

ГЕНОМИКА.
ТРАНСКРИПТОМИКА

УДК 577.29

ДНК-ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ОСТАНКОВ ИЗ ЭЛИТНЫХ ПОГРЕБЕНИЙ
ЮГА РОССИИ ХАЗАРСКОГО ВРЕМЕНИ

© 2023 г. Д. О. Фесенко^а, О. Ю. Арамова^{б, с}, Е. В. Вдовченков^с, И. Д. Ивановский^д,
О. Е. Фесенко^е, С. А. Поляков^а, Т. Г. Фалеева^{ф, г}, М. А. Филиппова^а,
В. С. Флоринская^с, И. В. Корниенко^{б, с, *}

^аИнститут молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

^бФедеральный исследовательский центр Южный научный центр Российской академии наук,
Ростов-на-Дону, 344006 Россия

^сЮжный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского,
Ростов-на-Дону, 344090 Россия

^дООО “Центр исследования ДНК”, Химки, 141402 Россия

^еНаучно-исследовательский институт физики Южного федерального университета,
Ростов-на-Дону, 344090 Россия

^фСанкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения
“Бюро судебно-медицинской экспертизы”, Санкт-Петербург, 195067 Россия

^гСеверо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, 191015 Россия

*e-mail: ikornienko@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.10.2022 г.

После доработки 25.12.2022 г.

Принята к публикации 28.12.2022 г.

Анализ древней ДНК позволяет решать научные проблемы, связанные с геногеографическим происхождением и моделями миграции популяций. Хазарский каганат является предметом спора ученых: его сложное историческое становление, отсутствие достаточного количества художественных и письменных источников, а также исчезновение представителей хазарской культуры оставляет открытым вопрос о внешнем облике хазар. Нами проведено ДНК-фенотипирование костных останков из элитных погребений Юга России хазарского времени по признакам цвета глаз, волос, кожи, групп крови по системе АВ0. Установлено, что 8 из 10 погребенных имели при жизни карие глаза, темные волосы, а также преимущественно смуглую кожу. Люди из двух погребений имели серо-голубые глаза, а один человек — светлые волосы. У восьми индивидов установлена наиболее вероятная группа крови по системе АВ0: пятеро имели группу 0 (I), четыре — А (II), один — В (III). Оценка распределения аллелей 10 аутосомных маркеров, обладающих популяционной специфичностью, свидетельствует о высокой гетерогенности этногеографического происхождения исследованных хазар. Полученные результаты свидетельствуют об этнокультурном, генетическом и фенотипическом разнообразии Хазарского каганата.

Ключевые слова: хазары, подкурганские погребения, древняя ДНК, ДНК-фенотипирование, биочип, группы крови, система АВ0, Y-гаплогруппы

DOI: 10.31857/S0026898423040055, **EDN:** QKUCEK

ВВЕДЕНИЕ

Фенотип — внешний облик человека — обычно не привлекает особого внимания на фоне изучения политической, социальной и экономической истории. Однако следует признать, что изучение

фенотипа позволяет значительно детализировать наши знания о людях прошлого. Образ человека, включая цвет волос, глаз и кожи, наряду с одеждой, прической, ювелирными украшениями — является важнейшим признаком идентификации. Деление на свой—чужой, как один из структурообразующих маркеров этничности, во многом исходит из внешнего вида человека. С внешним обликом связаны этнические стереотипы, а внешность является важнейшим маркером родства.

Сокращения: SNP — однонуклеотидный полиморфизм, STR — короткий tandemный повтор, AFR — африканская популяция, EAS — восточно-азиатская популяция, EUR — европейская популяция, SAS — южно-азиатская популяция.

Внешность населения Хазарского каганата, возникшего во второй половине VII века и занимавшего обширные земли в Поволжье, Подонье и на Северо-Восточном Кавказе, влиявшего на территорию всей степной зоны Восточной Европы, вызывает большой интерес и служит объектом дискуссий в научном сообществе [1–3].

В догеномную эпоху для описания внешнего облика хазар мы могли использовать данные физической антропологии, изобразительные и письменные источники. Смешанность антропологических типов у хазар нашла отражение в изобразительном искусстве.

Антропологические данные указывают на преобладание монголоидов в погребениях курганных некрополей Подонья хазарского времени [4]. Краниологические анализы черепов из погребений VII–IX веков, найденных на территории Хазарского каганата (современный Нижний Дон и Нижнее Поволжье), выявили преобладание монголоидных признаков (70%), проявляющих наибольшее сходство с гуннами Забайкалья и тюркоязычными кочевниками Южной Сибири, Алтая и Казахстана. Европеоидные признаки представителей хазарского населения имеют краниологическое сходство с синхронной салтово-маяцкой и сарматской культурами Нижнего Подонья и Нижнего Поволжья [5–8].

Письменные источники отмечают различия во внешнем облике хазар. Ал-Истахри писал: “Хазары не похожи на тюрок, они черноволосы, разделяются на два разряда, один называется кара-хазар, они смуглы так сильно, что их смуглота отдает в чернь, они словно какой-либо разряд из Индии. Другой разряд – белые, красивые и совершенные по внешнему виду”. Персидская редакция ал-Истахри дает несколько иной вариант: “Хазарские люди походят на тюрок, но они не тюрки”. Однако у тюрок деление на черных и белых означало также деление на две социальные категории. Черные хазары были зависимым населением, белые – свободным [3].

Постгеномная эра открывает нам новый источник информации о внешности и других, ранее недоступных, признаках представителей древних эпох: к настоящему времени установлены ассоциации между целым рядом генетических полиморфизмов и фенотипическими проявлениями [9–11]. Благодаря развитию оригинальных отечественных методик генотипирования, мы получили возможность извлекать генетическую информацию из сложных образцов, содержащих крайне малое количество деградированной древней ДНК. Исследуемые нами останки знатных воинов, найденные в подкурганных захоронениях

Нижнего Дона, относятся к кочевой элите Каганата, благодаря характерным особенностям погребального обряда. Эти останки обнаружены в захоронении с чучелом взнузданной верховой лошади, а также со статусными атрибутами: металлическим наборным поясом, серебряным и позолоченным сосудами, ювелирными изделиями и золотыми византийскими монетами [12, 13].

