

Изучение редких и уникальных полиморфизмов Y-хромосомы в армянской популяции

К.Г.Оганесян

Центр медицинской генетики НАН РА

375010 Ереван, ул. Закияна, 5/1

Ключевые слова: Y-хромосома, полиморфизм, гаплотип, гаплогруппа, тандемные повторы, indels, snips

Людей во все времена интересовало их происхождение. Традиционно прошлое исследовалось историками, археологами и палеонтологами, в то время как косвенные свидетельства о современных человеческих популяциях искали лингвисты, а в наши дни – молекулярные биологи.

Прошрое десятилетие ознаменовало новую эру эволюционных исследований, особенно в области эволюции человека. Каждый индивидуум получает свою ДНК от предков, в которой накапливается вся генетическая информация, передающаяся от разных поколений. В ДНК современных людей наблюдаются индивидуальные различия (полиморфизм), изучение которых дает информацию о родстве и генетической истории каждого из них. Новейшие технологии на сегодняшний день позволяют прочесть эту информацию.

Вследствие рекомбинации X-хромосомы и аутосомы имеют множественных предков. Современные митохондриальные геномы имеют одного предка по материнской линии, а Y-хромосомы – одного по отцовской линии. Митохондриальная ДНК (мтДНК)

является маленькой (16,5Кб) кольцевой молекулой с высокой плотностью генов, последовательность которых известна [1].

Y-хромосома, напротив, является большой линейной молекулой (~60Мб), в отличие от мтДНК она находится в ядре и не проходит через женский митоз или мейоз. Y-хромосома включает незначительное количество известных генов и, помимо уникальных последовательностей, содержит много различных последовательностей, таких как тандемные и рассеянные повторы [2].

Большинство генетиков и палеонтологов склоняются к гипотезе "Out of Africa", согласно которой современный человек произошел в Африке около 200 000 лет назад от одного предка, после чего люди распространились по всему миру [3].

Другая теория – многорегиональная, согласно которой человеческая популяция возникла в разных местах независимо друг от друга [4] (рис.1).

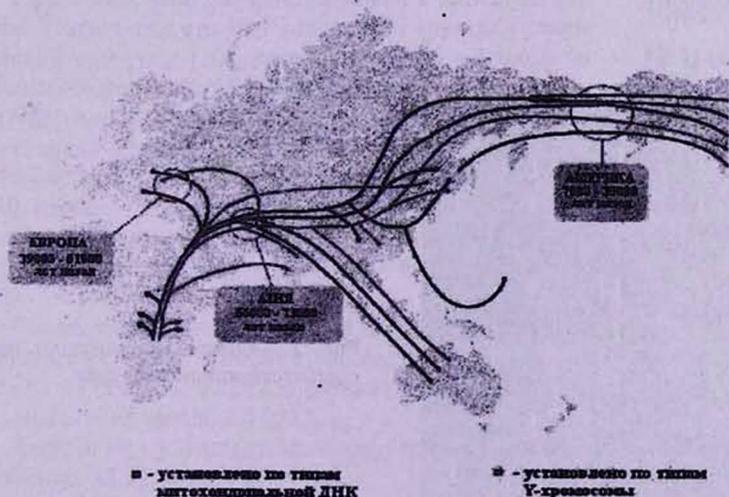


Рис. 1. Пути и время расселения людей по генетическим данным

Одной из целей исследования Y-хромосомы является составление древа, демонстрирующего эволюционные взаимосвязи современных Y-хромосом, для определения ее происхождения и ветвей.

Нами проведено исследование полиморфизмов (генетических маркеров) Y-хромосомы в армянской популяции.

Армянское нагорье расположено у северной границы Ближнего Востока над Сирией и Месопотамией. Оно разделяет Анатолийское плато до запада от горного Иранского Азербайджана и Курдистана. Армения постепенно переходит в высокогорье Центральной Анатолии, а доступ к Черному морю в направлении северо-запада закрыт Понтийскими Альпами. Армянское плато лежит на высоте 1500–2000 м над уровнем моря. Армянский язык является независимой языковой семьей индоевропейской группы.

Археологические раскопки свидетельствуют, что Армянское плато в Восточной Анатолии было одним из самых ранних колыбелей цивилизации, датируемой ранним каменным веком [5].

