

贵州地区汉族人群 *TH01*、*TPOX*、*CSF1PO* 基因座的遗传多态性

周 强, 吴思鹁, 喻 芳, 何荣跃

(贵州省计划生育科研所, 贵阳 550004)

摘 要: 为了解贵州地区汉族群体中 *TH01*、*TPOX*、*CSF1PO* 基因座的遗传多态性, 获得这 3 个基因座的群体遗传学数据和法医学相关数据。采自贵州地区汉族无关个体的 110 份 EDTA 抗凝血样用 Chelex 法提取 DNA, 应用 PCR 复合扩增技术扩增样本后, 聚丙烯酰胺凝胶电泳分型。对 3 个 STR 基因座的等位基因频率进行了调查分析, 并与其他汉族人群的等位基因频率进行了比较。在贵州汉族群体中, 3 个基因座的基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。3 个 STR 基因座总个体识别率为 0.9986, 累积非父排除率为 0.832。表明这 3 个基因座在法医学个体识别及亲子鉴定中是很有价值的遗传标记系统。

关键词: 短串重复序列; 聚合酶链反应; 遗传多态性

中图分类号: Q987

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2004)01-0031-04

Genetic Polymorphisms of STR Loci *TH01*、*TPOX*、*CSF1PO* in Guizhou Han Population

ZHOU Qiang, WU Si-Kun, YU Fang, HE Rong-Yue

(Family Planning Institute of Guizhou, Guiyang 550004, China)

Abstract: To understand the genetic polymorphism at *TH01*, *TPOX*, *CSF1PO* STR loci for Han population in Guizhou Province, and construct a preliminary database, EDTA-blood specimens were collected from the 110 unrelated individuals in Han population from Guizhou. The DNA samples were extracted with Chelex method and amplified by multiplex polymerase chain reaction. The PAGE was used to type the PCR products. The allele frequencies were compared with other Han populations. The genotype distributions of *TH01*, *TPOX* and *CSF1PO* were in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium. The combined PD and PE were 0.9986 and 0.832 respectively. All of the three loci in this study provide useful marker for forensic paternity test and individual identification.

Key words: short tandem repeats(STR); PCR; genetic polymorphism

短串联重复序列(STR)由 3~7 个 bp 作为核心单位串联重复形成的一类 DNA 序列, 由核心单位重复数目的变化构成了 STR 基因座的长度多态性。在人类基因组中, 平均每隔 15kb 就有 1 个 STR 基因座, 具有分布广泛, 信息量大, 多态性高并遵循孟德尔共显性遗传等特点。提供了丰富的遗传标记来

源^[1]。应用聚合酶链反应(PCR)技术可获得 STR 基因座的多态片断。20 世纪 90 年代以来, STR 多态基因座已成为一类重要的遗传标记系统, 它不仅可以用作绘制基因组遗传图谱和遗传连锁分析的标尺, 而且可用于法医学个体识别、亲子鉴定及群体遗传学的研究。

收稿日期: 2002-12-09; 修回日期: 2003-03-27

基金项目: 贵州省科技基金(1997-133)[Fund of science and technology in Guizhou]

作者简介: 周 强(1965-), 男, 助理研究员, 专业: 医学遗传学。Tel: 0851-6839944; E-mail: gyzzq@vip.sina.com

THOI 是位于人类染色体 11p15~15.5 酪氨酸羟化酶基因内含子 1 内的一个多态性 STR 基因座, *TPOX* 是位于人类染色体 2p25.1~ter 甲状腺过氧化物酶基因内的一个多态性 STR 基因座, *CSFIPO* 是位于人类染色体 5p33.3~34 基因内的一个多态性 STR 基因座。为了丰富 *THOI*、*TPOX*、*CSFIPO* 基因座在我国群体的遗传多态性资料, 我们调查了贵州汉族群体 110 名无关个体, 获得了该群体 3 个基因座的基因型及等位基因频率。

1 材料和方法

1.1 血样

110 份 EDTA 抗凝血采自贵州省的无血缘关系的汉族个体。

1.2 DNA 提取

用 Chelex 法^[2]提取 DNA。

1.3 PCR 扩增

使用 Promega 公司的药盒 (CTT Multiplex) 进行复合扩增。PCR 扩增在 25 μ L 总体积中进行。10XSTR 缓冲液 2.5 μ L (含 dNTP), 引物 2.5 μ L, DNA Taq 酶 1U。2 μ L DNA 模板 (约 50~100g)。96 $^{\circ}$ C 预变性 2 min 后, 94 $^{\circ}$ C 1 min, 64 $^{\circ}$ C 1 min, 70 $^{\circ}$ C 5 min, 循环 10 次, 然后 90 $^{\circ}$ C 1min, 64 $^{\circ}$ C 1 min, 70 $^{\circ}$ C 1.5min, 循环 20 次。