Цель настоящей работы состояла в установлении фенотипических маркеров останков представителей хазарского времени, найденных на территории Юга России, по признакам цвета глаз, волос, кожи, групп крови по системе АВ0.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы. Для молекулярно-генетического анализа отобраны костные останки из подкурганных погребений VII–IX веков, найденных на доменной территории Хазарского каганата (современная Ростовская область) и идентифицированы как элитные воинские захоронения.

Подробное описание девяти объектов исследования, а также места их обнаружения опубликовано ранее [5]. Десятое погребение (№ 166), датированное второй половиной VIII–началом IX вв. н. э., обнаружено в Мартыновском районе (хутор Новый) Л.С. Ильюковым в 1982 г. [14].

Согласно краниологическим данным, останки №№ 67, 619, 457 принадлежали к монголоидному расовому типу. Скелет № 1986 имел смешанные черты монголоидного и европеоидного типа, а индивиды из погребений №№ 531, 656, 1564 – признаки европеоидного расового типа. Расовую принадлежность скелетов №№ 166, 1251, 1566 установить не удалось из-за отсутствия черепов [4].

Пробоподготовку костных объектов и выделение древней ДНК проводили с использованием оригинальных методик, описанных в работах И.В. Корниенко и соавт. [5, 15, 16], включающих специальную деконтаминационную обработку костного порошка [17, 18]. Экстракцию ДНК из исследуемых образцов проводили в трех независимых параллелях. Далее экстракты ДНК, полученные из одного и того же образца, объединяли и концентрировали с использованием центрифужного концентратора Microcon YM-30 с мембраной Ultracel-30 (“Millipore”, США).

На всех этапах работы с археологическими образцами использовали индивидуальные средства защиты (халаты, одноразовые маски, медицинские шапочки и перчатки).

Оценка концентрации выделенной ДНК. Концентрацию активной ДНК-матрицы определяли

методом ферментативной амплификации ДНК в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием коммерческой тест-системы ХУ-Детект (“Синтол”, Россия) при помощи термоциклера с мультиканальным детектором iQ5 (“Bio-Rad”, США) в четырех повторностях. Использовали следующую программу термоциклирования: предварительная инкубация при 95°C в течение 5 мин, затем 44 цикла, каждый из которых включал денатурацию (95°C, 15 с), отжиг праймеров (61°C, 35 с) и элонгацию цепи (68°C, 10 с). Эффективность ПЦР-РВ, вычисленная по стандартной кривой, составляла 0.92. Данные анализировали при помощи программы iQ5 Optical System Software (версия 2.0). Концентрацию древней ДНК оценивали по каналу FAM (фрагмент гена β -актина размером 82 п.н.) путем сравнения значений пороговых циклов (C_T) опытных образцов с калибровочной кривой.

Генотипирование маркеров, ассоциированных с цветом глаз, волос, кожи, группой крови АВ0, базовой гаплогруппой Y-хромосомы и половой принадлежностью человека. Генотипирование проводили с использованием набора реагентов Phenotype Expert (“Центр исследования ДНК”, Россия). Генотипирование состояло из трех этапов: мультиплексной ПЦР, гибридизации ПЦР-продукта на биочипе и регистрации генотипа. В ходе мультиплексной ПЦР происходила амплификация и флуоресцентное мечение 53 целевых фрагментов генома человека, содержащих 60 генетических маркеров, ассоциированных с цветом глаз, волос, кожи, группой крови АВ0, базовой Y-гаплогруппой и половой принадлежностью человека (маркеры приведены в табл. 1 и подробно описаны в [19]). Средняя длина ампликонов, нарабатываемых набором праймеров Phenotype Expert (“Центр исследования ДНК”), составляет около 79 п.н., что повышает шансы на успешное генотипирование древней деградированной ДНК в сравнении с ближайшим аналогом, использующим методику SNaPshot [9].

ПЦР выполняли по следующей программе: активация полимеразы при 95°C в течение 2 мин, далее 50 циклов симметричной амплификации (94°C, 30 с; 65°C, 40 с; 72°C, 30 с) и 50 циклов асимметричной амплификации (94°C, 20 с; 52°C, 30 с; 72°C, 30 с). Каждый образец анализировали в четырех независимых постановках. В первой постановке брали по 1 мкл образца на реакцию; во второй – по 1, 2 и 3 мкл на ПЦР, в третьей – по 0.1 и 0.2 мкл, в четвертой – 0.4, 0.5, 0.6 и 0.8 мкл соответственно. При проведении ПЦР использовали положительный (мужская ДНК в концентрации 0.5 нг/мкл) и отрицательный (деионизированная вода) контроль.

Гибридизация ПЦР-продуктов на биочипе и анализ картины флуоресценции. Гибридизационную смесь готовили следующим образом: 7.5 мкл формамида, 7.5 мкл промывочного буфера и 15 мкл ПЦР-продукта смешивали в пробирке типа Эппендорф и вносили в гибридизационную камеру биочипа. Биочипы с плотно закрытыми крышками помещали в термостат (12 ч, 37°C). По окончании гибридизации биочипы помещали в 20-кратно разведенный гибридизационно-промывочный буфер на 15 мин, далее переносили в кювету с дистиллированной водой на 1–2 мин, после чего обдували сжатым воздухом. Регистрацию картины флуоресценции биочипа и обработку результатов проводили с использованием анализатора Пикодетект (“БИОЧИП-ИМБ”, Россия) в соответствии с руководством по эксплуатации. Более подробное описание методики генотипирования и обработки результатов приведено в [20–22].

Трансляция генотипа в фенотип. Результаты интерпретировали по признакам группы крови АВ0, базовой гаплогруппы Y-хромосомы и половой принадлежности при помощи программы Phenotype Expert (“Центр исследования ДНК”). Для трансляции полученного генотипа в фенотип по признаку цвет (глаз, волос, кожи) использовали интернет-ресурс <https://hirisplex.erasmusmc.nl>.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение концентрации выделенной ДНК

В результате количественной оценки содержания геномной ДНК в препаратах получены следующие данные (ппг/мкл): № 67 – 8.3, № 166 – 2.5, № 457 – 5.7, № 531 – 6.5, № 619 – 60.4, № 656 – 177, № 1251 – 6.4, № 1564 – 9.3, № 1566 – 8.9, № 1986 – 97.5. В большинстве объектов мы наблюдали вполне ожидаемую деградацию ДНК-матрицы, обусловленную древностью исследуемых останков.

