

<https://doi.org/10.17116/sudmed20196204119>

Молекулярно-генетический анализ случая частичной делеции Y-хромосомы в судебно-медицинской практике

К.м.н., н.с. Я.Р. ТИМАСHEВА^{1,3}, к.б.н., с.н.с. И.А. ТУКТАРОВА^{1,2}, лаб. Л.И. ГИЗУЛЛИНА²,
к.м.н. Е.Ю. СУНДЫРЕВ², д.б.н., проф. О.Е. МУСТАФИНА¹

¹Лаборатория физиологической генетики (научный руководитель — д.б.н., проф. О.Е. Мустафина) Института биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия, 450054;

²ООО «Инто-Стил», Уфа, Россия, 450044;

³Кафедра медицинской генетики и фундаментальной медицины Башкирского государственного медицинского университета, Уфа, Россия, 450000

Ген амелогенин кодирует белок зубной эмали и присутствует у человека в двух формах — *AMELX* и *AMELY*, локализованных соответственно на X- и Y-хромосомах. Представлен редкий случай экспертной практики, связанный с частичной делецией гена *AMELY*. В лаборатории ООО «Инто-Стил» провели генетический анализ образцов ДНК, выделенных из буккального эпителия предполагаемого отца и ребенка (сын). Осуществили генотипирование с использованием наборов COrDIS Plus («Гордис», Россия) и AmpFLSTR Identifier Direct PCR Amplification Kit («Applied Biosystems», США). При анализе продуктов амплификации как у предполагаемого отца, так и у сына не обнаружили фрагментов, соответствующих гену *AMELY*. При использовании обеих STR-систем в геноме ребенка выявили аллель, формально совпадавший с аллелем в геноме предполагаемого отца. Дальнейший анализ с применением набора COrDIS Plus продемонстрировал наличие амплифицированных фрагментов, соответствующих всем STR-локусам Y-хромосомы, кроме *DYS576* и *DYS449*, что свидетельствует о принадлежности исследованных биологических образцов лицам мужского генетического пола.

Ключевые слова: ген амелогенин, делеция Y-хромосомы, определение пола, установление отцовства.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Тимашева Я.Р., Туктарова И.А., Гизуллина Л.И., Сундырев Е.Ю., Мустафина О.Е. Молекулярно-генетический анализ случая частичной делеции Y-хромосомы в судебно-медицинской практике. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2019;62(4):19-21. <https://doi.org/10.17116/sudmed20196204119>

Molecular-genetic analysis of a rare forensic case of partial deletion of the Y-chromosome

YA.R. TIMASHEVA^{1,3}, I.A. TUKTAROVA^{1,2}, L.I. GIZULLINA², E.YU. SUNDYREV², O.E. MUSTAFINA¹

¹Physiological Genetics Laboratory of the Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Branch of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia 450054;

²ООО Into Steel, Ufa, Russia, 450044;

³Department of Medical Genetics and Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia 450000

The amelogenin gene encodes dental enamel protein and is present in humans in two forms — *AMELX* and *AMELY*, located on the X- and Y-chromosomes, respectively. This rare case depicts a partial deletion of the *AMELY* gene. In the Into-Stil LLC laboratory, we performed the genetic testing of the DNA samples extracted from buccal epithelial cells of the alleged father and the disputed child (a boy). Genotyping was carried out using COrDIS Plus («Gordis», Russian Federation) and AmpFLSTR Identifier Direct PCR Amplification («Applied Biosystems», USA) Kits.

Our findings have demonstrated that both the alleged father and the disputed child lacked the fragments corresponding with the *AMELY* gene. Using both STR-systems, we detected, in the disputed child's genome, the allele formally identical to the allele in the genome of the alleged father. Further analysis using the COrDYS («Gordis», Russian Federation) kit allowed us to detect the amplified fragments corresponding with all the STR loci of Y chromosome, except *DYS576* and *DYS449*, which confirmed that both studied individuals belonged to male biological sex.

Keywords: amelogenin gene, Y-chromosome deletion, sex determination, paternity testing.

