

УДК 340.6:575.113.1 (=512.154)

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЫРГЫЗСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ
ПО 19 МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ, ИСПОЛЪЗУЕМЫМ ДЛЯ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ
И В СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ**

Ж.Т. Исакова, В.Н. Бабенко, А.А. Алдашев

Впервые для кыргызской популяции получены оценки генетической вариабельности 19 микросателлитных локусов, используемых в ДНК-идентификации. Выявлена высокая генетическая гетерозиготность кыргызской популяции. В 19 STR-локусах было выявлено 173 вариантов аллелей.

Ключевые слова: микросателлиты; STR-маркеры; индекс отцовства; судебно-медицинская экспертиза; кыргызская популяция.

**GENETIC CHARACTERISTIC OF KYRGYZ POPULATION OF THE OVER
THE PANEL OF 19 MICROSATELLITE LOCI USED FOR DNA IDENTIFICATION
AND IN FORENSIC MEDICAL EXAMINATION**

J.T. Isakova, V.N. Babenko, A.A. Aldashev

Estimations of genetic variability of 19 microsatellite loci used for DNA identification were received for Kyrgyz population for the first time. A high genetic heterozygosity of Kyrgyz population was revealed. 173 alleles were identified in 19 STRs.

Key words: microsatellites; short terminal repeat (STR); paternity index; forensic medical examination; Kyrgyz population.

В судебно-медицинской и криминалистической экспертизе при ДНК-идентификации личности и установлении родства используются полиморфные микросателлитные, или STR-локусы (Short Tandem Repeat), относительно равномерно распределенные по всем хромосомам человека [1, 2]. В связи с мультиаллельностью STR-локусов профиль генотипов по нескольким полиморфным локусам получается уникальным для каждого человека и для каждой популяционной группы, что снижает вероятность случайных совпадений генотипов [3].

На достоверность и эффективность результатов ДНК-идентификации, кроме выбора полиморфных локусов, влияет выбор референтной популяции для сравнения.

Генофонд любой этнической группы формируется вследствие взаимодействия многовековых эволюционных и исторических процессов и имеет свои отличительные особенности, проявляющиеся в разной частоте встречаемости вариантов аллелей в STR-локусах. В связи с этим в каждом конкретном случае для достоверного сравнения генотипов

необходимо использовать референтную популяцию индивида, оставившую биологические следы. Использование неадекватной референтной группы может привести к снижению итоговой вероятности идентификации на несколько порядков. В связи с этим целью нашей работы было определить частоту встречаемости аллелей в аутосомных STR-локусах, используемых для ДНК-идентификации и в судебно-медицинской экспертизе, для создания референтной группы в кыргызской популяции.

Материал и методы. В эксперименте были использованы образцы ДНК 74 неродственных этнических кыргызов. Выделение ДНК проводили из цельной венозной крови стандартным фенол-хлороформным методом. Амплификацию 19 STR-локусов и маркера – гена амелогенина – проводили методом мультиплексной ПЦР (один мультиплекс на все 19 локусов) в условиях, рекомендуемых производителем коммерческого набора PowerPlex ESC17 («Promega») [4] и ABI Cofiler. Маркеры Penta E и Penta D были исключены из-за большей ретардации эволюционной динамики длинных повторов (Jarve et al., 2009) [5]. Флуоресцентно-мече-

ные ПЦР-фрагменты разделяли методом капиллярного гель-электрофореза на генетическом анализаторе ABIPrism 3110 («Applied Biosystems»). Чтение генотипов проводили помощью программного обеспечения Gene Mapper («Applied Biosystems»). Качество генотипирования контролировали, используя стандартный набор аллелей всех 19 микросателлитов («лэддер»), поставляемый в составе набора PowerPlex 16, загружая «лэддер» в каждом цикле генотипирования (в каждом прогоне).

