

УДК 575:599.9

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ *HUMCYAR04* И *D19S253* В ПОПУЛЯЦИОННЫХ ВЫБОРКАХ ДВУХ ГОРОДОВ РОССИИ

© 1997 г. Д. А. Чистяков¹, М. В. Челнокоев¹, И. А. Ефремов¹,
М. В. Ступакова¹, О. И. Одинокова², В. В. Носиков¹

¹ Государственный научно-исследовательский институт генетики
и селекции промышленных микроорганизмов, Москва 113545

² Научно-исследовательский институт медицинской генетики
Томского научного центра Российской академии медицинских наук, Томск 634050

Поступила в редакцию 23.05.96 г.

С использованием полимеразной цепной реакции проведен анализ аллельного полиморфизма двух микросателлитных локусов *HUMCYAR04* и *D19S253* в выборках из популяций городов Москва и Томск. Обнаружено семь аллелей в локусе *HUMCYAR04* размером от 181 до 205 пн и девять аллелей длиной от 208 до 240 пн в локусе *D19S253*. Показано отсутствие статистически достоверных различий в частотном распределении аллелей в обеих исследованных популяционных выборках для данных локусов. Распределение наблюдаемых частот встречаемости генотипов подчинялось равновесию Харди–Вайнберга; на примере анализа двух больших семей показано менделевское наследование аллелей данных tandemных повторов. Определены параметры информационного содержания полиморфизма исследованных локусов, проведен сравнительный анализ аллельных частот с аналогичными данными по ряду популяций. Предложено использование данных коротких tandemных повторов для идентификации личности и определения спорного отцовства.

В последнее время короткие tandemно повторяющиеся последовательности (STR – short tandem repeats), или микросателлиты, находят все более широкое применение в различных областях генетики и медицины. Они используются в качестве генетических маркеров при картировании генома и изучении многих наследственных заболеваний [1, 2]. Микросателлиты с высокими уровнями аллельного полиморфизма и информативности используются в судебной медицине и в идентификационных исследованиях. По сравнению с минисателлитными повторами STR имеют меньшие размеры (в среднем от 100 до 350 пн) и, следовательно, обладают существенным преимуществом при анализе деградированной ДНК и микроколичеств ДНК человека [3].

В США и Великобритании созданы и рекомендованы к использованию в судебной медицине панели, включающие соответственно 13 и 6 высокополиморфных и несцепленных между собой микросателлитов [4–6]. Эти панели обладают высокой разрешающей способностью и их использование позволяет достичь очень низких значений вероятности случайного совпадения индивидов (порядка 10^{-8} – 10^{-10}) при идентификации личности.

Ранее нами была разработана панель из шести полиморфных минисателлитных локусов для использования в геномной дактилоскопии [7, 8].

В настоящее время дополнительно к существующей тест-системе мы проводим создание аналогичной панели из 6–7 микросателлитных локусов [9]. Использование двух панелей в совокупности позволило бы резко повысить разрешающую способность идентификационных исследований и расширить возможности анализа деградированных препаратов и микроколичеств ДНК человека.

Локусы *HUMCYAR04* и *D19S253* входят в состав вышеупомянутых зарубежных микросателлитных панелей [4, 5]. Микросателлит *CYP19* локуса *HUMCYAR04* расположен в гене ароматазы цитохрома P450 на хромосоме 15q21.1 [6]. Обнаружено 8 аллелей размером от 181 до 209 пн, включающих от 5 до 12 повторов AAAT [4]. У негров США и мексиканцев обнаружен редкий аллель, промежуточный по размеру в отношении аллелей с шестью и семью повторами; этот аллель отсутствовал у европеоидов и монголоидов [4].

Полиморфный локус *D19S253* имеет структуру (CA)_n и содержит до 10 аллелей длиной от 204 до 240 пн, включающих от 3 до 21 повтора [5]. Следует отметить, что повторяющееся звено этих аллелей имеет размер 4 пн и состоит из двух динуклеотидных мотивов. Среди европеоидов было найдено 8 аллелей данного локуса размером 212–240 пн (личное сообщение D.C. Weber).

