

© А. С. Аленичев¹, Ю. А. Насыхова²,
Т. Э. Ивашенко², В. С. Баранов²

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РФ ПО ГЕНУ *HLA-G*

¹ Санкт-Петербургский государствен-
ный университет;

² ФГБУ «НИИАГ Д. О. Отта СЗО»
РАМН, Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 04.03.2014

Принята к публикации 01.07.2014

✳ **Введение:** Ген *HLA-G* относится к неклассическим генам системы HLA и экспрессируется тканеспецифично клетками трофобласта, клетками тимуса и стволовыми клетками. Полиморфные изменения гена *HLA-G*, часть из которых является функционально значимыми, затрагивают как кодирующие, так и некодирующие области гена. **Материалы и методы:** Используя метод полимеразной цепной реакции мы изучили полиморфизм гена *HLA-G* (аллели G*0101-G0107, -725C/G, 3741del/ins14.) у 118 человек в возрасте от 20 до 40 лет в Северо-Западном регионе РФ (Санкт-Петербург). **Результаты:** Разработана система праймеров для мультиплексной аллельспецифической ПЦР, позволяющей определять основные аллели гена *HLA-G*. Определены особенности распределения аллелей гена *HLA-G* у жителей Северо-Западного региона РФ. Сравнительный анализ распределения частот аллелей между популяционной выборкой Северо-Западного региона РФ и популяциями других стран показал сходство между популяциями Дании, Германии и Северо-Запада РФ по аллелям G*0101-G0107 и полиморфизму 3741del/ins14. Проведен кластерный анализ и рассчитаны генетические расстояния между популяциями Испании, Китая, Японии, Дании, Индии, Африканских Шона, Бразилии, Германии, Польши и популяцией Северо-Запада РФ. **Заключение:** Показано сходство распределения частот аллелей G*0101-G0107 и полиморфизма 3741del/ins14 популяции Северо-Запада РФ и популяцией Дании и Германии.

✳ **Ключевые слова:** популяционный анализ; HLA-G; аллели; мультиплексная ПЦР; генетические расстояния; Северо-Западный регион РФ.

ВВЕДЕНИЕ

Система HLA (Human Leukocyte Antigen) — высоко-полиморфный локус, содержащий гены, продукты которых осуществляют контроль взаимодействия всех иммунокомпетентных клеток организма, распознавание своих и чужеродных (в том числе измененных собственных) клеток, запуск и реализацию иммунного ответа. *HLA-G* является неклассическим *HLA* геном, в отличие от классических генов (*HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*) *HLA-G* экспрессируется тканеспецифично клетками трофобласта, клетками тимуса и стволовыми клетками (Loustau et al., 2013). Экспериментальные данные свидетельствуют о способности растворимых белковых продуктов гена *HLA-G* локально подавлять иммунную систему, однако конкретный молекулярный механизм данного воздействия до сих пор не изучен. Показана способность белка *HLA-G* модулировать пролиферацию клеток иммунной системы, а также силу и специфичность иммунного ответа. *HLA-G* отличается от классических *HLA* генов меньшим количеством полиморфных аллелей, так например *HLA-B* имеет 1431 аллель, *HLA-C* — 569 аллелей, тогда как *HLA-G* лишь — 46 аллелей. (Dopadi et al., 2011). Полиморфные изменения гена затрагивают как кодирующие, так и некодирующие области гена. Полиморфизм -725 C/G в промоторной области гена, и 3741*ins/del 14 п.н в 3' нетранслируемой области гена влияют на уровень экспрессии гена и стабильность мРНК, тогда как аллели G*0101, G*0102 G*0103,

G*0104, G*0105N, G*0106, G*0107 кодируют продукты, имеющие разный на аминокислотный состав. Для некоторых из аллелей выявлена достоверная ассоциация с повышением риска развития патологий, связанных с нарушением иммунного ответа. Можно выделить неблагоприятные генотипы, которые, по-видимому, вносят весомый вклад в развитие мультифакторных заболеваний.

