

АНАЛИЗ Alu–ПОЛИМОРФИЗМА В БУРЯТСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ

© 2001 г. И. Ю. Хитринская¹, В. А. Степанов^{1,2,3}, В. П. Пузырев^{1,3}

¹ Научно–исследовательский институт медицинской генетики Томского начного центра
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук,

Томск 634050; факс: (3822)22-37-44; e-mail: vadimst@img.tsu.ru

² Томский государственный университет, Томск 634050

³ Сибирский медицинский университет, Томск 634050

Поступила в редакцию 21.03.2001 г.

Исследован полиморфизм трех популяций Республики Бурятия и популяции Агинского бурятского автономного округа Читинской области по панели пяти аутосомных Alu–инсерций в локусах ACE, PLAT, PV92, APOA1, F13B. Бурятские популяции характеризуются спектром аллельных частот, типичным для других азиатских популяций. Для бурят характерен достаточно низкий уровень внутри-популяционного разнообразия: в тотальной популяции он составил 0.369. На основе анализа ауто-сомных Alu–инсерций можно говорить об общности современного бурятского генофонда. Коэффициент генной дифференциации четырех исследованных популяций составил 0.8%.

Современное население Сибири неоднородно в этническом отношении. Его состав является продуктом многовекового взаимодействия различных расовых типов. Среди коренного населения преобладают представители большой монголоидной расы и ее многочисленных разновидностей. В различные эпохи на тех или иных территориях Сибири были распространены и представители европеоидной расы. На протяжении веков, контактируя друг с другом, они дали в большом количестве промежуточные варианты [1].

Один из наиболее многочисленных сибирских этносов – буряты. Издревле основной регион проживания бурят, принадлежащих к монгольской группе алтайской языковой семьи, представлен обширными областями юга Восточной Сибири вокруг озера Байкал. В настоящее время общая численность бурят составляет около 400 тыс. человек, при этом основная масса (около 60%) проживает в Бурятии, а свыше 20% бурят расселены в Усть–ордынском автономном округе Иркутской области и Агинском бурятском автономном округе Читинской области [2].

По мнению этнографов, Прибайкалье на протяжении многих веков было своеобразной “контактной” зоной между сибирской тайгой и центрально–азиатской степью, в которой в сложном взаимодействии находились различные племена, народы и происходили важные этнические события [3].

Вопрос о времени и путях заселения территории Прибайкалья окончательно не определен. Заселение сибирских просторов в палеолите, по мнению некоторых исследователей, происходило

из нескольких центров и по нескольким направлениям: из Центральной и Юго–Восточной Азии, из Восточной Европы и Средней Азии [4]. В переходное от неолита к бронзе время (энеолите) на значительной части территории Прибайкалья получают распространение памятника глазковской культуры (1800–1300 лет до н.э.). В 1930 г. Г.Ф. Дебец [5] пришел к выводу, что наибольшая близость носителей глазковской культуры обнаруживается с физическим типом современных эвенков Северного Прибайкалья [6]. Возможно, отдельные протобурятские племена сложились в Прибайкалье уже в эпоху неолита и бронзы (2500–1300 лет до н.э.) [7]. Не подлежит сомнению, что указанная территория еще в древности стала зоной довольно интенсивных и сложных этнических процессов в результате взаимодействия и смешения различных по этническому и антропологическому составу племен и народов – тунгусоязычных, самодийских, палеоазиатских, ираноязычных [8]. Начиная с III в. до н.э. население Забайкалья и Прибайкалья последовательно входило в состав центральноазиатских государств – хунну, сяньби, жужаней и др. [9]. Цыдендамбаев [10] предполагал, что в это время в Прибайкалье одновременно проживали тюрские, монгольские и тунгусские племена.

Предполагают, что основным ядром бурятской народности, ассимилировавшим и объединившим вокруг себя различные этнические группы, были монголоязычные племена, которые некоторые исследователи считают автохтонами Прибайкалья, населявшими эту территорию еще в эпоху неолита [11]. В VIII–IX вв. регион Байкала представлял собой часть Уйгурского ханства.

Основными племенами, жившими здесь, были курыкане и байырку [7]. Возможно, байырку древнетюркского времени явились этнической основой тех древнемонгольских племен, которые оказались в то время на территории Прибайкалья и стали впоследствии основой протобурят [12]. Новый этап в истории бурят начинается со времени образования империи киданей (ляо) в X в. С этого периода начинается распространение монгольских племен в Прибайкалье и монголизация этноса. К началу XVII в. основная часть населения Бурятии (Забайкальская) представляла собой компонент монгольского суперэтноса, сформировавшегося в XII–XIV вв. В середине XVII в. Бурятия была присоединена к России, в связи с чем территория по обе стороны от Байкала отделилась от Монголии. Бурятский этнос как новая общность сформировался к концу XIX в. [13].

