

УДК 575.113.2:599.9

АЛЛЕЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ КОРОТКИХ ТАНДЕМНО ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ЛОКУСОВ *HUMF13A01* И *HUMCD4* В РУССКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ МОСКВЫ И ТОМСКА

© 1997 г. Р. И. Туракулов¹, Д. А. Чистяков¹, О. Н. Одинокова², В. В. Носиков¹¹ Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции
промышленных микроорганизмов, Москва 113545² Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского научного центра
Российской академии медицинских наук, Томск 634050

Поступила в редакцию 29.07.96 г.

Окончательный вариант получен 21.10.96 г.

С использованием полимеразной цепной реакции проведен анализ аллельного полиморфизма микросателлитных локусов *HUMCD4* и *HUMF13A01* в выборках из городских популяций Москвы и Томска. Обнаружено восемь аллелей в локусе *HUMCD4* размером от 115 до 165 пн и девять аллелей длиной от 180 до 230 пн в локусе *HUMF13A01*. 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 тандемных повторов. Определены параметры информационного содержания полиморфизма исследованных локусов, проведен сравнительный анализ аллельных частот с аналогичными данными по ряду популяций. Предложено использование данных коротких тандемных повторов для идентификации личности и определения спорного отцовства.

В геномной ДНК человека существует множество гипервариабельных районов, состоящих из тандемно повторяющихся мотивов и характеризующихся наличием аллельного полиморфизма. К их числу относятся короткие тандемно повторяющиеся последовательности (STR – Short Tandem Repeats), или микросателлиты. STR состоят из повторяющихся единиц длиной от 2 до 5 пн и обычно имеют размер от 100 до 350 пн [1]. В последнее время микросателлиты все более активно применяются в медико-генетических исследованиях, выступая в качестве полиморфных маркеров при изучении многих наследственных заболеваний и картировании генома [2, 3]. Микросателлиты, характеризующиеся высокими уровнями аллельного полиморфизма и информативности, используются в судебной медицине для идентификации личности.

Во многих зарубежных странах (Германия, Великобритания, США) уже созданы и рекомендованы к использованию в геномной дактилоскопии панели, состоящие из высокополиморфных и несцепленных между собой микросателлитов. В Германии используют тест-систему из 14 STR, в США и Великобритании разработаны панели из 13 и 6 микросателлитов соответственно [4, 5]. 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. По сравнению с минисателлитными повторами, длина которых составляет сотни и даже тысячи пн, размер STR существенно меньше, что обеспечивает микросателлитам значительное преимущество при анализе деградированной ДНК и микроколичеств ДНК человека [5].

Ранее мы разработали тест-систему из шести полиморфных минисателлитных локусов для идентификации личности [6, 7]. Дополнительно к ней мы создаем аналогичную панель из 8 микросателлитных локусов [8, 9]. Использование двух панелей в совокупности позволит резко повысить разрешающую способность идентификационных исследований и расширить возможности анализа деградированных препаратов и микроколичеств ДНК человека.

Микросателлиты, расположенные в локусах *HUMF13A01* и *HUMCD4*, входят в состав идентификационной панели, разработанной в США [4].

Ген субъединицы А фактора XIII человека (локус *HUMF13A01*) расположен на хромосоме бр24-р25 [10]. Две субъединицы А, объединяясь с двумя субъединицами В, образуют белковый фактор XIII. Этот фактор участвует в последней стадии свертывания крови и выступает в качестве

фибринолигазы, образуя межмолекулярные сшивки между аминокислотными остатками лизина и глутаминовой кислоты в соседних молекулах фибрина. При этом каталитическую функцию осуществляет именно субъединица А [11].

В интроне А гена *HUMF13A01* находится полиморфный тандемный повтор (AAAG)_n, начинающийся с 248-го нуклеотида данного гена [12]. Полимеропулос и соавт. [13] с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на небольшой выборке из североамериканских европеоидов (24 человека) обнаружили 8 аллелей этого микросателлита размером от 180 до 230 пн. Хаммонд и соавт. [4] исследовали аллельный полиморфизм локуса *HUMF13A01* среди представителей разных рас и показали наличие максимум 13 аллелей.