Аллели G*0101-G0107 представляют собой следующие сочетания однонуклеотидных замен в белок-кодирующей области гена: *HLA-G*0101* (31A, 54A, 110C, 130CC, 2 P58C), *HLA G*0102* (31A, 54G, 110C, 130CC, 258C), *HLA G*0103* (31T, 54A, 110C, 130CC, 258C), *HLA G*0104* (31A, 54A, 110A, 130CC, 258C), *HLA G*0105N* (31A, 54A, 110C, 130CA, 258C), *HLA G*0106* (31A, 54A, 110C, 130CC, 258T), *HLA G*0107* (31A, 54A, 110A, 130CC, 258T).

Аллель G*0101 рассматривается как один из наиболее древних аллелей данного гена, так как аллель G*0101 обнаружен еще у обезьян и шимпанзе (Castro et al., 1996), появление других аллелей (G*0102-0107) сводится непосредственно к видовой эволюции человека.

Одной из наиболее активно изучаемых однонуклеотидных замен в промоторной области гена является замена С на G (-725* C>G-rs1233334), находящаяся на расстоянии 19 п.н от активного ISRE сайта, и в 10 п.н от нефункционального гамма-интерферон-активируемого сайта (Rousseau et al., 2003). Аллель-725*G ассоциирован с увеличением риска невынашивания беременности

(Ober et al., 2003). При анализе экспрессии гена на культуре клеток трофобласта выяснилось, что уровень транскрипции *HLA-G* гена несущий -725^*G аллель повышен (Ober et al., 2006).

Популяционные исследования $-725C>G$ полиморфизма *HLA-G* гена немногочисленны: в настоящее время существуют данные о частотах аллелей в польской популяции (Щецин) (Sipak-Szmigiel et al., 2009).

Еще один аллельный вариант в некодирующей части гена *HLA* — инсерция/делеция 14 п. н. в положении 3741 (rs66554220) достаточно активно изучается. Аллель с инсерцией 14-пар нуклеотидов ассоциирован с пониженным количеством мРНК *HLA-G*, и к более низким концентрациям растворимых и мембран-ассоциированных форм *HLA-G* (Rousseau et al., 2003). В настоящее время установлена ассоциация аллеля 3741^*ins с развитием осложнений после трансплантации органов и тканей, болезнью Крона и язвенного колита, артрита, гестоза и привычного невынашивания беременности (Glas et al., 2007; Donadi et al., 2011).

Анализ гена *HLA-G*, как одного из возможных генов-кандидатов, вносящих вклад в мультифакторные заболевания, крайне важен для медицинской генетики. Детальное изучение генов-кандидатов позволяет приблизиться к пониманию патогенеза мультифакторных заболеваний, ассоциированных с иммунной системой.

В настоящее время нет данных об особенностях распределения аллелей гена *HLA-G* у жителей Северо-Западного региона России, что обуславливает необходимость проведения данного исследования в этой популяционной группе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В группу вошли 118 человек (65 мужчин и 53 женщин) в возрасте от 20 до 40 лет, без хронических заболеваний, на момент забора крови на станции переливания крови ИАГ им. Отта и проживающих в Северо-Западном регионе РФ. Выделение ДНК проводили стандартным фенол-хлороформным методом с некоторыми модификациями.

Олигонуклеотидные праймеры, необходимые для проведения ПЦР, подбирали с использованием программы «Oligo v.6.31» (Molecular Biology Insights Inc., США). Последовательности фрагментов гена *HLA-G* получены из интернет-баз «HLA Informatic Group, Anthony Nolan Research Institute» (США).

Для идентификации основных классов аллелей (G^*0101 , G^*0102 , G^*0103 , G^*0104 , G^*0105N , G^*0106 и G^*0107) была разработана собственная система праймеров (за основу брали последовательности олигонуклеотидов французских исследователей (Mogean et al., 2008). Эти праймеры позволяли амплифицировать фрагменты анализируемых аллелей в моноплексной реакции и практически не отличались друг от друга по раз-

мерам, что не позволяло в дальнейшем использовать их для проведения мультиплексной ПЦР.

Для проведения мультиаллельспецифичной ПЦР праймеры подбирали таким образом, чтобы концевой 3' нуклеотид праймера соответствовал анализируемой однонуклеотидной замене и ПЦР-реакция шла только при полной комплементации праймера с анализируемой ДНК, что позволяет судить о присутствии изучаемой аллели. Структура олигопраймеров и идентифицируемые аллели представлены в таблице 1.

