

东北汉族人群 7p14-15 区域内 9 个 STR 位点的遗传多态分析

娄毅¹, 邱广蓉^{1△}, 辛娜¹, 刘红波², 孙桂凤¹, 孙开来¹

(1. 中国医科大学基础医学院医学遗传学教研室, 辽宁 沈阳 110001; 2. 公共卫生学院卫生统计学教研室)

[摘要] 目的:分析东北汉族人群中 7p14-15 区域内 9 个短串联重复序列 (STR) 位点的遗传多态性。方法:采用荧光标记 PCR 扩增技术和毛细管电泳方法, 对 7p14-15 区域内 9 个 STR 多态位点在 100 名随机选取的无血缘关系的东北汉族人群中的遗传多态性进行分析。结果:在东北汉族人群中, 7p14-15 区域的 D7S526、D7S690、D7S2252、D7S817、D7S683、D7S656、D7S484、D7S2250、D7S2251 位点分别检测出 6、6、8、6、4、6、7、8 和 7 个等位基因, 17、19、29、17、10、17、24、27 和 22 种基因型, 杂合度分别为 84%、85%、79%、82%、79%、85%、89%、88% 和 83%。结论:7p14-15 区域的 9 个 STR 位点的基因频率和基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡, 并在东北汉族人群中呈现较好的遗传多态性。

[关键词] 短串联重复序列; 遗传多态性; Hardy-Weinberg 平衡; 7p14-15 区域

[中图分类号] R394.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-4646(2007)02-0113-03

Analysis on genetic polymorphism of 9 short tandem repeat loci on chromosome 7p14-15 in Northeastern China Han population

LOU Yi¹, QIU Guang-rong^{1△}, XIN Na¹, LIU Hong-bo², SUN Gui-feng¹, SUN Kai-lai¹

(1. Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, China Medical University, Shenyang 110001, China; 2. Department of Health Statistics, College of Public Health, China Medical University)

[Abstract] **Objective:** To analyze the genetic polymorphism of 9 short tandem repeat (STR) loci on chromosome 7p14-15 in Northeastern China Han population. **Methods:** Fluorescence-labeling polymerase chain reaction and capillary electrophoresis were used to analyze the genetic polymorphism of 100 randomly selected individuals from Northeastern China Han population at 9 STR loci (D7S526, D7S690, D7S2252, D7S817, D7S683, D7S656, D7S484, D7S2250, and D7S2251) on chromosome 7p14-15. **Results:** In Northeastern China Han population, 6 alleles and 17 genotypes, 6 alleles and 19 genotypes, 8 alleles and 29 genotypes, 6 alleles and 17 genotypes, 4 alleles and 10 genotypes, 6 alleles and 17 genotypes, 7 alleles and 24 genotypes, 8 alleles and 27 genotypes, and 7 alleles and 22 genotypes were observed at the 9 STR loci mentioned above. The heterozygosities at the above 9 STR loci were 84%, 85%, 79%, 82%, 79%, 85%, 89%, 88%, and 83%, respectively. **Conclusion:** The distributions of allele frequency and genotype frequency at 9 STR loci on chromosome 7p14-15 are consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium. The high genetic polymorphism is observed in Northeastern China Han population.

[Key words] short tandem repeat; genetic polymorphism; Hardy-Weinberg equilibrium; 7p14-15

短串联重复序列 (short tandem repeat, STR) 是第二代遗传多态标记, 在进化、个体识别、基因定位、产前诊断、连锁分析等方面显示出巨大的应用价值^[1,2]。各多态位点的等位基因频率、杂合度等遗传参数在不同的群体中存在较大差异。目前公用数据库 (如 GDB、CHLC) 中大多数多态位点的遗传参数来自白种人群, 因此, 完善中国人群各个多态位点的遗传参数将有助于在中国人群中开展遗传分析。

7p14-15 区域可能是人类单纯性先天性心脏病遗传易感基因的候选区域^[3]。经 NCBI 检索, 到目前为止, 约有几十种疾病基因定位在该区域内 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM>)。因此, 研究上述染色