Ген поверхностного антигена *CD4* находится на хромосоме 12pter-p12 [14, 15]. Белковый продукт данного гена экспонирован на клеточной поверхности Т-хелперов/индукторов, хотя его мРНК может экспрессироваться в В-клетках, макрофагах и гранулоцитах [16]. Этот антиген служит Т-клеточным рецептором для узнавания молекул на поверхности специфических клеток-мишеней и также узнается вирусом синдрома иммунодефицита [16].

В гене поверхностного антигена *CD4* обнаружен полиморфный микросателлит, состоящий из тандемных повторов (AAAAG)_n [17]. Эдвардс и соавт. [18] с помощью ПЦР впервые исследовали аллельный полиморфизм данного гена в двух североамериканских популяциях. Позднее Хаммонд и соавт. [4] провели аналогичные исследования для разных рас и выявили до 11 аллелей локуса *HUMCD4* размером от 125 до 175 пн. Замани и соавт. [19] определили частоты встречаемости аллелей этого микросателлита в ряде западноевропейских популяций, но с использованием других праймеров: они обнаружили максимум 8 аллелей длиной от 88 до 128 пн.

В настоящей работе мы проводим анализ популяционных выборок двух городов России (Москвы и Томска) с целью определить частоты встречаемости аллелей локусов *HUMCD4* и *HUMF13A01* 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 фирмой "Эвиос-Рос" (Институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН, Москва).

Выделение геномной ДНК из венозной крови человека осуществляли по стандартной ме-

тодике [20]. Из слюны и пятен крови ДНК выделяли с использованием хелатного полимера Chellex^R-100 ("Bio-Rad", США) [21].

Выборка из неродственных представителей популяции г. Москвы была сформирована из образцов, полученных в травматологических пунктах, Институте ревматологии РАМН и Бюро судебно-медицинской экспертизы. Выборка из неродственных представителей популяции г. Томска была сформирована из образцов, полученных в родильных домах и от здоровых лиц.

ПЦР проводили на амплификаторе PNC-2 ("Techné", Великобритания) или PolyChainII ("Polygen", Германия) в 50 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 мМ трис-HCl, pH 8.8, 16.6 мМ сульфата аммония, 0.01%-ный твин-20, 1.0 и 2.0 мМ хлорида магния в случае *HUMF13A01* и *HUMCD4* 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 Chellex^R-100. Для амплификации аллелей *HUMF13A01* и *HUMCD4* использовали по 66 нг каждого из олигонуклеотидных праймеров, последовательности которых приведены в работах [4, 13] соответственно. 30–35 циклов ПЦР проводили по следующей программе: 94°C/1 мин, 55°C (*HUMF13A01*) или 65°C (*HUMCD4*)/1 мин, 72°C/1 мин, в том числе первая денатурация 3 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 [22].

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 × C (Rows × Columns) [23]. Данную программу 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 по-

лиморфизма (polymorphism information content, PIC) рассчитывали с помощью компьютерной программы на основе известных алгоритмов, приведенных нами ранее [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полиморфизм локуса *HUMF13A01* был изучен на основе двух популяционных выборок, насчитывающих 109 (Москва) и 75 человек (Томск). Обнаружили 9 аллелей размером от 180 до 230 пн (рис. 1 и 2). Данные аллели классифицировали по числу содержащихся в них тандемных повторов. По данным Полимеропулоса и соавт. [13], аллель длиной 180 пн включает 3 повтора AAAG. Этому аллелю присваивали порядковый номер 3, следующему аллелю размером 184 пн – номер 4 и т.д.

Однако были также обнаружены аллели размером 226 и 230 пн, содержащие нецелое число повторов. Эти аллели нумеровали, следуя рекомендациям Комиссии по стандартизации номенклатуры микросателлитных локусов, которые были приняты на симпозиуме ISFH (International Society of Forensic Haemogenetics), состоявшемся в октябре 1993 г. в Венеции (Италия). Аллель длиной 226 пн получил номер 14.2, поскольку содержал 14 полных повторов и еще 2 дополнительных нуклеотида. Соответственно аллель размером 230 пн имел номер 15.2. Существование промежуточных по размеру аллелей было также показано и для других тетрануклеотидных мотивов, например для *HUMCYR04* и *HUMTH01* [4, 5].

