

УДК 575.1:577.1

АЛЛЕЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ТЕТРАНУКЛЕОТИДНОГО ТАНДЕМНОГО ПОВТОРА SE33 СРЕДИ УДЭГЕЙЦЕВ И В ДВУХ ГОРОДСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ РОССИИ

© 1997 г. Р. И. Туракулов, Д. А. Чистяков, О. Н. Одинокова¹,
О. К. Галактионов², В. В. Носиков

Государственный научный центр "ГосНИИ генетика", Москва, 113545

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского научного центра
Российской академии медицинских наук, Томск, 634050

²Научно-исследовательский институт психического здоровья Томского научного центра
Российской академии медицинских наук, Томск, 634014

Поступила в редакцию 07.05.97 г.

С использованием полимеразной цепной реакции проведен анализ аллельного полиморфизма тетрануклеотидного микросателлита SE33 (локус АСТВР2) среди удэгейцев и в выборках из городских популяций Москвы и Томска. Обнаружен 21 аллель размером от 246 до 326 п.н. Статистически достоверные различия в частотном распределении аллелей данного микросателлита между исследованными популяционными выборками отсутствуют. Распределение частот встречаемости генотипов подчинялось равновесию Харди-Вайнберга. На основе двух случаев семейного анализа показано менделевское наследование аллелей этого микросателлита. Высокие значения гетерозиготности (0.830–0.875 для разных исследованных выборок, информационного содержания полиморфизма (0.874–0.887) и индекса дискриминации (0.991–0.992) данного локуса позволяют использовать этот локус для идентификации личности и разрешения случаев спорного отцовства.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция (ПЦР), аллельный полиморфизм, популяции Москвы и Томска, удэгейцы, микросателлит SE33.

Высокополиморфные и высокоинформативные микросателлиты с числом аллелей более шести широко используют в качестве генетических маркеров в геномном картировании, изучении наследственных заболеваний и для идентификации личности [1, 2].

Идентификационные микросателлитные панели уже разработаны и используются в судебной медицине в США, Великобритании и Германии [3, 4]. Мы создаем аналогичную панель, включающую к данному моменту шесть микросателлитов, аллельный полиморфизм которых исследован в русской популяции [5–7]. Чтобы достичь точной идентификации в масштабах всего населения России, нужно иметь панель с объединенным значением вероятности случайного совпадения генотипов двух неродственных индивидов (probability of random match, рМ) 6.9×10^{-7} . Для этого необходимо дополнить число входящих в нашу панель микросателлитов еще одним–двумя высокополиморфными локусами, к которым и относится тетрануклеотидный микросателлит SE33.

В интроне псевдогена β -актина (локус АСТВР2), расположенного на хромосоме 5qter, обнаружен микросателлит SE33 со множествен-

ными копиями тандемного повтора AAAG [8]. Всего известно около 20 псевдогенов β -актина, широко представленных в геноме [9, 10]. В исследованных популяциях европеоидов найдено максимум 26 аллелей данного микросателлита длиной от 222 до 322 п.н. [8, 11].

По числу аллелей и информативности этот микросателлит сравним с высокополиморфным (28 аллелей и субаллелей) минисателлитом МСТ118 (локус D1S80) [12], который широко используют в геномной дактилоскопии. Поэтому было бы весьма полезным применять микросателлит SE33 для идентификационного анализа.

Цель данной работы – изучить аллельный полиморфизм микросателлита SE33 в выборках из различных популяций России (Москва, Томск, удэгейцы), чтобы оценить пригодность этого локуса для идентификационных исследований на российских популяциях.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

ДНК-полимераза *Taq* получена от НПК "Биотех" (Москва). Синтез олигонуклеотидных праймеров выполнен фирмой "Эвиос-Рос" (Москва).

Геномную ДНК из венозной крови человека выделяли по методике, описанной ранее [13]. ДНК из пятен крови и слюны экстрагировали с использованием хелатного полимера Chelex®-100 ("Bio-Rad Laboratories") [14]. ДНК из корня волоса также выделяли с помощью Chelex®-100 после инкубации волоса в течение ночи при 60°C в 200 мкл буфера для лизиса (10 мМ Трис-НСl, рН 7.5, 0.32 М сахараза, 5 мМ хлорид магния, 1%-ный Тритон X-100) с протеиназой К (0.5 мг/мл).

