

На правах рукописи

ВОЛОДЬКО
Наталья Викторовна

АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ДНК
ЮКАГИРОВ – КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ ПОЛЯРНОЙ СИБИРИ

03.00.15 – генетика

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Новосибирск, 2009 г.

Работа выполнена в лаборатории молекулярной генетики человека
Учреждения Российской академии наук Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск

Научный руководитель: д.б.н., профессор
Рем Израилевич Сукерник
Институт цитологии и генетики СО
РАН

Официальные оппоненты: академик РАН, профессор
Игорь Федорович Жимулев

чл-корр. РАН
Михаил Иванович Воевода

Ведущее учреждение: Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова РАН
г. Москва

Защита диссертации состоится 25 марта 2009 года на утреннем заседании
диссертационного совета Д-003.011.01 в Институте цитологии и генетики СО
РАН в конференц-зале Института по адресу: проспект акад. Лаврентьева 10,
г. Новосибирск, 630090. тел/факс: (383)3331278, e-mail: dissov@bionet.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института цитологии и
генетики СО РАН.

Автореферат разослан 20 февраля 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

А.Д. Груздев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Обнаружение следов обитания популяций человека современного вида 30 тыс. лет назад на р. Яне (71° С.Ш.) свидетельствует о заселении областей с суровыми условиям окружающей среды уже в палеолите (Pitulko et al., 2004). Все остальные палеолитические стоянки человека находятся к югу от Северного полярного круга (Goebel, 1999). Это говорит о том, что первое население Северо-Восточной Сибири либо исчезло, не оставив генетических следов, либо на время ледникового периода отступило на юг. Постоянное же население Заполярья сформировалось 9 тыс. лет назад (Хлобыстин, 1998), когда речные долины Лены, Индигирки, Колымы и Анадыря были освоены полуоседлыми племенами охотников и рыболовов. С течением времени они подвергались значительной ассимиляции популяциями, которые формировались в климатически более благоприятных районах Южной Сибири. К приходу первых русских в Сибирь в 16 веке лишь некоторые популяции охотничье-собирательского типа сохранились в виде антропологических изолятов, которые в настоящее время находятся в стадии полного поглощения своими более многочисленными соседями (Долгих, 1960; Симченко, 1976; Rogers, 1986). В связи с этим остатки их уникальных генофондов представляют бесценный источник генетической информации, важный не только для анализа эволюции популяций Северной Евразии, но и для реконструкции эволюционной истории человека.

Митохондриальная ДНК (мтДНК) вследствие материнского характера наследования, отсутствия рекомбинаций и высокой, по сравнению с ядерной ДНК, скоростью мутирования является идеальным инструментом для исследования генетической истории популяций. Начиная с 90-х годов прошлого века проведены популяционно-генетические исследования, позволившие выявить и классифицировать типы мтДНК, характерные для отдельных рас и популяций, а также проследить основные пути расселения человека по планете. Между тем, эволюционная и генетическая история некоторых народов Сибири остается неизученной.

Не составляют исключения и потомки древнейшего населения Восточной Сибири – юкагиры. Изучение мтДНК юкагиров практически не проводилось. Известно только две работы, в которых анализ мтДНК проводился лишь на уровне частичного ПДРФ-анализа и секвенирования контрольного района. Так, в работе Torroni и соавторов изучена выборка из 27 юкагиров (Torroni et al., 1993b), а Pakendorf и соавторы (2006) исследовали выборку из 32 юкагиров. Однако вследствие малых выборок и ограниченного разрешения методов анализа, применяемых в данных работах, ни о происхождении юкагиров,

ни об их взаимоотношениях с соседними популяциями не представляется возможным делать определенных выводов.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы являлось выяснение состава и происхождения митохондриальных филологических линий в популяции юкагиров, а также причин, которые повлияли на формирование разнообразия мтДНК в этой популяции. Для этого предстояло изучить митохондриальный генофонд юкагиров; сравнить полученные данные с уже имеющимися для популяций коренных жителей Сибири; выполнить статистический и филогенетический анализ.

Научная новизна и практическая ценность. Впервые получены данные по разнообразию мтДНК юкагиров на уровне полных геномов, а также предпринята попытка исследовать причины, по которым оно сформировалось. Статистический и филогенетический анализ данных позволил выяснить генетическую историю юкагиров и внести существенный вклад в задачу реконструкции эволюционной истории Восточной Сибири и заселения Нового Света. Полученные сведения имеют междисциплинарное значение и могут быть использованы как для развития и планирования дальнейших задач популяционной генетики человека, так и в антропологии, истории, медицинской генетике и судебно-медицинской практике.

Положения, выносимые на защиту. Митохондриальный генофонд юкагиров содержит уникальные гаплотипы, которые помогают дискриминировать основные эволюционные события, лежащие в основе первоначального и последующего заселения Сибири, и открывают новые горизонты для изучения роли микроэволюционных процессов (генный дрейф, отбор и миграции) в эволюции популяций человека.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на VI-й международной конференции «Древние ДНК и биомолекулы» (Тель-Авив, Израиль, 2002), на ежегодном съезде Американского общества генетики человека (Новый Орлеан, Луизиана, США, 2006), на конференции молодых ученых СО РАН, посвященной М.А. Лаврентьеву (Новосибирск, Россия, 2007), на XX международном конгрессе по генетике «Генетика – понимание живых систем» (Берлин, Германия, 2008).

Публикации. По результатам и проблематике настоящего исследования опубликовано 8 работ и одна принята в печать в журнал «Генетика».