В русской популяции наиболее распространены были аллели 5, 6 и 7 (рис. 2). По сравнению с популяционными данными Полимеропулоса и соавт. [13] для европеоидов США у русских дополнительно присутствовал аллель 11. В то же время в исследованных нами выборках отсутствовал промежуточный аллель 3.2, обнаруженный Хаммондом и соавт. [4] у североамериканских европеоидов.

Из 91 возможного варианта генотипов у москвичей наблюдали 25 (27% от общего числа), а у томичей – 22 (25%). Как и следовало ожидать, среди наблюдаемых генотипов в обеих выборках наиболее часто встречались гомо- и гетерозиготные комбинации самых распространенных аллелей 5, 6 и 7 (табл. 1).

По локусу *HUMCD4* типировали ДНК 102 представителей московской популяции и 75 томичей. Среди москвичей выявили 8 аллелей длиной от 115 до 165 пн, в томской выборке было обнаружено 7 аллелей (отсутствовал аллель размером 115 пн, присутствовавший у москвичей) (рис. 3 и 4). Для данного микросателлита аллели нумеровали, исходя из числа входящих в их состав повторяющихся единиц. Согласно данным Хаммонда и соавт. [4], аллель размером 125 пн содержал 6 пен-

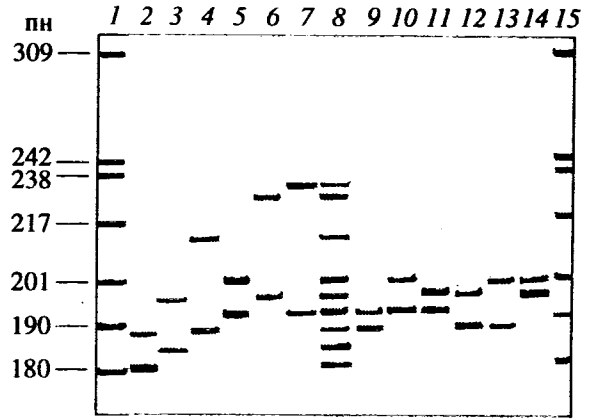


Рис. 1. Разделение в 12%-ном ПААГ амплифицированных аллелей локуса *HUMF13A01*. 1 и 15 – фрагменты плазмидной ДНК pBR322, расщепленной рестриктазой *MspI*; 2–7 – генотипирование шести неродственных человек: 2 – 3/5, 3 – 4/7, 4 – 5/11, 5 – 6/8, 6 – 7/14.2, 7 – 6/15.2; 8 – аллельная “лестница”; 9–14 – семейный анализ, выявляющий следующие генотипы: 9 – 5/6 (отец), 10 – 6/8 (ребенок 1), 11 – 6/7 (ребенок 2), 12 – 5/7 (ребенок 3), 13 – 5/8 (ребенок 4), 14 – 7/8 (мать).

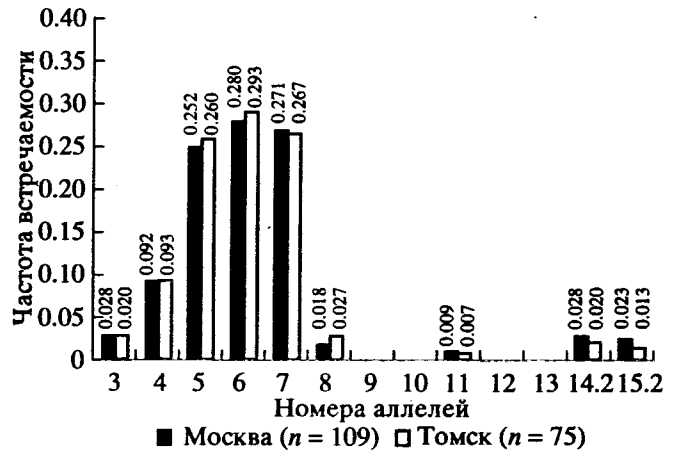


Рис. 2. Частоты встречаемости аллелей локуса *HUMF13A01* в городских популяциях Москвы и Томска. Нумерация аллелей отражает число содержащихся в них тандемных повторов. n – число человек в исследованной выборке.