В настоящей работе мы проводим исследование популяционных выборок двух городов России

для того, чтобы определить частоты встречаемости аллелей локусов *HUMCYAR04* и *D19S253* и сравнить их с аналогичными данными по другим популяционным группам, а также оценить параметры пригодности данных локусов для идентификационных исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ДНК-полимераза Taq^R была получена от НПК “Биотех” (Москва). Олигонуклеотидные праймеры синтезированы В.П. Вейко (ГНЦ “ГосНИИ генетика”, Москва).

Выделение геномной ДНК из венозной крови человека осуществляли по стандартной методике [10]. Из слюны и пятен крови ДНК выделяли с использованием хелатного полимера Chelex^R-100 (“Bio-Rad”, США) [11].

Выборка из неродственных представителей популяции г. Москвы была сформирована из образцов, полученных в травматологических пунктах, Институте ревматологии, бюро судебно-медицинской экспертизы, а также взятых у сотрудников ГНЦ “ГосНИИ генетика”. Выборка из неродственных представителей популяции г. Томска была сформирована из образцов, полученных от здоровых доноров.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на амплификаторе РНС-2 (“Technie”, Великобритания) или PolyChainII (“Polygen”, Германия) в 50 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 мМ трис-НСl, рН 8.8; 16.6 мМ сульфата аммония; 0.01%-ный Tween 20; 1.0 и 2.0 мМ хлорида магния в случае *D19S253* и *HUMCYAR04* соответственно; 0.2 мМ каждого dNTP; 2.5 ед. полимеразы Taq^R; 50–100 нг геномной ДНК или 20 мкл экстракта ДНК, выделенной с использованием Chelex^R-100. Для амплификации аллелей *HUMCYAR04* и *D19S253* использовали по 66 нг каждого из олигонуклеотидных праймеров, последовательность которых приведена в работах [4, 5] соответственно. 30–35 циклов ПЦР проводили по следующей программе: 94°С/1 мин, 55°С (*D19S253*) или 65°С (*HUMCYAR04*)/1 мин, 72°С/1 мин, в том числе первая денатурация 4 мин, последний синтез цепи – 10 мин.

Для точной идентификации аллелей в образцах ДНК синтезировали аллельные “лестницы” для обоих локусов: в реакционную смесь объемом 100 мкл, содержащую 10 пМ каждого из праймеров, вносили 1 мкл эквимольной смеси полного спектра аллелей после ее разведения в 10⁴ раз.

Продукты амплификации анализировали с помощью электрофореза в 12%-ном ПААГ (длина геля 16 см, толщина 0.7 мм, дополнительно содержал 7%-ный глицерин), нанося в лунки геля

10 мкл реакционной смеси. По окончании электрофореза гель окрашивали серебром [12].

Наблюдаемые частоты встречаемости генотипов исследованных локусов проверяли на отклонение от равновесия Харди–Вайнберга по критериям χ^2 и G-статистики с помощью компьютерной программы R x C (Rows x Columns) на основе алгоритма, описанного ранее [13]. Данный алгоритм позволяет оценить статистическую значимость отклонений от ожидаемого частотного распределения в случае, когда количество наблюдений по значительному числу классов меньше пяти и применение стандартного критерия χ^2 неправомерно. Программу R x C также использовали для сравнения распределения аллельных частот исследованных локусов в различных популяционных выборках.

