ГЕНЕТИКА, 2000, том 36, № 3, с. 377–384

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

УДК 575.174:599.9

МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ ГАПЛОТИПЫ Y-ХРОМОСОМЫ ДЕМОНСТРИРУЮТ ОТСУТСТВИЕ ПОДРАЗДЕЛЕННОСТИ И НАЛИЧИЕ НЕСКОЛЬКИХ КОМПОНЕНТОВ В МУЖСКОМ ГЕНОФОНДЕ ТУВИНЦЕВ

© 2000 г. **В. А. Степанов**[1, 2, 3], **В. П. Пузырев**[1, 3]

[1] *Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Томск 634050; факс (3822)22-37-44, e-mail: vadimst@img.tsu.ru*

[2] *Томский государственный университет, кафедра цитологии и генетики, Томск 634050*

[3] *Сибирский медицинский университет, кафедра медицинской генетики, Томск 634050*

Поступила в редакцию 29.06.99 г.

Проведенный в настоящей работе анализ микросателлитных гаплотипов Y-хромосомы в трех популяциях тувинцев выявил существенную внутрипопуляционную вариабельность мужского генофонда современного населения Тувы. В выборке из 111 хромосом было выявлено 49 различных гаплотипов, причем лишь четыре из них встречались с частотой, превышающей 5%. Высокий уровень генетического разнообразия ($H = 0.935$) по гаплотипам, построенным на основе семи Y-STR, демонстрирует высокий дискриминационный потенциал гаплотипов Y-хромосомы. Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) и некоторые другие данные свидетельствуют об отсутствии подразделенности населения Тувы по гаплотипам Y-хромосомы. Большая часть обнаруженных у тувинцев гаплотипов распадается на две линии. Линия А охватывает ~64% всех хромосом, а линия В – 24%. Предполагаемый предковый гаплотип линии В более близок к наиболее распространенному гаплотипу у современных европейцев ($M_d = 3$), тогда как предполагаемый предковый гаплотип линии А дистанцирован как от предкового гаплотипа линии В, так и от "европейского" и "монгольского" гаплотипов. Оценки возраста линий Y-хромосомы у тувинцев свидетельствуют о том, что мужской генофонд современных тувинцев берет истоки в эпоху позднего палеолита или неолита. Возраст линии А оценивается в 3500 лет (или 18000 лет при оценке другим способом), а возраст линии В – в 5500 лет (15000 лет). Принимая за точку отсчета менее консервативные оценки возраста гаплотипов, можно предположить, что линия В отражает вклад в современный мужской генофонд тувинцев древнего европеоидного населения территории Тувы. Более обширную и менее древнюю линию А можно связать с заселением территории современной Тувы древними монголоидными тюркоязычными группами в так называемое гунно-сарматское время.

Генетические свойства Y-хромосомы, такие, как передача только по отцовской линии, отсутствие рекомбинации в негомологичной X-хромосоме части, малая эффективная численность пула Y-хромосом в сравнении с аутосомами, позволяют прослеживать по гаплотипам Y-хромосомы отцовские линии, представляющие собой последовательную "запись" мутационных событий в продолжительном ряду поколений. Подбор генетических маркеров, различающихся природой мутаций и темпом мутирования (замены одного нуклеотида, инсерции/делеции, тандемные повторы), позволяет использовать гаплотипы Y-хромосомы для решения задач различного "эволюционного масштаба" – от реконструкции ранних этапов эволюции и расселения современного человека до анализа уровня генетической дифференциации близких современных популяций.

В настоящей работе мы провели анализ распределения гаплотипов Y-хромосомы, построенных с использованием семи микросателлитных локусов (Y-STR), в трех территориально удаленных и этнически неоднородных популяциях тувинцев, уделяя особое внимание проблеме этногенеза тувинцев. Тувинцы, говорящие на языке тюркской группы алтайской языковой семьи [1, 2], характеризуются сложным этногенезом, включающим тюркский, монгольский, кетоязычный, самодийскоязычный и индоевропейский компоненты [3–5]. Этнографический, антропологический и археологический материал свидетельствует, что древнейшим населением современной территории Тувы были кето- и самодийскоязычные, а также индоевропейские и, возможно, тунгусские племена. С середины первого тысячелетия нашей эры на территории Тувы расселялись различные тюркоязычные племена, в том числе туба (дубо) – этноним, ставший впоследствии общим самоназванием всех тувинцев. В более поздние периоды (VIII–XII вв.) тюркизация населения Тувы продолжалась за счет

уйгурских и кыргызских этнических групп. Существенную роль в формировании тувинского этноса сыграли и монголоязычные племена. Интенсивные миграции монголоязычного населения на территорию Тувы происходили в период раннемонгольского государства (IX–XII вв.) и Монгольской империи (XIII–XIV вв.).

