

新疆锡伯族与哈萨克族间3个STR位点的多态性比较

胡晓岩¹, 黄辰¹, 宋土生¹, 蒙世杰², 李生斌¹, 许健¹, 陈雪玲¹, 王一理¹

(1. 西安交通大学医学院遗传教研室, 陕西西安 710061; 2. 西北大学生命科学学院, 陕西西安 710069)

摘要: 分别获得CSF1PO, TPOX和TH01 3个短串联重复序列STR, 对新疆锡伯族和哈萨克族人群中等位基因频率、基因型频率及相关法医学数据进行比较。应用PCR技术、4%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染技术对上述3个STR位点分型。锡伯族人群CSF1PO位点有9个等位片段, TPOX位点有8个等位片段, TH01位点有8个等位片段; 哈萨克族人群CSF1PO位点有8个等位片段, TPOX位点有8个等位片段, TH01位点有7个等位片段, 两民族各自的3个STR位点的基因型分布均符合Hardy-Weinberg平衡; 锡伯族人群各位点杂合度分别为0.9426, 0.8361, 0.8853, 多态信息量分别为0.8298, 0.7213, 0.7626; 哈萨克族人群各位点杂合度分别为0.8753, 0.8777, 0.9321, 多态信息量分别为0.7401, 0.7568, 0.7509。以上3个STR位点的基因频率分布在两个不同的人群中具有显著的差异。

关键词: 短串联重复序列; 遗传多态性; 聚合酶链反应; 电泳

中图分类号: Q343.1⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-274X(2002)05-0564-05

短串联重复序列STR (short tandem repeats) 是由单个、2个、3个或4个核苷酸为核心序列的短串联重复结构所组成, 它以核心序列重复次数的不同构成了长度不同的多态性, STR位点分散于整个人类基因组中, 平均每15~20 kb就存在一个STR位点。STR是继限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)之后, 被发现的又一个人类遗传性标记, 尤以3, 4个核苷酸为单位的STR^[2]以其分布广、信息量大和具有高度多态性并遵循孟德尔共显性遗传等特点而被应用于人类基因组图谱绘制和遗传连锁分析, 也为法医学中的个体识别和亲权鉴定提供了有力工具。STR分布在人类基因组的非编码序列中, 如出现在编码序列中常导致疾病的发生。本文应用PCR、电泳和银染等技术, 分别对新疆锡伯族群体和哈萨克族群体进行了随机抽样调查, 并分别得到了105个和104个无关个体的CSF1PO, TPOX, TH01 3个STR位点的基因频率和基因型频率, 为人类遗传学研究和法医鉴定提供基础数据。

1 材料和方法

1.1 标本来源

105份无关正常锡伯族纯系个体抗凝外周血来自新疆伊犁地区察布查尔锡伯族自治县, 104份无关正常哈萨克族纯系个体抗凝外周血来自新疆石河子供销学校及沙湾县。

1.2 样品DNA的制备

采用Sino-American Biotechnology公司提供的全血基因组DNA纯化系统(Ready PCR™ whole blood genetic DNA purification system)提取DNA。

1.3 引物

采用Promega公司提供的GenePrint® Silver STR™ III System进行PCR复合扩增, 3个STR位点的位置、引物序列、核心序列和长度范围如表1。

1.4 PCR反应

采用3个位点的复合扩增。反应体积为25 μL, 每一批均设阳性和阴性对照, 其反应成分如下: 去离

收稿日期: 2001-12-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39970401)

作者简介: 胡晓岩(1965-), 男, 山东沂南人, 西安交通大学医学院讲师, 从事人类遗传学研究。

子水(无菌) 17.35 μL, STR 10×Buffer (Promega) 2.5 μL, Multiplex 10×Primer Pair Mix (Promega) 2.5 μL, Taq DNA 聚合酶 0.15 μL (0.0125 μmol/L), 模板 DNA 2.5 μL (约 20 ng), 阳性对照加 K562 细胞基因组 DNA (Promega 公司提供) 2.5 μL, 阴性

对照加无菌水 2.5 μL。反应条件如下: 基因体外扩增仪(西安交大开元集团), 96 初变性 120 s; 第 1 轮循环为 94 60 s, 64 60 s, 70 90 s, 循环 10 次; 第 2 轮循环为 90 60 s, 64 60 s, 70 90 s, 循环 25 次。