Методы статистической обработки результатов. Данные анализировали с использованием современных статистических подходов, применяемых в популяционной генетике и судебной медицине. Соответствие наблюдаемого распределения генотипов равновесию Харди – Вайнберга (PXB) оценивали с использованием точного теста по Гуо и Томпсону [6], реализованного в пакетах Arlequin 3.5 (Excoffer, Lischer, 2010) [7]. Статистическую достоверность PXB оценивали при числе шагов марковской цепи 1000000 и числе шагов сброса памяти – 100000. Генетическую вариативность 19 STR анализировали с помощью пакета Arlequin. Дискриминационный потенциал 19 микросателлитных локусов оценивали с помощью стандартных судебно-медицинских показателей, включающих вероятность случайного совпадения генотипов (MP, Matching Probability), вероятность дискриминации неродственных индивидов (PD, Power of Discrimination), исключающую способность (PE, Power of Exclusion) и индекс отцовства (PI, Paternity Index). В работе была использована программа Powerstats Version 1.2, Promega Corporation [8].

Результаты и обсуждение. Представленные данные получены на основе анализа полиморфизма 19 STR-локусов у 74 неродственных этнических кыргызов. Генотипированные локусы являются стандартными и входят в число основных локусов национальной базы данных США (система CODIS) [9–11], Европы (ENFSI, EDNAP, ESS) [12–14].

Для описания генетического разнообразия вычисляли процент полиморфных локусов при 95%-ном критерии значимости (P_{95}). Локус считали полиморфным, если частота распространенного аллеля не превышала 0,95. В исследованной популяции кыргызов все 19 маркерных локуса в соответствии с 95%-ным критерием были полиморфны (таблица 1).

Одним из важных показателей, характеризующих внутривидовое генетическое разнообразие, является уровень гетерозиготности. Гетерозиготные генотипы являются потенциальными источниками генетической изменчивости. Анализ

19 STR-локусов показал высокую степень гетерозиготности кыргызской популяции (таблица 2). Средний уровень внутривидового генетического разнообразия (ожидаемой гетерозиготности, H_e) составил 78,6 %. При этом наиболее изменчивыми были четыре локуса – SE33, D1S1656, D18S51 и FGA, где ожидаемая средняя гетерозиготность колебалась от 93 % по локусу SE33 и до 84 % по локусу D1S1656. Наименее изменчивым является локус TPOX, средняя ожидаемая гетерозиготность которого составила 60 % (см. таблицу 2).

Таблица 1 – Генотипы и аллели, выявленные в 19 STR-локусах кыргызской популяции

Локусы	Кол-во генотипов, n	Кол-во аллелей, n	Разброс аллелей
CSF1PO	12	6	6
D10S1248	18	6	5
D12S391	32	11	11
D13S317	19	7	6
D16S539	18	7	6
D18S51	37	13	12
D1S1656	36	13	8
D21S11	26	12	7
D22S1045	14	6	6
D2S441	15	7	6
D3S1358	13	6	6
D5S818	17	8	7
D7S820	18	7	6
D8S1179	23	8	8
FGA	29	13	9
SE33	58	22	18
TH01	16	7	5
TPOX	11	6	5
vWA	20	8	7
Среднее	22,7	9,1	7,5

Другим важным показателем генетического разнообразия является богатство аллельных вариантов, которое зависит от многочисленных мутационных событий, происходящих в ряду биологических и исторических процессов.

В кыргызской популяции при анализе 19 STR-локусов было выявлено всего 173 типа аллелей, среднее число аллелей на локус составило 9,1 (см. таблицу 1). Наибольшее число аллелей обнаружено в локусах SE33 (22), D1S1656, D18S51 и FGA (13). Наибольшим числом повторов характеризуется локус SE33 (разница в 18 повторов между самым коротким и самым длинным аллелями).

Наименее полиморфными были локусы: D3S1358, D10S1248, D22S1045, TPOX и CSF1PO, имеющие по 6 аллелей. В остальных 10 микроса-

теллитах число выявленных аллелей варьировало от 7 до 12.