Современный состав населения Тувы характеризуется преобладанием тюркских по происхождению родоплеменных групп и существенной долей потомков монгольских родов [4, 5]. Данные антропологии, этнографии и лингвистики указывают на значительные различия между территориальными группами тувинцев. В частности, на территории Тувы выделяют три антропологических типа: монголоидный, характерный для южных групп тувинцев; с ослабленной выраженностью монголоидной компоненты, распространенный на западе Тувы; и самостоятельную группу тувинцев-тоджинцев, населяющих северо-восток Тувы, которых иногда относят к байкальскому антропологическому типу [6, 7]. Аналогичная территориальная дифференциация прослеживается и лингвистами, выделяющими несколько диалектов тувинского языка [8, 9].

Ранние работы по генетическому полиморфизму тувинцев на основе анализа белковых систем [10–12] и более современные данные по митохондриальному геному [12, 13] и некоторым генам комплекса HLA [14] также свидетельствуют о существенной генетической неоднородности современного населения Тувы. В предыдущей работе [15] мы описали распределение аллелей семи отдельных локусов Y-хромосомы у тувинцев и проанализировали данные по частотам аллелей и дисперсии числа повторов с точки зрения филогении популяций. Задачи настоящей работы – анализ распределения гаплотипов Y-хромосомы в субпопуляциях тувинцев, оценка уровня генетического разнообразия и дифференциации по гаплотипам Y-хромосомы и интерпретация полученных данных в аспекте этногенеза тувинцев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованные популяции и экспериментальные процедуры. Подробная характеристика исследованных популяций, описание экспериментальных процедур и используемая номенклатура аллелей даны в предыдущей работе [15].

Статистический анализ. На основе индивидуальных генотипов для каждого индивида конструировали гаплотип, состоящий из аллелей шести микросателлитных локусов. В гаплотип не включали аллели *DYS391*, поскольку не все индивиды были протипированы по этому локусу. Генное разнообразие (H) рассчитывали по формуле: $H = 1 - \sum p_i^2$, где p_i – частота i-го гаплотипа.

Филогенетическое древо гаплотипов строили по методу Mortal et al. [16, 17], который основывается на пошаговой мутационной модели и учитывает природу мутаций в микросателлитных локусах, подразумевая, что: 1) одномоментно может мутировать лишь один микросателлит; 2) наиболее вероятны мутации, приводящие к утрате или приобретению лишь одного повтора, хотя допускаются и мутации, приводящие к изменению длины на более чем один повтор; 3) более вероятны мутации частого аллеля в редкий, чем наоборот.

Время, за которое было генерировано наблюдаемое разнообразие гаплотипов, оценивали двумя альтернативными способами. Первый основан на расчете среднего числа мутаций от предкового гаплотипа на локус на индивида (λ) [17]. Если предположить, что мутации накапливаются в соответствии с распределением Пуассона [18], то $\lambda = \mu t$, где μ – темп мутирования, а t – число поколений. Второй метод базируется на оценке вероятности мутирования любого STR-локуса ($P_{(x)}$) и мутационной дистанции наиболее отдаленного гаплотипа от предкового (M_d) [19, 20]. При биномиальном распределении вероятности мутирования любого локуса $P_{(x)} = [n/k]\mu^k(1 - \mu)^{n-k}$, где n – число локусов, а k – число мутаций. Тогда $t = M_d/P_{(x)}$. Оба способа расчета использовали в рамках пошаговой мутационной модели, рассматривая в качестве одного мутационного события изменение числа повторов на единицу в одном локусе.

Для оценки уровня генетической дифференциации популяций проводили анализ молекулярной дисперсии (AMOVA [21]) с помощью программ WINAMOVA [21] и ARLEQUIN [22], который позволяет использовать информацию не только о частотах, но и о молекулярных различиях между гаплотипами. В результате этого анализа получали генетическую дистанцию Φ_{st}, которая представляет собой долю межпопуляционных различий в общей генетической дисперсии. В качестве молекулярных дистанций между гаплотипами в AMOVA использовали матрицу евклидова расстояния между гаплотипами, представляющего собой сумму квадратов разницы в числе повторов по каждому микросателлитному локусу. Уровень значимости Φ_{st} оценивали, сравнивая наблюдаемое значение с эмпирическим нуль-распределением, полученным на основе 1000 рандомизаций.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение и филогения гаплотипов

Композиция и частоты микросателлитных гаплотипов по шести STR-локусам приведены в табл. 1. В выборке из 111 индивидов наблюдалось 49 различных гаплотипов. Коэффициент генного разнообразия для гаплотипов (табл. 2) в суммарной выборке тувинцев составил 0.935. Это значит,

Таблица 1. Гаплотипы по шести Y-STR и их распределение в трех популяциях тувинцев