Генотипирование

В первой постановке (1 мкл ДНК на ПЦР) получены полные генетические профили образцов №№ 67, 166, 656, 1251 и 1986. В остальных пяти образцах имело место выпадение части локусов. Полагая, что это связано с недостаточным количеством ДНК-матрицы, мы увеличили объем анализируемого образца: брали 1, 2 и 3 мкл раствора ДНК на ПЦР. В результате полный профиль получен только для образца № 619, для №№ 457, 531, 1564 и 1566 результаты существенно ухудшились. Мы предположили наличие ингибиторов ПЦР в растворах ДНК, поэтому в двух последующих постановках объем ДНК варьировали

Таблица 1. Результаты генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов 10 скелетов из подкурганных могильников хазарского времени, расположенных на территории Ростовской области

Признак	№	SNP	Ген, гаплогруппа	Алель	Ампликон, п.н.	67	166	457	531	619	656	1251	1564	1566	1986
Пигментация радужной оболочки, волос и кожи	1	rs312262906	MC1R	A/D	76	DD	DD	DD	DD	DD	DD	DD	DD	DD	DD
	2	rs11547464	MC1R	G/A	130**	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
	3	rs885479	MC1R	G/A*	130**	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GA
	4	rs1805008	MC1R	C/T	130**	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
	5	rs1805005	MC1R	G/T	58	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
	6	rs1805006	MC1R	C/A	92***	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
	7	rs1805007	MC1R	C/T	130**	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
	8	rs1805009	MC1R	G/C	103	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
	9	rs201326893	MC1R	C/A	130**	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
	10	rs2228479	MC1R	G/A	92***	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GA	GA
	11	rs1110400	MC1R	T/C	130**	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
	12	rs28777	SLC45A2	A/C	77	AC	AA	AA	AA	AA	AC	AC	AC	AC	AC
	13	rs16891982	SLC45A2	G/C	57	CC	GG	GG	GG	GG	GC	GC	GC	GC	GC
	14	rs12821256	KITLG	T/C*	98	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TT
	15	rs4959270	LOC105374875	C/A	85	CA	CC	CC	CC	CC	CA	CA	CA	CA	CA
	16	rs12203592	IRF4	C/T	90	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
	17	rs1042602	TYR	C/A*	73	CA	AA	AA	AA	CA	CA	CA	CA	CA	CA
	18	rs1800407	OCA2	C/T*	79	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC
	19	rs2402130	SLC24A4	A/G	66	AA	AA	AA	AA	AA	GG	AA	AA	AA	AA
	20	rs12913832	HERC2	G/A*	59	AA	AA	AA	AA	GG	GA	GA	GA	GA	GA
	21	rs2378249	PIGU	A/G*	60	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
	22	rs12896399	LOC105370627	G/T	70	GT	GG	GG	GG	GG	GG	GT	TT	GG	GG
	23	rs1393350	TYR	G/A*	85	GA	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GA	GA	GG
	24	rs683	TYRP1	A/C*	97	CC	AC	AC	AC	AA	AC	AC	CC	AC	CC
	25	rs3114908	ANKRD11	C/T	49	CT	CC	CT	CT	CC	TT	CC	CT	CC	CT
	26	rs1800414	OCA2	T/C	53	TT	TT	TT	TT	TT	TT	TC	TT	TT	TT
	27	rs10756819	BNC2	A/G	87	AA	AG	GG	GG	AG	AA	AG	AG	AG	AG
	28	rs2238289	HERC2	A/G*	105	AG	AG	AG	AG	AA	AA	AG	AG	AA	AA
	29	rs17128291	SLC24A4	A/G*	78	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA
	30	rs6497292	HERC2	A/G*	58	AA	AG	AG	AG	AA	AA	AG	AG	AA	AA
	31	rs1129038	HERC2	T/C*	74	CC	TC	CC	CC	TT	TC	TC	TC	TT	CC

Таблица 1. Продолжение

Признак	№	SNP	Ген, гаплогруппа	Аллель	Ампликон, п.н.	67	166	457	531	619	656	1251	1564	1566	1986	
Группа крови	32	rs1667394	HERC2	T/C	65	CC	TC	TC	TT	TT	TC	TC	TT	TT	TT	
	33	rs1126809	TYR	G/A	76	GA	GG	GG	GG	GG	GG	AA	GA	GA	GG	
	34	rs1470608	OCA2	C/T*	90	GT	GG	GG	GG	GT	GT	GT	GG	TT	GG	
	35	rs1426654	SLC24A5	A/G	70	AA	AG	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AA	AG
	36	rs6119471	ASIP	C/G	76	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
	37	rs1545397	OCA2	A/T	138	AT	AT	AT	AT	AT	AT	AT	AA	AA	TT	AT
	38	rs6059655	RALY	G/A*	61	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG	GG
	39	rs12441727	OCA2	G/A	63	GG	GG	GG	GG	GG	GA	GG	GA	GG	AA	GG
	40	rs3212355	MC1R	C/T*	63	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC
	41	rs8051733	DEF8	A/G*	68	AG	AG	AG	AG	GG	AA	AG	AG	AG	AA	AA
	42	rs8176719	ABO (6 ex)	G/D	130	DD	GD	G-	G-	G-	DD	GD	DD	DD	GD	DD
	43	rs8176720	ABO (6 ex)	A/G		AG	AA	A-	A-	AG	AA	AA	AG	GG	AA	GG
	44	rs8176742	ABO (7 ex)	G/A	83	GA	GG	GA	GA	GG	GG	GG	GA	AA	GG	AA
	45	rs8176741	ABO (7 ex)	C/T		CC	CC	CC	CC	CT	CC	CC	CC	CC	CC	CC
	46	–	AMELX/Y	–	–	66/70	XY	XX	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY	XY
	Гаплогруппы Y-хромосомы	47	rs2032623	B (M60)	D/I	74	D		D	D	D	D	D	D	D	D
		48	rs35284970	C (M130)	C/T	83	C		C	C	C	T	C	T	C	C
		49	rs202084622	D (CTS3946)	G/A	71	G		G	G	G	G	G	G	G	G
		50	rs9786534	E (M5388)	A/T	86	A		A	A	A	A	A	A	A	A
		51	rs2740980	G (P257)	G/A	68	G		A	G	G	G	G	G	G	G
		52	rs576940616	H (M2920)	G/T	84	G		G	G	G	G	G	G	G	G
		53	rs2319818	I (U179)	G/A	117	G		G	G	G	G	G	G	G	G
		54	rs13447352	J (M304)	A/C	73	A		A	A	A	A	A	A	A	A
		55	rs2032607	L (M185)	C/T	85	C		C	C	C	C	C	C	C	C
		56	rs9341278	N (M231)	G/A	86	G		G	G	G	G	G	G	A	G
		57	rs2032678	O (M175)	I/D	83	I		I	I	I	I	I	I	I	I
		58	rs563604826	Q (M1105)	G/A	69	G		G	G	G	A	G	G	G	G
		59	rs17307398	R (P224)	C/T	65	T		T	T	T	C	C	C	C	T
		60	rs9341308	T (M272)	A/G	60	A		A	A	A	A	A	A	A	A