Для идентификации полиморфизма $3741^*ins/del$ 14 п.н. использованы последовательности праймеров, приведенные в работе Veit et al., 2008.

Анализ полиморфизма $-725 C/G$ проводили с использованием олигопраймеров, позволяющих создать искусственный сайт рестрикции для фермента Pse I (F: 5'-TGA ACC AGC CCT CCT AAT AA-3', R: 5'-ACC GAT TAG ATT CCT GA TCA TTC AGG GGT TAC CAA-3'). Для анализа замены $-725 C>G$ проводили гидролиз ПЦР-продукта эндонуклеазой Pse I согласно рекомендациям фирмы-изготовителя («Сибэнзим», Новосибирск).

Для амплификации использовали программируемые термоциклеры фирм «ДНК-технология» (Москва). После окончания ПЦР специфичность амплификации и количество ДНК проверяли методом электрофореза в 7,5 %-м полиакриламидном геле (ПААГ).

ПААГ окрашивали водным раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл), просматривали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе «Masovue» («Pharmacia LKB», Великобритания) и фотографировали с использованием системы видео-гель-документации («Vilber Lourmat»).

Расчет частот аллелей производился исходя из закона Харди–Вайнберга.

Так как закон Харди–Вайнберга подразумевает биномиальное/полиномиальное распределение частот аллелей, то доверительный интервал для частот аллелей рассчитывался по методу Клоппера–Пирсона, учитывающему асимметричность интервалов и возможность расчёта при частоте аллели = 0.

Расчет проводился с помощью интернет-калькулятора Statistics Calculators (<http://www.danielsoper.com/default.aspx>).

Сравнение частот генотипов в популяциях проводили методом χ^2 по формуле:

$$\chi^2 = (N_1 N_3 - 1/4 N_2^2)^2 N / (n_1^2 n_2^2), \text{ где}$$

N_1, N_2 и N_3 — численности генотипов XX, Xx и xx,
 N — общий объем выборки,
 n_1 и n_2 — число аллелей исследуемых генов в выборке (Животовский, 1991).

При выявлении статистических различий между популяциями для каждого значения P рассчитывалось значение $p_{\text{тер}}$, показывающее вероятность получить

Таблица 1

Структура олигопраймеров и идентифицируемые аллели

	Структура олигопраймеров	Распол. кодонов	Размер ампл.	Аmplицируемые аллели						
				0101	0102	0103	0104	0105N	0106	0107
G2-5'	5'-TATTTTCAGCGCCGCGTGTGTC-3'	2-10								
G2-3'31A	5'-CGAACCGCACGAACTGCGT-3'	31-37	91	+	+		+	+	+	+
G2-3'31T	5'-TGTTTCGAACCGCACGAACTGCGA-3'	31-37	95			+				
G2-3'54G	5'-TTCCCAATACTCCGGCCCTCCC-3'	54-60	166		+					
G2-3'54A	5'-CAATACTCCGGCCCTCCT-3'	54-60	161	+		+	+	+	+	+
G3-5'	5'-CCCTCCAGTGGATGATTGGCTG-3'	93-99								
G3-3'110A	5'-GTAGGCATACTGTTTCATACCCGCGGAT-3'	110-116	74				+			+
G3-3'110C	5'-GCATACTGTTTCATACCCGCGGAG-3'	110-116	71	+	+	+		+	+	
G3-3-130CA	5'-GCGGTCCAGGAGCGCAGT-3'	129-135	124					+		
G3-3-130CC	5'-CGCTGCG (A)GTCCAGGAGCGCAGG-3'	129-135	128	+	+	+	+		+	+
G4-5'	5'-CCCACCACCCTGTCTTTGAC-3'	190-197								
G4-3'258T	5'-CTCATGCTGCACATGGCACA-3'	258-264	224						+	
G4-3'258C	5'-CAGCCCTCATGCTGCACATGGCACG-3'	258-264	230	+	+	+	+	+		+
G 1-5'	5'-TCGGGCGGGTCTCAACCT-3'	3' конец интрона 1								
G2-3'239T	5'-CGCGGCCGGCCGGA-3'	13-18	83							+

различие с тем же знаком при повторном сравнении (Killeen 2005).

$$p_{\text{геп}} = \left[1 + \left(\frac{p}{1-p} \right)^{\frac{2}{3}} \right]^{-1},$$

где $p_{\text{геп}}$ = искомое значение

В качестве пост-теста для P , использовался расчет значения Φ_c по Крамеру,

$$\phi_c = \sqrt{\frac{\chi^2}{N(k-1)}},$$

где N — размер выборки, K — наименьшее из количества строк/столбцов.