1.4 电泳分离

7% 聚丙烯酰胺凝胶 (Acr : Bis = 19 : 1), 含 7mol/L 尿素, 制成胶板, 预电泳 30 min。取 2.5 μ L 样品加上 2.5 μ L 上样缓冲液, 混匀, 于 96 $^{\circ}$ C 变性 2 min, 立即放入冰水中, 上样, 电泳缓冲液为 0.5XTBE。恒功率为 40W, 1.5h。

1.5 银染显色

用 10% 乙醇, 5% 冰醋酸固定凝胶 30 min。蒸馏水洗 2 次; 加入 1% 硝酸 4 min。洗胶, 加入 0.2% 硝酸银染液 30 min。蒸馏水快速洗胶, 置于显色液中 (1mL 37% 甲醛, 30g 碳酸钠, 加水至 1L), 显色至清楚。固定干胶保存。

1.6 数据分析

群体数据的 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验按文献[3]方法进行。观察值为零的基因型合并为一组, 按 Nei 分式计算期望杂合度, 用 Fisher 公式计算个人识别机率。

2 结果

2.1 基因频率及基因型分布

表 1 列出了 3 个基因座在贵州地区汉族群体的基因型观察值及等位基因频率, 按文献[3]的方法进行 χ^2 检验, 结果表明, 各基因座基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。

表 1 贵州汉族群体 3 个 STR 位点基因型分布及基因频率
Table 1 The distributions of allele and genotype at 3 STR loci in Han population in Guizhou

基因座 Locus	等位基因 Allele	基因型 Genotype						等位基因数 Observed allele counts	基因频率 Frequency	
<i>THOI</i> (n=110)	6	7	8	9	9	3	10			
	6	3	8	2	9	2	3	30	0.136	
	7		8	7	23	2	4	60	0.273	
	8			2	4	0	0	17	0.077	
	9				21	0	9	88	0.400	
	9.3					2	0	7	0.032	
	10						1	18	0.082	
<i>TPOX</i> (n=110)		7	8	9	10	11	12	13		
	7	3	2	0	2	0	0	0	10	0.045
	8		20	10	2	30	3	0	87	0.395
	9			3	3	10	0	0	29	0.132
	10				0	3	0	0	10	0.045
	11					17	0	2	79	0.359
	12						0	0	3	0.014
13							0	2	0.009	
<i>CSFIPO</i> (n=110)		8	9	10	11	12	13	14		
	8	0	3	2	2	0	0		7	0.032
	9		0	6	2	4	2	0	17	0.077
	10			3	10	15	6	0	45	0.205
	11				7	15	10	2	55	0.250
	12					8	8	2	60	0.273
	13						3	0	32	0.145
14							0	4	0.018	

2.2 群体法医遗传学值

表 2 显示由 3 个 STR 基因座贵州地区汉族群体等位基因频率所得出的法医遗传学理论值。3 个基因座在贵州地区汉族人群中等位基因频率分布均匀。它们的累积非父排除概率及累积个人识别概率分别为 0.832 和 0.9986。

2.3 不同地区的基因频率

图 1、图 2、图 3 比较了 4 个地区的汉族群体的 *THOI*、*TPOX*、*CSFIPO* 基因座的基因频率。

表 2 贵州汉族 3 个 STR 基因座法医遗传学指标

Table 2 The signification of 3 STR locus for Forensic Genetics in Guizhou Han population

基因座 Locus	等位基因数 Allele counts	匹配概率 Pm	非父排除率 PE	个体识别率 PD	多态信息总量 PIC
<i>CSFIPO</i>	7	0.080	0.616	0.920	0.76
<i>TPOX</i>	7	0.153	0.302	0.847	0.64
<i>THOI</i>	6	0.114	0.374	0.886	0.70
累积值 Total		0.0014	0.832	0.9986	