表 1 CSF1PO, TPOX, TH01 3 个 STR 位点的相关数据

Tab 1 The relative data of CSF1PO, TPOX and TH01

基因座	引物序列	核心序列	长度范围/bp	位置
CSF1PO	5'-AAC CTG AGT CTG CCA AGG ACT AGC-3'	AGAT	295~ 327	5q33.3-q34
	5'-GCT AGT CCT TGG CAG ACT CAG GTT-3'			
TPOX	5'-ACT GGC ACA GAA CAG GCA CTT AGG-3'	AATG	224~ 248	2p23-pter
	5'-ATCCT AAG TGC CAG TTC TGT GCC AGT-3'			
TH01	5'-ATT CAA AGG GTA TCT GGG CTC TGG-3'	AATG	154~ 178	11p15-p15.5
	5'-CCA GAG CCC AGA TAC CCT TTG AAT-3'			

1.5 PCR 扩增产物的电泳分离和银染

取 PCR 扩增产物 2 μL 与等体积的 2×STR 载样液(Promega)混匀, 于 95℃ 变性 120 s 后, 立即置于冰盒内, 上样于经预电泳的 4% 的聚丙烯酰胺凝胶上, 电压 2 000 V, 50~ 55℃ 电泳 2 h, 然后用银染方法染色^[4]。

1.6 统计学处理

根据 Hardy-Weinberg 平衡定律计算各基因型个体数的期望值, 以 χ^2 检验进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合性检验。分别计算出 3 个 STR 基因座各自

的无偏倚期望杂合度(H)、个体识别率(DP)、期望排除概率(PE)和多态信息含量(PIC)。

2 结 果

对 105 名新疆锡伯族和 104 名新疆哈萨克族无关个体的 CSF1PO, TPOX 和 TH01 3 个 STR 基因座等位基因及其频率的检测结果见表 2, 相应的基因型及其频率见表 3, 法医学效力数据见表 4。

表 2 新疆哈萨克族和锡伯族人群 3 个 STR 位点等位基因频率

Tab 2 The allele frequency of three STR loci of Chinese Xibo population and Chinese Hasake population

CSF1PO				TPOX				TH01			
哈萨克族		锡伯族		哈萨克族		锡伯族		哈萨克族		锡伯族	
基因	频率	基因	频率	基因	频率	基因	频率	基因	频率	基因	频率
7	0.0048	7	0.0667	6	0.0048	6	0.0095	5	0.0913	5	0.0048
8	0.0673	8	0.0952	7	0.1827	7	0.0667	6	0.1875	6	0.1095
9	0.1971	9	0.1286	8	0.2500	8	0.4333	7	0.1346	7	0.2000
10	0.3317	10	0.2524	9	0.1202	9	0.1429	8	0.2067	8	0.1857
11	0.2692	11	0.1619	10	0.3365	10	0.0762	9	0.3606	9	0.3476
12	0.0817	12	0.1857	11	0.0913	11	0.2190	10	0.0096	9.3	0.0048
13	0.0337	13	0.0857	12	0.0096	12	0.0429	11	0.0096	10	0.1333
14	0.0192	14	0.0143	13	0.0048	13	0.0095			11	0.0143
		15	0.0095								

$\chi^2 = 66.54 P < 0.005$

$\chi^2 = 55.08 P < 0.005$

$\chi^2 = 47.08 P < 0.005$

表 3 新疆哈萨克族和锡伯族人群 3 个 STR 位点基因型

Tab 3 The genotype of three STR loci of Chinese Xibo population and Chinese Hasake population

