

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 575.162;572.087:572.525
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-1-59-67>

Поступило в редакцию 16.06.2020
Received 16.06.2020

**М. Н. Шаптуренко¹, А. В. Кондратюк¹, С. И. Вакула¹, М. В. Середенко (Шинкевич)¹,
И. Г. Гудиевская², С. Р. Боровко³, Л. Н. Марченко², О. В. Скрыпник²,
А. А. Далидович², академик А. В. Кильчевский¹**

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

³Комитет судебных экспертиз Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВАРИАЦИЯ ПИГМЕНТАЦИИ РАДУЖКИ ГЛАЗ БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ В СВЯЗИ С ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНОВ *HERC2* И *OCA2*

Аннотация. Генетическое фенотипирование человека – новое, интенсивно развивающееся направление криминалистической генетики. Исследование генетических основ цветовой вариации глаз является одним из наиболее перспективных среди подходов, нацеленных на установление облика неизвестного индивида по характеристикам его ДНК. В данной работе проведено изучение полиморфизмов rs12913832 и rs1800407 в генах *HERC2* и *OCA2* соответственно в связи с пигментацией радужки глаз белорусской популяции и дана оценка их прогностической эффективности для генетического фенотипирования. Полученные данные подтвердили значимый вклад в цветовую вариацию радужки глаз rs12913832:A>G и rs1800407:G>A. Высокие значения чувствительности (SE = 0,94) и специфичности (SP = 0,90) были получены для rs12913832, подтвердив эффективность данного маркера для использования в качестве классификатора фенотипических групп. Наличие предкового доминантного аллеля rs12913832-A обуславливает темную пигментацию радужки, однако гетерозиготное носительство rs12913832:GA включает значительный спектр смешанных вариантов. Однонуклеотидный полиморфизм rs1800407 характеризуется высокой чувствительностью (SE = 0,98), однако имеет низкое значение специфичности (SP = 0,14), следовательно, данный маркер, не являясь эффективным классификатором, может использоваться только как вспомогательный инструмент для предсказания цвета глаз. Оценка совокупного вклада изученных полиморфизмов в цветовую вариацию радужки глаз белорусской популяции показывает их высокий прогностический потенциал для генетического фенотипирования.

Ключевые слова: генетическое фенотипирование, пигментация радужки глаз, гены *HERC2* и *OCA2*

Для цитирования. Вариация пигментации радужки глаз белорусской популяции в связи с полиморфизмом генов *HERC2* и *OCA2* / М. Н. Шаптуренко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т. 65, № 1. – С. 59–67. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-1-59-67>

**Marina N. Shapturenko¹, Aleksandr V. Kondratiuk¹, Svetlana I. Vakula¹, Marina V. Seredenko (Shinkevich)¹,
Irena G. Gudzievskaya², Sergey R. Borovko³, Liudmila N. Marchenko², Olga V. Skrypnik²,
Anastasia A. Dalidovitch², Academician Alexander V. Kilchevsky¹**

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

³State Forensic Examination Committee of the Republic of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

***HERC2* AND *OCA2* GENES POLYMORPHISMS IN RELATION TO THE IRIS COLOR VARIATION OF THE BELARUSIAN POPULATION**

Abstract. The human genetic phenotyping is one of the most intensely developing area of forensic genetics. Externally visible traits, including eye color, can be predicted by analyzing single nucleotide polymorphisms with a high predictive rate. We studied the polymorphisms rs12913832 and rs1800407 in the *HERC2* and *OCA2* genes, respectively, to evaluate its prognostic availability in relation to the iris pigmentation of the Belarusian population. For this, both eye images and DNA samples were collected from 314 individuals to analyze the key polymorphisms by the TaqMan assay. Our data confirmed a relevance of rs12913832:A>G and rs1800407:G>A in the prediction context. The highest values of the sensitivity (SE = 0.94) and the specificity (SP = 0.90) were obtained for rs12913832, demonstrating the high efficiency of this marker as a classifier of phenotypic groups. The presence of the ancestral dominant allele rs12913832-A causes a dark (brown) iris pigmentation, however, the heterozygous state rs12913832:GA includes a range of mixed variants. The predictive value of rs1800407 for the genetic phenotyping is highly significant (SE = 0.98), but has a low specificity (SP = 0.14), thus rs1800407, not being an effective classifier, can be used as an auxiliary in the eye color predictive model. The analysis of a cumulative impact of the both polymorphisms on the iris color variation shows their high prospects for the genetic phenotyping of the Belarusian population.

