

中国辽宁锡伯族群体3个短串联重复位点的遗传多态性分析*☆

刘健, 张威, 尹娇杨, 高兵, 郭丽, 祁荣, 田秀荣

Genetic polymorphisms of three short tandem repeat loci in Liaoning Xibo population of China

Liu Jian, Zhang Wei, Yin Jiao-yang, Gao Bing, Guo Li, Qi Rong, Tian Xiu-rong

Abstract

BACKGROUND: Studying the gene polymorphism of autosome short tandem repeat (STR) gene loci can provide basic data for forensic paternal power identification.

OBJECTIVE: To explore the genetic polymorphism of three STR loci, D16S539, THO1, D13S317, in Liaoning Xibo population of China and establish the genetic basic data of Xibo population.

METHODS: Buccal samples were obtained from 150 primary and middle school students of Xibo population living in Liaoning province and PCR amplification reactions of each STR loci were performed in fluorescence-based reaction using a 2720 Thermal cycler. The amplified products were detected in a Li-COR 4300 DNA Analyzer. Relative fragment size of amplified products was calculated through the use of E-seq Analysis software and genotyping was performed. Allele frequency of three STR genetic loci of Xibo population living in Liaoning province was investigated and genetic polymorphism analysis was performed.

RESULTS AND CONCLUSION: All the three loci met the Hardy-Weinberg equilibrium. Heterozygosity degree of these three loci was distributed between 0.769-0.810. Individual discriminative power was distributed between 0.824-0.929. Cumulative individual discriminative power was 0.999. Polymorphism information was distributed between 0.650-0.790. Non-parental eliminant rate was distributed between 0.565-0.790. Cumulative non-parental eliminant rate was 0.979. The three STR loci used in this study show high non-parental eliminant rate and individual discriminative power in Xibo population and can be applied to population study and forensic practice.

Liu J, Zhang W, Yin JY, Gao B, Guo L, Qi R, Tian XR. Genetic polymorphisms of three short tandem repeat loci in Liaoning Xibo population of China. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(44): 8305-8307. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Department of Cell Biology and Genetics, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, Liaoning Province, China

Liu Jian☆, Doctor, Associate professor, Department of Cell Biology and Genetics, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, Liaoning Province, China liujian910709@163.com

Supported by: Science Research Foundation of Shenyang Medical College, No. 2081026*

Received:2011-05-19 Accepted:2011-07-26

摘要

背景: 对常染色体 STR 基因座的多态性的研究可为法医学亲权鉴定提供基础数据。

目的: 探索辽宁锡伯族 D16S539, THO1, D13S317 3 个常染色体基因座的遗传多态性, 建立锡伯族群体的遗传学基础数据。

方法: 采集辽宁省沈阳市新城子区黄家乡锡伯族中小学生的 150 名中小學生口腔黏膜细胞, Chelex 100 法提取 DNA, 进行荧光标记 PCR 扩增, 产物在 Li-COR 4300 基因分析仪上进行电泳, E-seq 分析软件计算扩增产物片段相对大小, 进行基因型分型。调查辽宁地区锡伯族群体 3 个 STR 基因座等位基因频率, 进行遗传多态性分析。

结果与结论: 辽宁锡伯族群体中 3 个 STR 基因座具有遗传多态性, 其基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。辽宁锡伯族群体中 3 个 STR 基因座的杂合度分布在 0.769~0.810; 个人识别力分布在 0.824~0.929, 累积个人识别能力为 0.999; 多态信息量分布在 0.650~0.790; 非父排除率分布在 0.565~0.790, 累积非父排除率为 0.979。说明辽宁锡伯族群体 3 个常染色体 STR 基因座有较高的非父排除率和个体识别能力, 可为法医学亲子鉴定和个体识别及移植配型等遗传学研究提供依据。

关键词: 锡伯族; 短串联重复; D16S539; THO1; D13S317; 基因频率; 多态性

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.44.034

刘健, 张威, 尹娇杨, 高兵, 郭丽, 祁荣, 田秀荣. 中国辽宁锡伯族群体 3 个短串联重复位点的遗传多态性分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(44): 8305-8307. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

沈阳医学院细胞生物与遗传学教研室, 辽宁省沈阳市 110034

刘健☆, 女, 1963 年生, 辽宁省沈阳市人, 汉族, 2007 年中国医科大学毕业, 博士, 副教授, 主要从事人类群体分子遗传学研究。liujian910709@163.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:1673-8225 (2011)44-08305-03

收稿日期:2011-05-19
修回日期:2011-07-26
(20110314003/WLM · S)

0 引言

人类短串联重复序列 (short tandem repeats, STR) 是由 2~6 bp 的重复单位构成的微卫星 DNA 序列, 因其在人类基因组中分布广泛、片段小、易扩增、所需检材微量及其高度杂合性和高度多态性, 被广泛应用于遗传制图、基因定位、法医学鉴定、人类学以及遗传病的诊断等领域的研究^[1-3], 据 GenBank 等数据库资料统计, 人类 23 对染色体上至少分布着 80 000 个以上的 STR 基因座^[4]。目前应用荧光染料标