тануклеотидных повторов и соответственно получил порядковый номер 6 и т.д. Аллели 7, 8 и 12 обладали наибольшими частотами встречаемости (рис. 3). В московской выборке мы показали наличие нового аллеля 4 длиной 115 пн, ранее не обнаруженного ни в одной из исследованных зарубежных популяций [4, 18, 19]. Однако недавно Тишков и соавт. [24] описали у негритянского населения Африки существование аллелей локуса *HUMCD4*, включающих от 4 до 15 повторов. По сравнению с европеоидами США в русской популяции дополнительно присутствовал аллель дли-

Таблица 1. Частоты встречаемости генотипов локуса *HUMF13A01* в городских популяциях Москвы и Томска

Номера аллелей	Москва		Томск	
	наблюдаемые	ожидаемые	наблюдаемые	ожидаемые
3-3	0.009	0.001	0	0.000
3-4	0.009	0.005	0	0.004
3-5	0.018	0.014	0.013	0.010
3-6	0	0.015	0.013	0.012
3-7	0.009	0.015	0.013	0.011
4-4	0.018	0.008	0.027	0.009
4-5	0.046	0.046	0.040	0.049
4-6	0.046	0.051	0.053	0.055
4-7	0.037	0.050	0.040	0.050
4-14.2	0.009	0.005	0	0.004
5-5	0.092	0.064	0.093	0.068
5-6	0.119	0.141	0.133	0.153
5-7	0.101	0.137	0.107	0.139
5-8	0	0.009	0.013	0.014
5-11	0.049	0.038	0.080	0.040
5-14.2	0.018	0.014	0.013	0.010
5-15.2	0.009	0.012	0	0.007
6-6	0.101	0.078	0.107	0.086
6-7	0.138	0.151	0.120	0.156
6-8	0.018	0.010	0.027	0.016
6-14.2	0.018	0.015	0.013	0.012
6-15.2	0.018	0.013	0.013	0.008
7-7	0.101	0.073	0.107	0.071
7-8	0.018	0.010	0.013	0.014
7-11	0.009	0.005	0	0.004
7-14.2	0.009	0.015	0.013	0.014
7-15.2	0.018	0.012	0.013	0.007

Таблица 2. Частоты встречаемости генотипов локуса *HUMCD4* в городских популяциях Москвы и Томска

Номера аллелей	Москва		Томск	
	наблюдаемые	ожидаемые	наблюдаемые	ожидаемые
4-7	0.039	0.018	0	0.000
6-6	0.010	0.000	0	0.000
6-7	0	0.009	0.013	0.006
7-7	0.216	0.217	0.227	0.224
7-8	0.255	0.247	0.280	0.259
7-12	0.186	0.183	0.173	0.189
7-13	0	0.000	0.027	0.025
7-14	0.020	0.014	0	0.006
8-8	0.069	0.070	0.067	0.075
8-9	0	0.003	0.027	0.025
8-12	0.098	0.104	0.067	0.109
8-13	0.029	0.013	0.027	0.015
8-14	0.010	0.008	0.013	0.004
9-13	0.010	0.000	0	0.001
12-12	0.049	0.038	0.080	0.040
12-13	0.010	0.010	0	0.011

ной 125 пн, ранее выявленный только у монголоидов США, но отсутствовал аллель 11.

Из 91 возможной комбинации аллелей локуса *HUMCD4* в московской выборке присутствовало 13, а в томской – на 2 меньше. Наиболее часто в обеих выборках встречались гетерозиготы 7/8 и 7/12 и гомозиготы 7/7 (табл. 2).