Keywords: genetic phenotyping, iris color variation, *HERC2* and *OCA2* genes

For citation: Shapturenko M. N., Kondratiuk A. V., Vakula S. I., Seredenko (Shinkevich) M. V., Gudzievskaya I. G., Borovko S. R., Marchenko L. N., Skrypnyk O. V., Dalidovitch A. A., Kilchevsky A. V. *HERC2* and *OCA2* genes polymorphisms in relation to the iris color variation of the Belarusian population. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2021, vol. 65, no. 1, pp. 59–67 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-1-59-67>

Введение. Среди европейского населения наблюдается значимая внутрипопуляционная изменчивость в характере варьирования цвета глаз, волос и кожи. Различия пигментации у человека в основном обусловлены количеством, типом и распределением меланина [1]. Меланин не является уникальным соединением, это смесь биополимеров, синтезируемых в меланоцитах. Цвет глаз человека определяется типом, количеством и распределением двух форм пигмента – эумеланина и феомеланина. Компактно упакованные в эумеланосомах молекулы эумеланина поглощают почти весь спектр света и при их высоком содержании цвет радужки воспринимается как темно-коричневый или черный. Феомеланин отражает более широкий спектр света и воспринимается визуально в диапазоне от желтого до красного. При полном отсутствии обоих пигментов свет отражается от стромы радужной оболочки, в связи с чем радужка выглядит серой или голубой [2; 3].

Предполагается, что наблюдаемая среди европейских популяций широкая вариабельность цвета глаз обусловлена действием естественного и полового отбора [4]. Несмотря на то что светлый (серый, голубой) цвет глаз проявляет рецессивный характер, наследование этого признака не подчиняется законам Менделя. GWAS исследования подтвердили полигенную природу цветовой вариации радужки с преимущественным вкладом *HERC2/OCA2* генов [5], а также выявили детерминанты с менее значительными эффектами – *SLC24A4*, *TYR*, *TYRP1*, *SLC45A2* и *IRF4* [6]. Первоначально ведущая роль в определении цвета радужки отводилась гену *OCA2*. Три однонуклеотидных полиморфизма в интроне 1 гена *OCA2* считались лучшими предикторами голубого/карего цвета глаз человека и один несинонимичный полиморфизм в экзоне 13 – зеленого цвета [7]. Вероятно, это было обусловлено связью *OCA2* с наиболее распространенными формами глазо-кожного альбинизма в Европе [8]. Позже были получены доказательства того, что позиция rs12913832, расположенная в интроне 86 гена *HERC2*, содержит высоко консервативный регуляторный элемент, который играет решающую роль в определении голубого цвета радужки. Этот SNP действует как энхансер транскрипции гена *OCA2*, участвующего в регуляции синтеза меланина. Экспрессия *OCA2* снижена у светлоглазых индивидов, несущих аллель rs12913832:G в сравнении с темноглазыми с аллелем rs12913832:A. Кроме того, было высказано предположение о том, что несинонимичная мутация в *OCA2* – rs1800407:A ассоциирована со сниженным уровнем пигментации радужки, если находится в цис-фазе с rs12913832:A [9].

Сведения о генетических детерминантах цветовой вариации глаз человека раскрыли дополнительные возможности для их использования в криминалистике [10]. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение прогностической способности rs12913832 и rs1800407, локализованных в генах *HERC2* и *OCA2*, для предсказания цветовой вариации радужки глаз в белорусской популяции.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили на выборке добровольцев, включающей 314 индивидов белорусской популяции. Все участники подписали информированное согласие, каждому был присвоен номер и далее их данные и биологический материал использовались как анонимные.

Для каждого участника были получены цифровые изображения радужки глаз. Фотофиксация выполнялась на расстоянии 10–15 см на цифровую фотокамеру Canon 750d, укомплектованную объективом для макросъемки (1 : 2,8), в режиме экспозиции: светочувствительность (ISO) – 100, диафрагма – F11, выдержка 1/125 с, и кольцевой вспышкой (YN14EX, 1/8 с). Получаемые изображения сохранялись в форматах raw и jpeg в разрешении 5184 × 3456 пикселей.

Первичная обработка изображений проводилась в программе Adobe Photoshop CC, далее – с использованием программного пакета Matlab 7.6.0 (The MathWorks, Inc., Natick, MA). Исходное изображение в цветовой модели RGB было переведено в формат HSV (H – оттенок, S – насыщенность, V – яркость). Данная цветовая модель является наиболее адекватной для исследований

цветовой вариации, так как значения H и S не зависят от яркости, отражают тип и количество пигментов радужной оболочки и могут быть напрямую переведены в истинные цвета. Параметр V был исключен из анализа, поскольку он чувствителен к условиям освещения при фотосъемке.

