

В. Звенигорски, С.А. Федорова, К. Холлард, А. Гонзалес,
А.Н. Алексеев, Р.И. Бравина, Э. Крюбези, К. Кейзер

НОВЫЙ ПОДХОД К ГЕНЕТИЧЕСКОМУ ТЕСТИРОВАНИЮ РОДСТВА В ЯКУТСКОЙ АРХЕОЛОГИИ

УДК 575

В течение пятнадцати лет изучались генетические взаимосвязи между людьми, жившими сотни или тысячи лет назад, чьи останки были обнаружены в одиночных могилах или крупных погребальных комплексах. Изучение родства древних якутов позволило определить трудности в анализе генетических данных для небольших древних человеческих популяций и разработать стратегию повышения точности статистических вычислений. В статье описывается эта стратегия и возможные пути решения проблем при изучении небольших популяций, для которых нет референсных данных по глобальным мета-популяциям, что обусловлено их изоляцией расстоянием или древностью.

Ключевые слова: древняя ДНК, генетическое родство, популяции, STR-локусы.

For fifteen years, part of the work of our research team has been focused on the study of parental links between individuals living hundreds or thousands of years ago, whose remains have been found in single graves or large funerary complexes. The study of kinship in the ancient Yakuts allowed us to highlight the difficulties in analyzing genetic data from small ancient human groups and to develop a strategy to improve the accuracy of statistical computations. This paper describes the strategy and possible solutions to the study of populations outside of the frame of reference of global meta-populations, due either to isolation, remoteness or antiquity.

Keywords: ancient DNA, genetic kinship, population genetics, STR.

Введение. Методы судебно-медицинской экспертизы помогают установить степень родства между древними людьми, чьи останки были обнаружены как в отдельных захоронениях [5,6], так и в погребальных комплексах [1,10].

Во время археологических раскопок в Якутии в течение пятнадцати лет были изучены как индивидуальные захоронения, так и групповые, являющиеся частями более крупных погребальных комплексов. Эти исследования были проведены с использованием методов идентификации, разработанных в судебной генетике, которые основаны на генотипировании аутосомных STR (коротких tandemных повторов ДНК). Одной из проблем идентификации является ограничение метода при изучении родства небольшого числа индивидов из популяций, для которых не существует референс-

ных значений частоты аллелей. Якуты Восточной Сибири представляют собой очень удобную популяционную модель с большим количеством небольших сельских общин и хорошо сохранившимся археологическим материалом.

Первое исследование, в котором для установления генетического родства были применены методы судебно-медицинской экспертизы, показало, что в некоторых захоронениях находились тела, по всей видимости, близких родственников [13], часто родителей и их детей или родных братьев и сестер. Однако в некоторых случаях погребенные оказались не связанными родственными узами, по крайней мере, близкими. Еще в ряде случаев были получены неоднозначные результаты, когда, например, некоторые тесты на аутосомных STR (коротких tandemных повторов ДНК) показывали четкие значения при изучении пары объектов и нечеткие значения при изучении трех объектов, включая эту же пару. Многократный подход с применением анализа мтДНК и Y-хромосомы позволил прояснить некоторые неопределенные ситуации, однако некоторые проблемы остались нерешенными.

В предыдущих исследованиях анализ аутосомных STR был проведен по 15 и 21 локусам, тогда как Y-хромосомные STR были изучены по 17 локусам. В данном исследовании мы представляем результаты дополнительного анализа полученных ранее данных по 15 и 21 аутосомным STR-локусам. Кроме этого пара древних родственных индивидов была

проанализирована по 83-м SNP (однонуклеотидным полиморфизмам), что позволило получить новые данные независимо от уже полученных ранее STR-генотипов.