* В оригинальной панели Hgr15Plex-S номенклатура аллелей соответствует противоположной цепи ДНК.

** Эти шесть позиций амплифицируются с общей пары праймеров и находятся внутри одного ПЦР-продукта, длиной 130 п.н.

*** Эти две позиции амплифицируются с общей пары праймеров и находятся внутри одного ПЦР-продукта, длиной 92 п.н. Обозначения: I – инсерция, D – делеция.

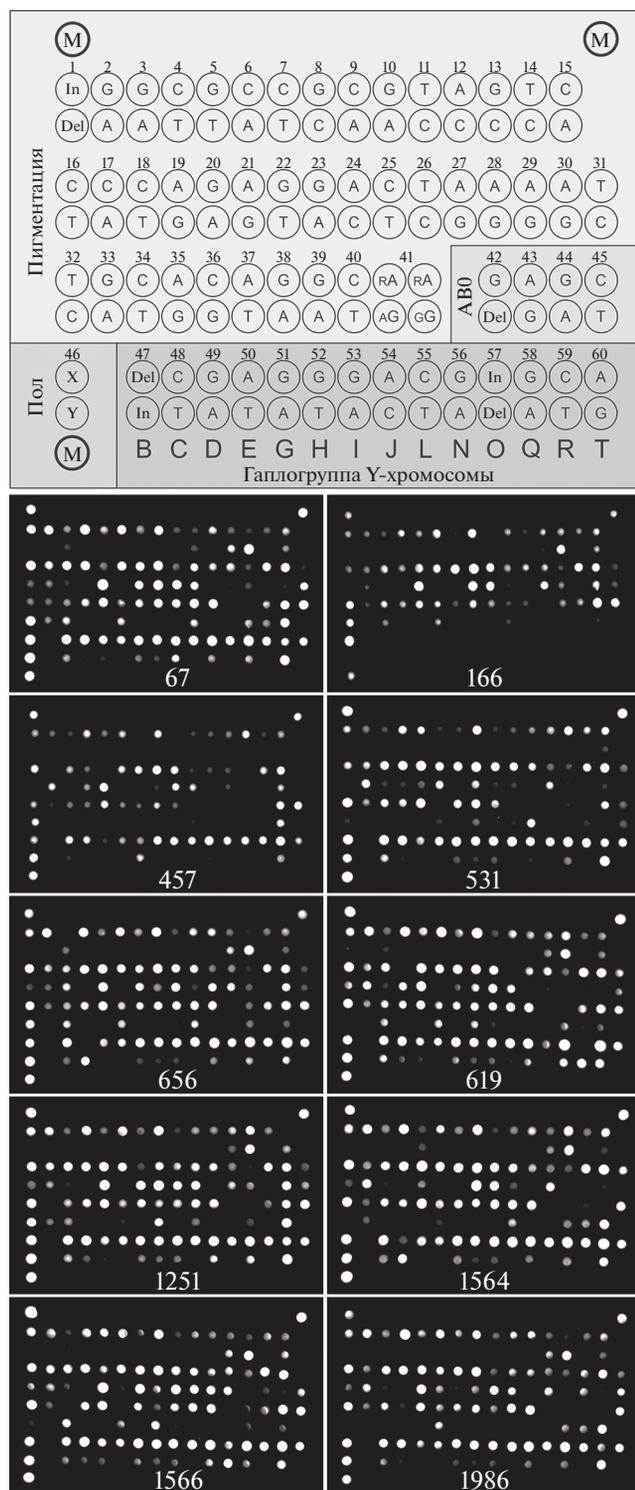


Рис. 1. Схема расположения ДНК-зондов на биологическом микрочипе PhenotypeExpert (вверху). Цифры над каждой парой ячеек соответствуют номеру полиморфизма из табл. 1. Обозначения внутри ячеек соответствуют аллелям полиморфизмов. Технические ячейки "М" необходимы для позиционирования матрицы анализатором при автоматическом обсчете сигналов ячеек. В нижней части рисунка приведены результаты генотипирования образцов ДНК из элитных погребений хазарского времени.

в диапазоне 0.1–1 мкл на реакцию. Эта тактика позволила найти оптимум, обеспечивающий получение наиболее полного профиля для каждого из указанных четырех образцов. На рис. 1 приведена схема биочипа Phenotype Expert ("Центр исследования ДНК") и наилучшие изображения, полученные в экспериментах с оптимальным объемом каждого из 10 образцов.

Полученные результаты подтверждают, что успешность генотипирования таких сложных объектов, как древние костные останки, зависит от концентрации выделенной ДНК, степени ее деградации и присутствия ингибиторов ПЦР в образце. В отсутствие ингибиторов для получения более полного профиля очевидной рекомендацией является увеличение объема образца водного раствора ДНК в ПЦР-смеси. Однако в образцах, содержащих ингибиторы ПЦР, применение этой тактики сдерживается негативным влиянием ингибиторов.

Указанные проблемы делают крайне сложным получение в одном эксперименте полного генетического профиля по всем 60 маркерам. В разных экспериментах мы наблюдали выпадение отдельных локусов и потерю аллелей, однако примененный подход позволил собрать из серии экспериментов полный профиль каждого образца. Сводные результаты генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов 10 скелетов из подкурганных могильников хазарского времени, расположенных на территории Ростовской области, приведены в табл. 1. Получены полные генетические профили всех 10 образцов по исследуемым полиморфизмам, за исключением экзона 6 гена АВ0, где произошло выпадение в образце № 457. Однако группу крови удалось установить по частичному генотипу: А (II), аллели А/0^{IV}.