TO CITE THIS ARTICLE:

Timasheva YaR, Tuktarova IA, Gizullina LI, Sundryrev EYu, Mustafina OE. Molecular-genetic analysis of a rare forensic case of partial deletion of the Y-chromosome. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2019;62(4):19-21. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/sudmed20196204119>

Ген амелогенин (amelogenin) кодирует белок внеклеточного матрикса, участвующий в амелогенезе, т.е. развитии зубной эмали. Амелогенин локализован как на X-хромосоме (*Xp22.2*, позиции 11293413—11300761, GRCh38.p7; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/265>), так и на Y-хромосоме (*Yp11.2*, позиции 6865918—6874056, GRCh38.p7; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/266>). Таким образом, у человека ген амелогенин присутствует в двух формах — *AMELX* и *AMELY*, которые различаются между собой делецией длиной в 6 пар нуклеотидов (п.н.) в гене *AMELX*. Это определяет ценность амелогенина для судебно-медицинской практики при определении половой принадлежности с целью идентификации личности и установления родства.

Приводим редкий случай из экспертной практики, связанный с частичной делецией Y-хромосомы, содержащей участок гена *AMELY*.

В лабораторию ООО «Инто-Стил» поступил заказ на информационный анализ ДНК для установления отцовства. Материалом для исследования послужили образцы буккального эпителия предполагаемого отца и ребенка, пол которого указан как мужской. Для генетического анализа использовали набор COrDIS Plus («Гордиз», Россия), содержащий праймеры для определения 19 аутосомных STR-локусов (STR — короткие tandemные повторы), а также локусов *AMELX* (M55418) и *AMELY* (M55419). Продукты полимеразной цепной реакции (ПЦР) фракционировали с помощью системы капиллярного электрофореза ABI PRISM 3130 HID («Applied Biosystems», США). Для определения длины фрагментов использовали внутренние стандарты длины (Size Standard GeneScan 550LIZ) и программное обеспечение GeneMapper 4.1. У предполагаемого отца и ребенка (сын) были идентифицированы однофрагментные профили по амелогенину (XX). Таким образом, у предполагаемого отца и сына продукт амплификации гена амелогенина на Y-хромосоме (*AMELY*) отсутствовал. Анализ провели повторно, и *AMELY*-отрицательный феномен вновь подтвердился (рис. 1, на цв. вклейке).

Дальнейшее типирование полиморфных STR-локусов ДНК участников данного анализа провели с применением панели локусов AmpFLSTR Identifier Direct PCR Amplification Kit («Applied Biosystems», США). При разделении полученных продуктов амплификации с помощью электрофореза вновь не выявили продуктов амплификации гена *AMELY* ни у отца, ни у ребенка (рис. 2, на цв. вклейке).

В случае использования обеих STR-систем в геноме предполагаемого отца обнаружился аллель, который формально совпадал с аллелем условно отцовского (нематеринского) происхождения в геноме ребенка. Таким образом, было установлено отцовство, а *AMELY*-отрицательный феномен наблюдался как у отца, так и у сына.

Для идентификации мужского ДНК-профиля отца и ребенка дополнительно провели генотипирование с набором для амплификации 18 STR-локусов Y-хромосомы COrDIS Plus («Гордиз», Россия). В результате дополнительного анализа и у отца, и у сына выявили амплифицированные фрагменты по всем исследуемым локусам, кроме двух (DYS576 и DYS449), что свидетельствовало о принадлежности исследованных биологических образцов лицам мужского генетического пола. Отсутствие продуктов амплификации по двум из исследованных локусов Y-хромосомы указывало на делецию участка данной хромосомы (рис. 3, на цв. вклейке).

Известно, что при использовании амелогенинового теста пол в ряде случаев определяется неверно. Чаще всего биологический материал, полученный от мужчины, идентифицируется

как женский [1—7]. Причиной неправильного определения пола является полная или частичная делеция участка хромосомы Y, включающего у некоторых мужчин ген *AMELY*. Делеции могут иметь различную протяженность, часто затрагивая, помимо гена *AMELY*, другие локусы Y-хромосомы, в том числе DYS458 [5, 8—11]. Делеции такой протяженности не оказывают влияния на фенотипические признаки их носителей и не сказываются на фертильности [10—12]. Если делеции включают ген *AMELY* целиком или участки связывания праймеров, то амплифицируется и определяется только продукт гена *AMELX*, а половая принадлежность идентифицируемого биологического материала определяется как женская.