Выборки из неродственных представителей популяций Москвы и Томска сформированы из образцов крови, взятой у здоровых доноров в травматологических пунктах и на станциях переливания крови. Образцы крови удэгейцев собраны в поселке Красный Яр Пожарского района Приморского края.

ПЦР проводили на амплификаторе РНС-2 ("Techne", Великобритания) в 60 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 мМ Трис-НСl), рН 6.8, 16.6 мМ сульфат аммония, 0.01%-ный

Твин-20, 1.0 мМ хлорид магния, 0.2 мМ каждого dNTP, 2 ед. полимеразы *Taq*, 0.1-0.2 мкг геномной ДНК, по 6 пикомолей каждого из олигонуклеотидных праймеров, последовательности которых приведены ранее [8]. 35 циклов ПЦР проводили по следующей программе: 94°C/1 мин, 60°C/1 мин, 72°C/1 мин, в том числе первая денатурация – 4 мин, последний синтез цепи – 7 мин.

Идентифицировали аллели в образцах ДНК с помощью аллельной "лестницы", синтезированной следующим образом: в реакционную смесь объемом 100 мкл, содержащую 10 пикомолей каждого из праймеров, вносили 1 мкл эквимольной смеси полного спектра аллелей после ее разведения в 10³ раз.

Продукты амплификации анализировали с помощью электрофореза в 8%-ном полиакриламидном геле, содержащем 7%-ный глицерин, нанося в лунки геля по 10 мкл реакционной смеси. По окончании электрофореза гель окрашивали се-ребром [15].

Таблица 1. Частоты встречаемости аллелей локуса АСТВР2 в русских популяциях Москвы, Томска и у удэгейцев

| Аллель | | Москвичи | | Томичи | | Удэгейцы | |
|----------------|--------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
| число повторов | длина, п. н. | число наблюдений | частота встречаемости | число наблюдений | частота встречаемости | число наблюдений | частота встречаемости |
| 15 | 238 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.006 ± 0.006 |
| 16 | 242 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0.018 ± 0.010 |
| 17 | 246 | 5 | 0.023 ± 0.010 | 3 | 0.028 ± 0.016 | 4 | 0.027 ± 0.015 |
| 18 | 250 | 6 | 0.027 ± 0.011 | 7 | 0.066 ± 0.024 | 3 | 0.018 ± 0.010 |
| 19 | 254 | 17 | 0.077 ± 0.018 | 11 | 0.104 ± 0.030 | 9 | 0.055 ± 0.018 |
| 20 | 258 | 11 | 0.050 ± 0.015 | 11 | 0.104 ± 0.030 | 20 | 0.122 ± 0.026 |
| 21 | 262 | 7 | 0.032 ± 0.012 | 8 | 0.075 ± 0.026 | 14 | 0.085 ± 0.022 |
| 22 | 266 | 13 | 0.059 ± 0.016 | 7 | 0.066 ± 0.024 | 7 | 0.043 ± 0.016 |
| 23 | 270 | 11 | 0.050 ± 0.015 | 11 | 0.104 ± 0.030 | 14 | 0.085 ± 0.022 |
| 24 | 274 | 7 | 0.032 ± 0.012 | 4 | 0.038 ± 0.019 | 13 | 0.079 ± 0.021 |
| 25 | 278 | 6 | 0.027 ± 0.011 | 2 | 0.019 ± 0.013 | 10 | 0.061 ± 0.019 |
| 26 | 282 | 10 | 0.045 ± 0.014 | 2 | 0.019 ± 0.013 | 6 | 0.037 ± 0.015 |
| 27 | 286 | 14 | 0.064 ± 0.016 | 2 | 0.019 ± 0.013 | 6 | 0.037 ± 0.015 |
| 28 | 290 | 24 | 0.109 ± 0.021 | 0 | 0.000 ± 0.000 | 3 | 0.018 ± 0.010 |
| 29 | 294 | 15 | 0.068 ± 0.017 | 1 | 0.009 ± 0.009 | 7 | 0.061 ± 0.019 |
| 30 | 298 | 7 | 0.032 ± 0.012 | 3 | 0.028 ± 0.016 | 10 | 0.061 ± 0.019 |
| 31 | 302 | 12 | 0.055 ± 0.015 | 5 | 0.047 ± 0.021 | 7 | 0.043 ± 0.016 |
| 32 | 306 | 22 | 0.100 ± 0.020 | 13 | 0.123 ± 0.032 | 6 | 0.037 ± 0.015 |
| 33 | 310 | 19 | 0.086 ± 0.019 | 9 | 0.085 ± 0.027 | 11 | 0.067 ± 0.020 |
| 34 | 314 | 10 | 0.045 ± 0.014 | 4 | 0.038 ± 0.019 | 5 | 0.030 ± 0.013 |
| 35 | 318 | 3 | 0.014 ± 0.008 | 2 | 0.019 ± 0.013 | 2 | 0.012 ± 0.009 |
| 36 | 322 | 1 | 0.005 ± 0.005 | 1 | 0.009 ± 0.009 | 3 | 0.018 ± 0.010 |
| Всего | | 220 | 1.000 ± 0.280 | 106 | 1.000 ± 0.383 | 164 | 1.000 ± 0.338 |

