



МИКРОДИПЛОТИПЫ КАК НОВЫЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛИЧНОСТИ

¹Чемерис Д.А., ²Гарафутдинов Р.Р., ³Сагитов А.М., ⁴Сагитова М.А., ⁵Михайленко К.И.,
⁶Зубов В.В., ⁷Василов Р.Г., ⁸Сломинский П.А., ⁹Анисимов В.А., ²Хуснутдинова Э.К.,
^{10,11}Алексеев Я.И., ¹¹Курочкин В.Е., ¹¹Лавров Г.С., ¹²Воробьев А.А., ⁹Аминев Ф.Г., ²Чемерис А.В.

- ¹ООО «Биоген-Аналитика», Россия, 127422, Москва, Тимирязевская ул., 1, стр.2., E-mail: chemeris@gmail.com
²Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября 71
³ООО Рост-Консалт, Россия, 450000, Уфа, ул. Крупской, 9
⁴Московский физико-технический институт, Россия, 141701, г. Долгопрудный, Институтский пер., 9
⁵Институт механики Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, пр. Октября, 71
⁶Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук,
Россия, Пушино, 142290, Институтская ул., 3
⁷НИЦ «Курчатовский институт», Россия, 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1
⁸Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 2
⁹Башкирский государственный университет, Россия, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32
¹⁰ООО «Синтол», Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42
¹¹Институт аналитического приборостроения Российской академии наук,
Россия, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, д. 31/33
¹²Научно-исследовательский центр Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный
научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации,
Россия, 610017, г. Киров, Октябрьский проспект, 119

Резюме

Микрогаплотипы, несущие некоторое количество однонуклеотидных замен, являются новым типом маркеров в криминалистических исследованиях для ДНК-идентификации личности, требующие при этом сопоставления данных по обоим парным хромосомам, что правильнее считать микродиплотипным анализом. При этом однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) наиболее часто встречается в геномах людей. Основным методом выявления ОНП в микрогаплотипах (микродиплотипах) является массовое параллельное секвенирование. По сравнению с отдельными ОНП продемонстрирована их более высокая дискриминирующая способность в составе микрогаплотипов с учетом их *цис/транс*положений для семейного и предкового анализов, а также при анализе смешанных биологических образцов, что крайне востребовано в ДНК-идентификации личности. Показана эволюция используемых в ДНК-идентификации личности микрогаплотипов в виде уменьшения их размеров с одновременным увеличением количества ОНП в них. Приведен ряд подобранных микрогаплотипов, включающих как би-, так и три- и тетрааллельные ОНП, фланкированные участками генома, в которых пока не выявлены полиморфные нуклеотиды и которые могут служить местами отжига праймеров.

Ключевые слова: ДНК, однонуклеотидный полиморфизм, ОНП, микрогаплотипы, фазированные ОНП, *цис/транс*положения ОНП, микродиплотипы, ДНК-криминалистика, ДНК-идентификация личности, массовое параллельное секвенирование

Цитирование: Чемерис Д.А., Гарафутдинов Р.Р., Сагитов А.М., Сагитова М.А., Михайленко К.И., Зубов В.В., Василов Р.Г., Сломинский П.А., Анисимов В.А., Хуснутдинова Э.К., Алексеев Я.И., Курочкин В.Е.,

Лавров Г.С., Воробьев А.А., Аминев Ф.Г., Чемерис А.В. Микродиплотипы как новые маркеры для ДНК-идентификации личности // Биомика. 2020. Т.12(2). С. 300-317. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-17

© Авторы

MICRODIPTYPES AS A NEW MARKERS FOR DNA IDENTIFICATION

¹Chemeris D.A., ²Garafutdinov R.R., ³Sagitov A.M., ⁴Sagitova M.A., ⁵Mikhailenko K.I.,
⁶Zubov V.V., ⁷Vasilov R.G., ⁸Slominsky P.A., ⁹Anisimov V.A., ²Khusnutdinova E.K.,
^{10,11}Alekseev Ya.I., ¹¹Kurochkin V.E., ¹¹Lavrov G.S., ¹²Vorobev A.A., ⁹Aminev F.G., ²Chemeris A.V.

¹Biogen-Analytica LLC, 1 Timiryazevskaya str. (bldg. 2), 127550, Moscow, Russia, E-mail: chemeris@gmail.com

²Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences,
71 Pr. Oktyabrya, 450054, Ufa, Russia

³Rost-Consult Ltd, 9 Krupskaya str. 450000, Ufa, Russia

⁴The Moscow Institute of Physics and Technology, 9 Institutskiy per., Dolgoprudny, Moscow Region, 141701, Russia

⁵Institute of Mechanics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences,
71 Prospekt Oktyabrya, 450054, Ufa, Russia

⁶Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, 3 Institutskaya str., Puschino, 142290, Russia

⁷National Research Center «Kurchatov Institute», Kurchatov Square 1, Moscow 123182, Russia

⁸Institute of Molecular Genetics of the Russian Academy of Sciences, Kurchatov Square 2, Moscow 123182, Russia

⁹Bashkir State University, 32 Zaki Validi str., 450076, Ufa, Russia

¹⁰Syntol Ltd, 42 Timiryazevskaya str., 127550, Moscow, Russia

¹¹Institute for Analytical Instrumentation RAS, 31/33 Ivana Chernyh str., 198095, St. Petersburg, Russia

¹²Research Center of the Federal State Budgetary Institution "48 Central Research Institute" of the Ministry of Defense
of the Russian Federation, 119 Oktyabr'skiy prospekt, 610017, Kirov, Russia

Resume

Microhaplotypes that carry a certain number of SNPs (Single-Nucleotide Polymorphism) are a new type of markers in forensic research for DNA identification of individuals, requiring comparison of data on both paired chromosomes, which is more correctly considered as a microdiplotype analysis. The main method of identifying SNPs in microhaplotypes (microdiplotypes) is massively parallel sequencing. In comparison with individual SNP, a higher discriminating ability of SNPs within microhaplotypes considering their *cis/trans* relationships has been demonstrated, for family and ancestral analyses, as well as for the analysis of mixed biological samples, which is highly demanded in DNA forensics. The evolution of microhaplotypes used in DNA forensics is shown in the form of a decrease in their size with a simultaneous increase in the number of SNPs in them. Several selected microhaplotypes are presented, including both bi-, and tri- and tetraallelic SNPs flanked by genome nucleotide sequences in which polymorphic nucleotides have not yet been identified and which can serve as places for annealing primers.

Keywords: DNA, single-nucleotide polymorphism, SNP, microhaplotypes, phased SNPs, *cis/trans* relationships of SNPs, microdiplotypes, DNA forensics, DNA identification, massively parallel sequencing, MPS

Citation: Chemeris D.A., Garafutdinov R.R., Sagitov A.M., Sagitova M.A., Mikhailenko K.I., Zubov V.V., Vasilov R.G., Slominsky P.A., Anisimov V.A., Khusnutdinova E.K., Alekseev Ya.I., Kurochkin V.A., Lavrov G.S., Vorobev A.A., Aminev F.G., Chemeris A.V. Microdiplotypes as a new markers for DNA identification. *Biomics*. 2020. V. 12(2). P. 300-317. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs. 2020-17 (In Russian)

© The Authors

Введение

Одним из крайне важных направлений использования информации о геноме человека является ДНК-криминалистика, насчитывающая уже более трех десятков лет и за это время заметно

эволюционировавшая в плане применения для этих целей разных типов полиморфизмов и методов их детекции, довольно подробно рассмотренных нами некоторое время назад [Чемерис и др. (Chemeris et al.), 2018; Анисимов и др. (Anisimov et al.), 2019]. Однако

считаем важным обратить дополнительное внимание на несущие множественные фазированные однонуклеотидные замены или однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) микрогаплотипы, претендующие на новое поколение маркерных признаков в виде микродиплотипов для ДНК-идентификации личности и анализа биологических следов с мест преступлений, в качестве которых сейчас используются STR-локусы, характеризующиеся массой недостатков, в том числе относительно неожиданно проявившихся в полной мере только в последнее время, среди которых их изоаллельные состояния, выражающиеся в одинаковом числе коровых повторов, имеющих при этом отличия в нуклеотидных последовательностях. Основным методом выявления полиморфизма STR-локусов является капиллярный гель-электрофорез, но ему на смену во всем мире приходит массовое параллельное секвенирование новых поколений, которое, вне всякого сомнения, через несколько лет полностью вытеснит как прежний подход для детекции STR-локусов, так и сами эти локусы может перевести в разряд дополнительных. О возможной замене STR-полиморфизма для ДНК-идентификации личности или серьезной конкуренции ему со стороны микрогаплотипов, основным методом выявления которых сейчас с учетом их *цис/транс*положений служит массовое параллельное секвенирование, говорится во многих публикациях последних лет [Kidd et al., 2014; van der Gaag et al., 2018; Oldoni et al., 2019; de la Puente et al., 2020].

Прежде чем приступить к изложению основного материала, необходимо уделить некоторое внимание используемой, в том числе впервые генетической терминологии. Так, в англоязычной литературе однонуклеотидный полиморфизм (Single-Nucleotide Polymorphism) принято приводить в сокращенном виде как SNP (произносимый как «снип») или иногда во множественном числе как SNPs. В отечественной литературе, наряду с его английским написанием – SNP, применяется также аббревиатура «ОНП» - ОдноНуклеотидный Полиморфизм или калька с английского - «снип». При этом наиболее часто употребляемым в русскоязычных публикациях является первый вариант - SNP. В этой статье мы решили преимущественно использовать термин ОНП, но при этом хотим заметить, что в данном контексте под ним нужно понимать не просто полиморфное состояние ДНК, в том числе с уточнением, что под ним подразумеваются замены единичных нуклеотидов, а некое место в геноме, в котором находится варибельный для многих людей тот или иной нуклеотид. При этом, конечно же, не сам такой нуклеотид в ОНП указывает на его место в гаплоидном геноме, а это делают фланкирующие его нуклеотидные последовательности, позволяющие

идентифицировать локализацию конкретного снипа. Например, в базе данных dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), триаллельный ОНП (class=1) под номером rs12345 сопровождается следующей информацией (приведенной здесь вкратце) - CTCCCCTCCCCTCTGGCCCTGCAGGTGGGTTGGCTA CTAGTACCCTGGCTACCGTGGGCTGCAGTACCTGC TGGAGAAGGGAGACTACAAGGACAGCAGC[G/A/C] ACTTTGGGGCCCCGTCACCCTCAGGTACAGTCCGTG CGCTGCATCCACGACATGCAGGGGCACCAATGTGG TGCCTTCCACCCCTCCAAGTAGTGCCACC, где с 5'- и 3'-сторон от полиморфного нуклеотида, показанного в его трех вариантах в квадратных скобках и выделенного цветом (как в самой dbSNP), приведены по 100 фланкирующих нуклеотидов. Но как будет видно из дальнейшего изложения, такие фланкирующие нуклеотиды в большинстве случаев сами во множестве несут другие варибельные нуклеотиды или SNPs, как раз формирующие гаплотипы, или точнее микрогаплотипы.

Термин «гаплотип» (haplotype (haploid genotype) был предложен в июне 1967 года внесшим заметный вклад в иммуногенетику и в исследование HLA-локусов известным итальянским генетиком Р.Чеппеллини, когда он председательствовал на проходившем в Турине (Италия) третьем Международном семинаре по гистосовместимости [Petersdorf, 2017]. Им было отмечено, что «... *новый термин может быть введен без увеличения путаницы, для чего предлагается заменить фенотип гаплотипом ... на самом деле название должно передавать концепцию, что гаплотип не является наблюдаемым феном и соответствует продукту одной дозы гена*» [Ceppellini et al., 1967]. Позже понятие гаплотипа подверглось некоторым изменениям и сейчас принято считать, что гаплотип это совокупность аллелей, расположенных на одной из парных хромосом в пределах одного локуса и потому наследуемых совместно. В случае изменения в результате кроссинговера существующей комбинации аллелей в таком локусе возникает новый гаплотип. Упоминание выше парных хромосом отнюдь не случайно, поскольку в самом термине гаплотип подразумевается его гаплоидное состояние и из двух гаплотипов формируется генотип диплоидной особи по этому конкретному участку генома.

Термины «минигаплотип» и «микрогаплотип», появились относительно недавно, и об этом специально будет говориться дальше. Что касается нового термина «микродиплотип», то его появление представляется вполне логичным, поскольку для целей ДНК-идентификации личности с помощью набирающих популярность микрогаплотипов, должны учитываться *цис/транс*-состояния ОНП в них в виде информации с парных

хромосом (т.е. фактически два микроГАплотипа (от отца и от матери), приходящихся на одно место в гаплоидном геноме) и удобнее их обозначать вместе как микроДИплотип или микродиплотипы, когда речь идет об их комплексе или панели.

Гаплотипы, минигаплотипы

Локализация нескольких аллелей в пределах одного и того же локуса обеих парных хромосом оказалась крайне важна в том числе для ДНК-криминалистики, однако эффективное выявление конкретных гаплотипов стало возможным только благодаря появлению методов секвенирования ДНК новых поколений. Хотя уже довольно давно отмечена увеличенная предсказательная сила ОНП в составе гаплотипов по сравнению с ОНП, рассматриваемыми по отдельности [Judson et al., 2000].

Еще в 2001 г. на основе анализа участка одной из хромосом человека протяженностью 500 тыс.п.н. было показано, что он состоит из целого ряда содержащих некоторое количество ОНП гаплотипных блоков (гапблоков) с размерами от 3 до 84 тыс.п.н. [Daly et al., 2001]. Но нужно заметить, что тогда число выявленных ОНП, составлявшее около миллиона, было довольно мало, и весьма далеко от их настоящего количества, тогда как сейчас ОНП для генома человека известно больше 100 миллионов и, возможно, это уже ближе к реальности. В рамках выполнения проекта The SNP Consortium Allele Frequency Projects анализ 51 региона аутосом, охватывающих уже 13 млн.п.н. генома человека, также позволил заключить, что геном может быть представлен в виде отдельных гапблоков, при этом значительное внимание было уделено ОНП и частоте их встречаемости [Gabriel et al., 2002], что привело к рождению специального проекта НаpМар [International НаpМар Consortium, 2003; 2005; 2007].

Спустя несколько лет такие гапблоки, несущие некоторое количество ОНП, было предложено использовать для ДНК-идентификации личности, причем авторы указали на гапблоки как на новый тип ДНК-маркеров для криминалистики, вынеся даже такие слова в заголовок статьи [Ge et al., 2010], исходя из того, что сцеплено наследуемые ОНП будут иметь увеличенную дискриминирующую способность, нежели если их учитывать по отдельности. В ходе той работы *in silico* были подобраны гапблоки, отвечающие ряду критериев, среди которых были: минимальное число ОНП – не менее трех; минимальный уровень гетерозиготности – 0.2; минимальное число гаплотипов – 3. С помощью последовательно используемых фильтров из 253 изначально выбранных гапблоков для целей ДНК-криминалистики остались 24. Дискриминирующие возможности данных гапблоков сравнивались с

индивидуальными ОНП, а также с STR-локусами и было показано, что 24 гапблока способны заменить 10 стандартных STR-локусов, и поэтому было решено, что они могут использоваться для ДНК-криминалистики. При этом в самой статье не упоминаются размеры выбранных участков, однако сообщается, что в прилагаемом к публикации дополнительном файле содержатся rs номера всех ОНП из 24 гапблоков, из которого видно, что число ОНП в них варьирует от 3 ОНП (блок 7 из хромосомы 5) до 27 ОНП (блок 8 из хромосомы 7). Согласно базе данных dbSNP протяженности этих 7 и 8 блоков между крайними ОНП, если судить сейчас по референсному геному GRCh38 составляют 181 п.н. и 3834 п.н. соответственно. Однако в настоящее время в этих участках найдено гораздо большее число ОНП, чем их было известно на момент выполнения того исследования.

Позднее появилась подобная работа других авторов [Pakstis et al., 2012], где при анализе 45 популяций численностями от 22 до 119 человек со всего мира, включая россиян (русские из двух регионов – Архангельска и Вологды, а также адыги, коми-зыряне, ханты, чуваша, якуты) было выбрано 8 участков генома, содержащих 3 – 4 ОНП с довольно высоким уровнем гетерозиготности, расположенных на расстояниях от 2687 п.н. до 9877 п.н. (крайние размерные значения для этих 8 участков по пограничным точкам ОНП), показавших их пригодность для семейного и предкового анализов. При этом авторы сочли выбранные ими участки, получившими обозначение как mini-haplotypes или minihaps, маленькими (и это при том, что два из них приближались к 10 т.п.н – 9218 и 9877 п.н.), но было отмечено, что для означенных целей можно выбрать и более удобную панель из других подобных гаплотипов, что и было сделано ими впоследствии, когда минигаплотипы превратились в микрогаплотипы, к рассмотрению которых и перейдем.

Однако прежде, справедливости ради, нужно вспомнить одну более раннюю работу [Jones et al., 2009], в которой для выявления родственных отношений в потомстве мышей и дрозофил, были выбраны несколько генных локусов с некоторым количеством ОНП в них (от 3 до 26), анализ которых с учетом фазировки ОНП по хромосомам показал преимущество этого подхода по сравнению с использованием ОНП по отдельности, что позволило авторам для таких высокополиморфных гаплотипов даже предложить термин «microsatellite-like marker». Преимущество использования гаплотипов было продемонстрировано и на организмах иного уровня генетической сложности, а именно для слежения за распространением коронавирусной инфекции при исследовании биоразнообразия изолятов SARS-CoV-2

у пассажиров круизного судна *Diamond Princess*, позволившим выявить, что все заболевшие были заражены вирусом, изначально имевшим мутацию D614G, но затем уже на судне образовались несколько кластеров SARS-CoV-2, несущих менее значимые мутации [Sekizuka et al., 2020]. Нами недавно подготовлен ряд обзорных статей по данному коронавирусу [Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2020; 2020a; Мустафин, Хуснутдинова (Mustafin, Khusnutdinova), 2020], где, в том числе уделено внимание возникающим ОНП, включая эту замену аденина на гуанин в 23403 положении вирусного генома (миссенс-мутация 23403A>G), приводящую к появлению опасной мутации D614G и делающую бетакоронавирус с ней намного более контагиозным [Korber et al., 2020; Zhang et al., 2020].

Микрогаплотипы

Развивая свою работу по минигаплотипам [Pakstis et al., 2012], эта же группа авторов, благодаря появлению технологий секвенирования новых поколений, обратила внимание на участки размером менее 200 п.н. с двумя или несколько большим числом ОНП, дав им название *microhaplotype loci* или *microhaps* (микрогаплотипы) [Kidd et al., 2013]. В качестве примера был приведен микрогаплотип *Microhap09A* размером 193 п.н. с двумя ОНП rs3118582 и rs10776839. В их следующей работе по данной теме [Kidd et al., 2014] был выбран уже 31 такой микрогаплотипный локус, имеющий, по крайней мере, три аллельных состояния, характеризующийся высоким уровнем гетерозиготности, к тому же статистически независимый от особенностей популяции и подходящий для ДНК-идентификации личности. Учитывая эти обстоятельства, в названии цитируемой статьи также присутствовала фраза, что это новый тип криминалистических маркеров, при этом было подчеркнуто, что данный тип маркеров появился благодаря новым технологиям секвенирования [Kidd et al., 2013]. Чуть позже точно такая же мысль относительно метода выявления микрогаплотипов была высказана в работе китайских авторов [Wang et al., 2015].

Растущее внимание к микрогаплотипам привело к необходимости выработки критериев для их выбора в геноме человека [Kidd, Speed, 2015]. Так, основным критерием авторы работы посчитали наличие не менее трех высокополиморфных ОНП в микрогаплотипе (а лучше – больше), который должен быть размером около 200 п.н., попутно заметив, что новое высокопроизводительное секвенирование ДНК похоже становится стандартным методом генотипирования в ДНК-криминалистике. В данной статье была использована предложенная ранее

номенклатура микрогаплотипов, по которой один из них был назван как *Microhap048*, но наряду с таким обозначением для содержащих четыре ОНП микрогаплотипа использовался вариант *MicroTetrad315*. Однако, последний микрогаплотип при ближайшем рассмотрении (а именно при взгляде на таблицу 4 в цитируемой статье), помимо четырех основных, нес еще шесть других редко встречающихся ОНП, которые авторами предлагалось не учитывать при генотипировании. Здесь нужно заметить, что та информация по наличию всего 10 ОНП в этом участке ДНК была дана по состоянию, по крайней мере, на начало сентября 2014 г. (указанная дата получения рукописи цитируемой статьи редакцией - 12 сентября 2014 г.), тогда как на конец июня 2020 г. для этого же отрезка генома человека выявлено уже более 50 ОНП, что можно видеть из упоминавшегося выше ресурса dbSNP.

Рост интереса к микрогаплотипам потребовал разработку их новой номенклатуры [Kidd, 2016]. Было предложено давать микрогаплотипам сокращенное обозначение «mh» (от *microhaplotype*), сопровождаемое номером хромосомы, где такой микрогаплотип находится, и аббревиатурой лаборатории по фамилии руководителя, в которой этот микрогаплотип был выявлен, и соответствующим порядковым номером. Например, под «mh01KK-001» по версии K.Kidd закодирован микрогаплотип из первой хромосомы, описанный лабораторией Kenneth Kidd, получивший номер 001 и где-нибудь опубликованный. После ознакомления с такой публикацией будет ясно, что этот участок ДНК содержит ОНП rs4648344, rs6663840, rs58111155 и rs6688969. Поскольку для хромосом отведены две цифры, то в данной статье указывается, что половые хромосомы должны обозначаться как 0X и 0Y. Соответственно упомянутые выше *Microhap048* и *MicroTetrad315* по-новому стали обозначаться как mh14KK-048 и mh21KK-315. Позже другими авторами [Zhu et al., 2019a] с сохранением основных принципов такой нумерации предложено некоторое уточнение данной номенклатуры, заключающееся в том, что рекомендовалось добавлять в конец буквенные индексы, говорящие о версии того или иного микрогаплотипа. В качестве примера был приведен ряд версий одного и того же микрогаплотипа с увеличивающимся числом ОНП в нем – mh10zl004A, ..., mh10zl004D, что вполне логично, поскольку через какое-то время информации о любом участке генома человека, включая новые ОНП, становится больше.

Весьма основательная работа [Kidd et al., 2017] посвящена исследованию 130 микрогаплотипов, в общей сложности несущих 359 ОНП (от 2 до 5 на отдельный микрогаплотип), у 5115 человек из 83 популяций. Размеры выбранных микрогаплотипов

варьировали от 12 п.н. до 291 п.н. и только семь были крупнее 200 п.н. При этом микрогаплотипы, локализованные на одинаковых хромосомах, располагались преимущественно довольно далеко друг от друга, но часть из них находилась на сравнительно небольших расстояниях. Было показано, что, помимо применения для ДНК-идентификации индивидов, использовать микрогаплотипы для анализа смешанных образцов предпочтительнее, чем обычно применяемые для этой цели STR-локусы, ввиду того, что последние при амплификации образуют так называемые статтерные фрагменты, отличающиеся от исходных, что приводит к неоднозначностям при интерпретации данных. Несколько позже с помощью 65 лучших микрогаплотипов из этих 130 ранее найденных для проведения предкового анализа было исследовано 96 популяций [Bulbul et al., 2018]. В другой работе этих же авторов [Kidd et al., 2018] количество микрогаплотипов было несколько увеличено (до 182, охватывающих 490 ОНП) и при этом расширился диапазон размещения в них ОНП (от 6 п.н. до 303 п.н.), что позволило подразделить микрогаплотипы на группы согласно их предназначения - для выявления родства, семейного и предкового анализов, включая фенотипический, если один из ОНП, отвечающих за такие признаки, входил в состав того или иного микрогаплотипа.

Но не только лаборатория K.Kidd проявляет интерес к микрогаплотипам. Так, японскими авторами [Hiroaki et al., 2015] в геноме человека из базы данных JSNP database в качестве подобных гапблоков было выбрано 27 участков, отвечающих следующим критериям: 1) три или более ОНП должны располагаться во фрагменте ДНК размером до 100 п.н.; 2) ОНП должны располагаться в интронах или быть вне генов; 3) частота встречаемости должна быть не менее 0,4 для каждого ОНП из гапблока. Причем отмечено, что малый размер выбранных участков генома позволяет их рассматривать как наследуемые сцепленно, повышая общий уровень полиморфизма (если сопоставлять с равным количеством отдельности рассматриваемых ОНП).

Применению микрогаплотипов для выявления в ДНК-криминалистике смешанных образцов, а также предкового анализа посвящена целая серия статей китайских авторов [Chen et al., 2018; 2019; 2019a]. Общей характеристикой несших от трех до пяти ОНП и названных авторами «крошечными» микрогаплотипов был их малый размер, не превышающий по локализации крайних ОНП 50 п.н. Обозначение ими ОНП, например как MN11CP003 в целом соответствовало рекомендациям K.Kidd. Для анализа смешанных образцов были составлены их искусственные смеси с разными соотношениями мажорного и минорного компонентов. Несмотря на

некоторые сложности обнаружения принадлежности в отдельных случаях минорных компонентов, было отмечено удобство использования при анализе микстов микрогаплотипов. Причем авторы посчитали, что улучшенный подбор мультиплексных праймеров способен будет еще больше повысить достоверность результатов.

Значительное внимание анализу смешанных криминалистических образцов с помощью микрогаплотипов уделили и другие авторы [van der Gaag et al., 2018; Voskoboinik et al., 2018; Bennett et al., 2019; Pang et al., 2020]. Причем в первой из цитированных здесь работ как крайне важное отмечается отсутствие статтерных фрагментов, типичных для STR-локусов.

Методы выявления ОНП в составе микрогаплотипов

Как уже говорилось выше, дискриминирующая сила ОНП в составе гаплотипов был оценена уже довольно давно, однако удобных методов определения полиморфных нуклеотидов в таких ОНП с учетом их фазированного или *цис/транс*положения, то есть нахождения ОНП в одной цепи ДНК определенной хромосомы, в то время еще не было, поскольку обычное секвенирование ДНК по Сэнгеру не дает подобную информацию. Поэтому приходилось использовать вычислительные возможности и специально написанные для этой цели компьютерные программы, основанные на данных статистики, в том числе программу PHASE [Stephens et al., 2001; Stephens, Donnelly, 2003]. При этом нужно заметить, что новые версии этой программы использовались для этой же цели и в эпоху полногеномного секвенирования при анализе данных TaqMap амплификации [Kidd et al., 2014; 2017; 2018].

Наиболее эффективным методом выявления ОНП в микрогаплотипах с учетом их *цис/транс*положений в настоящее время является массовое параллельное секвенирование новых поколений, что отмечается в целом ряде статей [Kidd et al., 2014; 2015; Wang et al., 2015; Turchi et al., 2019; Zhu et al., 2019b; Gandotra et al., 2020; Kureshi et al., 2020]. Часть этих работ выполнена с использованием флуоресцентных секвенаторов фирмы Illumina; другие исследователи использовали технологию полупроводникового секвенирования фирмы Thermo Fisher Scientific. В одной из публикаций сообщено о применении обоих этих методов полногеномного секвенирования [de la Puente et al., 2020]. Нанопоровое секвенирование также использовалось для исследования микрогаплотипов [Voskoboinik et al., 2018]. Для лучшего извлечения данных по микрогаплотипам из результатов массового параллельного секвенирования написана специальная

программа Flfinder [Zhu et al., 2015], на основе которой позже была создана усовершенствованная в плане повышения ее производительности программа MAnalyser [Li et al., 2019]. Подготовлена и другая программа MNTyper, преследующая те же цели [Zhang et al., 2019].

Однако предлагались и иные способы установления полиморфных нуклеотидов в ОНП в составе микрогаплотипов. Так, в одной из работ описано применение метода ПЦП-SSCP (Single-Strand Conformational Polymorphism), позволяющего прогнозировать присутствие тех или иных нуклеотидов в одноцепочечном фрагменте ДНК в зависимости от его конформации, определяемой посредством изменения электрофоретической подвижности разных ампликонов [Chen et al., 2017]. Но авторы той статьи отмечают, что этот метод значительно уступает по точности массовому параллельному секвенированию ДНК. Ранее было предложено использовать метод плавления ампликонов высокого разрешения, осуществляемого в приборе Rotor-Gene 6000 [Higoaki et al., 2015]. Размер ампликонов при этом составлял менее 100 п.н. и несли они от трех до четырех ОНП. В случае неоднозначности получаемых результатов применялась все та же программа PHASE. Недавно предложен еще один способ выявления полиморфных нуклеотидов с учетом фазировки при их нахождении в составе микрогаплотипов [Zhang et al., 2019]. Он основан на использовании аллель-специфичной мультиплексной ARMS-ПЦП амплификации, объединенной с однонуклеотидным удлинением праймера. Ранее нечто подобное было описано для анализа микрогаплотипов за счет использования мультиплексной аллель-специфичной ПЦП - MD-PASA (Multiple Double PCR Amplification of Specific Alleles) [Eitan, Kashi, 2002].

Полиморфизм ОНП в составе микрогаплотипов

Возможно, вопросу разнообразия ОНП в составе микрогаплотипов и их дискриминирующей силе нужно было уделить внимание раньше, но лучше поздно, чем никогда. Итак, известно, что ОНП бывают би-, три- и тетрааллельными. При этом три- и тетрааллельные ОНП со слабой представленностью в популяциях третьей и четвертой аллели в ряду поколений стремятся к биаллельности. Тем не менее, би-, три- и тетрааллельные ОНП для популяции теоретически способны соответственно обеспечить 3, 6 и 10 комбинаций присутствия полиморфных нуклеотидов в них. При нахождении таких ОНП в составе микрогаплотипа ситуация становится другой, что продемонстрировано здесь на примере некоего условного микрогаплотипа, обозначенного как mh00ChA-000.

Так, если представить данный микрогаплотип mh00ChA-000 с некими условными ОНП rs02-rs03-rs04 в виде участка генома человека на одной из парных хромосом со следующей последовательностью азотистых оснований acgggttagtcggtattgccActcAtgcctAgtctatttagaaattcgt, где строчными буквами показаны инвариантные нуклеотиды, а заглавными – полиморфные нуклеотиды, и допустить, что первый нуклеотид А приходится на биаллельный ОНП rs02 в виде встречаемости в человеческих популяциях в этом месте А или G; второй А принадлежит триаллельному ОНП rs03 с нуклеотидами А, С, G; третий А относится к тетрааллельному ОНП rs04, где могут встречаться все четыре нуклеотида, то эту запись можно отобразить как acgggttagtcggtattgccRctcVtgcctNgtctatttagaaattcgt, где полиморфные нуклеотиды: R – А или G, V – А или С либо G, N – А или С или G либо Т. Однако с учетом двуродительской природы каждого человека он несет парные хромосомы (без учета Y-хромосомы) с участками ДНК, доставшимися ему от отца и от матери, то, помимо приведенной выше последовательности acgggttagtcggtattgccActcAtgcctAgtctatttagaaattcgt, доставшейся человеку от родителя 1 (когда неизвестна эта же последовательность у его отца и/или матери и нет возможности уточнить ее происхождение) в его ДНК есть и вторая возможно несколько отличающаяся последовательность в виде, например, acgggttagtcggtattgccGctcGtgcctGgtctatttagaaattcgt, доставшаяся от родителя 2. Поскольку для целей ДНК-идентификации имеют значение лишь полиморфные нуклеотиды, то эти два микрогаплотипных участка парных хромосом для конкретного человека в виде его уже микродиплотипа можно записать как А-А-А / G-G-G с учетом их *цис/транс*положений. При этом для всей популяции эти микрогаплотипы (микродиплотипы) будут характеризоваться как R-V-N. Что касается сведений о ДНК каждого человека, то они в соответствующей криминалистической базе данных как раз должны храниться в виде комплекта микродиплотипов, состоящих из множественных парных микрогаплотипов.

При определении полиморфных нуклеотидов в трех вышеуказанных би-, три- и тетрааллельных ОНП по отдельности (без учета фазировки) число возможных вариантов этих нуклеотидов в популяции составит 24: А-А-А, А-А-С, А-А-Г, А-А-Т, А-С-А, А-С-С, А-С-Г, А-С-Т, А-Г-А, А-Г-С, А-Г-Г, А-Г-Т, G-А-А, G-А-С, G-А-Г, G-А-Т, G-С-А, G-С-С, G-С-Г, G-С-Т, G-Г-А, G-Г-С, G-Г-Г, G-Г-Т. Но так как решено, что эти ОНП формируют собой микрогаплотип и наследуются сцепленно, то это число комбинаций будет характерно и для микрогаплотипов, но их полиморфизм следует рассматривать уже с учетом нахождения подобного

участка в разных парных хромосомах, где каждый из вышеупомянутых вариантов (*цис*) может составлять пару с ему подобным (*транс*), включая полностью с ним совпадающий, что даст уже 300 комбинаций микродиplotипов $\{[N \times (N+1)]/2$, где N – число возможных микрогаплотипов}, что заметно больше, чем для этих же ОНП по отдельности.

Подчеркнутые в приведенной выше последовательности нуклеотиды (по 18 слева и справа), фланкирующие микрогаплотип протяженностью в 11 нуклеотидов (по пограничным ОНП) с тремя би-, три- и тетрааллельными ОНП R-V-N, теоретически могут служить местами отжига праймеров для амплификации этого участка с помощью ПЦР. Однако ситуация со ОНП в геноме человека значительно сложнее. (При этом прочие полиморфные состояния генома человека в виде инделов и других вариаций мы намеренно здесь не вспоминаем.) В какой-то момент считалось, что разнообразие геномов людей невелико [Li, Sadler, 1991]. Позже [Brookes, 1999] когда ОНП было известно относительно немного, то считалось, что они встречаются в среднем в геномах людей через приблизительно тысячу нуклеотидов, которые уже относительно одинаковы у всех людей. По мере секвенирования все большего числа геномов отдельных индивидов увеличивалось и количество становящихся известными ОНП, соответственно росла частота их встречаемости и укорачивались участки с одинаковыми нуклеотидами между ОНП. При этом стали приводятся сведения о нахождении ОНП уже в среднем через 500 нуклеотидов, затем 300, 100 нуклеотидов. Сейчас, когда число валидированных ОНП в геноме человека перевалило за 100 миллионов,

из той же базы данных dbSNP можно видеть, что в отдельных местах генома, фигурально выражаясь, «ОНП на ОНП» расположены, при том, что, например два неродственных индивида отличаются друг от друга одним-двумя миллионами ОНП. К тому же фланкирующие тот или иной микрогаплотип участки генома также могут нести еще неизвестные ОНП, что будет мешать отжигу праймеров на этих местах и соответственно затруднять процесс амплификации или даже полностью ему препятствовать. Вероятно, именно с этим связано упоминание в статье K.Kidd и соавт. [2017] о том, что для некоторого числа индивидов определенные микрогаплотипы выявлены не были и такие люди исключались ими из дальнейшего анализа, что для ДНК-идентификации личности и тем более для ДНК-регистрации всего населения недопустимо. Подобные ситуации характерны, впрочем, и для STR-локусов. Так, например, отмечается, что для D5S818 в месте отжига одного из праймеров имеется ОНП rs25768, причем стало известно, что даже у большего числа людей в этом ОНП встречается нуклеотид, некомплементарный находящемуся в праймере, используемом для ПЦР [Devesse et al., 2020]. В одной из работ сообщается о множественных ОНП, расположенных как в 5'-, так и в 3'-областях, фланкирующих 73 STR-локуса [Novroski et al., 2019].

Ниже приведены примеры некоторых из подобранных нами микрогаплотипов с множественными ОНП (таблица), фланкированных участками, лишенными в них какого-либо полиморфизма (рис. 1 – 3). При этом следует понимать, что эта информация может со временем измениться.

Таблица

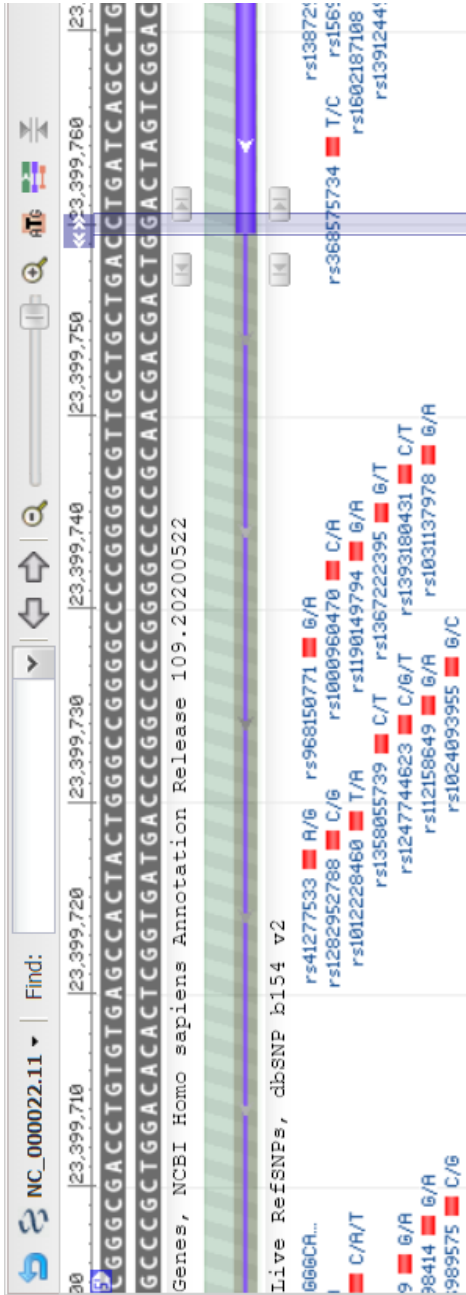
Микрогаплотипы, несущие би-, три- и тетрааллельные ОНП, из хромосомы 22 человека
Table. Microhaplotypes carrying bi-, tri-, and tetraallelic SNPs from chromosome 22 in humans

Обозначение Description	Размер (п.н.) Size (bp)	Варианты однонуклеотидных полиморфизмов Types of SNPs		
		биаллельные biallelic	триаллельные triallelic	тетрааллельные tetraallelic
mh22ChA-001	22	13	-	-
mh22ChA-003	51	12	2	-
mh22ChA-004	98	21	2	2

Теоретическое число комбинаций, которые могут дать только эти три микрогаплотипа с общим числом ОНП, равным 51, составляет многие дециллионы, что на 22 - 25 порядков превосходит население Земли. Однако даже миллиард комбинаций перестановок полиморфных нуклеотидов в данных ОНП в составе микрогаплотипов для всего человечества, скорее всего не будет реализован в силу определенной консервативности нуклеотидных последовательностей генома человека и сцепленного

характера наследования таких участков, но в любом случае их полиморфизм будет заметно выше, чем если эти ОНП учитывать по отдельности. В одной из статей сообщается о создании 124-плексной микрогаплотипной системы, несущей в общей сложности 514 аллелей, но даже 106 микрогаплотипов из этой панели по подсчетам авторов обеспечивали случайное совпадение с вероятностью $5,23 \times 10^{-66}$ [Pang et al., 2020].

Микродиалитипы как новые маркеры для ДНК-криминалистики



gacctgtgtgagccsaactACTgggCCGGGGcccccGgGgGgttctgctgactgacacctgaYcag

Рис. 1. Фрагмент хромосомы 22 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs41277533>) с микроаллотипом mh22ChA-001.

Прописными буквами показаны полиморфные нуклеотиды в ОНП (остальные пояснения в тексте)

Fig. 1. Fragment of chromosome 22 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs41277533>) with the microhaplotype mh22ChA-001.

Capital letters shows the polymorphic nucleotides at the SNPs (see text for details)



atctttacagctgccsaactgaaTaGaGatgttttaaAtttcttctgccaCtCGgttcaCtGactccsaactcctVata

Рис. 2. Фрагмент хромосомы 22 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs912322107>) с микроаллотипом mh22ChA-003.

Прописными буквами показаны полиморфные нуклеотиды в ОНП (остальные пояснения в тексте)

Fig. 2. Fragment of chromosome 22 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs912322107>) with the microhaplotype mh22ChA-003.

Capital letters shows the polymorphic nucleotides at the SNP (see text for details)

Микродиалитипы как новые маркеры для ДНК-криминалистики



gttagaaaaaggacagttttGatttCtGGtgTgCsaagtCaGaaaaatgagagaAaaaaaaAggaAatatGtt

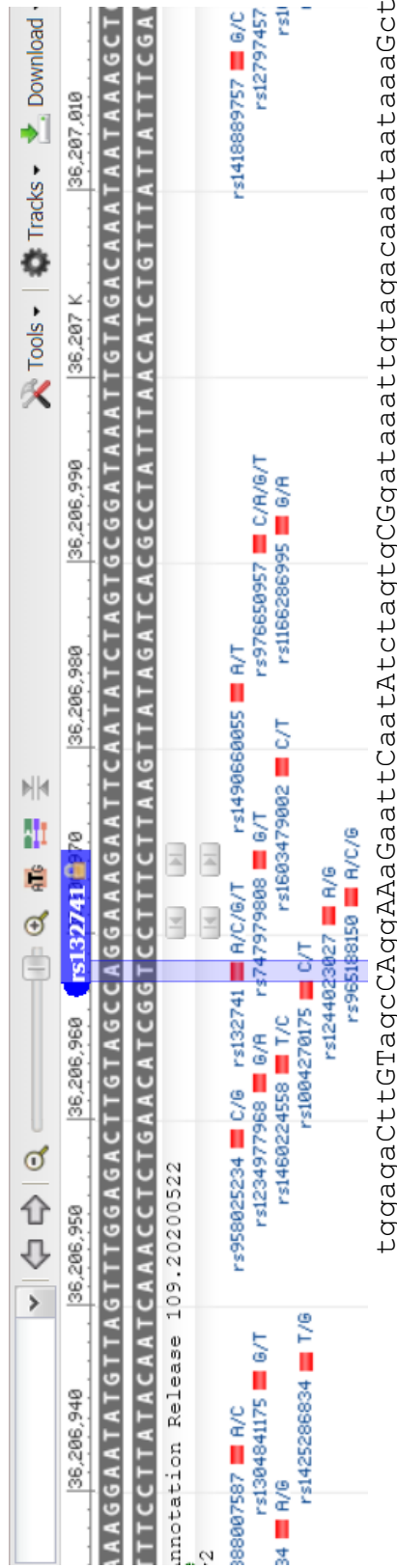


Рис. 3. Фрагмент хромосомы 22 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1025130598>) с микроаллелизмом mh22ChA-004.

Прошриными буквами показаны полиморфные нуклеотиды в ОНП (остальные пояснения в тексте)

Fig. 3. Fragment of chromosome 22 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1025130598>) with the microhaplotype mh22ChA-004.

Capital letters shows the polymorphic nucleotides at the SNP (see text for details)

Приведенные на рис. 1–3 фрагменты хромосомы 22 человека были специально выбраны для демонстрации в них би-, три- и тетрааллельных ОНП с отсутствием в этих местах инделов и других вариаций геномов. Подчеркнутые нуклеотидные последовательности могут быть местами отжига праймеров, хотя таковыми еще не служили, поскольку «мокрых» экспериментов с этими и другими подобранными микроаплотипами нами пока не проводилось. Нужно заметить, что протяженные участки генома человека без уже известных полиморфных состояний не так просто найти и одним из дополнительных критериев при выборе микроаплотипов должен быть именно поиск таких фланкирующих участков.

Как показано в одной из недавних работ присутствие в микроаплотипах не только биаллельных ОНП обеспечивает их увеличенную дискриминирующую способность [Sun et al., 2020]. В этой работе по базе данных 1000 genomes (<https://www.internationalgenome.org/home>) было подобрано 30 микроаплотипов, несущих от 3 до 6 ОНП, один из которых имел не биаллельную природу. Хотя наша точка зрения такова, что любой ОНП нужно считать потенциально тетрааллельным, поскольку нельзя исключать, что, например, у неких десяти- или стомиллионных индивидов не выявятся в считающихся биаллельными ОНП, третий и даже четвертый нуклеотиды [Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2015; Garafutdinov et al., 2020]. Но когда есть возможность выбора ОНП, про которые уже известно, что они тетрааллельные и с хорошо представленными в них всеми нуклеотидами, то, безусловно, на такие ОНП и соответственно микроаплотипы с ними нужно обращать внимание.

Наблюдая накопление данных о полиморфизме нуклеотидных последовательностей генома человека, когда из базы данных dbSNP видно, что весь геном буквально испещрен различными вариациями, может возникнуть мысль, что бессмысленно проводить ДНК-идентификацию личности с помощью ОНП и в особенности всеобщую ДНК-регистрацию, но хотим заметить, что это не так, и амплификация полиморфных участков генома у разных людей производится, в том числе с использованием STR-локусов, места отжига праймеров для которых также несут множественные уже известные ОНП, о чем говорилось выше. При этом необходимо признать, что большинство выявленных минорных ОНП встречаются у крайне небольшого числа людей и поэтому подобранные ранее праймеры довольно эффективно работают, в том числе при амплификации STR-локусов. Тем не менее, возможно требуется иной подход при выборе праймеров в будущем, ориентированный на места с

уже известными ОНП (любые инделов, включая микросателлиты, все же лучше исключать), подбирая уже к таким вариабельным участкам вырожденные праймеры, разумеется, при условиях сохранения специфичности их отжига и успешного протекания ПЦР.

Заключение

За прошедшее десятилетие с момента первого упоминания об использовании микроаплотипов для целей ДНК-криминалистики, для выяснения родства, семейного/предкового анализов достигнут заметный прогресс, выразившийся, прежде всего, в резком уменьшении размера микроаплотипов по крайним позициям выбираемых ОНП и увеличении количества последних. На это, несомненно, повлияло расширение знаний о полиморфизме ДНК человека и выявление большого числа новых ОНП. С учетом того, что капиллярный гель-электрофорез, пригодный только для определения числа повторяющихся элементов в STR-локусах и неспособный выявлять их изоаллели, будет постепенно, но неизбежно вытесняться массовым параллельным секвенированием ДНК, обеспечивающим получение всей полноты информации о тех или иных участках генома, включая фазировку данных по ОНП (т.е. установление микродиплотипов), и то, что ОНП в составе микроаплотипов показывают более надежный характер наследования в отличие от быстро мутирующих STR-локусов, при амплификации которых еще происходит образование нежелательных статтерных фрагментов ДНК, сильно мешающих анализу смешанных образцов, можно прийти к заключению, что через некоторое время основным методом в ДНК-криминалистике станет именно массовое параллельное секвенирование. Для этого могут быть разработаны специализированные уменьшенные версии подходящих ДНК-секвенаторов, поскольку для этих целей достаточно прочтение относительно небольшого числа нуклеотидных последовательностей в виде таргетного секвенирования, но обеспечивающего фазировку данных. Причем, неважно на какой платформе такие секвенаторы окажутся основанными, поскольку главными требованиями будут являться точность секвенирования, простота и быстрота операций, а также низкая себестоимость. В этой связи нужно сказать, что не так давно фирма Illumina, Inc. уже организовала дочернюю фирму Verogen, Inc., ставшую первой в мире, специализирующейся исключительно на применении массового параллельного секвенирования для ДНК-криминалистики. Разработанная ими система MiSeq FGx® Forensic Genomics Solution, включающая

большую панель локусов в виде набора ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit и соответствующее программное обеспечение ForenSeq™ Universal Analysis Software, по всем параметрам превосходящая прежние способы ДНК-идентификации личности, основанные на капиллярном гель-электрофорезе, получила в США одобрение со стороны ФБР. С помощью данной системы можно вести одновременный анализ 27 аутосомных STR-локусов, 24 и 7 STR-локусов из Y- и X-хромосом соответственно, а также 96 iiSNP¹, 22 piSNP и 56 aiSNP. Но при этом данная панель формально пока не содержит ни один микрогаплотип, что возможно просто вопрос времени. Хотя, справедливости ради следует заметить, что фактически любые ОНП входят в ту или иную группу микрогаплотипов и, например ОНП rs8037429 из упомянутого набора ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit находится среди целого ряда других ОНП, при этом указанные границы этого небольшого ампликона (63 п.н. – одного из самых маленьких в данной панели) позволяют видеть, что на зоны отжига обоих праймеров приходится, по меньшей мере, еще 7 ОНП и один индел, которые теоретически могут ухудшать амплификацию этого участка хромосомы 15 генома человека. Поэтому весьма важным моментом при подборе микрогаплотипов (микродиплотипов) для целей ДНК-криминалистики должно быть наличие фланкирующих их участков с минимальным числом нуклеотидных замен и тем более делеций.

Когда готовилась рукопись данной работы появилась предпубликация пионерной статьи [Soifer et al., 2020], в которой сообщено о секвенировании полного диплоидного генома одного человека (линия клеток фибробластов WI-38), поскольку до этого практически все секвенированные геномы² носили гаплоидный или точнее квазигаплоидный характер, причем не только человека, но и прочих эукариотических животных организмов. К тому же референсные геномы человека GRCh37 и более подробный GRCh38 имеют мозаичный характер, поскольку составлены на основе геномов разных людей и о фазировке данных речь идти вообще не

¹ iiSNP (identity informative) – ОНП, предназначенные для идентификации личности; piSNP (phenotypic informative) – ОНП, отвечающие за определение фенотипа; aiSNP (ancestry informative) – ОНП, позволяющие установить биогеографическое происхождение.

² Ранее секвенированные диплоидные геномы человека [Levy et al., 2007; Pendleton et al., 2015] были фазированы лишь отчасти, в том числе с применением «трио» технологии с сопоставлением трех геномов индивида и его родителей.

может. Наконец, с использованием разных технологий секвенирования и ряда других подходов, а также современных вычислительных подходов секвенированы все 46 хромосом одного индивида и можно сказать, что наступает эра нового секвенирования действительно полных геномов. Подробная информация об этом исследовании, включая фазированные (на 94%) нуклеотидные последовательности, доступные для скачивания и анализа с помощью специального WI-38 геномного браузера, выложены на созданном по этому случаю сайте <https://wi38.research.calicolabs.com>.

Безусловно, информация о диплоидном геноме человека, включая сведения о *цис/транс*положениях конкретных мутаций, больше требуется для персональной медицины и на это указывал еще в 2010 г. J.C.Venter [2010], но и ДНК-криминалистика, несомненно, сможет должным образом ею воспользоваться.

Благодарности

Данная работа поддержана грантом РФФИ по проекту РФФИ-мк № 18-29-14076.

Литература

1. Анисимов В.А., Гарафутдинов Р.Р., Сагитов А.М., Сахабутдинова А.Р., Хуснутдинова Э.К., Аминев Ф.Г., Чемерис А.В. ДНК-криминалистика – зарождение, современность и перспективы // Биомика. 2019. Т.11(3). С. 282-314. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-26
2. Гарафутдинов Р.Р., Мавзютов А.Р., Алексеев Я.И., Воробьев А.А., Никоноров Ю.М., Чубукова О.В., Матниязов Р.Т., Баймиев Ан.Х., Максимов И.В., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Бетакоронавирусы человека и их высокочувствительная детекция с помощью ПЦР и прочих методов амплификации // Биомика. 2020. Т.12(1). С. 121-179. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-7
3. Гарафутдинов Р.Р., Мавзютов А.Р., Никоноров Ю.М., Чубукова О.В., Матниязов Р.Т., Баймиев Ан.Х., Максимов И.В., Мифтахов И.Ю., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Бетакоронавирус SARS-CoV-2, его геном, разнообразие генотипов и молекулярно-биологические меры борьбы с ним // Биомика. 2020. Т.12(2). С. 218-247. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-12
4. Гарафутдинов Р.Р., Сахабутдинова А.Р., Васильев Р.Г., Чемерис А.В. Генетическое штрих-кодирование родственных индивидов // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2015. Т. 11(2). С. 20-26.

5. Мустафин Р.Н., Хуснутдинова Э.К. Загадки COVID-19 и перспективы их разрешения // Вестник Академии наук Республики Башкортостан // 2020. Т.35(2). С. 92-101. DOI: 10.24411/1728-5283-2020-10211
6. Чемерис Д.А., Сагитов А.М., Аминев Ф.Г., Луценко В.И., Гарафутдинов Р.Р., Сахабутдинова А.Р., Васильев Р.Г., Алексеев Я.И., Сломинский П.А., Хуснутдинова Э.К., Чемерис А.В. Эволюция подходов к ДНК-идентификации личности // *Биомика*. 2018. Т.10(1). С.85-140. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-16
7. Bennett L., Oldoni F., Long K., Cisana S., Madella K., Wootton S., Chang J., Hasegawa R., Lagacé R., Kidd K.K., Podini D. Mixture deconvolution by massively parallel sequencing of microhaplotypes // *Int. J. Legal Med.* 2019. V.133(3). P.719-729. doi: 10.1007/s00414-019-02010-7
8. Brookes A.J. The essence of SNPs // *Gene*. 1999. V.234(2). P.177-186. doi: 10.1016/s0378-1119(99)00219-x
9. Bulbul O., Pakstis A.J., Soundararajan U., Gurkan C., Brissenden J.E., Roscoe J.M., Evsanaa B., Togtokh A., Paschou P., Grigorenko E.L., Gurwitz D., Wootton S., Lagace R., Chang J., Speed W.C., Kidd K.K. Ancestry inference of 96 population samples using microhaplotypes // *Int. J. Legal Med.* 2018. V.132(3). P.703-711. doi: 10.1007/s00414-017-1748-6
10. Ceppellini R., Curtoni E.S., Mattiuz P.L., Miggiano C., Scudeller G., Serra A. Genetics of leukocyte antigens: a family study of segregation and linkage. In: Curtoni E.S., Mattiuz P.L., Tosi R.M., eds. *Histocompatibility testing*. Copenhagen, Munksgaard. 1967. P. 149–187.
11. Chen P., Deng C., Li Z., Pu Y., Yang J., Yu Y., Li K., Li D., Liang W., Zhang L., Chen F. A microhaplotypes panel for massively parallel sequencing analysis of DNA mixtures // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2019. V.40. P.140-149. doi: 10.1016/j.fsigen.2019.02.018
12. Chen P., Yin C., Li Z., Pu Y., Yu Y., Zhao P., Chen D., Liang W., Zhang L., Chen F. Evaluation of the Microhaplotypes panel for DNA mixture analyses // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2018. V.35. P.149-155. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.05.003
13. Chen P., Zhu J., Pu Y., Jiang Y., Chen D., Wang H., Mao J., Zhou B., Gao L., Bai P., Liang W., Zhang L. Microhaplotype identified and performed in genetic investigation using PCR-SSCP // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2017. V.28. e1-e7. doi: 10.1016/j.fsigen.2017.01.008
14. Chen P., Zhu W., Tong F., Pu Y., Yu Y., Huang S., Li Z., Zhang L., Liang W., Chen F. Identifying novel microhaplotypes for ancestry inference // *Int. J. Legal Med.* 2019. V.133(4). P.983-988. doi: 10.1007/s00414-018-1881-x
15. Daly M.J., Rioux J.D., Schaffner S.F., Hudson T.J., Lander E.S. High-resolution haplotype structure in the human genome // *Nat. Genet.* 2001. V.29(2). P.229-232. doi: 10.1038/ng1001-229
16. de la Puente M., Phillips C., Xavier C., Amigo J., Carracedo A., Parson W., Lareu M.V. Building a custom large-scale panel of novel microhaplotypes for forensic identification using MiSeq and Ion S5 massively parallel sequencing systems // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2020. V.45. P.102213. doi: 10.1016/j.fsigen.2019.102213
17. Devesse L., Davenport L., Borsuk L., Gettings K., Mason-Buck G., Vallone P.M., Syndercombe Court D., Ballard D. Classification of STR allelic variation using massively parallel sequencing and assessment of flanking region power // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2020. V.48. P.102356. doi: 10.1016/j.fsigen.2020.102356
18. Eitan Y., Kashi Y. Direct micro-haplotyping by multiple double PCR amplifications of specific alleles (MD-PASA) // *Nucleic Acids Res.* 2002. V.30(12). e62. doi: 10.1093/nar/gnf062
19. Gabriel S.B., Schaffner S.F., Nguyen H., Moore J.M., Roy J., Blumenstiel B., Higgins J., DeFelice M., Lochner A., Faggart M., Liu-Cordero S.N., Rotimi C., Adeyemo A., Cooper R., Ward R., Lander E.S., Daly M.J., Altshuler D. The structure of haplotype blocks in the human genome // *Science*. 2002. V.296(5576). P.2225-2229. doi: 10.1126/science.1069424
20. Gandotra N., Speed W.C., Qin W., Tang Y., Pakstis A.J., Kidd K.K., Scharfe C. Validation of novel forensic DNA markers using multiplex microhaplotype sequencing // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2020. V.47. P.102275. doi: 10.1016/j.fsigen.2020.102275
21. Garafutdinov R.R., Sakhabutdinova A.R., Slominsky P.A., Aminev F.G., Chemeris A.V. A new digital approach to SNP encoding for DNA identification // *Forensic Science International*. 2020. In press.
22. Ge J., Budowle B., Planz J.V., Chakraborty R. Haplotype block: a new type of forensic DNA markers // *Int. J. Legal Med.* 2010. V.124(5). P.353-361. doi: 10.1007/s00414-009-0400-5
23. Hiroaki N., Koji F., Tetsushi K., Kazumasa S., Hiroaki N., Kazuyuki S. Approaches for identifying multiple-SNP haplotype blocks for use in human identification // *Leg Med (Tokyo)*. 2015. V.17(5). P.415-420. doi: 10.1016/j.legalmed.2015.06.003
24. Jones B., Walsh D., Werner L., Fiumera A. Using blocks of linked single nucleotide polymorphisms as highly polymorphic genetic markers for parentage analysis // *Mol. Ecol. Resour.*

2009. V.9(2). P.487-497. doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02444.x
25. Judson R., Stephens J.C., Windemuth A. The predictive power of haplotypes in clinical response // *Pharmacogenomics*. 2000. V.1(1). P.15-26. doi: 10.1517/14622416.1.1.15
 26. International HapMap Consortium. The International HapMap Project // *Nature*. 2003. V.426(6968). P. 789-796. doi: 10.1038/nature02168
 27. International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome // *Nature*. 2005. V.437(7063). P.1299-1320. doi: 10.1038/nature04226
 28. International HapMap Consortium. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs // *Nature*. 2007. V.449(7164). P.851-861. doi: 10.1038/nature06258
 29. Kidd K.K. Proposed nomenclature for microhaplotypes // *Hum Genomics*. 2016. V.10(1). P.16. doi: 10.1186/s40246-016-0078-y
 30. Kidd K.K., Kidd J.R., Speed W.C., Fang R., Furtado M.R., Hyland F.C.L., Pakstis A.J. Expanding data and resources for forensic use of SNPs in individual identification // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2012. V.6(5). P.646-652. doi: 10.1016/j.fsigen.2012.02.012
 31. Kidd K.K., Pakstis A.J., Speed W.C., Lagace R., Chang J., Wootton S., Ihuegbu N. Microhaplotype loci are a powerful new type of forensic marker // *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2013. V.4(1). e123-e124. DOI: 10.1016/j.fsigss.2013.10.063
 32. Kidd KK, Pakstis AJ, Speed WC, Lagacé R, Chang J, Wootton S, Haigh E, Kidd JR. Current sequencing technology makes microhaplotypes a powerful new type of genetic marker for forensics // *Forensic Science International: Genetics*. 2014. V. 12. P. 215-224. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.06.014
 33. Kidd K.K., Pakstis A.J., Speed W.C., Lagace R., Wootton S., Chang J. Selecting microhaplotypes optimized for different purposes // *Electrophoresis*. 2018. V.39(21). P.2815-2823. doi: 10.1002/elps.201800092
 34. Kidd K.K., Speed W.C. Criteria for selecting microhaplotypes: mixture detection and deconvolution // *Investig Genet*. 2015. V.6:1. doi: 10.1186/s13323-014-0018-3
 35. Kidd KK, Speed WC, Pakstis AJ, Podini DS, Lagacé R, Chang J, Wootton S, Haigh E, Soundararajan U. Evaluating 130 microhaplotypes across a global set of 83 populations // *Forensic Science International: Genetics*. 2017. V. 29. P. 29-37. doi: 10.1016/j.fsigen.2017.03.014
 36. Kidd K.K., Speed W.C., Wootton S., Lagace R, Langit R., Haigh E., Chang J., Pakstis A.J. Genetic markers for massively parallel sequencing in forensics // *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2015. V.5.P. e677-e679. doi: 10.1016/j.fsigss.2015.12.004
 37. Kureshi A., Li J., Wen D., Sun S., Yang Z., Zha L. Construction and forensic application of 20 highly polymorphic microhaplotypes // *Royal Soc. Open Sci*. 2020. V.7(5). P.191937. doi: 10.1098/rsos.191937
 38. Levy S., Sutton G., Ng P.C., Feuk L., Halpern A.L., Walenz B.P., Axelrod N., Huang J., Kirkness E.F., Denisov G., Lin Y., MacDonald J.R., Pang A.W., Shago M., Stockwell T.B., Tsiamouri A., Bafna V., Bansal V., Kravitz S.A., Busam D.A., Beeson K.Y., McIntosh T.C., Remington K.A., Abril J.F., Gill J., Borman J., Rogers Y.H., Frazier M.E., Scherer S.W., Strausberg R.L., Venter J.C. The diploid genome sequence of an individual human // *PLoS Biol*. 2007. V.5(10). e254. doi: 10.1371/journal.pbio.0050254
 39. Li W.H., Sadler L.A. Low nucleotide diversity in man // *Genetics*. 1991. V.129(2). P.513-523.
 40. Li Z., Yang J., Liang W., Zhang L., Chen F., Chen P. Application of MAnalyser software in the study of microhaplotypes in forensics // *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2019. V.7(1). P.271-273. doi: 10.1016/j.fsigss.2019.09.104
 41. Novroski N.M.M., Wendt F.R., Woerner A.E., Bus M.M., Coble M., Budowle B. Expanding beyond the current core STR loci: An exploration of 73 STR markers with increased diversity for enhanced DNA mixture deconvolution // *Forensic Sci Int Genet*. 2019. V.38. P.121-129. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.10.013
 42. Oldoni F., Kidd K.K., Podini D. Microhaplotypes in forensic genetics // *Forensic Sci Int Genet*. 2019. V.38. P.54-69. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.09.009
 43. Pakstis A.J., Fang R., Furtado M.R., Kidd J.R., Kidd K.K. Mini-haplotypes as lineage informative SNPs and ancestry inference SNPs // *Eur. J. Hum. Genet*. 2012. V.20(11). P.1148-1154. doi: 10.1038/ejhg.2012.69
 44. Pang J-B., Rao M., Chen Q-F., Ji A-Q., Zhang C., Kang K-L., Wu H., Ye J., Nie S-J., Wang L. A 124-plex Microhaplotype Panel Based on Next-generation Sequencing Developed for Forensic Applications // *Sci. Rep*. 2020. V.10(1). P.1945. doi: 10.1038/s41598-020-58980-x
 45. Pendleton M., Sebra R., Pang A.W., Ummat A., Franzen O., Rausch T., Stütz A.M., Stedman W., Anantharaman T., Hastie A., Dai H., Fritz M.H., Cao H., Cohain A., Deikus G., Durrett R.E., Blanchard S.C., Altman R., Chin C.S., Guo Y., Paxinos E.E., Korbel J.O., Darnell R.B., McCombie W.R., Kwok P.Y., Mason C.E., Schadt E.E., Bashir A. Assembly

- and diploid architecture of an individual human genome via single-molecule technologies // *Nat. Methods*. 2015. V.12(8). P.780-786. doi: 10.1038/nmeth.3454
46. Petersdorf E.W. In celebration of Ruggero Ceppellini: HLA in transplantation // *HLA*. 2017. V.89(2). P.71-76. doi: 10.1111/tan.12955
47. Soifer I., Fong N.L., Yi N., Ireland A.T., Lam I., Sooknah M., Paw J.S., Peluso P., Concepcion G.T., Rank D., Hastie A.R., Jojic V., Ruby J.G., Botstein D., Roy M.A. Fully phased sequence of a diploid human genome determined de novo from the DNA of a single individual // *G3 (Bethesda)*. 2020. Jul 6;g3.400995.2019. doi: 10.1534/g3.119.400995
48. Stephens M., Donnelly P. A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data // *Am. J. Hum. Genet.* 2003. V.73(5). P.1162-1169. doi: 10.1086/379378
49. Stephens M., Smith N.J., Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V.68(4). P.978-989. doi: 10.1086/319501
50. Sun S., Liu Y., Li J., Yang Z., Wen D., Liang W., Yan Y., Yu H., Cai J., Zha L. Development and application of a nonbinary SNP-based microhaplotype panel for paternity testing involving close relatives // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2020. V.46. P.102255. doi: 10.1016/j.fsigen.2020.102255
51. Turchi C., Melchionda F., Pesaresi M., Tagliabracci A. Evaluation of a microhaplotypes panel for forensic genetics using massive parallel sequencing technology // *Forensic Sci Int Genet.* 2019. V.41. P.120-127. doi: 10.1016/j.fsigen.2019.04.009
52. van der Gaag K.J., de Leeuw R.H., Laros J.F.J., den Dunnen J.T., de Knijff P. Short hypervariable microhaplotypes: A novel set of very short high discriminating power loci without stutter artefacts // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2018. V.35. P.169-175. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.05.008
53. Venter J.C. Multiple personal genomes await // *Nature*. 2010. V.464(7289). P.676-677. doi: 10.1038/464676a
54. Voskoboinik L., Motro U., Darvasi A. Facilitating complex DNA mixture interpretation by sequencing highly polymorphic haplotypes // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2018. V.35. P.136-140. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.05.001
55. Wang H. Zhu J., Zhou N., Jiang Y., Wang L., He W., Peng D., Su Q., Ma J., Chen D., Liang W., Zhang L. NGS technology makes microhaplotype a potential forensic marker // *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2015. V.5. P. e233-e234. doi: 10.1016/j.fsigss.2015.09.093
56. Zhang C., Cao Y-D., Song J-J., Rao M., Nie S-J., Zhang G-F., Kang, K-L., Ji A-Q., Ye J., Wang L. MHTyper: a microhaplotype allele-calling pipeline for use with next generation sequencing data // *Australian Journal of Forensic Sciences*. 2019. doi: 10.1080/00450618.2019.1699956
57. Zhang R., Tan Y., Jian H., Qu S., Liu Y., Zhu J., Wang L., Lv M., Liao M., Zhang L., Yang F., Liang W. A new approach to detect a set of SNP-SNP markers: Combining ARMS-PCR with SNaPshot technology // *Electrophoresis*. 2020. V.41(13-14). P.1189-1197. doi: 10.1002/elps.202000009
58. Zhu J., Chen P., Qu S., Wang Y., Jian H., Cao S., Liu Y., Zhang R., Lv M., Liang W., Zhang L. Evaluation of the microhaplotype markers in kinship analysis // *Electrophoresis*. 2019. V.40(7). P.1091-1095. doi: 10.1002/elps.201800351
59. Zhu J., Long B., Qu S., Yin L., He W., Mao J., Wang H., Zhang L., Jin B., Chen D., Liang W. A new proposed nomenclature for microhaplotypes // *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2019a. V.7(1). P. 813-815. doi: 10.1016/j.fsigss.2019.10.186
60. Zhu J., Lv M., Zhou N., Chen D., Jiang Y., Wang L., He W., Peng D., Li Z., Qu S., Wang Y., Wang H., Luo H., An G., Liang W., Zhang L. Genotyping polymorphic microhaplotype markers through the Illumina® MiSeq platform for forensics // *Forensic Sci. Int. Genet.* 2019b. V.39. P.1-7. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.11.005
61. Zhu J., Zhou N., Jiang Y., Wang L., He W., Peng D., Su Q., Mao J., Chen D., Liang W., Zhang L., FLfinder: A novel software for the microhaplotype marker // *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2015. V.5. P. e622-e624. doi: 10.1016/j.fsigss.2015.10.002

References

1. Anisimov V.A., Garafutdinov R.R., Sagitov A.M., Sakhabutdinova A.R., Khusnutdinova E.K., Aminev F.G., Chemeris A.V. DNA forensics – the origin, present state and future prospects. *Biomics*. 2019. V.11(3). P. 282-314. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2019-26 (In Russian)
2. Bennett L., Oldoni F., Long K., Cisana S., Madella K., Wootton S., Chang J., Hasegawa R., Lagacé R., Kidd K.K., Podini D. Mixture deconvolution by massively parallel sequencing of microhaplotypes. *Int. J. Legal Med.* 2019. V.133(3). P.719-729. doi: 10.1007/s00414-019-02010-7
3. Brookes A.J. The essence of SNPs. *Gene*. 1999. V.234(2). P.177-186. doi: 10.1016/s0378-1119(99)00219-x
4. Bulbul O., Pakstis A.J., Soundararajan U., Gurkan C., Brissenden J.E., Roscoe J.M., Evsanaa B.,

- Togtokh A., Paschou P., Grigorenko E.L., Gurwitz D., Wootton S., Lagace R., Chang J., Speed W.C., Kidd K.K. Ancestry inference of 96 population samples using microhaplotypes. *Int. J. Legal Med.* 2018. V.132(3). P.703-711. doi: 10.1007/s00414-017-1748-6
5. Ceppellini R., Curtoni E.S., Mattiuz P.L., Miggiano C., Scudeller G., Serra A. Genetics of leukocyte antigens: a family study of segregation and linkage. In: Curtoni E.S., Mattiuz P.L., Tosi R.M., eds. *Histocompatibility testing*. Copenhagen, Munksgaard. 1967. P. 149–187.
6. Chemeris D.A., Sagitov A.M., Aminev F.G., Lutsenko V.I., Garafutdinov R.R., Sakhabutdinova A.R., Vasilov R.G., Alexeyev Ya.I., Slominsky P.A., Khusnutdinova E.K., Chemeris A.V. The evolution of approaches to DNA identification of personality. *Biomcs.* 2018. V.10(1). P.85-140. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-16 (In Russian)
7. Chen P., Deng C., Li Z., Pu Y., Yang J., Yu Y., Li K., Li D., Liang W., Zhang L., Chen F. A microhaplotypes panel for massively parallel sequencing analysis of DNA mixtures. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2019. V.40. P.140-149. doi: 10.1016/j.fsigen.2019.02.018
8. Chen P., Yin C., Li Z., Pu Y., Yu Y., Zhao P., Chen D., Liang W., Zhang L., Chen F. Evaluation of the Microhaplotypes panel for DNA mixture analyses. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2018. V.35. P.149-155. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.05.003
9. Chen P., Zhu J., Pu Y., Jiang Y., Chen D., Wang H., Mao J., Zhou B., Gao L., Bai P., Liang W., Zhang L. Microhaplotype identified and performed in genetic investigation using PCR-SSCP. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2017. V.28. e1-e7. doi: 10.1016/j.fsigen.2017.01.008
10. Chen P., Zhu W., Tong F., Pu Y., Yu Y., Huang S., Li Z., Zhang L., Liang W., Chen F. Identifying novel microhaplotypes for ancestry inference. *Int. J. Legal Med.* 2019. V.133(4). P.983-988. doi: 10.1007/s00414-018-1881-x
11. Daly M.J., Rioux J.D., Schaffner S.F., Hudson T.J., Lander E.S. High-resolution haplotype structure in the human genome. *Nat. Genet.* 2001. V.29(2). P.229-232. doi: 10.1038/ng1001-229
12. de la Puente M., Phillips C., Xavier C., Amigo J., Carracedo A., Parson W., Lareu M.V. Building a custom large-scale panel of novel microhaplotypes for forensic identification using MiSeq and Ion S5 massively parallel sequencing systems. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2020. V.45. P.102213. doi: 10.1016/j.fsigen.2019.102213
13. Devesse L., Davenport L., Borsuk L., Gettings K., Mason-Buck G., Vallone P.M., Syndercombe Court D., Ballard D. Classification of STR allelic variation using massively parallel sequencing and assessment of flanking region power. *Forensic Sci Int Genet.* 2020. V.48. P.102356. doi: 10.1016/j.fsigen.2020.102356
14. Eitan Y., Kashi Y. Direct micro-haplotyping by multiple double PCR amplifications of specific alleles (MD-PASA). *Nucleic Acids Res.* 2002. V.30(12). e62. doi: 10.1093/nar/gnf062
15. Gabriel S.B., Schaffner S.F., Nguyen H., Moore J.M., Roy J., Blumenstiel B., Higgins J., DeFelice M., Lochner A., Faggart M., Liu-Cordero S.N., Rotimi C., Adeyemo A., Cooper R., Ward R., Lander E.S., Daly M.J., Altshuler D. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science.* 2002. V.296(5576). P.2225-2229. doi: 10.1126/science.1069424
16. Gandotra N., Speed W.C., Qin W., Tang Y., Pakstis A.J., Kidd K.K., Scharfe C. Validation of novel forensic DNA markers using multiplex microhaplotype sequencing. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2020. V.47. 102275. doi: 10.1016/j.fsigen.2020.102275
17. Garafutdinov R.R., Mavzyutov A.R., Alekseev Ya.I., Vorobiev A.A., Nikonov Yu.M., Chubukova O.V., Matniyazov R.T., Baimiev An.Kh., Maksimov I.V., Kuluev B.R., Baimiev Al.Kh., Chemeris A.V. Human betacoronaviruses and their highly sensitive detection using PCR and other amplification methods. *Biomcs.* 2020. V.12 (1). P. 121-179. doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-7 (In Russian)
18. Garafutdinov R.R., Mavzyutov A.R., Nikonov Yu.M., Chubukova O.V., Matniyazov R.T., Baymiev An.Kh., Maksimov I.V., Miftakhov I.Yu., Kuluev B.R., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. Betacoronavirus SARS-CoV-2, its genome, variety of genotypes and molecular-biological approaches to combat it. *Biomcs.* 2020. V.12(2). P. 218-247. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-12 (In Russian)
19. Garafutdinov R.R., Sakhabutdinova A.R., Slominsky P.A., Aminev F.G., Chemeris A.V. A new digital approach to SNP encoding for DNA identification. *Forensic Science International.* 2020. In press.
20. Garafutdinov R.R., Sakhabutdinova A.R., Vasilov R.G., Chemeris A.V. Genetic barcoding related individuals. *Yu.A.Ovchinnikov Bulletin of Biotechnology and Physical and Chemical Biology.* 2015. V.11(2). P.20-26. (In Russian)
21. Ge J., Budowle B., Planz J.V., Chakraborty R. Haplotype block: a new type of forensic DNA markers. *Int. J. Legal Med.* 2010. V.124(5). P.353-361. doi: 10.1007/s00414-009-0400-5
22. Hiroaki N., Koji F., Tetsushi K., Kazumasa S., Hiroaki N., Kazuyuki S. Approaches for identifying multiple-SNP haplotype blocks for use in human identification. *Leg Med (Tokyo).* 2015. V.17(5). P.415-420. doi: 10.1016/j.legalmed.2015.06.003
23. Jones B., Walsh D., Werner L., Fiumera A. Using blocks of linked single nucleotide polymorphisms

- as highly polymorphic genetic markers for parentage analysis. *Mol. Ecol. Resour.* 2009. V.9(2). P.487-497. doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02444.x
24. Judson R., Stephens J.C., Windemuth A. The predictive power of haplotypes in clinical response. *Pharmacogenomics.* 2000. V.1(1). P.15-26. doi: 10.1517/14622416.1.1.15
25. International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature.* 2003. V.426(6968). P. 789-796. doi: 10.1038/nature02168
26. International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature.* 2005. V.437(7063). P.1299-1320. doi: 10.1038/nature04226
27. International HapMap Consortium. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature.* 2007. V.449(7164). P.851-861. doi: 10.1038/nature06258
28. Kidd K.K. Proposed nomenclature for microhaplotypes. *Hum Genomics.* 2016. V.10(1). P.16. doi: 10.1186/s40246-016-0078-y
29. Kidd K.K., Kidd J.R., Speed W.C., Fang R., Furtado M.R., Hyland F.C.L., Pakstis A.J. Expanding data and resources for forensic use of SNPs in individual identification. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2012. V.6(5). P.646-652. doi: 10.1016/j.fsigen.2012.02.012
30. Kidd K.K., Pakstis A.J., Speed W.C., Lagace R., Chang J., Wootton S., Ihuegbu N. Microhaplotype loci are a powerful new type of forensic marker. *Forensic Science International Genetics Supplement Series.* 2013. V.4(1). e123-e124. DOI: 10.1016/j.fsigss.2013.10.063
31. Kidd KK, Pakstis AJ, Speed WC, Lagacé R, Chang J, Wootton S, Haigh E, Kidd JR. Current sequencing technology makes microhaplotypes a powerful new type of genetic marker for forensics. *Forensic Science International: Genetics.* 2014. V. 12. P. 215-224. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.06.014
32. Kidd K.K., Pakstis A.J., Speed W.C., Lagace R., Wootton S., Chang J. Selecting microhaplotypes optimized for different purposes. *Electrophoresis.* 2018. V.39(21). P.2815-2823. doi: 10.1002/elps.201800092
33. Kidd K.K., Speed W.C. Criteria for selecting microhaplotypes: mixture detection and deconvolution. *Investig Genet.* 2015. V.6:1. doi: 10.1186/s13323-014-0018-3
34. Kidd KK, Speed WC, Pakstis AJ, Podini DS, Lagacé R, Chang J, Wootton S, Haigh E, Soundararajan U. Evaluating 130 microhaplotypes across a global set of 83 populations. *Forensic Science International: Genetics.* 2017. V. 29. P. 29-37. doi: 10.1016/j.fsigen.2017.03.014
35. Kidd K.K., Speed W.C., Wootton S., Lagace R, Langit R., Haigh E., Chang J., Pakstis A.J. Genetic markers for massively parallel sequencing in forensics. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series.* 2015. V.5.P. e677-e679. doi: 10.1016/j.fsigss.2015.12.004
36. Kureshi A., Li J., Wen D., Sun S., Yang Z., Zha L. Construction and forensic application of 20 highly polymorphic microhaplotypes. *Royal Soc. Open Sci.* 2020. V.7(5). P.191937. doi: 10.1098/rsos.191937
37. Levy S., Sutton G., Ng P.C., Feuk L., Halpern A.L., Walenz B.P., Axelrod N., Huang J., Kirkness E.F., Denisov G., Lin Y., MacDonald J.R., Pang A.W., Shago M., Stockwell T.B., Tsiamouri A., Bafna V., Bansal V., Kravitz S.A., Busam D.A., Beeson K.Y., McIntosh T.C., Remington K.A., Abril J.F., Gill J., Borman J., Rogers Y.H., Frazier M.E., Scherer S.W., Strausberg R.L., Venter J.C. The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biol.* 2007. V.5(10). e254. doi: 10.1371/journal.pbio.0050254
38. Li W.H., Sadler L.A. Low nucleotide diversity in man. *Genetics.* 1991. V.129(2). P.513-523.
39. Li Z., Yang J., Liang W., Zhang L., Chen F., Chen P. Application of MHanalyser software in the study of microhaplotypes in forensics. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series.* 2019. V.7(1). P.271-273. doi: 10.1016/j.fsigss.2019.09.104
40. Mustafin R.N., Khusnutdinova E.K. COVID-19 mysteries and possible ways of their solution. *Herald of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan.* 2020. V.35(2). P.92-101. DOI: 10.24411/1728-5283-2020-10211 (In Russian)
41. Novroski N.M.M., Wendt F.R., Woerner A.E., Bus M.M., Coble M., Budowle B. Expanding beyond the current core STR loci: An exploration of 73 STR markers with increased diversity for enhanced DNA mixture deconvolution. *Forensic Sci Int Genet.* 2019. V.38. P.121-129. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.10.013
42. Oldoni F., Kidd K.K., Podini D. Microhaplotypes in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet.* 2019. V.38. P.54-69. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.09.009
43. Pakstis A.J., Fang R., Furtado M.R., Kidd J.R., Kidd K.K. Mini-haplotypes as lineage informative SNPs and ancestry inference SNPs. *Eur. J. Hum. Genet.* 2012. V.20(11). P.1148-1154. doi: 10.1038/ejhg.2012.69
44. Pang J-B., Rao M., Chen Q-F., Ji A-Q., Zhang C., Kang K-L., Wu H., Ye J., Nie S-J., Wang L. A 124-plex Microhaplotype Panel Based on Next-generation Sequencing Developed for Forensic Applications. *Sci. Rep.* 2020. V.10(1). P.1945. doi: 10.1038/s41598-020-58980-x
45. Pendleton M., Sebra R., Pang A.W., Ummat A., Franzen O., Rausch T., Stütz A.M., Stedman W., Anantharaman T., Hastie A., Dai H., Fritz M.H., Cao H., Cohain A., Deikus G., Durrett R.E., Blanchard S.C., Altman R., Chin C.S., Guo Y., Paxinos E.E., Korb J.O., Darnell R.B., McCombie W.R., Kwok P.Y., Mason C.E., Schadt E.E., Bashir A. Assembly and

- diploid architecture of an individual human genome via single-molecule technologies. *Nat. Methods*. 2015. V.12(8). P.780-786. doi: 10.1038/nmeth.3454
46. Petersdorf E.W. In celebration of Ruggero Ceppellini: HLA in transplantation. *HLA*. 2017. V.89(2). P.71-76. doi: 10.1111/tan.12955
47. Soifer I., Fong N.L., Yi N., Ireland A.T., Lam I., Sooknah M., Paw J.S., Peluso P., Concepcion G.T., Rank D., Hastie A.R., Jojic V., Ruby J.G., Botstein D., Roy M.A. Fully phased sequence of a diploid human genome determined de novo from the DNA of a single individual. *G3 (Bethesda)*. 2020. Jul 6;g3.400995.2019. doi: 10.1534/g3.119.400995
48. Stephens M., Donnelly P. A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am. J. Hum. Genet.* 2003. V.73(5). P.1162-1169. doi: 10.1086/379378
49. Stephens M., Smith N.J., Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V.68(4). P.978-989. doi: 10.1086/319501
50. Sun S., Liu Y., Li J., Yang Z., Wen D., Liang W., Yan Y., Yu H., Cai J., Zha L. Development and application of a nonbinary SNP-based microhaplotype panel for paternity testing involving close relatives. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2020. V.46. P.102255. doi: 10.1016/j.fsigen.2020.102255
51. Turchi C., Melchionda F., Pesaresi M., Tagliabracci A. Evaluation of a microhaplotypes panel for forensic genetics using massive parallel sequencing technology. *Forensic Sci Int Genet.* 2019. V.41. P.120-127. doi: 10.1016/j.fsigen.2019.04.009
52. van der Gaag K.J., de Leeuw R.H., Laros J.F.J., den Dunnen J.T., de Knijff P. Short hypervariable microhaplotypes: A novel set of very short high discriminating power loci without stutter artefacts. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2018. V.35. P.169-175. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.05.008
53. Venter J.C. Multiple personal genomes await. *Nature*. 2010. V.464(7289). P.676-677. doi: 10.1038/464676a
54. Voskoboinik L., Motro U., Darvasi A. Facilitating complex DNA mixture interpretation by sequencing highly polymorphic haplotypes. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2018. V.35. P.136-140. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.05.001
55. Wang H., Zhu J., Zhou N., Jiang Y., Wang L., He W., Peng D., Su Q., Ma J., Chen D., Liang W., Zhang L. NGS technology makes microhaplotype a potential forensic marker. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2015. V.5. P. e233-e234. doi: 10.1016/j.fsigs.2015.09.093
56. Zhang C., Cao Y-D., Song J-J., Rao M., Nie S-J., Zhang G-F., Kang, K-L., Ji A-Q., Ye J., Wang L. MHTyper: a microhaplotype allele-calling pipeline for use with next generation sequencing data. *Australian Journal of Forensic Sciences*. 2019. doi: 10.1080/00450618.2019.1699956
57. Zhang R., Tan Y., Jian H., Qu S., Liu Y., Zhu J., Wang L., Lv M., Liao M., Zhang L., Yang F., Liang W. A new approach to detect a set of SNP-SNP markers: Combining ARMS-PCR with SNaPshot technology. *Electrophoresis*. 2020. V.41(13-14). P.1189-1197. doi: 10.1002/elps.202000009
58. Zhu J., Chen P., Qu S., Wang Y., Jian H., Cao S., Liu Y., Zhang R., Lv M., Liang W., Zhang L. Evaluation of the microhaplotype markers in kinship analysis. *Electrophoresis*. 2019. V.40(7). P.1091-1095. doi: 10.1002/elps.201800351
59. Zhu J., Long B., Qu S., Yin L., He W., Mao J., Wang H., Zhang L., Jin B., Chen D., Liang W. A new proposed nomenclature for microhaplotypes. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2019a. V.7(1). P. 813-815. doi: 10.1016/j.fsigs.2019.10.186
60. Zhu J., Lv M., Zhou N., Chen D., Jiang Y., Wang L., He W., Peng D., Li Z., Qu S., Wang Y., Wang H., Luo H., An G., Liang W., Zhang L. Genotyping polymorphic microhaplotype markers through the Illumina(®) MiSeq platform for forensics. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2019b. V.39. P.1-7. doi: 10.1016/j.fsigen.2018.11.005
61. Zhu J., Zhou N., Jiang Y., Wang L., He W., Peng D., Su Q., Mao J., Chen D., Liang W., Zhang L., FLfinder: A novel software for the microhaplotype marker. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2015. V.5. P. e622-e624. doi: 10.1016/j.fsigs.2015.10.002