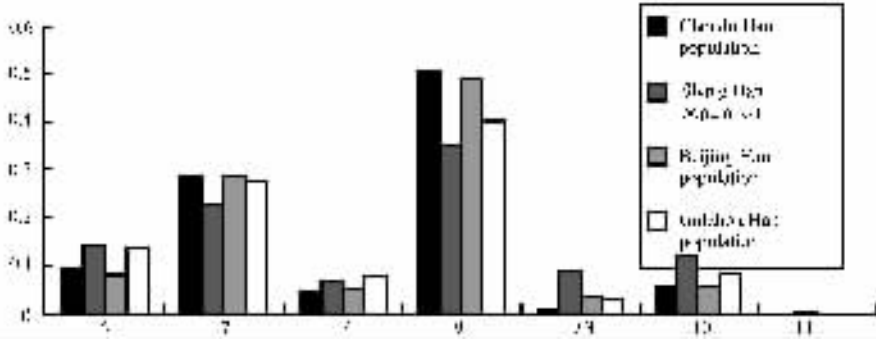


图 1 不同人群 *THOI* 基因座的等位基因频率

Fig. 1 Allele frequencies of *THOI* loci among Han population in Guizhou and other population

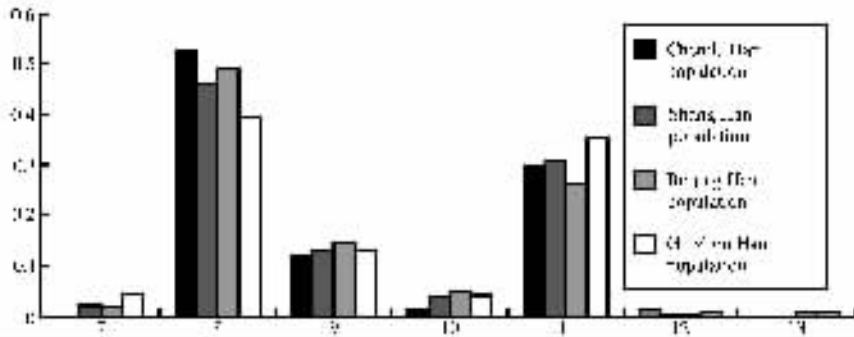


图 2 不同人群 *TPOX* 基因座的等位基因频率

Fig. 2 Allele frequencies of *TPOX* loci among Han population in Guizhou and other population

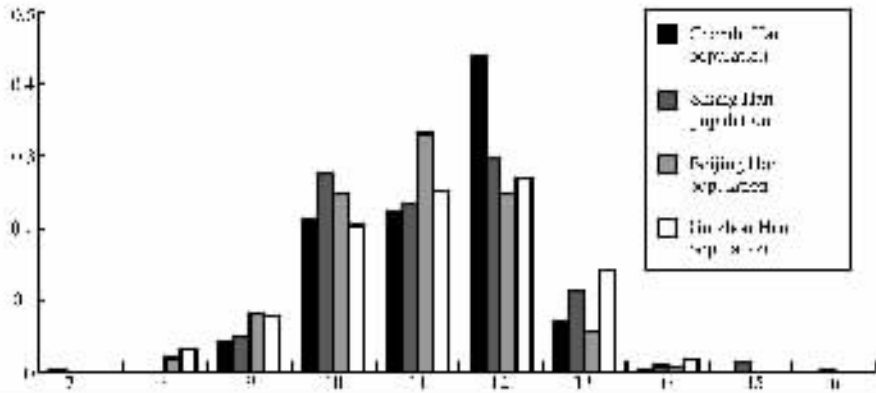


图 3 不同人群 *CSFIPO* 基因座的等位基因频率

Fig. 3 Allele frequencies of *CSFIPO* loci among Han population in Guizhou and other population

3 讨 论

短串联重复序列 (STR) 多态性遗传标记在人类学、法医学、民族学等领域越来越显示出重要的应用价值,是近年来法医学中亲权鉴定与个体识别研究的热点^[4~8]。

我们研究的 3 个 STR 基因座均为四核苷酸简单重复序列, *THOI* 基因座的重复单位是 AATG, 其多态性片断长度范围为 179~203bp。 *TPOX* 基因座为 AATG, 其多态性片断长度范围为 224~252bp。 *CSFIPO* 基因座为 AGAT, 其多态性片断长度范围为 295~327bp。这 3 个基因座的已知等位基因长度范围互不交叉,可以在一块凝胶板上进行检测。因此,这 3 个基因座进行复合扩增,既提高了扩增检测的效率,又在短时间内得到分型结果。对 3 个基因座的分型结果作 χ^2 检验,各基因座基因型的观察值与期望值吻合良好,符合 Hardy-Weinberg 平衡。