ДНК-фенотипирование и Y-гаплогруппы

Методика ДНК-фенотипирования, использованная нами, позволила дополнить малочисленные и отрывочные сведения о внешнем облике представителей Хазарского каганата конца VII–начала IX веков. Так, фенотипы костных останков по признакам цвета глаз, волос, кожи, группы крови АВ0, пола и базовых гаплогрупп Y-хромосомы, полученные при помощи набора реагентов Phenotype Expert ("Центр исследования ДНК"), представлены в табл. 2.

По признаку вероятный цвет глаз установлено, что представители хазарской культуры из погребений №№ 67, 166, 457, 619, 656, 1251, 1566, 1986 имели карий тип градации цвета глаз. Индивиды из погребений №№ 531, 1564 имели серо-голубую градацию цвета глаз.

Таблица 2. Результаты ДНК-фенотипирования костных останков из элитных воинских погребений Хазарского каганата VII–IX вв.

Признак	Скелет, номер									
	67	166	457	531	619	656	1251	1564	1566	1986
Вероятный цвет глаз	Карий	Карий	Карий	Серо-голубой	Карий	Карий	Карий	Серо-голубой	Карий	Карий
Серо-голубой	0.000	0.003	0.000	0.848	0.012	0.021	0.077	0.726	0.000	0.003
Смешанный (болотный, зеленый)	0.003	0.020	0.013	0.088	0.050	0.066	0.091	0.109	0.003	0.020
Карий	0.997	0.977	0.986	0.065	0.938	0.913	0.832	0.165	0.997	0.977
Вероятный цвет волос	Брюнет (черные)	Брюнет (черные)	Шатен/брюнет	Блондин	Шатен/брюнет	Брюнет (черные)	Шатен/брюнет	Шатен	Брюнет (черные)	Шатен/брюнет
Блондин (светлые, желтые)	0.002	0.014	0.104	0.675	0.047	0.013	0.073	0.250	0.003	0.021
Шатен (каштановые, темно-русые)	0.138	0.319	0.559	0.296	0.576	0.276	0.542	0.655	0.220	0.550
Рыжий	0.000	0.000	0.001	0.005	0.000	0.000	0.000	0.004	0.000	0.000
Брюнет (черные)	0.860	0.667	0.336	0.024	0.376	0.711	0.384	0.092	0.777	0.428
Светлые	0.006	0.048	0.220	0.944	0.113	0.078	0.204	0.724	0.010	0.058
Темные	0.994	0.952	0.780	0.056	0.887	0.922	0.796	0.276	0.990	0.942
Вероятный цвет кожи	Смуглая – в темный	Темная	Смуглая	Между светлым и смуглым	Смуглая	Между светлым и смуглым	Смуглая	Смуглая	Смуглая	Темная
Очень бледная	0.017	0.000	0.004	0.018	0.016	0.062	0.118	0.037	0.088	0.000
Светлая	0.047	0.000	0.260	0.582	0.108	0.225	0.177	0.300	0.052	0.000
Смуглая	0.733	0.620	0.698	0.398	0.785	0.713	0.592	0.629	0.828	0.162
Темная	0.200	0.045	0.037	0.001	0.089	0.000	0.094	0.032	0.032	0.833
Черная	0.003	0.335	0.001	0.000	0.002	0.000	0.018	0.001	0.000	0.005
Группа крови	0 (I)	A (II)	A (II)	B (III)	0 (I)	A (II)	0 (I)	0 (I)	A (II)	0 (I)
Генотип	0 ^I /0 ^{Iv}	A/0 ^I	A/0 ^{Iv}	B/0 ²	0 ^I /0 ^I	A/0 ^I	0 ^I /0 ^{Iv}	0 ^{Iv} /0 ^{Iv}	A/0 ^I	0 ^{Iv} /0 ^{Iv}
Пол	М	Ж	М	М	М	М	М	М	М	М
Группа Y-хромосомы	R(P224)	–	G (P257)	R(P224)	Q(M1105)	C(M130)	R(P224)	C(M130)	N(M231)	R(P224)

Скелеты под №№ 67, 166, 656, 1566 имели одинаковую градацию цвета волос – брюнет (черные). Скелеты №№ 457, 619, 1251, 1564, 1986 по градации цвета волос определены как темно-каштановые/брюнеты. Установлено, что № 531, вероятно, был блондином.

По признаку вероятный цвет кожи пять представителей хазар, а именно №№ 457, 619, 1251, 1564, 1566, имели смуглый тип кожи. Индивид № 67 имел признаки перехода из смуглого в темный цвет кожи. У №№ 166, 1986 был темный тип градации цвета кожи, а у №№ 531, 656 – между светлым и смуглым.

Наиболее распространенной была группа крови 0 (I). Этот вариант встречался у пяти индивидов №№ 67, 619, 1251, 1564, 1986. Второй по распространенности стала группа А (II). Эту группу имели скелеты №№ 166, 457, 656, 1566. И в образце №531 установлена группа В (III) с достаточно редким генотипом В/О².

Определена принадлежность мужских скелетов к одной из 14 базовых гаплогрупп Y-хромосомы человека: наиболее частой была Y-гаплогруппа R (P224) – №№ 67, 531, 1251, 1986. Дважды выявлена гаплогруппа С (M130) – №№ 656, 1564. Скелет из погребения № 457 имел гаплогруппу G (P257), а №№ 619 и 1566 – Y-гаплогруппы Q (M1105) и N (M231) соответственно.

Полученные нами результаты полностью согласуются с данными предыдущих исследований Y-гаплогрупп этих же костных останков хазар из элитных воинских погребений по STR-локусам, расположенным на Y-хромосоме [5].

Популяционно-специфичные маркеры

Сравнение частот генотипов полиморфизмов панели HirisPlex-S в макропопуляциях (по данным 1000 Genomes Project) позволило выделить 10 SNP, в той или иной степени обладающих популяционной специфичностью. Это позволяет дать дополнительную оценку популяционному разнообразию исследуемых останков. Значения частот аллелей, имеющиеся в нашем распоряжении, относятся к современным популяциям, поэтому некорректно применять их к оценке популяционной принадлежности носителей древней ДНК. Тем не менее, опираясь на эту информацию, можно оценить степень гетерогенности этногеографического происхождения представителей кочевой элиты Хазарского каганата.