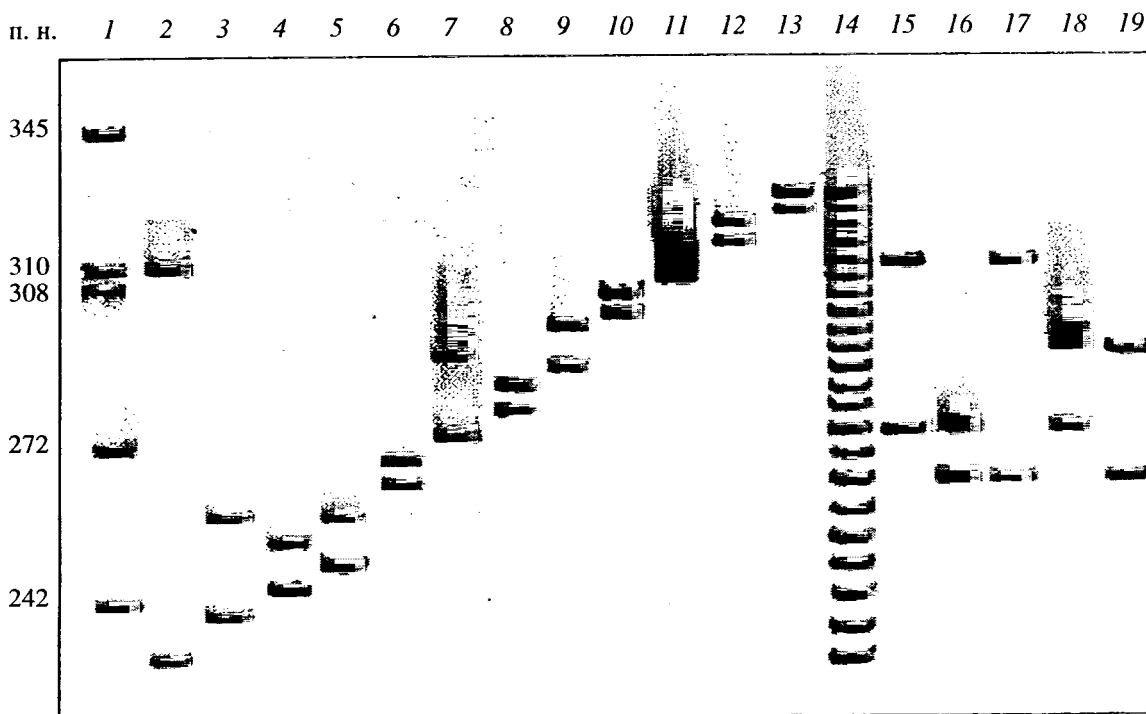


Рис. 1. Разделение в 8%-ном полиакриламидном геле амплифицированных аллелей локуса АСТВР2. 1 – фрагменты ДНК фага λ , расщепленной рестриктазой *Eco47I*; 2–13 – генотипирование 12 неродственных человек: 2 – 15/33, 3 – 16/20, 4 – 17/19, 5 – 18/20, 6 – 21/22, 7 – 23/27, 8 – 24/25, 9 – 26/28, 10 – 29/30, 11 – 31/32, 12 – 33/34, 13 – 35/36; 14 – аллельная “лестница”; 15–19 – семейный анализ, выявляющий следующие генотипы: 15 – 23/32 (отец), 16 – 21/23 (ребенок 1), 17 – 21/32 (ребенок 2), 18 – 23/27 (ребенок 3), 19 – 21/27 (мать).

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) на основе алгоритма, описанного ранее [16]. Программу *R × C* также использовали для сравнения распределения аллельных частот в различных популяционных выборках.

Ожидаемую гетерозиготность (H_{exp}) и следующие параметры информативности полиморфизма исследованных микросателлитов: среднюю вероятность исключения исследуемого образца по заданному генотипу (mean exclusion chance, *W*), *рМ* и информационное содержание полиморфизма (polymorphism information content, *РІС*) рассчитывали с помощью компьютерной программы на основе известных алгоритмов, приведенных нами ранее [17]. Индекс дискриминации (power of discrimination, *PD*) рассчитывали по формуле: $PD = 1 - PM$ [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мы провели анализ трех популяционных выборок, размер которых составил 110 (Москва), 53 (Томск) и 86 человек (удэгейцы). Обнаружено 22 аллеля микросателлита SE33 размером от 238