Что такое генетические маркеры? Генетические маркеры представляют собой некодируемые участки хромосом, которые подвержены изменениям, происходящим из поколения в поколение. К ним относятся вставки или делеции ДНК в характерных участках хромосом (indels), однонуклеотидные полиморфизмы (snips или SNPs), в которых меняется определенный нуклеотид (A→G, T→C), микро- и мини-сателлиты. Вставки или делеции (indels) и однонуклеотидные полиморфизмы (snips) происходят довольно редко, и они считаются полиморфизмами редких и уникальных событий. Микросателлиты являются последовательностями нуклеотидов длиной в 2–5 нуклеотидов, повторяющихся в виде тандемов. Размер повторяющихся единиц в мини-сателлитных последовательностях может меняться от 3–4 до 10–15 нуклеотидов [6].

Нами использованы 16 биаллельных полиморфиз-

мов Y-хромосомы с целью проведения анализа 486 образцов из 7 областей Армении. Гаплогруппы Y-хромосом, выявленные среди армянских мужчин, сравнивали с гаплогруппами Y-хромосом соседних стран.

Гаплогруппа включает индивидуумы со схожими биаллельными полиморфизмами и гаплотипами. Гаплотип представлен количеством повторов определенных аллелей или маркеров на Y-хромосоме. Гаплотип – набор сцепленных аллелей, наследуемых вместе.

Материал и методы

Образцы крови были взяты от 486 неродственных мужчин из разных областей современной Армении. Нами были выделены следующие районы Армении: Карабах, Лори, Ширак, Сюник, Севан, Арарат и Западная Армения (в этот район были сгруппированы мужчины, имеющие предков из разных областей Западной Армении). Исследуемые индивидуумы были отобраны и сгруппированы, принимая во внимание миграцию в 3 поколениях.

Материалом исследования служила ДНК, выделенная из цельной периферической крови. Для выделения геномной ДНК использовали специальный набор фирмы "Purgene" - "Gentra", США.

Образцы ДНК были генотипированы 16 биаллельными маркерами, которые являются вставками или делецией ДНК в характерных участках хромосом (indels), и однонуклеотидными полиморфизмами (SNPs): M17(del), M175(del), M20A, M9G, M45A, M89T, M173C, M130T(RPS4YT), M52C, M170C, M172G, M124T, M96C, M174C, TatC, YAP(Y Alu вставка). Наименование маркеров проведено согласно Underhill et al. [7], за исключением YAP – согласно Hammer et al. [8] и TatC – согласно Zerjal et al. [9].

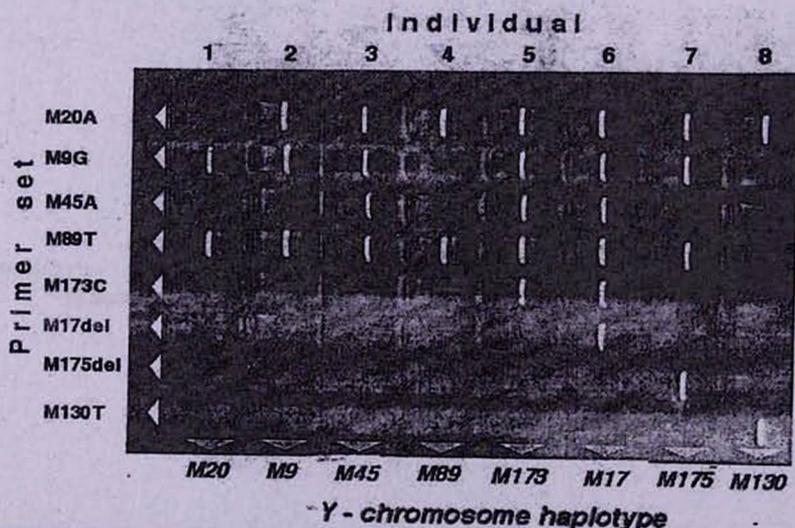


Рис. 2. Образец визуализации по соответствующим маркерам.

Типирование проводилось методом аллель-специфичной ПЦР-амплификации со специфичными праймерами, предназначенными для амплификации только в присутствии характерного полиморфизма.