本文结果与侯一平、平原等、刘雅诚等^[9~11] 分别在上海汉族人群、北京汉族人群、成都汉族人群对这 3 个位点所作的调查结果进行比较。 *THOI*、 *TPOX*、 *CSFIPO* 基因座在贵州地区、成都地区、北京地区、上海地区汉族人群中的基因频率分布无显著性差异。

根据本次结果计算出贵州汉族人群在 3 个基因座的杂合度、多态信息含量、非父排除率、个体识别力,由于 3 个基因座分别位于 11 号、2 号和 5 号染色体,无连锁遗传关系,按照乘法原则计算这 3 个基因座联合个体识别率为 0.9986,累积非父排除率为 0.832,表明这 3 个基因座在法医学个体识别和亲权鉴定中具有很高实用价值。

参 考 文 献 (References):

[1] Edwards A T, Civitello A, Hammond H A. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet*, 1991, 50(5): 746~751.

[2] Walsh P S, Metzger D A, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 1991, 10: 506~513.

[3] Hou Y, Prinz M, Staak M. Comparison of different tests for de-

riation from Hardy-Weinberg equilibrium of AMPFLP population data. In: Bar W, Fiori A, Rossi U, eds. *Advances in Forensic Haemogenetics 5*. Berlin Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1993, 511~514.

- [4] Hammond H A, Li Jing, Zhong Y. Evaluation of 13 short tandem repeat loci for use in personal identification applications. *Am J Hum Genet*, 1994, 55(2): 175~182.
- [5] Kimpton C P, Oldroyd N T, Watson S K. Validation of highly discriminating multiplex short tandem repeat amplification systems for individual identification. *Electrophoresis*, 1996, 17(8): 1283~1293.
- [6] Hou Y, Gill P, Schmitt C. Population genetics of three STR polymorphisms in a Chinese population. In: *Advances in forensic Haemogenetics 5*. Berlin Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1993, 508~510.
- [7] HOU Yi-Ping, GOU Qing, WU Mei-Yun, Michael S, Methihold P. Population genetics of short tandem repeat locus *HUMTHOI*. *Acta Genetica Sinica*, 1996, 23(3): 174~182.
侯一平, 苟清, 吴梅筠, Michael S, Methihold P. 人类短串联重复系列 *HUMTHOI* 基因座的遗传多态性. *遗传学报*, 1996, 23(3): 174~182.
- [8] ZOU Lang-Ping, YANG Yan, CHU Jia-You, SHEN Bin, LI De-Lin. Distribution of *CSFIPO*, *TPOX* and *THOI* loci in Han Chinese. *Acta Genetica Sinica*, 1998, 25(3): 199~204.
邹浪萍, 杨燕, 褚嘉祐, 申滨, 李德林. 多重 PCR 检测 *CSFIPO*, *TPOX* 和 *THOI* 基因座在中国汉族中的多态性. *遗传学报*, 1998, 25(3): 199~204.
- [9] HOU Yi-Ping, LI Ying-Bi, TANG Jian-Pin, WU Jin, ZHANG Si-Zhong. Genetic polymorphisms of eight STR loci in a Chinese Han population. *Chin J Med Genet*, 2000, 17(4): 236~240.
侯一平, 李英碧, 唐剑频, 吴谨, 张思仲. 成都汉族群体八个 STR 基因座遗传多态性研究. *中华医学遗传学杂志*, 2000, 17(4): 236~240.
- [10] PING Yuan, GU Li-Hua, ZHOU Huai-Gu. The distribution of nine STR locis in Shanghai population. *STR Polymorphisms in Application of Forensic Science*. Beijing, 2000: 24~25.
平原, 顾丽华, 周怀谷. STR 系统九个位点在上海地区人群中的频率分布. *STR 多态检验在法医学应用研究论文集*. 2000: 24~25.
- [11] LIU Ya-Cheng, HUO Zhen-Yi, TANG Hui, YANG Jian, JIA Shu-Qin, MA Wan-Shan. Distribution and application in forensic medicine of nine STR loci in Beijing Han population. *Chin J Foren Med*, 1998, 13: 210~212.
刘雅诚, 霍振义, 唐晖, 杨剑, 贾淑琴, 马万山. 北京汉族群体 9 个 STR 位点的频率分布及法医学应用. *中国法医学杂志*, 1998, 13: 210~212.