

DOI: 10.1360/yc-007-0180

## 云南纳西族 10 个 X-STR 基因座遗传多态性研究

陈腾, 辛娜, 朱俊艳, 余兵, 金天博, 李生斌

西安交通大学医学院法医系, 西安 710061

**摘要:** 为研究云南纳西族人群 10 个位于 X 染色体的短串联重复序列基因座及单倍型的遗传多态性, 采用 PCR 扩增, 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳结合银染显色分型技术, 对 98 名云南纳西族无关男性个体 X 染色体的 10 个 STR 基因座进行基因分型。结果显示, 98 名无关男性个体中, DXS7423、DXS7424、DXS6799、DXS7133、DXS6804、DXS8378、HPRTB、DXS7130、DXS7132 和 DXS6789 分别检出 4、7、6、3、6、5、5、7、6 和 8 个等位基因, 等位基因频率分布在 0.0102(DXS7132、DXS6789)~0.7347(DXS7133)之间。由 DXS8378 与 DXS7130 基因座组成的单倍型共检出 20 种, 由 DXS6789、DXS6799 和 DXS7424 基因座组成的单倍型共检出 56 种, 单倍型多样性分别为 0.8553 和 0.9649, 说明所选的 10 个 X-STR 位点有较高的多态性信息, 在基因组多样性研究、法医学个体识别、亲权鉴定中具有重要应用价值。

**关键词:** X 染色体; 短串联重复序列; 遗传多态性; 单倍型; 中国纳西族

## Genetic polymorphism of ten X-STR loci in naxi population

CHEN Teng, XIN Na, ZHU Jun-yan, YU Bing, JIN Tan-Bo, LI Sheng-Bin

Department of Forensic Medicine, Xi'an Jiaotong University School of Medicine, Xi'an 710061, China

**Abstract:** We studied the genetic polymorphism and haplotypes of ten short tandem repeats (STR) loci on the X chromosome in Yunnan Naxi population. Genotyping and detection of PCR products from the ten X-STRs were carried out on denaturing polyacrylamide gel electrophoresis followed by silver staining. The results revealed that among 98 males from Yunnan Naxi population, the number of alleles in the 10 loci (DXS7423, DXS7424, DXS6799, DXS7133, DXS6804, DXS8378, HPRTB, DXS7130, DXS7132 and DXS6789) were 4, 7, 6, 3, 6, 5, 5, 7, 6 and 8, respectively. Gene frequencies ranged from 0.0102 (DXS7132 and DXS6789) to 0.7347 (DXS7133). A total of 20 haplotypes were detected in DXS8378 and DXS7130 loci, and 56 haplotypes were detected in DXS6789, DXS6799 and DXS7424 loci. The haplotype diversity reached 0.8553 and 0.9649, respectively. In conclusion, the 10 X-STR loci are relatively abundant in polymorphic information for forensic identification, paternity testing and for genetic population studies.

**Keywords:** X-chromosome; short tandem repeat; genetic polymorphism; haplotype; Chinese Naxi population

位于X染色体的STR由于其独特的遗传方式, 在法医学领域有其独特的应用优势, 已引起了法医工作者的注意<sup>[1, 2]</sup>。但是, 由于目前X-STR基因座的

数量有限, 其群体分布、突变率、连锁平衡和基因结构变异等方面的信息尚不够丰富<sup>[3]</sup>, 因此, 寻求适合我国不同民族的特异性X-STR基因座, 进而对

收稿日期: 2006-05-22; 修回日期: 2006-08-16

基金项目: 教育部科技基础资源数据平台建设项目“中华民族群体遗传资源数据整合共享平台(编号: 505015)”; 陕西省科技攻关项目(编号: 2004K09-G12)[Supported by the Platform Construction Projects of Chinese Education Ministry for Sciences and Technological Fundamental Resources Data: “Integrated and Participatory Data Platform for Chinese Population Genetic Resources” (No. 505015) and Shaanxi Key Project of Science and Technology(No. 2004K09 - G12)]