По данным антропологии, на всей территории своего расселения буряты обнаруживают ярко выраженные монголоидные особенности антропологического типа [14]. Вместе с тем в антропологическом типе бурят выделяются локальные варианты. Прежде всего необходимо указать на ясно выраженные физические различия между восточными и западными бурятами. Восточные буряты относятся к забайкальскому, а западные – к ангаро-ленскому вариантам центральноазиатского антропологического типа. В этом отношении восточные буряты обнаруживают сходство с монголами, а западные сближаются с якутами. До сих пор в языке бурят выделяют около 15 говоров. По классификации все эти говоры разделены на три основных наречия: западнобурятское, восточнобурятское и южнобурятское [10]. Очень важным является также то, что традиционные говоры распадаются в фонетическом отношении на два крупных массива: более архаичную группу западных говоров и группу восточных говоров хоринского типа, что очень хорошо согласуется с данными других источников о делении бурят, прежде всего, на две основные территориально-этнические группы: западных-оседлых животноводов и земледельцев и восточных (Забайкальских) – кочевых скотоводов.

Таким образом, территориальное расположение Бурятии и особенности этногенеза указывают на то, что эта народность сформировалась на основе различных расовых и этнических компонентов, и предполагают возможную неоднородность этнического состава и генетическую дифференциацию. В настоящее время население Бурятии исследуется с помощью различных маркерных систем, таких как “классический” иммунобиохимический полиморфизм [15] и разнообразные системы ДНК-маркеры: линии мтДНК [16–18], Y-хромосомы, аутосомные высокополиморфные маркеры [19, 20].

В настоящей работе мы характеризуем генетическое разнообразие и генетическую дифференциацию четырех бурятских популяций и анализируем генетические взаимоотношения бурят с другими этническими группами с помощью пяти полиморфных инсерций *Alu*-элемента. Используя этот полиморфизм, ранее был описан генофонд ряда других популяций Сибири [21, 22].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика исследованных популяций. Материал исследования составили четыре популяционные выборки бурят: г. Улан-Удэ ($N = 60$); пос. Хурмша (примерно 30 км к западу от Улан-Удэ) ($N = 60$); пос. Курумкан (север Бурятии) ($N = 88$); пос. Агинское (Агинский бурятский автономный округ Читинской области) ($N = 78$). В исследование включались только неродственные индивиды.

Экспериментальные процедуры. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови стандартными методами. Генотипирование проводили с помощью ПЦР и последующего электрофореза в 2%-ном агарозном геле. Последовательности праймеров и условия ПЦР описаны ранее [23, 24].

Для визуализации амплифицированных фрагментов и видеосъемки гелей использовали систему документации и анализа гелей фирмы “Advanced America Biotechnology”, а также программные пакеты Video Studio v.1.0 (Ulead Systems Inc.) и Video Packer Plus v.1.2p (Aura Vision Corp. & VIC Hi Tech Corp.). Использовали следующую номенклатуру аллелей: *Alu+* (наличие инсерции *Alu*-элемента в данном локусе) и *Alu-* (отсутствие инсерции).

Статистический анализ. Частоты аллелей и их ошибки, соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга, наблюдаемую и ожидаемую гетерозиготность и их ошибки вычисляли общепринятыми методами [25]. Генетические расстояния между популяциями и коэффициент генной дифференциации G_{ST} рассчитывали по методу Нея [26]. Филогенетическое древо популяций строили по методу UPGMA [27] с помощью пакета программ PHYLIP [28], используя 1000 бутстреп-реплик исходного массива данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Частоты аллелей и генетическое разнообразие бурятских популяций

Частоты аллелей, распределение генотипов и его соответствие равновесию Харди-Вайнберга, а также наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность по каждому из локусов в четырех бурятских популяциях приведены в табл. 1. В целом для бурят характерен спектр аллельных частот, типичный для других азиатских популяций [23, 24].