Значение Крамера варьирует от 0 до 1 и показывает силу взаимодействия двух групп. Значение близкое к 0 означает слабую связь, значение близкое к 1, соответственно, указывает на сильную связь.

Определение достоверности различий между сравниваемыми группами или подгруппами по частотам генотипов и аллелей исследуемого гена производили с помощью критерия Фишера (F) или хи-квадрат (χ^2) по стандартной формуле с учетом поправки Йетса для парных сравнений. При выявлении популяционных раз-

личий рассчитывалось стандартное генетическое расстояние по Нею.

$$I = \frac{\sum a_i b_i}{\sqrt{\sum a_i^2 \sum b_i^2}}$$

$$D = -\ln I$$

Где I — коэффициент родственности, D — генетическое расстояние, a_i и b_i — частоты аллелей i в популяциях a и b .

Кластеризация популяций производилась по методу Уарда (Ward) с использованием меры расстояния Эвклида с помощью программы StatSoft Statistica 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе проанализированы основные аллельные варианты гена *HLA-G*: -725*С/С, 3741*ins/del 14 п.н и группы аллелей G*0101, G*0102 G*0103, G*0104, G*0105N, G*0106, полиморфизм которых уже изучен в популяционных выборках разных стран, причем большая часть исследуемых аллелей встречается в популяциях относительно часто (табл. 2, 3).

В таблице 4 представлены частоты аллелей в популяционной выборке Северо-Запада РФ.

Таблица 2

Частоты основных аллелей кодирующих участков гена *HLA-G* в популяциях разных стран (Donadi et al., 2011)

Популяция	Частоты аллелей							n
	G*0101	G*0102	G*0103	G*0104	G*0105N	G*0106	G*0107	
Африканские Шона	0,61	0	0,07	0,21	0,11	0	0	216
Дания (Копенгаген)	0,87	0	0,04	0,09	0,01	0,03	0	104
Северная Индия (Лакхнау)	0,38	0,01	0,24	0,17	0,15	0,02	0	240
Бразилия (Сан-Паулу)	0,642	0	0,08	0,08	0,01	0,05	0	206
Германия (Бонн)	0,86	0	0,02	0,06	0,02	0	0	264
Япония (Токио)	0,55	0	0	0,45	0	0	0	108
Китай (Шанхай)	0,74	0	0,003	0,23	0,01	0	0	292
Испания (Мадрид) #	0,72	0	0	0,21	0,06	0	0	80
Хаттериты #	0,72	0	0,02	0,13	0	0	0	200
Польша (Щецин)	0,96	0	0	0,02	0,01	0	0	160

Нами определены частоты аллелей G*0101-0107 у 65 мужчин и 53 женщин (табл. 4). Частота генотипа G0101/G0101 составила 73 %, частота генотипа G0101/G0104 — 17 %. Генотипы G0101/G0103 и G0101/G0105 встречались с частотами 4 % и 6 % соответственно.

При анализе основных аллелей как в кодирующих областях гена *HLA-G* (G*0101–0107), так и в некодирующих участках (–725 C >G и 3741ins14/del14), статистически значимых различий по частотам генотипов и аллелей между группами мужчин и женщин популяции Северо-Запада РФ не выявлено (p > 0,05). Распределение соответствующих генотипов в исследуемой группе соответствовало распределению Харди–Вайнберга (p > 0,05).

При сравнении частот аллелей и генотипов полиморфизма 3741ins14/del14 гена *HLA-G* в популяционной выборке Северо-Запада РФ с данными, полученными для популяций Бразилии (Сан-паулу), Индии (Лакхнау), Китая (Цзянсу), Дании (Копенгаген), Польши (Щецин) и Германии (Мюнхен), статистически значимых различий не выявлено.