CSF1PO						TPOX						TH01					
哈萨克族			锡伯族			哈萨克族			锡伯族			哈萨克族			锡伯族		
基因型	观察值	期望值	基因型	观察值	期望值	基因型	观察值	期望值	基因型	观察值	期望值	基因型	观察值	期望值	基因型	观察值	期望值
7, 10	1	0.33	7, 8	2	1.33	6, 7	1	0.18	6, 7	1	0.13	5, 5	2	0.87	5, 9	1	0.35
8, 8	1	0.47	7, 9	3	1.80	7, 7	4	3.47	6, 9	1	0.29	5, 6	2	3.56	6, 6	3	1.26
8, 9	3	2.76	7, 10	5	3.54	7, 8	8	9.50	7, 7	1	0.47	5, 7	2	2.56	6, 7	2	4.60
8, 10	4	4.64	7, 11	3	2.27	7, 10	19	12.79	7, 8	5	6.07	5, 8	4	3.93	6, 8	2	4.27
8, 11	3	3.77	7, 12	1	2.60	7, 11	2	3.47	7, 9	1	2.00	5, 9	7	6.85	6, 9	11	8.00
8, 12	1	1.14	8, 8	2	0.95	8, 8	6	6.50	7, 10	3	1.07	6, 6	2	3.66	6, 10	2	3.07
8, 13	1	0.47	8, 9	4	2.57	8, 9	8	6.25	7, 11	2	3.07	6, 7	7	5.25	7, 7	6	4.20
9, 9	3	4.04	8, 10	5	5.05	8, 10	18	17.50	8, 8	21	19.71	6, 8	9	8.06	7, 8	6	7.80
9, 10	14	13.60	8, 11	2	3.24	8, 11	6	4.75	8, 9	14	13.00	6, 9	16	14.06	7, 9	17	14.60
9, 11	15	11.04	8, 12	3	3.71	9, 9	3	1.50	8, 10	3	6.93	6, 10	1	0.37	7, 9, 3	1	0.20
9, 12	2	3.35	9, 9	1	1.74	9, 10	8	8.41	8, 11	22	19.93	7, 7	1	1.88	7, 10	3	5.60
9, 14	1	0.79	9, 10	9	6.82	9, 11	2	2.28	8, 12	4	3.90	7, 8	7	5.79	7, 11	1	0.60
10, 10	11	11.44	9, 11	3	4.37	9, 12	1	0.24	8, 13	1	0.86	7, 9	10	10.10	8, 8	5	3.62
10, 11	20	18.57	9, 12	3	5.02	10, 10	9	11.78	9, 9	2	2.14	8, 8	5	4.44	8, 9	15	13.56
10, 12	75	64	9, 13	2	2.31	10, 11	5	6.39	9, 10	2	2.29	8, 9	12	15.50	8, 10	6	5.20
10, 13	1	2.32	9, 14	1	0.39	10, 12	1	0.67	9, 11	7	6.57	8, 11	1	0.41	9, 9	11	12.69
11, 11	5	7.54	10, 10	5	6.69	10, 13	1	0.34	9, 12	1	1.29	9, 9	14	13.52	9, 10	6	9.73
11, 12	4	4.57	10, 11	10	8.58	11, 11	2	0.87	10, 10	2	0.61	9, 10	1	0.72	9, 11	1	1.04
11, 13	1	1.89	10, 12	8	9.84				10, 11	2	3.50	9, 11	1	0.72	10, 10	5	1.87
11, 14	2	1.08	10, 13	3	4.54				10, 12	1	0.69				10, 11	1	0.40
12, 12	1	0.69	10, 14	1	0.76				10, 13	1	0.15						
12, 13	1	0.57	10, 15	2	0.50				11, 11	5	5.04						
13, 13	1	0.12	11, 11	3	2.57				11, 12	3	1.97						
13, 14	1	0.13	11, 12	8	6.31												
			11, 13	2	2.91												
			12, 12	5	3.62												
			12, 13	6	3.34												
			13, 13	2	0.77												
			13, 14	1	0.26												
合计	104	100.96		105	98.58	合计	104	96.89		105	101.68	合计	104	102.25		105	102.66
$\chi^2=4.97, P>0.05$		$\chi^2=8.50, P>0.05$		$\chi^2=2.18, P>0.05$		$\chi^2=2.40, P>0.05$		$\chi^2=7.66, P>0.05$		$\chi^2=5.39, P>0.05$							

表 4 新疆哈萨克族和锡伯族 3 个 STR 位点的法医学数据

Tab 4 The related forensic data of three STR loci of Chinese Xibo population and Chinese Hasake population

CSF1PO		TPOX		TH01	
哈萨克族	锡伯族	哈萨克族	锡伯族	哈萨克族	锡伯族
$H = 0.8753$	$H = 0.9426$	$H = 0.8777$	$H = 0.8361$	$H = 0.9321$	$H = 0.8853$
$DP = 0.8989$	$DP = 0.9540$	$DP = 0.8997$	$DP = 0.8940$	$DP = 0.9089$	$DP = 0.9163$
$PE = 0.5313$	$PE = 0.6384$	$PE = 0.5249$	$PE = 0.4941$	$PE = 0.5227$	$PE = 0.5332$
$PIC = 0.7401$	$PIC = 0.8298$	$PIC = 0.7568$	$PIC = 0.7213$	$PIC = 0.7509$	$PIC = 0.7626$