作者简介: 陈腾(1965—), 男, 陕西富平人, 副教授, 博士, 研究方向: 法医遗传学研究。Tel: 029-82657977; E-mail: [chenteng@mail.xjtu.edu.cn](mailto:chenteng@mail.xjtu.edu.cn)

通讯作者: 李生斌(1958—), 男, 陕西临潼人, 教授, 博士, 研究方向: 法医遗传学研究。Tel: 029-82656244; E-mail: [shbinlee@mail.xjtu.edu.cn](mailto:shbinlee@mail.xjtu.edu.cn)

更多群体的X染色体STR 基因座多态性进行研究很有必要。本文对我国云南纳西族群体X染色体上的 10 个STR基因座及其单倍型的遗传多态性进行了研究, 获得了相关的遗传多态性数据, 不仅为进一步的法医学和群体遗传学应用研究奠定了基础, 而且是本实验室既往对纳西族常染色体STR遗传结构研究<sup>[4]</sup>的重要补充。

## 1 材料和方法

### 1.1 血样

在云南省丽江地区采集 98 名纳西族男性个体血样, 彼此间无亲缘关系, 身体健康, 追溯 3 代均为该族成员。血样 EDTA 抗凝, -80 保存。

### 1.2 DNA 提取

用Chelex-100 法快速提取DNA<sup>[5]</sup>。

### 1.3 引物

全部引物由北京奥科生物有限公司合成(表 1)。

### 1.4 PCR 扩增

常规PCR扩增(表 1), 反应总体积为 12  $\mu$ L, 含 2  $\times$  Taq PCR MasterMix 6  $\mu$ L(由天为时代公司提供), 引物 1.5  $\mu$ L, DNA模板 2  $\mu$ L, H<sub>2</sub>O 1  $\mu$ L。

### 1.5 PCR 扩增产物分型

采用 6%变性聚丙烯酰胺凝胶(Acr:Bis=19:1)垂直电泳分离 PCR 产物, 电极缓冲液 1  $\times$  TBE, 先预电

泳 1 h, 加样前 95 10 min 变性PCR产物, 将加有 1/5 体积上样缓冲液(0.25%溴酚蓝, 0.25%二甲苯青, 98%的甲酰胺)的PCR 扩增产物 3  $\mu$ L上样, 间隔上样实验室自制的等位基因标准Ladder<sup>[5]</sup>。上样后恒功率 40 W, 电泳 2~3 h, 停泳后乙酸固定, 硝酸银染色, 无水碳酸钠显色, 乙酸停显。

## 1.6 数据处理

直接计数法观察各位点的等位基因频率和单倍型频率, 计算多态信息量 PIC(polymorphism information content)、个体识别率DP(discrimination power)及单倍型多样性HD(haplotype diversity)<sup>[6]</sup>:  $(n/n-1)(1-\sum P_i^2)$ ,  $P_i$ 为第*i*个单倍型频率,  $n$ 为样本数。

## 2 结果

### 2.1 等位基因频率分布

98 名被检云南纳西族无关男性个体中, 在 DXS7423、DXS7424、DXS6799、DXS7133、DXS6804、DXS8378、HPRTB、DXS7130、DXS7132 和 DXS6789 基因座分别检出 4、7、6、3、6、5、5、7、6 和 8 个等位基因, 等位基因频率分布见表 2。

### 2.2 单倍型频率分布

由 DXS8378 与 DXS7130 基因座组成的单倍型共检出 20 种, 由 DXS6789、DXS6799 和 DXS7424 基因座组成的单倍型共检出 56 种, 单倍型多样性分别为 0.8553 和 0.9649(表 3 和表 4)。