Данная работа посвящена двум основным проблемам, стоящим перед исследователями генетического родства древних популяций людей с точки зрения статистики. Первая заключается в эффективности применения методов судебно-медицинской экспертизы для удаленных групп, особенно при решении случаев сложного родства или родства второй степени. Хотя рекомендуется ссылаться на близкородственные популяции, когда группа не принадлежит к более широкой референсной популяции, некоторые группы людей генетически слишком дистанцированы, и результаты будут весьма приблизительные. Вторая – это разрешающая способность новых методов, которые позволяют анализировать большее количество маркеров. Понимание масштабов применения и эффективности методов проверки родства позволит разработать такие тесты и установить такие стандарты, которые будут давать удовлетворительные ответы, как определяющие качество требований к определению родства в количественных параметрах (от качественного предположения до вероятности конкретного родства), так и предоставляющие способы изучения более отдаленного родства второй степени, сохраняя при этом статистическую значимость, описывая или определяя последствия демографических событий и истории популяции.

Институт судебной медицины, Университет Страсбурга, Франция: **ЗВЕНИГОРОСКИ Винсент** – zvenigorosky@unistra.fr; **HOLLARD Clémence** – hollard@unistra.fr; **GONZALEZ Angéla** – agonzalezmartin@unistra.fr; **KEYSER Christine** – ckeyser@unistra.fr; **CRUBÉZY Eric** – зав. лаб. молекулярной антропологии, Университет Тулузы им. П. Сабатье, Crubezy.eric@free.fr; **ФЕДОРОВА Сардана Аркадьевна** – д.б.н., зав. лаб. Института естественных наук СВФУ им. М.К. Аммосова, с.н.с. ЯНЦ КМП, sardaanafedorova@mail.ru; **АЛЕКСЕЕВ Анатолий Николаевич** – д.и.н., проф., науч. руковод. Ин-та гуманитарных исследований и проблем малочисленных народов Севера СО РАН, secretar@igi.ysn.ru; **БРАВИНА Розалия Иннокентьевна** – д.и.н., проф., зав. сектором археологии ИГИИПМНС СО РАН, bravinari@bk.ru.

Материалы и методы исследования. Были использованы данные по 128 древним индивидуумам с четырех стоянок в Якутии: в Центральной Якутии (район г. Якутска) -76 чел., в бассейне р. Вилюй (западнее г. Якутска) – 21, в Верхоянске (севернее г. Якутска) – 24, в бассейне р. Индигирка (восточнее г. Якутска) – 7 чел. ДНК было извлечено ранее в исследованиях, проведенных Кейзер и соавт. в 2015 г. [13].

Все 128 древних индивидуумов были проанализированы по 15 STR-локусам с использованием набора AmpFLSTR® Identifier® Plus (Life Technologies™) [13]. Фрагменты ДНК с STR анализировали на генетическом анализаторе 3100 или 3500 (Life Technologies™) с использованием GeneMapper v. 4.1 (Life Technologies™).

Библиотеки ДНК были созданы с использованием набора Ion AmpliSeq™ Library 2.0 (Life technologies) и панели HID-Ion AmpliSeq™ (Life Technologies). Выход ДНК составил 0,17 нг по Ирэляху-1 и 1 нг по Ирэляху-2, условия ПЦР были заданы в соответствии с рекомендациями изготовителя (создание библиотек в приложениях AmpliSeq™ для идентификации людей, версия A.0). Все библиотеки были закодированы с использованием штрих-кода Ion Xpress™ (Life Technologies) и очищены системой Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter). Библиотеки были определены количественно с помощью набора Ion Library Quantitation kit (Life Technologies).

Подготовка пробы производилась в соответствии с протоколом производителя. Эмульсионная ПЦР (emPCR) была проведена на приборе Ion OneTouch™ 2 (Life Technologies) с использованием набора Ion PGM™ Template OT2 200 (Life Technologies). Процент положительных частиц ионной сферы (ISP) после emPCR измерялся с помощью набора IonSphere™ (Life technologies) на флуориметре Qubit® 2.0 (Invitrogen). Затем продукты emPCR были обработаны системой обогащения Ion OneTouch™ (Life Technologies) с использованием Ion PGM™ Enrichment Beads (Life Technologies) и набора Ion PGM™ Template OT2 200 (Life Technologies). Секвенирование было выполнено в системе Ion PGM™ с использованием набора Ion PGM™ Sequencing 200 Kit v2 и чипа Ion 314™ v2 в соответствии с протоколом производителя.