до 322 п.н. (рис. 1, табл. 1). В обеих городских популяциях найдено 20 аллелей длиной от 246 до 322 п.н. У удэгейцев найдены еще два аллеля размером 238 и 242 п.н. (табл. 1). Аллели локуса АСТВР2 нумеровали, исходя из числа содержащихся в них тетра-нуклеотидных повторов. Так, наименьший по длине аллель размером 238 п.н. включал 15 повторов и получил порядковый номер 15 [11]. В московской популяции с частотой 0.1 и выше встречались аллели 28 и 32, у томичей наиболее распространенными оказались аллели 19 и 32 (частота встречаемости 11.3%), а среди удэгейцев – аллель 20 с частотой встречаемости 0.122 (табл. 1).

Из 210 возможных генотипов обнаружены 76 (Москва) и 48 (Томск). У москвичей наибольшей распространенностью обладали гетерозиготы 32/33 и гомозиготы 19/19 (частоты встречаемости 0.055 и 0.036 соответственно). В томской выборке с наибольшей частотой (3.8%) наблюдали пять генотипов. У удэгейцев из 253 возможных генотипов найдено 64, из них наиболее часто встречались (4.9%) гетерозиготы 20/21 и 21/23 (табл. 2).

Наблюдаемое распределение частот встречаемости генотипов локуса АСТВР2 во всех популяционных выборках соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (значения вероятности 0.999–1.000, табл. 3). Это свидетельствовало об отсутствии

Таблица 2. Частоты встречаемости генотипов локуса АСТВР2 в русских популяциях Москвы, Томска и у удэгейцев