Для оценки схожести образца с одной из современных макропопуляций генотипы по 10 упомянутым полиморфизмам сведены в табл. 3 и сопоставлены с данными по африканской (AFR), восточно-

азиатской (EAS), европейской (EUR), южно-азиатской (SAS) популяциям, а также по славянам Центральной России (RU) [19]. В табл. 3 различные генотипы каждого из образцов расположены в одной строке с частотами генотипов в популяциях сравнения (AFR, EAS, EUR, SAS и RU).

Количественные характеристики получали с использованием произведения частот генотипов по всем 10 SNP в каждой популяции; для всех образцов получены значения, позволяющие сравнить их с соответствующими макропопуляциями, а также с современной славянской популяцией (табл. 4). Если генотип в макропопуляции не встречался (по данным исследования 1000 Genome Project), то за его частоту принимали не 0, а 0.001, чтобы умножением на ноль не утратить информацию по всей совокупности этноспецифичных полиморфизмов.

Полученные результаты следует интерпретировать с осторожностью, учитывая не только временной разрыв (более 1000 лет) между сравниваемыми популяциями, но и ограниченную репрезентативность выборок, обозначенных AFR, EAS, EUR и SAS. Тем не менее, приведенные в табл. 4 результаты с определенностью констатируют выраженную неоднородность геногеографического происхождения исследованных хазар по аутосомным маркерам.

Ниже представлены данные ДНК-фенотипирования образцов и их сравнение с краниологическими описаниями [4] и данными о гаплогруппе, полученными ранее методом предикции, исходя из STR-профиля Y-хромосомы (приведены в скобках в следующем порядке: (YHRD/ NEV-GEN/SNaPshot)) [5].

Образец № 67. Кареглазый брюнет со смуглой (ближе к темной) кожей, гаплогруппа R (R1b/R1b/R1b), череп монголоидного типа.

Образец № 166. Кареглазая брюнетка с темной кожей, череп в скелете отсутствовал.

Образец № 457. Кареглазый мужчина с черными либо темно-каштановыми волосами и смуглой кожей, гаплогруппа G (G2a/G2a2/–), череп предположительно монголоидного типа.

Образец № 531. Мужчина с серо-голубыми глазами, светлыми волосами, кожей светло-смуглого оттенка, гаплогруппа R (R1a/R1a/R1a), европеоидный тип черепа.

Образец № 619. Кареглазый мужчина с черными либо темно-каштановыми волосами и смуглой кожей, гаплогруппа Q (Q/Q/Q), череп монголоидного типа.

Таблица 3. Генотипирование образцов ДНК хазар по полиморфизмам, обладающим популяционной специфичностью в российской и четырех основных макропопуляциях

№	Ген, полиморфизм	Генотип	Частота генотипа в популяции						Результаты генотипирования								
			RU	AFR	EAS	EUR	SAS	67	166	457	531	619	656	1251	1564	1566	1986
12	SLC45A2	AA	0.891	0.047	0.012	0.917	0.051										
	rs28777	AC	0.106	0.297	0.21	0.08	0.344	AC									
	A>C	CC	0.003	0.657	0.778	0.004	0.605										
13	SLC45A2	GG	0.876	0.005	0*	0.885	0.006										
	rs16891982	GC	0.120	0.062	0.012	0.107	0.106	CC									
	G>C	CC	0.004	0.933	0.988	0.008	0.888										
20	HERC2	GG	0.589	0.003	0*	0.451	0.004										
	rs12913832	GA	0.357	0.05	0.004	0.37	0.133	GA									
	G>A	AA	0.054	0.947	0.996	0.179	0.863	AA									
23	TYR	GG	0.611	0.853	0.994	0.559	0.894										
	rs1393350	GA	0.341	0.135	0.006	0.396	0.104	GA									
	G>A	AA	0.048	0.012	0*	0.046	0.002										
24	TYRPI	CC	0.345	0.787	0.978	0.159	0.642	CC									
	rs683	AC	0.485	0.203	0.022	0.427	0.297	AC									
	C>A	AA	0.170	0.011	0*	0.414	0.061										
26	OCA2	TT	0.985	0.998	0.149	1	0.992	TT									
	rs1800414	TC	0.015	0.002	0.51	0*	0.008	TT									
	T>C	CC	0.000	0*	0.341	0*	0*										
31	HERC2	TT	0.589	0.003	0	0.447	0.004										
	rs1129038	TC	0.357	0.05	0.002	0.376	0.131	TC									
	T>C	CC	0.054	0.947	0.998	0.177	0.865	CC									
33	TYR	GG	0.590	0.985	0.998	0.545	0.896										
	rs1126809	GA	0.356	0.012	0.002	0.406	0.1	GA									
	G>A	AA	0.054	0.003	0*	0.05	0.004										
35	SLC24A5	AA	0.996	0.008	0*	0.994	0.507	AA									
	rs1426654	AG	0.004	0.133	0.024	0.006	0.356	AG									
	A>G	GG	0*	0.859	0.976	0*	0.137										
37	OCA2	AA	0.790	0.971	0.01	0.851	0.783	AT									
	rs1545397	AT	0.198	0.027	0.214	0.143	0.198	AT									
	A>T	TT	0.012	0.002	0.776	0.006	0.018	TT									

*При вычислении произведенный частот, приведенных в табл. 4, вместо 0 использовали значения 0.001.