Анализ последовательностей выполнялся при помощи Torrent Suite™ 4.2.1 и HID SNP Genotyper plugin v4.3 (Life Technologies). Для проверки каж-

дой последовательности использовалась программа Integrative Genomics Viewer (IGV) [8].

При высокопроизводительном секвенировании для экстрактов ДНК индивидуумов 1 и 2 из погребения «Ирэлях» были получены 72k и 56k ридов соответственно. Глубина покрытия SNP варьировала от 25x до 1829x (в среднем 427x) для экстракта ДНК Ирэлях-1 и от 9x до 4263x (со средним значением 457x) для экстракта ДНК Ирэлях-2. Для Ирэлях-1 ни одна из позиций SNP не имела глубины секвенирования ниже 20x; для Ирэлях-2 из анализа были удалены пять позиций (rs729172, rs993934, rs826472, rs722290, rs12997453). MAF <20% = rs1031825 было удалено для Ирэлях-1 и Ирэлях-2. Кроме того, было проанализировано смещение нитей: у двух индивидуумов был удален rs430046. Таким образом, были успешно прогенотипированы 88 SNP для Ирэлях-1 и 83 SNP для Ирэлях-2.

Определение аллельной частоты и различий, а также статистические тесты выполнялись с использованием программ Genetix [7], MLrelate [11] и Arlequin [3]. Степень вероятности (CB) вычислялась по каждой паре для каждой категории родства по сравнению с вероятностью того, что люди не были родственниками, с помощью программного обеспечения Familias [12]. Три метрических параметра, не зависящие от частоты аллелей, были измерены с использованием языка R [14]. Исключения были учтены прямым подсчетом, а степень родства было рассчитана как простая пропорция сходства между двумя генотипами. Вероятность идентичности по происхождению (IBD) была рассчитана с использованием Identity-by-State (IBS) [2,9].

Категории родства были: родитель-ребенок (PP), полные сибсы (CC), полусибсы (ПС), дядя/тетя – племянник/племянница (ДТП), бабушка/бабушка – внук/внучка (ДБВ), двоюродные братья/сестры (ДБС) и несвязанные родством (НС). «Несвязанный» был стандартным уровнем родства в тестах, которые требовали этого. Таким образом, «CB-PP» – это степень вероятности, что два человека являются родителем и его ребенком, против вероятности, что они не являются родственниками.

Результаты и обсуждение

Формирование контрольных групп.

Первым шагом в создании нерод-

ственных групп индивидуумов было устранение из исходной выборки предполагаемых родственников, определяемых программой MLrelate, наряду с теми, что были определены в предыдущих исследованиях. При использовании этой программы засчитывались только отношения родитель-ребенок (PP) и полные сибсы (CC) из-за артефактного характера большинства определений с использованием этого программного обеспечения для полусибсов (ПС).

Из каждой пары предполагаемых родственников был исключен один человек. Однако многие люди в исходной выборке были включены в более чем одну родственную группу, что, следовательно, подразумевает существование более отдаленных родственных отношений с другими индивидуумами. Для целей этого исследования родственными отношениями, служащими основанием для устранения индивидуумов из определения набора аллельной частоты, считались следующие: PP, CC, ПС, ДТП, ДБВ и ДБС.

Исходя из этих критериев, 95 чел. из древней якутской выборки (128) были сочтены неродственными (НС) и включены в вычисление частоты аллелей, а также в последующие статистические тесты.