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, методов, результатов и обсуждения, выводов, списка цитированной литературы, содержащего 260 ссылок, из которых 19 на

русском языке. Диссертация изложена на 98 страницах машинописного текста, содержит 10 таблиц и 13 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В параграфе приводятся современные сведения о структуре и свойствах мтДНК человека, разнообразии мтДНК в популяциях человека, гипотеза о роли естественного отбора в эволюции мтДНК, а также описание юкагиров. В связи с тем, что юкагиры представляют уникальную популяцию, а сведения о них можно найти только в специальной литературе, целесообразно остановиться на описании юкагиров подробнее.

Сведения о юкагирах. Юкагиры – это малочисленная народность Восточной Сибири, потомки древнего населения, связанного генетической непрерывностью и культурной преемственностью с первобытными охотниками континентальных районов Арктики и Субарктики. К приходу первых русских в середине 17 века юкагиры насчитывали около 5 тыс. человек. Популяция была подразделена на ряд племенных/территориальных групп, расселенных на территории тундры и северного леса, от Таймыра до Чукотки. Самым западным племенем юкагиров были тавги, на основании которых сформировались нганасаны (Долгих, 1952, 1960).

Юкагиры издревле населяли территории с самым суровым климатом. Основные юкагирские реки – Яна, Индигирка и Колыма – берут свое начало в отрогах Верхоянского и Станового хребтов. Эта горная цепь на протяжении многих веков отделяла юкагиров с их примитивной материальной культурой от более развитых тунгусоязычных эвенов/эвенков, а с 13 века - от тюркоязычных якутов, с которыми, как и своими восточными соседями (чукчами и коряками), юкагиры враждовали. Юкагиры говорили на изолированном (палеосибирском) языке и, в силу репродуктивной изоляции от окружающих их враждебных племен, представляли собой генетический изолят (Johelson, 1910). По антропологическим характеристикам они отличались от своих ближайших южных соседей (тунгусов) и, по заключению антропологов, представляли собой древний пласт автохтонного населения приполярной Сибири (Золотарева, 1968).

Включение юкагирских земель в состав Русского государства уже в 17 веке привело к резким изменениям в хозяйстве юкагиров, их расселении и численности, обусловленными совокупностью неблагоприятных факторов – опустошительными эпидемиями оспы, военными столкновениями с якутами, эвенами, коряками и чукчами, усугубленными изменениями экологических условий существования (падение численности и изменение маршрутов сезонных миграций

дикого оленя). В итоге, к началу 20 века от юкагирского этнического пласта остались лишь отдельные островки, общей численностью несколько сот человек, окруженные пришлым населением (Долгих, 1960). В зависимости от характера расселения и рельефа местности их относили к тундровым или лесным юкагирам, говорящим на разных диалектах юкагирского языка. Если тундровые юкагиры существовали, главным образом, за счет охоты на дикого северного оленя и озерного и речного рыболовства, то лесных следует отнести к охотникам на лося и рыболовам.

Остатки обособленного племени тундровых юкагиров (чуванцев) сохранились до наших дней на восточной периферии юкагирского ареала, с центром в селе Марково, Анадырского района Чукотского Автономного Округа (Бурыкин, 1993). Русское старожильческое население Походска и Русского Устья сформировалось на основе браков первых русских с юкагирками в середине 17 века - по свидетельству Долгих «на всем огромном пространстве юкагирской земли от Лены до Анадыря и у служилых и у промышленных людей были жены юкагирки» (Долгих, 1960).

К настоящему времени юкагиры практически полностью растворились в окружающем населении (Богоявленский, 2005). Вместе с тем, в ряде семей еще сохраняется генетическая непрерывность по линии матери, в связи с чем они представляют собой бесценный источник генетической информации, важный для реконструкции эволюции митохондриальных ДНК не только юкагиров, но и всего коренного населения Сибирского Севера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Величина и состав выборки. Пробы крови 82 тундровых юкагиров были собраны в поселках Походск (16), Черский (29), Колымское (21), Нижнеколымского улуса, и Русское Устье (16), Аллаиховского улуса, Республики Саха (Якутия) в процессе экспедиционных сборов, проведенных в 2003-2006 гг. Пробы крови 18 лесных юкагиров были собраны в 2002 году в поселке Нелемное (12), Верхнеколымского улуса, Республики Саха (Якутия) и в сентябре 2006 года в поселке Сеймчан (6), Среднеканского района, Магаданской области. Пробы крови 32 чуванцев были собраны в селе Марково, Анадырского района, Чукотского Автономного Округа в июне 2006 года. Пробы крови 17 вадеевских нганасан были собраны в поселке Новая, Таймырского (Долгано-Ненецкого) Автономного Округа в августе 2004 года. В качестве потенциальных доноров отбирали людей среднего и старшего возраста, в родословных семей которых нет общих предков на глубину трех поколений, а все материнские предки не смешаны с другими популяциями. Все образцы крови из вены были

взяты с добровольного письменного согласия доноров. В общей сложности пробы крови получены от 149 человек.

Методы. Молекулярно-генетический анализ мтДНК выполнялся в лаборатории молекулярной генетики человека ИЦиГ СОРАН и на базе Центра молекулярной и митохондриальной медицины и генетики, г. Ирвайн, Калифорния, США (директор – Д.С. Уоллес). Молекулярно-генетический анализ включал в себя выделение и очистку ДНК, гаплотипирование образцов и полное секвенирование выборочных митохондриальных геномов (Volodko et al., 2008). Гаплотип мтДНК определяли по сочетаниям диагностических мутаций относительно кембриджской последовательности (Andrews et al., 1999).