На основе субъективной оценки коллекции изображений радужки были подобраны эталоны вариативности, соответствующие непигментированным и пигментированным (феомеланин и эумеланин) областям радужки. Эти эталоны были встроены в приложение Color Thresholder программного пакета MatLab, что позволило в автоматическом режиме произвести вычисления содержания и соотношения пигментированных и непигментированных участков отдельных изображений и соотнести фенотипические группы.

ДНК из крови и Buccal epithelium выделяли с использованием коммерческих наборов Nucleospin®Blood и Nucleospin®DNA Forensic производства Macherey-Nagel (Германия).

Генотипирование было выполнено на основе TaqMan RT PCR. Для подбора маркеров и зондов использовали сведения из общедоступной базы данных dbSNP Short Genetic Variation (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>). Дизайн праймеров выполняли с использованием программы Gene Runner 6.5.51. Температуру плавления, наличие внутри- и межмолекулярных шпилек и вторичную структуру созданных олигонуклеотидов (табл. 1) проверяли в приложении PrimerQuest (<https://eu.idtdna.com/PrimerQuest/Home/Index>). Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей выполнен при помощи Z -статистики.

Т а б л и ц а 1. Характеристика праймеров и зондов, использованных для TaqMan анализа полиморфизма в rs12913832 и rs1800407

Table 1. Characterization of primers and probes for TaqMan assay of rs12913832 and rs1800407 polymorphisms

Ген Gene	Код Name	SNP/аллель SNP/allele	Последовательность олигонуклеотида, 5'→3' Sequences, 5'→3'	$T_{\text{пл}}, ^\circ\text{C}$ $T_{\text{ан}}, ^\circ\text{C}$	GC, %
HERC2	3832F	rs12913832	AGGCCAGTTTCATTTGAG	61,2	44,4
	3832R		ACGACAAGTAGACCATTT	59,9	38,9
	3832P1	rs12913832:G	AATGTCAAAGTTCTGCACG	61,8	44,4
	3832P2	rs12913832:A	AGTGTCAAAGTTCTGCACG	63,3	50,0
OCA2	F-163	rs1800407	TGTTAGTTTGGCTCCCTGTTCT	65,5	45,5
	R-163		CGCGATGAGACAGAGCATGA	65,6	55,0
	P-A	rs1800407:A	TACCGGCTCTCCCAGGGACG	70,3	70,0
	P-G	rs1800407:G	ATACCGGCTCTCCCAGGGAC	70,6	70,0

Анализ связи между SNP полиморфизмом и цветовыми вариантами глаз, определяемыми как непигментированные (голубые, серые) и пигментированные (смешанные, карие), проводили на основе бинарной логистической регрессии. Интерпретацию результатов осуществляли с использованием логарифма отношения шансов OR (Odds Ratio) с 95 %-ным доверительным интервалом.

Результаты и их обсуждение. *Характеристика экспериментальной выборки.* В исследовании принимали участие 314 добровольцев в возрасте от 17 до 80 лет ($x_{\text{cp}} = 29,6$ лет), всего 76 мужчин (24,2 %) и 238 женщин (75,8 %). По фенотипам индивиды распределялись следующим образом: 53,3 % с серыми и голубыми радужками глаз, 22,5 % – с промежуточными вариантами (зеленые, ореховые, смешанные) и 24,2 % – кареглазые. Таким образом, выборка преимущественно представлена светлыми (голубые, серые, смешанные) вариантами радужки глаз, что соответствует данным антропологических исследований белорусской популяции [11], согласно которым общей чертой белорусов является светлая пигментация глаз и волос.

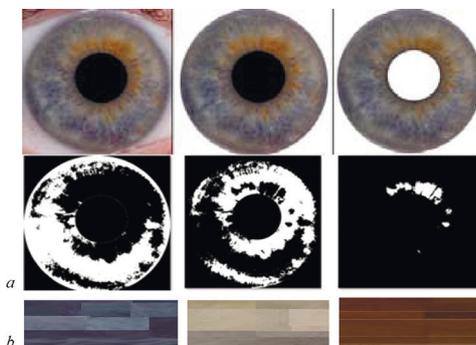
Оценка цветовой вариации радужки глаз. Цвет радужки глаз характеризуется непрерывной цветовой вариацией, что осложняет классификацию для научных целей. Чем больше цветковых категорий в шкале, тем сложнее ее использовать и тем более субъективной становится оценка вариантов. С другой стороны, если шкала имеет только 2–3 цветковые категории, классификация неточно отражает различия в деталях между индивидами.