体区域内 STR 位点的多态性, 获取中国东北汉族人群在该染色体区域内 STR 位点的遗传参数, 将有助于应用 STR 位点开展 7p14-15 区域疾病连锁分析、关联研究及产前基因诊断等。

1 材料与方法

1.1 实验对象

100 名无血缘关系东北汉族个体来自中国医科大学附属第一医院, 常规抽取静脉血 5 ml, 经枸橼酸钠抗凝后 -20℃ 储存备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取: 常规饱和酚 / 氯仿抽提法提取外周血基因组 DNA, 20℃ 储存备用。

1.2.2 多态位点的选择: 9 个 STR 多态位点均来自于美国人类连锁合作中心 (CHLC) 和基因组数据库 (GDB)。所有引物均由上海生工生物有限公司合成。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30070411, 30200305); 辽宁省教育厅基金资助项目 (202013133, 2004C045)

[作者简介] 娄毅 (1963 -), 男, 学士, 主管技师。

△ Corresponding Author's E-mail: grqiu@mai.cmu.edu.cn

表 2 7p14-15 区域 9 个 STR 位点在中国东北人群中的杂合度
Tab.2 Heterozygosities of 9 STR loci on chromosome 7p14-15 in Northeastern China Han population

位点	观察值	预期值
D7S526	0.840	0.770
D7S690	0.850	0.795
D7S2252	0.790	0.725
D7S817	0.820	0.782
D7S683	0.790	0.725
D7S656	0.850	0.778
D7S484	0.890	0.820
D7S2250	0.880	0.824
D7S2251	0.830	0.801

四、五、六核苷酸重复,其高度多态性主要来源于串联重复数目的变化。正是由于 STR 具有分布广、多态性高、特异性好的特点,所以,STR 已成为人类基因组扫描的首选多态位点。我们所选用的 9 个 STR 多态位点均来自 CHLC 和 GDB,除了 D7S817 为四核苷酸重复序列之外,其余 8 个 STR 多态位点均为二核苷酸重复序列。

STR 为复等位基因多态位点。在白种人群中,D7S2252 位点观察到 10 个不同的等位基因片段,D7S2250 位点观察到 8 个不同的等位基因片段,D7S484 和 D7S2251 位点观察到 7 个不同的等位基因片段,D7S526、D7S690、D7S817 和 D7S656 位点观察到 6 个不同的等位基因片段,D7S683 位点观察到 4 个不同的等位基因片段(<http://lpg.nci.nih.gov/CHLC> 和 <http://www.gdb.org>)。在中国东北汉族人群中,D7S526、D7S690、D7S817、D7S683、D7S656、D7S484、D7S2250 和 D7S2251 位点观察到的等位基因片段与白种人群相同,但在 D7S2252 位点仅观察到 8 个不同的等位基因片段(白种人群中还观察到 152 bp 和 168 bp)。造成这种差异的可能解释为:(1)中国东北汉族人群与白种人群的遗传参数不同,在中国东北汉族人群中不存在 152 bp 和 168 bp 两个等位基因片段;(2)由于本研究的样本量有限所致。另外,上述 9 个 STR 多态位点在中国东北汉族人群中的杂合度均高于 79%。综合上述信息(等位基因数目、杂合度),上述 9 个 STR 位点在中国东北汉族人群中具有较高的多态性,是进行连锁或关联分析、基因诊断的理想位点。

然而,各 STR 位点等位基因分布频率在中国东北汉族人群和白种人群中不尽相同。D7S2252 位点在中国东北汉族人群和白种人群中最常见的等位基因片段分别为 154 bp(26.50%)和 156 bp(18.00%),最罕见的等位基因片段分别为 166 bp(3.00%)和