| Гено-тип | Москвичи | | Томичи | | Удэгейцы | | Гено-тип | Москвичи | | Томичи | | Удэгейцы | |
|----------|------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|----------|------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
| | частота встре-чаемости | число наб-люденый | частота встре-чаемости | число наб-люденый | частота встре-чаемости | число наб-люденый | | частота встре-чаемости | число наб-люденый | частота встре-чаемости | число наб-люденый | частота встре-чаемости | число наб-люденый |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 15-33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 20-24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.037 | 3 |
| 16-20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 20-25 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 16-22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 20-26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 16-34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 20-29 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 17-17 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 20-30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 17-19 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 20-31 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 17-20 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20-32 | 0.018 | 2 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |
| 17-24 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20-33 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 17-25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 20-36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 17-26 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 21-21 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 17-27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 21-22 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 17-32 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 21-23 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0.049 | 4 |
| 17-34 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 21-27 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17-36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 21-29 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 18-19 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 21-30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 18-20 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 | 21-32 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |
| 18-24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 21-33 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 18-26 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 21-34 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18-27 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22-22 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18-28 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22-23 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 18-30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 22-26 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18-31 | 0.018 | 2 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 22-27 | 0.027 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18-32 | 0 | 0 | 0.038 | 2 | 0 | 0 | 22-28 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18-33 | 0 | 0 | 0.038 | 2 | 0 | 0 | 22-29 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19-19 | 0.036 | 4 | 0.038 | 2 | 0 | 0 | 22-30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 19-20 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 | 22-31 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 19-21 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 22-32 | 0.018 | 2 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |
| 19-22 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 22-33 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 19-23 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 23-23 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.024 | 2 |
| 19-24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.024 | 2 | 23-24 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19-25 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.024 | 2 | 23-25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 19-26 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.024 | 2 | 23-27 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |
| 19-28 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 23-28 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19-32 | 0.027 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 23-29 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0.036 | 2 |
| 19-33 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0.024 | 2 | 23-30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 20-20 | 0.018 | 2 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 | 23-31 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 20-21 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.049 | 4 | 23-32 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20-22 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 | 23-33 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |

Таблица 2. (Окончание)

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|-------|-------|---|-------|---|-------|---|-------|-------|---|-------|---|-------|---|
| 24-24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 28-31 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24-25 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 | 28-33 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |
| 24-26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 28-34 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24-27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.024 | 2 | 28-35 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24-31 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 29-29 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 24-32 | 0.018 | 2 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 | 29-30 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24-33 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 29-31 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24-35 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 29-32 | 0 | 0 | 0.038 | 2 | 0 | 0 |
| 25-25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 29-34 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 25-26 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 29-35 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 25-27 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0.024 | 2 | 30-30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.024 | 2 |
| 25-28 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 30-31 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 25-34 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 30-32 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |
| 26-26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 30-33 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26-27 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 30-34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 26-28 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 30-35 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26-29 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 31-31 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26-32 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 31-32 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 26-33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 31-33 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0.024 | 2 |
| 26-34 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 31-34 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 27-28 | 0.009 | 1 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 32-33 | 0.055 | 6 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 |
| 27-29 | 0.018 | 2 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 32-34 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |
| 27-31 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 32-35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 27-32 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 32-36 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 27-33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 | 33-33 | 0.018 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27-34 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 | 33-34 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27-35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33-35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 27-36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33-36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28-28 | 0.027 | 3 | 0.038 | 2 | 0.012 | 1 | 34-34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.012 | 1 |
| 28-29 | 0.027 | 3 | 0.019 | 1 | 0.012 | 1 | 35-36 | 0 | 0 | 0.019 | 1 | 0 | 0 |
| 28-30 | 0.009 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | |

внутренней гетерогенности в исследованных популяциях.

Экспериментальное распределение частот встречаемости аллелей микросателлита SE33 было весьма сходным в обеих городских популяциях, о чем свидетельствовали результаты анализа $R \times C$ (рис. 2). Подобное сходство между популяциями Москвы и Томска мы наблюдали и для шести других ранее исследованных микросателлитов [5–7]. Близость характеров распределения аллелей в двух удаленных друг от друга городских популяциях России позволяет уверенно экстраполировать полученные нами данные о частотах встречаемости аллелей на всю русскую популяцию.