Не установлено достоверных различий для популяций Северо-Западного региона РФ и Польши при сравнительном анализе частот аллелей и генотипов полиморфизма 725*C>G гена *HLA-G* (Sipak-Szmigiel et al., 2009).

Определены статистически значимые различия при сравнительном анализе распределений частот аллелей *HLA-G*0101-0107* между популяцией Северо-Запада РФ и популяциями Испании, Африканских Шона, Бразилии, Китая, Японии, Польши, Хаттеритов и Северной Индии. Отличий с популяцией Дании и Германии выявлено не было (табл. 5).

Таким образом, в результате проведенной работы установлены статистически значимые различия в частотах аллелей *G*0101-0107* между популяцией северо-западного региона России в сравнении с рядом других популяций. Можно предполагать, что это связано с этническими различиями сравниваемых выборок. Известно, что сходства или различия в отношении типа, количества и характера межпопуляционной генетической изменчивости могут быть результатом многих факторов. Так, сходство двух популяций может быть обусловлено тем, что они недавно дивергировали, между ними существует поток генов, они представляли собой крупные популяции с небольшим генетическим дрейфом или сходный тип отбора действовал на сходные локусы обеих популяций. Различия между популяциями могут быть связаны с долговременной изоляцией и отсутствием потока генов между популяциями, или на популяции действует отбор разной силы.

Таблица 3

Частоты основных аллелей не кодирующих участков гена *HLA-G* в популяциях разных стран

Полиморфизм	Популяция	Частоты аллелей		n	Ссылка
		3741*del	3741*ins		
3741*ins/del	Бразилия (Сан Паулу)	0,59	0,41	356	Veit et al., 2008
	Дания (Копенгаген)	0,61	0,39	93	Hviid et al., 2004
	Индия (Лакхнау)	0,52	0,48	120	Tripathi et al., 2004
	Германия (Мюнхен)	0,61	0,38	739	Glas et al., 2007
	Польша (Щецин)	0,62	0,37	160	Sipak-Szmigiel et al., 2009
	Китай (Цзянсу)	0,71	0,29	599	Jiang et al., 2011
-725*C>G	Польша (Щецин)	–725*G	–725*C	160	Sipak-Szmigiel et al., 2009
		0,13	0,87		

Таблица 4

Частоты аллелей гена *HLA-G* в популяции Северо-Запада РФ ($n = 118$)

Аллель	Частота	Доверительный интервал (CI 95 %)
<i>G*0101</i>	86,5 %	78–92 %
<i>G*0102</i>	0	не более 3,6 %
<i>G*0103</i>	2 %	0,2–7 %
<i>G*0104</i>	8,5 %	4–16 %
<i>G*0105</i>	2,9 %	0,6–8 %
<i>G*0106</i>	0	не более 3,6 %
<i>G*0107</i>	0	не более 3,6 %
-725C	85 %	76–91 %
-725G	15 %	9–24 %
3741* del 14	59 %	48–68 %
3741* ins 14	41 %	31–51 %

Частота аллели *G*0101* в популяции Северо-Запада РФ составила 86,5 %. Аллель *G*0101* рассматривается как наиболее широко распространенная среди европеоидов (в популяции Хаттеритов частота составляет 72,5 %, в популяции Дании — 87 %, Германии — 86 %, Японии — 55 %, Индии — 39 %).

По частоте встречаемости аллель *G*0104* находится на втором месте после аллеля *G*0101*, причем, согласно данным литературы, ее частота в Европейских популяциях не превышает 10 %. Для Востока и Юго-Востока Евразии частота данной аллели высока и составляет 25 % в Китае, 24 % в Индии (45 % в Африке). Частота аллеля *G*0104* в нашей популяции составляет 8,5 %, что примерно сопоставимо со значениями для популяции Дании (Копенгаген) и Германии (Бонн).

Частота аллеля *G*0105N* в популяции Северо-Западного региона РФ составляет 3 %. Аллель *G*0105N* относительно широко распространен в Бразильской и Африканской популяциях с частотами 11 % и 15 % соответственно. Меньшая частота наблюдается в популяции Испании — 6 %, Дании — 1 %, Германии — 2 %, Польши — 2 %. Можно предположить, что поток данного аллеля в Европейские популяции связан с агрессивной политикой арабов в Средние века при завоевании Испании.