Таблица 1. Распределение генотипов, частоты и показатели генетического разнообразия в исследованных популяциях

Популяция	N	Генотипы			Частота <i>Alu(Alu+)</i>	χ^2_{H-W}	H_o	H_e
		+/+	+/-	-/-				
<i>ACE</i>								
Улан-Удэ	120	28	27	5	0.6917 ± 0.0422	0.181	0.4500	0.4265
Курумкан	176	26	44	18	0.5455 ± 0.0375	0.006	0.5000	0.4933
Хурамша	118	28	14	17	0.5932 ± 0.0452	15.2*	0.2373	0.4826
Агинское	156	32	38	8	0.6538 ± 0.0381	0.453	0.4872	0.4527
<i>PLAT</i>								
Улан-Удэ	120	13	31	16	0.4750 ± 0.0456	0.077	0.5167	0.4988
Курумкан	176	22	37	29	0.4602 ± 0.0376	2.079	0.4205	0.4968
Хурамша	120	18	28	14	0.5333 ± 0.0455	0.234	0.4667	0.4978
Агинское	156	20	28	30	0.4359 ± 0.0397	5.68***	0.3590	0.4918
<i>PV92</i>								
Улан-Удэ	120	28	26	6	0.6833 ± 0.0425	0	0.4333	0.4328
Курумкан	176	48	30	10	0.7159 ± 0.0340	2.906	0.3409	0.4068
Хурамша	120	27	25	8	0.6583 ± 0.0433	0.326	0.4167	0.4499
Агинское	156	44	29	5	0.7500 ± 0.0347	0.006	0.3718	0.3750
<i>APOA1</i>								
Улан-Удэ	114	49	6	2	0.9123 ± 0.0265	6.68**	0.1053	0.1600
Курумкан	174	67	17	3	0.8678 ± 0.0257	1.813	0.1954	0.2294
Хурамша	118	49	8	2	0.8983 ± 0.0278	3.923	0.1356	0.1827
Агинское	156	68	7	3	0.9167 ± 0.0221	13.7*	0.0897	0.1528
<i>F13B</i>								
Улан-Удэ	118	43	14	2	0.8475 ± 0.0331	0.398	0.2373	0.2585
Курумкан	176	57	25	6	0.7898 ± 0.0307	1.765	0.2841	0.3320
Хурамша	120	41	17	2	0.8250 ± 0.0347	0.021	0.2833	0.2888
Агинское	154	62	12	3	0.8831 ± 0.0259	4.66***	0.1558	0.2064

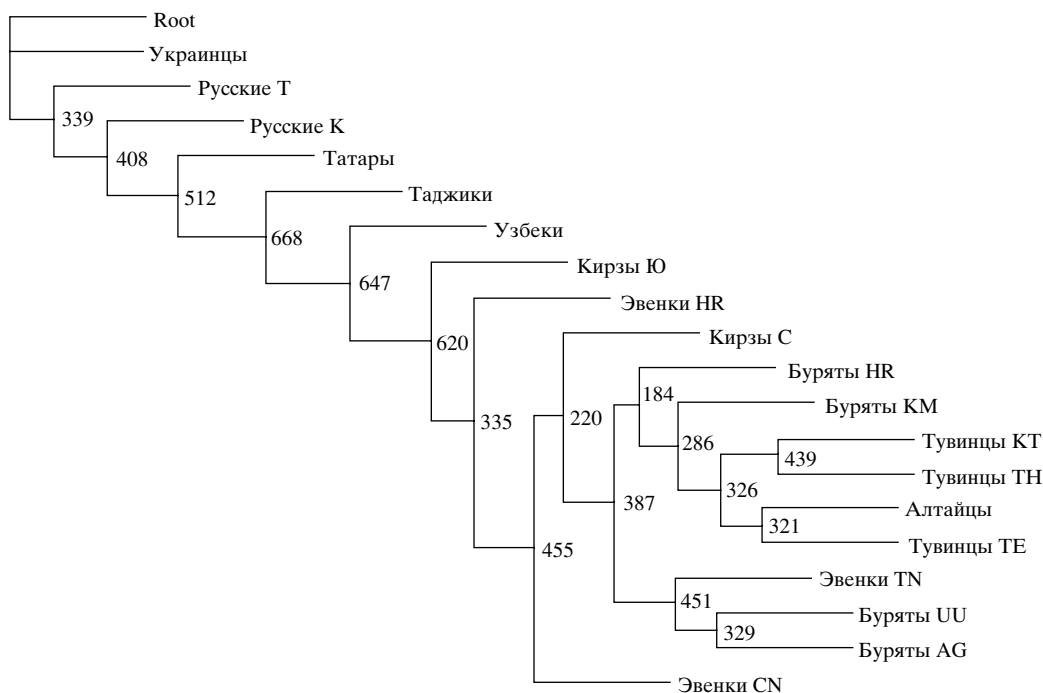
* $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.05$.