Индексы генного разнообразия, анализ генетической структуры популяций (AMOVA), статистические тесты нейтральности Таджимы и Фу, получали при помощи программы Arlequin 2.000 (Schneider et al., 2000). Генетические взаимоотношения популяций изучали при помощи факторного и филогенетического анализа, используя частоты гаплогрупп. Факторный анализ проводили при помощи программы STATISTICA 6.0. Филогенетический анализ методом ближайших соседей (Saitou et al., 1987) проводили, используя генетические расстояния D_a , которые рассчитывали по модифицированной формуле

Cavalli-Sforza (Takezaki et al., 1996): $D_a = 1 - \sum_1^m \sqrt{x_i y_i}$, где m - число

гаплогрупп в популяциях, а x_i и y_i - частоты i -ой гаплогруппы в популяциях X и Y. Построение филогенетического дерева проводили при помощи программы POPTREE (Takezaki, 1999). Филогенетическое дерево полных последовательностей гаплогрупп C и D строили методом максимальной парсимонии, при помощи программы mtPhyl, разработанной Н.П. Ельцовым и доступной по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/labs/mtgenome/programs.html>.

Время дивергенции кластеров мтДНК оценивали при помощи ρ -статистики (Morral et al., 1994). Стандартное отклонение (σ) определяли согласно (Saillard et al., 2000). Относительные оценки ρ и σ переводили в абсолютное время при помощи умножения на калибровочную величину, составляющую 5138 лет на транзицию для кодирующего района (Mishmar et al., 2003). Для оценки действия естественного отбора на мтДНК исследовали распределение несинонимичных (NS) и синонимичных мутаций (S) в группах гаплогрупп-ассоциированных и частных замен, согласно (Rand et al., 1996; Elson et al., 2004).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разнообразие и филогеография гаплотипов мтДНК, выявленных у юкагиров. Разнообразие митохондриальных гаплотипов

в изученных популяциях представлено в **таблице 1**. Для сравнения также показано разнообразие мтДНК авамских нганасан (Дербенева и др., 2002), которые в данной работе были дополнительно типированы для получения возможности сравнения с изучаемыми популяциями. Детальный анализ 149 образцов мтДНК позволил выявить 40 гаплотипов, принадлежащих к 6 гаплогруппам. Оказалось, что все линии мтДНК юкагиров принадлежат к восточно-евразийским гаплогруппам А, С, D, G и Z. Единственной западно-евразийской гаплогруппой оказалась U4. Она обнаружена у трех вадеевских нганасан и представлена одним гаплотипом.

В митохондриальном генофонде юкагиров доминируют гаплогруппы С и D, отличающиеся исключительным внутригрупповым разнообразием. Наиболее частой гаплогруппой в популяции юкагиров является гаплогруппа С. Обращает на себя внимание высокая частота гаплогруппы С2а, с наибольшей концентрацией (50%) выявленной у лесных юкагиров. Особенности географического распределения корневого гаплотипа С2а и его производных указывают на его происхождение у древнего населения приполярных районов континентальной Сибири. Другими словами вариант С2а представляет специфический палеосибирский гаплотип. Примечательно, что секвенирование ГВС1 мтДНК, извлеченной из ископаемых останков возрастом 3600 лет, найденных в северо-восточной Якутии, выявило вариант, идентичный С2а (Ricaud et al., 2005). На территории континентальной Сибири к югу от юкагирского ареала корневой вариант С2а также встречается, но с гораздо меньшей частотой (Mazunin et al, неопубликованные данные).

У юкагиров все гаплотипы гаплогруппы D встречаются с низкими частотами. При этом, для каждой субпопуляции характерен свой набор гаплотипов. Девять различных гаплотипов D найдено у тундровых юкагиров. У чуванцев обнаружено два гаплотипа - D3 и D2, которые характерны для популяций чукчей и эскимосов (Starikovskaya et al., 1998; Volodko et al., 2008). Лесные юкагиры характеризуются повышенной частотой гаплогруппы D5а. Новый, не описанный ранее гаплотип D2* обнаружен у одного тундрового юкагира. Гаплогруппа D5а, по-всей видимости, представляет поток генов со стороны якутов, в популяции которых ее частота максимальна (15%) на территории Сибири (Федорова et al., 2003; Pakendorf et al., 2006).

Гаплогруппа G1 наиболее представлена у чуванцев и составляет существенную долю митохондриального генофонда тундровых юкагиров. В популяции лесных юкагиров G1 не обнаружена. На основании доступных данных трудно определить была ли гаплогруппа G1 в митохондриальном генофонде праюкагиров, или же она