Аллель *G*0103* присутствует в популяции Индии с частотой 24 %, в Бразилии — 9 %. В европейских популяциях самая высокая частота зарегистрирована в Германии и Дании, около 4 %. Для популяционной выборки Северо-Запада РФ частота аллеля *G*0103* составляет 2 %.

В популяции Северо-Запада РФ аллель *G*0106* не идентифицирован, как и в популяции Польши (Щецин) и Германии (Бонн). В Бразильской (5 %) и Индийской популяциях (3 %) ее частота оставляет 5 % и 3 % соответственно. Единственная европейская популяция, где зарегистрирован аллель *G*0106* — популяция Дании (4 %).

Аллели *G*0102* и *G*0107*, обнаруженные в единственном случае при исследовании различных популяций, при анализе популяции Северо-Запада РФ, не были детектированы, что дает дополнительные факты считать эти аллели крайне редкими.

Полученные нами данные указывают на существование популяционных различий в распределении аллелей гена *HLA-G* среди индивидуумов Северо-Западного региона РФ по сравнению с другими популяциями, и свидетельствует о важности исследования генетической структуры каждой конкретной популяции. В ходе работы нами были определены генетические расстояния меж-

Таблица 5

Результаты сравнительного анализа частот аллелей *G*0101-G*0107* в Северо-Западном регионе РФ и в других популяциях

Популяция	I	D	X ²	P-значение	P-гер значение	Фс
Китай (Шанхай)	0,978	0,022	10	0,01	0,993	0,050
Япония (Токио)	0,831	0,185	32	0,0001	1,000	0,160
Германия (Бонн)	1,000	0,000	2	0,64	0,506	0,010
Бразилия (Сан-Паулу)	0,990	0,010	12,8	0,01	0,993	0,064
Индия (Лакхнау)	0,803	0,220	51	0,0001	1,000	0,255
Дания (Копенгаген)	0,999	0,001	4,5	0,28	0,803	0,023
Африканские Шона	0,961	0,040	13,4	0,003	0,998	0,067
Польша (Щецин)	0,997	0,003	7,2	0,06	0,960	0,036
Хаттериты	0,996	0,004	16,8	0,0022	0,999	0,084

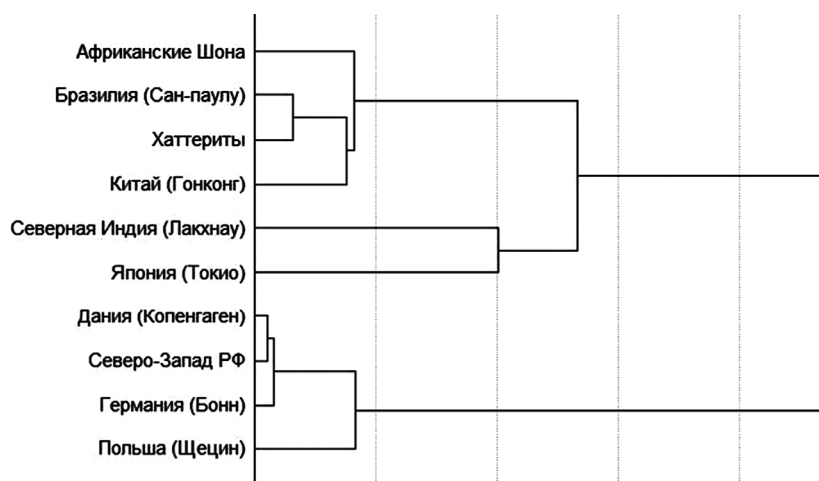


Рис. 1. Сходство различных популяций по аллелям *G101-0107* гена *HLA-G*. Кластеризация по методу Варда с использованием меры расстояния Эвклида

ду популяциями Испании (Мадрид), Китая (Шанхай), Японии (Токио), Дании (Копенгаген), Индии (Лакхнау), Африканских Шона, Бразилии (Сан-Паулу), Германии (Бонн), Польши (Щецин) и популяцией Северо-Запада РФ (табл. 5). Согласно полученным данным, наименьшее генетическое расстояние определено между популяцией Северо-западного региона РФ и популяциями Дании, Германии и Польши. Любопытно, что несмотря на то что Польша территориально ближе к Северо-Западному региону РФ, результаты анализа показали, что Дания и Германия генетически оказались ближе к нашему региону. Наибольшее генетическое расстояние выявлено с популяцией Индии (Лакхнау) — 0,22 и Японии (Токио) — 0,18. Интересным фактом является отсутствие большого генетического расстояния с популяцией Бразилии (0,01), хотя она находится на другом континенте.