Ожидаемую гетерозиготность (H_{exp}) и следующие параметры информативности полиморфизма исследованных микросателлитов: вероятность случайного совпадения генотипов двух неродственных индивидов (probability of random match, *pM*), среднюю вероятность исключения исследуемого образца по заданному генотипу (mean exclusion chance, *W*), информационное содержание полиморфизма (polymorphism information content, *PIC*) – рассчитывали с помощью компьютерной программы на основе известных алгоритмов, приведенных нами ранее [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мы протипировали по локусу *D19S253* 107 и 75 неродственных представителей городских популяций Москвы и Томска соответственно и обнаружили 9 аллелей размером от 208 до 240 пн (рис. 1 и 2). Аллели данного локуса классифицировали, исходя из числа содержащихся в них ди-

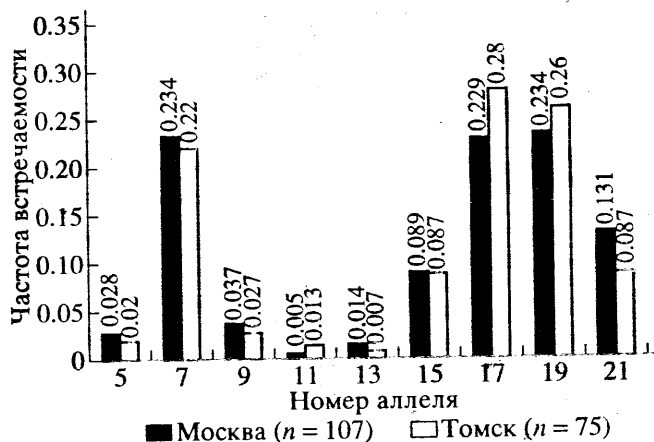


Рис. 1. Частоты встречаемости аллелей локуса *D19S253* в городских популяциях Москвы и Томска. Нумерация аллелей отражает число содержащихся в них тандемных повторов, *n* – число человек в исследованной выборке (для рис. 1 и 3).

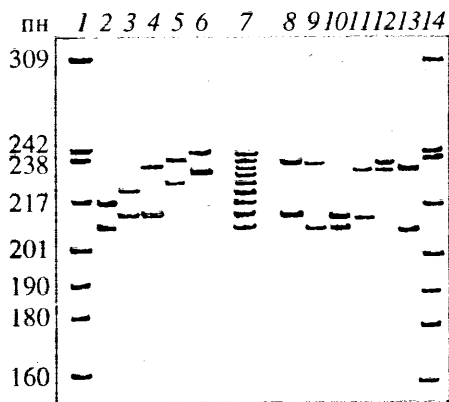


Рис. 2. Разделение в 12%-ном ПААГ амплифицированных аллелей локуса *D19S253*. 1 и 14 – фрагменты плазмидной ДНК pBR322, расщепленной рестриктазой *MspI*; 2–6 – генотипирование пяти неродственных человек: 2 – 5-9, 2 – 7-11, 4 – 7-17, 5 – 13-19, 6 – 15-21; 7 – аллельная “лестница”; 8-13 – семейный анализ, выявляющий следующие генотипы: 8 – 7-19 (отец), 9 – 5-19 (ребенок 1), 10 – 5-7 (ребенок 2), 11 – 7-17 (ребенок 3), 12 – 17-19 (ребенок 4), 13 – 5-17 (мать).

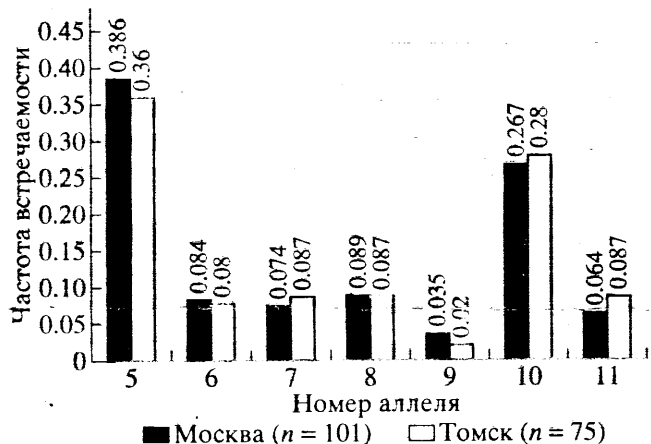


Рис. 3. Частоты встречаемости аллелей локуса *HUMCYAR04* в городских популяциях Москвы и Томска.