Четыре исследованные бурятские популяции имеют сходные аллельные частоты. Парное сравнение популяций не выявило значимых различий между популяциями Хурамша, Улан–Удэ и Агинское ни по одному локусу. В то же время зафиксированы значимые различия по частотам *Alu*-инсерций между популяцией пос. Курумкан и Агинское по локусам *ACE* ($\chi^2 = 4.0, d.f. = 1, P < 0.05$) и *F13B* ($\chi^2 = 5.1, d.f. = 1, P < 0.05$) и между популяциями Курумкан и Улан–Удэ – также по локусу *ACE* ($\chi^2 = 6.4, d.f. = 1, P < 0.05$). Популяции Курумкан, Хурамша и Улан–Удэ оказались достаточно близки и по уровню изменчивости сывороточных маркерных систем (HP, TF, GC) [15]. Достоверные различия по частотам аллелей были показаны только по локусу GC в паре сравнения Улан–Удэ – Курумкан ($\chi^2 = 5.0, d.f. = 1, P < 0.05$).

Тест на соответствие распределения гаплотипов равновесию Харди–Вайнберга выявил значи-

мое отклонение от ожидаемого распределения в пяти случаях. Для популяции агинских бурят обнаружено достоверное отклонение по трем локусам (*APOA1*, *PLAT*, *F13B*), по локусу *ACE* в популяции пос. Хурамша и по локусу *APOA1* в популяции г. Улан–Удэ (табл. 1). Полученные результаты могут отражать специфику популяционно-генетических процессов в этих популяциях, которая может быть связана с характеристиками генетико-демографической структуры (уровень инбридинга, миграций и т.д.) или подразделенности популяций. Во всех рассмотренных случаях отклонение связано с нехваткой гетерозигот и, вероятнее всего, отражает относительно высокий уровень инбридинга в этих популяциях.

Буряты характеризуются достаточно низким внутривидовым разнообразием: средняя ожидаемая гетерозиготность составила 0.355 в популяции Улан–Удэ; 0.380 в Хурамше; 0.392 в



Дендрограмма генетических взаимоотношений между популяциями коренных этносов Сибири и Средней Азии на основе генетических расстояний по частотам пяти *Alu*-инсерций. Цифры на развилках древа показывают число бутст-реп-реплики, поддерживающих данное ветвление. Обозначение популяций: Root – внешний корень (предковая популяция); Т – Томск, К – Каргала, Ю – Юг; С – Север, СН – Чара, TN – Тунгокочен, HR – Хурамша, KM – Курумкан, UU – Улан-Удэ, AG – Агинское, KT – Кунгуртуг, TH – Тоора-Хем, TE – Тээли.

Курумкане и 0.336 у агинских бурят. В тотальной популяции уровень разнообразия составил 0.369, в популяции тувинцев ожидаемая гетерозиготность 0.432, а у алтайцев 0.452. Наблюдается снижение генетического разнообразия в направлении с юго-запада на северо-восток, аналогичные данные получены при изучении полиморфизма мтДНК [18].

Генетическая дифференциация популяций Бурятии

Для оценки степени межпопуляционного разнообразия использован коэффициент генной дифференциации G_{ST} , показывающий долю общей генетической вариабельности, которая мо-

жет быть обусловлена межпопуляционными различиями. Значения G_{ST} по каждому локусу и по совокупности пяти *Alu*-инсерций приведены в табл. 2. Наибольший вклад в межпопуляционное разнообразие вносят различия по частотам *Alu*-инсерций в локусах *APOA1* ($G_{ST} = 2.1\%$), *ACE* ($G_{ST} = 1.9\%$) и *F13B* ($G_{ST} = 1.8\%$). В то же время по *PLAT* и *PV92* исследованные популяции практически не дифференцированы ($G_{ST} = 0.4\%$ и 0.2% соответственно).

Значение G_{ST} по совокупности генов для четырех бурятских популяций составляет 0.8%, что свидетельствует о низком уровне генетической подразделенности коренного населения Бурятии. Интересно, что буряты, исследованные популяции которых значительно более дистанцированы территориально, чем популяции тувинцев и эвенков, демонстрируют большую гомогенность своего генофонда. Для тувинцев (1.4%) и эвенков (1.3%) показан примерно равный уровень генетической дифференциации популяций внутри этноса [24].

