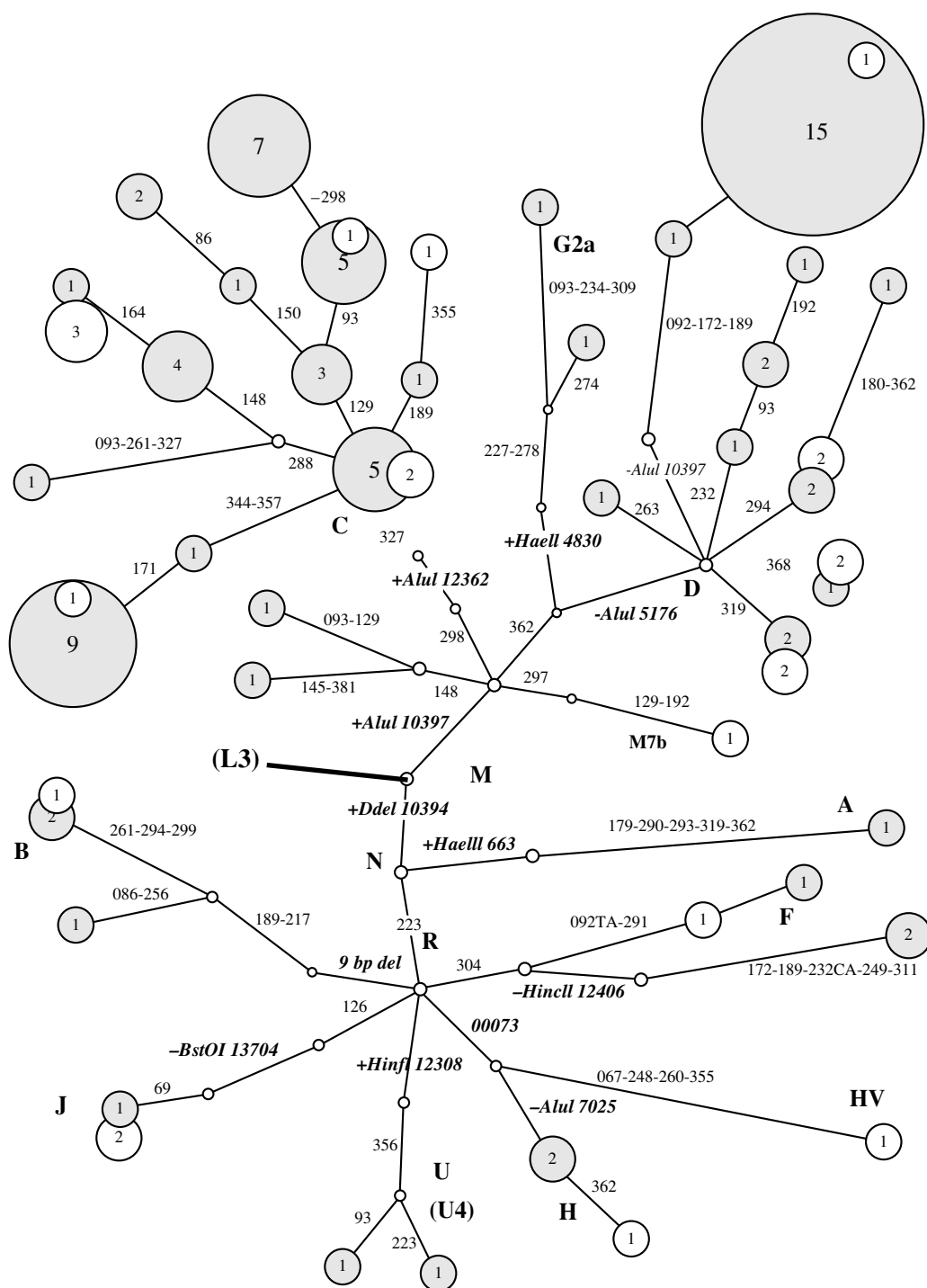


Рис. 1. Медианная сеть гаплотипов мтДНК у якутов. Заштрихованные круги – гаплотипы, описанные в данной работе, не заштрихованные – из работы [16]. Размер круга соответствует численности гаплотипа. Число гаплотипов показано внутри круга. Длина связи между гаплотипами соответствует числу мутаций. Рядом со связью указаны номера мутантных позиций ГВСІ. Мутации в сайтах рестрикции вне ГВСІ, а также делеция 9 пн показаны жирным курсивом.