Исходя из кластерного анализа (рис. 1), проведенного для аллелей *G101-0107* в различных популяциях, можно выделить два четко выраженных кластера: «Европейский» (Дания, Северо-Запад РФ, Германия и Польша), «Азиатский» (Япония, Северная Индия). Особый статус имеют популяция Африканских Шона, так как это единственная Африканская популяция в исследовании, и Хаттериты, малочисленная и изолированная популяция. Интересно отметить сходство между популяцией Бразилии (Сан-Паулу) и Хаттеритами, которое можно объяснить их тесным взаимодействием с европейскими популяциями. Религиозная община Хаттеритов появилась в Средние века в центральной Европе. К настоящему времени большая часть общин находится на территории США и Канады. Однако это крайне изолированная группа, в которой «эффект основателя» может быть сильно выражен. Бразилия всегда тесно взаимодействовала в культурно-историческом плане с Европой, и хорошо известно, что белое население Бразилии состоит на 50 % из выходцев Португалии и Испании.

Следует отметить, что в результате проведенного анализа полиморфизма $-725^*C>G$ нами не было обнаружено генотипа $-725^*G/G$. Существуют данные, свидетельствующие о «функциональной неполноценности» генотипа $-725^*G/G$, связанной с нарушением экспрессии гена, приводящей в конечном итоге к измененным концентрациям белковых продуктов. Возможно, особи с генотипом $-725^*G/G$ по гену *HLA-G* имеют пониженную выживаемость в виду невозможности функционирования системы иммунной толерантности в полной мере.

Таким образом, если рассматривать частоты аллелей с позиции синтетической теории эволюции, где вклад аллелей влияет на относительную приспособленность популяции, можно предположить, что действие определенного аллеля тонко регулирует иммунную реакцию путем модуляции на уровне связывания с рецепторами и влиянием на стабильность иРНК, то распределение частот аллелей эволюционно подбиралось для оптимальной работы гена *HLA-G* в популяции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Castro M. J., Morales P., Fernández-Soria V., et al. (1996) Allelic diversity at the primate Mhc-G locus: exon 3 bears stop codons in all Cercophitecinae sequences. *Immunogenetics*. Vol. 43. P. 327.
2. Donadi E. A., Castelli E. C., Arnaiz-Villena A. et al. (2011). Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association], *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. Vol. 68(3). P. 369–395.
3. Glas J., Török H. P, Tonenchi L. et al. (2007). The 14-bp deletion polymorphism in the HLA-G gene displays significant differences between ulcerative colitis and Crohn's disease and is associated with ileocecal resection in Crohn's disease], *International immunology*. Vol. 19 (5). P. 621–626.