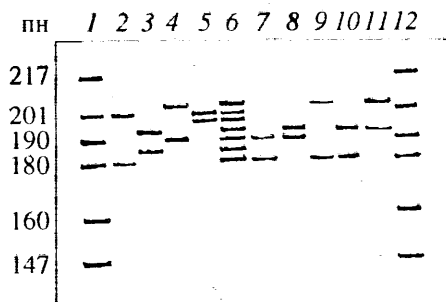


Рис. 4. Разделение в 12%-ном ПААГ амплифицированных аллелей локуса *HUMCYAR04*. 1 и 12 – фрагменты плазмидной ДНК pBR322, расщепленной рестриктазой *MspI*; 2–5 – генотипирование четырех неродственных человек: 2 – 5-10, 3 – 6-8, 4 – 7-11, 5 – 9-10, 6 – аллельная “лестница”; 7–11 – семейный анализ, выявляющий следующие генотипы: 7 – 5-7 (отец), 8 – 7-8 (ребенок 1), 9 – 5-11 (ребенок 2), 10 – 5-8 (ребенок 3), 11 – 8-11 (мать).

нуклеотидных повторов. Самый низкомолекулярный аллель длиной 204 пн включает 3 повтора и его соответственно обозначили порядковым номером 3. Следующий аллель размером 208 пн содержал 5 повторов и получил порядковый номер 5, и т. д. Аллель 3 не был найден в обеих исследованных русских популяциях, но были обнаружены все остальные аллели. Из них наиболее распространенными оказались аллели 7, 17 и 19 (рис. 1). Из 45 возможных генотипов выявили 25 (Москва) и 20 (Томск). Среди москвичей наиболее часто встречался генотип 7-19 (в 14% случаев), в томской выборке самым распространенным был генотип 7-17 (20%) (табл. 1).

По локусу *HUMCYAR04* была исследована ДНК 101 представителя московской популяции и 75 томичей. Было выявлено 7 аллелей длиной от 181 до 205 пн (рис. 3 и 4). Для данного микросателлита аллели нумеровали, исходя из числа входящих в их состав повторяющихся единиц. Аллель размером 181 пн содержал 5 тетра-нуклеотидных повторов и соответственно получил порядковый номер 5, и т. д. Аллели 5 и 10 обладали наибольшими частотами встречаемости (рис. 3). Аллель 12, выявленный в ряде зарубежных популяций, в русских выборках мы не обнаружили [4, 6].

Из 28 возможных генотипов микросателлита *CYP19* в московской выборке присутствовал 21. В популяции Томска было обнаружено 22 генотипа. Наиболее часто в обеих исследованных выборках встречались гетерозиготы 5-10 (в 21% случаев для Москвы и 20% для Томска) (табл. 2).

Было показано, что экспериментальное распределение частот встречаемости генотипов исследованных локусов в обеих популяционных выборках не обнаруживает статистически достоверного отклонения от равновесия Харди-Вайнберга (табл. 3). Это свидетельствует о несмещенности характера распределения аллелей в томской выборке, которую нельзя охарактеризовать как случайную. Подчинение наблюдаемого распределения частот генотипов для обоих локусов равновесию Харди-Вайнберга (значения вероятности 0.934–1.000; табл. 3) свидетельствует об отсутствии внутренней гетерогенности в исследованных городских популяциях.

Наблюдаемое распределение частот встречаемости аллелей и генотипов локуса *D19S253* в популяциях Москвы и Томска носило весьма сходный характер (табл. 4). Также было проведено сравнение распределения частот встречаемости аллелей этого микросателлита с имеющимися данными по европеоидам США. Среди 100 исследованных американцев европейского происхождения, как и среди русских, преобладали аллели 7, 17 и 19 (частоты встречаемости 0.29, 0.26 и 0.24 соответственно), однако отсутствовал аллель 5.

Подобная картина в распределении аллелей *D19S253* наблюдалась у индейцев и жителей Карибского бассейна – выходцев из Африки [5]. При этом среди негров островов Карибского моря были обнаружены редкие аллели 3 и 5 [5].