Таблица 4. Оценка гетерогенности геногеографического происхождения хазар путем сопоставления с современными макропопуляциями, а также со славянской популяцией преимущественно из центральной России

Скелет, №	RU	AFR	EAS	EUR	SAS
67	1.01×10^{-8}	6.83×10^{-8}	7.72×10^{-11}	7.37×10^{-8}	1.52×10^{-4}
166	7.37×10^{-9}	4.23×10^{-7}	2.77×10^{-11}	9.94×10^{-9}	8.85×10^{-5}
457	3.08×10^{-4}	2.79×10^{-7}	3.88×10^{-13}	2.83×10^{-3}	2.14×10^{-5}
531	3.22×10^{-3}	4.21×10^{-15}	3.80×10^{-19}	2.93×10^{-3}	2.38×10^{-11}
619	5.51×10^{-5}	1.69×10^{-9}	1.40×10^{-14}	2.20×10^{-5}	1.51×10^{-5}
656	2.79×10^{-8}	5.10×10^{-11}	3.95×10^{-12}	1.65×10^{-9}	1.02×10^{-6}
1251	7.98×10^{-6}	1.14×10^{-10}	1.76×10^{-19}	3.17×10^{-6}	6.68×10^{-8}
1564	2.01×10^{-4}	4.23×10^{-13}	4.96×10^{-22}	1.00×10^{-4}	7.10×10^{-10}
1566	2.34×10^{-11}	1.65×10^{-11}	1.78×10^{-9}	1.17×10^{-11}	4.42×10^{-7}
1986	5.24×10^{-9}	1.64×10^{-6}	1.23×10^{-9}	3.70×10^{-9}	1.91×10^{-4}

Примечание. Жирным шрифтом выделены наибольшие значения произведения частот, характеризующие максимальную близость к соответствующей современной популяции.

Образец № 656. Кареглазый черноволосый мужчина со светло-смуглой кожей, гаплогруппа C (C3/C2b1a1b1/—), европеоидный тип черепа.

Образец № 1251. Кареглазый мужчина с черными, либо темно-каштановыми волосами и смуглой кожей, гаплогруппа R (R1a/R1a/R1a), череп в скелете отсутствовал.

Образец № 1564. Мужчина с серо-голубыми глазами, черными либо темно-каштановыми волосами и смуглой кожей, гаплогруппа C (C3/C2b1a1b1/—), европеоидный тип черепа.

Образец № 1566. Кареглазый черноволосый мужчина со смуглой кожей, гаплогруппа N (N/N1a1/N), череп в скелете отсутствовал.

Образец № 1986. Кареглазый мужчина с темными либо темно-каштановыми волосами и темной кожей, гаплогруппа R (R1a/R1a/R1a), скелет имеет смешанные черты монголоидного и европеоидного типа.

На данном этапе исследования выделяется скелет № 531, вероятно, с серо-голубыми глазами и светло-смуглой кожей, имеющий Y-гаплогруппу R (P224). Стоит отметить, что другие хазарские воины — представители этой гаплогруппы — имели преимущественно смуглую кожу, темные глаза и волосы, это еще раз подтверждает, что Y-гаплогруппа не определяет фенотип.

Таким образом, данные для восьми фенотипов из 10 не вызывают никакого удивления. Темные волосы и темные глаза в обществе с большой примесью монголоидной расы — это ожидаемая позиция. При анализе обращают на себя внимание погребения № 531 и 1564, в которых погребены люди с серо-голубыми глазами, а № 531 — и со светлыми волосами. Это погребения с подкуртан-

ными ровиками, которые по признакам погребального обряда не выделяются из остальных. Такие результаты заставляют нас с осторожностью отнестись к версиям о прямой корреляции между погребальным обрядом, этничностью погребенного и его расовым происхождением.

Полученные данные являются важным свидетельством этнокультурного и генетического разнообразия представителей Хазарского каганата, которое обуславливает их фенотипическое различие. Но при этом основная часть выборки — 8 из 10 — это люди с темными волосами и глазами, что вполне соотносится с информацией антропологов о монголоидной значительной части номадов этого времени. Настоящая работа дополняет малочисленные исторические письменные и художественные источники, посвященные Хазарскому каганату VII–IX веков.

Пробоподготовка древних костей выполнена в рамках реализации госзадания ЮНЦ РАН (№ гр. проекта 122011900166-9); выделение и количественная оценка препаратов древней ДНК выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (№ 22-28-02000 “Комплексное историко-культурное и молекулярно-генетическое исследование древнего населения Нижнего Подонья в сарматское время”).