4. Hviid T. V. F., Hylenius S., Lindhard A., Christiansen O. B. (2004). Association between human leukocyte antigen-G genotype and success of in vitro fertilization and pregnancy outcome], *Tissue antigens*. Vol. 64 (1). P. 66–69
5. Jiang, Yuting, Shougong Chen, Shasha Jia et al. (2011). Association of HLA-G 3' UTR 14-bp insertion/deletion polymorphism with hepatocellular carcinoma susceptibility in a Chinese population], *DNA and cell biology*. Vol. 30 (12). P. 1027–1032.
6. Killeen, Peter R. (2005). An alternative to null-hypothesis significance tests], *Psychological science*. Vol. 16(5). P. 345–353.
7. Loustau M., Wiendl H., Ferrone S., Carosella E. D. (2013). HLA-G 2012 conference: the 15-year milestone update], *Tissue antigens*. Vol. 81 (3). P. 127–136.
8. Moreau P., Contu L., Alba F. et al. (2008). HLA-G gene polymorphism in human placentas: possible association of G*0106 allele with preeclampsia and miscarriage], *Biology of reproduction*. Vol. 79 (3). P. 459–467.
9. Ober C., Billstrand C., Kuldane S., Tan Z. (2006). The miscarriage-associated HLA-G –725G allele influences transcription rates in JEG-3 cells], *Human reproduction (Oxford, England)*. Vol. 21 (7). P. 1743–178.
10. Ober C., Aldrich C. L., Chervoneva I. et al. (2003). Variation in the HLA-G promoter region influences miscarriage rates], *American journal of human genetics*. Vol. 72 (6). P. 1425–1435.
11. Rousseau P., Le Discorde M., Mouillot G. et al. (2003). The 14 bp deletion-insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability], *Human immunology*. Vol. 64 (11): 1005–1010
12. Sipak-Szmigiel, Cybulski O. C., Wokołorczyk D. et al. (2009). HLA-G polymorphism and in vitro fertilization failure in a Polish population], *Tissue antigens*. Vol. 73(4). P. 348–352.
13. Tripathi P., Abbas A., Naik S., Agrawal S. (2004). Role of 14-bp deletion in the HLA-G gene in the maintenance of pregnancy], *Tissue antigens*. Vol. 64 (6). P. 706–710.
14. Veit, Degani T., Vianna P. et al. (2008). Association of the HLA-G 14-bp insertion/deletion polymorphism with juvenile idiopathic arthritis and rheumatoid arthritis], *Tissue antigens*. Vol. 71 (5). P. 440–446.

POPULATION GENETIC STRUCTURE OF *HLA-G* GENE IN NORTH-WEST REGION OF RUSSIAN FEDERATION

Alenichev A. S., Nasykhova Yu. A., Ivashchenko T. E., Baranov V. S.

✿ **SUMMARY: Background.** *HLA-G* is a non-classical MHC class Ib molecule predominantly expressed in cytotrophoblasts and under pathological conditions also in chronically inflamed and in malignant tissues. Polymorphic sites present in coding and non-coding regions of the *HLA-G* gene may potentially affect all of these biological features. **Materials and methods:** Using the PCR method we have studied polymorphism of HLA G gene (alleles G*0101-G0107, –725C/G, 3741del/ins14.) in 118 people aged from 20 till 40 years of the North-West Region of Russia (St. Petersburg). **Results:** To determine the common alleles of the *HLA-G* gene the system of allele-specific PCR primers was elaborated. We have determined HLA-G allele distribution in North-west Region of Russian Federation. The minor allele frequencies varied in wide ranges – from 0% to 39%. The genetic distances among the Spanish, Chinese, Japanese, Danish, Indian, African Shona, Brazilian, Polish, German and North-west Region of Russian Federation were calculated. **Conclusion:** The evaluation of alleles rates in North-west of Russian Federation and in populations of other countries revealed the similarity in alleles G*0101-G0107 and polymorphism 3741del/ins14 distribution among the Danish, German and North-west Region populations.

✿ **KEY WORDS:** population analysis; HLA-G; alleles; multiplex PCR; genetic distances; northwest region of the Russian Federation.

✿ Информация об авторах

Аленичев Арсений Павлович — студент, кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: senyaa@list.ru.

Насыхова Юлия Алмазовна — к. б. н., научный сотрудник, лаборатория пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний человека. ФГБУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: yulnasa@gmail.com.

Ивашченко Татьяна Эдуардовна — д. б. н., профессор, в. н. с., лаборатория пренатальной диагностики врожденных и наследственных заболеваний. ФГБУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: tivashchenko2011@mail.ru.

Баранов Владислав Сергеевич — д. м. н., профессор, член-корр. РАМН, лаборатория пренатальной диагностики врожденных и наследственных заболеваний. ФГБУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu.

Alenichev Arseniy Pavlovich — Student, Department of genetics and biotechnology. Saint Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: senyaa@list.ru.

Nasykhova Yuliya Almazovna — Scientist (PhD), laboratory of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleevskaya liniya, 3. Russia. E-mail: yulnasa@gmail.com.

Ivashchenko Tatyana Eduardovna — leading researcher (PhD, professor), laboratory of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleevskaya liniya, 3. Russia. E-mail: tivashchenko2011@mail.ru.

Baranov Vladislav Sergeevich — head of the laboratory (MD, professor), laboratory of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleevskaya liniya, 3. Russia. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu.