

Министерство образования и науки Российской Федерации
Казанский [Приволжский] федеральный университет

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

Направление 050100.68 Биоэкологическое образование

КАФЕДРА БИОЭКОЛОГИИ

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

**ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТАТАР ПО
ЛОКУСАМ Y-ХРОМОСОМЫ И ALU-ИНСЕРЦИЙ**

Работа завершена:

«__»_____2014г. _____ (Ф.С. Ахатова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель,

к.б.н., доцент кафедры

«__»_____2014г. _____ (Р.Р. Сайфуллин)

Заведующий кафедрой,

д.б.н., проф.

«__»_____2014г. _____ (И.И. Рахимов)

Казань-2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1. Этнография татар	6
1.2. Alu-повтор в геноме человека	8
1.2.1. Структура и происхождение Alu-элементов.....	9
1.2.2. Локализация и распространение в геноме человека	10
1.2.3. Эволюция подсемейств	11
1.2.4. Alu-повтор как генетический маркер	12
1.3. Y хромосома	14
1.3.1. Структура Y хромосомы	14
1.3.2. Особенности Y хромосомы	15
1.3.3. Типы маркеров Y хромосомы	16
1.3.4. Номенклатура гаплогрупп Y хромосомы.....	16
1.3.5. Основные ветви филогенетического дерева Y хромосомы.....	17
1.3.5.1. Вариабельность линий Y хромосомы в Азии	19
1.3.5.2. Вариабельность линий Y хромосомы в Европе.....	20
1.4. Популяционно-генетические исследования народов Волго-Уральского региона.	21
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	23
2.1. Материалы исследования	23
2.2. Методы исследования	23
2.2.1. Выделение геномной ДНК.....	23
2.2.2. Анализ аутосомных Alu инсерционных локусов	24
2.2.3. Анализ полиморфизма локусов Y-хромосомы	28
2.2.4. Статистическая обработка результатов анализа аутосомных Alu инсерционных локусов.....	34
2.2.5. Статистическая обработка результатов анализа диаллельных маркеров Y-хромосомы.....	37
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	38
3.1. Анализ полиморфизма Alu-инсерционных локусов в популяции татар	38
3.2. Филогенетический анализ Y-хромосомы	48
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	55
ВЫВОДЫ	57
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	58
ПРИЛОЖЕНИЕ	68

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- LINE – длинные диспергированные повторы;
- NR_Y – non-recombining region of the Y, нерекombинирующая часть Y хромосомы;
- SINE – короткие диспергированные повторы;
- SNP – single nucleotide polymorphisms, однонуклеотидные полиморфизмы;
- SRY – sex-determining region;
- Taq-полимераза – ДНК-полимеразы *Terminus aquaticus*;
- ВУР - Волго-Уральский Регион;
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;
- ИБГ УНЦ РАН - Институт Биохимии и Генетики Уфимского Научного Центра Российской Академии Наук;
- мтДНК – митохондриальная дезоксирибонуклеиновая кислота;
- ПААГ - полиакриламидный гель;
- ПДРФ – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов
- ПЦР – полимеразная цепная реакция;
- РНК – рибонуклеиновая кислота;
- УФ – ультрафиолет

ВВЕДЕНИЕ

Исследования происхождения, эволюции и разнообразия генома человека в популяциях получили бурное развитие за последние годы в связи с полной расшифровкой генома в начале XXI в. За последнее десятилетие картина заселения человеком территории земного шара в общих чертах была восстановлена и в последнее время большую актуальность приобретают работы, связанные с детализацией эволюционной и демографической истории отдельных регионов или этнических групп.

Если до начала 90-х гг. XX века популяционные исследования в большей степени основывались на анализе полиморфизма иммунологических маркеров и сывороточных белков крови, то в настоящее время при изучении структуры генофонда отдельных популяций и филогенетических взаимоотношений между ними традиционным стал анализ полиморфизма ДНК-локусов ядерного и митохондриального геномов. На сегодняшний день общепризнано, что для исследования структуры генофонда отдельных популяций наиболее удобными молекулярно-генетическими маркерными системами являются митохондриальная ДНК, Y-хромосома и полиморфизм аутосомных Alu-инсерций. Используя эти системы, возможно, получить генетические портреты отдельных этносов и реконструировать их эволюционное прошлое [Batzer, 1996; Stoneking, 1997].

Находясь на границе Европы и Азии, Волго-Уральский регион на протяжении исторически длительного времени был местом взаимодействия многих этнических слоев: в формировании народов края известна роль угров Западной Сибири, финнов севера Восточной Европы, индо-иранцев Ближнего Востока, тюрков Южной Сибири и Алтая, а позднее кочевых татаро-монгольских племен и славянских народов Центральной и Западной Европы [Алексеев, 1974; Кузеев, 1985; Хуснутдинова *с соав.*, 2006].

Популяция татар занимает особое место в Волго-Уральском регионе, т.к. многовековой исторический путь в прошлом народа таит в себе много

неясного. Молекулярно-генетическое изучение популяций татар проводилось только в комплексе с популяциями Волго-Уральского региона. Изучение всей татарской этнической общности отдельно не проводилось. Такое исследование в будущем даст более точное понимание о возникновении и расселении татар.

Целью данной работы являлось сравнить данные по полиморфизму Alu-инсерций и Y-хромосомы в популяции татар с данными по популяциям Волго-Уральского региона.

В рамках выполнения данной цели ставились следующие задачи:

1. Определить частоту аллелей 13-и Alu-инсерционных локусов в популяциях татар.
2. Провести сравнительный анализ генетической структуры татар и популяций Волго-Уральского региона по частотам аллелей Alu-инсерционных локусов.
3. Провести анализ полиморфизма 15-ти диаллельных локусов нерекомбинирующей области Y-хромосомы и определить частоты гаплогрупп в исследуемой популяции.
4. Провести сравнительный анализ генетической структуры татар и популяций ВУР по частотам гаплогрупп Y-хромосомы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Этнография татар

Татарская этническая общность имеет сложную внутреннюю структуру, которая в полной мере еще не проанализирована. Объясняется такое положение несколькими причинами. Известно, что в России и в Западной Европе длительное время татарами называли практически все (иногда и не тюркские) народы (за исключением турок), что создало историографическую традицию расширительного применения термина «татары». К началу XX века этноним «татары» окончательно закрепился в качестве самоназвания тюркоязычного населения Волго-Уральского региона, Крыма, Буджака, Западной Сибири и потерявшего свой родной язык тюрко-мусульманского население Литвы. Но из-за обширности ареала расселения татар и по ряду других причин комплексное этнографическое исследование всех этих групп, позволяющее судить об этнокультурной дифференциации данной общности, до сих пор не завершено.

Образование татарской нации протекало путем «интеграции» трех этнических общностей (волго-уральских, сибирских и астраханских татары). Ведущее положение в составе этой нации в силу своей многочисленности, а также социально-экономической и культурной развитости заняли Волго-Уральского региона. Поэтому их целесообразно считать ядром татарской нации. В итоге татарская нация предстает как этническое образование со сложной этнической структурой, имеющей иерархическое строение. Первый уровень этнических общностей, образующих данную нацию, состоит из трех этнотерриториальных групп – волго-уральских, астраханских и сибирских татар (рис. 1.).

Татары прошли длительный путь этнического становления, и их этногенез до сих пор остается предметом дискуссий. Ранний период их этнической истории недостаточно освещен в письменных источниках, что затрудняет полноценное изучение древних и средневековых этапов этногенеза.

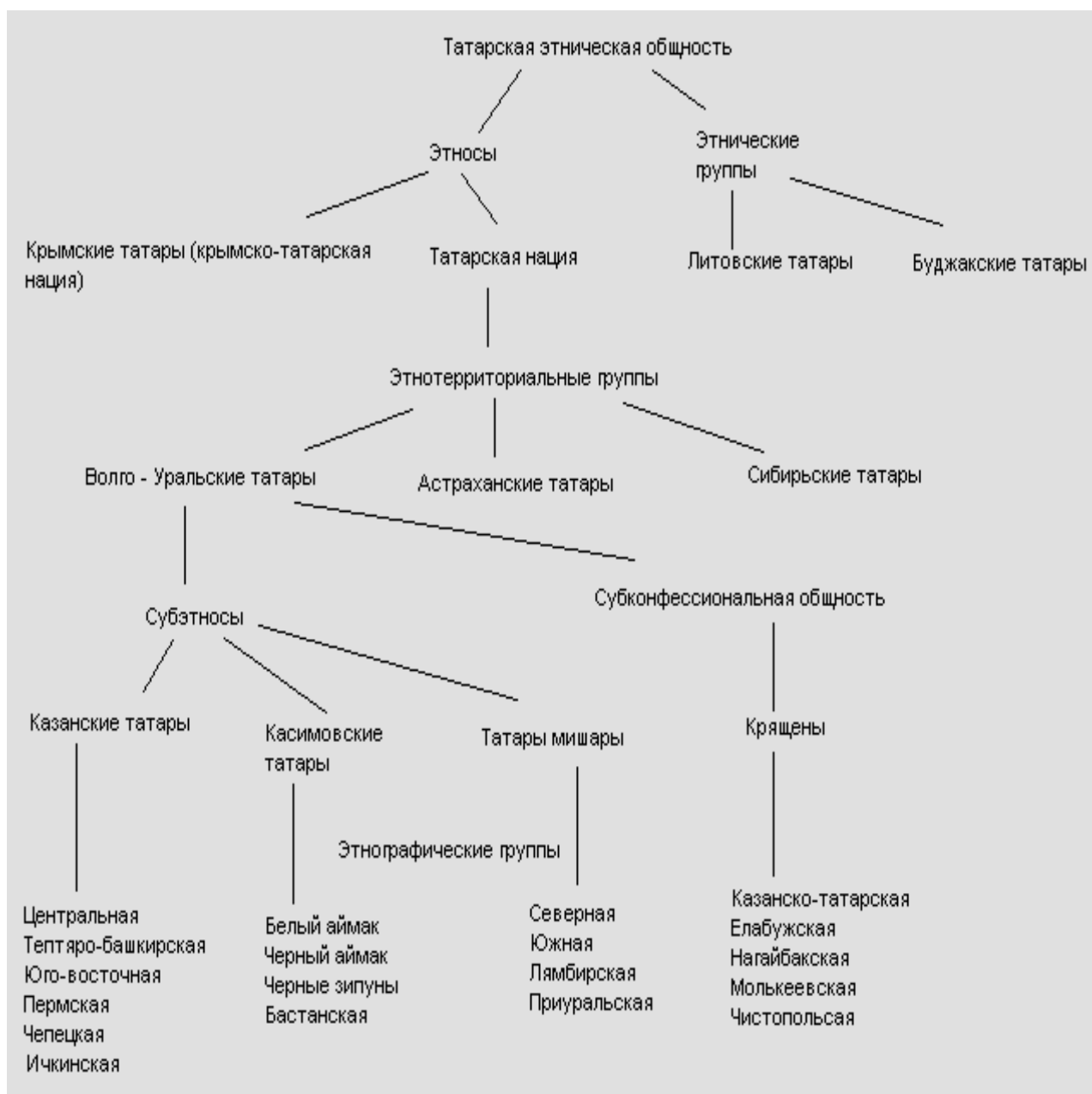


Рисунок 1 - Структура татарской этнической общности [Исхаков Д. М. *с соавт.*, 2004].

В немалой степени острота проблемы объясняется и сложностью трактовки этнических процессов средневековья специалистами различных наук.

Можно выделить три основные концепции происхождения татар: булгаро-татарская теория, татаро-монгольская теория и тюрко-татарская. [Исхаков Д. М. *с соавт.*, 2004]. Так как основная популяция казанских татар находится на границе Европы и Азии, на протяжении длительного времени взаимодействовала с различными этническими слоями, и вследствие этого прошлое народа разные ученые могут трактовать по-разному.

1.2. Alu-повтор в геноме человека

Использование различных систем маркеров позволяет получить более целостную картину структуры генофонда и генетических взаимоотношений между различными популяциями. Если по полиморфизму митохондриальной ДНК и Y хромосомы можно получить характеристики женского и мужского генного пула в популяциях, то исследование полиморфизма аутосомных Alu-инсерций позволяет определить некоторые особенности разнообразия генома человека в популяциях в целом. Преимуществом Alu-инсерций является то, что в отличие от других диаллельных систем, всегда известно начальное и конечное состояние – до и после вставки в локус Alu-элемента [Степанов *с соавт.*, 2002]. В эволюционной генетике человека используют те Alu-инсерции, которые появились в сравнительно недавнее время, совпадающее с расселением человека по континентам. Некоторые из локусов, содержащие Alu-элементы, оказались весьма информативными маркерами дифференцированности популяций Европы и Азии – Ya5NBC148, PV92, TPA25 и Ya5NBC27 [Хуснутдинова *с соавт.*, 2006].

Повторяющаяся ДНК, как существенная часть генома эукариот, обнаружена в лаборатории Бриттена в середине 60-х годов [Waring M., Britten R.J., 1966], где предложили, что количество ДНК-повторов пропорционально генетической сложности организма. Повторы составляют ~17 % ДНК *Caenorhabditis elegans*, 67 % *Nicotiana tabacum* [Smit A.F. , 1996], а у человека - более 50% генома [International Human Genome Sequencing Consortium, 2001]. На сегодняшний день в геноме человека выделяют пять основных классов повторяющихся элементов: повторы, возникшие из транспозонов; частично неактивные копии генов; простые повторы ((A)_n , (CA)_n, (CGG)_n); сегментные дубликации (10-300 т.п.н.); блоки tandemно повторяющихся последовательностей [International Human Genome Sequencing Consortium, 2001].

Большинство из перечисленных повторов в геноме человека относятся к первому классу (45%) [Batzer M.A., Deininger P.L., 2002]. У млекопитающих почти все транспозоны относятся к одному из четырех типов. Это короткие (SINE) и длинные (LINE) диспергированные повторы, элементы с длинными концевыми повторами (LTR-транспозоны) и ДНК-транспозоны [International Human Genome Sequencing Consortium, 2001]. Класс SINE распространен среди млекопитающих повсеместно. Некоторые из класса SINE, такие как Alu, распространены только у человека и приматов и происходят от гена 7SL РНК [Ullu E., Tschudi C., 1984].

1.2.1. Структура и происхождение Alu-элементов

Alu-повторы получили свое название благодаря тому, что большинство из них содержат тетрануклеотид AGCT (170 п.н. от начала повтора), который может расщепляться рестриктазой Alu I. Alu-повторы состоят из двух tandemно-расположенных форм древнего Alu-мономера (FAM), а именно, свободного левого (FLAM) и правого (FRAM) мономеров [Quentin Y., 1992]. Древний Alu-мономер произошел от 7SL РНК гена путем делеции 141 п.н. и появления поли-А-участка на 3'-конце [Ullu E., Tschudi C., 1984].

Структура Alu-повтора (рис.2.) [Batzer M.A., Deininger P.L., 2002] характеризуется несколькими особенностями. Левая половина (FLAM) длиной 140 п.н. соединена через поли (А) с более длинной правой половиной (FRAM), которая содержит дополнительно 31 п.н. [Quentin Y., 1992]. Несоответствие в длине между правым и левым мономерами определяется делецией, произошедшей во время их эволюции от FAM [Quentin Y., 1992; Jurka J., Zuckerkandl E., 1991].

Левый мономер содержит два промоторных элемента для РНК-полимеразы III, блок А и блок В, каждый из которых имеет длину примерно 10 п.н. [Jurka J., Zuckerkandl E., 1991]. А и В участки находятся в положениях 10-25 и 70-90, соответственно [Knight A. *et al.*, 1996; Novick G.E. *et al.*, 1996]. Промотор инициирует транскрипцию из положения А, а точность инициации

транскрипции определяет блок В. Предполагают [Batzner M.A., Deininger P.L., 2002], что для транскрипции необходим только блок В, т.к. для членов Ya5 (HS) подсемейства гораздо большая гомология наблюдается именно в этом блоке.

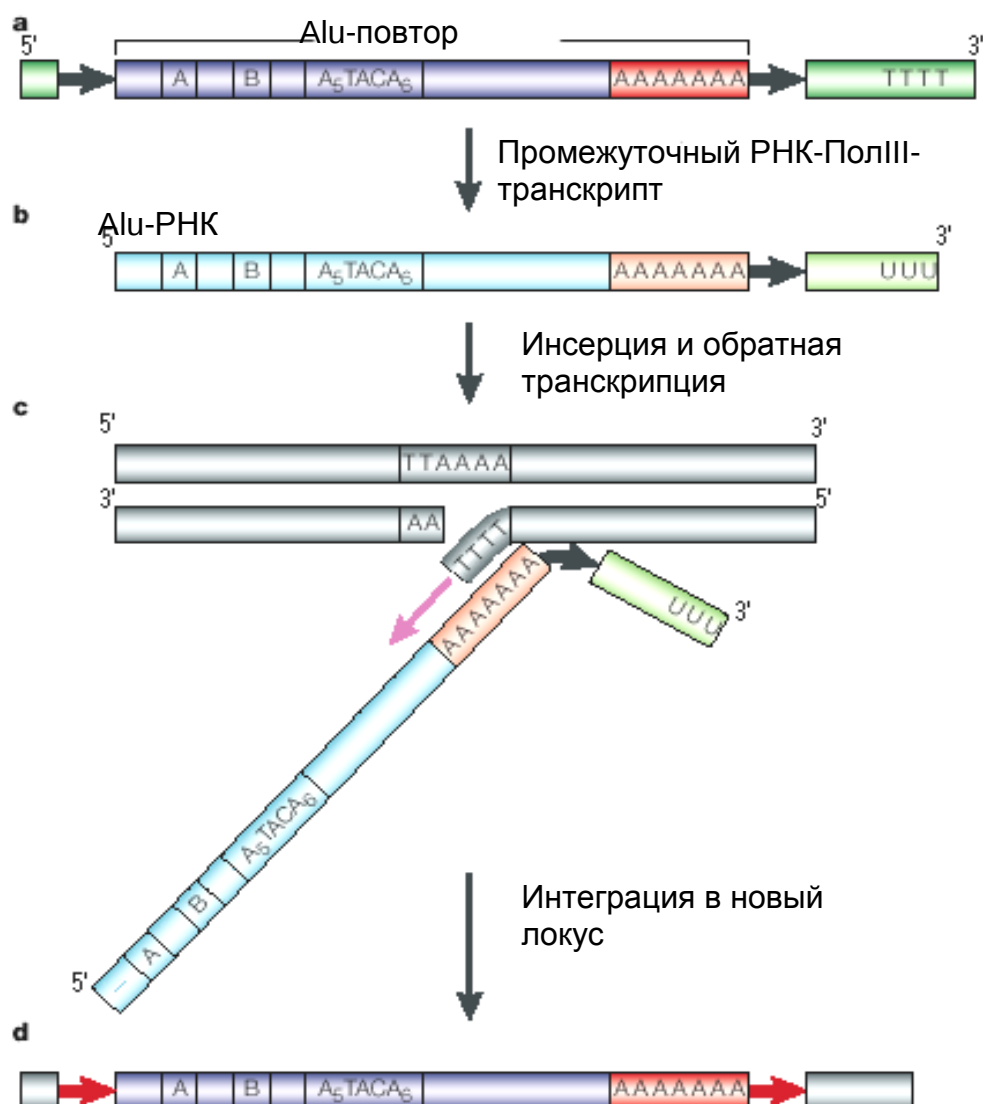


Рисунок 2 - Структура Alu-повтора в геноме человека и механизм его ретропозиции. а. Строение типичного Alu-повтора (пояснение в тексте); б. Промежуточный РНК-Пол-III-транскрипт; в. Пример обратной транскрипции. Направление транскрипции показано розовой стрелкой; г. Копия Alu-повтора в новом участке генома [Batzner M.A., Deininger P.L., 2002].