Все процедуры, выполненные в исследовании, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глебов В.П., Иванов А.А. (2007) Кочевническое погребение хазарского времени из курганного могильника Таловый II. В: *Средневековые древности Дона: Материалы и исследования по археологии Дона*. вып. 2. Москва/Иерусалим: Мосты культуры/Гешарим. 154–176.
2. Плетнева С.А. (1976) *Хазары*. Москва: Наука.
3. Батиева Е.Ф. (2007) Антропология погребения хазарского времени из могильника Таловый II. В *Средневековые древности Дона: Материалы и исследования по археологии Дона*. вып. 2. Москва/Иерусалим: Мосты культуры/Гешарим. 177–182.
4. Батиева Е.Ф. (2002) Антропология населения Нижнего Подонья в хазарское время. *Донская археология*. 3–4, 71–101.
5. Корниенко И.В., Фалеева Т.Г., Шурр Т.Г., Арамова О.Ю., Очир-Горяева М.А., Батиева Е.Ф., Вдовченков Е.В., Мошков Н.Е., Куканова В.В., Иванов И.Н., Сидоренко Ю.С., Татаринова Т.В. (2021) Y-гаплогруппы костных останков из курганных погребений хазарского времени на территории Юга России. *Генетика*. 57(4), 464–477.
6. Гинзбург В.В. (1946) Антропологические данные по этногенезу хазар. *Советская этнография*. 2, 81–86.
7. Балабанова М.А. (2006) Особенности антропологического состава погребальных комплексов хазарского времени. В кн.: *Некоторые актуальные проблемы современной антропологии*. Санкт-Петербург: МАЭ РАН, 59–61.
8. Балабанова М.А. (2013) Антропологическая структура населения хазарского времени восточноевропейских степей. В кн.: *Население Юга России с древнейших времен до наших дней (Донские антропологические чтения)*. Ростов-на-Дону, 76–79.
9. Chaitanya L., Breslin K., Zuñiga S., Wirken L., Pośpiech E., Kukla-Bartoszek M., Sijen T., de Knijff P., Liu F., Branicki W., Kayser M., Walsh S. (2018) The HIrisPlex-S system for eye, hair and skin colour prediction from DNA: Introduction and forensic developmental validation. *Forensic Sci. Int.: Gen.* 35, 123–135.
10. Walsh S., Chaitanya L., Breslin K., Muralidharan C., Bronikowska A., Pospiech E., Koller J., Kovatsi L., Wollstein A., Branicki W., Liu F., Kayser M. (2017) Global skin colour prediction from DNA. *Hum. Genet.* 136(7), 847–863.
11. Walsh S., Chaitanya L., Clarisse L., Wirken L., Draus-Barini J., Kovatsi L., Maeda H., Ishikawa T., Sijen T., de Knijff P., Branicki W., Liu F., Kayser M. (2014) Developmental validation of the HIrisPlex system: DNA-based eye and hair colour prediction for forensic and anthropological usage. *Forensic Sci. Int.: Genet.* 9, 150–161.
12. Афанасьев Г.Е. (2016) О территории Хазарского каганата и хазарского “домена” в IX веке. В кн.: *Дивногогорский сборник*. Вып. 6. Воронеж. 41–72.
13. Афанасьев Г.Е., Атавин А.Г. (2002) Что же такое хазарский погребальный обряд? (Проблемы материала, археологического анализа и интерпретации). В: *Хазары: тезисы Второго Междунар. коллоквиума*. Москва, 11–14.
14. Ильюков Л.С. (1983) *Отчет об исследовании курганного могильника у х. Нового Мартыновского района Ростовской области в 1982 году*. Археол. лаб. РГУ. Ф-10, д-1.
15. Корниенко И.В., Харламов С.Г. (2012) Методы исследования ДНК человека: выделение ДНК и ее количественная оценка в аспекте судебно-медицинского исследования вещественных доказательств биологического происхождения. *Учебно-методическое пособие*. Ростов-на-Дону: Изд-во Южного Фед. ун-та, 214 с.
16. Корниенко И.В., Фалеева Т.Г., Махоткин М.А., Андриянов А.И., Арамова О.Ю. (2019) Инновационный метод выделения древней ДНК. *Материалы Международной научной конференции “Азак и мир вокруг него”*. Азов: Изд-во Азовского музея заповедника, 268–271.
17. Арамова О.Ю., Фалеева Т.Г., Махоткин М.А., Андриянов А.И., Корниенко И.В. (2019) Инновационная методика деконтаминации археологического биологического материала. *Материалы VIII научно-практической конференции с международным участием “Генетика – фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции”*. Ростов-на-Дону, 89–90.
18. Корниенко И.В., Фалеева Т.Г., Арамова О.Ю. (2021) Заявка на патент № 2021129837/04(063279). *Композиция для удаления ДНК и/или РНК-содержащего биологического материала (варианты)*; заявл. 11.10.2021.
19. Фесенко Д.О., Ивановский Д.И., Иванов П.Л., Земскова Е.Ю., Агапитова А.С., Поляков С.А., Фесенко О.Е., Филиппова М.А., Заседателев А.С. (2022) Биочип для генотипирования полиморфизмов, ассоциированных с цветом глаз, волос, кожи, группой крови, половой принадлежностью, основной гаплогруппой Y-хромосомы, и его использование для исследования славянской популяции. *Молекуляр. биология*. 56(5), 860–880.
20. Fesenko D.O., Chudinov A.V., Surzhikov S.A., Zasedatelev A.S. (2016) Biochip-based genotyping assay for detection of polymorphisms in pigmentation genes associated with cutaneous melanoma. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*. 20(4), 208–212.
21. Фесенко Д.О., Гусейнов Т.О., Лапа С.А., Кузнецова В.Е., Шершов В.Е., Спицын М.А., Наседкина Т.В., Заседателев А.С., Чудинов А.В. (2018) Исследование субстратных свойств новых флуоресцентно-меченных трифосфатов дезоксицитидина для ферментативного синтеза ДНК полимерами семейств А и В. *Молекуляр. биология*. 52(3), 533–542.
22. Fesenko D.O., Chudinov A.V., Surzhikov S.A., Nasedkina T.V., Zasedatelev A.S. (2014) Biochip for genotyping SNPs defining core Y-chromosome haplogroups in Russian population groups. *BioChip J.* 8(3), 171–178.

DNA-Phenotyping of Remains from Elite Burials in the South of Russia in the Khazar Period

D. O. Fesenko¹, O. Yu. Aramova^{2, 3}, E. V. Vdovchenkov³, I. D. Ivanovsky⁴, O. E. Fesenko⁵,
S. A. Polyakov¹, T. G. Faleeva^{6, 7}, M. A. Filippova¹, V. S. Florinskaya³, and I. V. Kornienko^{2, 3, *}

¹Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

²Federal Research Center The Southern Scientific Center, Russian Academy of Sciences,
Rostov-on-Don, 344006 Russia

³Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology named after D.I. Ivanovsky,
Rostov-on-Don, 344090 Russia

⁴DNA Research Center, LLC, Hkimki, 141402 Russia

⁵Southern Federal University, Research Institute of Physics, Rostov-on-Don, 344090 Russia

⁶St. Petersburg State Budgetary Institution of Health Care "Bureau of Forensic Medical Examination",
St. Petersburg, 195067 Russia

⁷North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, 191015 Russia

*e-mail: ikornienko@yandex.ru

The study of the past through the analysis of ancient DNA allows us to solve scientific problems related to the genogeographic origin and patterns of population migration. The Khazar Khaganate is a subject of controversy among scientists in various fields of science: its complex historical formation, the lack of a sufficient number of artistic and written sources, together with the disappearance of representatives of the Khazar culture, leaves open the question of the appearance of the Khazars. In this work, DNA-phenotyping of bone remains from the elite burials of the South of Russia of the Khazar period was carried out on the basis of the color of eyes, hair, skin, and blood groups according to the AB0 system. It was established that 8 out of 10 buried had brown eyes, dark hair (to varying degrees), and predominantly dark skin during their lifetime. People from two burials had gray-blue eyes, and one person had blond hair. In 8 individuals, the most probable blood type was established according to the AB0 system: 5 people had 0 (I) group, 4 people had A (II) group and one B (III). Assessment of allele distribution of ten autosomal markers with population specificity indicates high heterogeneity of ethnogeographic origin of the studied Khazars. The obtained results are evidence of the ethnocultural, genetic and phenotypic diversity of the Khazar Khaganate.

Keywords: Khazars, burial mounds, ancient DNA, DNA-phenotyping, biochip, AB0 blood group, Y-chromosome haplogroup