3 讨论

短串联重复序列 STR 也称微卫星 DNA (Microsatellite DNA), 是由单个、双个、3 个或 4 个核苷酸为核心序列的短串联重复结构组成, 以核心序列重复次数的不同构成了长度多态性, 这种重复数目的差异可能是由于 DNA 复制过程中串联重复 DNA 滑动链错配, 或由于同源染色体或姊妹染色单体发生非等位基因 DNA 序列的不等臂交换, 都可能使串联重复 DNA 的拷贝数显著增加或减少。

STR 作为第二代 DNA 分型标记, 以其在人类基因组中数目多、分布广、突变率低 (2.3×10^{-5} — 15.9×10^{-5})、稳定性好和高度多态性而被作为人类遗传学研究和法医学鉴定的遗传标记^[9]。近来也发现短串联重复序列与疾病的发生有关, STR 虽散布于人类基因组中, 却很少出现在编码 DNA 序列中。但是, 基因组中或基因附近的三核苷酸重复与某些遗传病有关, 尤其是基因编码序列或侧翼序列的三核苷酸重复, 在一代代传递中重复次数发生明显增加, 从而导致某些遗传病的发生, 如 Huntington 病和脆性 X 染色体综合症即是相应的短串连重复序列的增加所致。STR 中以 3, 4 个核苷酸为单位的 STR^[2] 以其含量大且具有高度多态性而被广泛应用于人类基因定位的连锁分析、法医学研究, 而本文所选择的 CSF1PO, TPOX, TH01 3 个遗传标记正是核心序列分别为 A G A T, A A T G, A A T G 的四核苷酸重复序列。

CSF1PO, TPOX, TH01 3 个 STR 位点的相关法律学数据在美国白人和黑人中已见报道, 近几年, 在我国汉族人群的相关数据已见陆续报道, 经比较这些数据在不同民族间存在一定差异。我国作为多民族国家, 各民族应以其本民族各 STR 位点的相

关法律学数据为基础开展法医学鉴定^[5-8]。为丰富我国各族人群 STR 数据库, 我们分别对新疆哈萨克族和锡伯族人群进行了调查, 结果显示, CSF1PO, TPOX 和 TH01 3 个位点的等位片段, 哈萨克族分别为 8, 8 和 7 个等位片段, 分别形成 24, 18 和 19 种基因型; 锡伯族分别为 9, 8 和 8 个等位片段, 形成的基因型分别为 26, 23 和 19 种。经计算, 我们随机抽检的新疆哈萨克族和锡伯族人群以上 3 个 STR 位点的基因频率和基因型频率的观察值与期望值均符合 Hardy-Weinberg 平衡, 各位点的基因频率和基因型频率分别与中国汉族人群、美籍非洲裔和美籍西班牙裔均存在显著差异 (各比较组 $P < 0.05$)。新疆哈萨克族人群 3 个 STR 位点的杂合度分别为 0.875 3, 0.877 7, 0.932 1; 个体识别率分别为 0.898 9, 0.899 7, 0.908 9; 期望排除率与美籍西班牙裔相近或稍高。新疆锡伯族人群 CSF1PO, TPOX, TH01 的 3 个位点的杂合度分别为 0.942 6, 0.836 1, 0.885 3; 位点个体识别率分别为 0.954 0, 0.894 0, 0.916 3, 均大于 0.5, 提示均为高鉴别力位点, 3 个位点的累积个体识别率为 0.999 6; 期望排除概率分别为 0.638 4, 0.494 1, 0.533 2; 3 个位点的累积排除概率为 0.914 6; 得到多态信息量分别为 0.828 9, 0.721 3, 0.762 6, 3 个位点的多态信息总量为 0.988 7。以上各法医学效力数据均较美籍西班牙裔人群高提示 CSF1PO, TPOX, TH01 的 3 个 STR 位点对新疆哈萨克族人群和锡伯族人群均属高鉴别力 STR 基因位点, 在新疆哈萨克族人群和锡伯族人群的人类遗传学研究和法医学鉴定中有较高价值。经比较, 本文所检测的 3 个位点在两个民族间也存在很大差异, 如果进行相关的遗传学研究或法医鉴定, 应以各民族自己的相应数据为基础开展工作。