1.2.2. Локализация и распространение в геноме человека

В геноме человека насчитывают 1 090 000 копий Alu-повторов, что составляет 10,6% ядерной ДНК человека [International Human Genome Sequencing Consortium., 2001]. Alu-последовательности распространены с

высокой частотой внутри некодирующих регионов (межгенные регионы, интроны и др.) [Batzer M.A *et al.*, 1990]. Значительная их доля сосредоточена в R-сегментах хромосом, где, в основном располагаются тканеспецифичные гены [Блинов В.М. *и др.*, 1998]. Кроме того, высказывается предположение, что Alu-элементы интегрируют предпочтительно в регионы, богатые АТ-повторами [Bailey A.D., Shen C.K., 1993]. Анализ организации Alu-повторов предполагает, что Alu предпочтительно в GC-богатых областях и эти "selfish" элементы возможно благоприятны для хозяина (человека) [International Human Genome Sequencing Consortium., 2001].

Высокая концентрация Alu-повторов в насыщенных генами областях хромосомы создает широкие возможности для дупликации участков генома между Alu или для их элиминации, а также для хромосомных перестроек. Возможно, быстрая эволюция приматов связана с резким возрастанием генетического разнообразия за счет рекомбинации Alu-повторов [Блинов В.М. *и др.*, 2001].

Alu-повторы располагаются поодиночке, а также парами в прямой и инвертированной ориентации [Batzer M.A. *et al.*, 1991].

1.2.3. Эволюция подсемейств

В результате исследования последовательности Alu-повторов было выявлено, что они несут большое число точечных мутаций, которые последовательно возникают в течение эволюции. На сегодняшний день насчитывается, по крайней мере, 14 основных подсемейств [Kapitonov V., Jurka J., 1996; Batzer M.A., Deininger P.L., 2002; Roy-Engel A.M., 2002], которые можно объединить в три группы: молодые, промежуточные и древние, учитывая время начала ретропозиции. [Deininger P.L. *et al.*, 1992; Kapitonov V., Jurka J., 1996].

Результаты недавних исследований показали, что два древнейших подсемейства J₀ и J_b произошли около 81 млн. лет назад [Kapitonov V., Jurka J., 1996], что соответствует времени появления отряда приматов. Подсемейства S

[Sx, Sp, Sq, Sc] являются промежуточными по возрасту (48-35 млн. лет назад) и CrG-составу. Предполагают, что различия в последовательности Alu-повторов подсемейств Sp и Sc обусловлено их происхождением от двух различных предковых последовательностей [Jurka J., Milosavljevic A., 1991; Roy-Engel A.M. *et al.*, 2001]. Скорость амплификации Alu-повторов значительно снизилась и сейчас это редкое событие, которое происходит только в группе молодых подсемейств (Y, Yc1, Yc2, Ya5, Ya5a2, Ya8, Yb8, Yb9) [Shaikh T.H., Deininger P.L., 1996].

Для объяснения происхождения Alu-семейств из модифицированного РНК-транскрипта гена 7SL РНК было предложено 2 модели (Приложение 1., рис.3.) транспозонная модель и модель мастер-гена. Транспозонная модель говорит о том, что многие SINE-элементы способны генерировать новые, которые обладают транспозонной активностью [Novick G.E. *et al.*, 1996].

Согласно модели мастер-гена [Deininger P.L. *et al.*, 1992], большинство SINE происходят от одного или нескольких активных участков генома. Эта модель предполагает линейную скорость амплификации, которая контролируется мастер-геном. Мутации в мастер-генах генерируют новые подсемейства и являются основной причиной различий в скорости амплификации.

1.2.4. Alu-повтор как генетический маркер

Alu-повторы, как генетический маркер, широко применяются для картирования генома, в клинической диагностике и характеристике геномных перестроек. Благодаря повсеместному распространению в геноме человека Alu повторы являются эффективными генетическими маркерами [Mnukova-Fajdelova M.*et al.*, 1994; Toda Y., Tomita M., 1997].

Ряд свойств полиморфных Alu-повторов делают их очень удобными генетическими маркерами. К таким свойствам относятся высокая стабильность Alu-повторов, низкий уровень инсерций *de novo*, отсутствие механизма удаления из специфического локуса. Эти характеристики позволяют с высокой

степенью надежности рассматривать инсерцию Alu-повтора в каждый из локусов как независимое событие, произошедшее лишь однажды. Кроме того, природа перемещения Alu-повторов позволяет однозначно выявить начальное и конечное аллельное состояние локуса. Наконец, генотипирование полиморфных Alu-повторов отличается методической простотой [Novick G.E. *et al.*, 1996; Stoneking M. *et al.*, 1997].

В настоящее время полиморфные Alu-повторы, с другими генетическими маркерами (микросателлиты, мтДНК, Y-хромосома, SNP) широко используются для анализа филогении и эволюции популяций человека. Исследования по генетическому разнообразию популяций человека с помощью Alu-повторов ведутся в нескольких исследовательских центрах США и Европы, а также в России [Степанов В.А. *и др.*, 2001; Хитринская И.Ю. *и др.*, 2001; Batzer M.A. *et al.*, 1996; Stoneking M. *et al.*, 1997].

Анализ полиморфизма нескольких Alu-повторов у населения мира показал, что данные по распределению Alu-повторов в популяциях соответствуют гипотезе африканского происхождения современного человека [Batzer M.A. *et al.*, 1996; Stoneking M. *et al.*, 1997]. Генетическое разнообразие африканских популяций выше, чем в популяциях других континентов. Время разделения африканских и не африканских популяций, согласно данным по Alu-повторам соответствует 137000 ± 15000 лет.

Таким образом, в данном разделе мы обобщили современные данные о происхождении и эволюции Alu-повторов, механизмах их ретропозиции и использовании в качестве генетических маркеров в популяционной генетике. Alu-повторы продолжают генерировать геномное разнообразие и их амплификация привела к тому, что сформировалось самое большое семейство мобильных элементов в геноме человека. Именно эти полиморфные Alu-повторы являются удобными генетическими маркерами для изучения взаимодействия между популяциями, их происхождения.

1.3. Y хромосома

Главная функция Y хромосомы – детерминация пола и фертильности у мужчин. Считается, что X и Y хромосомы произошли от обычной пары аутосом, время их эволюции составляет приблизительно 300 млн. лет [Jegalian and Page, 1998; Lahn and Page, 1999].

Раньше считалось, что в Y хромосоме содержится мало генов, что она функционально обеднена и что большая ее часть состоит из некодирующей ДНК. Только за последнее десятилетие появились исследования, которые значительно расширили наши представления о структуре и функциях этого гаплоидного генома. Первые исследования по филогении Y хромосомы начались с середины 80-х годов, когда были открыты такие полиморфизмы как 12f2 [Casanova *et al.*, 1985] и 49a,f [Ngo *et al.*, 1986]. С развитием новых технологий и методов (ПЦР, секвенирование, DHPLC) число известных маркеров стало увеличиваться [Jobling *et al.*, 1997].

В нерекombинирующей области (NRY) открыто большое количество полиморфных участков, в том числе более 400 биаллельных маркеров [Степанов *с соавт.*, 2006; Cinnioglu *et al.*, 2004].

Особые свойства Y хромосомы, такие как гаплоидное состояние, содержание больших нерекombинирующих областей и передача по отцовской линии, делают ее уникальным инструментом для использования в медицинской, популяционной и эволюционной генетике.

1.3.1. Структура Y хромосомы

Размер Y хромосомы около 60 млн. п.н. Нерекombинирующая часть Y хромосомы (NRY- non-recombining region of the Y или MSY – male-specific region of the Y), не подвергающаяся обмену участками в процессе мейоза с X хромосомой, составляет 95% от общей длины. С обеих сторон NRY фланкирована небольшими областями, для которых рекомбинация является обычным и достаточно частым явлением в мейозе [Freije *et al.*, 1992].

Детальная физическая карта Y хромосомы человека была предложена Тилфордом и соавторами [Tilford *et al.*, 2001].

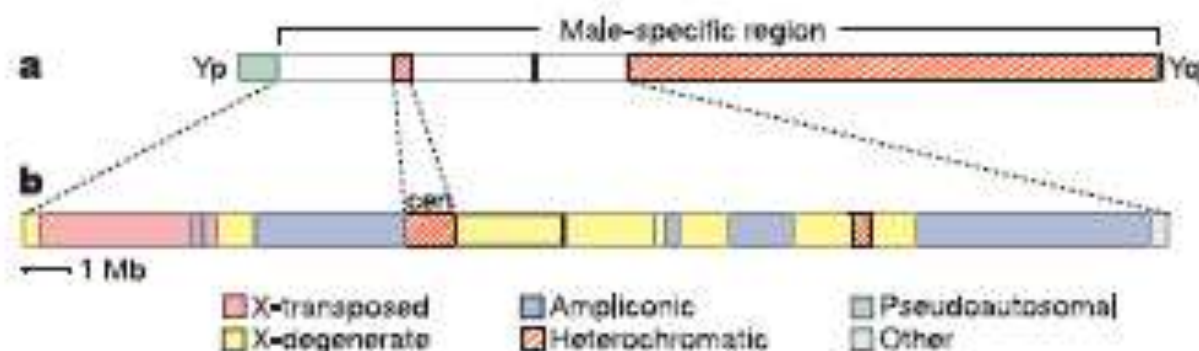


Рисунок 4 - Структура Y хромосомы [Scaletsky *et al.*, 2003]. Yq и Yp – длинное и короткое плечо Y хромосомы. cen – область центромеры. Различными цветами выделены три класса эухроматиновых последовательностей, гетерохроматиновые и псевдоаутосомные участки.

Нерекомбинирующая часть Y хромосомы делится на две части – гетерохроматиновые и эухроматиновые области (рис.4).

В гетерохроматиновую область Y хромосомы входят три участка, один из которых центромерный (~1 млн. п.н.). Второй обширный участок длиной более 40 млн. п.н. находится в дистальной части длинного плеча хромосомы. Третий гетерохроматиновый блок, представляющий собой небольшой островок длиной 400 т.п.н., содержащий 3000 tandemных повторов длиной 125 п.н., находится в проксимальной части длинного плеча [Scaletsky *et al.*, 2003].

Общая длина эухроматиновых областей составляет около 24 млн.п.н., из них 8 млн. п.н. находится в коротком плече (Yp) и 14,5 млн.п.н. в длинном (Yq). Последовательности эухроматина делятся на три класса – X-transposed (перенесенные с X хромосомы), X-degenerated (X-дегенерированные) и ampliconic segments (ампликонные участки) [Rozen *et al.*, 2003].

1.3.2. Особенности Y хромосомы

Причины по которым Y хромосома успешно используется в исследованиях эволюции человека определяются ее уникальными отличиями от

других хромосом человека. Y хромосома определяет пол, специфична для мужчин и представляет собой гаплоидный геном, передающийся от отца к сыновьям без рекомбинации большей его части (NRY). Мутации, возникшие в Y хромосоме, сохраняются и передаются единым блоком от поколения к поколению. Нерекombинирующая часть (NRY) наследуется как единый локус, благодаря чему можно определить происхождение и эволюцию по отцовской линии.

1.3.3. Типы маркеров Y хромосомы

В Y хромосоме содержится большое количество различных типов полиморфизмов, которые используются в популяционных исследованиях. Эти маркеры могут быть поделены на две большие группы – биаллельные и микросателлитные [Jobling and Tyler-Smith, 2000; Hammer and Zegura, 2002]. Биаллельные маркеры включают однонуклеотидные полиморфизмы SNP (single nucleotide polymorphisms), инсерции и делеции (indels). SNP составляют более 90% от всех полиморфизмов. Скорость возникновения SNP в среднем составляет 2×10^{-8} на 1 п.н. на 1 поколение [Nachman and Crowell, 2000].

Для делеций и инсерций (YAP инсерция, 12f2 делеция) определяется их присутствие или отсутствие в сравнении с предковым состоянием. Другой часто встречающийся тип полиморфизмов, присутствующих в Y хромосоме – это тандемные повторы, расположенные в некодирующих областях [Chambers and MacAvoy, 2000]. Они классифицируются в зависимости от длины повтора: сателлитная ДНК, минисателлиты или VNTRs, микросателлиты или STRs [Nakamura *et al.*, 1987; Charlesworth *et al.*, 1994; Chambers and MacAvoy, 2000].

В популяционных исследованиях Y хромосомы используются главным образом микросателлиты. Они представляют собой мультиаллельные маркеры с различным числом аллелей – от 3 до 49 на локус [de Kniff *et al.*, 1997].

1.3.4. Номенклатура гаплогрупп Y хромосомы

Современная номенклатура включает свыше 600 биаллельных полиморфизмов, которые генотипированы в обширных выборках популяций из

разных регионов [Karafet *et al.*, 2008]. Определена структура ствола и 18 основных ветвей филогенетического дерева Y хромосомы (Приложение 2. рис. 5.), обозначаемых буквами от А до R. Корень дерева находится между кластерами А и В.

Ветви одной гаплогруппы обозначаются цифрами. Например, три ветви гаплогруппы N обозначаются как N1, N2, N1C. Помимо этих ветвей, гаплогруппа N содержит парагруппу N*. Деления внутри ветвей обозначаются прописными буквами – a, b, c и т.д. Помимо этих обозначений для линий отдельных гаплогрупп может использоваться более упрощенная номенклатура с указанием только гаплогруппы и конечного маркера. Например, гаплогруппа G1a может обозначаться как G-P20.

1.3.5. Основные ветви филогенетического дерева Y хромосомы

Два самых древних кластера Y хромосомы - А и В - оба широко распространены с небольшими частотами в Африке, главным образом в экваториальной части, на востоке и юге континента [Underhill *et al.*, 2000, 2001a; Semino *et al.*, 2002]. Мутация M168 представляет собой маркер, определяющий центральный ствол филогенетического дерева Y хромосомы, из которого происходят все неафриканские линии. Филогеография линий, имеющих мутацию M168, позволяет проследить главные пути миграций человека после того, как он покинул Африку. Большая часть линий Y хромосомы вне Африки могут быть поделены на три группы 1) гаплогруппа С 2) гаплогруппы D и E 3) гаплогруппа F, в которую входят все оставшиеся гаплогруппы от G до R.

Мутация M130=RPS4Y, определяющая гаплогруппу С, отсутствует в африканских популяциях. По-видимому, она возникла в Азии вскоре после выхода из Африки, но до прихода человека в Юго-Восточную Азию [Kivisild *et al.*, 2003]. Гаплогруппа С является наиболее древней из евразийских гаплогрупп и состоит из нескольких ветвей [Степанов *с соавт.*, 2002].

В отличие от гаплогруппы С, гаплогруппы D и E имеют три филогенетически эквивалентных маркера, указывающие на их общее происхождение, наиболее вероятно, в Африке. Некоторые из предковых линий этих гаплогрупп остались в Африке и дивергировали в линии гаплогруппы E, которая имеет наиболее высокую частоту и уровень разнообразия в африканских популяциях, тогда как другие покинули этот континент и стали частью генофонда ранних колонистов Евразии [Su *et al.*, 2000; Tajima *et al.*, 2004; Wen *et al.*, 2004].

Макрогаплогруппа F характеризуется мутацией M89 и включает все оставшиеся гаплогруппы Y хромосомы. Предковая линия F дивергировала с образованием множества ветвей и последующее накопление мутаций в этих ветвях привело к возникновению специфичных для некоторых регионов гаплогрупп, таких как J и G на Ближнем Востоке, I в Европе, H – в Южной Азии.

Одна из ветвей гаплогруппы F эволюционировала в новый макрокластер K, определяемый мутацией M9. Этот макрокластер возник, по-видимому, в Индии и позже носители различных его ветвей продвинулись на север и восток. Среди мигрантов на восток возникли гаплогруппы N и O, а среди тех, кто продвинулся на север - гаплогруппы R и Q [Underhill *et al.*, 2003]. Гаплогруппа L, определяемая полиморфизмом M20, имеет наибольшую частоту в некоторых популяциях Индии [Wells *et al.*, 2001; Kivisild *et al.*, 2003], линии гаплогруппы M встречаются только в Меланезии и Новой Гвинее [Hurles *et al.*, 2003; Jobling and Tyler-Smith, 2003], гаплогруппа O [маркер M242] доминирует в Южной и Юго-Восточной Азии, достигая Северного Китая, Маньчжурии и Сибири [Su *et al.*, 1999; Karafet *et al.*, 2002]. Гаплогруппа N получила широкое распространение в Северной Евразии [Zerjal *et al.*, 1997]. Гаплогруппа Q характерна для некоторых популяций Сибири и Америки [Karafet *et al.*, 2002; Underhill *et al.*, 2001a]. Линии гаплогруппы R распространились из Средней Азии на Запад до Европы [Wells *et al.*, 2001]. .