Родственные и неоднозначные отношения

Проверка родства в погребении «семья Лэпсиэй» с использованием 15 аутосомных STR-локусов. Было проанализировано родство в группе из четырех древних индивидуумов, в которой исходно предполагалось 6 родительских отношений и чья генеалогия была изучена в предыдущем исследовании [13]. Программа (тест) IBD ошибочно указывала на PP-отношения между двумя детьми, у которых отсутствовали исключения и которые не могли быть родителем и ребенком из-за очень молодого возраста умерших. Тест Relatedness определял предполагаемые отношения между ними как ПС/ДТП/ДБВ (полусибсы, дядя/тетя – племянник/племянница, бабушка/бабушка – внук/внучка), несмотря на совпадение по материнской линии и отсутствие исключений. Хотя LR-тесты дали полностью согласующиеся результаты, значения CB для PP и CC для вышеупомянутой пары детей были очень похожими, и различия между СВ-ДТП и СВ-ДБС также были очень слабыми для двух пар дядя-племянник.

Хотя значения CB существенно не отличались друг от друга, а тесты

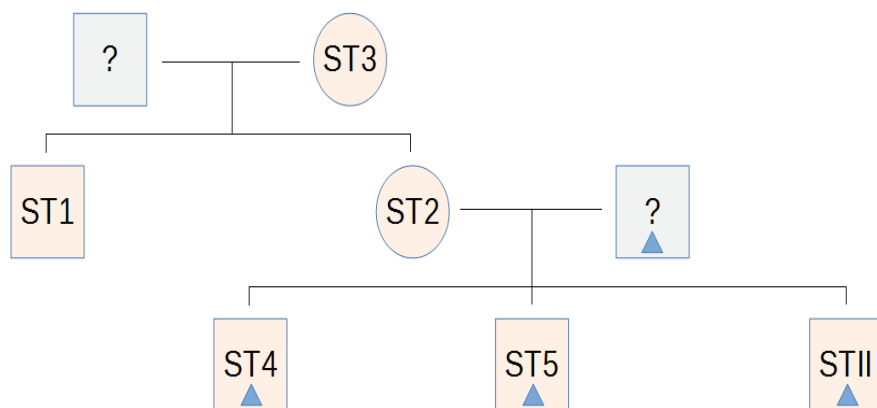


Рис.1. Генеалогия семьи «Шаман-дерево» согласно первой гипотезе

Relatedness и IBD по отдельности давали несогласованный результат, четыре метода в целом полностью подтвердили предложенную ранее генеалогию [13] и неоднозначные результаты были успешно уточнены.

Проверка родства семьи «Шаман-дерево» с использованием 15 аутосомных STR-локусов

Изучение семьи «шаман-дерево» (рис.1) выявило неоднозначность родства (табл. 1). Пять пар индивидуумов не показали никаких исключений, причем ни одна из пар не показала значение больше 4 (что ниже, чем любое исключенное значение при 95% достоверности для любой категории отношений кроме PP). Тест Relatedness показал очень неустойчивые значения при использовании 15 локусов, причем по меньшей мере одна треть определений не согласовывалась друг с другом, также отношения PP были определены при наличии исключений, а отношения CC определялись даже

при том, что отцовские линии не совпадали.

IBD-тест неправильно определил 2 отношения (CC при несовпадении отцовских линий) и неоднозначно определил характер родства между тремя детьми ST4, ST5 и STII, идентифицируя трех мальчиков как братьев с двусмысленным определением CC или ПС/ДТП/ДБВ для пары ST4/STII.

LR-тесты также дали проблематичные результаты при определении связи как CC (ST1/ST4) там, где отцовские линии были несовместимы, и ДБС там, где были отношения ДБВ (ST3/STII) (ST3 является матерью ST2, которая в свою очередь является матерью STII). Более того, тест определил трио ST4, ST5, STII логически непоследовательно, сделав ST5 родным братом как ST4, так и STII, а STII – братом ST4 наполовину и родным братом ST5.

Учитывая, что мужчина ST1 нес Y-хромосомный гаплотип, наиболее часто встречающийся у якутов (как

современных, так и древних), а три мальчика ST4, ST5 и STII имели другие гаплотипы, прямое родительское или братское родство между взрослым и тремя детьми было исключено.