стыми и наиболее разнообразными были гаплогруппы С и D, представленные соответственно 12 и 10 различными гаплотипами. Суммарная частота гаплогрупп С и D составила около 80%.

Следует обратить внимание, что гаплотип 16 в данной выборке имеет частоту более 10%, резко превышающую частоту остальных D-гаплотипов, что может объясняться эффектом дрейфа

Таблица 2. Композиция микросателлитных гаплотипов Y-хромосомы у якутов

Гаплотип	HG	N	DYS (число повторов)						
			19	389 I	389 II	390	391	392	393
55	16	1	14	9	18	23	11	15	12
32	16	1	14	10	18	23	10	14	12
28	16	1	14	11	18	23	11	15	12
37	16	1	14	11	18	23	11	16	12
14	16	5	14	11	19	23	11	16	12
47	16	1	14	11	19	23	10	16	12
2	16	20	14	11	20	23	11	16	12
6	16	1	14	11	20	23	11	16	10
12	16	1	14	11	20	23	11	16	11
30	16	1	14	11	20	24	11	16	12
35	16	2	14	11	20	23	10	16	12
31	16	2	14	11	21	23	11	16	12
24	16	1	15	10	18	24	11	13	11
22	16	3	15	11	20	23	10	16	12
65	12	1	15	9	19	23	10	12	10
77	12	1	15	11	19	24	11	11	11
7	2'	1	15	10	19	22	10	10	12
4	3	2	16	10	18	24	11	11	12
41	3	1	16	10	19	24	11	11	12

генов и является, скорее всего, характеристикой лишь данной популяции, но не якутского митохондриального генофонда в целом. Подобный эффект, но менее выраженный, можно предположить также для гаплотипа 12 (гаплогруппа C).

Сравнение изученной нами выборки с опубликованными данными по полиморфизму мтДНК якутов ($N = 22$, уроженцы различных районов Якутии, [22]) не выявило очевидных различий по спектру гаплотипов мтДНК. Из 40 различных гаплотипов, встретившихся в общей сложности у якутов ($N = 105$), 10 являются общими для обеих выборок (25%). Спектр гаплогрупп в целом совпадают, за исключением того, что у якутов пос. Чериктей не обнаружены гаплогруппы HV и M7b, описанные ранее [22], но, в свою очередь, выявлены гаплогруппы A, G и U. По частотам гаплогрупп между двумя выборками также нет значимых различий (значение критерия гетерогенности хи-квадрат, модифицированного для малых выборок [23], равно 0.549; $df. = 0.588$). Таким образом, исследованную нами выборку из локальной популяции якутов можно рассматривать как репрезентативную в отношении якутского генофонда в целом.

Анализ гаплотипов Y-хромосомы

В исследованной выборке якутов было обнаружено лишь четыре гаплогруппы Y-хромосомы – N3 (HG16), N*/N1/N2 (HG12), R1a1 (HG3) и HG2'. Подавляющая часть мужского генного пула якутов (87.2%) представлена гаплогруппой N3 (HG16) (аллель *Tat C*). Гаплогруппа R1a (HG3) (SR153 аллель A) обнаружена у трех индивидов (6.4%), гаплогруппа N*/N1/N2 (HG12) (D1F155S2 аллель del) – у двух (4.3%) (HG2' (M89 аллель T) – у одного (2.1%). Примечательно, что столь же высокая частота N3 (HG16) у якутов отмечена и в небольших выборках, проанализированных ранее. Так, в работе Karafet et al. [24] 15 из 20 Y-хромосом якутов (75%) принадлежали к N3 (HG16), а в работе Zerjal et al. [25] частота *Tat C* составила 85.7% (18 из 21 хромосом).

Структура микросателлитных гаплотипов, принадлежащих к гаплогруппе 16, приведена в табл. 2. Всего в выборке из 37 хромосом, относящихся к N3 (HG16), выявлено 19 различных гаплотипов. Наиболее частый из них (гаплотип 2) охватывает 45% хромосом N3 (HG16). Медианная сеть гаплогруппы N3 (HG16) у якутов (рис. 2) демонстрирует ярко выраженную “звездообразную филогению”: присутствует ярко выраженный предковый гаплотип (гаплотип 2). Подавляющее большинство остальных гаплотипов (88% из ос-

мужской генофонд якутской популяции сложился в основном на базе локального (нетюркского) компонента. Тюркский язык был, вероятно, приобретен в результате культурного доминирования пришедшей тюркоязычной элиты, не оставившей значительного следа в пуле Y-хромосом (феномен замещения языка по принципу “доминирования элиты”).