Номер гаплотипа	Линия	Аллели STR-локусов						M_d	*ED*	*N*			
		389I	*389II*	*390*	*392*	*393*	*394*			Σ	КТ	ТЭ	ТХ
1	A	9	18	23	12	11	15	4	11.4	2	1		1
2	A	9	19	23	14	12	15	2	11.4	3	3		
3	D	9	16	24	15	11	15	6	21.6	1	1		
4	A	10	20	23	14	12	13	4	15.5	9	6	2	1
5	C	10	17	23	11	13	15	5	14.1	3	3		
6	B	10	18	24	11	13	17	7	16.6	1	1		
7	A	10	18	23	14	12	14	1	10.6	2	1		1
8	A	10	18	23	14	12	15	0	9.9	22	8	9	5
9	B	10	20	24	11	12	16	7	14.6	3	1		2
10	B	10	18	24	11	12	16	5	12.4	3	2	1	
11	A	10	20	23	15	12	13	5	19.0	1	1		
12	A	10	17	23	14	12	14	2	12.5	1	1		
13	A	10	20	24	14	12	13	5	15.2	2	1	1	
14	B	10	18	25	11	12	16	6	14.2	2	1		1
15	A	10	19	23	14	12	13	3	13.4	8	1	1	6
16	B	10	19	24	11	12	16	6	12.5	3	1	2	
17	A	10	20	24	14	12	12	6	19.9	1	1		
18	B	10	19	24	11	12	13	7	14.5	1	1		
19	A	10	20	25	14	13	12	6	17.0	1	1		
20	B	11	19	25	11	12	16	8	14.9	4	2	2	
21	B	11	20	24	11	12	16	8	15.2	1	1		
22	A	11	18	24	14	13	13	5	14.5	1	1		
23	A	11	18	23	14	13	14	3	12.0	7	3	3	1
24	B	11	20	25	11	12	16	9	17.0	1	1		
25	A	11	18	23	14	12	16	2	11.8	1	1		
26		11	18	19	13	12	14	7	30.5	1	1		
27	C	11	17	23	11	13	15	6	14.6	1	1		
28	D	9	17	25	14	11	15	5	15.9	1		1	
29		8	20	24	16	12	16	8	27.1	1		1	
30	A	10	18	2	13	12	15	1	8.4	1		1	
31	B	10	19	24	11	11	14	7	13.0	1		1	
32	C	10	16	23	11	12	14	6	17.8	1		1	
33	B	11	21	24	12	12	16	8	16.8	1		1	
34	B	11	19	24	11	12	15	6	11.8	1		1	
35	A	11	18	23	14	12	15	1	10.5	2		2	
36	A	11	18	23	14	12	14	2	11.2	1		1	
37	A	11	18	23	15	13	14	4	15.5	1		1	
38	C	11	17	23	11	12	16	6	15.1	1		1	
39	C	9	16	23	11	12	14	7	19.2	1		1	
40	D	9	17	25	13	11	15	6	14.4	1			1
41	A	9	19	23	12	11	15	5	11.5	1			1
42		10	15	26	12	14	17	12	34.2	1			1
43	B	10	19	23	11	12	16	5	12.7	2			2
44	B	10	20	25	12	12	16	7	13.9	1			1
45	A	10	19	23	14	12	15	1	10.0	2			2
46	A	11	19	23	16	13	14	6	21.2	1			1
47	B	11	19	25	12	12	16	7	12.4	1			1
48	B	11	20	24	11	12	17	9	18.5	1			1
49	A	12	18	23	14	13	14	4	14.6	1			1
Всего										111	47	34	30

Примечание. M_d – число мутаций от предполагаемого предкового гаплотипа (8); *ED* – среднее евклидово расстояние от других гаплотипов; КТ – Кунгуртуг, ТЭ – Тээли, ТХ – Тоора-Хем, Σ – общая численность гаплотипа в трех популяциях.

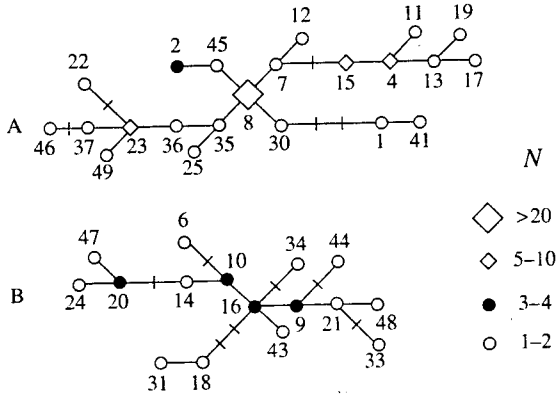
Таблица 2. Генное разнообразие по гаплотипам Y-хромосомы в трех популяциях Тувы

Показатель	Популяция			Всего	Среднее на популяцию
	Кунгуртуг	Тээли	Тоора-Хем		
H	0.930	0.907	0.927	0.935	0.921
K	27	20	18	49	
K/N	0.617	0.588	0.600	0.441	

Примечание. *H* – генное разнообразие, *K* – число гаплотипов, *N* – объем выборки.

что в среднем 9 из 10 случайно выбранных мужчин будут иметь различающиеся Y-хромосомы, и свидетельствует о высоком дискриминационном потенциале микросателлитных гаплотипов Y-хромосомы. Уровень генетического разнообразия, оцененный по частотам гаплотипов, варьировал от 0.907 в Бай-Тайгинской популяции до 0.930 в популяции Кунгуртуга. Различия по гаплотипическому уровню разнообразия между популяциями не носят значимого характера, как и различия по числу наблюдаемых гаплотипов, отнесенному к объему выборки. Наиболее частым гаплотипом по локусам *DYS389I/389II/390/392/393/394* в суммарной выборке тувинцев оказался гаплотип 10/18/23/14/12/15, найденный с частотой 19.8%. Лишь четыре гаплотипа (гаплотипы 8, 4, 15 и 23) встречались с частотой более 5%. Все четыре наиболее распространенных гаплотипа представлены во всех трех популяциях тувинцев.

На рисунке представлено древо, отражающее эволюционные взаимоотношения между гаплотипами в тотальной популяции. При построении древа максимально допустимое число мутационных шагов между соседними гаплотипами ограничили тремя. Длина ветвей на древе соответствует числу мутаций между гаплотипами. Все восемь двухшаговых ветвей на древе соответствуют мутациям двух разных микросателлитных локусов (например, ветвь, связывающая гаплотипы 7 и 15 на древе А, и ветвь между гаплотипами 14 и 20 на древе В; см. также табл. 1). Трехшаговая ветвь между гаплотипами 30 и 1 на древе А соответствует трем одношаговым мутациям разных локусов, а ветвь, соединяющая гаплотипы 16 и 18 на древе В, отражает мутацию 16 ⟶ 13 в локусе *DYS394*. Вероятнее всего, ветви длиннее одного мутационного шага являются результатом отсутствия "промежуточных" гаплотипов, не попавших в нашу относительно небольшую выборку Y-хромосом. Для некоторых ветвей возможна и несколько иная топология, чем отраженная на рисунке, что, однако, не меняет общую конфигурацию древа.



Филогения гаплотипов Y-хромосомы у тувинцев. Представлены две основные линии – А и В. Объяснение см. в тексте.

В качестве предкового для данного древа был выбран гаплотип 8. Такой выбор диктуется следующими причинами. Во-первых, этот гаплотип наиболее распространен и встречается во всех трех исследованных популяциях, что делает его наиболее вероятным кандидатом на роль исходного гаплотипа [23]. Во-вторых, гаплотип 8 имеет практически наименьшее среднее евклидово расстояние со всеми остальными гаплотипами (меньше этот показатель лишь для "соседнего" гаплотипа 30, табл. 1). В-третьих, гаплотип 8 состоит из наиболее частых у тувинцев аллелей. В-четвертых, наиболее "компактная" топология древа с минимальной длиной ветвей получается в случае, если отталкиваться именно от гаплотипа 8.

Большая часть обнаруженных у тувинцев гаплотипов распадается на две линии (древа А и В на рисунке). Кластер А более представителен и содержит 22 гаплотипа, включая 4 наиболее частых. Всего кластер А включает в себя 71 хросомосу (~64%). Кластер В объединяет 16 гаплотипов и 27 хромосом (24%). В качестве предкового гаплотипа для линии В по изложенным выше причинам можно рассматривать гаплотип 10 или гаплотип 16. Кластеры А и В при наложенных на построение древа ограничениях не объединяются. Минимальная дистанция между предполагаемыми предковыми гаплотипами кластеров А и В составляет пять мутаций в трех микросателлитных локусах. Это свидетельствует, что линии А и В, вероятно, являются независимыми и отражают вклад различных предковых групп в мужской генофонд современного тувинского этноса.

Кроме кластеров А и В имеются и две не изображенные на рисунке небольшие линии, дистанцированные от обоих основных кластеров. Одна из них объединяет гаплотипы 5, 27, 32, 38 и 39 и содержит семь хромосом (6.3%). Вторая состоит из гаплотипов 3, 28 и 40 (три хромосомы). Возможно, обособленность этих линий указывает на при-

сутствие в пуле Y-хромосом тувинцев компонентов, отличных по происхождению от двух основных линий. Не исключено и то, что дистанцированность этих линий объясняется тем, что промежуточные гаплотипы не попали в проанализированную выборку. Три гаплотипа (26, 29 и 42) не попали ни в один из кластеров. Эти гаплотипы имеют наибольшее среднее евклидово расстояние с другими гаплотипами (30.6, 27.1 и 34.2 соответственно) и, по-видимому, являются иммигрантными. В особенности это касается гаплотипа 42, который почти исключительно состоит из редких у тувинцев аллелей (10/15/26/12/14/17) и наиболее дистанцирован от предполагаемого предкового гаплотипа (12 мутаций).

Гаплотипы, обнаруженные в популяциях Кунгуртуга, Тоора-Хема и Тээли, распределены по древу случайным образом. Не наблюдается кластеризации гаплотипов из одной популяции в пределах какой-либо одной линии или ветви древа.

Для того чтобы проследить возможные этноисторические корни выявленных в тувинской популяции линий Y-хромосомы, мы проанализировали распределение в кластерах потомков различных по происхождению родоплеменных групп. Хотя сейчас в Туве нет четкого деления на родоплеменные группы, родовые этнонимы нашли продолжение в современных тувинских фамилиях [4, 12, 24]. Так, известно, что современные фамилии, ведущие происхождение от названий родоплеменных групп иргит, ооржак, кол, кужугет, маады, ак-чооду, кара-чооду и некоторых других, имеют древнетюркское происхождение [4, 5]. Родоплеменные группы хертек, салчак, донгак, монгуш, идам, олет, дончак и др. и соответственно возникшие на их основе фамилии являются монгольскими по происхождению [4, 5]. С уйгурским происхождением связывают этнонимы ондар, сарыг или сарыглар, куль или холь и др. [4, 5]. Поскольку фамилии у тувинцев, как и родовая принадлежность, прослеживаются по мужской линии [4, 5, 12, 24], современные фамилии могут служить маркером этнического происхождения при анализе линий Y-хромосомы.

К сожалению, далеко не все фамилии, встретившиеся в нашей выборке, можно однозначно соотнести с этническими корнями. Тем не менее значительную часть индивидов в проанализированной выборке удалось на основе фамилии отнести к потомкам тюркских или монгольских по происхождению родоплеменных групп. Носители "тюркских" и "монгольских" фамилий распределены на древе гаплотипов случайным образом. Доля потомков тюркских и монгольских родов в линиях А и В примерно равна и соответствует их доле в общей выборке. Тем самым линии А и В не удалось связать с предпочтительно тюркским или монгольским происхождением на основе распределения современных тувинских фамилий. Следует отметить, что такой анализ может быть затруднен особенностями брачных традиций и репродуктивного поведения тувинцев. Так, в Туве широкое распространение получили добрачные рождения детей: 22–43% женщин в обследованных популяциях имели детей до вступления в брак [12]. При регистрации брака в большинстве случаев добрачные дети регистрируются как совместные и получают фамилию мужа, которая, тем самым, может не отражать действительное происхождение Y-хромосомы.

Возраст линий Y-хромосомы у тувинцев

Основной проблемой при анализе возраста гаплотипов является оценка темпа мутирования (μ). В литературе имеется достаточно большое число работ, в которых анализировалась скорость мутаций в STR-локусах на Y-хромосоме [19, 20, 25, 26]. Оценки разными авторами параметра μ для Y-сцепленных микросателлитов варьируют от 1.2×10^{-4} [26] до 2.1×10^{-3} [19]. В наших расчетах мы основывались на результатах Bianchi et al. [20], которые, объединив свои данные с данными других работ, получили среднюю оценку темпа мутирования Y-STR, равную 1.2×10^{-3} с 95%-ным доверительным интервалом распределения Пуассона от 4.6×10^{-4} до 2.8×10^{-3}.

Мы использовали два альтернативных метода оценки возраста линий Y-хромосомы (см. "Материалы и методы"). Первый основан на оценке среднего числа мутаций от предкового гаплотипа на локус на индивида (λ) [17, 18]. Этот показатель во всей выборке гаплотипов составил 0.387. Если принять длительность поколения за 25 лет, то возраст, за который было генерировано наблюдаемое разнообразие гаплотипов у тувинцев, оценивается примерно в 8060 лет (95%-ный доверительный интервал (CI) 3450–21000 лет). Показатель λ для линий А и В, рассматриваемых отдельно, равен 0.169 и 0.265 соответственно. Это дает оценку возраста линии А в 3500 лет (95% CI 1500–9180 лет), а линии В – в 5500 лет (95% CI 2360–14400 лет).

Второй метод расчета возраста предкового гаплотипа основан на оценке вероятности мутации в любом STR-локусе ($P_{(x)}$) и числа мутаций, отделяющих наиболее удаленный гаплотип от предполагаемого исходного (M_d) [19, 20]. Этот подход дает оценку, примерно в 3 раза превышающую возраст, полученный первым способом. Оценка возраста во всей выборке гаплотипов при $M_d = 9$ (если не рассматривать "иммигрантный" гаплотип 42) составляет 27100 лет (95% CI 13600–83300 лет). Время происхождения линии А ($M_d = 6$) оценивается в 18070 лет (95% CI 9090–55500 лет), а линии В ($M_d = 5$) – в 15060 лет (95% CI 7570–46300 лет).

Разумеется, эти оценки в значительной степени условны. Тем не менее они свидетельствуют о

том, что истоки мужского генофонда современных тувинцев следует искать в эпоху позднего палеолита или неолита. Появление человека на территории современной Тувы датируют поздним палеолитом [4]. Согласно палеоантропологическим данным, в эпоху бронзы Тува была населена племенами европеоидного типа [27]. Заселение территории Тувы европеоидным населением можно связать с обширной миграцией европеоидов с запада на восток степной зоны Евразии в эпоху неолита. Появление монголоидных черт в облике древних обитателей Тувы связывают с миграцией на территорию Тувы гуннов в так называемое гунно-сарматское время (2200–1500 лет назад). Именно этот период этнографы считают начальным этапом этногенеза тувинцев: начиная с гунно-сарматского периода прослеживается этногенетическая и этнокультурная преемственность между древним и современным населением Тувы [4]. Преемственность же генофонда, даже по самым минимальным оценкам возраста линий Y-хромосомы у тувинцев, прослеживается с гораздо более ранних догуннских времен. Наиболее древние исторические источники, датируемые III в. до н. э. (2300 лет назад), свидетельствуют, что в период, предшествующий гунно-сарматскому, территория Тувы была населена динлинами [4]. Динлины принадлежали к европеоидному антропологическому типу [4]. Их языковая принадлежность является предметом дискуссии: высказывались версии, что динлины были кетоязычными [28], угроязычными [29], тюркоязычными [4]. Последняя, по-видимому, является наиболее обоснованной.

По литературным данным, наиболее распространенным гаплотипом по локусам *DYS389I/390/392/393/394* у современных европейцев является гаплотип 10/24/11/13/14 [17, 20, 25]. Предковый гаплотип линии А достаточно далеко дистанцирован от этого гаплотипа – на 6 мутационных шагов в четырех локусах. Предполагаемый же предковый гаплотип линии В (16 или 10) значительно ближе к европейскому ($M_d = 3$; 2 локуса). Линия В, если пользоваться оценками возраста гаплотипов, полученными менее консервативным первым способом (см. выше), древнее линии А, и верхняя граница 95%-ного доверительного интервала ее датировки предшествует гунно-сарматскому периоду. Гунно-сарматское время входит в доверительный интервал датировки линии А. Тем самым можно предположить, что линия В отражает вклад в современный мужской генофонд тувинцев древнего европеоидного населения территории Тувы. Более обширную и менее древнюю линию А можно связать с заселением территории современной Тувы древними монголоидными тюркоязычными группами в гунно-сарматское время. Небольшая линия С, чей предполагаемый предковый гаплотип (5) лишь на одну мутацию отстоит от наиболее распространенного гаплотипа у монголов [25], возможно, отражает вклад более поздних миграций монгольских родоплеменных групп. Разумеется, высказанные предположения не более чем гипотеза. Разрешающая способность исследованных гаплотипов Y-сцепленных микросателлитов не позволяет более однозначно трактовать происхождение линий Y-хромосомы, обнаруженных у тувинцев.

Молекулярная дисперсия и межпопуляционное разнообразие

Для оценки степени подразделенности трех исследованных тувинских популяций по гаплотипам Y-хромосомы мы использовали анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) [21]. Этот подход учитывает не только частоты гаплотипов, но и молекулярные различия между ними (см. "Материалы и методы"), тем самым позволяя утилизировать всю информацию, заложенную в гаплотипе. Полученная в AMOVA генетическая дистанция Φ_{st}, которая представляет собой долю межпопуляционных различий в общей гаплотипической дисперсии, составила для трех тувинских популяций –0.0196 ($P = 0.9775$). Столь низкое и недостоверное значение Φ_{st} свидетельствует об отсутствии подразделенности населения Тувы по гаплотипам Y-хромосомы. Более того, отрицательное значение этого показателя свидетельствует о том, что две случайно выбранные хромосомы из одной популяции будут различаться между собой больше, чем две случайно выбранные хромосомы из разных популяций.

Эти результаты полностью соответствуют изложенным выше данным о частотах аллелей и гаплотипов в трех тувинских популяциях и о случайном распределении хромосом из разных популяций на эволюционном древе гаплотипов. Отсутствие генетической дифференциации современного населения Тувы по гаплотипам Y-хромосомы свидетельствует либо о том, что их генофонд сформировался на общей основе ранее тех процессов, которые привели к этнической и территориальной дифференциации, наблюдаемой в настоящее время, либо о недавних процессах смешения популяций. Приведенные выше данные о возрасте линий Y-хромосомы у тувинцев свидетельствуют в пользу первого предположения. Данные генетической демографии [12, 24] и исторической этнографии тувинцев [3–5] также позволяют отвергнуть второе предположение.

Настоящая работа, насколько мы можем судить по имеющейся литературе, является одной из первых попыток оценить степень генетических различий по микросателлитным гаплотипам Y-хромосомы между популяциями одного этноса. Немногие предыдущие исследования, в которых анализировались различия между близкими популяциями (голландцы–немцы [30], континенталь-

ная Италия–Сардиния [31], провинции Финляндии [32]), свидетельствовали о существенной генетической подразделенности близкородственных популяций по гаплотипам Y-хромосомы. Противоречие между нашими результатами и данными этих работ, вероятнее всего, объясняется спецификой этногенетических, исторических и популяционных процессов в каждом конкретном этносе.

Таким образом, представленные в настоящей работе данные характеризуют генофонд современной тувинской популяции в двух аспектах: 1) внутри- и межпопуляционное разнообразие; 2) филогения гаплотипов и возраст происхождения линий Y-хромосомы. Третий аспект проблемы – генетические взаимоотношения популяций различных регионов и место тувинских популяций на эволюционном древе обсуждался в предыдущей работе [15].

Существенная внутрипопуляционная вариабельность гаплотипов Y-хромосомы у тувинцев контрастирует с очень низким уровнем межпопуляционных различий и отсутствием подразделенности, несмотря на выраженные различия трех исследованных популяций по демографическим и (в меньшей степени) этнографическим и антропологическим характеристикам. Если первый результат являлся достаточно предсказуемым, учитывая выбор в качестве инструмента для анализа генофонда высокополиморфных микросателлитных локусов, то второй входит в противоречие с представлением о высокой степени географической кластеризации вариантов Y-хромосомы.

Второй аспект работы – анализ происхождения гаплотипов – свидетельствует о наличии в современном пуле Y-хромосом тувинцев нескольких достаточно древних компонентов. Различные методы оценки возраста линий Y-хромосомы дают противоречивые результаты. Тем не менее полученные данные указывают на эпоху позднего палеолита или неолита в качестве точки отсчета происхождения гаплотипов у тувинцев и свидетельствуют, что преемственность генофонда сохраняется на протяжении более длительного периода, чем период этногенеза современного тувинского этноса. Данные, накопленные этнографами, антропологами и лингвистами, позволяют считать более достоверными менее консервативные оценки возраста линий Y-хромосомы и соотнести две основные линии гаплотипов с неолитическим европеоидным населением и более поздними миграциями монголоидных групп в эпоху бронзового века.

Авторы выражают искреннюю признательность Л.С. Эрдыниевой, Н.О. Санчат и сотрудникам лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН за помощь в сборе экспедиционного материала, а также И.Ю. Хитринской за техническую помощь.

Работа финансируется грантами ФЦНТПП "Геном человека", Российского фонда фундаментальных исследований (№ 98-04-03116) и Российского гуманитарного научного фонда (№ 98-06-24016 а/Т).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Брук С.И.* Население мира. Этнодемографический справочник. М.: Наука, 1986. 803 с.
2. *Ruhlen M.* A guide to the world languages. V. 1. Stanford: Stanf. Univ. Press, 1997. 364 p.
3. *Вайнштейн С.И.* Историческая этнография тувинцев. М.: Наука, 1972. 312 с.
4. *Сердобов Н.А.* История формирования тувинской нации. Кызыл: Тув. кн. изд-во, 1971. 480 с.
5. *Потапов Л.П.* Очерки народного быта тувинцев. М.: Наука, 1969. 408 с.
6. *Богданова В.И.* Антропологический состав и вопросы происхождения тувинцев // Проблемы антропологии древнего и современного населения Советской Азии / Ред. Алексеев В.П. Новосибирск: Наука, 1986. С. 108–161.
7. *Алексеева Т.И.* Антропологические особенности современных тувинцев. Кефалометрия и кефалоскопия // Антропоэкологические исследования в Туве / Ред. Алексеева Т.И., Урысон М.И. М.: Наука, 1984. С. 75–125.
8. *Баскаков Н.А.* Этнолингвистическая классификация диалектных систем современных тюркских языков // VII Междунар. конгр. антропологов и этнографов. М.: Наука, 1964. С. 10.
9. *Чадамба З.Б.* Тоджинский диалект тувинского языка. Кызыл: Тув. кн. изд-во, 1974. 136 с.
10. *Рычков Ю.Г.* Особенности серологической дифференциации народов Сибири // Вопр. антропологии. 1965. Вып. 21. С. 18–32.
11. *Спицын В.А., Боева С.Б., Филиппов И.К.* Генетико-антропологическое изучение коренного населения Алтае-Саянского нагорья // Антропоэкологические исследования в Туве / Ред. Алексеева Т.И., Урысон М.И. М.: Наука, 1984. С. 185–194.
12. *Пузырев В.П., Эрдыниева Л.С., Кучер А.Н., Назаренко Л.П.* Генетико-эпидемиологическое исследование населения Тувы. Томск: STT, 1999. 256 с.
13. *Салюков В.Б., Пузырев В.П., Голубенко М.В., Кутмин А.И.* Полиморфизм некодирующих областей митохондриального генома у коренного населения юго-востока Тувы // Генетика. 1998. Т. 34. № 10. С. 1420–1424.
14. *Сартакова М.Л., Коненков В.И., Прокофьев В.Ф. и др.* Частота генов HLA-*DP* и антигенов локусов HLA-*A*, -*B*, -*Cw*, -*DR* у тувинцев // Генетика. 1998. Т. 34. № 8. С. 1127–1133.
15. *Степанов В.А., Пузырев В.П.* Анализ аллельных частот семи микросателлитных локусов Y-хромосомы в трех популяциях тувинцев // Генетика. 2000. Т. 36. № 2. С. 241–248.
16. *Morral N., Bertranpetit J., Estivill X. et al.* The origin of the major cystic fibrosis mutation (ΔF508) in European populations // Nature Genetics. 1994. V. 7. P. 169–175.
17. *Perez-Lezaun A., Calafell F., Seielstad M. et al.* Population genetics of Y-chromosome short tandem repeats in humans // J. Mol. Evol. 1997. V. 45. P. 265–270.

18. *Hudson R.R.* Gene genealogies and the coalescent process // Oxf. Surv. Evol. Biol. 1990. V. 7. P. 1–44.

19. *Heyer E., Puymirat M., Dieltjes P. et al.* Estimating Y chromosome specific microsatellite mutation frequencies using deep rooting pedigrees // Hum. Mol. Genet. 1997. V. 6. № 5. P. 799–803.

20. *Bianchi N.O., Catanesi C.I., Baillet G. et al.* Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes of New World native populations // Am. J. Hum. Genet. 1998. V. 63. P. 1862–1871.

21. *Michalakis Y., Excoffier L.* A genetic estimation of population subdivision using distances between allels with special reference for microsatellite loci // Genetics. 1996. V. 142. P. 1061–1064.

22. *Schneider S., Kueffer J.M., Roessli D., Excoffier L.* Arlequin: a software for population genetic data analysis. Ver. 1.1. Genetica and biometry lab, Dept. of Anthropology. Univ. Geneva, 1997.

23. *Watterson G.A., Guess H.A.* Is the most frequent allele the oldest? // Theor. Popul. Biol. 1977. V. 11. P. 141–160.

24. *Кучер А.Н., Пузырев В.П., Санчат Н.О., Эрдыниева Л.С.* Генетико-демографическая характеристика сельского населения Республики Тува: национальный, родоплеменной состав, половозрастная структура // Генетика. 1999. Т. 35. № 5. С. 688–694.

25. *De Knijf P., Kayser M., Caglia A. et al.* Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects // Int. J. Legal Med. 1997. V. 110. P. 134–140.

26. *Cooper G., Amos W., Hoffman D., Rubinsztein D.C.* Network analysis of human Y microsatellite haplotypes // Hum. Mol. Genet. 1996. V. 5. № 11. P. 1759–1766.

27. *Алексеев В.П.* Краткое изложение палеоантропологии Тувы в связи с историческими вопросами // Антропоэкологические исследования в Туве / Ред. Алексеева Т.И., Урысон М.И. М.: Наука, 1984. С. 6–75.

28. *Вайнштейн С.И.* К вопросу об этногенезе кетов // Краткие сообщения Института этнографии. Вып. XIII. М., 1951.

29. *Кызласов Л.Р.* Таштыкская эпоха в истории Хакасско-Минусинской котловины. М., 1960.

30. *Roewer L., Kayser M., Dieltjes P. et al.* Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellites in two closely related human populations // Hum. Mol. Genet. 1996. V. 5. № 7. P. 1029–1033.

31. *Caglia A., Novelletto A., Dobosz M. et al.* Y-chromosome STR loci in Sardinia and continental Italy reveal islander-specific haplotypes // Eur. J. Hum. Genet. 1997. V. 5. P. 288–292.

32. *Kittles R.A., Perola M., Peltonen L. et al.* Dual origin of Finns revealed by Y chromosome haplotype variation // Am. J. Hum. Genet. 1998. V. 62. P. 1171–1179.

Y-Chromosome Microsatellite Haplotypes Demonstrate Absense of Subdivision and Presence of Several Components in the Tuvinian Male Gene Pool

V. A. Stepanov[1, 2, 3] and V. P. Puzyrev[1, 3]

[1] *Institute of Medical Genetics, Tomsk Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

[2] *Department of Cytology and Genetics, Tomsk State University, Tomsk, 634050 Russia*

[3] *Department of Medical Genetics, Siberian Medical University, Tomsk, 634050 Russia*

The haplotype analysis of seven Y-chromosome microsatellites in three regional populations of Tuvinians revealed high intrapopulation variation in the male gene pool of the modern population of the Tuva Republic. In total, 49 haplotypes were found in 111 individuals; only four haplotypes occurred at a frequency higher than 5%. High genetic diversity ($H = 0.935$) suggested a high power of discrimination for the Y-chromosome haplotypes. The analysis of molecular variance (AMOVA) and other data did not reveal subdivision of the Tuvinian population with respect to Y-chromosome haplotypes. Most haplotypes found in Tuvinians formed two lines. Line A included approximately 64% of the haplotypes found, line B, approximately 24%. A putative ancestral haplotype of line B was similar to a haplotype most common in modern Caucasoids ($M_d = 3$), whereas a putative ancestral haplotype of line A proved to be distant from the ancestral haplotype of line A and haplotypes common for Caucasoids and Mongoloids. Estimates of the age of the Y-chromosome lines showed that the male gene pool of modern Tuvinians originated in the late Paleolithic or Neolithic period. With two methods, the age of line A was estimated at 3500 or 18000 years and the age of line B was approximately at 5500 or 15000 years. Considering the less conservative estimates to be more reliable, line B was assumed to originate from the ancient Caucasoid population of the Tuva region. The more widespread and evolutionarily younger line A was associated with the peopling region by ancient Mongoloid tribes of the Turkic language group in the Hun-Sarmatian period.