Проверка родства пары «Ирэлях» с использованием аутосомных STR и аутосомных SNP. На основе анализа 15 аутосомных локусов STR с использованием LR-тестов, основанных на аллельной частоте в наборе данных по древним людям, было высказано предположение, что пару «Ирэлях» связывают отношения PP, которое затем было на основе indel-анализа скорректировано – отношения CC [4,13]. СВ-СС всегда была выше СВ-PP, однако разница между этими двумя значениями была меньше двукратной. Тесты Relatedness и IBD, рассчитанные по 15 локусам, показали, соответственно, отношения CC и PP.

Исследование 21 аутосомного STR локуса выявило 2 исключения, которые устранили возможность отношения PP (табл. 2) по всем показателям. Однако когда тестовые значения вычислялись по 19 локусам, исключения не были показаны. При использовании 19 локусов СВ-PP оказалась выше СВ-СС, и только Relatedness определил отношения как CC.

Все методы, анализирующие аутосомные STR, сходились на отношениях CC, не давая при этом явного превосходства одного подхода над другим, при условии, что СВ принимается как качественный параметр, а не количественный.

Чтобы улучшить эти результаты, были генотипированы 83 аутосомных SNP по паре «Ирэлях». Было выявлено только 2 исключения, что снова

Таблица 1

Результаты тестов по определению родства у членов семьи «Шаман-дерево» по 15 аутосомным STR-локусам

Априорные отношения	Индивид 1	Индивид 2	Исключения	Отношения по тесту Relatedness	Отношения по IBD-тесту	Отношения по LR-тесту	Соответствие Y-DNA	Соответствие mt-DNA	Родственные отношения
ПС	ST2	ST1	2	~ПС	ПС	ПС	i	да	ПС
PP	ST2	ST4	0	ПС	PP	PP	i	да	PP
PP	ST2	ST5	0	ПС/ДТП/ДБВ	PP	PP	i	да	PP
PP	ST2	STII	0	ПС/ДТП/ДБВ	PP	PP	i	да	PP
PP	ST3	ST1	0	ПС	PP	PP	i	да	PP
PP	ST3	ST2	0	PP	PP	PP	i	да	PP
ПС	ST4	ST5	1	ПС	ПС	ПС	да	да	ПС
ПС	STII	ST4	2	ПС/ДТП/ДБВ	ПС/ДТП/ДБВ	ПС/ДТП/ДБВ	да	да	СС/ПС
ПС	STII	ST5	4	~ПС	ПС	ПС	да	да	СС/ПС
ДТП	ST1	ST4	1	~ПС	ПС	ПС	нет	да	ДТП
ДТП	ST1	ST5	2	ПС/ДТП/ДБВ	ПС	ПС/ДТП/ДБВ	нет	да	ДТП
ДТП	ST1	STII	3	ПС/ДТП/ДБВ	ПС/ДТП/ДБВ	ПС/ДТП/ДБВ	нет	да	ДТП
ДБВ	ST3	ST4	4	ПС/ДТП/ДБВ	ПС/ДТП/ДБВ	ПС/ДТП/ДБВ	i	да	ДБВ
ДБВ	ST3	ST5	3	ПС/ДТП/ДБВ	ПС/ДТП/ДБВ	ПС/ДТП/ДБВ	i	да	ДБВ
ДБВ	ST3	STII	4	СО	ПС/ДТП/ДБВ	СО	i	да	ДБВ

Таблица 2

Результаты тестов по определению родства у пары «Ирэлях»

Априорные отношения	Индивиды	Маркеры	Отношения по LR-тесту	Отношения по IBD-тесту	Отношения по тесту Relatedness	Исключения	Родственные отношения	
нет	Ирэлях-1	Ирэлях-2	15 aSTR	CC	PP	CC	0	CC
			19 aSTR	PP	PP	CC	0	PP
			21 aSTR	CC	CC	CC	2	CC
			83 aSNP	-	CC	CC	2	CC