Одной из сложностей при изучении взаимосвязи полиморфизмов с цветом радужной оболочки глаз является объективная оценка цвета. Если опираться на анкетные данные и принять за основу субъективную шкалу описания цвета участниками эксперимента, то наблюдается рост числа ошибок классификации для выстраиваемых математических моделей определения вероятности принадлежности к определенному фенотипу. Стремление к корректному описанию цвета приводит к необходимости получения качественных изображений в высоком разрешении и переходу к количественной шкале выражения цвета, обеспечивающей меньшее число ошибок классификации. Поскольку цвет задается трехмерно, можно получить три количественные шкалы описания цвета. Мы в своей работе анализировали изображения радужных оболочек глаз в цветовой модели HSV.

Для оценки цветовой вариации с высоким уровнем корректности обработки проводили сегментацию изображений в программе Adobe Photoshop CC, в результате которой изображения радужки были отделены от зрачка, склеры и участков век (рисунок, *a*). Каждое изображение радужки включало в среднем около $1,5 \pm 0,2$ млн пикселей. Чтобы уменьшить объем данных, описывающих одну радужную оболочку, все пиксели были сгруппированы в три основных массива (сегмента): непигментированную область, феомеланин, эумеланин. Группировка осуществлялась по координатам в канале тон (H) и насыщенность (S). Из собранного набора изображений радужки белорусской популяции были отобраны наиболее характерные для непигментированных и пигментированных зон варианты и на их основе созданы эталонные образцы (рисунок, *b*). Формируемая маска каждого эталона использовалась для анализа всех 314 изображений.

Соотношение долей сегментов было положено в основу дифференциации на фенотипические классы. Итоговая классификация включала две группы фенотипов: пигментированные (темные, в т. ч. смешанные с высоким содержанием пигментов) и непигментированные (светлые, в т. ч. смешанные с низким содержанием пигментов). Пороговое значение классификации цветовых вариантов радужки определяли на основе анализа ROC-кривых. Исходя из расчетных значений ($AUC = 0,92$), наиболее подходящими классификаторами оказались: (1) сумма непигментированных участков радужки и феомеланина и (2) эумеланин. В научной литературе величина $AUC > 0,8$ рассматривается как показатель эффективной классификации [12]. К светлому типу относили варианты радужки, у которых доля непигментированной зоны и феомеланина превышала 81,9 %, соответственно остальные варианты считали темными.

Исследование полиморфизма rs12913832 и rs1800407, ассоциативный анализ их связи с цветовой вариацией радужки. Генетическое типирование образцов экспериментальной коллекции показало, что наиболее распространенными в выборке являются аллели rs12913832:G и rs1800407:G, их частоты встречаемости составили 82 и 97 % соответственно. Гетерозиготное носительство rs1800407:GA было отмечено у 6,4 % образцов, для rs12913832:GA – у 36,3 %, тогда как гомозиготы AA по обоим SNP в выборке представлены не были. Эти результаты характеризуют высокое сходство белорусов с польской и скандинавской популяциями и значительное расхождение с представителями юго-западной части континента (табл. 2).



Сегментация изображений радужки глаз и эталоны вариативности: *a* – сегментация радужки; *b* – эталоны зон вариативности (слева направо): непигментированная, феомеланин, эумеланин

Iris images segmentation and color references: *a* – iris segmentation; *b* – references (left to right): non-pigmented, pheomelanin, eumelanin

Т а б л и ц а 2. Частоты встречаемости аллелей rs1800407 и rs12913832 в белорусской и других [13] европейских популяциях

Table 2. Allele frequencies of rs1800407 and rs12913832 in Belarusian and other [13] European populations

Аллель Allele	Польша* (n = 998) Poland* (n = 998)	Скандинавские страны (n = 562) Scandinavians (n = 562)	Италия (n = 217) Italy (n = 217)	Португалия (n = 263) Portugal (n = 263)	Беларусь (n = 314) Belarus (n = 314)
rs12913832					
G	0,82	0,87	0,31	0,37	0,82
A	0,18	0,13	0,69	0,63	0,18
<i>P</i> _{value} **	>0,05	<0,005	<0,00001	<0,00001	
rs1800407					
G	0,94	0,95	0,09	0,93	0,97
A	0,06	0,05	0,91	0,07	0,03
<i>P</i> _{value} **	<0,003	>0,05	<0,00001	<0,001	

Пр и м е ч а н и я: * – неопубликованные данные Pośpiech и соавт., 2020; ** – различия с белорусской популяцией.
N o t e s: * – Pośpiech et al., 2020 [submitted]; ** – differences between Belarusian and other population.

Анализ частоты встречаемости аллельных сочетаний rs12913832 и rs1800407 показал, что наиболее распространенным в экспериментальной выборке является сочетание G-аллелей (0,807), наименее – A-аллелей (0,022).