Исходя из данных, представленных в табл. 4, различия в распределении частот встречаемости аллелей *D19S253* между московской, с одной стороны, и томской и североамериканской (европеоиды) популяционными выборками, с другой, не являются статистически значимыми. В то же время численные значения вероятностей для χ^2 и G-статистики указывают на более выраженные различия в частотном аллельном распределении между русскими и американцами, чем между русскими популяционными выборками.

Мы сравнили частотные распределения аллелей микросателлита *CYP19* в русских выборках с аналогичными данными по разным расам (рис. 5). В более ранних популяционных исследованиях Полимеропулос с соавт. [6] с использованием иных, чем у нас праймеров, провели анализ ограниченной выборки (23 человека) европеоидов США и показали наличие 5 аллелей локуса *HUMCYAR04*. В этой выборке доминировали аллели, содержащие 5, 6 и 10 повторов (частоты встречаемости 0.28, 0.24 и 0.37 соответственно) [6]. Позднее на большем объеме выборки (190 человек) Хэммонду с соавт. [4] удалось выявить у североамериканских европеоидов еще 3 аллеля. Как и в русских популяциях, для американцев европейского происхождения было показано заметное преобладание аллелей 5 и 10, но при этом наблюдалось более ярко выраженное доминирование аллеля 10 (частоты встречаемости 0.342 и 0.353 соответственно); кроме того, у американцев был найден аллель с 12 повторами, не обнаруженный у русских. У монголоидов преобладали те же аллели, что и среди европейцев, однако преобладание аллеля 10 было еще более сильным (0.403) и отсутствовал аллель 8. Негры США и мексиканцы характеризовались как наличием аллеля, промежуточного по длине между аллелями 6 и 7 и отсутствовавшего в других расовых группах, так и наибольшим распространением аллелей 5, 6 и 10. Также у них отсутствовал аллель 12, но при этом у негров США преобладал аллель 6, тогда как среди латиноамериканцев Мексики – аллель 5 [4].

Из результатов, представленных на рис. 5, следует, что обнаруживаются статистически достоверные различия в распределении аллелей локуса *HUMCYAR04* между русскими и другими популяциями. Таким образом, для достаточно изолированных друг от друга европеоидных популяций по данному локусу существуют различия, количественно сопоставимые с межрасовыми: например, довольно близки между собой численные значе-

Таблица 1. Частоты встречаемости генотипов локуса *D19S253* в городских популяциях Москвы и Томска

Генотип	Частота встречаемости			
	наблюдаемая	ожидаемая	наблюдаемая	ожидаемая
	Москва		Томск	
5-5	0.009	0.001	0	0.000
5-7	0.009	0.013	0	0.009
5-9	0.009	0.002	0	0.001
5-11	0	0.000	0.013	0.001
5-13	0	0.001	0	0.000
5-15	0	0.005	0.027	0.003
5-17	0.019	0.013	0	0.011
5-19	0	0.013	0	0.010
5-21	0	0.007	0	0.003
7-7	0.056	0.055	0.013	0.048
7-9	0	0.017	0	0.012
7-11	0.009	0.002	0	0.006
7-13	0	0.007	0	0.003
7-15	0.037	0.041	0.027	0.038
7-17	0.121	0.107	0.200	0.123
7-19	0.140	0.109	0.147	0.114
7-21	0.037	0.061	0.040	0.038
9-9	0.009	0.001	0	0.001
9-11	0	0.000	0	0.001
9-13	0	0.001	0	0.000
9-15	0	0.007	0	0.005
9-17	0.009	0.017	0.013	0.015
9-19	0.009	0.017	0.013	0.014
9-21	0.028	0.010	0.027	0.005
11-11	0	0.000	0	0.000
11-13	0	0.000	0	0.000
11-15	0	0.001	0	0.002
11-17	0	0.002	0.013	0.007
11-19	0	0.002	0	0.007
11-21	0	0.001	0	0.002
13-13	0	0.000	0	0.000
13-15	0	0.002	0	0.001
13-17	0	0.006	0	0.004
13-19	0.009	0.007	0	0.003
13-21	0.019	0.004	0.013	0.001
15-15	0.019	0.008	0.013	0.008
15-17	0.019	0.041	0.067	0.049
15-19	0.056	0.041	0.027	0.045
15-21	0.028	0.023	0	0.015
17-17	0.056	0.052	0.040	0.078
17-19	0.084	0.107	0.147	0.146
17-21	0.093	0.060	0.040	0.049
19-19	0.056	0.055	0.067	0.068
19-21	0.056	0.061	0.053	0.045
21-21	0	0.017	0	0.008