表 1 10 个 X-STR 位点引物序列及扩增条件

Table 1 Primer sequences and PCR conditions of 10 X-STR loci

名称 Names	引物序列 Primer sequence(5'→3')	扩增条件 PCR conditions			
DXS7130	Forward: CTGCAAGCCATTTGGAATAT Reverse: TCCTAGGACTGGGAAAGGAC	94	45 s, 57	45 s, 72	60 s; 30cycles
DXS7132	Forward: AGCCATTTTCATAATAAATCC Reverse: AATCAGTGCTTTCTGTACTATTGG	94	45 s, 56	45 s, 72	60 s; 32cycles
DXS7133	Forward: GCTTCCTTAGATGGCATCA Reverse: CTTCCAAGAATCAGAAGTCTCC	94	45 s, 58	45 s, 72	60 s; 30cycles
DXS6804	Forward: CCCAGATATTTGACCA Reverse: GGCATGTGGTTGCTATAACC	94	45 s, 62	45 s, 72	60 s; 30cycles
DXS8378	Forward: CACAGGAGTTTGACCTGTT Reverse: AACTGAGATGGTGCCACTGA	94	30 s, 61	45 s, 72	60 s; 30cycles
DXS7424	Forward: CTGCTTGAGTCCAGGAATTC Reverse: GAACACGCACATTTGAGAACATA	94	45 s, 57	45 s, 72	60 s; 30cycles
DXS7423	Forward: TAGCTTAGCGCCTGGCACATA Reverse: GTCTCCTGTCAITCCCAAC	94	45 s, 56	45 s, 72	60 s; 32cycles
DXS6789	Forward: TTGGTACTTAATAAACCTCTTTT Reverse: CTAGAGGGACAGAACCAATAGG	94	45 s, 58	45 s, 72	60 s; 30cycles
DXS6799	Forward: ATGAATTCAGAATTATCCTCATAAC Reverse: GAACCAACCTGCTTTTCTGA	94	45 s, 62	45 s, 72	60 s; 30cycles
HPRTB	Forward: ATGCCACAGATAATACACATCCCC Reverse: CTCTCCAGAATAGTTAGATGTAGG	94	30 s, 61	45 s, 72	60 s; 30cycles

表 2 云南纳西族男性 10 个 X-STR 位点等位基因频率(n=98)

Table 2 Allele frequencies of 10 X-STR loci in males from Yunnan Naxi population (n=98)

Allele	DXS7423	DXS7424	DXS6799	DXS7133	DXS6804	DXS8378	HPRTB	DXS7130	DXS7132	DXS6789
8	-	-	0.0408	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	0.0714	0.7347	-	0.0204	-	-	-	-
10	-	-	0.2653	0.2041	0.0306	0.4388	-	-	-	-
11	-	-	0.4898	0.0612	0.2245	0.3776	-	0.1020	0.0102	-
12	-	0.0306	0.1122	-	0.2143	0.1429	-	0.1939	0.1939	-
13	0.0306	-	0.0204	-	0.3061	0.0204	0.1020	0.0408	0.1531	-
13.3	-	-	-	-	-	-	-	0.0204	-	-
14	0.3878	0.0408	-	-	0.1429	-	0.1633	-	0.4592	-
14.3	-	-	-	-	-	-	-	0.0204	-	-
15	0.5204	0.2041	-	-	0.0816	-	0.4898	-	0.1429	-
15.3	-	-	-	-	-	-	-	0.5714	-	-
16	0.0612	0.3469	-	-	-	-	0.2245	-	0.0408	-
16.3	-	-	-	-	-	-	-	0.0510	-	-
17	-	0.3367	-	-	-	-	0.0204	-	-	-
18	-	0.0204	-	-	-	-	-	-	-	0.2857
19	-	0.0204	-	-	-	-	-	-	-	0.1837
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0102
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0408
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1531
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2143
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0816
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0306
DP	0.3402	0.5006	0.4653	0.4159	0.5917	0.4029	0.4662	0.4571	0.5055	0.6328
PIC	0.4887	0.6725	0.6237	0.3655	0.7483	0.5744	0.6257	0.5844	0.6663	0.7787

PIC: 多态信息量; DP: 个体识别率。

PIC: Polymorphism information content; DP: Discrimination power.

