

中国人红细胞 PGM (PGM 位点 1) 多态性的等电聚焦电泳研究

党进军 孙志贤 姜国芝

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京)

用等电聚焦电泳技术对北京地区180人进行红细胞葡萄糖磷酸变位酶 (PGM₁) 遗传表型的分析鉴定。共检测出九个 PGM₁ 亚型, 可能由于检测样本数还不够多, 目前尚未检测到 PGM₁2-亚型。根据测定结果, 观察了我国人群中 PGM₁ 亚型的分布情况, 并计算出决定 PGM₁ 亚型的四个等位基因频率为: PGM₁¹⁺ 0.617, PGM₁¹⁻ 0.100, PGM₁²⁺ 0.236, PGM₁²⁻ 0.047。采用等电聚焦电泳可将 PGM₁ 的个体识别能力 (DP 值) 由用普通淀粉胶电泳分型的 0.558 提高到 0.742。结果与世界上其他国家和地区人群相似, PGM₁ 在我国人群中同样是一个个体识别能力很高的多态性酶类。

关键词: 葡萄糖磷酸变位酶, 等电聚焦, 同工酶, 遗传分型

葡萄糖磷酸变位酶 (Phosphoglucumutase, 简称 PGM, EC 2.7.5.1) 是一种磷酸移换酶, 它可逆地催化 G-1-P 和 G-6-P 两者之间的相互转化, 在机体糖代谢过程中具有重要作用。PGM 广泛存在于体内大多数组织中, 该酶是由定位于 1、4、6 染色单体上三个不同的等位基因位点 PGM₁、PGM₂ 和 PGM₃ 所控制, 但在人红细胞中只能检测到 PGM₁ 和 PGM₂。Spencer^[1] 等人最先在人红细胞中发现 PGM₁ 具有遗传多态性, 采用淀粉凝胶电泳可将 PGM₁ 分为三个普通遗传表型, 它们是由 PGM₁ 位点上二个常见的等位基因 PGM₁¹⁺ 和 PGM₁²⁺ 所编码。Bark 等人^[2] 采用高分辨的等电聚焦电泳技术研究表明: PGM₁ 至少有 10 种亚型, 即: PGM₁1+, 1+1-, 1-, 2+, 2+2-, 2-, 1+2+, 1+2-, 1-2+, 1-2-, 分别由 PGM₁ 位点上的 PGM₁¹⁺、PGM₁¹⁻、PGM₁²⁺ 和 PGM₁²⁻ 四个等位基因所决定。

鉴于 PGM₁ 能在临床医学上提供骨髓移植植活与否的遗传标记证明, 并可在法医学上识别犯罪个体和进行亲子鉴定, 以及它在人类群体遗传学研究中的重要意义^[3], 我们使用灵敏、快速的等电聚焦电泳技术, 对中国汉族人群 (北京地区) 的 PGM₁ 亚型基因频率进行了分析。

材 料 与 方 法

被测样本均为307医院查体血样，随机取样，3.8%枸橼酸钠抗凝离心，洗涤沉淀的红细胞，加等体积重蒸水使溶破，溶胞液低温保存^[4]。

首先采用淀粉凝胶电泳方法^[5]对180例血样进行PGM₁遗传表型测定，然后进行琼脂糖等电聚焦电泳的PGM₁亚型分析。同时，用聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳做平行对照测定，确定PGM₁各个亚型。

参照Dykes^[6]方法制备1%琼脂糖等电聚焦凝胶板(11×9×0.1cm)。取190mg低渗等电聚焦琼脂糖(pH3.5—9.5, LKB2206-222)，2.3g蔗糖，17.5ml重蒸水混合，用电磁搅拌器加热溶解，待胶液温度降至75℃时，加入1ml Ampholine (pH 5—8, LKB 1818-126)，混匀并迅速倒入预制好的水平凝胶膜框内。室温下固化30分钟，待用。

聚丙烯酰胺等电聚焦电泳凝胶板制备参照Papiha等人^[7]方法。

电泳前，将吸有20μl红细胞溶胞液的样品纸片(0.6×0.6cm)放在距正极端2cm处的胶面上，15分钟后电泳。使用Pharmacia-ECPS 3000/150电泳装置。电压1200V，电流不限，恒定功率10W，循环水冷却使温度保持在4℃左右。正负极分别为浸有1%醋酸和1%乙醇胺电极液的滤纸条(宽0.8cm，高0.2cm)。电泳时间为1200V 140分钟或1700伏特小时。