Генетические взаимоотношения бурят и других этнических групп Сибири и Средней Азии

Степень генетического родства между изученными нами популяциями и популяциями других этнических групп оценивали с помощью кластер-

Таблица 2. Генетическая дифференциация популяций

Локус	H_T	H_S	G_{ST}
<i>ACE</i>	0.473	0.464	0.019
<i>PLAT</i>	0.498	0.496	0.004
<i>PV92</i>	0.415	0.416	0.002
<i>APOA1</i>	0.185	0.181	0.021
<i>F13B</i>	0.276	0.271	0.018
Всего	0.369	0.365	0.008

ного анализа. Для построения филогенетических деревьев мы использовали массив данных, включающий популяции Сибири и Средней Азии [24], проанализированные нами ранее. Для получения наиболее вероятной конфигурации древа мы использовали бутстреп-метод перегруппировки данных [28]. Из исходного массива данных по частотам аллелей создавали 1000 бутстреп-реплик, в каждой из которых один из локусов (случайно выбранный) был замещен дубликатом одного из оставшихся (случайно выбранных) локусов. Консенсусная дендрограмма генетических взаимоотношений между популяциями, построенная с помощью алгоритма объединения “ближайших соседей” (neighbor joining) [27], реализованного в пакете программ PHYLIP [28], приведена на рисунке. В качестве внешнего корня для филогенетического древа использовали гипотетическую предковую популяцию, в которой частота *Alu*-инсерции (аллеля I) по каждому из локусов была установлена равной 0. Такой выбор предковой популяции диктуется тем, что для мутации, приводящей к *Alu*-полиморфизму, в отличие от других диаллельных полиморфных систем, всегда известно начальное (отсутствие копии *Alu*-повтора в данном локусе) и конечное (инсерция *Alu*-элемента) состояние.

На представленном древе (рисунок) популяции алтайской языковой семьи собраны в группу (тувинцы, алтайцы, буряты, эвенки, киргизы). Две бурятские популяции (Улан-Удэ – UU и Агинское – AG) образуют единый кластер вместе с популяцией эвенков. Такое расположение может быть объяснено генетической близостью этих этносов. Есть данные, что эвенки сформировались в районах Прибайкалья и Забайкалья, откуда расселились по территории современного обитания [2]. На основе анализа гаплотипов мтДНК также высказывается предположение о вкладе дополнительных этнических компонентов в этногенез бурят (в том числе тунгусского происхождения) [18]. Популяции бурят пос. Курумкан и пос. Хурамша примерно равноудалены от двух других популяций.

При сравнении изученных нами популяций с популяциями других расовоэтнических групп [23, 24], три бурятские популяции (UU, HR, KM – см. рисунок) образуют единую группу с тувинцами и эвенками и расположены на древе ближе к группе популяций Индии и Западной Азии. Популяция агинских бурят расположена на древе обособленно, ближе к группе популяций американских индейцев в Юго-Восточной Азии (см. рис. 2 из работы [29]).

При изучении мтДНК у тувинцев и бурят был найден полный спектр основных гаплогрупп мтДНК, найденных у американских индейцев (A, B, C, D). В отличие от них у эвенков не встречается

ся гаплогруппа B [18]. Это соответствует особенностям распределения данных гаплогрупп на территории Азии: присутствие всех четырех основных “азиатско-индейских” линий обнаружено только в центральноазиатских популяциях, в то время как большинство сибирских народностей несет лишь гаплогруппы A, C, D. Все четыре гаплогруппы найдены в выборке северных алтайцев [30], что позволяет рассматривать южные районы Сибири и прилегающие к ним территории Центральной и Восточной Азии в качестве места обитания предков первой волны мигрантов в Северную Америку [31].

Суммируя результаты исследования, можно заключить, что генофонд современных бурятских популяций, расселенных в различных районах Забайкалья, характеризуется высокой степенью общности. Наблюдаемый у бурят спектр аллельных частот типичен для других североазиатских популяций.

Работа частично финансировалась грантами ФЦНТП “Геном человека” (№ 12/ГЧ-00) и РФФИ (00-04-48506).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кацюба Д.В., Николаев Р.В. Этнография народов Сибири. Кемерово, 1994. 204 с.
2. Брук С.И. Население мира: Этнодемографический справочник. М.: Наука, 1986. 828 с.
3. Долгих Б.О. Некоторые данные к истории образования бурятского народа // Сов. этнография. 1953. № 1. С. 38–63.
4. Окладников А.П. Неолит и бронзовый век Прибайкалья. М., 1955. Ч. 3. 327 с.
5. Дебец Г.Ф. Палеоантропология СССР // Тр. Ин-та этнографии АН СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1948. Т. 4. 517 с.
6. Палеоантропология азиатской части СССР. М.: Наука, 1984. 449 с.
7. Народы России: Энциклопедия. М.: Большая Рос. энциклопедия, 1994. 479 с.
8. Шербак А.М. Названия домашних животных в тюркских языках // Историческое развитие лексики тюркских языков. М., 1961. С. 17–29.
9. Викторова Л.Л. Монголы. Происхождение народа и истоки культуры. М., 1980. 224 с.
10. Цыдендамбаев Ц.Б. Бурятские исторические хроники и родословные. Улан-Удэ, 1972. С. 272–275.
11. Румянцев Г.Н. Происхождение хоринских бурят. Улан-Удэ, 1962.
12. Кюннер Н.В. Китайские известия о народах Южной Сибири, Центральной Азии и Дальнего Востока. М., 1961. С. 35–36.
13. Нимаев Д.Д. Проблемы этногенеза бурят. Новосибирск: Наука, 1988. 169 с.
14. Золоторева И.М. Антропологический тип современных бурят // Вопр. антропол. 1960. Вып. 5. С. 17–23.

15. Дюкова Е.В., Кучер А.Н. Генетический полиморфизм сывороточных маркеров генов у бурят // Проблемы эволюционной цитогенетики, селекции и интродукции: Матер. Научных чт., посвященных 100-летию профессора В.П. Чехова. 2–5 декабря 1997. Томск, 1997. С. 148–149.
16. Еремина Е.Р., Салюков В.Б., Урбазаева Л.Б. Краткая характеристика этнической истории формирования коренного населения Бурятии // Генетика человека и патология / Ред. В.П. Пузырев. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1997. Вып. 4. С. 192–194.
17. Еремина Е.Р. Полиморфизм ДНК у коренного населения Республики бурятия и женщин-буряток с аномальным течением беременности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 1999. 24 с.
18. Голубенко М.В., Пузырев В.П., Салюков В.Б. и др. Распространение основных "монголоидных" линий мтДНК в популяциях тувинцев, бурят и эвенков // Генетика человека и патология / Ред. В.П. Пузырев. Вып. 5. Томск: STT, 2000. С. 23–30.
19. Степанов В.А., Пузырев В.П. Популяционно-генетический анализ четырех микросателлитных локусов у населения Тувы // Бюл. биол. и мед. 2000. Т. 129. Прил. 1. С. 56–59.
20. Степанов В.А., Пузырев В.П. Гаплотипы двух диаллельных локусов Y-хромосомы у коренного и пришлого населения Сибири // Генетика. 2000. Т. 36. № 1. С. 87–92.
21. Степанов В.А., Пузырев В.П., Спиридонова М.Г., Хитринская И.Ю. Анализ полиморфизма Alu-инсерций в городской и сельской русской популяции Сибири // Генетика. 1999. Т. 35. № 8. С. 1138–1143.
22. Степанов В.А., Хитринская И.Ю., Пузырев В.П. Генетическая дифференциация коренного населения Сибири по полиморфным Alu-инсерциям // Генетика человека и патология / Ред. В.П. Пузырев. Томск: STT, 2000. Вып. 5. С. 98–107.
23. Batzer M.A., Arcot S.S., Phinney J.M. et al. Genetic variation of recent Alu-insertions in human populations. // J. Mol. Evol. 1996. V. 42. P. 22–29.
24. Stoneking M., Fontius J.J., Cleifford S.L. et al. Alu insertion polymorphism and Human Evolution: Evidence for a Larger Population size in Africa // Genome Res. 1997. V. 7. P. 1061–1071.
25. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
26. Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987.
27. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol. Biol. Evol. 1987. V. 4. P. 406–425.
28. Felsenstein J. PHILIP, version 3.5. Seattle: Univ. Washington, 1993.
29. Степанов В.А., Хитринская И.Ю., Пузырев В.П. Генетическая дифференциация населения Тувы по полиморфным Alu-инсерциям // Генетика. 2001. Т. 37. № 4. С. 563–569.
30. Сукерник Р.И., Шур Т.Г., Стариковская Е.Б., Уоллес Д.К. // Генетика. 1996. Т. 32. № 3. С. 432–439.
31. Novick G.E., Novick C.C., Yunis J. Polymorphic Alu Insertions and Asian Origin of Native American Populations // Human Biol. 1998. V. 70. P. 23–39.