表 3 云南纳西族男性 DXS8378 和 DXS7130 两个基因座单倍型频率(n=98)

Table 3 Haplotype frequencies of the loci DXS8378 and DXS7130 in males from Yunnan Naxi population (n=98)

No.	单倍型 Haplotype	频率 Frequency	No.	单倍型 Haplotype	频率 Frequency
1	9/12	0.0101	11	12/11	0.0202
2	11/13.3	0.0202	12	11/16.3	0.0202
3	10/13	0.0303	13	13/15.3	0.0101
4	11/12	0.0707	14	9/11	0.0101
5	11/15.3	0.2323	15	11/13	0.0101
6	10/15.3	0.2323	16	12/12	0.0101
7	10/11	0.0505	17	10/16.3	0.0101
8	12/16.3	0.0202	18	10/14.3	0.0202
9	10/12	0.0909	19	11/11	0.0202
10	12/15.3	0.0909	20	12/13	0.0101

HD: 单倍型多样性=0.8553。

HD: Haplotype diversity=0.8553.

### 3 讨论

纳西族是我国云南特有的少数民族之一, 2000 年第 5 次全国人口普查人口为 30.88 万人, 主要聚居在云南省丽江地区。纳西族历史悠久, 有自己的民族语言和文字, 即纳西语和东巴文, 纳西语属汉藏语系藏缅语族彝语支。一般认为纳西族在族源上属古代羌人向南迁徙的一个支系, 是旄牛羌人的后裔<sup>[2]</sup>。

X-STR 基因座广泛分布于真核基因组中, 高度稳定且有高的多态性, 遗传方式独特, 绝大多数 STR 位于非编码区, 不受选择压力的影响, 特别适用于法医学实践中在母方缺如(去世或失踪)情况下兄弟姐妹的亲权鉴定, 另外也可以作为性别的辅助鉴定, 研究 X-STR 基因座的多态性和分型方法已成为法医学研究的重要内容之一<sup>[8]</sup>。作为法医学上应

表 4 云南纳西族男性 DXS6789, DXS6799 和 DXS7424 三个基因座单倍型频率(n=98)

Table 4 Haplotype frequencies of loci DXS6789, DXS6799 and DXS7424 in males from Yunnan Naxi population (n=98)

No.	单倍型 Haplotype	频率 Frequency	No.	单倍型 Haplotype	频率 Frequency	No.	单倍型 Haplotype	频率 Frequency
1	23/11/16	0.0101	20	23/11/15	0.0404	39	18/11/18	0.0101
2	24/12/19	0.0101	21	19/11/15	0.0303	40	19/10/16	0.0101
3	22/11/17	0.0404	22	18/12/16	0.0202	41	19/10/17	0.0202
4	23/10/16	0.0606	23	22/12/17	0.0202	42	21/10/15	0.0101
5	22/11/15	0.0303	24	23/11/14	0.0101	43	19/9/17	0.0101
6	18/10/17	0.0303	25	19/12/16	0.0101	44	22/12/16	0.0101
7	18/11/16	0.0505	26	23/10/15	0.0202	45	22/11/16	0.0101
8	22/10/17	0.0101	27	23/9/12	0.0101	46	23/11/12	0.0101
9	25/9/17	0.0101	28	24/8/15	0.0101	47	21/10/17	0.0101
10	20/10/16	0.0101	29	25/11/16	0.0101	48	22/10/16	0.0101
11	24/11/17	0.0202	30	19/9/15	0.0101	49	24/9/16	0.0101
12	18/12/17	0.0202	31	24/10/16	0.0101	50	18/13/17	0.0101
13	22/8/15	0.0101	32	19/11/17	0.0303	51	22/10/15	0.0101
14	23/8/16	0.0202	33	23/11/17	0.0202	52	19/13/17	0.0101
15	25/11/18	0.0101	34	23/9/15	0.0101	53	18/9/16	0.0101
16	18/11/17	0.0404	35	18/11/15	0.0202	54	21/11/17	0.0101
17	18/10/14	0.0202	36	21/11/16	0.0101	55	19/11/19	0.0101
18	18/10/16	0.0303	37	24/12/17	0.0202	56	18/11/14	0.0101
19	19/11/16	0.0404	38	18/11/12	0.0101			

HD: 单倍型多样性=0.9649.

HD: Haplotype diversity=0.9649.