Таблица 1. Разнообразие последовательностей мтДНК в субпопуляциях юкагиров

Гапло- группа	ПДРФ и SNP кодирующего района	ГВСІ (-16000)	Тундровые юкагиры	Лесные юкагиры	Чуванцы	Вадеевские нганасаны	Авамские нганасаны*	
A2a	(-/-) 663e (3330)	111 192 223 290 311 319 362				4		
	(-/-) 663e (3330)	111 192 223 290 319 362				2		
A2b	(-/-) 663e -11362a	111 223 265 290 319 362				1		
	(-/-) 663e -11362a	111 176 223 265 290 319 362				1		
C2a	(+/+) (3816) -13259o	223 298 327 519	26	2	6			
	(+/+) (3816) -13259o	093 223 298 327 519				5	1	
	(+/+) (3816) -13259o	189 223 298 327 519	1					
	(+/+) (3816) -13259o	223 291 298 327 519	2	3				
	(+/+) (3816) -13259o	223 291 298 327 399 519	3					
	(+/+) (3816) -13259o	223 291 298 311 327 399 519		4				
	(+/+) (3816) -13259o	093 223 298 317 327 519				1		
	(+/+) (3816) -7497e -13259o	223 259+A 298 311 327 519					1	
C2b1	(+/+) -1715c (12672) -13259o	093 129 223 327 519			3			
	(+/+) -1715c (12672) -13259o	129 223 298 327 519		1				
	(+/+) -1715c (12672) -13259o	093 129 223 298 327 519	5		1	3		
	(+/+) -1715c 9bp del (12672) -13259o	093 129 223 298 327 519	2					
C2b2	(+/+) (12672) -13259o	171 223 298 327 344 357 519	3	2				
	(+/+) (12672)-13259o	145 171 223 298 327 344 357 519					1	
C3	(+/+) -13259o	189 223 261 288 298 519	3					
	(+/+) -13259o	093 189 223 261 288 298 519	2	1				
	(+/+) -13259o	093 189 223 261 288 298 309 519	1					
	(+/+) -1413l -13259o	093 223 288 298 327 390 519	5					
	(+/+) -1413l -13259o	093 145 223 288 298 327 390 519	1					
	(+/+) -1715c -13259o	148 223 288 298 327 519					2	
	(+/+) -1715c 9bp ins -13259o	148 223 288 298 327 519					1	
	(+/+) 1718e -13259o 15847a	148 223 288 298 327 519				2	2	
D2*	(+/+) -5176a (11215)	129 189 223 362	1					
D2a1a	(+/+) -3315e -5176a (11215)	111 129 223 271 362 366			1			
D3a1	(+/+) -951j -5176a (+/+) -10180l 15437e	223 319 362	2			3	4	
D3a2	(+/+) 3397k -5176a -10180l 14923c 15437e	223 319 320 362	1					
D3a2a	(+/+) -5176a -10180l 13717a 14923c 15437e	093 172 173 223 255 319 362			2			
D4	(+/+) -5176a 10646k	093 223 232 290 362 471					1	
D5a1	(-/-) -5176a 12026h (12705)	092 172 189 223 362	1					
D5a1	(-/-) -5176a 12026h (12705)	092 172 189 223 266 362	1	3				
D6	(+/+) -5176a (7445C) (11696)	223 319 362		1				
	(+/+) -5176a (11696)	223 319 362					2	
D7	(+/+) -5176a (10427)	145 223 311 362 368	1					
	(+/+) -5176a (10427)	223 274 362 368	1					
D8	(+/+) -1715e -5176a (8762) (12651C)	042 093 214 223 362	2					
D9	(+/+) 4830n -5176a	223 294 362	5					
G1	(+/+) 4830n 8198a	017 129 223 519	2		6			
	(+/+) 4830n 8198a	017 093 129 223 519	10		1			
	(+/+) 4830n 8198a	017 093 129 153 223 319 519			1			
	(+/+) 4830n 8198a	017 093 129 172 223 265 519			1			
U4a	(-/-) 4643k (8818) 11329a 12308g	134 356 519				3	2	
U4c	(-/-) 626e (2405+C) 4643k 11329a 12308g	189 356 519					3	
Z1a	(+/+) -6749v (10325) (15261)	129 185 223 224 260 298 519	1	1	2		1	
			Всего:	82	18	32	17	21

Примечание: * - разнообразие мтДНК авамских нганасан впервые изучено в работе Дербеновой и др. (2002), в данной работе адаптировано для сравнения. Диагностические сайты в кодирующем районе и ГВСІ выделены жирным шрифтом. Рестриктазы обозначены однобуквенным кодом: a = *AluI*; c = *DdeI*; e = *HaeIII*; g = *HinfI*; h = *HpaI*; j = *MboI*; k = *RsaI*; l = *TaqI*; n = *HaeII*; o = *HincII*; u = *MseI*, v = *AvrII*. Трансверсии обозначены заглавной буквой, соответствующей новому основанию. Диагностические SNP, не поддающиеся рестрикционному анализу, были секвенированы и показаны в скобках. Наличие или отсутствие сайтов рестрикции 10394*DdeI*/10397*AluI* обозначено как (+/+) или (-/-). 9bp del (9bp ins) – делеция (инсерция) 9 п.н. в межгенном сегменте COII/tRNA^{Lys}.