Впервые феномен отсутствия продукта амплификации гена *AMELY* у лиц мужского пола наблюдали при скрининговом тестировании 350 образцов ДНК мужчин из разных стран, причем оба выявленных *AMELY*-отрицательных образца ДНК принадлежали выходцам из Шри-Ланки [13]. В 2008 г. в Японии был описан случай обнаружения делеции участка Y-хромосомы, содержащего ген *AMELY*, у 4 членов одной семьи (отец и 3 сына) [10]. Есть сообщения о единичных случаях ошибочного определения пола, связанных с делецией Y-хромосомы, в популяциях японцев, китайцев, мексиканцев [8, 14—16]. В Республике Беларусь при анализе более 30 000 экспертных случаев выявили 11 мужчин с делецией в гене *AMELY* [12]. Повышение числа носителей делеций Y-хромосомы, содержащих ген амелогенина, обнаружили в группах индусов и малайцев при обследовании мультиэтнических популяций Сингапура и Малайзии, а также при скрининге 104 эндогамных популяций Индии и у жителей Израиля [9, 17—19]. В целом частота встречаемости делеций Y-хромосомы, затрагивающих ген *AMELY*, составляет от 0,018% в популяции австрийцев до 6,49% у жителей Непала и 8% у жителей Шри-Ланки [2, 13, 19]. В нашей практике из более чем 12 800 проведенных экспертиз по установлению отцовства это первый случай выявления частичной делеции Y-хромосомы, включающей ген *AMELY*.

В судебно-медицинской практике, помимо анализа образцов ДНК, полученных от конкретных лиц, часто возникает необходимость экспертизы следов биологического происхождения и останков, утративших идентификационные характеристики. В подобных случаях целесообразно проводить определение концентрации геномной ДНК в препарате и содержание мужской ДНК с помощью наборов Quantifiler Duo DNA Quantification Kit («Applied Biosystems», США) или «XY-Детект» («Синтол», Россия) [20]. Имеется сообщение о случае из судебно-медицинской практики, связанном с проведением экспертизы по половым преступлениям, направленным против женщин, с участием *AMELY*-отрицательного мужчины при исследовании биоматериалов с тела жертвы [21]. Известно также об использовании данного метода при идентификации неопознанных останков [22].

Таким образом, анализ данных литературы позволяет сделать вывод, что на частоту встречаемости делеций Y-хромосомы, затрагивающих ген *AMELY*, оказывают влияние этнокультурные и социально-географические факторы (в том числе, вероятно, частота близкородственных браков в популяции). Необходимо учитывать возможность влияния данной мутации на результаты генетического тестирования и при необходимости включать в анализ другие локусы Y-хромосомы.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.**