Мы также сравнили наши данные по распределению частот встречаемости аллелей локуса АСТВР2 с результатами аналогичных исследований зарубежных популяций. Максимальное число аллелей (26) данного локуса найдено у немецких европеоидов в результате типирования выборки из 180 человек [11]. В немецкой популяции с частотами выше 0.07 встречались аллели 16, 28 и 30. В обеих исследованных нами выборках из городских популяций не обнаружены низкомолекулярные аллели 11/16 длиной от 222 до 242 п.н., присутствовавшие у немцев [11]. У европеоидов США (выборка 39 человек) обнаружен 21 аллель с преобладанием аллелей 19 и 28-30, встречающихся с частотой выше 9% [8]. В сравнении с по-

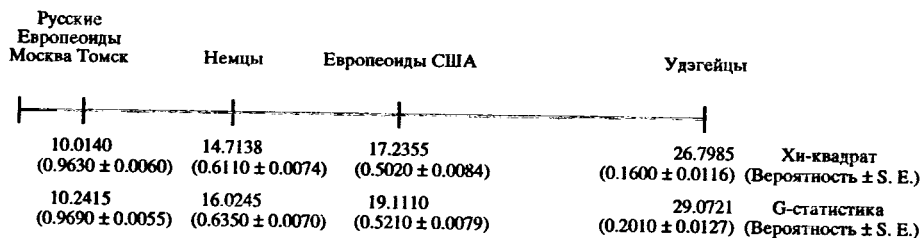


Рис. 2. Сравнительный анализ частотного распределения аллелей локуса АСТВР2 в московской популяции и в других популяционных выборках.

пуляциями Москвы и Томска у американцев европейского происхождения присутствовали аллели 13-16, не обнаруженные в первых двух популяциях. В то же время среди североамериканских европейцев отсутствовали высокомолекулярные аллели 34-36, найденные в обеих городских популяциях и у немцев [8, 11]. R × C-анализ не выявил каких-либо значимых различий в частотном распределении аллелей локуса АСТВР2 между популяциями Москвы и Томска и зарубежными европейцами (рис. 2).

Также отсутствуют достоверные различия в распределении аллелей этого локуса между исследованными нами городскими популяциями и удэгейцами, относящимися к монголоидной расе (рис. 2). Наблюдали статистически значимые различия в распределении аллелей других ранее исследованных нами микросателлитов (D6S366, D19S253, HUMCYAR04, HUMCD4, HUMF13A01) между популяциями, относящимися к разным расам (русские, монголоиды США, негры США) [5-7]. Отсутствие видимых межрасовых различий в данном случае можно объяснить значительным уровнем ассимиляции удэгейцев русскими и обменом генами между этими популяциями.

Менделевский характер наследования аллелей в локусе АСТВР2 показан в результате анализа представительных семей, включающих троих и четверых детей (рис. 1).

Как видно из данных нашего популяционного исследования (см. табл. 3), для минисателлита SE33 характерны высокие уровни аллельного полиморфизма (22 аллеля) и информативности (гетерозиготность 0.830-0.875 для разных исследованных выборок, PIC 0.874-0.887, PD 0.991-0.992). Большинство аллелей данного микросателлита достаточно широко представлено в исследованных популяциях; нет выраженного преобладания одного-двух аллелей, что характерно для таких мини- и микросателлитных локусов, как D1S80 [12, 15], АРОВ [19], RB1 [17, 20], HUMTH01 [2-4, 11], HUMOYAR04 [3, 17] и ряда других. Это придает однородность характеру распределения аллелей локуса АСТВР2 и увеличивает полезность данного локуса при идентификационном анализе.

Мы наблюдали успешную амплификацию аллелей микросателлита SE33 (на основе геномной ДНК из различных источников – слюна, корень волоса, пятна крови (данные не показаны), что является важным свидетельством пригодности этого микросателлита для идентификационных исследований.

Добавление локуса АСТВР2 к имеющейся панели из шести микросателлитов увеличивает ее разрешающую способность в 126 раз и доводит объединенное значение рМ тест-системы до 6.62×10^{-9} , что гарантирует точную идентификацию личности в популяции размером 161.2 млн. человек.

Таким образом, разработанная нами идентификационная панель из шести микросателлитных локусов позволяет провести точную идентификацию личности для всего населения России.