Было показано, что наблюдаемые распределения частот встречаемости генотипов исследованных локусов в обеих популяционных выборках подчиняются равновесию Харди-Вайнберга (табл. 3). Таким образом, распределение аллелей в городских выборках носит несмещенный характер, а сами выборки являются достаточно однородными.

Мы сравнили экспериментальные значения частот встречаемости аллелей локуса *HUMF13A01* в обеих русских выборках, а также с имеющимися данными по зарубежным популяциям (рис. 5). Распределение аллелей в русских выборках носило весьма сходный характер. Также не наблюдалось статистически значимых различий между русскими и обеими популяционными выборками из североамериканских европеоидов. Общей чертой распределения аллелей в европеоидных популяциях являлось доминирование одних и тех же аллелей (5, 6 и 7). Остальные североамериканские популяции (латиноамериканцы, негры и монголоиды) значимо отличались от русских. У латиноамериканцев с частотой выше 10% встречались сразу 5 аллелей, из них преобладали аллели 3, 2, 6 и 7 [4]. Среди негров США было представлено максимальное число аллелей локуса *HUMF13A01* (13), причем наиболее распростра-

Таблица 3. Значения критериев полиморфизма и тестов χ^2 и *G*-статистики на равновесие Харди-Вайнберга для локусов *HUMF13A01* и *HUMCD4* в городских популяциях Москвы и Томска

Параметры	<i>HUMF13A01</i>		<i>HUMCD4</i>	
	Москва	Томск	Москва	Томск
H_{obs}	0.679	0.667	0.657	0.627
H_{exp}	0.774	0.770	0.673	0.660
<i>pM</i>	0.087	0.094	0.160	0.173
<i>W</i>	1.005	0.974	0.653	0.602
<i>PI</i>	0.427	0.391	0.198	0.144
χ^2	9.6043	4.9957	11.1737	6.5611
Вероятность	1.0000	1.0000	0.9750	0.9650
$\pm S. E.*$	0	0	0.0049	0.0058
<i>G</i> -статистика	11.5885	5.7527	14.7162	8.1437
Вероятность	1.0000	1.0000	0.9680	0.9650
$\pm S. E.*$	0	0	0.0056	0.0058

* Стандартная ошибка.

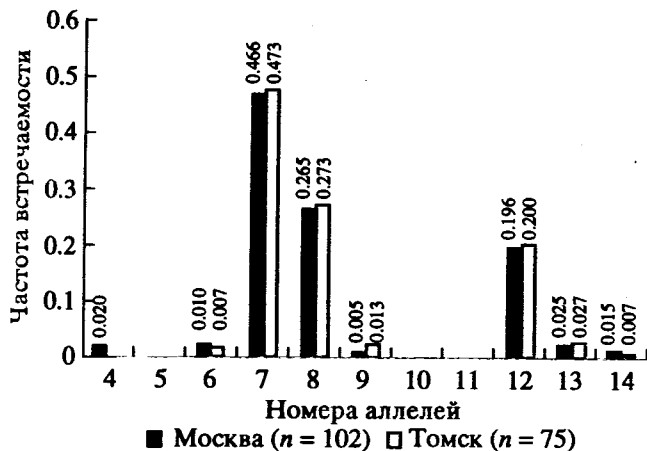


Рис. 3. Частоты встречаемости аллелей локуса *HUMCD4* в городских популяциях Москвы и Томска. Нумерация аллелей отражает число содержащихся в них тандемных повторов. *n* – число человек в исследованной выборке.