Для изучения сопряженности между аллельными вариантами генов *HERC2* и *OCA2* и фенотипами использовали бинарную логистическую регрессию. Результаты нашего исследования показали, что наиболее значимый эффект на цветовую вариацию радужки оказывает rs12913832:A>G, локализованный в гене *HERC2*: получено 90,2 % корректных предсказаний для темных вариантов и 93,6 % – для светлых вариантов радужки, тогда как некорректные составили 9,8 и 6,4 % соответственно (табл. 3). Значимость rs12913832 также подтверждает высокий показатель отношения шансов (OR = 133,5). Наличие аденина (A) в позиции rs12913832 (генотипы AA; AG) обуславливает темную пигментацию, тогда как гомозиготы GG демонстрируют светлые варианты (серый, голубой) радужки. При гетерозиготном состоянии аллелей наблюдается разнообразие промежуточных цветовых вариантов. Границы между группами размыты, что представляет сложности для генетического фенотипирования промежуточных цветовых вариантов.

Т а б л и ц а 3. Частоты встречаемости аллельных вариантов в фенотипических группах и показатели отношения шансов

Table 3. Allele frequencies among phenotyping groups and its odds ratio (OR)

Генотип Genotype	Светлая радужка Light iris	Темная радужка Dark iris	OR (95 % CI)	P-value
rs12913832				
G/G	189 (93,6 %)	11 (9,8 %)	133,49 (57,72–308,75)	<0,0001
A/G	13 (6,4 %)	101 (90,2 %)		
rs1800407				
G/G	197 (98 %)	97 (85,8 %)	8,12 (2,64–24,96)	<0,0001
G/A	4 (2 %)	16 (14,2 %)		

Согласно опубликованным данным взаимодействие rs1800407, локализованного в 13 экзоне гена *OCA2*, и rs12913832 повышает пенетрантность голубого цвета глаз [14]. В нашем исследовании светлый тип радужки чаще встречался у носителей rs1800407-G, что может быть связано со смещением частот в сторону G-аллелей в белорусской популяции. Меры центральной тенденции цветовой вариации трех генотипических групп rs1800407 (GG, AG, AA) также близки, что не позволяет определить эффект аллелей на фенотип. Следует отметить, что большинство светлоглазых фенотипов с различными аллельными вариантами rs1800407 являются также и носите-

лями аллеля rs12913832-G, который по опубликованным данным снижает экспрессию гена *OCA2* [15], а следовательно, обуславливает эффект осветления.

Влияние rs1800407 на цветовую вариацию значимо ($OR = 8,12$). Доля корректных предсказаний достигает 98 % для светлого и 85,8 % для темного типа радужки, некорректных – 2 и 14,2 % соответственно (табл. 3).

Анализ прогностической эффективности rs12913832 и rs1800407 для генетического фенотипирования. Одной из основных проблем любой прогностической (диагностической) модели является наличие ложноположительных и ложноотрицательных результатов, вероятность которых мы не можем исключить при генетических исследованиях, особенно когда речь идет о полигенных признаках. Обосновать эффективность модели и оценить вероятность «ложного срабатывания» позволяют такие статистические показатели, как чувствительность (SE) и специфичность (SP) [16], которые отражают долю правильно идентифицированных результатов для каждой фенотипической группы. При этом вероятность ошибочных идентификаций, связанных с некорректной классификацией, можно использовать для оценки позитивной (PPV) и негативной (NPV) прогностической ценности маркеров (модели) и, далее, для расчета вероятности (RR) отнесения к определенной фенотипической группе. Итоговыми показателями эффективности классификации и прогностической ценности модели будут служить значения AUC и отношение шансов (OR).

В нашем исследовании наиболее высокие значения чувствительности ($SE = 0,94$) и специфичности ($SP = 0,90$) были получены для rs12913832, подтвердив высокую эффективность данного маркера для использования в качестве классификатора и диагноста. Показатели позитивной (PPV) и негативной (NPV) прогностической ценности свидетельствуют о низкой (5 и 11 % соответственно) вероятности ошибок. Корректность классификации, основанная на генетических данных, по данным ROC-анализа высокая ($AUC = 0,92$), как и эффективность маркера для дифференциации фенотипических групп, о чем свидетельствуют показатели OR и RR (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Характеристика прогностической ценности rs12913832 и rs1800407 для определения цветовой вариации (светлая/темная) радужки

Table 4. Prognostic value of rs12913832 and rs1800407 for iris color binary classification

Показатель Characters	Классификатор Classifier		
	rs1800407	rs12913832	rs1800407 + rs12913832
Чувствительность (SE)	0,98	0,94	0,94
Специфичность (SP)	0,14	0,90	0,89
Позитивная прогностическая ценность (PPV)	0,67	0,95	0,94
Негативная прогностическая ценность (NPV)	0,80	0,89	0,89
Отношение шансов (OR)	8,12	133,49	136,03
Относительный риск (RR)	3,35	8,22	8,55
AUC	0,56	0,92	0,92

Прогностическая ценность rs1800407 для генетического фенотипирования высокозначима ($SE = 0,98$), но характеризуется низким значением специфичности ($SP = 0,14$), что свидетельствует о высокой частоте ложноположительных результатов. Классификация фенотипов, основанная на типировании аллельных вариантов rs1800407, характеризуется низким значением AUC (0,56), вместе с тем показатели OR и RR достаточно высоки. Следовательно, данный маркер, не являясь эффективным классификатором, может использоваться как вспомогательный инструмент для генетического фенотипирования.

Исследование совокупного вклада анализируемых SNP показал некоторое увеличение прогностической ценности модели *HERC2–OCA2* ($OR = 136,03$; $RR = 8,55$) при незначительных сдви-

гах в показателях чувствительности и специфичности. Эти результаты согласуются с данными Pospiech и соавт. (2014) [15], в которых показано, что эпистатическое взаимодействие rs1800407:G>A и rs12913832:A>G увеличивает прогностическую точность модели *HERC2–OCA2*.

Заключение. Наши данные подтверждают значительный вклад rs12913832, локализованного в гене *HERC2*, в цветовую вариацию радужки глаз. Наличие предкового доминантного аллеля rs1291383:A обуславливает темную пигментацию, однако гетерозиготное носительство rs12913832:GA включает значительный спектр смешанных вариантов, от зеленых, зелено-ореховых до темно-ореховых. Особенности пигментации глаз также связаны с полиморфизмом rs1800407 гена *OCA2*, который в совокупности с rs12913832 позволяет выполнять бинарную дифференциацию генотипов на фенотипические группы «светлый/темный» (AUC = 0,92). Отдельный интерес представляет изучение влияния rs12913832 на экспрессию *OCA2*, которое очевидно имеет место, а также эффекты взаимодействия с другими SNP, на существование которых указывают отклонения от ожидаемого в фенотипах гомозигот. Размытые границы между фенотипическими группами и полигенная природа признака «цвет глаз» не позволяют проводить дифференциацию фенотипов на большее число фенотипических классов. Расширение выборки исследования и анализ вклада дополнительных SNP, ассоциированных с особенностями пигментации, может повысить прогностический потенциал ДНК-фенотипирования для целей криминалистики.

Полученные результаты представляют интерес для популяционных исследований, так как свидетельствуют о высоком сходстве белорусской популяции с поляками и представителями скандинавских стран, среди которых показатели частот встречаемости исследуемых аллелей генов *HERC2* и *OCA2* не выявили значимых различий.

Благодарности. Исследования выполнены в рамках Мероприятия 1 программы Союзного Государства «ДНК-идентификация».

Acknowledgements. The research is made within the framework of the Union State Program “DNA Identification”.

Список использованных источников

1. Sturm, R. A. Genetics of human iris colour and patterns / R. A. Sturm, M. Larsson // *Pigment Cell and Melanoma Research*. – 2009. – Vol. 22, N 5. – P. 544–562. <https://doi.org/10.1111/j.1755-148x.2009.00606.x>
2. Cellular mechanisms regulating human melanogenesis / H. Y. Park [et al.] // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2009. – Vol. 66, N 9. – P. 1493–1506. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8703-8>
3. Novel quantitative pigmentation phenotyping enhances genetic association, epistasis, and prediction of human eye color / A. Wollstein [et al.] // *Scientific Report*. – 2017. – Vol. 7, N 1. – Art. e43359. <https://doi.org/10.1038/srep43359>
4. Parra, E. J. Human pigmentation variation: evolution, genetic basis, and implications for public health / E. J. Parra // *American Journal of Physical Anthropology*. – 2007. – Vol. 134, N S45. – P. 85–105. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20727>
5. A genome-wide association study identifies novel alleles associated with hair color and skin pigmentation / J. Han [et al.] // *PLoS Genetics*. – 2008. – Vol. 4, N 5. – Art. e1000074. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000074>
6. Eye color and the prediction of complex phenotypes from genotypes / F. Liu [et al.] // *Current Biology*. – 2009. – Vol. 19, N 5. – P. R192–R193. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.01.027>
7. A three-single-nucleotide polymorphism haplotype in intron 1 of *OCA2* explains most human eye-color variation / D. L. Duffy [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 2007. – Vol. 80, N 2. – P. 241–252. <https://doi.org/10.1086/510885>
8. *P* gene mutations associated with oculocutaneous albinism type II (*OCA2*) / W. S. Oetting [et al.] // *Human Mutation*. – 2005. – Vol. 25, N 3. – P. 323. <https://doi.org/10.1002/humu.9318>
9. Genetic analyses of the human eye colours using a novel objective method for eye colour classification / J. D. Andersen [et al.] // *Forensic Science International: Genetics*. – 2013. – Vol. 7, N 5. – P. 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.05.003>
10. Kayser, M. DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations / M. Kayser, P. M. Schneider // *Forensic Science International: Genetics*. – 2009. – Vol. 3, N 3. – P. 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.01.012>
11. Шарухо, И. Н. Белорусы в антропологическом и этническом пространстве / И. Н. Шарухо // *Псковский региональный журнал*. – 2008. – № 6. – С. 142–152.
12. Ferri, C. Volume under the ROC surface for multi-class problems / C. Ferri, J. Hernández-Orallo, M. A. Salido // *Machine Learning: ECML 2003. ECML 2003. Lecture Notes in Computer Science* / eds. N. Lavrač [et al.]. – Berlin, 2003. – Vol. 2837. – P. 108–120. https://doi.org/10.1007/978-3-540-39857-8_12
13. Importance of nonsynonymous *OCA2* variants in human eye color prediction / J. D. Andersen [et al.] // *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. – 2016. – Vol. 4, N 4. – P. 420–430. <https://doi.org/10.1002/mgg3.213>

14. A single SNP in an evolutionary conserved region within intron 86 of the HERC2 gene determines human blue-brown eye color / R. A. Sturm [et al.] // *American Journal of Human Genetics*. – 2008. – Vol. 82, N 2. – P. 424–431. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.11.005>

15. The common occurrence of epistasis in the determination of human pigmentation and its impact on DNA-based pigmentation phenotype prediction / E. Pośpiech [et al.] // *Forensic Science International: Genetics*. – 2014. – Vol. 11. – P. 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.01.012>

16. Trevethan, R. Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: Foundations, Pliabilities, and Pitfalls in Research and Practice / R. Trevethan // *Frontiers Public Health*. – 2017. – Vol. 5. – Art. 307. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00307>

References

1. Sturm R. A., Larsson M. Genetics of human iris colour and patterns. *Pigment Cell and Melanoma Research*, 2009, vol. 22, no. 5, pp. 544–562. <https://doi.org/10.1111/j.1755-148x.2009.00606.x>

2. Park H. Y., Kosmadaki M., Yaar M., Gilchrist B. A. Cellular mechanisms regulating human melanogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2009, vol. 66, no. 9, pp. 1493–1506. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-8703-8>

3. Wollstein A., Walsh S., Liu F., Chakravarthy U., Rahu M., Seland J. H., Soubrane G., Tomazzoli L., Topouzis F., Vingerling J. R., Vioque J., Böhringer S., Fletcher A. E., Kayser M. Novel quantitative pigmentation phenotyping enhances genetic association, epistasis, and prediction of human eye color. *Scientific Report*, 2017, vol. 7, no. 1, art. e43359. <https://doi.org/10.1038/srep43359>

4. Parra E. J. Human pigmentation variation: evolution, genetic basis, and implications for public health. *American Journal of Physical Anthropology*, 2007, vol. 134, no. S45, pp. 85–105. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20727>

5. Han J., Kraft P., Nan H., Guo Q., Chen C., Qureshi A., Hankinson S. E., Hu F. B., Duffy D. L., Zhao Zh., Martin N. G., Montgomery G. W., Hayward N. K., Thomas G., Hoover R. N., Chanock S., Hunter D. J. A genome-wide association study identifies novel alleles associated with hair color and skin pigmentation. *PLoS Genetics*, 2008, vol. 4, no. 5, art. e1000074. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000074>

6. Liu F., van Duijn K., Vingerling J. R., Hofman A., Uitterlinden A. G., Janssens A. C. J. W., Kayser M. Eye color and the prediction of complex phenotypes from genotypes. *Current Biology*, 2009, vol. 19, no. 5, pp. R192–R193. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.01.027>

7. Duffy D. L., Montgomery G. W., Chen W., Zhao Z. Z., Le L., James M. R., Hayward N. K., Martin N. G., Sturm R. A. A three-single-nucleotide polymorphism haplotype in intron 1 of OCA2 explains most human eye-color variation. *American Journal of Human Genetics*, 2007, vol. 80, no. 2, pp. 241–252. <https://doi.org/10.1086/510885>