Таблица 2. Оценки разнообразия мтДНК юкагиров и других коренных жителей Сибири

Популяция	n	GD (SD)	k	S	θ_s (SD)	π (SD)
Юкагиры:	155	0,920 (0,015)	37	43	7,646 (2,043)	5,180 (2,791)
<i>тундровые</i>	82	0,873 (0,027)	23	32	6,413 (1,933)	4,147 (2,309)
<i>лесные</i>	18	0,936 (0,032)	11	25	7,153 (2,776)	5,918 (3,303)
<i>чуванцы</i>	32	0,915 (0,026)	14	22	5,463 (1,983)	5,694 (3,116)
<i>юкагиры/эвены</i>	23	0,913 (0,039)	13	28	7,498 (2,756)	6,246 (3,426)
Нганасаны:	39	0,891 (0,023)	12	22	5,204 (1,838)	4,534 (2,532)
<i>вадеевские</i>	17	0,853 (0,047)	6	12	3,550 (1,567)	3,912 (2,309)
<i>авамские</i>	22	0,887 (0,043)	10	20	5,486 (2,139)	4,810 (2,724)
Манси	98	0,972 (0,006)	44	59	11,441 (3,110)	6,261 (3,320)
Тубалары	72	0,942 (0,011)	25	54	11,141 (3,195)	6,081 (3,246)
Тувинцы	96	0,972 (0,008)	51	64	12,266 (3,320)	5,871 (3,134)
Тофалары	46	0,899 (0,020)	11	30	6,826 (2,246)	6,598 (3,524)
Якуты	178	0,964 (0,006)	65	67	11,640 (2,883)	6,329 (3,337)
Буряты	25	0,940 (0,026)	14	33	8,740 (3,131)	5,727 (3,162)
Ульчи	87	0,920 (0,023)	36	38	7,544 (2,202)	5,801 (3,104)
Эвены	64	0,952 (0,013)	28	37	7,825 (2,388)	6,138 (3,279)
Эвенки	71	0,948 (0,011)	29	37	7,656 (2,304)	4,963 (2,708)
Негидальцы	33	0,898 (0,030)	13	26	6,406 (2,258)	6,371 (3,445)
Удегейцы	46	0,860 (0,032)	12	22	5,006 (1,730)	3,991 (2,257)
Ительмены	46	0,921 (0,022)	17	22	5,006 (1,730)	4,338 (2,426)
Коряки	147	0,922 (0,011)	36	39	7,009 (1,914)	5,587 (2,987)
Чаунские чукчи	40	0,937 (0,017)	17	21	4,937 (1,752)	5,903 (3,197)
Нивхи	56	0,849 (0,028)	14	20	4,354 (1,496)	4,455 (2,472)
Кеты	38	0,882 (0,029)	13	31	7,378 (2,486)	6,694 (3,587)

Примечание: GD – генное разнообразие; k – число гаплотипов; S – число сегрегирующих сайтов; θ_s – оценка θ , основанная на числе сегрегирующих сайтов; π – среднее число попарных нуклеотидных различий. Для сравнительного анализа использованы последовательности нуклеотидов ГВС1 (16017-16390 п.н.) популяций, изученных как в нашей лаборатории, так и другими исследователями (юкагиры/эвены – Мазунин и др., неопубликованные данные; авамские нганасаны – данная работа, Дербенева и др. 2002; манси – Derbeneva et al. 2002; кеты – Дербенева и др. 2002; тубалары, тувинцы, тофалары, буряты, ульчи, эвенки, негидальцы, удегейцы, нивхи – Starikovskaya et al. 2005; чаунские чукчи – Volodko et al. 2008; эвены – Деренко и Шилдс, 1997; ительмены, коряки – Schurr et al. 1999; якуты – Pakendorf et al. 2006).

представляет недавнее приобретение от народов чукотко-корякской языковой семьи.

Потоком генов со стороны эвенов можно объяснить гаплогруппу Z в популяции юкагиров (Schurr et al., 1999). Высокая частота гаплогруппы A2 у чуванцев объясняется как территориальной близостью, так и исторически зафиксированным смешением чуванцев и чукчей (Долгих, 1960).

Характеристики генетического разнообразия юкагиров представлены в **таблице 2** в сопоставлении с другими популяциями Сибири. В целом, юкагиры характеризуются большим генетическим разнообразием по сравнению с нганасанами. Тундровые юкагиры

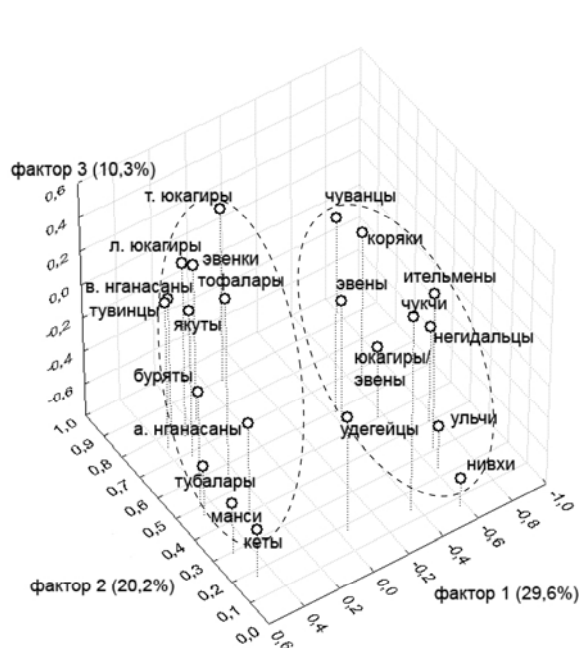


Рисунок 1. Расположение 22 популяций коренных жителей Сибири в пространстве трех главных факторов. *Обозначения:* т.юкагиры – тундровые юкагиры, л.юкагиры – лесные юкагиры, а.нганасаны – авамские нганасаны, в. нганасаны – вадеевские нганасаны.

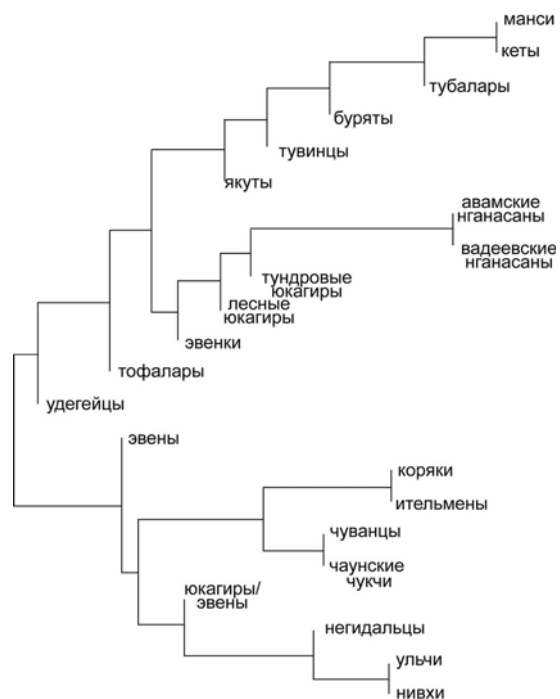


Рисунок 2. Бескорневое филогенетическое древо 22 популяций коренных жителей Сибири, построенное методом ближайших соседей, на основании генетических дистанций (D_a).