Москва	Томск	Европеоиды США	Монголоиды США	Латиноамериканцы Мексики	Негры США	
1.6499	12.0553	19.0399	22.2271	43.6894	χ^2 -квадрат	
(0.9430±0.0073)	(0.0760±0.0084)	(0.0020±0.0014)	(0)	(0)	Вероятность (±S.E.)	
1.6675	13.3286	23.0392	24.7199	51.2164	G-статистика	
(0.9430±0.0073)	(0.0770±0.0084)	(0.0010±0.0010)	(0)	(0)	Вероятность (±S.E.)	

Рис. 5. Сравнительный анализ распределения аллелей локуса *HUMCYAR04* в московской популяции и в других популяционных выборках.

ния параметров $R \times C$ для сравниваемых пар русские-европеоиды США и русские-монголоиды США (рис. 5).

Тем не менее для исследованных локусов показано практически неразличимое распределе-

Таблица 2. Частоты встречаемости генотипов локуса *HUMCYAR04* в городских популяциях Москвы и Томска

Генотип	Частота встречаемости			
	наблюдаемая	ожидаемая	наблюдаемая	ожидаемая
	Москва		Томск	
5-5	0.119	0.149	0	0.000
5-6	0.030	0.065	0	0.009
5-7	0.059	0.057	0	0.001
5-8	0.149	0.069	0.013	0.001
5-9	0.040	0.027	0	0.000
5-10	0.208	0.206	0.027	0.003
5-11	0.050	0.050	0	0.011
6-6	0.020	0.007	0	0.010
6-7	0.010	0.012	0	0.003
6-8	0.010	0.015	0.013	0.048
6-9	0.010	0.006	0	0.012
6-10	0.050	0.045	0	0.006
6-11	0.020	0.011	0	0.003
7-7	0.010	0.006	0.027	0.038
7-8	0	0.013	0.200	0.123
7-9	0	0.005	0.147	0.114
7-10	0.059	0.040	0.040	0.038
7-11	0	0.010	0	0.001
8-8	0	0.008	0	0.001
8-9	0	0.006	0	0.000
8-10	0.010	0.048	0	0.005
8-11	0.010	0.011	0.013	0.015
9-9	0	0.001	0.013	0.014
9-10	0.020	0.019	0.027	0.005
9-11	0	0.004	0	0.000
10-10	0.089	0.071	0	0.000
10-11	0.020	0.034	0	0.002
11-11	0.010	0.004	0.013	0.007

ние частот встречаемости аллелей в выборках из двух удаленных друг от друга городских популяций России. Следует отметить, что подобное сходство также обнаружено и для двух других ранее исследованных нами микросателлитных повторов (*D6S366* и *HUMvWFII*) [9]. Таким образом, полученные нами для отдельных популяционных выборок данные о частотах встречаемости аллелей можно без особого риска распространить для описания всей русской популяции. В то же время возможна уверенная экстраполяция на все русское население аллельных частот, характеризующих одну репрезентативную выборку, при вероятностных расчетах в экспериментах по идентификации личности.

На примере анализа двух больших семей с 3 и 4 детьми мы показали независимый характер наследования аллелей обоих микросателлитов (рис. 2 и 4). Мутантных аллелей не было обнаружено.

Сравнение параметров информативности локусов *HUMCYAR04* и *D19S253* позволяет выделить последний как существенно более информативный (табл. 3). Данный локус характеризуется более высоким уровнем полиморфизма (9 аллелей против 7 для микросателлита *CYP19*) и большей гетерозиготностью (порядка 80% для русской популяции). Значения параметров информативности этих локусов в московской популяции сопоставимы с аналогичными данными для шести ранее исследованных минисателлитов [7, 8]. Это свидетельствует о несомненной полезности данных микросателлитов для информативного использования в идентификационном анализе.

Объединенное значение pM четырех исследованных нами микросателлитов (*D6S366*, *D19S253*, *HUMvWFII* и *HUMCYAR04*) для московской популяции равно 4.96×10^{-5} . Это на порядок выше значения pM (5.55×10^{-6}) для панели из четырех STR, описанной Урквартом с соавт. [5]. Более высокая разрешающая способность зарубежной панели объясняется большим уровнем полиморфизма входящих в нее микросателлитов, которые содержат от 9 до 11 аллелей [5]. Чтобы достичь значений pM порядка 10^{-8} – 10^{-9} , необходимо дополнить число входящих в нашу панель STR еще тремя высокополиморфными микросателлитными локусами.

Таблица 3. Значения критериев полиморфизма и тестов χ^2 и G-статистики на равновесие Харди-Вайнберга для локусов *HUMCYAR04* и *D19S253* в городских популяциях Москвы и Томска

Параметры	<i>HUMCYAR04</i>		<i>D19S253</i>	
	Москва	Томск	Москва	Томск
H_{obs}	0.743	0.733	0.794	0.867
H_{exp}	0.754	0.763	0.811	0.789
pM	0.094	0.090	0.062	0.076
W	0.724	0.738	0.842	0.787
PIC	0.565	0.578	0.681	0.645
χ^2	17.2840	4.3586	22.1728	18.2968
Вероятность ($\pm S. E.$)*	0.9340 (0.0079)	1.0000 (0)	0.9710 (0.0053)	0.9690 (0.0055)
G-статистика	20.4146	5.1654	28.4687	23.4858
Вероятность ($\pm S. E.$)*	0.9500 (0.0069)	1.0000 (0)	0.9650 (0.0058)	0.9630 (0.0060)

* Стандартная ошибка.

Таблица 4. Сравнение распределений частот встречаемости аллелей локуса *D19S253* в московской популяции с другими европеоидными популяциями

Параметр	Русские (Томск)	Европеоиды США [10]
Объем выборки	75	100
Массив R x C	9 x 2	9 x 2
χ^2	1.7613	9.8572
Вероятность $\pm S. E.$ *	0.9840 \pm 0.0040	0.2830 \pm 0.0142
G-статистика	1.7681	11.2893
Вероятность $\pm S. E.$	0.840 \pm 0.0040	0.2730 \pm 0.0141

* Стандартная ошибка.

В состав зарубежных тест-систем по идентификации личности часто входят динуклеотидные микросателлиты, содержащие свыше 10 аллелей [5, 14]. Несомненным преимуществом таких STR является высокая информативность и гетерозиготность, но для точной идентификации входящих в их состав аллелей требуется наличие дорогостоящей аппаратуры высокого разрешения (автоматический секвенатор, прибор для капиллярного электрофореза). Разрабатывая микросателлитную панель, мы отдаем предпочтение тетра-нуклеотидным повторам, поскольку их аллели можно успешно разделить и идентифицировать с использованием простого и дешевого метода электрофореза в ПААГ.

Авторы выражают признательность Дж. Кармоди (Карлетонский университет, Оттава) за предоставленную компьютерную программу R x C и

О.В. Вишниченко (ВНИИ космического приборостроения, Москва) за разработку остального программного обеспечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Huang T.H.-M., Hejtmantik J.F., Edwards A. et al. Linkage of the gene for an X-linked mental retardation disorder to a hypervariable (AGAT) $_n$ repeat motif within the human hypoxanthine phosphoribosyltransferase (*HPRT*) locus (Xq26) // *Am. J. Hum. Genet.* 1991. V. 49. P. 1312-1319.
2. Edwards A., Civitello A., Hammond H.A., Caskey C.T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric markers // *Am. J. Hum. Genet.* 1991. V. 49. P. 746-756.
3. Edwards A., Hammond H.A., Jin L., Chakraborty R. Genetic variation of five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups // *Genomics.* 1992. V. 12. P. 241-243.
4. Hammond H.A., Jin Li., Zhong Y. et al. Evaluation of 13 short tandem repeats loci for use in personal identification applications // *Am. J. Hum. Genet.* 1994. V. 55. P. 175-189.
5. Urquhart A., Oldroyd N.J., Kimpton G.P., Gill P. Highly discriminating heptaplex short tandem repeat PCR system for forensic identification // *BioTechniques.* 1995. V. 18. P. 116-121.
6. Polymeropoulos M.H., Xiao H., Rath D.S., Merri C.R. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human aromatase cytochrome P450 gene (*CYP19*) // *Nucl. Acids Res.* 1991. V. 19. P. 195.
7. Чистяков Д.А., Гаврилов Д.К., Овчинников И.В., Носиков В.В. Анализ распределения аллелей четырех гипервариабельных tandemных повторов среди неродственных представителей русской нации, проживающих в Москве, с помощью полимеразной цепной реакции // *Молекуляр. биология.* 1993. Т. 27. С. 1304-1314.
8. Ефремов И.А., Чистяков Д.А., Носиков В.В. Анализ полиморфизма двух гипервариабельных районов генома человека в русской популяции Москвы с помощью полимеразной цепной реакции // *Молекуляр. биология.* 1996. Т. 30. С. 310-321.
9. Чистяков Д.А., Ефремов И.А., Одиноква О.Н., Носиков В.В. Анализ аллельного полиморфизма двух тетра-нуклеотидных tandemных повторов в двух городских популяциях России // *Молекуляр. биология.* 1996. Т. 30. № 6. С. 1274-1283.
10. Budowle B., Baechtel F.S. Modifications to improve the effectiveness of restriction fragment length polymorphism typing // *Appl. Theor. Electrophoresis.* 1990. V. 1. P. 181-187.
11. Walsh P., Metzger D., Higuchi R. Chelex[®]-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material // *BioTechniques.* 1991. V. 10. P. 506-513.

12. *Sajantilla A., Budowle B., Strom M. et al.* PCR amplification of alleles at the *DIS80* locus: comparison of a Finnish and North American Caucasian population sample, and forensic casework evaluation // *Am. J. Hum. Genet.* 1992. V. 50. P. 816–825.
13. *Roff D.A., Bentzen P.* The statistical analysis of mitochondrial DNA: χ^2 and problem of small samples // *Mol. Biol. Evol.* 1989. V. 6. P. 539–545.
14. *Kimpton C.P., Gill P., Walton A. et al.* Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci // *PCR Methods Appl.* 1993. V. 3. P. 13–22.

Distribution of Alleles of Microsatellite Loci *HUMCYAR04* and *D19S253* in Population Samples of Two Russian Cities

D. A. Chistyakov¹, M. V. Chelnokova¹, I. A. Efremov¹, M. V. Stupakova¹,
O. I. Odinkova², V. V. Nosikov¹

¹ State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, Moscow, 113545 Russia

² Research Institute of Medical Genetics, Tomsk Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, 634007 Russia

In population samples of Moscow and Tomsk, allelic polymorphism of microsatellite loci *HUMCYAR04* and *D19S253* was studied by polymerase chain reaction. Seven *HUMCYAR04* alleles (181–205 bp) and nine alleles (208–240 bp) of the *D19S253* locus were identified. In both population samples, the absence of statistically significant differences in the distribution of allele frequencies for these loci was demonstrated. The distribution of the observed genotype frequencies was shown to correspond to the Hardy–Weinberg equilibrium in both populations. Mendelian inheritance of these tandem repeats was demonstrated by an analysis of two large families. The parameters of polymorphism information content for the loci studied were determined; comparative analysis of allele frequencies with corresponding data for a number of populations was performed. These short tandem repeats were proposed for use in personal identification and paternity tests.