用的遗传标记, 不仅要具有较高的多态性, 而且更重要的是分型时能够得到清晰、明确的分型结果。本研究所选用的 10 个 X-STR 基因座的核心重复序列均为 3~4 个核苷酸, PCR 扩增结果稳定, 产生的附加带、影子带少, 容易分型, 符合法医学个体识别和亲权鉴定的实际应用要求。

遗传标记的多态性及其应用价值一般可用杂合度( $H$ )、多态信息含量( $PIC$ )、个体识别率( $PD$ )和非父排除率( $PPE$ )来衡量。本研究对 98 名云南纳西族无关个体 10 个 X-STR 基因座的分型结果发现, 在 DXS7423、DXS7424、DXS6799、DXS7133、DXS6804、DXS8378、HPRTB、DXS7130、DXS7132、DXS6789 10 个基因座共检出 57 个等位基因, 等位基因频率分布在 0.0102~0.7347 之间, 其中 DXS6789 检测到 8 个等位基因。在 98 名纳西族男性个体中, DXS6789 基因座的多态信息含量( $PIC$ )最高, 为 0.7787; 而 DXS7133 基因座的  $PIC$  为 0.3655; DXS7423 基因座的  $PIC$  为 0.4887, 均属多态性指标较低基因座。同时, 由于男性只有一条 X 染色体, 某 STR 基因座的银染结果只有一条带, 所能提供的信息有限, 所以在男性 2/3 X-STR 基因座的  $DP$  值小于 0.6。本研究结果中, DXS6789 基因座个体识别率( $DP$ )

最高, 为 0.6328; DXS8378、DXS7133 和 DXS7423 基因座的个体识别率( $DP$ )值比较低, DXS7423 基因座的  $DP$  最低, 为 0.3402。其中 DXS7133 和 DXS7423 基因座的  $PIC$ 、 $DP$  值均比较低, 提示其在法医学个体识别方面以及其他方面的应用价值较低。其余基因位点均属于多态性较高的基因位点, 完全可以满足法医学和群体遗传学等研究的要求。

X 染色体特异的 STR 在男性的基因组中呈单倍型形式存在, 并以单倍型遗传给女儿而不遗传给儿子<sup>[9]</sup>。位于同一染色体上的基因座之间, 往往具有连锁的关系<sup>[1]</sup>。观察发现, 位于同一染色体上物理距离小于 10 Mb 的标记多存在连锁关系。X 染色体从 p22 到 q28 的 STR 位点, 可以划分为 4 个连锁群。本文所选的 10 个 X-STR 位点分别属于 4 个连锁群, DXS7130 和 DXS8378 属于第一连锁群; DXS7132、DXS7424、DXS6789、DXS6799、DXS7133 和 DXS6804 属于第二连锁群; HPRTB 属于第三连锁群; DXS7423 属于第四连锁群。基因组作图信息显示 DXS7130 和 DXS8378 存在紧密连锁, 它们在 X 染色体上的位置(距 Xp 端粒的距离)分别为 4.15 Mb 和 8.78 Mb<sup>[10,11]</sup>。DXS6789 (103.56 cM)、DXS6799 (107.42 cM)、DXS7424 (104.9~121 cM) 之间也存在确切的连

锁关系<sup>[12]</sup>。以往的X-STR大多数是按单个基因座来报道。而在实际应用中(如姐妹亲权鉴定)需要的却是单倍型频率<sup>[13]</sup>。因此,我们以男性个体作为研究对象,分别调查了由DXS8378与DXS7130基因座以及DXS6789、DXS6799和DXS7424基因座所组成的单倍型频率,结果由DXS8378与DXS7130基因座组成的单倍型共检出20种,由DXS6789、DXS6799和DXS7424基因座组成的单倍型共检出56种,单倍型多样型分别为0.8553和0.9649,在法医学的个人识别和亲权鉴定上有较大的应用价值。