отличаются самым низким генетическим разнообразием среди субпопуляций юкагиров, у них обнаружено 23 гаплотипа, из которых один представлен с высокой частотой. Чуванцы характеризуются высоким генетическим разнообразием и низким числом гаплотипов (k). Показатель эффективного размера популяции (θ_s) для вадеевских нганасан минимален среди всех сравниваемых популяций. Причиной этого, кроме малого эффективного размера популяции, могут являться такие факторы как прохождение популяции через бутылочное горлышко, действие отбора, изоляция или же недостаточность выборки. Также вадеевские нганасаны характеризуются минимальным значением попарных нуклеотидных различий между гаплотипами (π).

Генетическую структуру юкагиров исследовали при помощи процедуры AMOVA. Когда все субпопуляции юкагиров и нганасан рассматривались как одна группа, значительная пропорция (7,36%, $P < 0,001$) генетического разнообразия находилось между популяциями, а 92,64% разнообразия находилось внутри популяций. Затем субпопуляции юкагиров объединяли в одну группу, вадеевских и авамских нганасан в другую группу. При этом между группами юкагиров и нганасан наблюдалось 6,48% разнообразия, а между популяциями внутри групп - 4,36%. Таким образом, показано, что

существует генетическая подразделенность как между группами юкагигов и нганасан, так и внутри групп.

Генетические взаимоотношения юкагигов с другими коренными жителями Сибири изучали при помощи факторного анализа. В качестве векторов для анализа использовали частоты гаплогрупп. Поскольку при помощи метода главных компонент удалось извлечь лишь 60% информации (**рисунок 1**), генетические взаимоотношения популяций также изучали при помощи филогенетического анализа методом ближайших соседей, используя генетические расстояния D_a , оцененные для последовательностей ГВС1 мтДНК (**рисунок 2**). Видно, что популяции четко разделяются на два кластера. При этом, нганасаны находятся в одном кластере с тундровыми и лесными юкагирами, хотя и удалены от них. В то же время, чуванцы и юкагиры/эвены попадают в другой кластер, образованный популяциями чукотско-камчатской языковой семьи и тунгусо-манчжурской группы алтайской языковой семьи. Достаточно удаленное положение чуванцев и юкагигов/эвенов от остальных субпопуляций юкагигов объясняется не только их географической изолированностью друг от друга, но также их существованием в различном этническом окружении, с которым они в разной степени смешаны.

Происхождение юкагигов и заселение Сибирской Арктики по результатам анализа полных митохондриальных геномов. Для изучения происхождения и эволюции линиджей, обнаруженных в митохондриальном генофонде юкагигов, мы использовали филогеографический подход (Avisé, 2000). Были получены полные последовательности митохондриальных геномов гаплогрупп С и D юкагигов и нганасан (n=39). На основании филогенетического анализа с привлечением всех доступных полных геномов, был оценен возраст этих гаплогрупп (**рисунок 3А-Б**). Это позволило выделить события первичной и вторичной колонизации Сибирской Арктики. Так, корневая последовательность гаплогруппы С2а была выявлена у двух тундровых юкагигов. Эта находка, наряду с высокой частотой (43%) С2а у юкагигов и временем дивергенции этого линиджа (8150 лет назад), позволяет предположить, что он возник в популяции праюкагигов и получил распространение в голоцене. Иными словами, его носители участвовали в реколонизации Сибирской Арктики после окончания ледникового максимума.

Также было обнаружено, что хотя большинство разнообразия мтДНК юкагигов составляют линиджи С2а, С2b, С3 и D4-D9, примерно 6% их мтДНК принадлежат к гаплогруппе D3а, производные которой достигли севера Северной Америки (Helgason et al., 2006). Можно

предположить, что такая структура линиджей юкагиров формировалась в результате смешения северных и южных популяций. Однако, наиболее вероятен другой сценарий, согласно которому разнообразие мтДНК юкагиров отражает древнее распределение линиджей С и D, ассоциированных с позднепалеолитической селемджинской культурой рыболовов и охотников-собирателей, возникшей в бассейне среднего течения Амура примерно 25 тыс. лет назад (Дервянко и др., 1998).

Оценка роли естественного отбора в формировании разнообразия мтДНК юкагиров. В данной работе, также как и другими исследователями, было показано, что гаплогруппы С и D широко распространены в субарктических районах Восточной Евразии (Starikovskaya et al., 1998; Schurr et al., 1999; Derbeneva et al., 2002; Starikovskaya et al., 2005; Derenko et al., 2007; Volodko et al., 2008). Для объяснения такой географической специфичности линиджей предложено две гипотезы. Согласно традиционной точке зрения, генетический дрейф в условиях изоляции мог привести к географической специфичности гаплогрупп (Harpending et al., 1998). С другой стороны, недавно было предположено, что в формировании митохондриального генофонда популяций человека задействован естественный отбор (Mishmar et al., 2003; Elson et al., 2004; Ruiz-Pesini et al., 2004; Amo et al., 2007; Elson et al., 2007; Sun et al., 2007). Согласно этой гипотезе, некоторые мутации мтДНК способствуют разобщению окислительного фосфорилирования, увеличивая выработку тепла и придавая селективное преимущество своим носителям в условиях холода.