Генотипирование образцов проводилось в два этапа. На первом этапе были генотипированы следующие маркеры: M20A, M9G, M45A, M89T, M173C, M17 (del), M175(del), M130T(RPS4YT).

Маркер M20A является предковым, он создан как контроль амплификации. Например, при наличии полиморфизма M20A нет амплификации на уровне M20A, а имеется амплификация на уровне M9G и M89T. Если есть наличие полиморфизма M45A, то наблюдается амплификация на M20A, M9G, M45A и M89T (рис.2).

Исходя из результатов первого этапа, планируется второй этап. Например, если на первом этапе выявлен полиморфизм M9G, то в дальнейшем эта ДНК субтипировается на TatC; M89T на M52C, M170C, M172G и т.д. Таким образом, соответственно субтипироваются остальные маркеры.

Визуализация продуктов амплификации проводится в 1,5% агарозном геле ("Sigma", "Invitrogen").

Результаты и обсуждение

Используя 16 полиморфизмов редких уникальных событий, были генотипированы 486 образцов и идентифицировано 7 гаплогрупп Y-хромосомы (номенклатура гаплогрупп согласно Консорциуму по Y-хромосоме - UCC, 2000, (α) Jobling and Tyler-Smith). В группе, исследуемой нами, были выявлены следующие гаплогруппы (Hg): Hg1, Hg2, Hg3, Hg9, Hg21, Hg26, Hg28.

Частота гаплогрупп в процентах, выявленная в изученной нами группе, показана на рис. 3.

Hg1 – наиболее распространенная в Западной Европе. Полагают, что Hg1 исходит из группы Граветтанской культуры [10], которая прибыла в Европу из Средней Азии около 25 000 лет назад.

Частота Hg1, согласно O.Semino et al. [10], составляет: среди ирландцев – 81%, шотландцев – 79, басков – 73, испанцев – 68, французов – 50, евреев-сефардов – 30, персов – 27, турок – 20, грузин – 19%.

Согласно данным S.Wells et al. [11], высокая частота Hg1 отмечается у туркмен – 52% и у армян – 43%.

Согласно данным M. Weale et al. [12], частота Hg1 в разных регионах Армении составляет: в Арарате – 0.2273, на севере – 0.2222, в Сюнике – 0,40, в Карабахе – 0.4279, на западе – 0.2222.

Частота Hg1 в исследуемых нами группах в общем составила 32,52% (рис. 3).

Распределение гаплогрупп по регионам отображено в таблице.

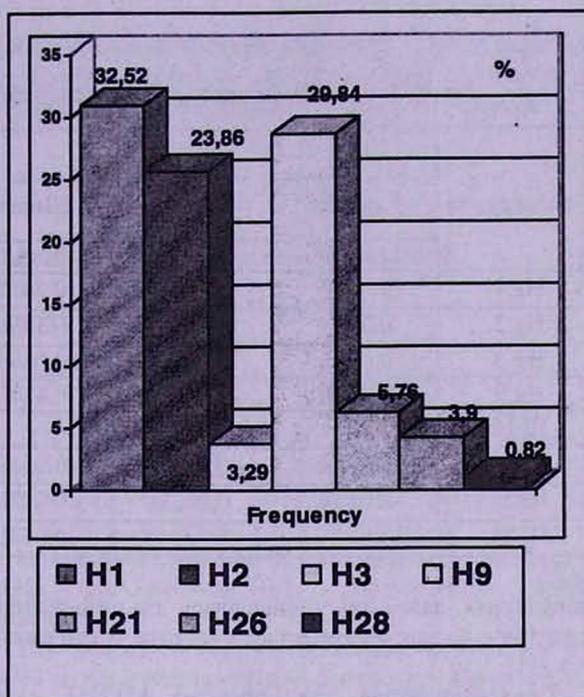


Рис. 3. Распределение частоты гаплогрупп Y-хромосомы в армянской популяции

Hg2 наиболее часто встречается в Южной и Восточной Европе. Считается, что представители этой группы являются потомками неолитических фермеров (новый каменный век) Среднего Востока, которые были первыми, кто начали заниматься земледелием в Европе ~ 8000 лет назад. По данным O.Semino [10], процент Hg2 у шотландцев – 19, басков – 8, французов – 25, португальцев – 16, турок – 25, грузин – 48.