указало на отношения CC. СВ не вычислялась в отсутствие референсных значений частоты аллелей по древним якутам, но IBD указывал на отношения CC и, что более важно, решительно исключал все уровни родства кроме CC и PP. Вычисления вероятности каждого более отдаленного отношения (ПС, ДТП, ДБВ) по сравнению с вероятностью CC (рис. 2) показали, что вероятность отношения CC была примерно в 4 раза выше, чем ПС, при использовании 15 STR локусов, в 20 раз выше – при использовании 21 STR и в 50 раз выше – при использовании 83 локусов SNP. Несмотря на то, что отношения PP не устраняются тестом Relatedness (оно устраняется аллельными исключениями), когда среднее значение для Relatedness для всех уровней родства сравнивается со значением, наблюдаемым в случае «Ирэлях» для 83 SNP (рис. 2), это показывает, что отношения CC в 9 раз более вероятны, чем PP.

«Семья Лэпсиэй», неоднозначный результат. «Семья Лэпсиэй» – пример успешного использования методов судебно-медицинской экспертизы для определения родства, позволившего определить генеалогию и родственные отношения в группе древних людей. Однако этот пример также выявляет две основные проблемы, возникающие в результате изучения 15 локусов STR: отсутствие исключений иногда не является признаком отношений PP, а говорит об отношениях CC, и значения Relatedness, которые могут быть изучены в теоретических моделях без референсной группы, кроме того, плохо работают на небольшом количестве маркеров.

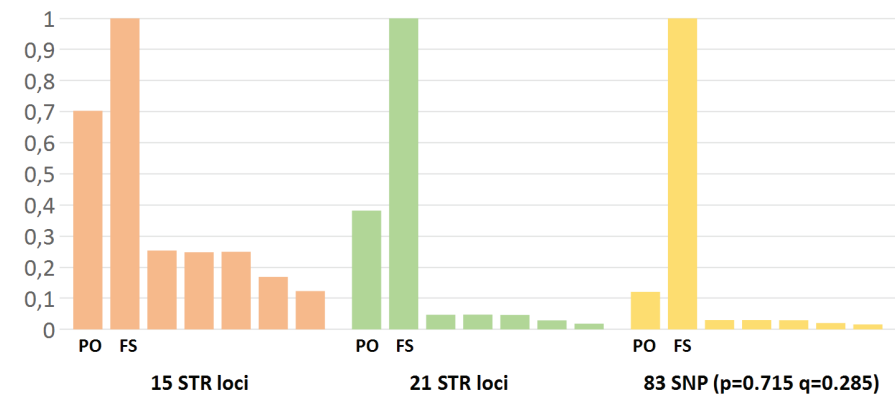


Рис.2. Сравнение коэффициентов родства, рассчитанных для пары «Ирэлях» по 15 STR-локусам, 21 STR-локусу и по 83 SNP-локусам. PO(PP) – отношения родитель-ребенок, FS(CC) – отношения полные сибсы

Не зная возможного уровня инбридинга населения или валидности частоты мутаций, результаты, получаемые в ходе таких исследований, как это, следует расценивать как указания, а не оценки.

«Шаман-дерево», неясное родство второго уровня. При анализе родительских отношений в семье «Шаман-дерево» возникли многие трудности, которые являются неотъемлемой частью изучения точного родства в древних популяциях. Вновь было доказано, что Relatedness имеет низкую дискриминационную силу только на 15 локусах STR, тогда как LR-тесты, зависящие от аллельной частоты, не всегда обеспечивают согласованную

генеалогию. Тесты IBD различаются, но все имеют один недостаток – иногда не дают четких или просто согласованных ответов.

Чтобы выстроить генеалогию, по крайней мере одно определение родства должно быть отброшено как ложное. Трое детей ST2 были или родными братьями (первая гипотеза), или STII был сводным братом других мальчиков (альтернативная гипотеза). Следует, однако, полагать, что во втором варианте (рис.3), отец STII был близким родственником отца ST4 и отца ST5, поскольку у них одна и та же уникальная отцовская линия [13]. Более того, чтобы выстроить генеалогию, все определения родства между дядей ST1 и племянником ST4 следует рассматривать как переоценку степени близости (CC на самом деле ПС/ДТП/ДБВ), а половину определений между бабушкой ST3 и внуком STII – как недооценку степени близости (ДБС – фактически ПС/ДТП/ДБВ). Эта генеалогия имеет антропологические основания и пролить свет на нее может изучение якутской культуры.