电泳结束后，立即用Beckman 3500表面pH计测定凝胶表面上最后形成的pH梯度，确定PGM₁亚型区带迁移位置的等电点。

PGM₁同工酶谱的染色按Spencer^[1]方法进行，根据PGM₁标准图谱对所测样品进行亚型分析鉴定。

结 果 与 讨 论

按文献[7]采用淀粉凝胶电泳可将正常人红细胞中PGM₁分为三个遗传表型，而采用高分辨的等电聚焦电泳则可以分为10个亚型(Fig.1)。

我们用等电聚焦电泳技术对北京地区180人进行了PGM₁亚型分析，共检测到九个PGM₁亚型。

Fig. 2a 为用琼脂糖等电聚焦法测定的PGM₁亚型图谱，其中显示的八个亚型为：PGM₁ 1+、1+1-、1-、2-1+、2+1+、2+1-、2+、2+2-。

Fig. 2b 为用聚丙烯酰胺等电聚焦法测定的PGM₁亚型图谱，亚型为：1+、1+1-、1-、2+1+、2-1-、2-1+、2+2-、2+。由于检测的样本数目还不够大，目前尚未发现PGM₁ 2-亚型。

通过对180例PGM₁亚型的测定，检查了中国人(北京地区)PGM₁亚型的分布情况，计算出中国人人群中PGM₁的基因频率，结果见Table 1a和1b。

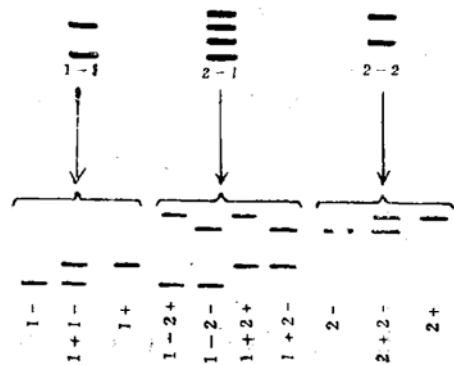


Fig. 1 Gel electrophoresis (GE) and isoelectric focusing (IEF) patterns of PGM₁ (7)

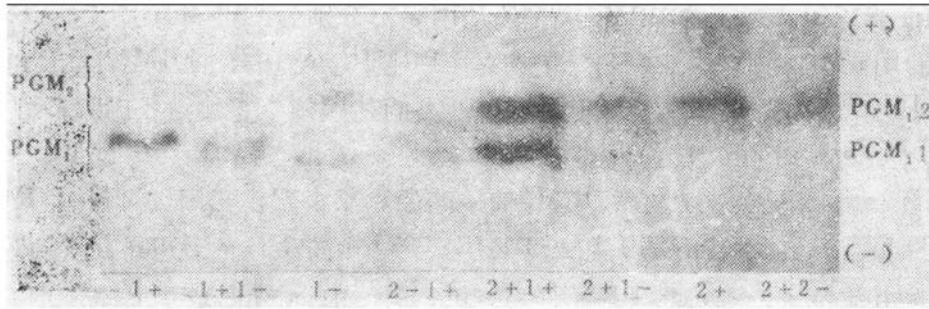


Fig. 2a Electrophoretic patterns of PGM₁ isozymes obtained with agarose-gel isoelectric focusing



Fig. 2b Electrophoretic patterns of PGM₁ isozymes obtained with PAG-IEF.

Table 1a. Distribution and gene frequencies*
of PGM₁ phenotypes in Chinese (Beijing)

PGM ₁ phenotype	Observed number	Frequency	Expected number	Gene frequencies
1	90	0.5000	92.54	PGM ₁ ¹ 0.717
2-1	78	0.4333	73.05	
2	12	0.0667	14.41	PGM ₁ ² 0.283
Total	180		180	

$\Sigma X^2 = 0.8700$

$0.70 > p > 0.50$

Table 1b. Distribution and gene frequencies*
of PGM₁ subtypes in Chinese (Beijing)

PGM ₁ phenotype	Observed number	Frequency	Expected number	Gene frequencies
1+	66	0.367	68.52	PGM ₁ ¹⁺ 0.617
1+1-	19	0.106	22.21	
1-	5	0.028	1.80	PGM ₁ ¹⁻ 0.100
1+2+	57	0.317	52.42	
1+2-	14	0.078	10.44	
1-2+	6	0.033	8.50	
1-2-	1	0.006	1.69	
2+	10	0.056	10.03	PGM ₁ ²⁺ 0.236
2+2-	2	0.011	3.99	
2-	0		0.40	PGM ₁ ²⁻ 0.047
Total	180		180	

$\Sigma X^2 = 8.4575$

$(0.5 > p > 0.3)$

* method of calculation according to reference (8)