参考文献:

- [1] LITTM, LUTY J A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene[J]. *Am J Hum Genet*, 1989, 44: 397-401.
- [2] YUAN B, VASKE D, WEBER J D, *et al*. Improved set of short-tandem-repeat polymorphisms for screening the human genome[J]. *Am J Hum Genet*, 1997, 60: 459-460.
- [3] EDWARDS A L, ANDREW C, HOLLY A H, *et al*. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats[J]. *Am J Hum Genet*, 1991, 49: 746-756.
- [4] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T, *et al*. *Molecular cloning: a laboratory manual* 2nd ed[M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989: 18-57.
- [5] LAREU M V, PHILLIPS C P, CARRACEDO A, *et al*. Investigation of the STR locus HUM TH01 using PCR and two electrophoresis formats: UK and Galician Caucasian population surveys and usefulness in paternity investigations[J].

Forensic Sci Int, 1994, 66(1): 41-52

- [6] NAGA IA, YAMADA S, WATANABE Y, *et al* A nalysis of the HumF13A01, HumF XlIB, HumL IPOL, Hum TH01, HumTPOX01, and HumW FA 31 in a Japanese population[J]. Int J Legal Med, 1996, 109: 34-36
- [7] HUANG NE, SCHUMM J, BUDOWLE B. Chinese population data on three tetrameric short tandem repeat loci: HUM TH01, TPOX and CSF1PO-derived using multiplex PCR and manual typing[J]. Forensic Sci Int, 1995, 71(2): 131-136
- [8] 霍振义, 唐 晖, 杨 剑, 等. 3 个 STR 位点复合扩增多态性及法医学应用[J]. 中国法医学杂志, 1998, 13: 39-41.
- [9] 张 雯, 侯一平. 遗传图及其制作与应用的一些问题[J]. 中华医学遗传学杂志, 2001, 18: 146-150

(编 辑 徐象平)

Comparison of genetic polymorphism of 3 STR loci between Chinese Xibo population and Hasake population

HU Xiao-yan¹, HUANG Chen¹, SONG Tu-sheng¹, MENG Shi-jie²,
LI Sheng-bin¹, XU Jian¹, CHEN Xue-ling¹, WANG Yi-li¹

(1. Department of Genetics, Medical College of Jiaotong University; 2 Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: The purpose is to obtain allele frequency, genotype frequency and related forensic data of CSF1PO, TPOX and TH01 loci in Chinese Xingjiang Xibo population and Chinese Xingjiang Hasake population. Genomic DNA from peripheral blood mononuclear cells of normal Chinese Xinjiang Xibo population and Chinese Xinjiang Hasake population was used as template and CSF1PO, TPOX and TH01 fragments were amplified by polymerase chain reaction (PCR). The PCR products were analyzed by 4% denaturing PAGE and detected using silver stain detection. Nine alleles were found at CSF1PO locus, eight alleles at TPOX locus and eight alleles at TH01 locus in Chinese Xibo population. Eight alleles were found at CSF1PO locus, eight alleles were found at TPOX locus and seven alleles were found at TH01 locus in the Hasake Ethnic population. All the 3 loci (CSF1PO, TPOX, TH01) met Hardy-Weinberg equilibrium. The heterozygosities observed were 0.942 6, 0.836 1 and 0.885 3 for CSF1PO, TPOX and TH01 respectively in Chinese Xibo population. The heterozygosities observed were 0.875 3, 0.877 7 and 0.932 1 for CSF1PO, TPOX and TH01 respectively in Chinese Hasake population. The polymorphism information contents (PIC) were 0.8298, 0.721 3 and 0.762 6 respectively in Chinese Xibo population. The polymorphism information contents (PIC) were 0.740 1, 0.756 8 and 0.750 9 respectively in Chinese kazak population. There is a remarkable difference in the distribution of allele frequencies at these STR loci between Chinese Xinjiang Xibo population and Chinese Xinjiang Hasake population.

Key words: short tandem repeats; genetic polymorphism; polymerase chain reaction; electrophoresis