«Ирэлях» ближе к статистически верному результату и более высоким уровням родства. Случай с парой «Ирэлях» показывает, насколько Relatedness может в некоторых случаях надежно устранить возможное родство (с 5%-ной вероятностью ошибки). В то время как результат LR-теста ва-

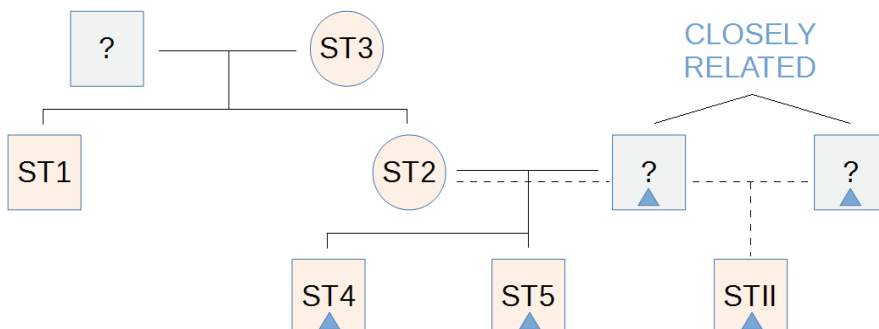


Рис.3. Генеалогия семьи «Шаман-дерево» согласно альтернативной гипотезе. Closely related – близкие родственники

рырует в соответствии с аллельной частотой, которая сама подвержена влиянию многочисленных явлений, дискриминационная сила Relatedness неуклонно возрастает (с учетом маркеров с сопоставимой изменчивостью) с увеличением числа маркеров. Более того, результаты LR-теста должны интерпретироваться в контексте более широкой структуры, состоящей из большой мета-популяции, в которую могут быть включены индивидуумы. Объективные тесты, такие как Relatedness, исключения или IBD-тест, могут использоваться изолированно, опираясь на статистические модели, которые позволяют количественно оценить вероятность того, что результат является точным или иным.

Заключение

При изучении родства с использованием древней ДНК из удаленной популяции возникают конкретные проблемы, связанные с ее изоляцией расстоянием. В конечном счете, препятствием является не разложение генетического материала (особенно для якутских захоронений, которые хорошо сохранились в силу исключительных климатических условий), а отсутствие большой популяции, в которой можно было бы интерпретировать результаты тестов и, в частности, надежно вычислить аллельную частоту.

Если предмет интереса представляют исключительно отношения «родитель-ребенок» или «полные сибсы», LR-тесты, основанные на профилях и частоте STR, обычно эффективны, даже если они основаны на предварительных референсных данных. Тем не менее прямой подсчет числа исключений иногда также бывает точным, как и вычисления при определении родства. Анализ остается качественным, схожие профили классифицируются как «родитель-ребенок», когда исключений не наблюдается, «полные сибсы» – когда наблюдаются только несколько исключений, и «другие» или «несвязанные родством» – когда слишком много исключений (или когда другие данные исключают отношения РР или

СС). Точное разделение отношений второго уровня затруднено, когда аппроксимирование, присущее аллельной частоте (рассчитанной на малых популяциях), вызывает сомнения в тестовых значениях, которые являются несколько нечеткими.

Будущее точных исследований родства в древних популяциях заключается в увеличении количества маркеров и создании моделей, учитывающих культурные и социальные тенденции, непосредственно влияющие на генофонд популяции. В настоящее время также можно предусмотреть изучение очень точных уровней родства, когда, например, может быть точно описана теоретически и наблюдаться практически разница между братьями и сестрами, чьи родители не связаны между собой, и братьями и сестрами, чьи родители являются двоюродными братьями или сестрами. Прогресс в использовании чипов, аккумулирующих данные по миллионам STR-локусов, в сочетании с использованием тестов генетического родства, основанных на объективных значениях сходства, тщательно откалиброванных для конкретной социальной структуры, позволит создать более тонкие и более точные оценки родства древних людей.