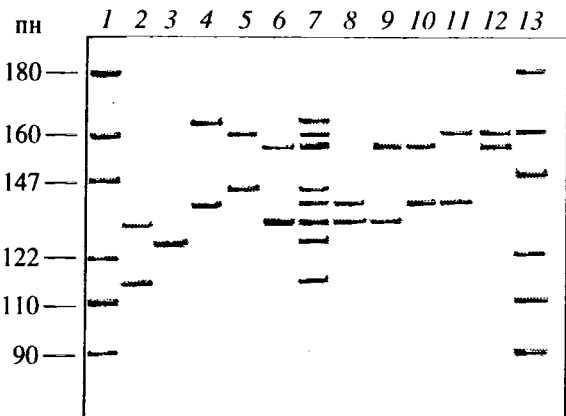


Рис. 4. Разделение в 12%-ном ПААГ амплифицированных аллелей локуса *HUMCD4*. 1 и 13 – фрагменты плазмидной ДНК *pBR322*, расщепленной рестриктазой *MspI*; 2–6 – генотипирования пяти неродственных человек: 2 – 4/7, 3 – 6/6, 4 – 8/14, 5 – 9/13, 6 – 7/12; 7 – аллельная “лестница”; 8–12 – семейный анализ, выявляющий следующие генотипы: 8 – 7/8 (отец), 9 – 7/12 (ребенок 1), 10 – 8/12 (ребенок 2), 11 – 8/13 (ребенок 3), 12 – 12/13 (мать).

этом аллель 6 резко преобладал над остальными аллелями (частота встречаемости 0.508) [4].

Сравнительный анализ наблюдаемых распределений частот встречаемости аллелей локуса *HUMCD4* среди жителей Москвы и Томска показал их почти полную идентичность (табл. 4). Для данного микросателлита не наблюдалось статистически значимых различий между русскими и рядом европейских популяций, а также между русскими и двумя североамериканскими популяциями (европеоиды и латиноамериканцы США) [4, 18, 19]. Для этих популяций было характерным преобладание одних и тех же трех аллелей (7, 8 и 12). У латиноамериканцев дополнительно присутствовал редкий аллель 10, но не было показано наличия аллелей 4 и 6, обнаруженных в русской популяции. При этом североамериканские европеоиды и латиноамериканцы отличались друг от друга в меньшей степени, чем русские и латиноамериканцы. По всей видимости, это свидетельствует об обмене генами между двумя первыми популяциями. Резкие различия по сравнению с московской популяцией наблюдались в распределении аллелей локуса *HUMCD4* среди негров и монголоидов США. Для негров было показано присутствие наиболее полного спектра аллелей данного локуса (10 аллелей – с 7-го по 16-й). При этом с частотой свыше 10% у них встречались сразу 5 аллелей, тогда как у европеоидов и латиноамериканцев – только 3 [4]. У монголоидов было обнаружено 8 аллелей. Характерной чертой аллельного распределения *HUMCD4* в этой популяционной группе являлось доминирование только двух аллелей (7 и 12), причем преобладание аллеля 7 было резко выраженным (частота встречаемости 0.564) [4].

Таким образом, сравнительный анализ распределения аллелей двух изученных локусов свидетельствует об однородности характера распределения в популяциях одной расовой принадлежности, тогда как между разными расами наблюдаются значительные различия.

ненными были аллели 5 и 7. Для североамериканских монголоидов характерным было как наличие аллеля 16, не обнаруженного в других популяциях, так и доминирование аллелей 3.2 и 6. При

На примере анализа двух больших семей с 3 и 4 детьми мы показали независимый характер наследования аллелей обоих микросателлитов (рис. 1 и 4).

Русские (Москва) (Томск)	Европеоиды США [13]	Европеоиды США [4]	Латиноамериканцы США [4]	Негры США [4]	Монголоиды США [4]	
0.9705 (1.0000±0.0000)	3.9375 (0.8900±0.0099)	11.2519 (0.1660±0.0118)	22.1171 (0.0120±0.0034)	26.3328 (0)	67.4256 (0)	Хи-квадрат
0.9810 (1.0000±0.0000)	4.4202 (0.8930±0.0098)	12.1451 (0.2260±0.0132)	25.1003 (0.0140±0.0037)	30.7621 (0)	80.7446 (0)	Вероятность ±S.E. G-статистика

Рис. 5. Сравнительный анализ частотного распределения аллелей локуса *HUMF13A01* в московской городской популяции и других популяционных выборках.