Для проверки гипотезы о действии отбора на мтДНК юкагиров мы использовали стандартные статистические тесты нейтральности Таджимы и Фу (Tajima, 1989; Fu, 1997). Значение D Таджимы оказалось отрицательным, но статистически не значимым. Значение Fs Фу было отрицательным и статистически значимым (-12,993, $P < 0,05$), что свидетельствует о действии отрицательного отбора на мтДНК юкагиров, либо о популяционной экспансии. Однако распределение попарных нуклеотидных различий оказалось неравномерно мультимодальным (данные не приведены), что наряду с историческими свидетельствами отвергает гипотезу о популяционной экспансии юкагиров. Однако смешение юкагиров с соседними популяциями также могло привести к увеличению разнообразия мтДНК и, вместе с этим, значения Fs Фу.

Таким образом, поскольку статистические тесты нейтральности Таджимы и Фу основаны на распределении аллелей в популяции и зависят от популяционной динамики, для выяснения роли естественного отбора в формировании митохондриального генофонда популяций коренных жителей Сибири мы также использовали анализ распределения

синонимичных (S) и несинонимичных (NS) замен, согласно (Elson et al. 2004).

После построения филогенетического дерева 630 полных геномов мтДНК (использованы последовательности, полученные в данной работе и все имеющиеся в публичной базе данных GenBank), все нуклеотидные замены подразделялись на две группы. В первую группу входили гаплогрупп-ассоциированные (*ha*) замены. Каждая такая замена определяла кластер, состоящий, по крайней мере из двух последовательностей мтДНК. Вторая группа мутаций включала частные мутации (*p*), или те, которые находятся в концевых ветвях филогенетического древа. Для определения действия отбора на каждый ген в каждой гаплогруппе определяли отношение NS/S для двух классов мутаций и индекс нейтральности $NI = \frac{NS_p}{S_p} / \frac{NS_{ha}}{S_{ha}}$ (таблица 3). В целом, для гаплогруппы С были получены свидетельства действия отрицательного отбора ($NI > 1$, $P < 0,05$). Для гаплогруппы D распределение несинонимичных и синонимичных замен в группах гаплогрупп-ассоциированных и частных мутаций статистически достоверно не различалось. NI для всей гаплогруппы D оказался равным 1,18, что близко к 1 и свидетельствует о нейтральности эволюции мтДНК в данной гаплогруппе (Volodko et al., 2008).

Таблица 3. Анализ распределения несинонимичных (NS) и синонимичных (S) гаплогрупп-ассоциированных и частных мутаций в гаплогруппах С и D

Ген	Гаплогруппа С (132 полные последовательности мтДНК)								Гаплогруппа D (498 полных последовательностей мтДНК)							
	Гаплогрупп-ассоциированные мутации			Частные мутации			P	NI	Гаплогрупп-ассоциированные мутации			Частные мутации			P	NI
	NS	S	NS/S	NS	S	NS/S			NS	S	NS/S	NS	S	NS/S		
ND1	2	8	0,25	11	4	2,75	0,013	11	10	16	0,62	13	30	0,43	0,6	0,69
ND2	0	2	0,00	4	5	0,80	0,491	-	6	10	0,60	12	30	0,40	0,538	0,67
ND3	1	0	0,00	1	3	0,33	0,4	-	1	5	0,20	4	6	0,67	0,382	3,33
ND4	2	8	0,25	4	8	0,50	0,646	2	5	12	0,42	10	35	0,29	0,74	0,69
ND4L	0	0	0,00	0	5	0,00	1	-	0	2	0,00	2	6	0,33	1	-
ND5	1	6	0,17	10	20	0,50	0,649	3	15	24	0,62	32	47	0,68	0,845	1,09
ND6	1	2	0,50	4	2	2,00	0,524	4	3	8	0,37	8	16	0,50	1	1,33
COI	0	7	0,00	3	10	0,30	0,282	-	4	14	0,29	19	34	0,56	0,386	1,96
COII	3	5	0,60	5	5	1,00	0,664	1,67	0	7	0,00	9	9	1,00	0,024	-
COIII	1	3	0,33	2	5	0,40	1	1,2	3	9	0,33	13	14	0,93	0,193	2,79
Cytb	6	4	1,50	10	10	1,00	0,709	0,67	7	17	0,41	24	33	0,73	0,324	1,77
ATP6	1	2	0,50	8	1	8,00	0,127	16	12	8	1,50	14	14	1,00	0,433	0,67
ATP8	0	2	0,00	0	5	0,00	1	-	1	5	0,20	1	5	0,2	1	1
Всего:	18	49	0,37	62	83	0,75	0,033	2,03	67	137	0,49	161	279	0,58	0,377	1,18

Примечание: Значения P определяли при помощи точного теста Фишера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе выполнен детальный анализ изменчивости митохондриальных ДНК у 149 юкагиров - автохтонов континентальных районов Полярной Сибири. Проведена оценка генетической дифференциации и установлено наличие подразделенности как между группами юкагиров и нганасан, так и внутри групп. На основе полученных данных определено положение юкагиров в системе генофонда популяций коренных жителей Сибири. Определены и депонированы в GenBank полные последовательности 39 индивидуальных митохондриальных ДНК юкагиров. Филогеографический анализ мтДНК гаплогрупп С и D позволил выяснить истинное разнообразие мтДНК и уточнить филогенетические взаимоотношения митохондриальных гаплогрупп на территории Сибири. В дальнейшем эти данные могут быть использованы для разработки более совершенных схем типирования, позволяющих более высокой точностью оценивать разнообразие мтДНК в популяциях коренных жителей Сибири.