8. Oetting W. S., Garrett S. S., Brott M., King R. A. P gene mutations associated with oculocutaneous albinism type II (OCA2). *Human Mutation*, 2005, vol. 25, no. 3, pp. 323. <https://doi.org/10.1002/humu.9318>

9. Andersen J. D., Johansen P., Harder S., Christoffersen S. R., Delgado M. C., Henriksen S. T., Nielsen M. M., Sørensen E., Ullum H., Hansen T., Dahl A. L., Paulsen R. R., Børsting C., Morling N. Genetic analyses of the human eye colours using a novel objective method for eye colour classification. *Forensic Science International: Genetics*, 2013, vol. 7, no. 5, pp. 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.05.003>

10. Kayser M., Schneider P. M. DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations. *Forensic Science International: Genetics*, 2009, vol. 3, no. 3, pp. 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2009.01.012>

11. Sharukho I. N. Belarusians in anthropological and ethnic space. *Pskovskii regionologicheskii zhurnal = Pskov Journal of Regional Studies*, 2008, no. 6, pp. 142–152 (in Russian).

12. Ferri C., Hernández-Orallo J., Salido M. A. Volume under the ROC surface for multi-class problems. Lavrač N., Gamberger D., Blockeel H., Todorovski L, eds. *Machine Learning: ECML 2003. Lecture Notes in Computer Science*. Berlin, 2003, vol. 2837, pp. 108–120. https://doi.org/10.1007/978-3-540-39857-8_12

13. Andersen J. D., Pietroni C., Johansen P., Andersen M. M., Pereira V., Børsting C., Morling N. Importance of nonsynonymous OCA2 variants in human eye color prediction. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 2016, vol. 4, no. 4, pp. 420–430. <https://doi.org/10.1002/mgg3.213>

14. Sturm R. A., Duffy D. L., Zhao Z. Z., Leite F. P. N., Stark M. S., Hayward N. K., Martin N. G., Montgomery G. W. A single SNP in an evolutionary conserved region within intron 86 of the HERC2 gene determines human blue-brown eye color. *American Journal of Human Genetics*, 2008, vol. 82, no. 2, pp. 424–431. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.11.005>

15. Pośpiech E., Wojas-Pelc A., Walsh S., Liu F., Maeda H., Ishikawa T., Skowron M., Kayser M., Branicki W. The common occurrence of epistasis in the determination of human pigmentation and its impact on DNA-based pigmentation phenotype prediction. *Forensic Science International: Genetics*, 2014, vol. 11, pp. 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.01.012>

16. Trevethan R. Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: Foundations, Pliabilities, and Pitfalls in Research and Practice. *Frontiers Public Health*, 2017, vol. 5, art. 307. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00307>

Информация об авторах

Шаптуренко Марина Николаевна – д-р биол. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: marinashapturenko@gmail.com.

Кондратюк Александр Владимирович – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: aliaks.k@mail.ru.

Вакула Светлана Ивановна – ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: svettera@yandex.ru.

Середенко (Шинкевич) Марина Владимировна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.shinkevich@igc.by.

Гудиевская Ирена Геннадьевна – аспирант. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: gudievskayairena@icloud.com.

Боровко Сергей Родионович – начальник управления. Комитет судебных экспертиз Республики Беларусь (ул. Володарского, 2а, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: s_borovko@mail.ru.

Марченко Людмила Николаевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: liudmila.marchenko@gmail.com.

Далидович Анастасия Александровна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: adalidovitch@gmail.com.

Скрыпник Ольга Владиславовна – аспирант. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: olgaskrypnik1986@gmail.com.

Кильчевский Александр Владимирович – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

Information about the authors

Shapturenko Marina N. – D. Sc. (Biology), Assistant professor, Chief researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: marinashapturenko@gmail.com.

Kondratsiuk Aleksandr V. – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aliaks.k@mail.ru.

Vakula Svetlana I. – Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: svettera@yandex.ru.

Seredenko (Shinkevich) Marina V. – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.shinkevich@igc.by.

Gudievskaya Irena G. – Postgraduate student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gudievskayairena@icloud.com.

Borovko Sergey R. – Head of the Department. State Forensic Examination Committee of the Republic of Belarus (2a, Volodarskii Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: s_borovko@mail.ru.

Marchenko Liudmila N. – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: liudmila.marchenko@gmail.com.

Dalidovitch Anastasia A. – Ph. D. (Medicine), Assistant professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: adalidovitch@gmail.com.

Skrypnik Olga V. – Postgraduate student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olgaskrypnik1986@gmail.com.

Kilchevsky Alexander V. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.