Таблица 4. Сравнение распределений частот встречаемости аллелей локуса *HUMCD4* в московской популяции с другими популяциями

Параметры	Русские (Томск)	Европеиды США		Голландцы [19]	Бельгийцы [19]	Французы [19]	Латино-американцы США [4]	Монголоиды США [4]	Негры США	
		[18]	[14]						[18]	[14]
Размер выборки, число человек	75	100	191	308	208	100	193	78	140	190
Массив R × C	2 × 11	2 × 11	2 × 11	2 × 11	2 × 11	2 × 11	2 × 11	2 × 11	2 × 13	2 × 13
χ^2	2.2895	8.6771	9.0678	10.105	10.505	10.919	12.4150	34.226	45.946	66.296
Вероятность	0.9640	0.5090	0.4480	0.1310	0.1110	0.0900	0.0870	0	0	0
$\pm S. E. *$	0.0059	0.0158	0.0157	0.0107	0.0099	0.0090	0.0089	0	0	0
G-статистика	3.0682	10.613	11.427	12.437	12.437	12.607	14.4361	40.410	56.645	83.757
Вероятность	0.9550	0.5650	0.4490	0.1220	0.1060	0.1120	0.1110	0	0	0
$\pm S. E. *$	0.0066	0.0157	0.0157	0.0103	0.0097	0.0100	0.0099	0	0	0

* Стандартная ошибка.

Сравнение параметров информативности локусов *HUMCD4* и *HUMF13A01* позволяет выделить последний как существенно более информативный (табл. 3). Аллели обоих микросателлитов содержат примерно одинаковое число повторов, однако *HUMF13A01* характеризуется более высоким уровнем полиморфизма (9 аллелей против 7–8 для локуса *HUMCD4*) и большей гетерозиготностью, что повышает величину *PIC* данного локуса (табл. 3). Значения параметров информативности этих локусов в московской популяции сопоставимы с аналогичными данными для многих из шести ранее исследованных нами микросателлитов, а именно для гипервариабельных районов генов ретинобластомы и тяжелых цепей иммуноглобулина [6, 7]. Это свидетельствует о несомненной полезности данных микросателлитов для информативного использования в идентификационном анализе.

В рамках работы по созданию микросателлитной панели для идентификации личности мы уже провели анализ аллельного полиморфизма в русской популяции четырех тетрануклеотидных микросателлитов (*D6S366*, *D19S253*, *HUMvWFII* и *HUMCYAR04*) [8, 9]. Объединенное значение *pM* всех шести исследованных нами микросателлитов для московской популяции равно 6.9×10^{-7} . Это позволяет гарантировать точную идентификацию личности для популяции размером свыше 1.4 млн. человек. Однако разрешающая способность нашей идентификационной панели на порядок уступает тест-системе из шести микросателлитов, разработанной в Великобритании Урквартом и соавт. [5] и имеющей величину *pM* 2.94×10^{-8} . Более высокая разрешающая способность зарубежной панели объясняется большим уровнем полиморфизма входящих в нее микросателлитов, которые содержат от 9 до 11 аллелей [5]. Чтобы

достичь точной идентификации личности в масштабах всего населения России, необходимо иметь панель с объединенным значением *pM* порядка 6.7×10^{-9} , т.е. увеличить разрешающую способность имеющейся тест-системы в 100 раз. Для этого необходимо дополнить число входящих в нашу панель микросателлитов еще двумя высокополиморфными локусами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Edwards A., Hammond H.A., Lin 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.
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. Ben C., Ko B., Karen S. et al. An (A-C)_n dinucleotide repeat polymorphic marker at 5' end of the aldose reductase gene is associated with early-onset diabetic retinopathy in NIDDM patients // *Diabetes*. 1995. V. 44. P. 727–732.
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. Чистяков Д.А., Гаериллов Д.К., Овчинников И.В., Носиков В.В. Анализ распределения аллелей четырех гипервариабельных тандемных повторов среди неродственных представителей русской нации, проживающих в Москве, с помощью полиморфной цепной реакции // *Молекуляр. биология*. 1993. Т. 27. № 5. С. 1304–1314.