168 bp(2.00%);D7S2250 位点在中国东北汉族人群和白种人群中最罕见的等位基因片段分别为 161 bp(1.50%)和 159 bp(2.00%);D7S484 位点最罕见的等位基因片段分别为 113 bp(5.00%)和 101 bp(1.00%);D7S526 位点最罕见的等位基因片段分别为 127 bp(2.50%)和 133 bp(3.00%)。中国东北汉族人群在这些多态位点的遗传参数对于进行连锁或关联分析,尤其是分析连锁不平衡具有十分重要的价值。

经查询 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/MapView-er>),目前位于 7p14-15 区域内的基因主要有 BMPER(7p14.3)、GPR154(7p14.3)、TBX20(7p14-15)、CDC10(7p14.3-14.1)、AOAH(7p14)、ELMO1(7p14.1)等^[4-10]。我们所选择的 9 个 STR 位点具有较好的多态性,可用于上述基因及相关疾病的连锁或关联分析。

参考文献:

- [1] LEAT N, EHRENREICH L, BENJEDDOU M, et al. Properties of novel and widely studied Y-STR loci in three South African populations [J]. *Forensic Sci Int*, 2006, [Epub ahead of print].
- [2] WILKENING S, CHEN B, HEMMINKI K, et al. STR markers for kinship analysis [J]. *Hum Biol*, 2006, 78(1):1-8.
- [3] 张开立, 孙桂凤, 金春元, 等. 应用连锁不平衡检验法进行单纯性先天性心脏病易感基因的初步定位 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 1999, 16(4):239-241.
- [4] MOSER M, BINDER O, WU Y, et al. BMPER, a novel endothelial cell precursor-derived protein, antagonizes bone morphogenetic protein signaling and endothelial cell differentiation [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(16):5664-5679.
- [5] STENNARD FA, COSTA MW, ELLIOTT DA, et al. Cardiac T-box factor Tbx20 directly interacts with Nkx2-5, GATA4, and GATA5 in regulation of gene expression in the developing heart [J]. *Dev Biol*, 2003, 262(2):206-224.
- [6] SINGH MK, CHRISTOFFELS VM, DIAS JM, et al. Tbx20 is essential for cardiac chamber differentiation and repression of Tbx2 [J]. *Development*, 2005, 132(12):2697-2707.
- [7] TAKEUCHI JK, MILEIKOVSKAIA M, KOSHIBA-TAKEUCHI K, et al. Tbx20 dose-dependently regulates transcription factor networks required for mouse heart and motoneuron development [J]. *Development*, 2005, 132(10):2463-2474.
- [8] SHIMAZAKI A, KAWAMURA Y, KANAZAWA A, et al. Genetic variations in the gene encoding ELMO1 are associated with susceptibility to diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2005, 54(4):1171-1178.
- [9] JEONG JW, KIM DH, CHOI SY, et al. Characterization of the CDC10 product and the timing of events of the budding site of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Cells*, 2001, 12(1):77-83.
- [10] BARNES KC, GRANTA, GAOP, et al. Polymorphisms in the novel gene acyloxyacyl hydroxylase (AOAH) are associated with asthma and associated phenotypes [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2006, 118(1):70-77.

[收稿日期] 2006-09-22

1.2.3 荧光标记 PCR 技术扩增各 STR 多态位点：采用美国 PE 公司 Fluorescent dCTP Set Kit 进行荧光标记 PCR 扩增。PCR 反应体系为 25 μ l, 含有基因组 DNA 40 ng, Mg²⁺ 1.5 mmol/L, dNTP 200 mmol/L, [F]-dCTP 2 mmol/L, 引物 0.6 mmol/L, Taq DNA 聚合酶 0.5U。PCR 反应条件: 94℃变性 45 s, 52 ~ 60℃复性 45 s, 72℃延伸 45 s, 30 个循环。