Данная работа частично финансировалась грантами РФФИ (№ 02-04-49166, 00-04-48506, 01-04-63076, 00-15-9786), грантом Wener-Gren Foundation (№ 6801) и грантом “Базы данных о генофондах человека, животных, растений и микроорганизмов” ФЦНТП “Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники 2002–2004 гг.”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cann R.L., Stoneking M., Wilson A.C. Mitochondrial DNA and human evolution // *Nature*. 1987. V. 325. P. 31–36.
2. Wallace D.C. Mitochondrial DNA variation in human evolution, degenerative disease and aging // *Am. J. Hum. Genet.* 1995. V. 57. P. 201–223.
3. 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.
4. Народы России: Энциклопедия. М.: Большая Российская Энциклопедия, 1994. С. 430–432.
5. Гоголев А.И. История Якутии. Якутск: Изд-во Якутского ун-та, 1999. 201 с.
6. Алексеев А.Н. Древняя Якутия. Неолит и эпоха бронзы. Новосибирск: Наука, 1996. 240 с.
7. Этническая история народов Севера / Под ред. Гурвича И.С. М.: Наука, 1982. С. 129–197.
8. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome // *Nature*. 1981. V. 290. P. 457–465.
9. Macaulay V., Richards M., Hickey E. et al. The emerging tree of West Eurasian mtDNAs: a synthesis of control-region sequences and RFLPs // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 64. P. 232–249.
10. Richards M., Macaulay V., Hickey E. et al. Tracing European founder lineages in the Near Eastern mtDNA pool // *Am. J. Hum. Genet.* 2000. V. 67. P. 1251–1276.
11. The Y Chromosome Consortium. A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups // *Genome Research*. 2002. V. 12. P. 339–348.
12. Jobling M.A., Tyler-Smith C. Fathers and sons: Y chromosome and human evolution // *TIG*. 1995. V. 11. P. 449–456.
13. Rosser Z.H., Zerjal T., Hurles M.E. et al. Y-chromosomal diversity in Europe is clinal and influenced primarily by geography, rather than by language // *Am. J. Hum. Genet.* 2000. V. 67. P. 1526–1543.
14. Степанов В.А. Этногенемика населения Северной Евразии: Автореф. дис. д-ра биол. наук. Томск, 2001. 48 с.
15. De Knijf P., Kayser M., Caglia A. et al. Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects // *Int. J. Legal Med.* 1997. V. 110. P. 134–140.
16. Kayser M., Caglia A., Corach D. et al. Evaluation of Y-chromosome STRs: a multicenter study // *Int. J. Legal Med.* 1997. V. 110. P. 125–133.
17. Степанов В.А., Пузырев В.П. Анализ аллельных частот семи микросателлитных локусов Y-хромосомы в трех популяциях тувинцев // *Генетика*. 2000. Т. 36. № 2. С. 241–248.
18. Степанов В.А., Пузырев В.П. Микросателлитные гаплотипы Y-хромосомы демонстрируют отсутствие подразделенности и наличие нескольких компонентов в мужском генофонде тувинцев // *Генетика*. 2000. Т. 36. № 3. С. 377–384.
19. Cooper G., Amos W., Hoffman D., Rubinsztein D.C. Network analysis of human Y microsatellite haplotypes // *Hum. Mol. Genet.* 1996. V. 5. P. 1759–1766.
20. Bandelt H.-J., Forster P., Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. P. 37–48.
21. Bandelt H.-J., Forster P., Sykes B.C., Richards M.B. Mitochondrial portraits of human populations using median networks // *Genetics*. 1995. V. 141. P. 743–753.
22. Деренко М.В., Малярчук Б.А. Динамика разнообразия митохондриальных генофондов монголоидных популяций Азии по данным об изменчивости гипервариабельного сегмента I // *Молекуляр. биология*. 1998. Т. 32. № 5. С. 782–787.
23. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
24. Karafet T.M., Zegura S.L., Posukh O. et al. Ancestral Asian source(s) of New World Y-chromosome founder haplotypes // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. V. 64. P. 817–831.
25. Zerjal T., Dashnyam B., Pandya A. et al. Genetic relationships of Asians and northern Europeans, revealed by Y-chromosomal DNA analysis // *Am. J. Hum. Genet.* 1997. V. 60. P. 1174–1183.