Согласно исследованиям M. Weale et al. [12], частота Hg2 в различных регионах Армении составляет: в Арарате – 0.5909, на севере Армении – 0.5873, в Сюнике – 0.4286, в Карабахе – 0.4233, в Западной Армении – 0.5778.

В исследованной нами группе частота Hg2 составила 23,86%. Распространение Hg2 в исследованных нами районах показано в таблице.

O.Semino и соавт. [10] полагают, что Hg 9(SNP M172G) около 15 000–20 000 лет. Генетический вклад неолитических фермеров в европейский геном наиболее ярко выражен в популяциях, проживающих вдоль Средиземноморского побережья, по сравнению с Центральной Европой. Расселение неолитических фермеров повлияло больше на Южную Европу, чем на Центральную [10]. Процент Hg9, по данным O.Semino [10], следующий: французы – 13, баски – 4,5, ливанцы – 29, турки – 40, грузины – 33,3.

Наибольшая частота Hg9 выявлена в кавказских

Распространение частоты гаплогрупп Y-хромосомы в 7 регионах армянской популяции

Гаплогруппа	Регион						
	Карабах	Лори	Ширак	Сюник	Севан	Арагат	Западная Армения
	N=70	N=75	N=58	N=72	N=69	N=65	N=77
Hg 1	0.4143	0.3333	0.2415	0.3610	0.2899	0.3384	0.2856
Hg 2	0.2713	0.2133	0.1896	0.2777	0.2609	0.2460	0.2077
Hg 3	0.0286	0.0133	0.0345	0.0416	0.0434	0.0154	0.0519
Hg 9	0.2000	0.3466	0.4310	0.1666	0.3040	0.3230	0.3376
Hg16	-	-	-	-	-	-	-
Hg21	0.0428	0.0400	0.0517	0.1388	0.0434	0.0460	0.0389
Hg26	0.0428	0.0533	0.0172	0.0138	0.0434	0.0307	0.0649
Hg28	-	-	0.0345	-	0.0145	-	0.0129

популяциях, далее она уменьшалась по направлению к востоку, достигая наименьшей частоты среди монголов [11].

Генотипирование полиморфизма M172G, выявляющее Hg9, проведено нами впервые в армянской популяции на большой выборке. Частота Hg9 в исследованной нами группе составила 29,84%, а ее распределение по регионам представлено в таблице. Выявление гаплогрупп Y-хромосомы, проведенное в нашей работе, дополняет ранее проведенные исследования.

Армения занимает важное место в контексте экс-

пансии ранней человеческой популяции и развития языка. Армяне имеют выраженную этническую однородность, сохраненную в течение многих веков, несмотря на историко-географические изменения.

Нами продолжают исследования по изучению и выявлению генетических маркеров Y-хромосомы по микросателлитным повторам, которые дополняют и расширяют представления о генетической однородности или возможном разнообразии армянской популяции.

Поступила 23.01.04

Y-քրոմոսոմի հազվադեպ հանդիպող եւ եզակի պոլիմորֆիզմների ուսումնասիրությունը հայկական պոպուլյացիայում

Զ. Ն. Նովիաննայան

Սովետական զենեակական տեխնոլոգիաների ոլորտում վերջին տասնամյակի առաջխաղացումը նշանավորել է էվոլյուցիոն ուսումնասիրությունների մի նոր ժամանակաշրջան, մասնավորապես մարդու էվոլյուցիայի բնագավառում:

Y-քրոմոսոմը իրենից ներկայացնում է բավականաչափ մեծ գծային մոլեկուլ (~60Mb), որը տեղակայված է կորիզում և ժառանգաբար փոխանցվում է միայն արական սեռի ներկայացուցիչներին: Y-քրոմոսոմը կրում է սակավաթիվ հայտնի գեներ և տարբեր բնույթի հաջորդականություններ, ինչպես օրինակ տանդեմ և սփռված կրկնվող հաջորդականությունների ընտանիքները, ի հավելում Y-քրոմոսոմում առկա յուրօրինակ հաջորդականություններին:

Ուսումնասիրության շրջանակներում հետազո-

տության ենթարկվեցին Y-քրոմոսոմի երկալի մարկերները միմյանց ոչ ազգակից և ազգությամբ հայ 486 տղամարդկանց մոտ, որոնք որոշակի սկզբունքներով ընտրվել էին Հայաստանի տարբեր շրջաններից՝ Արցախից, Լոռուց, Շիրակից, Սյունիքից, Սևանից, Արարատից և պատմական Արևմտյան Հայաստանից: Յուրաքանչյուր անձից ստացված Գ-ՆԹ գենոտիպավորվեց ըստ 16 երկալի մարկերների՝ M17(del), M175 (del), M20A, M9G, M45A, M89T, M173C, M130T (RPS4YT), M52C, M170C, M172G, M124T, M96C, M174C, TatC, YAP (Y alu ներդրում): Կիրառելով բոլոր 486 անձանց մոտ գենոտիպավորված 16 պոլիմորֆիզմները, մենք բացահայտեցինք 7 Y-քրոմոսոմային հապլոխմեր՝ Hg 1 (32.52%), Hg 2 (23.86%), Hg 3 (3.29%), Hg 9 (29.84%), Hg 21 (5.76%), Hg 26 (3.9%) և Hg 28 (0.82%):

Հայկական պոպուլյացիայում բացահայտված Y-քրոմոսոմի հապլոխմբերի վերաբերյալ ներկայացված տվյալները լրացնում են մինչ այժմ կատարված

հետազոտությունների արդյունքները և իրենց ավանդն են ներդրում հայերի պոպուլյացիոն գենետիկայի հետագա ուսումնասիրությունների բնագավառում:

Study of unique event polymorphisms of Y-chromosome in Armenian population

K.H. Hovhannesyan

The past decade of advances in molecular genetic technology has opened a new era for evolutionary studies, particularly in the science of human evolution.

Y-chromosome is a large (~60Mb) linear molecule located in the nucleus and does not pass through female mitosis or meiosis. Y-chromosome includes few known genes and contains many different kinds of sequences, such as tandem and dispersed repeat families in addition to unique sequences.

Blood samples were taken from 486 unrelated Armenian men from different regions of Armenia: Karabakh, Lori, Shirak, Syunik, Sevan, Ararat and historical Western Armenia. Samples were genotyped with 16 biallelic mark-

ers: M17(del), M175(del), M20A, M9G, M45A, M89T, M173C, M130T(RPS4YT), M52C, M170C, M172G, M124T, M96C, M174C, TatC, YAP(Y alu insertion). Using 16 polymorphisms (UEPs) genotyped in all 486 samples we identified 7 Y-chromosome haplogroups: Hg 1, Hg 2, Hg 3, Hg 9, Hg 21, Hg 26 and Hg 28.

Percentage of Hg1 was 32,52%, Hg2 - 23,86%, Hg3 - 3,29%, Hg9 - 29,84%, Hg21 - 5,76%, Hg26 - 3,9%, Hg28 - 0,82%.

The data concerning Y-chromosome haplogroups revealed in Armenian population complement the investigations conducted before and give a donation in genetics of Armenian population.

Литература

1. Stoneking M. *Evol. Anthropol.*, 1993, 2, p. 60.
2. Affara N.A. *et al. Cytogenet. Cell. Genet.* 1994, 67, p. 360.
3. Lahr M.M. and Foley R. *Evol. Anthropol.*, 1994, 3, p. 48.
4. Jobling M.A. and Tyler-Smith C. *Elsev. Sci.*, 1995, 11, p. 449.
5. David Marshall Lang *Armenia. Cradle of civilization.* 2nd edition, George Allen & Unwin publishers, 1978.
6. Горбунова В.Н., Баранов В.С. *Введение в*

молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. М., 1997.

7. Underhill P.A. *et al. Nat. Genet.*, 2000, 26, p. 358.
8. Hammer M.F. and Horai S. *Am. J. Hum. Genet.*, 1995, 56, p. 951.
9. Zerjal T. *et al. Am. J. Hum. Genet.*, 1997, 60, p. 1174.
10. Semino O. *et al. Science*, 2000, 290, p. 1155.
11. Wells S. *et al. Am. J. Hum. Genet.*, 2002, 71, p. 466.
12. Yepiskoposyan L. *et al. Hum. Genet.*, 2001, 109, p. 659.