从表中可见, 决定我国人群 PGM₁ 表型的基因频率分别为: PGM₁⁰ 0.717, PGM₁² 0.283, PGM₁ 亚型的基因频率分别为: PGM₁¹⁺ 0.617, PGM₁¹⁻ 0.100, PGM₁²⁺ 0.236, PGM₁²⁻ 0.047。与世界上其它国家和地区人群中 PGM₁ 亚型的基因频率相比, 我国人群中 PGM₁²⁺ 的基因频率略高于日本人群 (PGM₁²⁺ 0.167) [9]。

采用普通淀粉凝胶电泳方法测定 PGM₁ 同工酶的结果表明, 我国人群中 PGM₁ 表型个体识别能力 (Discriminating Power, 简称 DP 值) [10] 为 0.558, 而采用高分辨的等电聚焦 PGM₁ 亚型分析电泳技术, 则可将 DP 值提高到 0.742。因此, 等电聚焦电泳技术的应用进一步提高了 PGM₁ 同工酶的个体识别能力, 使得 PGM₁ 成为实际应用中更有价值的遗传标记。

用表面 pH 计测定 PGM₁ 各亚型区带的等电点与文献报道值基本相近 (见 Table 2)。

Table 2. Isoelectric points (pI) of PGM₁ subtypes determined by IEF

Subtype	Present study	Dykes (6)	Scherz (11)
1-	5.92	5.98	6.00
1+	5.86	5.92	5.88
2-	5.76	5.77	5.76
2+	5.70	5.71	5.71

高分辨的琼脂糖等电聚焦电泳技术与聚丙烯酰胺等电聚焦电泳相比具有操作安全、简便快速等优点, 结合普通淀粉胶电泳对 PGM₁ 遗传表型的测定, 能够很好地对 PGM₁ 亚型进行正确的分型鉴定。聚丙烯酰胺等电聚焦电泳对照实验结果表明, 两种方法亚型分析结果基本一致。

PGM₁ 为目前人们已知的人红细胞同工酶中个体识别能力最高的一种多态性酶类, 采用等电聚焦电泳方法测定其亚型, DP 值一般为 0.75 左右, 接近于高分辨的人体 Rh 血型系统 (DP = 0.80)。家系研究证明, PGM₁ 的遗传方式符合孟德尔遗传规律。所以, PGM₁ 作为一种重要的多态性酶类已普遍引起人们的重视。我们的调查结果表明: 在我国, PGM₁ 同样是一种具有多态性分布和个体识别能力高等特点的酶类。随着 PGM₁ 亚型分析技术的应用, 必将在临床医学、法医学和人类群体遗传学等方面发挥其重要作用。

本文承夏寿萱教授审校, 谨此致谢。

参 考 文 献

- [1] Spencer, N., et al.: (1964), *Nature*, Lond., 204, 742-745
- [2] Bark, J. E., et al.: (1976), *J. Forensic Sci. Soc.*, 16, 115-120
- [3] 孙志贤等: (1984), 《国外医学遗传分册》, 1, 1-6
- [4] Dykes, D.D., et al.: (1981), *Am. J. Clin. Path.*, 75, 708-711
- [5] 孙志贤等: (1984), 《第5次全国生物化学学术会议论文摘要汇编 (下册)》, 435页
- [6] Dykes, D.D., et al.: (1982), *Electrophoresis*, 3, 165-168
- [7] Papiha, S. S., et al.: (1982), *American J. Physical Anthropology*, 59, 1-7
- [8] 大羽 滋: (1978), 《群体遗传》(中译本), pp 8-19, 科学出版社, 北京
- [9] Nishigaki, I., et al.: (1982), *Hum. Hered.*, 32, 301-307
- [10] Jones, D. A., et al.: (1972), *Forens. Sci. Soc. J.*, 12 (2), 355-358
- [11] Scherz, R., et al.: (1981), *Hum. Hered.*, 31, 187-190

ISOELECTRIC FOCUSING STUDIES OF THE POLYMORPHISM OF THE RED CELL PHOSPHO GLUCOMUTASE (PGM LOCUS 1) IN CHINESE

Dang, Jin-jun Sun, Zhi-xian Jian, Guo-zhi

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing)

Nine subphenotypes of phosphoglucomutase (PGM_1) of human RBC were successfully identified by isoelectric focusing. The distribution of PGM_1 subtypes among 180 Chinese individuals in Beijing was determined by this method. The frequencies of the four alleles at the PGM_1 locus were, PGM_1^{1+} 0.617, PGM_1^{1-} 0.100, PGM_1^{2+} 0.236, PGM_1^{2-} 0.047. This technique is simple, fast, and very useful in the study on the genetic polymorphism of the isozymes of red blood cells.

Key words, isoelectric focusing, genetic typing, phosphoglucomutase, isozyme,