В популяции кыргызов из 19 проанализированных распределений генотипов в 3 (D21S11, D22S1045, TH01) наблюдалось отклонение от РХВ ($p < 0,05$). Но при поправке Бонферрони на множественное сравнение при 19 маркерах декларируемое значение уровня значимости (U_3), соответствующее U_3 для единичного сравнения (0,05), равно 0,0026. Таким образом, распределение генотипов ни в одном локусе не отличается достоверно от РХВ (см. таблицу 2).

Выявленные в кыргызской популяции мажорные варианты аллелей в локусах D3S1358, D5S818, D8S1179, D13S317, D22S104, FGA, CSF и vWA являются универсальными и доминирующими и по частоте встречаемости оказались близким к значениям в других популяциях США, Европы и Азии [14–17].

В то же время кыргызская популяция по распределению аллелей в отдельных локусах (D7S820, D13S317 и D21S11) отличалась от других этнических групп. Так, в локусе D7S820 аллель 8, который был выявлен у 21 % кыргызов, у японцев, китайцев и корейцев встречается несколько реже – 11–16 % [15, 16], как и у латиноамериканцев 8–14 % [15].

При амплификационном анализе локуса D13S317 выявлено 7 аллелей. По частоте встречаемости доминировали для аллельных варианта – 11 (29,7 %) и 12 (24,3 %). Частота встречаемости аллеля 8 в локусе D13S317 среди популяций значительно отличается. Так, в кыргызской популяции встречаемость аллеля 8 составила 11,5 % и оказалась ближе к данным тувинцев (10–13 %) [17] и хакасов (13 %) [18, 19]. Частота встречаемости этого аллеля достаточна высока в азиатских популяциях: от 36 % – у вьетнамцев и до 21 % – у корейцев [16]. Встречаемость аллеля 8 несколько меньше среди американцев – 9–13 %, латиноамериканцев – 6–12 %. Среди афроамериканцев аллель 8 встречается в 1–5 % случаев [11]. Таким образом, аллель 8 является более характерным для азиатской популяции [20, 21].

В локусе D21S11 было выявлено 12 вариантов аллелей. Наибольшая частота встречаемости, выявленная для аллельных вариантов, – 30 (33,1 %), 29 (25,0 %), 32,2 (12,2 %), немногим реже – 31,2 (9,4 %) и 28 (6,08 %). Необходимо отметить, что частота встречаемости аллеля 28 резко варьирует от популяции к популяции. Наибольшая концентрация этого аллеля наблюдается у афроамериканцев (26–21 %), затем у белого населения американцев – 13–17 %, и у латиноамериканцев – 7–12 %. В азиатской популяции (японцы, китайцы, корейцы) аллель 28 встречается в весьма низких концентрациях у 3–6 % людей [9, 13, 20].

Локус ТРОХ является наименее изменчивым и представлен 6 аллелями. Причем, частота встречаемости аллельного варианта 8 значительно превышает аналогичные значения других аллелей и частота его встречаемости в кыргызской популяции составила 55 %. В локусе ТРОХ на втором месте по частоте встречаемости находится аллель 11 (28 %). В целом, результаты анализа частот аллелей локуса ТРОХ у кыргызов показывают значения близкие для хакасов, где частота встречаемости аллелей 8 и 11 составила 57 и 21 % соответственно [18]. В азиатской популяции (японцы, корейцы, китайцы, вьетнамцы), а также у населения разных штатов США в локусе ТРОХ частота встречаемости аллеля 8 колеблется от 53 до 39 %, а аллеля 11 – от 40 до 24 % [10, 15].

Идентификационный потенциал 19 STR-маркеров в популяции кыргызов. Для оценки возможности использования исследованных STR-локусов для ДНК-идентификации личности и установлении родства в судебно-медицинской и криминалистической экспертизе были определены стандартные популяционно-статистические показатели. Эти показатели включают вероятность случайного совпадения генотипов (MP-matching probability), вероятность дискриминации неродственных индивидов (PD – power of discrimination), исключающую способность (PE-power of exclusion), индекс отцовства (PI – paternity index). При этом показатели MP и PD используются при ДНК-идентификации личности, а значения PE и PI используются при определении отцовства.

В целом для популяции кыргызов по 19 локусам получено очень высокое значение дискриминирующего потенциала ($PD = 0,999999995$). Вероятность случайного совпадения генотипов по 19 STR-маркерам составила 1 из $2,54 \times 10^{22}$ индивидов. Показатели информативности определения отцовства в популяции кыргызов (CPI) составила 0,9999999613, вероятность исключения (PE) – 0,999999999.

Таким образом, впервые для кыргызской популяции получены оценки генетической варибельности 19 микросателлитных локусов, используемых в ДНК-идентификации. Выявлена высокая генетическая гетерозиготность (78,6 %) кыргызской популяции. Приведенные частоты аллелей могут быть референтными для расчета вероятностей идентификации для генетической экспертизы, включая идентификацию личности и тестировании отцовства. Полученные результаты являются началом создания собственной референтной группы для ДНК-идентификации в судебно-генетической экспертизе в Кыргызстане.

Таблица 2 – Генетическая вариабельность кыргызской популяции по 19 STR-локусам, используемым для ДНК-идентификации

Аллели	D1 S1656	D2 S441	D3 S1358	D5 S818	D7 S820	D8 S1179	D10 S1248	D12 S391	D13 S317	D16 S539	D18 S51	D21 S11	D22 S1045	FGA	TH01	vWA	TPOX	CSF	SE33
5															0,007				
6															0,135				
7				0,04	0,020										0,250				
8				0,01	0,216	0,020			0,176	0,026					0,155		0,553		
9		0,007		0,02	0,123				0,081	0,257					0,318		0,095	0,014	
9.3															0,128				
10		0,230		0,12	0,155	0,095			0,115	0,095					0,007		0,027	0,304	
11	0,067	0,453		0,40	0,270	0,054			0,297	0,264			0,257				0,284	0,297	
12	0,041	0,142	0,007	0,32	0,196	0,081	0,068		0,243	0,270	0,033		0,007				0,034	0,324	
13	0,073	0,027		0,08	0,020	0,338	0,264		0,068	0,068	0,223					0,014	0,007	0,054	
14	0,068	0,135	0,081	0,01		0,203	0,323		0,020	0,020	0,169		0,047		0,121				0,014
15	0,250	0,007	0,277			0,182	0,176	0,007			0,115		0,236		0,081			0,007	0,020
15.3	0,014																		
16	0,270		0,371			0,027	0,142				0,155		0,291			0,223			0,014
16.3	0,020																		
17	0,061		0,169				0,027	0,108			0,095		0,162			0,270			0,020
17.3	0,061							0,014											
18	0,007		0,095					0,196			0,034			0,01		0,230			0,085
18.3	0,061																		
19								0,304			0,061			0,01		0,047			0,074
19.3	0,007																		
20								0,167			0,034			0,08		0,014			0,074
21								0,041			0,047			0,09					0,054
21.2														0,01					0,014
22								0,088			0,020			0,18					0,014
22.2														0,01					0,014
23								0,034			0,007			0,15					0,007
23.2											0,007			0,01					0,014
24								0,034			0,007			0,25					
24.2																			0,041
25														0,14					
25.2																			0,108
26								0,007					0,05						
26.2																			0,108
27												0,020		0,01					
27.2																			0,034
28												0,060							
28.2																			0,061
29												0,250							

Благодарность. Авторы выражают искреннюю признательность сотрудникам лаборатории популяционной генетики человека Медико-генетического научного центра РАМН (г. Москва), руководимой доктором биологических наук, профессором Е.В. Балановской, за предоставленную возможность проведения генотипирования STR-локусов.

Литература

1. Butler J.M. Forensic DNA Typing. Biology, Technology and Genetics of STR Makers. Academic Press, 2 edition, 2005.
2. Wong Z., Wilson V., Patel I. et al. Characterization of a panel of highly variable minisatellites cloned from human DNA // Ann. Hum. Genet. 1987. V. 51. P. 269–288.
3. Human Identification: the use of DNA markers / ed. B. Weir. London: Kluwer Acad. Publ., 1995.
4. Gill P., Fereday L., Morling N., Schneider P.M. New multiplexes for Europe-amendments and clarification of strategic development // Forens Sci Int. 2006. V. 163. P. 155–157.
5. Järve M, Zhitovovskiy L.A, Rootsi S. et al. Decreased rate of evolution in Y chromosome STR loci of increased size of the repeat unit // PLoS One. 2009. V. 4 (9).
6. Guo S., Thompson E. // Biometrics. 1992. V. 48. P. 361–372.
7. Excoffier L., Lischer H.E. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Molecular Ecology Resources. 2010. 10. P. 564–567.
8. Powerstats Version 1.2, Promega Corporation.
9. Morling N., Allen R.W., Carracedo A., et al. Allele frequencies of nine STR loci – D16S539, D7S820, D13S317, CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS and vWA – in the population from Alagoas, northeastern Brazil // Forensic Science International. 2002. P. 187–188.
10. Budowle B., Moretti T.R., Baumstark A.L. et al. Population date on the thirteen CODIS core short tandem repeat loci in African Americans, U.S. Caucasians, Hispanics, Bahamians, Jamaicans and Trinidadians // J Forensic Sci. 1999. V. 44. P. 1277–1286.
11. Budowle B., Shea B., Niezgoda S., Chakraborty R. Codis STR loci Data from 41 Sample population // J of Forensic Sciences. 2001. 46 (3). P. 453–489.
12. Mayr W.R., Olaisen B., Pascali V.L., Schneider P.M. Paternity Testing Commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on genetic investigations in paternity cases // Forensic Sci. Intern. 2002. Vol. 129. P. 148–157.
13. ENFSI DNA Working Group: ENFSI survey on DNA databases in Europe, Sept. 2008. URL. http://www.enfsi.eu/get_doc.php?uid=227
14. Martin, P.D., Schmitte, H., Schneider P.M. A brief history of the formation of DNA databases in forensic science within Europe // Forensic Sci. Int. 2001. 119. P. 225–231.
15. Chakraborty R., Smouse P.E., Neel J.V. Population amalgamation and genetic variation: observations on artificially agglomerated tribal populations of Central and South America // Amer J Hum Genet. 1988. № 43. P. 709–725.
16. Kido A., Susukida R, Oya M. et al. Allele frequency distributions of four STR loci vWA, TH01, TPOX and F13A01 in three Asian populations (Japanese, Bangladeshis and Indonesians) // International Congress Series. 2003. P. 105–108.
17. Кучер А.Н. Тувинцы: гены, демография, здоровье / А.Н. Кучер, Э.А. Ондар, В.А. Степанов и др. Томск: Печатная мануфактура, 2003. С. 84–94.
18. Степанов В.А. Характеристика популяций Российской Федерации по панели пятнадцати локусов, используемых для ДНК-идентификации и в судебно-медицинской экспертизе / В.А. Степанов, О.П. Балановский, А.В. Мельников и др. // Acta nature. 2011. № 2 (9). С. 59–71.
19. Derenko M.V., Czarny J., Malyarchuk B. A. et al. The Variation of 15 Autosomal Microsatellite DNA Loci in Five Indigenous Populations of South Siberia // Molecular Biology. 2007. Vol. 41; № 4. P. 531–538.
20. Xin Q., Jian W, Yu-Li H. et al. A genetic study of 15 STR loci in Chinese East Mongolian population // J Forensic Medicine. 2004. V. 20. P. 164–167.
21. Liu Y., Huo Zh. Y., Tang H. et al. Frequency data for 15 STR loci and forensic use in a Beijing-Han population // International Congress Series 1239. 2003. P. 267–270.