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Brinkmann B. Is the amelogenin sex test valid? *International Journal of Legal Medicine*. 2002;116(2):63. <https://doi.org/10.1007/s00414-001-0263-x>
- Cadenas A, Regueiro M, Gayden T, Singh N, Zhivotovsky L, Underhill P, Herrera R. Male amelogenin dropouts: phylogenetic context, origins and implications. *Forensic Science International*. 2007;166(2-3):155-163. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.002>
- Jobling MA, Lo ICC, Turner DJ, Bowden GR, Lee AC, Xue Y, Carvalho-Silva D, Hurles ME, Adams SM, Chang YM. Structural variation on the short arm of the human Y chromosome: recurrent multigene deletions encompassing Amelogenin Y. *Human Molecular Genetics*. 2006;16(3):307-316. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl465>
- Lattanzi W, Di Giacomo MC, Lenato GM, Chimienti G, Voglino G, Resta N, Pepe G, Guanti G. A large interstitial deletion encompassing the amelogenin gene on the short arm of the Y chromosome. *Human Genetics*. 2005;116(5):395-401. <https://doi.org/10.1007/s00439-004-1238-z>
- Ma Y, Kuang J-Z, Zhang J, Wang G-M, Wang Y-J, Jin W-M, Hou Y-P. Y chromosome interstitial deletion induced Y-STR allele dropout in AMELY-negative individuals. *International Journal of Legal Medicine*. 2012;126(5):713-724. <https://doi.org/10.1007/s00414-012-0720-8>
- Mitchell R, Kreskas M, Baxter E, Buffalino L, Van Oorschot R. An investigation of sequence deletions of amelogenin (AMELY), a Y-chromosome locus commonly used for gender determination. *Annals of Human Biology*. 2006;33(2):227-240. <https://doi.org/10.1080/03014460600594620>
- Tozzo P, Giuliodori A, Corato S, Ponzano E, Rodriguez D, Caenazzo L. Deletion of amelogenin Y-locus in forensics: Literature revision and description of a novel method for sex confirmation. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 2013;20(5):387-391. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2013.03.012>
- Chen W, Wu W, Cheng J, Zhang Y, Chen Y, Sun H. Detection of the deletion on Yp11.2 in a Chinese population. *Forensic Science International: Genetics*. 2014;8(1):73-79. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.07.003>
- Chang YM, Burgoyne LA, Both K. Higher failures of amelogenin sex test in an Indian population group. *Journal of Forensic Sciences*. 2003;48(6):1309-1313. <https://doi.org/10.1520/JFS2003018>
- Kumagai R, Sasaki Y, Tokuta T, Biwasaka H, Aoki Y. DNA analysis of family members with deletion in Yp11.2 region containing amelogenin locus. *Legal Medicine*. 10(1):39-42. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2007.05.009>
- Turrina S, Filippini G, De Leo D. Evaluation of deleted region from Yp11.2 of two amelogenin negative related males. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2009;2(1):240-241. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2009.08.157>
- Borovko S, Shyla A, Korban V, Borovko A. Amelogenin test abnormalities revealed in Belarusian population during forensic DNA analysis. *Forensic Science International: Genetics*. 15:98-104. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.10.014>
- Santos FR, Pandya A, Tyler-Smith C. Reliability of DNA-based sex tests. *Nature Genetics*. 1998;18(2):103-103. <https://doi.org/10.1038/ng0298-103>
- Takayama T, Takada N, Suzuki R, Nagaoka S, Watanabe Y, Kumagai R, Aoki Y, Butler JM. Determination of deleted regions from Yp11.2 of an amelogenin negative male. *Legal Medicine*. 2009;11:S578-S580. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2009.01.049>
- Velarde-Félix JS, Salazar-Flores J, Martínez-Cortés G, Flores García A, Muñoz-Valle JF, Ríos-Tostado JJ, Rubi-Castellanos R, Rangel-Villalobos H. Deletion mapping and paternal origin of a Mexican AMELY negative male. *Legal Medicine*. 2011;13(5):262-264. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2011.06.001>
- Xie J, Shao C, Xu H, Zhu W, Liu Z, Tang Q, Zhou Y. Deletion mapping of the regions with AMELY from two Chinese males. *Legal Medicine*. 2014;16(5):290-292. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2014.05.002>
- Kashyap V, Sahoo S, Sitalaximi T, Trivedi R. Deletions in the Y-derived amelogenin gene fragment in the Indian population. *BMC Medical Genetics*. 2006;7(1):37. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-7-37>
- Yong RYY, Gan LSH, Chang YM, Yap EPH. Molecular characterization of a polymorphic 3-Mb deletion at chromosome Yp11.2 containing the AMELY locus in Singapore and Malaysia populations. *Human Genetics*. 2007;111/01 2007;122(3):237-249. <https://doi.org/10.1007/s00439-007-0389-0>
- Michael A, Brauner P. Erroneous Gender Identification by the Amelogenin Sex Test. *Journal of Forensic Sciences*. 2004;49(2):1-2. <https://doi.org/10.1520/JFS2003223>
- Ковтун П.А., Куклев М.Ю., Лапенков М.И., Плахина Н.В. Недостаточность аутосомных STR-маркеров для достоверного установления родства в дугах родитель—ребенок. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2013;56(6):17-22.
Kovtun PA, Kuklev MYu, Lapenkov MI, Plakhina NV. The inadequacy of using the autosomal STR markers for the establishment of the kinship in the parent—child pairs]. *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2013;56(6):17-22. (In Russ.). <https://doi.org/10.19048/2411-8729-2013-56-6>
- Карасева И.В., Зайцева О.А., Смоляницкий А.Г. Молекулярно-генетическое исследование AMELY и AMELX-отрицательных мужчин: примеры из практики. *Судебная медицина*. 2016;2(2):147-148.
Karaseva IV, Zaitseva OA, Smolyanitskii AG. Molecular-genetic analysis of AMEL-Y- and AMEL-X-negative men: case studies. *Sudebnaya meditsina*. 2016;2(2):147-148. (In Russ.). <https://doi.org/10.19048/2411-8729-2016-1-2-33-173>
- Корниенко И.В., Вакуленко М.Ю., Фалеева Т.Г., Иванов И.Н., Кононов Н.В. Успешный опыт генетической идентификации останков военнослужащего Красной Армии времен Второй мировой войны. *Генетика*. 2018;54(4):480-486.
Kornienko IV, Vakulenko MYu, Faleeva TG, Ivanov IN, Kononov NV. Successful Genetic Identification of Remains of World War II Red Army Soldier. *Genetika*. 2018;54(4):482-488. (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S1022795418040087>

Поступила 26.08.18
Received 26.08.18

Принята к печати 19.09.18
Accepted 19.09.18