1.3.5.1. Вариабельность линий Y хромосомы в Азии

В сравнении с другими континентами в Азии обнаружен наибольший спектр гаплогрупп Y хромосомы, распределение которых по регионам весьма специфично.

Наиболее характерными гаплогруппами популяций Ближнего Востока являются J и E3b [Nebel *et al.*, 2001; Semino *et al.*, 2004]. Гаплогруппа J возникла на Ближнем Востоке, где она имеет максимальные частоты и уровень разнообразия. Помимо стран Средиземноморья, с Ближнего Востока эта гаплогруппа распространилась в Северную Африку, Иран, Среднюю Азию и Индию [Nebel *et al.*, 2001].

В Индии распространены линии трех мажорных евразийских кластеров C, F, и K [Kivisild *et al.*, 2003]. Предполагается, что Южная и Западная Азия были прародиной гаплогруппы R. В популяциях Индии и Пакистана наблюдаются максимальные частоты гаплогруппы R2 и самый высокий уровень разнообразия STR-линий гаплогрупп R2 и R1a [Kivisild *et al.*, 2003]. Специфичным для Южной Азии кластером является гаплогруппа H.

Особенностью спектра гаплогрупп Y хромосомы в Восточной и Юго-Восточной Азии является резкое преобладание гаплогруппы O.

В популяциях Средней Азии также наблюдаются значительные различия в распределении Y гаплогрупп [Wells *et al.*, 2001; Zerjal *et al.*, 2002; Степанов *с соавт.*, 2002]. В Средней Азии более распространены гаплогруппы R [R1 и R1a], C, J2 и с меньшими частотами F*, E, K, O, L, R2 [Wells *et al.*, 2001]. Средняя Азия является перекрестком всех дорог, ведущих в Восточную и Западную Евразию. Гаплогруппа R1a, по-видимому, проникла в Среднюю Азию из восточно-европейских степей [Zerjal *et al.*, 2002], а гаплогруппа C – из северо-восточных регионов. Таким образом, Средняя Азия может рассматриваться как сложный и многосоставный по структуре регион.

Южная Сибирь является крайней зоной распространения ближневосточных гаплогрупп J и E. Большую часть линий в Южной Сибири

составляют гаплогруппы R1a1, C, N1C [Степанов *с соавт.*, 2002; Derenko *et al.*, 2006].

Степень генетической подразделенности популяций Сибири [Fst] максимальна в сравнении с другими регионами мира [Karafet *et al.*, 2002].

1.3.5.2. Вариабельность линий Y хромосомы в Европе

Европа является наиболее изученным регионом в отношении распределения линий Y хромосомы в популяциях. Первые результаты по вариабельности Y хромосомы были получены в работах Семино и соавторов (2000) и Россера и соавторов (2000). В исследованиях Семино было показано, что 95% европейских Y хромосом относятся к 10 гаплогруппам. Большая часть европейских Y хромосом принадлежит к гаплогруппам R1a, R1b, I, N1C, вместе составляющих 70-80% всего пула. Оставшиеся 20% относятся к гаплогруппам J2, E3b и G. Авторы предположили, что маркер M173 является древнейшим евразийским маркером эпохи верхнего палеолита, который был привнесен или возник в группе *Homo sapiens sapiens*, заселивших Европу [Richards *et al.*, 2002; Klein, 2003].

Приблизительно 50% европейских Y хромосом имеют M173 маркер, определяющий гаплогруппу R1, состоящую из двух ветвей – R1a и R1b, характеризующихся дополнительными мутациями SRY1532 и P25, соответственно. R1a и R1b имеют различное распределение в популяциях, частота R1b понижается с запада на восток, тогда как R1a, наоборот, имеет максимальные частоты в восточноевропейских популяциях, в частности, в славянских. Частота линии R1a1 у восточных славян [русских, украинцев и белорусов] достигает 40% [Semino *et al.*, 2000a].

Гаплогруппа N1C получила распространение в Северной и Восточной Европе, но практически отсутствует в Западной и Южной [Zerjal *et al.*, 1997, 2001]. Довольно высокое содержание линий N1C у северных русских (до 10%), по-видимому, указывает на вклад в генофонд русской популяции финно-угорских племен.

Полиморфизм M170, определяющий гаплогруппу I, связывают с потомками более древних переселенцев эпохи верхнего палеолита, мигрировавших в Европу с Ближнего Востока примерно 20-25 тыс. лет назад [Semino *et al.*, 2000a; Rootsi *et al.*, 2004].

Гаплогруппы E3b, J2 и G также проникли в Европу, по-видимому, с Ближнего Востока, их общее содержание в европейском пуле составляет менее 25% [Semino *et al.*, 2000a, 2004].

1.4. Популяционно-генетические исследования народов Волго-Уральского региона.

Коренное население Волго-Уральского региона неоднородно в этническом и историко-культурном отношении. Народы данного региона принадлежат к различным языковым группам: финно-угорской ветви уральской языковой семьи (мордва, марийцы, коми, удмурты), тюркской ветви алтайской языковой семьи (башкиры, татары, чувашаи) и славянской группе индоевропейской языковой семьи (русские). По антропологическому составу эти народы относятся к европеоидной расе с различной долей примеси монголоидного компонента [Рогинский, Левин, 1978]. Вопрос о путях формирования антропологических типов народов Волго-Уральского региона остается открытым.

Популяционно-генетические исследования народов Волго-Уральского региона, являющиеся закономерным продолжением изучения проблемы этногенеза этих народов, внесли новую информацию об их происхождении и формировании. В 1971 - 1996 гг. проведено изучение генетической структуры популяций ВУР в отношении иммунологических, биохимических и физиологических маркерных генов [Спицына *с соавт.*, 1990; Шнейдер *с соавт.*, 1990; Спицын *с соавт.*, 1995].

Анализ генетических расстояний выявил наибольшую близость башкир с тюркоязычными народами - татарами и чувашами, а также с народами Западной Сибири. При расчленении тотальной генной вариабельности на внутри- и межпопуляционные различия основная доля генного разнообразия

приходится на внутрипопуляционный уровень и составляет 97,08%. Доля межпопуляционных различий составляет незначительный компонент от общего генного разнообразия [Спицын *с соав.*, 1990].

В 1993-2000 гг. работами Хуснутдиновой *с соав.* представлены данные о полиморфизме некоторых локусов ядерного и митохондриального геномов у семи народов Волго-Уральского региона.

Изучение соотношения европеоидных и монголоидных компонентов в генофонде народов ВУР по данным полиморфизма четырех ДНК локусов (МЕТ, D7S23, аро В и ФАГ) обнаружило большую пропорцию европеоидности. Среди исследованных популяций самая высокая доля европеоидности выявлена в популяциях чувашей (98,3%) и мордвы (94,8%), самая низкая - в популяциях татар (67,8%) и башкир (66,3) [Хуснутдинова *с соавт.*, 1999].

Оценка степени генного разнообразия народов Волго-Уральского региона показала, что генофонд этих народов не только географически занимает промежуточное место между европейскими и сибирскими генофондами, но и по уровню генетических различий занимает как бы промежуточное положение между ними. При этом по всем изученным показателям ВУР оказался ближе европейскому миру, чем к сибирскому. Проведенный кластерный анализ по данным полиморфизма ДНК-локусов ядерного генома выявил наибольшее сходство генетической структуры популяций башкир с татарами, чувашами и марийцами, наименьшее - с мордвой и коми [Хуснутдинова, 1999].

Результаты комплексного исследования в будущем позволят более полно представить картину истории формирования народов Волго-Уральского региона.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

В качестве материала для популяционно-генетического анализа образцы ДНК, полученные от 250 (120 – казанских татар, 130 – татар-мишар) неродственных индивидов - представителей татарской национальности. Среди них 155 мужчин, 95 женщин.

Забор крови проводился на территории Лаишевского и Аксубаевского районов, и города Казани Республики Татарстан с 2009 году по 2012 года. Были взяты образцы венозной крови в объеме 5 мл. Данные по этнической принадлежности обследованных индивидов выясняли путем опроса, включая указание на национальную принадлежность предков до третьего поколения. Забор крови проводили исключительно на добровольной основе с информированного согласия.

Данные для сравнений популяций были любезно предоставлены лабораторией молекулярной генетики человека Института Биохимии и Генетики Уфимского Научного Центра Российской Академии Наук.

2.2. Методы исследования

Выделение ДНК и последующий генетический анализ аутосомных Alu-инсерционных локусов и диаллельных маркеров Y хромосомы проводили на кафедре генетики Института фундаментальной медицины и биологии КФУ и в лаборатории молекулярной генетики человека ИБГ УНЦ РАН.

2.2.1. Выделение геномной ДНК

ДНК выделяли из периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [Mathew C.C., 1984]. Кровь набирали в вакуумные пробирки с консервантом, тщательно перемешивали и хранили при температуре 4⁰С. Для получения ядродержащей фракции клеток крови к 5 мл крови добавляли 30 мл холодного лизирующего буфера (320 мМ сахараза; 5 мМ MgCl₂; 1% тритон X-100; 10 мМ трис-HCl, pH=7,6), и центрифугировали 20 мин при

температуре 4⁰С и 4000 об./мин. Надосадочную жидкость сливали, к осадку повторно приливали 20 мл холодного лизирующего буфера и центрифугировали при тех же условиях в течение 10 мин. К полученному осадку добавляли 800 мкл буфера Soline ЭДТА (25 мМ ЭДТА, pH 8,0 и 75 мМ NaCl), 80 мкл 10% SDS, 20 мкл протеиназы К (10мг/мл) и инкубировали при 37⁰С в течение 12 часов. Из полученного лизата выделяли ДНК. Экстракцию ДНК проводили в три этапа

1. забуференным фенолом (200 мкл меркаптоэтанола на 50 мл фенола - Трис-НСI, pH 7,8). В лизат добавляли 800 мкл забуференного фенола, тщательно перемешивали на ротаторе 10 мин., центрифугировали 10 мин. при 5000 об./мин.
2. смесью фенол-хлороформа (1:1). В полученный супернатант добавляли 400 мкл забуференного фенола и 400 мкл хлороформа (1 мл изоамилового спирта на 24 мл хлороформа). Так же тщательно перемешивали на ротаторе 10 мин и центрифугировали при тех же условиях.
3. хлороформом (2 мл изоамилового спирта на 48 мл хлороформа). Супернатант перемешивали с 800 мкл хлороформа. Перемешивали на ротаторе 5 мин и центрифугировали при 3000 об./мин в течение 3 мин.

ДНК осаждали 2-3 мл охлажденного 96% этанола. Осадок промывали 70% этанолом, подсушивали на воздухе, затем растворяли в дистиллированной воде и хранили при -20⁰С.

2.2.2. Анализ аутосомных Alu инсерционных локусов

Генотипирование 10 *Alu* инсерционных локусов *PV92*, *B65*, *TPA25*, *ACE*, *APOA1*, *Ya5NBC123*, *Ya5NBC182*, *Ya5NBC148*, *Ya5NBC102*, *Ya5NBC480*, *Ya5NBC485* проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК на амплификаторе “Терцик” производства компании «ДНК-технология» (г. Москва).

Для амплификации использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, которая содержала 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 мМ трис-НСI (pH 8,8), 16,6 мМ

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1,5мМ MgCl_2 , 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* (производства фирмы «Силекс», г. Москва) и 5-10 пМ локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров.

ПЦР проводили по схеме: начальная денатурация (94°C, 4 мин.); 28-30 циклов амплификации со следующими параметрами: 1) денатурация – 94°C, 35-60 сек; 2) отжиг – 50-68°C, 35-60 сек; 3) синтез – 72°C, 45-120 сек; после чего проводили инкубацию при 72°C в течение 10 минут. .

Условия проведения ПЦР варьировали в зависимости от температуры отжига праймеров.. Перечень аутосомных *Alu* - инсерций, последовательности праймеров и температура отжига представлены в таблице. 1. Разделение фрагментов ДНК проводили с помощью электрофореза в 7% полиакриламидном геле (ПААГ), приготовленном из 30% раствора ПААГ (соотношение акриламид:N,N'-метиленбисакриламид – 29:1). Электрофорез проводили в 1×ТБЕ буфере (0,089 М трис-НСl; 0,089 М борная кислота; 0,002 М ЭДТА, рН=8,0). Перед нанесением на гель пробы смешивали в соотношении 5:1 с краской, содержащей 0,25% бромфенолового синего, 0,25% ксиленцианола и 15% фикола. Так же фрагменты разделяли и в 2% агарозном геле. Электрофорез проводили в 0,5х ТБЕ буфере. После окончания электрофореза ПААГ окрашивали раствором бромистого этидия и фотографировали при УФ-освещении (рис. 6.).

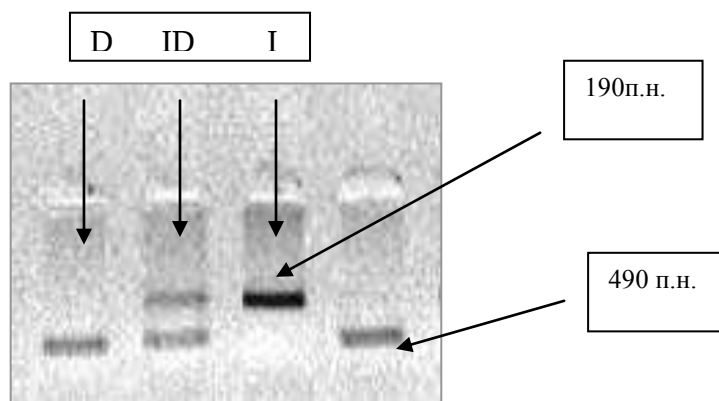


Рисунок 6 - Электрофореграмма разделения фрагментов ДНК амплифицированного участка гена ACE в 2% агарозном геле. D-делеция, I-инсерция, ID-гетерозигота.

Таблица 1

**Название и хромосомная локализация анализируемых Alu инсерционных полиморфизмов, последовательности
и температура отжига праймеров**

Название <i>Alu</i> локуса	Хромосомная локализация	Последовательность праймеров [F и R, 5' – 3']	T _{an} [C°]	Литературный источник
1	2	3	4	5
<i>PV92</i>	16	AAC TGGGAAAATTTGAAGAGAAAGT TGAGTTCTCAACTCCTGTGTGTTAG	54	Watkins W.S. et al., 2003
<i>B65</i>	11q14.3	ATATCCTAAAAGGGACACCA AAAATTTATGGCATGCGTAT	52	Watkins W.S. et al., 2003
<i>TPA25</i>	8p11.2	GTAAGAGTTCCGTAACAGGACAGCT CCCCACCCTAGGAGAACTTCTCTTT	59	Watkins W.S. et al., 2003
<i>ACE</i>	17q23	CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT GATGTGGCCATCACATTCGCTAGAT	58	Watkins W.S. et al., 2003
<i>APOA1</i>	11q13	AAGTGCTGTAGGCCATTTAGATTAG AGTCTTCGATGACAGCGTATACAGA	50	Watkins W.S. et al., 2003

Продолжение таблицы 1.

1	2	3	4	5
<i>Ya5NBC123</i>	5	ATCAAGTTGACACTCAGTATTCACCAC CTAGTCTGCAGAACTGTGAGAAATGTA	55	Watkins W.S. et al., 2003
<i>Ya5NBC27</i>	11	CTGAATACAGGTATCACTGAACAGAAC ACAGTGTAAGTCTAACCTACCAGAGGAT	54	Watkins W.S. et al., 2003
<i>Ya5NBC182</i>	7p13	GAAGGACTATGTAGTTGCAGAAGC AACCAGTGGAAACAGAAGATG	60	Watkins W.S. et al., 2003
<i>Ya5NBC148</i>	20	ACAAGATGACAGATGTAAACCCAAC AAGGTGTTGTCAGACTAATCTATCG	60	Watkins W.S. et al., 2003
<i>Ya5NBC51</i>	3	ATATTCCAGAAGTTTCCTTACATCTAGTGC AAAGCTTTAAGTCTCCACCATCTCT	60	Watkins W.S. et al., 2003
<i>Ya5NBC102</i>	17q23.2	TCCCATTCTCTAGACCTGCTG CCCATAACAGGTCTTCATATTCC	55	Watkins W.S. et al., 2003

2.2.3. Анализ полиморфизма локусов Y-хромосомы

Анализ диаллельных маркеров нерекombинирующей области Y-хромосомы проводился по следующим 15 локусам: *M9*, *M89*, *YAP (M1)*, *M35*, *M130*, *12f2*, *M172*, *M231*, *M207*, *Tat(M46)*, *M20*, *M175*, *92R7*, *SRY1532*, *M269*. Классификация маркеров согласно протоколам “The Y chromosome consortium” [YCC, 2002; Jobling M.A. and Tyler-Smith C., 2003]. На рисунке 7 представлено адаптированное филогенетическое древо диаллельных гаплогрупп Y-хромосомы, предложенное консорциумом по изучению Y-хромосомы (YCC) (YCC, 2002).

Анализ полиморфизма 15 локусов Y хромосомы включал ПЦР - амплификацию с последующим ПДРФ – анализом. Полиморфизм локусов *YAP* и *12f2* анализировали без проведения рестрикции. Для амплификации использовали реакционную смесь объёмом 20-25 мкл, которая содержала 2 мкл 10xTaq-буфера (67 mM трис-HCl (pH 8,8), 16,6 mM (NH₄)₂ SO₄, 1,5mM MgCl₂, 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* [производства фирмы «Силекс», г. Москва] и 5-10 пМ локуспецифичные олигонуклеотидные праймера (производство фирмы «Синтол»). Последовательности праймеров представлены в таблице 2.

ПЦР проводили по схеме: начальная денатурация (94°C, 3 мин.); 28-32 циклов амплификации со следующими параметрами: 1) денатурация – 94°C, 35-60 сек; 2) отжиг – 50-68°C, 35-60 сек; 3) синтез – 72°C, 45-120 сек; после чего проводили инкубацию при 72°C в течение 5 минут. Более подробно расписаны условия ПЦР в таблице 3.

Рестрикцию выполняли в соответствии с рекомендациями фирм-производителей использованных рестриктаз. Полученные гидролизаты разделяли электрофоретически либо на 2% агарозном геле, либо на 7% ПААГ в зависимости от размера фрагментов. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия в течение 15 мин, визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете.

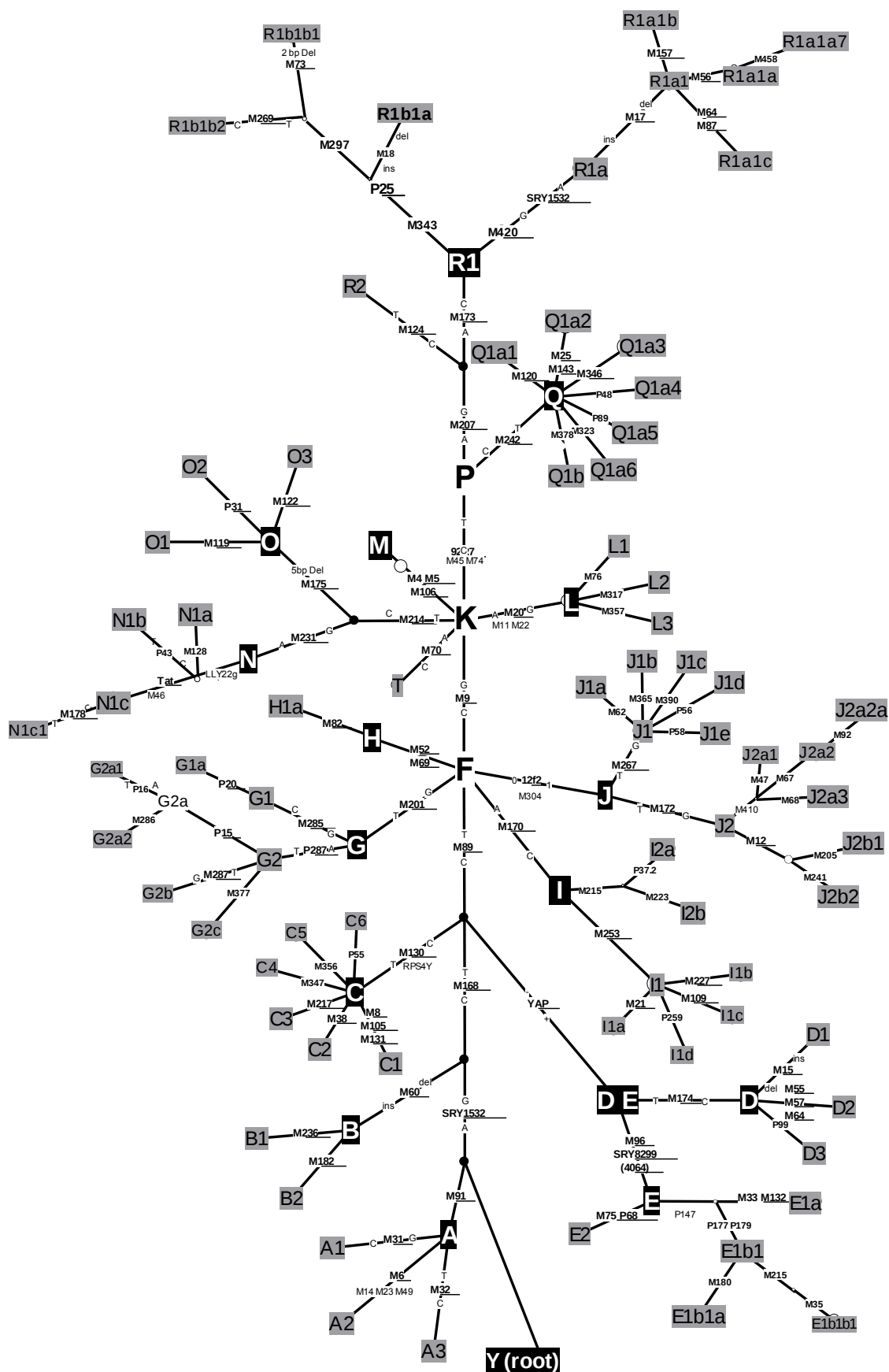


Рисунок 7 - Филогенетическое дерево Y хромосомы (адаптировано из Jobling and Tyler-Smith, (2003) и любезно предоставлено И.А.Кутуевым).

Таблица 2

**Название исследованных полиморфных локусов Y хромосомы, последовательности
праймеров и названия рестриктаз**

Локус/ Гаплогруппа	Последовательность праймеров [F и R, 5' – 3']	Эндонуклеаза рестрикции/сек венирование	Аллели [размер фрагментов, п.о.]	Литературный источник
1	2	3	4	5
M9 C→G трансерсия	GCA GCA TAT AAA ACT TTC AGG A GTA AGA CAT TGA ACG TTT GAA CA	<i>HinfI</i>	C – 68, 59 G - 127	Underhill P.A. et al., 1997
92R7 C→T транзция	GAC CCG CTG TAG ACC TGA CT GCC TAT CTA CTT CAG TGA TTT CT	<i>HindIII</i>	C – 197, 512 T – 709	YCC, 2002
Tat T→C транзция	GAC TCT GAG TGT AGA CTT GTG A GAA GGT GCC GTA AAA GTG TGA A	<i>NlaIII</i>	T – 85, 27 C - 112	YCC, 2002
M20 A→G транзция	GAT TGG GTG TCT TCA GTG CT CAC ACA ACA AGG CAC CAT	<i>SspI</i>	A – 295, 118 G - 413	YCC, 2002
SRY1532 A→G транзция	TCC TTA GCA ACC ATT AAT CTG G AAA TAG CAA AAA ATG ACA CAA GGC	<i>DraIII</i>	A – 167 G – 112, 55	Whitfield L.S. et al., 1995
M89 C→T транзция	CAT GAA AGT GGG GCC CAC AG GCA ACT CAG GCA AAG TGA GAC AT	<i>NlaIII</i>	C – 79, 24 T - 103	Shen P. et al., 2000

Продолжение таблицы 2.

1	2	3	4	5
YAP ПЦР	CAG GGG AAG ATA AAG AAA TA ACT GCT AAA AGG GGA TGG AT	-	0 – 150 1 – 455	Hammer M.F. and Horai S. 1995
M35 G→C трансерсия	AAG CCT AAA GAG CAG TCA GAG AGA GGG AGC AAT GAG GAC A	<i>BseNI</i> 65	G – 169, 344 C – 513	YCC, 2002
M130 G→T	TAT CTC CTC TTC TAT TGC AG CCA CAA GGG GGA AAA AAC AC	<i>BseLI</i>	C – 154, 46 T – 201	Bergen A.W. et al., 1999
12f2 ПЦР мультиплекс	TCT TCT AGA ATT TCT TCA CAG AAT TG CTG ACT GAT CAA AAT GCT TAC AGA TC CTT GAT TTT CTG CTA GAA CAA G TGT CGT TAC ATA AAT GGG CAC	-	0 - [нет делеции] 2 фрагмента: ~500 1 - [делеция] 1 фрагмент: ~820	YCC, 2002
M175 5 bp del	TTGAGCAAGAAAAATAGTACCCA CTCCATTCTTAACTATCTCAGGGA	<i>MboII</i>	no del - 370+74 del – 439	YCC, 2002
M207 A→G	AGGAAAAATCAGAAGTATCCCTG CAAAATTCACCAAGAATCCTTG	<i>DraI</i>	A -346,77 G – 423	YCC, 2002
M231 G→A	CCTATTATCCTGGAAAATGTGG ATTCCGATTCTAGTCACTTGG	<i>TaqI</i>	G – 228,108 A – 331	YCC, 2002
M269 T→C	TTTTTGATCTTAGAAAGGAAACG TTcTGAGGCACATATGATAAAAA	<i>MvaI</i>	T – 198 C – 154+44	Cruciani F. et al., 2002
M172 T→G	TTGAAGTTACTTTTATAATCTAATGCTT ATAATTTATTACTTTACAGTCACAGTGG	<i>HinfI</i>	T – 173 G - 145+28	YCC, 2002

Таблица 3.

Условия амплификации маркеров Y хромосомы, анализируемых для определения гаплогрупп [Деренко М. В., 2009].

Этапы ПЦР		M9		M89		92R7		M207		SRY1532		M269		M175		M20	
		t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"
1	Начальная денатурация	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'
2	Денатурация	94	30"	94	30"	94	45"	94	45"	94	35"	94	30"	94	30"	94	30"
	Отжиг	57	45"	65	30"	57	45"	59	45"	57	35"	57	30"	57	30"	59	30"
	Элонгация	72	45"	72	45"	72	1'	72	45"	72	30"	72	30"	72	40"	72	40"
	Число циклов	31		30		31		30		32		30		30		30	
3	Пост-ПЦР	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'

Продолжение таблицы 3.

Этапы ПЦР		M130		M172		M35		M231		Tat		YAP		12f2	
		t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"	t°C	мин' сек"
1	Начальная денатурация	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'	94	3'
2	Денатурация	94	40"	94	40"	94	40"	94	35"	94	30"	94	40"	94	45"
	Отжиг	53	40"	53	40"	57	40"	57	40"	59	30"	53	40"	51	45"
	Элонгация	72	40"	72	45"	72	50"	72	45"	72	30"	72	50"	72	1'
	Число циклов	32		27		28		32		30		30		33	
3	Пост-ПЦР	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'	72	5'

2.2.4. Статистическая обработка результатов анализа аутосомных Alu инсерционных локусов

Частоты аллелей оценивали по формуле:

$p_i = N_i / 2N$, где N_i - число i -ых аллелей, N – объем выборки.

Стандартную ошибку оценок частот аллелей рассчитывали для каждого локуса в каждой популяции с помощью формулы:

$$Sp = \sqrt{\frac{p(1-p)}{2N}}, \text{ где } p - \text{частота аллеля.}$$

В выборке по каждому локусу проводилось тестирование соответствия распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга. Тест был проведен с использованием программы Генератор V4. После проведения отдельных тестов подсчитывалось их общее количество, а затем подсчитывалось количество значимых отклонений. Если количество значимых тестов существенно превышает 5% от общего числа тестов, то причины следует считать неслучайными. Этот критерий основан на следующем: используемые в популяционно-генетических исследованиях маркеры рассматриваются как селективно-нейтральные генетические локусы. В тех случаях, когда действие отбора и мутационного процесса по отношению к рассматриваемым генетическим локусам пренебрежительно мало, распределение генотипов описывается равновесием Харди-Вайнберга. Для тестирования соответствия наблюдаемого распределения ожидаемому, согласно уравнению Харди-Вайнберга, берем за уровень значимости $\alpha=0,05$. Отсюда, при справедливости нулевой гипотезы (согласно которой во всех локусах по всем популяциям наблюдается равновесие Харди-Вайнберга) в силу только случайных причин ожидается 5% значимых отклонений. В основе неслучайных отклонений от равновесия Харди-Вайнберга могут лежать различные факторы популяционной динамики, такие как инбридинг и отбор, а на экспериментальном уровне ошибки генотипирования [Юнусбаев Б.Б., 2006].

Для выявления генетических взаимоотношений мы применяли также факторный анализ. Факторный анализ провели с использованием метода главных компонент в программе popSTR, любезно предоставленной Х. Харпендингом (департамент антропологии университета штата Юта, США). Для выявления интегральных характеристик (факторов), обуславливающих изменчивость генных частот в популяциях использовали метод главных компонент [Ким Дж.О., Мьюллер Ч.У., 1989]. Цель факторного анализа состоит в том, чтобы обнаружить сравнительно небольшое количество скрытых факторов, которые объясняют связи между наблюдаемыми переменными. При этом количество выделяемых факторов существенно меньше числа наблюдаемых переменных, поэтому факторный анализ можно рассматривать как метод редукции данных.

В основе метода главных компонент лежит предположение о том, что число факторов равно числу исходных признаков ($k=m$), а характерные факторы вообще отсутствуют:

$$\begin{matrix} X_1 = a_{11}F_1 + \dots + a_{1m}F_m \\ \vdots \\ X_m = a_{m1}F_1 + \dots + a_{mm}F_m \end{matrix} .$$

Очевидно, уравнения определяют здесь систему преобразования одних параметров в другие. Поскольку число факторов равно числу исходных параметров, задача искомого преобразования решается однозначно, т.е. факторные нагрузки определяются в этом методе однозначно.

Каждая из переменных F_j называется здесь i -й главной компонентой. Метод главных компонент состоит в построении факторов - главных компонент, каждый из которых представляет линейную комбинацию исходных признаков. Первая главная компонента F_1 определяет такое направление в пространстве исходных признаков, по которому совокупность объектов (точек) имеет наибольший разброс. Вторая главная компонента F_2 строится с таким расчетом, чтобы ее направление было ортогонально направлению F_1 и она объясняла как можно большую часть остаточной

дисперсии, и т.д. вплоть до t -й главной компоненты F_m . Так как выделение главных компонент происходит в убывающем порядке с точки зрения доли объясняемой ими дисперсии, то признаки, входящие в первую главную компоненту с большими коэффициентами $a_{ii} = (i = \overline{1, m})$ оказывают максимальное влияние на дифференциацию изучаемых объектов [Хитринская И. Ю., 2003].

Другой метод анализа многомерных данных – многомерное шкалирование (Multidimensional Scaling, MDS) – относится к классу методов, использующих в качестве входных данных не пары «объект-признак», а матрицу, элементы которой на пересечении строк и столбцов содержат сведения о попарном сходстве анализируемых объектов. В новом двумерном или трехмерном пространстве объекты располагаются с максимально адекватным воспроизведением исходных расстояний между ними.

Метод MDS позволяет расположить "объекты" в пространстве некоторой небольшой размерности, чтобы достаточно адекватно воспроизвести наблюдаемые расстояния между ними. В результате можно "измерить" эти расстояния в терминах найденных латентных переменных.

Ориентация осей может быть выбрана произвольной. Таким образом, окончательная ориентация осей на плоскости или в пространстве является, в большей степени результатом содержательного решения в конкретной предметной области (т.е. решением пользователя, который выберет такую ориентацию осей, которую легче всего интерпретировать)

Различают два основных алгоритма многомерного шкалирования – метрический и неметрический. Метрическое MDS осуществляется в два этапа: сначала по исходной матрице строится модель субъективного расстояния, числовые значения которой должны удовлетворять аксиомам геометрического расстояния, затем по новой матрице рассчитываются координаты объектов. В нелинейном методе построение пространственной модели осуществляется по исходным данным (важны не сами расстояния, а их ранги).

Критерий отличия двух величин – реальных и новых расстояний между объектами – называется стрессом.

Преимуществами метода многомерного шкалирования по сравнению с методом главных компонент является возможность использования различных метрик для расчета расстояний между объектами и применения вариаций MDS (метрическое/неметрическое), а также отражение на конечном поле всей исходной вариативности объектов.

При стандартных параметрах (расчет расстояний по Евклиду) результаты классического (метрического) MDS и PCA идентичны.

2.2.5. Статистическая обработка результатов анализа диаллельных маркеров Y-хромосомы

Частоты гаплогрупп оценивали путем прямого подсчета.

$p_i = N_i / N$, где N_i - число образцов попавших в гаплогруппу, N – объем выборки.

Факторный анализ провели с использованием метода главных компонент в программе popSTR.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Анализ полиморфизма Alu-инсерционных локусов в популяции татар

Было проведено генотипирование 10 аутосомных Alu-инсерционных локусов (*PV92*, *B65*, *TPA25*, *ACE*, *APOA1*, *Ya5NBC123*, *Ya5NBC182*, *Ya5NBC148*, *Ya5NBC102*, *Ya5NBC480*, *Ya5NBC485*) у 250 неродственных индивидов татарской национальности.

По результатам генотипирования были проведены оценки частот Alu-инсерций в каждом локусе и подсчитаны стандартные ошибки, которые сведены в таблицу 4.

Таблица 4.

Распределение частот 10 Alu инсерций в популяции татар.

Локус	Популяци	
	Казанские татары	Мишары
NBC102	0.500	0.535
NBC123	0.829	0.843
NBC148	0.329	0.269
NBC182	0.726	0.781
ACE	0.493	0.523
ApoA1	0.938	0.932
B65	0.493	0.484
PV92	0.301	0.231
NBC480	0.322	0.254
NBC485	0.479	0.446

Из всех изученных Alu-инсерций локусы *Ya5NBC148*, *ACE*, *PV92*, *TPA25* и *Ya5NBC27* оказались наиболее информативными маркерами дифференцированности популяции татар.

Самая высокая частота инсерций выявлена по локусу *ApoA1* (0,938, 0,932). Наши результаты сходны с литературными данными по ВУР. Среди популяций Волго-Уральского региона ранее была показана самая высокая частота *ApoA1*-инсерции у татар (0,914) и коми-пермяков (0,914), а самая

низкая частота вставки была зафиксирована у башкир (0,8040). Среди среднеазиатских этнических групп наибольшая частота у узбеков (0,903) и у казахов (0,8010). Наименьшая частота инсерции наблюдалась у уйгуров (0,548) [Хусаинова *с соавт.*, 2004]. По иностранным литературным данным частота данной инсерции в популяциях Азии меньше (0,856) по сравнению с европейскими популяциями (0,965) [Batzer *et al.*, 1996; Watkins *et al.*, 2001]. Это может послужить одним из доказательств значительной доли европейского компонента в генофонде татарского народа.

Не высокая частота в данной популяции наблюдается по *Alu*-инсерция *ACE* (0,493, 0,523), которая практически идентична ранее полученным данным по Волго-Уральскому региону (0,4997 и 0,5070) [Мустафина *с соавт.*, 2001a; Хусаинова *с соавт.*, 2004] и Средней Азии (0,5580 и 0,5648) [Хусаинова *с соавт.*, 2004; Хитринская *с соавт.*, 2003].

Для частот *Alu*-инсерции в локусах *ACE*, характерны широкие пределы вариации, как для европеоидов, так и для монголоидов Азии и Нового Света. Интересной особенностью обладает данный локус, частота *ACE* четко уменьшается с увеличением "монголоидности" в популяции. Для изученных популяций Сибири и Средней Азии наименьшая частота показана для эскимосов (0.012), в которых наиболее сильно выражен монголоидный компонент, а для русских и украинцев (0.35) [Хусаинова *с соавт.*, 2004].

По локусу *TPA25* исследованной популяции частота оказалось не много завышенной (0,589, 0,532), нежели описано в литературных источниках (0,507) [Хуснутдинова *с соав.*, 2006].

TPA25 Alu-инсерция в Средней Азии относительно гомогенна по частоте (0,464–0,492). При этом среди популяций ВУР выявлена различная частота встречаемости в различных популяциях по данному локусу. Частота инсерции колебалась от 0,176 в популяции горных марийцев до 0,486 у удмуртов и 0,507 у татар [Хуснутдинова *с соав.*, 2006]. По данным Watkins *et al.* (2003) частота этой инсерции в популяциях мира варьирует от 0,193 в Африке, 0,397 в Азии до 0,583 в Европе и 0,596 в Индии. Наблюдается

большой разброс, по частоте данной инсерции среди популяций Азии: от 0,25 у малазийцев до 0,5 у японцев и камбоджийцев; она полностью отсутствует в некоторых популяциях Африки. В Европе обнаружена достаточно высокая частота *TPA25-Alu*-инсерции: от 0,444 у финнов до 0,75 у поляков. Полученный результат по *TPA25* свидетельствуют о том, что популяция татар по частоте данного локуса ближе к европейским популяциям.

По локусу *Ya5NBC148* *Alu*-инсерция у татар встречается с частотой 0,329 и с 0,269. При изучении других популяций по данному локусу было показано соответствие градиенту увеличения частоты проявления *Ya5NBC148* с востока на запад [Хуснутдинова *с соавт.*, 2006]. Частота данного локуса у татар входит в интервалы, свойственные монголоидам (0,3333 – 0,6111), тогда как у европеоидов это значение варьирует в пределах (0,1500 – 0,3250) соответственно [Watkins *et al.*, 2001]. Отсюда можно сделать вывод, что популяция татар характеризуется «промежуточной» частотой данной аллели с тенденцией сдвига к «европеоидному» распределению.

В литературных данных по *PV92*-локусу наибольшая частота этой *Alu*-инсерции в азиатских популяциях [Watkins *et al.*, 2003; Хусаинова *и др.*, 2004; Салимова *и др.*, 2005]. Для более европеоидных по антропологическому типу популяций ВУР частота данной *Alu*-инсерции составила в среднем 0,230, тогда как в популяциях Средней Азии она достигла 0,506. Частота вставки *Alu*-элемента в локусе *PV92* у европеоидов составляет (0,15-0,50), у монголоидов же варьирует в пределах (0,53-0,70) [Watkins *et al.*, 2003].

По полученным данным частота *PV92*-инсерции составила (0,301, 0,231), что более сопоставима с европейскими популяциями.

Alu-повтор *Ya5NBC27* генотипирован в популяции татар с частотой (0,342, 0,334), что практически соответствует с частотой данного локуса в целом в Азии (0,3446) [Watkins *et al.*, 2001], но выше, чем в Средней Азии (0,2570) и Волго-Уральском регионе (0,2930) [Хусаинова *с соавт.*, 2004].

В локусе *B65* частота инсерции в популяции татар (0,493, 0,484). Это не много выше, чем в азиатских популяциях (камбоджийцы, китайцы, японцы, малайцы и вьетнамцы) (0,4333), и не значительно ниже, чем в европейских (французы, поляки) (0,5602) и среднеазиатских популяциях (казахи, узбеки, уйгуры) (0,5056), а также популяциях Кавказа (черкесы, даргинцы, ингуши, армяне, азербайджанцы, грузины) (0,5100) [Watkins *et al.*, 2001; Хитринская *с соавт.*, 2003]. Следует отметить, что, в популяциях Средней Азии и Северного Кавказа самая низкая встречаемость *Alu*-повтора *B65* обнаружена у казахов [0,3462] [Хитринская *с соавт.*, 2003]. По данному локусу популяция татар приближена к популяциям Средней Азии.

Ya5NBC148 и *PV92*, также как и *APOA1*, позволяют хорошо дифференцировать европеоидные и монголоидные популяции. Наибольшая частота данных *Alu*-инсерций отмечается в регионах Азии: 0,397 (*Ya5NBC27*), 0,420 (*Ya5NBC148*) и 0,857 (*PV92*), тогда как для европейских популяций характерна относительно низкая частота: 0,063 (*Ya5NBC27*), 0,199 (*Ya5NBC148*), 0,234 (*PV92*) [Batzer *et al.*, 1996; Watkins *et al.*, 2001, 2003]. В целом, частоты *Alu*-повторов *Ya5NBC148* и *PV92* в популяциях татар значительно выше, чем в популяциях Европы (0,1992 для *Ya5NBC148* и 0,2340 для *PV92*). Но вместе с тем, они не много ниже, чем в Азии (0,4200 для *Ya5NBC148* и 0,8570 для *PV92*) [Batzer *et al.*, 1996; Watkins *et al.*, 2001]. Такое промежуточное положение популяции татар, вероятно, связано с тем, что на формирование татарской общности влияли различные этносы Европы и Азии.

Так как литературные данные свидетельствуют о «азиатских» корнях этих инсерций [Batzer *et al.*, 1996; Stoneking *et al.*, 1997], то по нашим результатам можно судить, что на формирование татар непосредственно влияли азиатские или среднеазиатские популяции.

По каждому локусу *Alu*-инсерций (*PV92*, *B65*, *TPA25*, *ACE*, *APOA1*, *Ya5NBC123*, *Ya5NBC27*, *Ya5NBC182*, *Ya5NBC148*, *Ya5NBC51*, *Ya5NBC102*, *Ya5NBC480*, *Ya5NBC485*) также было протестировано распределение

генотипов на соответствие распределению Харди-Вайнберга. Все полученные данные сведены в таблицу 5.

Таблица 5.

Результаты тестирования соотношения Харди-Вайнберга, уровень значимости $\alpha=0,05$

Локусы	Hr	Hd	He
<i>PV92</i>	0,5772	0,8720	0,2765
<i>ACE</i>	0,1000	0,9755	0,0693
<i>APOA1</i>	1,0000	1,0000	0,7700
<i>Ya5NBC123</i>	0,0000	0,0000	1,0000
<i>Ya5NBC27</i>	0,0693	0,0533	0,9798
<i>B65</i>	0,4934	0,8401	0,2936
<i>TPA25</i>	0,0524	0,9890	0,0390
<i>Ya5NBC51</i>	0,6232	0,3789	0,7948
<i>Ya5NBC102</i>	0,0675	0,9844	0,0426
<i>Ya5NBC148</i>	0,1126	0,0781	0,9759
<i>Ya5NBC182</i>	0,0460	0,0366	0,9914
<i>Ya5NBC480</i>	0,4321	0,2858	0,8619
<i>Ya5NBC485</i>	0,8171	0,7044	0,4785

Hr – теоретическая гетерозиготность, Hd – нехватка гетерозигот, He- избыток гетерозигот. Примечание: Значения, выделенные жирным шрифтом меньше принятого уровня значимости $\alpha=0,05$.

При проведении тестов на соответствие распределения генотипов равновесию Харди–Вайнберга, в 2 случаях выявлено значимое отклонение [$p < 0,05$], обнаружено по локусам *Ya5NBC123*, *Ya5NBC182* в популяции татар, что было связано как с недостатком, так и избытком гетерозигот и можно объяснить случайными стохастическими процессами в данной выборке.

Хотя все 13 локусов оказались полиморфны в исследованной популяции казанских татар, данные по распределению частот аллелей

указывают на существование незначительного генетического разнообразия. Среднее значение ожидаемой (теоретической) гетерозиготности (H_e) по 13 *Alu*-повторам составляет (0,3377). Необходимо отметить, что в популяциях Средней Азии наблюдается большее генетическое разнообразие: среднее значение теоретической гетерозиготности составляет (0,448), тогда как в популяциях Волго-Уральского региона оно не превышает (0,393) [Хуснутдинова *с соавт.*, 2006]. Полученные результаты по средней ожидаемой гетерозиготности соответствуют литературным данным.

При этом по некоторым локусам величина наблюдаемой гетерозиготности достигает 0,5, что является максимальным значением для диаллельного локуса. Наибольший уровень внутрипопуляционного разнообразия по *Alu*-инсерциям выявлен по локусам *B65* и *PV92*. Этот показатель несколько ниже, хотя тоже достаточно высок, что свидетельствует о относительно небольшой степени генетического разнообразия в популяции татар по данным проанализированных локусов *Alu*-инсерций.

Для этносов Волго-Уральского региона внутрипопуляционное разнообразие выше, чем для популяций Северного Кавказа. Теоретическая гетерозиготность в популяции Северного Кавказа составило 0,3760, а для Средней Азии это значение по данным разных авторов равнялось 0,4400 [Хусаинова *с соавт.*, 2004] и 0,3750 [Хитринская *с соавт.*, 2003].

Для того чтобы выяснить степень родства между изученным нами этносам и другими популяциями ВУР, по частотам 10-и *Alu*-инсерций (*PV92*, *B65*, *TPA25*, *ACE*, *APOA1*, *Ya5NBC123*, *Ya5NBC182*, *Ya5NBC148*, *Ya5NBC102*, *Ya5NBC480*, *Ya5NBC485*) мы использовали метод главных компонент (рис.8.).

Видно, что первые две компоненты объясняют 66,3% вариабельности аллельных частот и четко разделяют популяций на два кластера: популяция Волго-Уральского региона и европейская популяция.

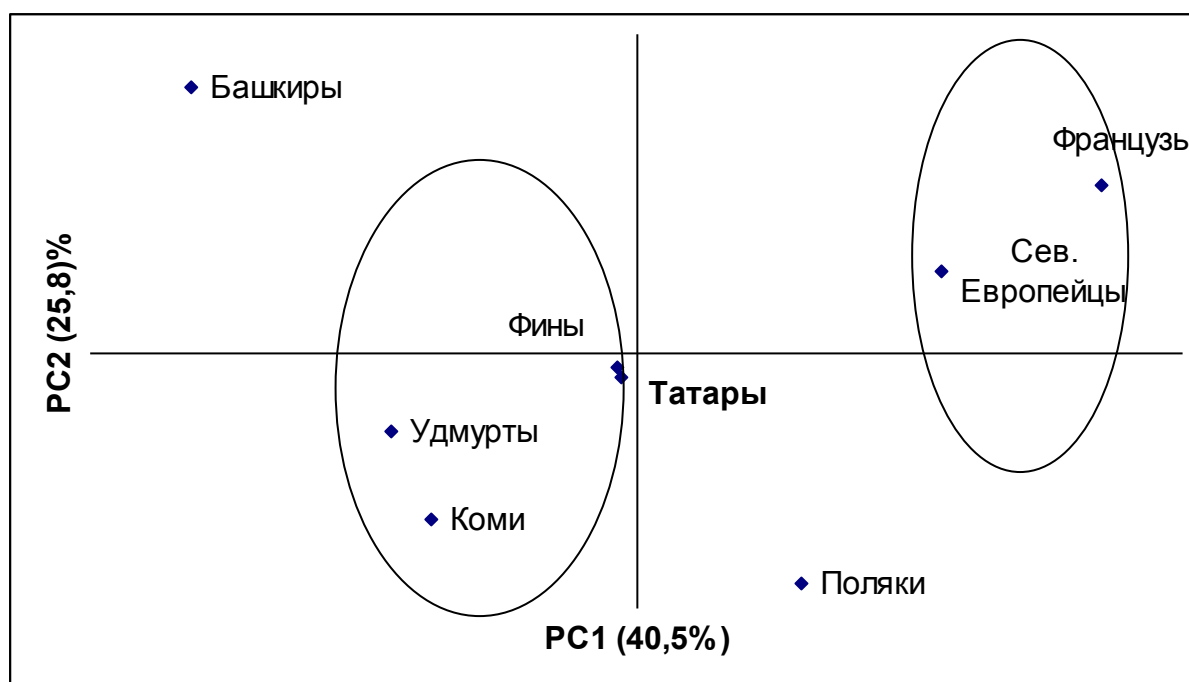


Рисунок 8 - Положение популяции казанских татар по сравнению с некоторыми другими популяциями ВУР в пространстве двух главных компонент по данным частот 10 *Alu*-инсерций (*PV92*, *B65*, *TPA25*, *ACE*, *APOA1*, *Ya5NBC123*, *Ya5NBC182*, *Ya5NBC148*, *Ya5NBC102*, *Ya5NBC480*, *Ya5NBC485*)



Рисунок 9 - Положение популяций татар по сравнению с некоторыми другими популяциями ВУР в пространстве двух главных компонент по данным частот 10 *Alu*-инсерций (*PV92*, *B65*, *TPA25*, *ACE*, *APOA1*, *Ya5NBC27*, *Ya5NBC51*, *Ya5NBC148*, *Ya5NBC480*, *Ya5NBC485*)

Изучаемая популяция татар объединилась в общий кластер с популяциями ВУР. Это можно объяснить генетическим сходство данной выборки по некоторым локусам (высокая частота *TPA25* -0,589, *ACE* -0,493, *ApoA1* - 0,938) с популяцией ВУР (фино-угры). Непосредственно популяция татар расположилась рядом с финнами удмуртами и коми. Расположение финнов рядом с удмуртами, коми и татарами можно объяснить, возможным общим происхождением этих этнических групп. Та же ситуация наблюдается, если мы добавим группу мишар (рис.9.).

Позже мы дополнительно добавили частоты *Alu*-инсерций крещенных татар. Изменение расположения популяций приведено на рисунке 10.

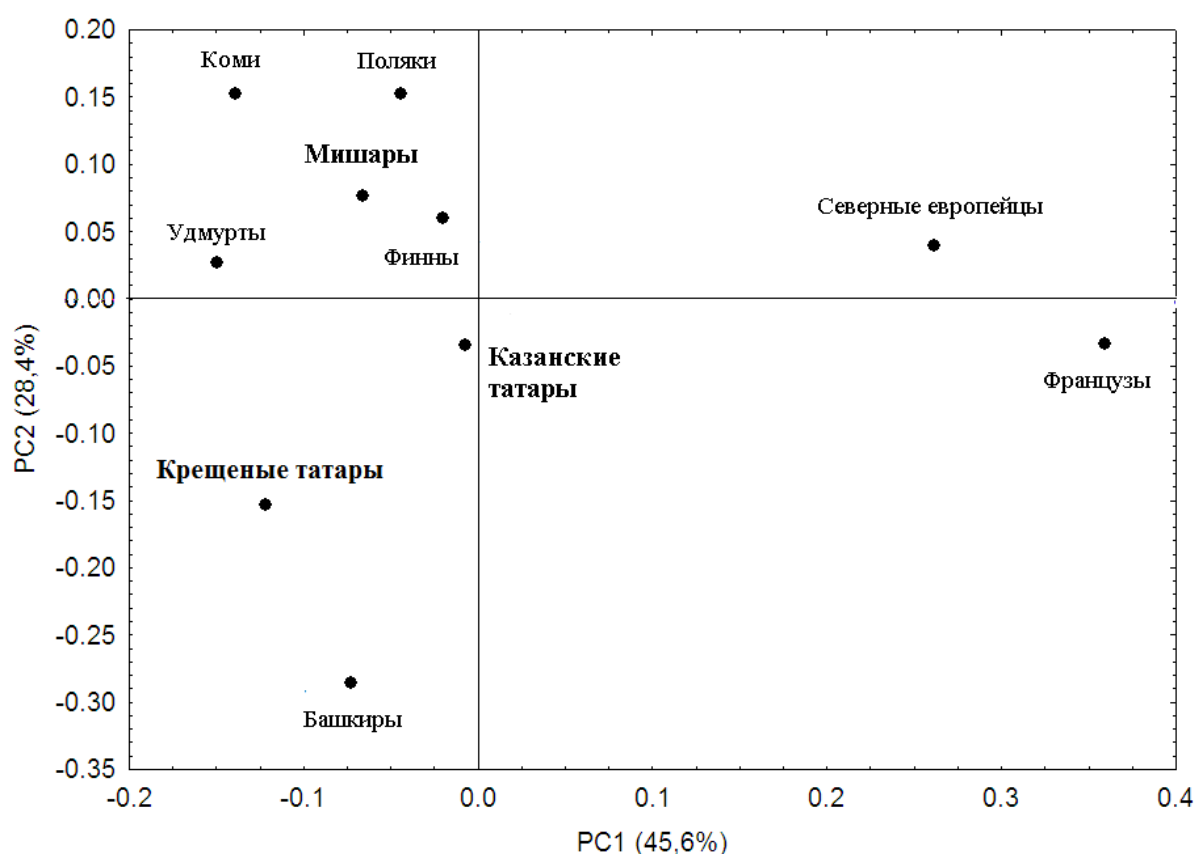


Рисунок 10 - Положение популяции татар по сравнению с некоторыми другими регионами в пространстве двух главных компонент по данным частот 10 *Alu*-инсерций (*PV92*, *B65*, *TPA25*, *ACE*, *APOA1*, *Ya5NBC27*, *Ya5NBC51*, *Ya5NBC148*, *Ya5NBC480*, *Ya5NBC485*)

Первые две компоненты объясняют 74 % вариабельности аллельных частот. Расположение популяций вдоль горизонтальной оси отражает

изменение частот *Alu* инсерций с запада на восток, что, по большому счету, отражает общую генетическую изменчивость. Как видно на рисунке, популяция мишар, финно-угорского региона, волго-уральского региона и европейцев формирует 3 отдельных, хорошо дифференцированных друг от друга кластера. Субпопуляция расположилась в финно-угорском кластере, что позволяет говорить о большей генетической близости мишар к финно-угорских народов по данной системе маркеров.

На рисунке 11 приводятся результаты анализа популяций мишар и других популяций в пространстве трех первых главных компонент. Первые три компоненты объясняют 89.2 % вариабельности аллельных частот.

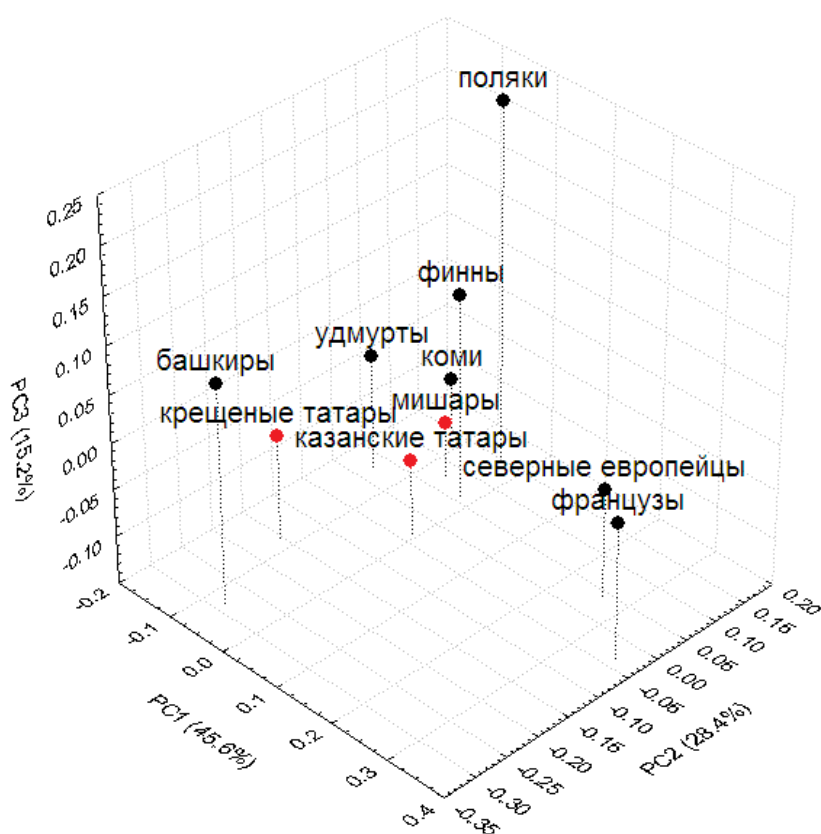


Рисунок 11 -Положение популяций татар по сравнению с некоторыми другими популяциями ВУР в пространстве трех главных компонент по данным частот 10 *Alu*-инсерций (*NBC102*, *NBC123*, *NBC148*, *NBC182*, *ACE*, *ApoA1*, *B65*, *PV92*, *NBC480*, *NBC485*)

Анализ с использованием третьей главной компоненты приводит к более логичному объяснению генетического взаимоотношения популяций и

свидетельствует о том, что, по-видимому, третья компонента отражает степень участия частот Alu-инсерций в энтогенезе народов.

Изучаемая популяция мишар объединилась в общий кластер с популяциями ВУР. Это можно объяснить генетическим сходство данной выборки по некоторым локусам (высокая частота *ACE* -0,523, *ApoA1* - 0,932) с популяцией ВУР (финно-угры). Непосредственно популяция мишари и казанские татары расположились рядом с финнами удмуртами и коми. Расположение финнов рядом с удмуртами, коми и татарами можно объяснить, возможным общим происхождением этих этнических групп.

Ранее было показано, что татары объединялись в общий кластер с тюркоязычными популяциями ВУР. Это могло свидетельствовать о длительных контактах и/или схожих демографических процессах, проходивших в этих популяциях [Хуснутдинова *с соавт*, 2006].

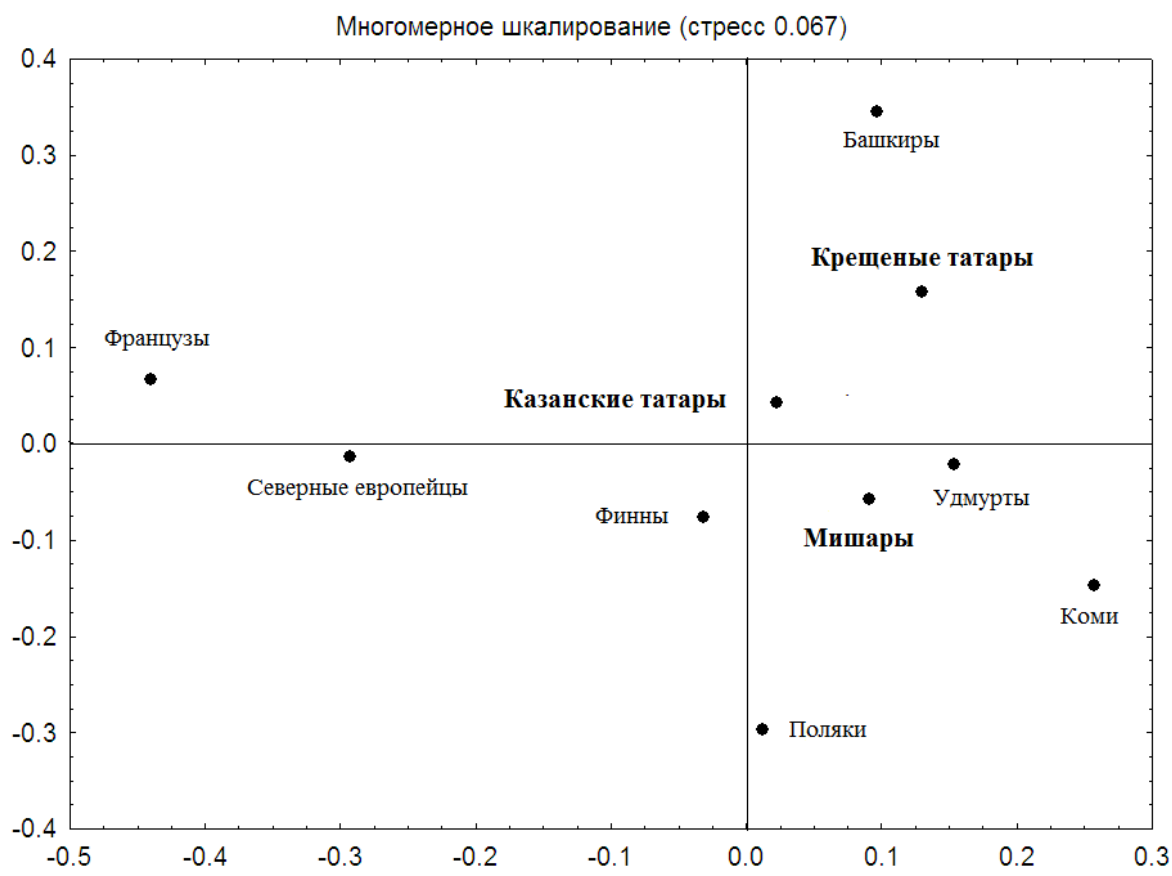


Рисунок 12 – метод многомерного шкалирования по данным частот Alu-инсерций (*NBC102, NBC123, NBC148, NBC182, ACE, ApoA1, B65, PV92, NBC480, NBC485*)

На рисунке 12 показан метод многомерного шкалирования, для оценки степени генетического родства изученной популяции по данным частот Alu-инсерции с привлечением дополнительных литературных данных. Этот метод схож с методом главных компонент, он так же визуализирует данные частот. По данному методу мы получили схожую картину расположений популяций, как и при методе главных компонент.

Изучаемый этнос расположился в кластер Волго-Уральского региона.

3.2. Филогенетический анализ Y-хромосомы

Анализ диаллельных маркеров нерекombинирующей области Y-хромосомы проводился по следующим 15 локусам: *M9, M89, YAP [M1], M35, M130, 12f2, M172, M231, M207, Tat[M46], M20, M175, 92R7, SRY1532, M269*.

Разнообразие Y-хромосомы в изучаемой популяции представлено 8 гаплогруппами (R1a, N1c, N(xN1c), O, E1b1, J2, C, F*), среди которых с наиболее высокой частотой встречаются гаплогруппы кластера N, F* (F* наиболее вероятно I, что можно сказать, исходя из литературных данных, однако мы не можем этого утверждать однозначно – это гипотеза, нуждающаяся в экспериментальной проверке) и R, на которые суммарно приходится 68,6% от всех гаплогрупп. Линии гаплогрупп J2, C, E1b1, O, N(xN1c), выявлены в популяциях татар с низкими частотами: их суммарное содержание в пуле Y хромосом составляет всего 2,94%.

Частоты гаплогрупп представлены в таблице 6. Распределение частот гаплогрупп Y-хромосомы в данной популяции близко к распределению частот гаплогрупп в популяциях Восточной Европы.

Таблица 6.

**Распределение частот по гаплогруппам Y-хромосомы в популяции
казанских татар**

П-ция	R1a	N1c	N[xN1c]	O	E1b1	J2	C	F* [I]
Казанские татары	0,216	0,235	0,0588	0,0196	0,0196	0,157	0,039	0,235
Мишары	0,295	0,298	0,0173	0,0153	0,019	0,138	0,0288	0,189

Анализ полиморфизма диаллельных локусов Y-хромосомы показал, что большинство выявленных гаплогрупп у народов Волго-Уральского региона, для населения Западной Евразии [Rosser *et al.*, 2000; Underhill *et al.*, 2000; Jobling, Tyler-Smith, 2003].

Наиболее высокая частота приходится на гаплогруппу N1c [0,235, 0,298]. Эта гаплогруппа так же с наибольшей частотой распространена в популяциях Северной Европы и Северо-Восточной Сибири [Zerjal *et al.*, 2001; Степанов, 2002;]. Среди народов Волго-Уральского региона максимальная частота N1c оказалась характерной для удмуртов. Примечательным является факт обнаружения ее с достаточно высокой частотой у татар (0,185), что, по-видимому, отражает участие значительного финногорского компонента в формировании этого этноса. На основании полученных результатов можно предположить, что источником происхождения Y-хромосом с Tat-мутацией является финно-угорская общность народов Поволжья [Хуснутдинова *с соавт.*, 2006]. Однако нельзя исключить, что высокая частота N1c у удмуртов может быть обусловлена эффектом основателя и генетическим дрейфом. Согласно данным литературы, предковой для N1c является гаплогруппа N, несущая G→A-транзицию в локусе LLY22 [Zerjal *et al.*, 1997]. В популяциях башкир, мордвы, удмуртов и коми-зырян практически все хромосомы, несущие Tat-мутацию, содержали эту транзицию, что свидетельствует о едином

источнике происхождения *Tat*-мутации в этих этносах. Высокая частота G-аллеля локуса *LLY22* на хромосомах с *Tat*-мутацией у татар, марийцев и чувашей может, с одной стороны, указывать на наличие разных предковых линий N1c в этих этносах, с другой – свидетельствовать о повторно произошедшей *Tat*-мутации [Викторова *и др.*, 2000].

Гаплогруппа R1 представлена в популяции татар ветвью R1a (21,6%), определяемая мутацией в локусе SRY1532. Линии R1a, встречающиеся с максимальными частотами в популяциях Восточной Европы и Средней Азии [Semino *et al.*, 2000a, Rosser *et al.*, 2000]

Так же с высокой частотой встречается гаплогруппа F* (0,235, 0,189), практически с той же частотой, что и R1a b N1c. Исходя из литературных данных мы предположили, что гаплогруппа F* наиболее вероятно является I. Обнаружение данной гаплогруппы позволяет судить о генетическом вкладе популяций Европы, поскольку гаплогруппа I практически нигде не встречается, кроме Европы [Rootsi S. *et al.*, 2004]. Филогеографический анализ гаплогруппы I, проведенный Rootsi S. с соавт. (2004) на выборках индивидов из 60 популяций Западной и Восточной Европы, Передней Азии, Кавказа и Центральной Азии, показал, что носители данной гаплогруппы действительно произошли и распространились на территории Европы.

На рис.13. приведено положение популяции казанских татар и некоторых популяций в пространстве двух первых главных компонент по данным о частотах гаплогрупп Y-хромосомы, объясняющих 67,8 % вариабельности последних. Видно четко разделение популяций на три кластера: популяция Волго-Уральского региона, восточно-европейская и западноевропейская популяция.

Достаточно хорошо кластеризуются финно-угорские народы Волго-Уральского региона. В то же время в одном кластере с ними располагаются исследуемые татары и чувашаи, что не случайно, поскольку и те, и другие, по большому счету, обнаруживают значительное сходство распределения частот гаплогрупп Y-хромосомы. Более того, по частотам гаплогруппы N1c

(специфичной для финно-угорских народов) в этих популяциях даже превышают показатели отдельных популяций финно-угров [Хуснутдинова *с соавт.*, 2006]. В этом же кластере расположились и коми, они, как и чуваша относятся к фино-уграм, как и следовало ожидать.

Отдельным кластером располагаются Восточная Европа (русские, белорусы, украинцы и поляки). Французы и немцы входят в третий отдельный кластер.

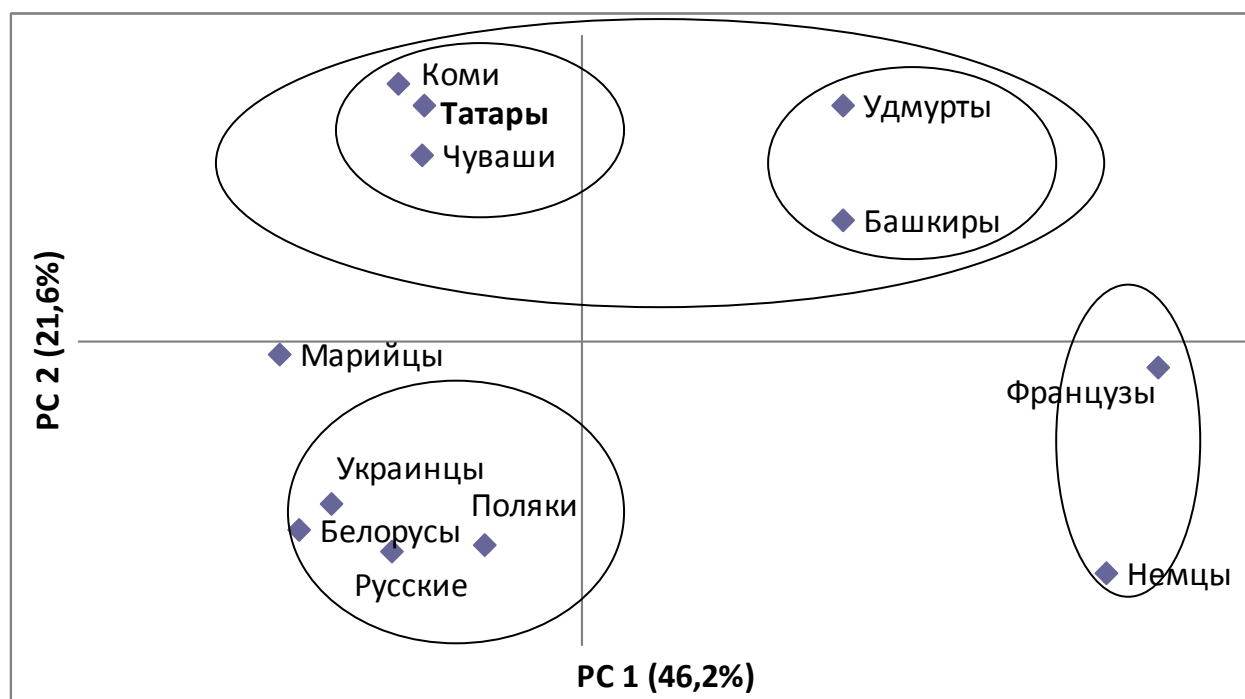


Рисунок 13 - Положение популяций в пространстве двух первых главных компонент по данным о частотах гаплогрупп (R1a, N1c, N[xN1c], O, E1b1, J2, C, F*)Y-хромосомы. Мы заменили I на F*, так как в других популяциях в F* входит I, поскольку мы были вынуждены привести данные по данной популяции к единому уровню филогенетического разрешения.

Потом мы добавили частоты гаплогрупп мишар и других популяций. На рисунке 14 приведено положение популяции казанских татар, мишар и некоторых популяций в пространстве двух главных компонент по данным о частотах гаплогрупп Y-хромосомы, объясняющих 30,5 % вариабельности последних. Так как цифра оказалась меньше 50 %, можно говорить о низкой визуализации данных.

подразделенности близкородственных этнических формирований по мужской линии в пределах отдельных регионов и позволяет выявить предковые гаплотипы, участвовавшие в этногенезе народов.

На рисунке 15 показан метод многомерного шкалирования, для оценки степени генетического родства изученной популяции по данным частот гаплогрупп Y-хромосом с привлечением дополнительных литературных данных.

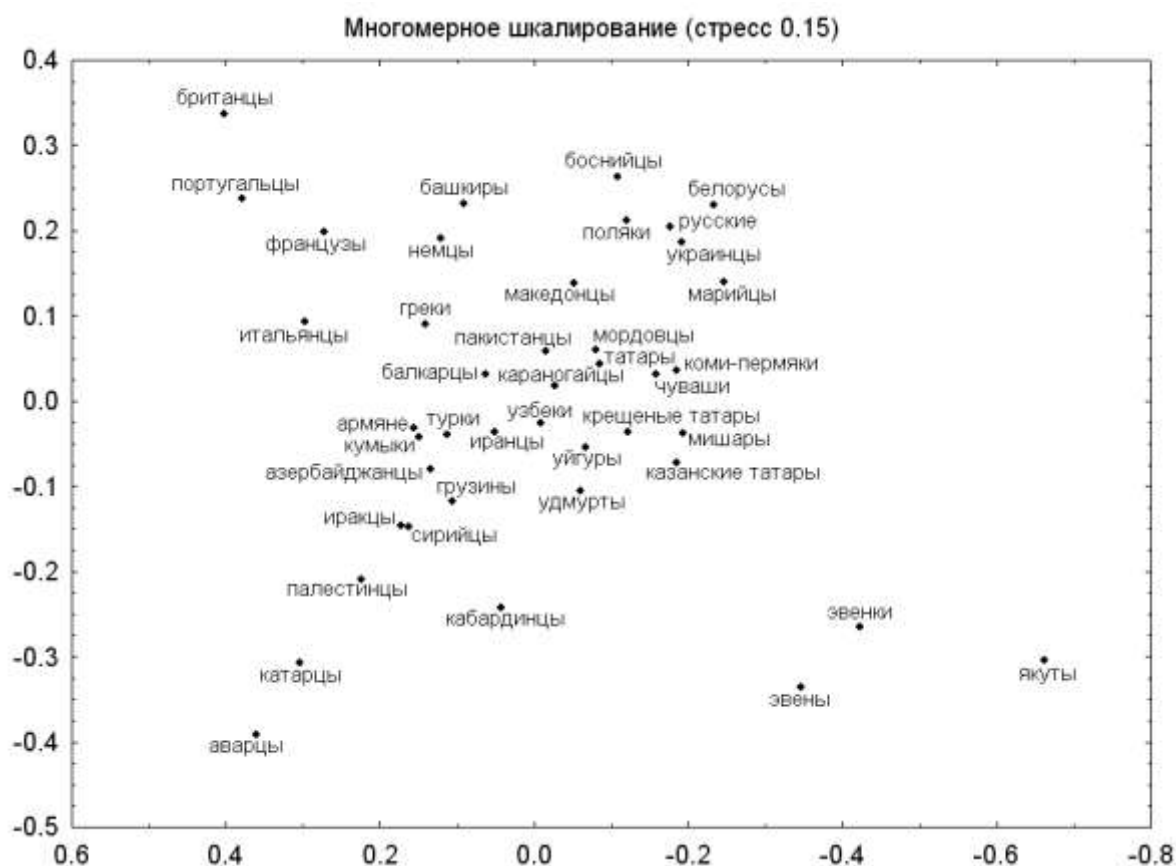


Рисунок 15 – метод многомерного шкалирования по данным частот гаплогрупп (C, E3, F*, J(xJ2), J2, N, O, R1a) Y-хромосомы.

Метод многомерного шкалирования позволяет расположить "объекты" в пространстве некоторой небольшой размерности, чтобы достаточно адекватно воспроизвести наблюдаемые расстояния между ними.

Изучаемые группы вновь расположилась в общий кластер с Волго-Уральским регионом.

Данный график подтверждает наши результаты о возможном близком генетическом развитии мишар, этносов Волго-Уральского региона, популяциями Восточной Европы

Таким образом, исследование генетических различий по данным о частотах гаплогрупп и анализу гаплотипов Y-хромосомы между татарами, этносами Волго-Уральского региона, популяциями Западной и Восточной Европы, свидетельствует о существовании генетической подразделенности близкородственных этнических формирований по мужской линии в пределах отдельных регионов и позволяет выявить предковые гаплотипы, участвовавшие в этногенезе народов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что результаты изучения аутосомных локусов только в ряде случаев свидетельствуют о сохранении отдельными популяциями их исходных генетических черт. Результаты, полученные по Y-хромосоме, не всегда позволяют получить четкую картину о существующей настоящей генетической общности народов или же о существовавших в прошлом этнических контактах. Возможно, это объясняется недостаточно разработанной в настоящее время классификацией Y-хромосомы и ее низкой разрешающей способностью, когда детальный анализ отдельных гаплогрупп дает значительное смещение полученных результатов, в то же время отсутствие дробления на субгаплогруппы других гаплогрупп не позволяет выявить основные закономерности.

По данным разных маркеров, генетические взаимоотношения различных народов могут значительно отличаться друг от друга. В целом на основе данных о системе трех маркеров (аутосомных локусов, мтДНК и Y-хромосомы) формируется целостная картина генетических взаимоотношений анализируемых народов. Различные системы маркеров значительно дополняют друг друга, особенно в тех случаях, когда вследствие стохастических процессов в популяциях та или иная система маркеров не может в достаточно полной мере ответить на поставленные вопросы.

Нами было использовано два генетических маркера (аутосомные локусы и Y-хромосомы), на основе их мы пытались изучить популяцию татар и сравнить с полученными данными с другими популяциями.

В результате мы выяснили, что по частотам *Alu*-инсерций популяции данного этноса по некоторым локусам приближена к азиатским или среднеазиатским популяциям (*Ya5NBC27*), по другим локусам европейский компонент преобладает (*TPA25*, *ACE*, *APOA1*, *Ya5NBC148* и *PV92*), другие локусы имеют промежуточное положение (*B65*). Благодаря полученным

частотам (*APOA1* и *ACE*) татары объединились в один кластер с популяцией Волго-Уральского региона.

Так же мы смотрели генетическое разнообразие по аутосомным локусам. У данной выборки генетическое разнообразие незначительное, по сравнению с азиатскими популяциями, где средняя ожидаемая гетерозиготность приближается к максимуму.

По Y-хромосоме было найдено разнообразие гаплогрупп в этносе (R1a, N1c, N(xN1c), O, E1b1, J2, C, F*), подсчитана их частота. На основе частот проводился филогенетический анализ. Анализ показал, что татары по частотам гаплогрупп очень схоже с чувашами и с коми. По частотам гаплогруппы N 3 (специфичной для финно-угорских народов) в этих популяциях даже превышают показатели отдельных популяций финно-угров

Учитывая две маркерные системы, можно судить, что популяция татар занимает особое место в ВУР. В силу своего географического расположения, популяция татар несет маркеры характерные и для Азии и для Европы.

В дальнейшем более полное генетическое исследование татарской этничной общности поможет разобраться не только в вопросах взаимосвязи татар с другими популяциями, но и внутри самой общности.

ВЫВОДЫ

1. *Alu*-инсерции в популяции татар встречаются с частотой от 0,301 до 0,938. Для данной популяции показано частоты некоторых инсерций, характерны в большей степени для Волго-Уральского региона. По данным изученных 10 *Alu* инсерций на формирование татарского этноса непосредственно влияли как европейские так и азиатские популяции.
2. 10 локусов оказались полиморфны в исследованной популяции казанских татар. Среднее значение ожидаемой гетерозиготности по 10 *Alu*-повторам составляет 0,3377.
3. Изучаемые популяции татар при использовании анализа методом главных компонент объединилась в общий кластер с популяциями Волго-Уральского региона, что объясняется близкими показателями распределения частот изученных 10 *Alu* инсерций в популяции татар и в популяциях ВУР.
4. Разнообразие Y-хромосомы в изучаемой популяции представлено 8 гаплогруппами (R1a, N1c, N(xN1c), O, E1b1, J2, C, F*), среди которых с наиболее высокой частотой встречаются гаплогруппы кластера N, F* и R, и на которые суммарно приходится 68,6% генетического разнообразия.
5. При филогенетическом анализе в одном кластере располагаются исследуемые татары и чуваша, поскольку и те, и другие, по большому счету, обнаруживают значительное сходство распределения частот гаплогрупп Y-хромосомы. Более того, частота гаплогруппы N1c (специфичной для финно-угорских народов) в этих популяциях даже превышает показатели отдельных популяций финно-угров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев В.П. География человеческих рас // - М.: Наука. - 1974. – С. 351.
2. Блинов В.М. Alu-элементы генома человека. Инвариантная вторичная структура левого и правого мономеров // В.М. Блинов, С.М. Ресенчук, Д.Л. Уваров и др. // Молекулярная биология. - 1998. – Т. 32. - № 1. – С. 84-92.
3. Блинов В.М. Структурная организация генома человека: распределение нуклеотидов, Alu-повторов и экзонов в хромосомах 21 и 22 // В.М. Блинов, С.И. Денисов, Д.В. Сараев и др. // Молекулярная биология. - 2001. – Т. № 35. - № 6. – С. 1032-1038.
4. Викторова Т.В., Бермишева М.А., Шагина И.В. и др. Полиморфизм сателлитных локусов DYS19 и DYS393 и частота Т→С транзиции локуса RBF5 Y-хромосомы у народов Волго-Уральского региона // Генетика. – 2000. – Т. 36. – № 8. – С. 936–948.
5. Деренко М. В. Молекулярная филогеография коренного населения Северной Азии по данным об изменчивости митохондриальной ДНК // 2009.
6. Исхаков Д.М. Этнография татарского народа // Р.С. Хакимов, Р.Н. Мусина - К.: Магариф, 2004. – С. 10-12.
7. Кузеев Р.Г. Народы Поволжья и Приуралья //- М.:Наука, 1985. - 308 с.
8. Рогинский, Я.Я. Антропология // Я.Я. Рогинский, М.Г. Левин. – М.: Наука 1978. – С. 528.
9. Салимова А.З. Изучение этнотерриториальных групп казахов по данным полиморфизма ДНК ядерного генома // И.А. Кутуев, Р.И. Хусаинова и др.// Генетика. 2005. Т. 41. № 7. – С. 1–7.
10. Степанов В.А. Анализ аллельных частот семи микросателлитных локусов Y-хромосомы в трех популяциях тувинцев // В.А. Степанов, В.П. Пузырев // Генетика. – 2000а. - Т. 36. - № 2. – С. 241-248.

11. Степанов В.А. Анализ полиморфизма Alu-инсерций в городской и сельской русской популяции Сибири // В.А. Степанов, В.П. Пузырев, М.Г. Спиридонова, И.Ю. Хитринская // Генетика. - 1999. – Т. 35. - № 8. – С. 1138-1143.
12. Степанов В.А. Микросателлитные гаплотипы Y-хромосомы демонстрируют отсутствие подразделенности и наличие нескольких компонентов в мужском генофонде тувинцев // В.А. Степанов, В.П. Пузырев // Генетика. - 2000б. - Т. 36. - № 3. – С. 377-384.
13. Степанов В.А. Этногеномика населения Северной Евразии // - Томск: Печатная мануфактура. - 2002. – С. 243.
14. Степанов В.А. Эволюция и филогеография линий Y-хромосомы человека // В.Н. Харьков, В.П. Пузырев // Вестник ВОГиС. – 2006. – Том. 10. – С. 57-73.
15. Хитринская И.Ю. Анализ полиморфизма Alu-инсерций в бурятских популяциях // И.Ю. Хитринская, В.А. Степанов, В.П. Пузырев // Генетика. – 2001. - Т. 37. - № 11. – С.1553-1558.
16. Хитринская И.Ю. Генетическая дифференциация населения Средней Азии по данным аутосомных маркеров // В.А. Степанов, В.П. Пузырев и др. // Генетика. – 2003а. – Т. 39. – № 10. – С. 1389–1397.
17. Хусаинова Р.И., Генетическая структура народов Волго-Уральского региона и Средней Азии по данным Alu полиморфизма // В.Л. Ахметова, И.А. Кутуев и др. // Генетика.- 2004.- № 4. – С. 443–450.
18. Хуснутдинова Э.К. Молекулярная этногенетика народов Волго-Уральского региона.// - Уфа: Гилем. - 1999. – С. 237.
19. Хуснутдинова Э.К. Оценка относительного вклада европеоидного и монголоидного компонентов в формирование народов Волго-Уральского региона по данным полиморфизма ДНК // Т.В. Викторова, Р.И. Фатхлисламова, А.Р. Галеева // Генетика. - 1999. - Т.35. - №8. – С. 973-978.

20. Хуснутдинова Э.К. Этногеномика и филогенетические взаимоотношения народов Евразии // И.А. Кутуев, Р.И. Хусаинова, Б.Б. Юнусбаев, Р.М. Юсупов, Р. Виллемс // Вестник ВОГиС. - 2006. - Т.10.- №1.- С. 24-40.
21. Юнусбаев Б.Б. Популяционно-генетическое исследование народов Дагестана по данным о полиморфизме Y-ХРОМОСОМЫ и ALU-ИНСЕРЦИЙ // 2006.
22. Bailey A.D. Sequential insertion of Alu family repeats into specific genomic sites of higher primates / A.D. Bailey, C.K. Shen // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1993. - V. 90. - N 15. – P. 7205–7209.
23. Batzer M.A Standardized nomenclature for Alu repeats / M.A Batzer, P.L. Deininger, U. Hellmann-Blumberg et al. // J. Mol. Evol. - 1996. – V. 42. – P. 3–6.
24. Batzer M.A. Alu repeats and human genomic diversity / M.A. Batzer, P.L. Deininger // Nature Reviews Genetics. - 2002. – V. 3. – P. 370-379.
25. Batzer M.A. Amplification dynamics of human-specific [HS] Alu family members / M.A. Batzer, V.A. Gudi, J.C. Mena et al. // Nucleic Acids Res. - 1991. – V. 19. – N 13. – P. 3619–3623.
26. Batzer M.A. Structure and variability of recently inserted Alu family members / M.A. Batzer, G.E. Kilroy, P.E. Richard et al. // Nucleic Acids Res. - 1990. – V. 18. – N 23. – P. 6793–6798.
27. Batzer M.A. African origin of human-specific polymorphic Alu insertion / M.A. Batzer, M. Stoneking, H. Alegria-Hartman et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1994. - V. 91. - P. 12288 -12292.
28. Casanova M. A human Y-linked DNA polymorphism and its potential for estimating genetic and evolutionary distance / P. Leroy, C. Boucekkine, J. Weissenbach, C. Bishop, M. Fellous, M. Purrello, G. Fiori, M.Siniscalco // Science. - 1985. - V. 230. - P. 1403-1406.

29. Chambers G.K. Microsatellites: consensus and controversy / E.S. McAvoy // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* - 2000. - V.126. - P. 455-476.
30. Charlesworth B. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes / P. Sniegowski, W. Stephan // *Nature*. - 1994. - V.371. - P.215-220.
31. Cinnioglu C. Excavating Y-chromosome haplotype strata in Anatolia / R. King, T. Kivisild, E. Kalfoglu, S. Atasoy, G.L. Cavalleri, A.S. Lillie, C.C. Roseman, A.A. Lin, K. Prince, P.J. Oefner, P. Shen, O. Semino, L.L. Cavalli-Sforza, P.A. Underhill // *Hum. Genet.* - 2004. - V.114. - P.127–148.
32. de Knijff P. Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects / M. Kayser, A. Caglia, D. Corach, N. Fretwell, C. Gehrig, G. Graziosi, F. Heidorn, S. Herrmann, B. Herzog, M. Hidding, K. Honda, M. Jobling, M. Krawczak, K. Leim, S. Meuser, E. Meyer, W.Oesterreich, A. Pandya, W. Parson, G. Penacino, A. Perez-Lezaun, A. Piccinini, M. Prinz, L. Roewer// *Int. J. Legal Med.* - 1997. - V.110. - P. 134-149.
33. Deininger P.L. Master genes in mammalian repetitive DNA amplification / P.L. Deininger, M.A. Batzer, C.A. Hutchison, M.H. Edgell // *Trends in Genetics*. -1992. – V. 8. - P. 307-312.
34. Derenko M. Contrasting patterns of Y-chromosome variation in South Siberian populations from Baikal and Altai-Sayan regions / B. Malyarchuk, G.A. Denisova, M. Wozniak, I. Dambueva, C. Dorzhu, F. Luzina, D. Miscicka-Sliwka, I. Zakharov // *Hum. Genet.* - 2006. - V.118. - P.591-604.
35. Freije D. Identification of a second pseudoautosomal region near the Xq and Yq telomers / C. Helms, M.S. Watson, H. Donis-Keller // *Science*. - 1992. - V.258. - P.1784-1787.
36. Hammer M.F. The human Y chromosome haplogroup tree: nomenclature and phylogeography of its major divisions / S.L. Zegura // *Ann. Rev. Anthropol.* - 2002. - V.31. - P.303-321.

37. Hurles M.E. A singular chromosome / M.A. Jobling // *Nat. Genet.* - 2003. - V.34. - P.246-247.
38. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome // *Nature.* – 2001. – V. 409. – P. 860-921.
39. Jegalian K. A proposed path by which genes common to mammalian X and Y chromosomes evolve to become X inactivated / D.C. Page // *Nature.* - 1998. - V.394. - P.776-780.
40. Jobling M.A. New uses for new haplotypes: the human Y chromosome, disease and selection / C. Tyler-Smith // *Trends genet.* - 2000.- V.16. - P.356-362.
41. Jobling M.A. The human Y chromosome: an evolutionary marker comes from age / C. Tyler-Smith // *Nat. Rev. Genet.* - 2003. - V.4. - P.598-612.
42. Jobling M.A. The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing / A. Pandya, C. Tyler-Smith // *Int. J. Legal Med.* - 1997. - V.110. - P.118-124.
43. Jurka J. Free left arms as precursor molecules in the evolution of Alu sequences / J. Jurka, E. Zuckerkandl // *J. Mol. Evol.* – 1991. – V. 33. – N 1. – P. 49–56.
44. Jurka J. Reconstruction and analysis of human Alu genes / J. Jurka, A. Milosavljevic // *J. Mol. Evol.* – 1991. – V. 32. – N 2. – P. 105–121.
45. Kapitonov V. The age of Alu subfamilies / V. Kapitonov, J. Jurka // *J. Mol. Evol.* – 1996. – V. 42. – P. 59–65.
46. Karafet T.M. High levels of Y-chromosome differentiation among native Siberian populations and the genetic signature of a boreal hunter-gatherer way of life / L.P. Osipova, M.A. Gubina, O.L. Posukh, S.L. Zegura, M.F. Hammer // *Hum. Biol.* - 2002. - V.74. - P.761-789.
47. Kivisild T. The genetics of language and farming spread in India. In: Bellwood P., Renfrew C. [eds]. *Examining the farming/language dispersal hypothesis* / S. Rootsi, M. Metspalu, E. Metspalu, J. Parik, K. Kaldma, E. Usanga, S.S. Papiha, S. Cinnioglu, R. King, L. Cavalli-Sforza, P.A.

- Underhill, R. Villems //The McDonald Institute for Archaeological research, Cambridge. - 2003a. - P.215-222.
48. Klein R.G. Whither the Neanderthals? // Science. - 2003. - V.299. - P.1525-1527.
 49. Knight A. DNA sequences of Alu elements indicate a recent replacement of the human autosomal genetic complement / A. Knight, M.A. Batzer, M. Stoneking et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1996. – V. 93. – P. 4360–4364.
 50. Lahn B.T. Four evolutionary strata on the human X chromosome / D.C. Page // Science. - 1999. - V.286. - P.964-967.
 51. Mnukova-Fajdelova M. Alu elements of the primate major histocompatibility complex / M. Mnukova-Fajdelova, Y. Satta, C. O'hUigin et al. // Mamm. Genome. – 1994. – V. 5. – N 7. – P. 405–415.
 52. Nachman M.W. Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans / S.L. Crowell // Genetics. - 2000. - V.156. - P.297-304.
 53. Nakamura Y. Variable number of tandem repeat [VNTR] markers for human gene mapping / M. Leppert, P. O'Connell, R. Wolff, T. Holm, M. Culver, C. Martin, et al. // Science. - 1987. - V.235. - P.1616-1622.
 54. Nebel A. The Y chromosome pool of Jews as part of the genetic landscape of the Middle East / D. Filon, B. Brinkmann, P.P. Majumder, M. Faerman, A. Oppenheim // Am. J. Hum. Genet. - 2001. - V.69. - P.1095-1112.
 55. Ngo K.Y. A DNA probe detecting multiple haplotypes of the human Y chromosome / G. Vergnaud, C. Johnsson, G. Lucotte, J. Weissenbach // Am. J. Hum. Genet. - 1986. - V.38. - P.407-418.
 56. Novick G.E. The mobile genetic element Alu in the human genome / G.E. Novick, M.A. Batzer, P.L. Deininger, R.J. Herrera // Bioscience. – 1996. – V. 46. – P. 32–41.
 57. Quentin Y. Origin of the Alu family: a family of Alu-like monomers gave birth to the left and the right arms of the Alu elements // Nucleic Acids Res. – 1992. – V. 20. – N 13. – P. 3397–3401.

58. Richards M. In search of geographical patterns in European mitochondrial DNA / V. Macaulay, A. Torroni, H.-J. Bandelt // *Am. J. Hum. Genet.* - 2002. - V.71. - P.1168-1174.
59. Rootsi S. Human Y-chromosomal variation in European populations // PhD thesis. 2004. Tartu, Tartu University Press.
60. Rosser Z.H. Y-chromosomal diversity in Europe is clinal and influenced primarily by geography, rather than by language / T. Zerjal, M.E. Hurles, M. Adojaan, D. Alavantic, A. Amorim, W. Amos, et al. // *Am. J. Hum. Genet.* - 2000. - V.67. - P.1526-1543.
61. Roy-Engel A.M. Alu insertion polymorphisms for the study of human genomic diversity / A.M. Roy-Engel, M.L. Carroll, E. Vogel et al. // *Genetics.* – 2001. – V. 159. – P. 279–290.
62. Roy-Engel A.M. Non-traditional Alu evolution and primate genomic diversity // *J. Mol. Biol.* - 2002. – V. 316. – P. 1033–1040.
63. Rozen S. Abundant gene conversion between arms of palindromes in human and ape Y chromosome / H. Skaletsky, J.D. Marszalek, P.J. Minx, H.S. Cordum, R.H. Waterson, R.K. Wilson et al. // *Nature.* - 2003. - V.423. - P.873-876.
64. 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 / C. Magri, G. Benuzzi, A.A. Lin, N. Al-Zahery, V. Battaglia, L. Maccioni, C. Triantaphyllidis, P. Shen, P.J. Oefner, L.A. Zhivotovsky, R. King, A. Torroni, L.L. Cavalli-Sforza, P.A. Underhill, A.S. Santachiara-Benerecetti // *Am. J. Hum. Genet.* - 2004. - V.74. - P.1023-1034.
65. Semino O. The genetic legacy of Paleolithic Homo sapiens in extant Europeans: a Y chromosome perspective / G. Passarino, P.J. Oefner, A.A. Lin, S. Arbuzova, L.E. Beckman, G. De Benedictis et al. // *Science.* - 2000a. - V.290. - P.1155-1159.

66. Semino O. Ethiopians and Khoisan share the deepest clades of the human Y-chromosome phylogeny / A. Santachiara-Benerecetti, F. Falaschi, L. Cavalli-Sforza, P. Underhill // *Am. J. Hum. Genet.* - 2002. - V.70. - P.265-268.
67. Shaikh T.H. The role and amplification of the HS Alu subfamily founder gene / T.H. Shaikh, P.L. Deininger // *J. Mol. Evol.* – 1996. – V. 42. – N 1. – P. 15–21.
68. Skaletsky H. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequences classes / Kuroda-Kawaguchi, P.J. Minx, H.S. Cordum, L. Hillier, L.G. Brown, S. Repping et al. // *Nature.* - 2003. - V.423. - P.825-837.
69. Smit A.F. The origin of interspersed repeats in the human genome // *Current Opin. Genet. Devel.* – 1996. – V. 6. – P. 743–748.
70. Stoneking M. Alu insertion polymorphisms and human evolution: Evidence for a larger population size in Africa / M. Stoneking, J.J. Fontius, S.L. Clifford et al. // *Genome Res.* – 1997. – V. 7. – P. 1061–1071.
71. Stoneking M. New approaches to dating suggest a recent age for the human mtDNA ancestor / S.T. Sherry, A.J. Redd, L. Vigilant // *Phil. Trans. Royal Soc.* - 1992. - V.337. - P.167-175.
72. Su B. Y chromosome haplotypes reveal prehistorical migrations to the Himalayas / C. Xiao, R. Deka, M.T. Seielstad, D. Kangwanpong, J. Xiao, D. Lu et al. // *Hum. Genet.* - 2000. - V.107. - P.582-590.
73. Su B. Y-chromosomal evidence for a northward migration of modern humans into Eastern Asia during the Last Ice Age / J. Xiao, P. Underhill, R. Deka, W. Zhang, J. Akey, W. Huang, D. Shen, D. Lu, J. Luo, J. Chu, J. Tan, P. Shen, R. Davis, L. Cavalli-Sforza, R. Chakraborty, M. Xiong, R. Du, P. Oefner, Z. Chen, L. Jin // *Am. J. Hum. Genet.* - 1999. - V.65. - P.1718-1724.
74. Tajima A. Genetic origins of the Ainu inferred from combined DNA analyses of maternal and paternal lineages / M. Hayami, K. Tokunaga, T.

- Juji, M. Matsuo, S. Marzuki, K. Omoto, S. Horai // J. Hum. Genet. - 2004. - V.49. - P.187-193.
75. Tilford C.A. A physical map of the human Y chromosome / T. Kuroda-Kawaguchi, H. Skaletsky, S. Rozen, L.G. Brown, M. Rosenberg, J.D. McPherson et al. // Nature. - 2001. - V.409. - P.943-945.
 76. Toda Y. Alu elements as an aid in deciphering genome rearrangements / Y. Toda, M. Tomita // Gene. – 1997. – V. 205. – P. 173–176.
 77. Ullu E. Alu sequences are processed 7SL RNA genes / E. Ullu, C. Tschudi // Nature. – 1984. – V. 312. – P. 171–172.
 78. Underhill P.A. Inferring human history: clues from Y-chromosome haplotypes // Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. V.LXVIII. 2003. Cold Spring Harbor Laboratory Press. P.487-493.
 79. Underhill P.A. Maori origins, Y-chromosome haplotypes and implications for human history in the Pacific / G. Passarino, A.A. Lin, S. Marzuki, P.J. Oefner, L.L. Cavalli-Sforza, G.K. Chambers // Hum. Mutat. - 2001b. - V.17. - P.271-280.
 80. Underhill P.A. The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origin of modern human populations / G. Passarino, A.A. Lin, P. Shen, M. Mirazon Lahr, R. Foley, P.J. Oefner, L.L. Cavalli-Cforza // Ann. Hum. Genet. - 2001a. - V.65. - P.43-62.
 81. Underhill P.A. Y chromosome sequence variation and the history of human populations / P. Shen, A.A. Lin, L. Jin, G. Passarino, W.H. Yang, E. Kauffman, B. Bonne-Tamir, J. Bertranpetit, P. Francalacci, M. Ibrahim, T. Jenkins, J.R. Kidd, S.Q. Mehdi, M.T. Seielstad, R.S. Wells, A. Piazza, R.W. Davis, M.W. Feldman, L.L. Cavalli-Sforza, P.J. Oefner // Nat. Genet. - 2000. - V.26. - P.258-361.
 82. Waring M. Nucleotide sequence repetition: a rapidly reassociating fraction of mouse DNA / M. Waring, R.J. Britten // Science. – 1996. – V. 154. – N 750. – P. 791–794.

83. Watkins W.S. Patterns of ancestral human diversity: an analysis of *Alu*-insertion and restriction-site polymorphism / C.E. Ricker, M.J. Bamshad *et al.* // *Am. J. Hum. Genet.* - 2001. - V. 68. - P. 738–752.
84. Watkins W.S. Genetic Variation Among World Populations: Inferences From 100 *Alu* Insertion Polymorphisms / A.R. Rogers, Ch.T. Ostler *et al.* // Cold Spring Harbor Laboratory Press. - 2003. - V. 13. - P. 1607–1618
85. Wells R.S. The Eurasian heartland: a continental perspective on Y-chromosome diversity / N. Yuldasheva, R. Ruzibakiev, P.A. Underhill, I. Evseeva, J. Blue-Smith, L. Jin, B. Su, R. Pitchappan, S. Shanmugalakshmi *et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2001. - V. 98. - P.10244-10249.
86. Wen B. Analyses of genetic structure of Tibeto-Burman populations reveals sex-biased admixture in southern Tibeto-Burmans / X. Xie, S. Gao, H. Li, H. Shi, X. Song, T. Quan, C. Xiao, J. Jin, B. Su, D. Lu, R. Chakraborty, L. Jin // *Am. J. Hum. Genet.* - 2004. - V.74. - P.856-865.
87. Y chromosome Consortium [2002] A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. *Genom Res* 12:339-348.
88. Zerjal T. Genetic relationships of Asians and Northern Europeans, revealed by Y-chromosomal DNA analysis / B. Dashnyam, A. Pandya, M. Kayser, L. Roewer, F.R. Santos, W. Schiefenhovel, N. Fretwell, M.A. Jobling, S. Harihara, K. Shimizu, D. Semjiddmaa, A. Sajantila, P. Salo, M.H. Crawford, E.K. Ginter, O.V. Evgrafov, C. Tyler-Smith // *Am. J. Hum. Genet.* - 1997. - V.60. - P.1174-1183.
89. Zerjal T. Geographical, linguistic and cultural influences on genetic diversity: Y-chromosomal distribution in Northern European populations / L. Beckman, G. Beckman, A.V. Mikelsaar, A. Krumina, V. Kucinskas, M.E. Hurles *et al.* // *Mol. Biol.* - 2001. - V.18. - P.1077-1087.
90. Zerjal T. A genetic landscape reshaped by recent events: Y-chromosomal insights into Central Asia / R. Wells, N. Yuldasheva, R. Ruzibakiev, C. Tyler-Smith // *Am. J. Hum. Genet.* - 2002. - V.71. - P.466-482.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1.

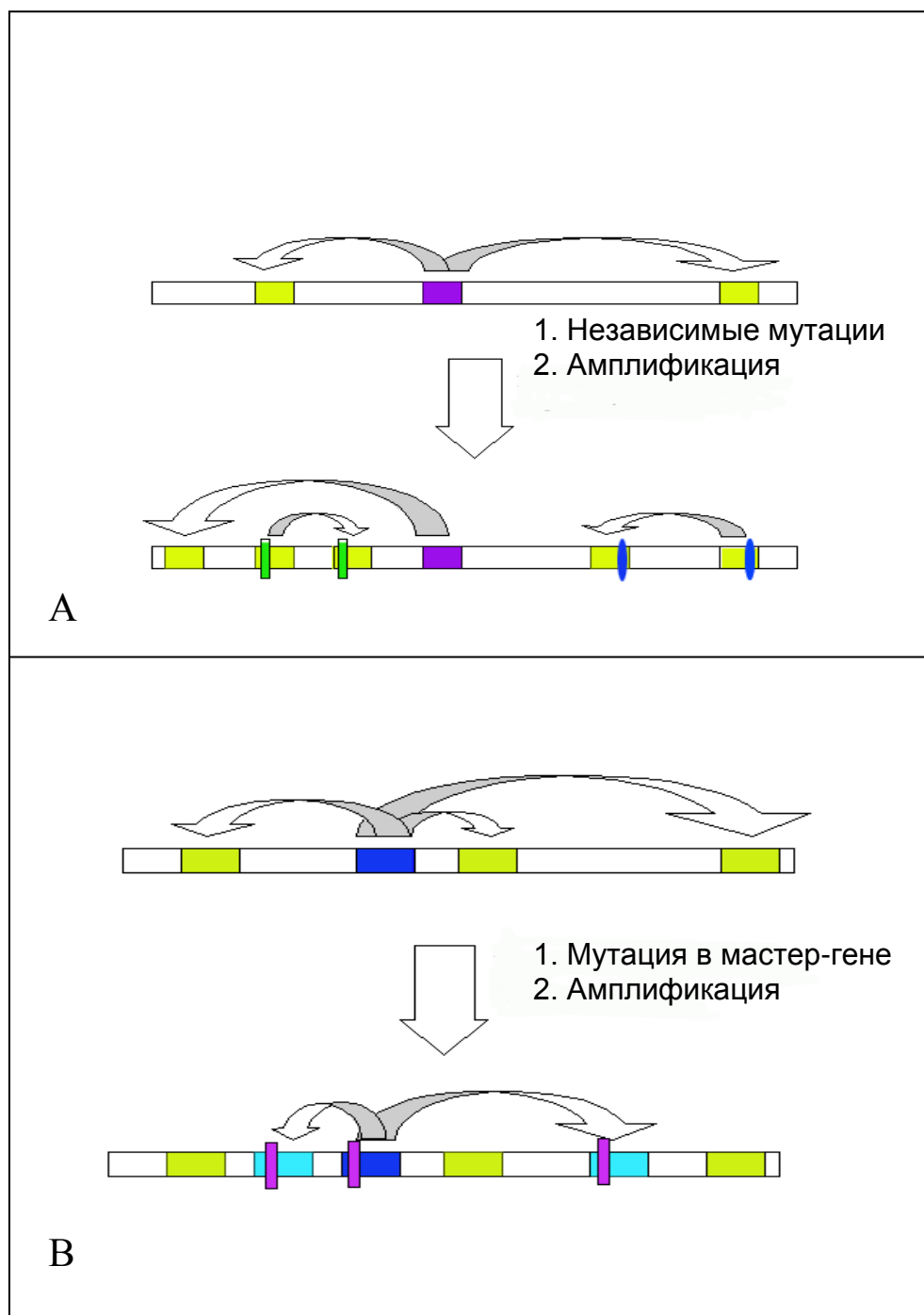


Рисунок 3 - Модели происхождения Alu-семейств. А-транспозонная модель, В-модель мастер-гена. Круглыми стрелками показана ретропозиция Alu-повтора в новые участки генома. Синим цветом обозначен исходный Alu-повтор, желтым – копии Alu-повтора, вертикальными прямоугольниками и овалами – мутации возникающие в Alu-повторе.

Приложение 2

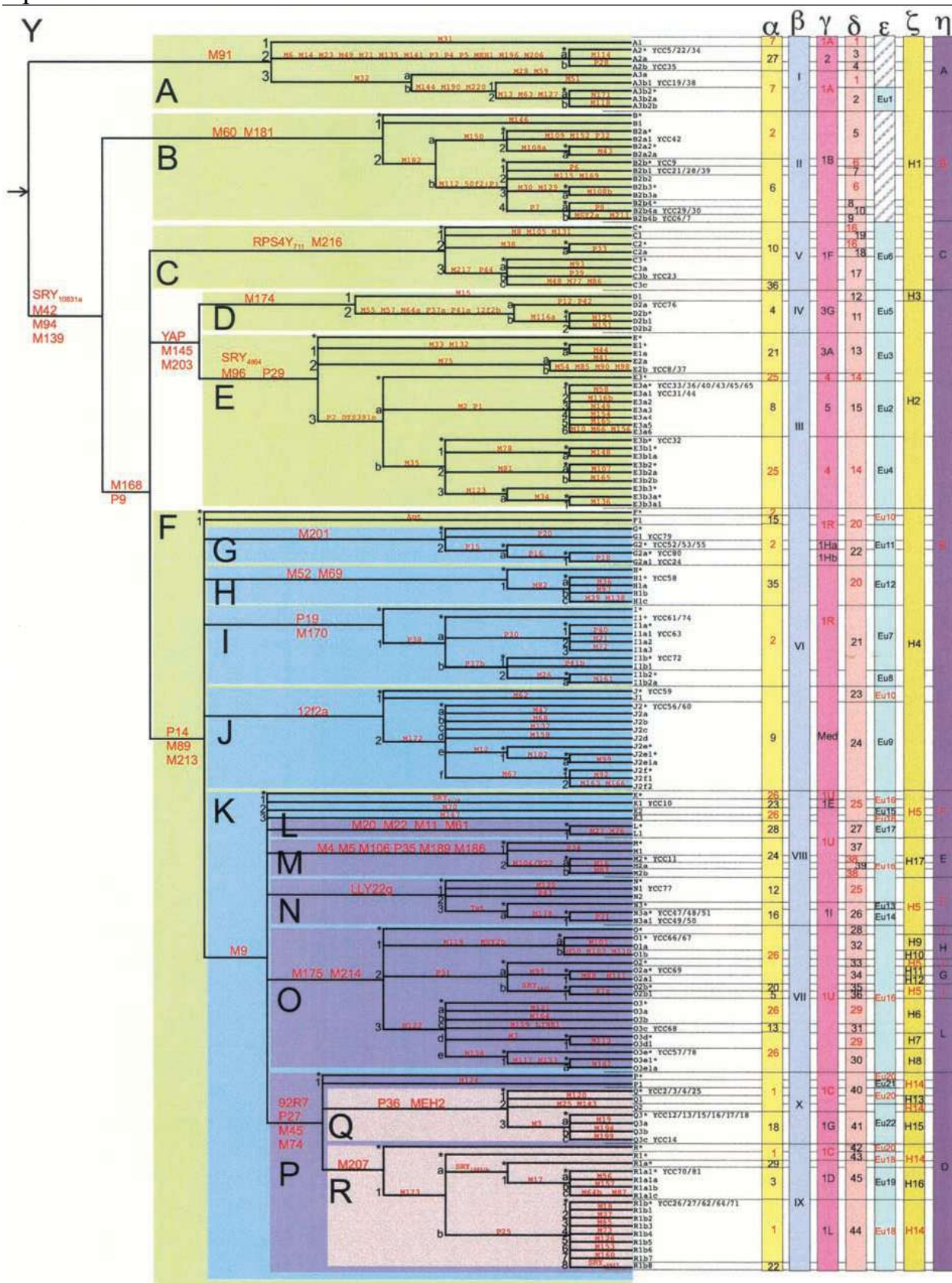


Рисунок 5 - Филогенетическое древо гаплогрупп Y-хромосомы [по YCC 2002].