Таблица 3. Значения критериев полиморфизма, тестов χ^2 и G-статистики для проверки на соответствие закону Харди-Вайнберга для локуса АСТВР2 у удэгейцев и в городских популяциях Москвы и Томска

| Параметры | Москвичи | Томичи | Удэгейцы |
|--------------------------|--------------------|---------------|--------------------|
| H_{obs} | 0.873 | 0.830 | 0.854 |
| H_{exp} | 0.935 | 0.932 | 0.937 |
| рМ | 0.008 | 0.009 | 0.008 |
| PD | 0.992 | 0.991 | 0.992 |
| W | 1.411 | 1.458 | 1.447 |
| PIC | 0.887 | 0.874 | 0.885 |
| χ^2 | 90.1410 | 41.2095 | 70.1047 |
| Вероятность (±S. E.)* | 0.9990 (0.0010) | 1.0000 (0) | 0.9990 (0.0010) |
| G-статистика | 120.7776 | 54.1729 | 94.2545 |
| Вероятность (±S. E.)* | 0.9990 (0.0010) | 1.0000 (0) | 0.9990 (0.0010) |

* Стандартная ошибка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Huang T. H.-M., Hejtmantik J.F, Edwards A., Pettigrew A.L, Herrera C.A., Hammond H.A., Caskey C.T. // *Am. J. Hum. Genet.* 1991. V. 49. P. 1312-1319.
2. Edwards A., Hammond H.A., Jin Li, Caskey C.T., Chakraborty R. // *Genomics.* 1992. V. 12. P. 241-253.
3. Hammond H.A., Jin Li, Caskey C.T., Chakraborty R. // *Am. J. Hum. Genet.* 1994. V. 55. P. 175-189.
4. Urquhart A., Oldroyd N.J., Kimpton G.P., Gill P. // *Bio-Techniques.* 1995. V. 18. P. 116-121.
5. Чистяков Д.А., Ефремов И.А., Одинокова О.И., Носиков В.В. // *Молекуляр. биология.* 1996. Т. 30. С. 1274-1283.
6. Чистяков Д.А., Челнокова М.В., Ефремов И.А., Ступакова М.В., Одинокова О.И., Носиков В.В. // *Генетика.* 1997. Т. 33. С. 262-268.
7. Туракулов Р.И., Чистяков Д.А., Одинокова О.И., Носиков В.В. // *Генетика.* 1997. Т. 33. С. 829-835.
8. Polymeropoulos M., Rath D., Xiao H., Merril C. // *Nucleic Acids Res.* 1992. V. 20. P. 1432.
9. Warne D., Watkins C., Bodfish P., Nyberg K., Spurr N. // *Nucleic Acids Res.* 1991. V. 19. P. 6980.
10. Ng S., Gunning P., Eddy R., Ponte P., Leavitt J., Kedes L., Shows L. // *Cell Genet.* 1985. V. 40. P. 712.
11. Weigand P., Budowle B., Rand S., Brinkmann B. // *Int. J. Leg. Med.* 1993. V. 106. P. 315-320.
12. Scowasch K., Wiegand P., Brinkmann B. // *Int. J. Leg. Med.* 1992. V. 105. P. 165-168.
13. Johns M.B., Paulus-Thomas J.E., // *Anal. Biochem.* 1989. V. 180. P. 276-278.
14. Walsh P., Metzger D., Higuchi R., // *BioTechniques.* 1991. V. 10. P. 506-513.
15. Budowle B., Chakraborty R., Giusti A.M., Eisenberg A.J., Allen R.C. // *Am. J. Hum. Genet.* 1991. V. 48. P. 137-144.
16. Roff D.A., Bentzen P. // *Mol. Biol. Evol.* 1989. V. 6. P. 539-545.
17. Ефремов И.А., Чистяков Д.А., Носиков В.В. // *Молекуляр. биология.* 1996. Т. 30. С. 307-318.
18. Sensabaugh C.F. // *Forensic Science Handbook / Ed. Saferstein R., Prentice-Hall Englewood Cliffs.,* 1982. P. 340-415.
19. Deka R., Chakraborty R., Ferrell R. // *Genomics.* 1991. V. 11. P. 83-92.
20. Scharf S.J., Bowcock A.M., McClure G., Klitz W., Yandell W., Elrich A.H. // *Am. J. Hum. Genet.* 1992. V. 50. P. 371-381.