Работа поддержана французской археологической миссией в Восточной Сибири (Министерство иностранных дел, Франция), Программой адаптации человека Французского полярного института и Французским национальным агентством (ANR jcjc-0115 «Sibérie»), ГЗ МОН РФ №6.1766.2017/4.6 «Генетически изолированные популяции Восточной Сибири: эволюция генофонда, адаптация к холоду, распространенность некоторых наследственных и инфекционных заболеваний».

Литература

1. Ancient DNA Reveals Male Diffusion through the Neolithic Mediterranean Route / M. Lacan [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences 108, No 24. – June 2011:

9788 91, doi:10.1073/pnas.1100723108.

2. Blouin Michael S. DNA-Based Methods for Pedigree Reconstruction and Kinship Analysis in Natural Populations / Blouin Michael S. // Trends in Ecology & Evolution 18, No 10. – October 2003: 503 11, doi:10.1016/S0169-5347(03)00225-8.

3. Excoffier L. Arlequin Suite Ver 3.5: A New Series of Programs to Perform Population Genetics Analyses under Linux and Windows / Excoffier L. et Lischer Heidi E. L. // Molecular Ecology Resources 10, No 3. – May 2010: 564 67, doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.

4. First Application of the Investigator DIPlex Indels Typing Kit for the Analysis of Ancient DNA Samples / C. Hollard [et al.] // Forensic Science International: Genetics Supplement Series 3, No 1. – December 2011): e393 94, doi:10.1016/j.fsigss.2011.09.058.

5. Genetic analysis of human remains from a double inhumation in a frozen kurgan in Kazakhstan (Berel site, Early 3rd Century BC) / Clisson [et al.] // Int J Legal Med. – 2002.

6. Genetic Diversity of a Late Prehispanic Group of the Quebrada de Humahuaca, Northwestern Argentina: DNA from Ancient Northwestern Argentineans / Fanny Mendisco [et al.] // Annals of Human Genetics 78, No 5. – September 2014: 367 80, doi:10.1111/ahg.12075.

7. GENETIX 4.0. 5.2., Software under Windows™ for the genetics of the populations / K. Belkhir [et al.]. – 2004.

8. Integrative genomics viewer / James T Robinson [et al.] // Nature Biotechnology 29, No 1. – January 2011): 24 26, doi:10.1038/nbt.1754.

9. Jacquard A. Génétique des populations humaines / Jacquard Albert et Chaventré André // Presses universitaires de France, 1974.

10. Keyser-Tracqui C. Nuclear and Mitochondrial DNA Analysis of a 2,000-Year-Old Necropolis in the Egiyn Gol Valley of Mongolia / Keyser-Tracqui Christine, Crubézy Eric, Ludes Bertrand // The American Journal of Human Genetics 73, No 2. – August 2003: 247 60, doi:10.1086/377005.

11. Kalinowski S.T. MI-Relate: A Computer Program for Maximum Likelihood Estimation of Relatedness and Relationship / Kalinowski Steven T., Wagner Aaron P., Taper Mark L. // Molecular Ecology Notes 6, No 2. – June 2006: 576 79, doi:10.1111/j.1471-8286.2006.01256.x.

12. Kling D. Familias 3 – Extensions and New Functionality / Kling Daniel, Tillmar Andreas O., Egeland Thore // Forensic Science International: Genetics 13. – November 2014): 121 27, doi:10.1016/j.fsigen.2014.07.004.

13. The ancient Yakuts: a population genetic enigma / Christine Keyser [et al.] // Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences 370, No 1660. – December 2014. doi:10.1098/rstb.2013.0385.

14. Team R core R: A language and environment for statistical computing // R core Team. – 2014, <http://www.R-project.org/>.