7. *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. № 2. С. 310–321.
8. *Чистяков Д.А., Ефремов И.А., Одинокова О.Н., Носиков В.В.* Анализ аллельного полиморфизма двух тетра-нуклеотидных тандемных повторов в двух городских популяциях России // Молекуляр. биология. 1996. Т. 30. № 6. С. 1274–1283.
9. *Чистяков Д.А., Челнокова М.В., Ефремов И.А. и др.* Распределение аллелей микросателлитных локусов *HUMCYAR04* и *D19S253* в популяционных выборках двух городов России // Генетика. 1997. Т. 33. № 2. С. 262–268.
10. *Board P.G., Webb G.C., McKee J., Ischinose A.* Localization of the coagulation factor XII A subunit gene (*F13A1*) to chromosome bands 6p24-p25 // Cytogenet. Cell Genet. 1988. V. 48. P. 25–27.
11. *Kitchens C.S., Newcomb T.F.* Factor FXIII // Medicine. 1979. V. 58. P. 413–429.
12. *Ichinose A., Davie E.W.* Characterization of the gene for the a subunit A human factor XIII (plasma transglutaminase), a blood coagulation factor // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. P. 5829–5833.
13. *Polymeropoulos M.H., Rath D.S., Xiao H., Merril C.R.* Tetranucleotide repeat polymorphism at the human coagulation factor XIII A subunit gene (*F13A1*) // Nucl. Acids Res. 1991. V. 19. P. 4306.
14. *Isobe M., Huebner K., Maddon P.J. et al.* The gene encoding the T-cell surface protein is located on human chromosome 12 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1986. V. 83. P. 4399–4402.
15. *Kozbor D., Finan J., Nowell P.C., Croce C.M.* The gene encoding the T4 antigen maps to human chromosome 12 // J. Immunol. 1986. V. 136. P. 1141–1143.
16. *Maddon P.J., Molineaux S.M., Maddon D.E. et al.* Structure and expression of the human and mouse T4 antigens // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1987. V. 84. P. 9155–9159.
17. *Litman D.R.* The structure of the *CD4* and *CD8* genes // Annu. Rev. Immun. 1987. V. 5. P. 561–584.
18. *Edwards M.C., Clemens P.R., Tristan M. et al.* Pentanucleotide repeat polymorphism at the *CD4* locus // Nucl. Acids Res. 1991. V. 19. P. 4791.
19. *Zamani M.G., Dehert M., Spaepen M. et al.* Study of possible association of HLA class II, *CD4* and *CD3* polymorphisms with schizophrenia // Am. J. Med. Genet. 1994 V. 54. P. 372–377.
20. *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.
21. *Walsh P., Metzger D., Higuchi R.* Chelex[®]-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing for forensic material // BioTechniques. 1991. V. 10. P. 510–513.
22. *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.
23. *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.
24. *Tishkoff S.A., Dietzsch E., Speed W. et al.* Global patterns of linkage disequilibrium at the *CD4* locus and modern human origins // Science. 1996. V. 271. P. 1380–1386.

Allelic Polymorphism of Short Tandem Repeats Located in *HUMF13A01* and *HUMCD4* Loci in the Russian Populations of Moscow and Tomsk

R. I. Turakulov¹, D. A. Chistyakov¹, O. I. Odinkova², and 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, 634050 Russia

In samples from populations of the cities of Moscow and Tomsk, analysis of allelic polymorphism of microsatellite loci *HUMF13A01* and *HUMCD4* was performed by polymerase chain reaction (PCR). Eight *HUMCD4* alleles (115–165 bp) and nine alleles (180–230 bp) of locus *HUMF13A01* were identified. In both populations, the distributions of allelic frequencies for these loci did not differ significantly. The distribution of observed genotype frequencies fitted Hardy–Weinberg equilibrium in both populations. Mendelian inheritance of these tandem repeats was demonstrated by analysis of two large families. Parameters of polymorphism information content (PIC) for the loci studied were detected; comparative analysis of allelic frequencies with similar data on several populations was performed. These short tandem repeats (STR) were proposed for use in personal identification and paternity tests.