Проведена оценка действия естественного отбора на митохондриальные ДНК гаплогрупп С и D. Результаты анализа свидетельствуют в пользу гипотезы о действии естественного отбора на мтДНК. Однако, согласно полученным данным, сила и направленность его действия на разные гены и гаплогруппы различается.

Анализ полных последовательностей и определение возраста гаплогрупп С и D позволил выделить события первичной и вторичной колонизации Сибирской Арктики. Мы полагаем, что разнообразие мтДНК юкагиров отражает древнее распределение линиджей С и D, ассоциированных с формированием селемджинской культуры рыболовов и охотников в среднем течении Амура примерно 25 тыс. лет назад и последующим ее распространением (Деревянко и др., 1998). Между тем, гаплогруппа С2а возникла в популяции праюкагиров в процессе реколонизации ими Сибирской Арктики после окончания ледникового максимума.

ВЫВОДЫ

Выполнен анализ изменчивости митохондриальных геномов у 149 юкагиров (4 субпопуляции). Из них 39 мтДНК подвергнуто полному секвенированию. Полученные результаты интегрированы в базу данных полных последовательностей мтДНК коренных жителей Сибири, с последующим статистическим и филогеографическим анализом. Оказалось, что:

1. Митохондриальный генофонд юкагиров состоит из восточно-евразийских гаплогрупп – А, С, D, Z и G. Наибольшей частотой и разнообразием отличаются гаплогруппы С и D. Найден новый, не описанный ранее, гаплотип D2*, свидетельствующий в пользу

- генетического следа, оставленного в междуречье Нижней Колымы и Индигирки миграциями ранних евразийцев.
2. У юкагигов Нижней Колымы идентифицирован предковый гаплотип гаплогруппы C2a, возраст которого (8150 тыс. лет) совпадает с началом процесса реколонизации Сибирской Арктики и Субарктики.
 3. Подвергнута ревизии и расширена номенклатура митохондриальных гаплогрупп.
 4. Возрастные оценки гаплогрупп C и D, доминирующих в митохондриальном ландшафте Сибири, совпадают с существованием позднепалеолитической селемджинской культуры рыболовов и охотников-собирателей, сформировавшейся в бассейне среднего течения Амура примерно 25 тыс. лет назад.
 5. Установлено, что митохондриальные сублинии в составе гаплогруппы C подвержены отрицательному отбору, в то время как для гаплогруппы D действие отбора не обнаружено.

Основные результаты диссертации опубликованы в работах:

1. **Volodko NV**, Starikovskaya EB, Mazunin IO, Eltsov NP, Naidenko PV, Wallace DC, Sukernik RI. (2008) Mitochondrial genome diversity in arctic Siberians, with particular reference to the evolutionary history of Beringia and Pleistocenic Peopling of the Americas. *Am. J. Hum. Genet.* V. 82. P. 1084-1100.
2. **Володько НВ**, Ельцов НП, Стариковская ЕБ, Сукерник РИ. Анализ изменчивости митохондриальных ДНК юкагигов в эволюционном контексте. *Генетика*. Принята печать.
3. **Володько НВ**, Львова МА, Стариковская ЕБ, Дербенёва ОА, Бычков ИЮ, Михайловская ИЕ, Погожева ИВ, Федотов ФФ, Соян ГВ, Прокачио В, Уоллес ДС, Сукерник РИ. (2006) Спектр патогенных мутаций мтДНК в семьях больных наследственной нейропатией зрительного нерва Лебера в Сибири. *Генетика*. Т. 42. С. 78-87.
4. Starikovskaya EB, Sukernik RI, Derbeneva OA, **Volodko NV**, Ruiz-Pesini E, Torroni A, Brown MD, Lott MT, Hosseini SH, Huoponen K, Wallace DC. (2005) Mitochondrial DNA diversity in indigenous populations of the southern extent of Siberia, and the origins of Native American haplogroups. *Ann Hum Genet.* V. 69. P. 67-89.
5. Derbeneva OA, Sukernik RI, **Volodko NV**, Hosseini SH, Lott MT, Wallace DC. (2002) Analysis of mtDNA diversity in the Aleut of the Commanders and its implication for the genetic history of Beringia. *Am. J. Hum. Genet.* V. 71. P. 415-421.
6. Дербенева ОА, Стариковская ЕБ, **Володько НВ**, Уоллес ДС, Сукерник РИ. (2002) Изменчивость митохондриальных ДНК у кетов

- и нганасан в связи с первоначальным заселением Северной Евразии. Генетика. Т. 38. С. 1554-1560.
7. Сукерник РИ, Дербенева ОА, Стариковская ЕБ, **Володько НВ**, Михайловская ИЕ, Бычков ИЮ, Лотт МТ, Браун МД, Уоллес ДС. (2002) Митохондриальный геном и митохондриальные болезни человека. Генетика. Т. 38. С. 161-170.
 8. **Volodko NV**, Eltsov NP, Naidenko PV, Starikovskaya EB, Sukernik RI. Selection Left Distinctive Signatures at the Human Mitochondrial Genome Level in Siberia/Beringia. XX International Congress of Genetics. Abstract Book. Berlin, Germany, 2008. P. 152.
 9. **Volodko NV**, Sukernik RI, Starikovskaya EB, Lvova MA, Wallace DC, Mitochondrial DNA Lineages in the Yukaghir, Chukchi and Siberian Eskimos, and Resettlement of Arctic Siberia after the Last Glacial Maximum (LGM). 56th annual meeting of The American Society of Human Genetics, October 9-13, 2006, New Orleans, Louisiana. Available from <http://www.ashg.org/cgi-bin/ashg06s/ashg06>.