### 参考文献(References):

- [1] Szibor R, Krawczak M, Hering S, Edelmann J, Kuhlisch E, Krause D. Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int J Legal Med*, 2003, 117(2): 67-74.
- [2] Walsh BS, Petzger DA, Higuchi R. Chelex-100 as medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 1991, 10(6): 506-513.
- [3] YING Bin-Wu, SHI Mei-Sen, DENG Jian-Qiang, LI Ying-Bi, WU Jin, YAN Jing, ZHANG Ji, HOU Yi-Ping. Genetic polymorphism of 3 STR loci on chromosome X and its forensic application in Chinese Population. *Hereditas*(Beijing), 2004, 26(5): 603-606.  
应斌武, 石美森, 邓建强, 李英碧, 吴谨, 颜静, 张霁, 侯一平. DXS6804/DXS9896/GATA144D04 基因座在中国汉族群体中的遗传多态性及其法医学应用. *遗传*, 2004, 26(5): 603-606.
- [4] LAI Jiang-Hua, ZHANG Bao-Hua, ZHENG Hai-Bo, ZHU Bo-Feng, DENG Ya-Jun, LI Sheng-Bin. Genetic structure of STR in Naci Ethnic group in China. *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29(7): 565-570.  
赖江华, 张保华, 郑海波, 朱波峰, 邓亚军, 李生斌. 中国纳西族 STR 遗传结构研究. *遗传学报*, 2002, 29 (7): 565-570.
- [5] YU Bing, QIN Qun-Xia, YAN Jin-Cheng, ZHANG Hong-Bo, LI Sheng-Bin. Genetic polymorphisms of 6 STR loci on the X chromosome in Xi'an Han population. *Journal of Forensic Medicine*, 2005, 21(3): 188-191.  
余兵, 秦群霞, 闫金成, 张洪波, 李生斌. 西安汉族 X 染色体上 6 个 STR 位点的遗传多态性. *法医学杂志*, 2005, 21(3): 188-191.
- [6] Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press, 1987.
- [7] JIA Zong-Jian, PAN De-Jing, FU Yong-Gui, CHEN Wei-Min, LIU Ze-Huan, LIN Jiang-Hai, ZHU Yu-Fang, CHEN Rong-Xiang, FU Zhi-Yan, ZHOU Da-Ming, XU An-Long. HLA-DRB1 gene polymorphism of Naxi Ethnic group of Yunnan province, China and its ethnological evolution analysis. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28 (12): 1107-1115.  
贾宗剑, 潘德京, 付永贵, 陈为民, 刘泽寰, 林蒋海, 朱玉芳, 陈荣祥, 符志彦, 周大鸣, 徐安龙. 云南纳西族 HLA-DRB1 基因多态性研究及其族源分析. *遗传学报*, 2001, 28(12): 1107-1115.
- [8] LÜ De-Jian, LIU Qiu-Ling. Advance of X chromosome STR for forensic purpose. *J China Forensic Med*, 2002, 17(4): 252-255.  
吕德坚, 刘秋玲. X 染色体 STR 的法医学应用进展. *中国法医学杂志*, 2002, 17(4): 252-255.
- [9] LÜ De-Jian. Detecting haplotypes of DXS7132 and DXS6804 loci by multiplex PCR. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(1): 10-14.  
吕德坚. 用复合 PCR 检测 DXS7132 和 DXS6804 的单倍型. *遗传学报*, 2003, 30(1): 10-14.
- [10] Edelmann J, Szibor R. The X-linked STRs DXS7130 and DXS6803. *Forensic Sci Int*, 2003, 136(1-3): 73-75. [\[DOI\]](#)
- [11] Shin SH, Yu JS, Park SW, Min GS, Chung KW. Genetic analysis of 18 X-linked short tandem repeat markers in Korean population. *Forensic Sci Int*, 2005, 147(1): 35-41. [\[DOI\]](#)
- [12] Edelmann J, Hering S, Kuhlisch E, Szibor R. Validation of the STR DXS7424 and the linkage situation on the X-chromosome. *Forensic Sci Int*, 2002, 125(2-3): 217-222. [\[DOI\]](#)
- [13] LIU Qiu-Ling, LÜ De-Jian, CUI Wei. Polymorphism and multiplex amplification of 3 X-chromosome specific short tandem repeat loci. *Chin J Med Genet*, 2004, 21(3): 233-235.  
刘秋玲, 吕德坚, 崔葳. 3 个 X 染色体短串联重复的复合扩增及其多态性. *中华医学遗传学杂志*, 2004, 21(3): 233-235.