1.2.4 酚 / 氯仿抽提法纯化 PCR 产物: PCR 产物加无菌水至 100 μ l, 加入等体积酚 / 氯仿 (各 50 ml) 振荡混匀, 10 000 r/min 离心 10 min, 吸取水相至新的 Eppendorff 管中。重复上述步骤 1 次。加入 10 μ l 3 mol/L NaAc (pH 5.2) 和 200 μ l 无水乙醇沉淀 DNA, 12 000 r/min 离心 20 min。弃上清, 用 70% 乙醇漂洗沉淀。弃上清, 真空抽干 5~10 min, 加水至原体积。

1.2.5 毛细管电泳: 取 1 μ l PCR 纯化产物、0.5 μ l 内标 GeneScan-500 及 12 μ l 去离子甲酰胺, 充分混匀。95℃变性 3 min 后, 置于冰上骤冷至上样前。在 ABI PRISM™ 310 型遗传分析仪上进行毛细管电泳。毛细管为 47cm \times 50 μ m, 电泳介质为 POP-4 胶, 电

泳条件为 15 kV 电泳 24 min。

1.2.6 基因型分析: 应用 ABI PRISM™ 310 型遗传分析仪 GeneScan 软件进行自动基因型分析。

1.3 统计学分析

直接计数法计算各 STR 多态位点等位基因频率、基因型频率和杂合度。依据 Hardy-Weinberg 定律计算各 STR 多态位点基因型频率和杂合度预期值, 采用 χ^2 检验进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验。

2 结果

100 名无血缘关系东北汉族个体在 7p14-15 区域 D7S526、D7S690、D7S2252、D7S817、D7S683、D7S656、D7S484、D7S2250、D7S2251 9 个 STR 多态位点分别检测到 6、6、8、6、4、6、7、8 和 7 个等位基因, 17、19、29、17、10、17、24、27 和 22 种基因型。各等位基因片段的大小(bp)、基因频率(%)见表 1。各 STR 多态位点不同基因型个体数的观察值和预期值之间差异无显著性 ($P > 0.05$), 该群体符合 Hardy-Weinberg 平衡。

表 1 中国东北汉族人群 7p14-15 区域 9 个 STR 位点等位基因频率

Tab.1 Allele frequencies of 9 STR loci on chromosome 7p14-15 in Northeastern China Han population

等位基因		基因型								合计
		1	2	3	4	5	6	7	8	
D7S526	大小	125	127	129	131	133	135			
	频率	0.260	0.025	0.145	0.310	0.205	0.055			1.000
D7S690	大小	264	266	268	270	272	274			
	频率	0.105	0.165	0.115	0.305	0.235	0.075			1.000
D7S2252	大小	154	156	158	160	162	164	166	170	
	频率	0.265	0.125	0.195	0.105	0.170	0.075	0.030	0.035	1.000
D7S817	大小	157	161	165	169	173	177			
	频率	0.055	0.130	0.230	0.185	0.325	0.075			1.000
D7S683	大小	258	260	262	264					
	频率	0.150	0.355	0.205	0.290					1.000
D7S656	大小	243	263	267	269	273	275			
	频率	0.215	0.190	0.060	0.305	0.025	0.205			1.000
D7S484	大小	99	101	105	107	109	111	113		
	频率	0.155	0.195	0.280	0.120	0.135	0.065	0.050		1.000
D7S2250	大小	147	149	151	153	155	157	159	161	
	频率	0.080	0.170	0.265	0.145	0.120	0.185	0.020	0.015	1.000
D7S2251	大小	248	250	252	254	256	258	260		
	频率	0.135	0.285	0.270	0.060	0.110	0.050	0.090		1.000

根据各 STR 位点观察到的等位基因数及其频率, 计算出各 STR 位点杂合度预期值, 如表 2 所示。各 STR 位点杂合度的观察值与预期值之间差异均不显著 ($P > 0.05$)。在 7p14-15 区域的 9 个 STR 位点中, 杂合度最高的是 D7S484, 为 89%,

杂合度最低的是 D7S683 和 D7S2252, 为 79%。上述 9 个 STR 位点均具有较好的多态性。

3 讨论

STR 属于第 2 代 DNA 多态标记, 可分为二、三、