记技术, 结合自动化 DNA 分析仪, 使 STR 多态位点的分析快速、精确、客观、易标准化^[5]。从而满足用更少的样本、更短的时间, 提供更多的信息。

中国是多民族国家, 由于地域、历史文化背景和社会生活习俗等原因, 往往存在着某种程度上隔离的亚群结构。锡伯族是中华民族大家庭中的一个古老的民族, 其祖先是古代鲜卑人, 居住在中国东北。锡伯族是辽宁省主要少数民族之一, 据 2000 年第 5 次全国人口普查, 辽宁省锡伯族人口为 132 615, 占全国锡伯族人口总数的 70.23%。近年来, 对不同民族 STR 基

因座多态性研究的报道很多^[6-8]。同时,对于辽宁锡伯族群体的遗传学形态学研究也有报道^[9-12],但有关辽宁锡伯族STR的研究尚未见报道。

基于此,实验探讨了辽宁锡伯族群体的3个常染色体STR基因座的多态性,为锡伯族群体的法医学亲权鉴定提供基础数据,也可为研究辽宁锡伯族起源演化积累更多的遗传学方面的基础资料。

1 对象和方法

设计: 横断面研究。

时间和地点: 于2010-06在沈阳医学院完成。

对象: 根据“知情同意”的原则,随机选取辽宁省沈阳市新城子区黄家乡锡伯族中小学生的中小學生150人,年龄为6~13岁,男78名,女72名,保证其3代以上均为锡伯族的无关健康知情个体。

方法:

DNA的提取: 采集受试者口腔黏膜细胞, Chelex100法提取DNA分子^[13],分装于1.5 mL的试管中, -20 °C保存备用。

PCR扩增: PCR反应体系为10 μL: 10×buffer缓冲液1 μL, Mg²⁺ 0.8 μL, Taq酶0.4 μL, 荧光标记正向引物0.8 μL, 一段荧光标记物1.6 μL, 负向引物1.6 μL, dNTP 0.4 μL, ddH₂O 2.4 μL, 模板DNA样本1.0 μL。在ABI 2720 PCR扩增仪中进行扩增。反应条件: 95 °C预变性5 min, 进入第1个循环反应, 94 °C 30 s, 53 °C 30 s, 72 °C 30 s, 循环12次。循环反应的退火温度为每循环1次降0.5 °C。接着进入第2个循环反应, 94 °C 30 s, 53 °C 30 s, 72 °C 5 s, 30个循环。扩增产物于4 °C避光保存备用。

基因型分析: 取10 μL PCR扩增产物加5 μL loading buffer, PCR仪上94 °C变性5 min, 点样于Li-COR 4300 DNA分析仪的电泳槽上, 电泳1.5~2.0 h。应用Li-COR公司提供的E-seq分析软件完成电泳结果数据收集及等位片段的确定。

主要观察指标: 根据样本的PCR产物长度来确定STR位点的重复数。

统计学分析: 用Power States软件计算每个基因座的基因频率、个体识别力、多态信息量、非父排除率、杂合度^[14]。应用HWE 1.20软件进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 研究对象数量分析 实验共收集150名受试者,其中3名受试者由于DNA分子模板的纯度及浓度不够,无PCR扩增产物,从而被排除。147名受试者进入结果分析。

2.2 受试者的PCR扩增结果 PCR扩增结果显示,98%样本的3个STR基因座获得了清晰的基因型分型结果,见图1。

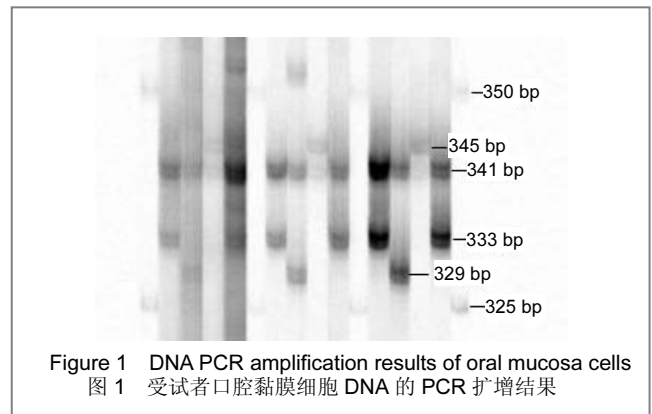


Figure 1 DNA PCR amplification results of oral mucosa cells
图1 受试者口腔黏膜细胞DNA的PCR扩增结果

2.3 受试者的等位基因频率分布 辽宁地区锡伯族群体3个STR位点的等位基因及基因频率见表1。

表1 辽宁锡伯族群体3个STR位点的等位基因频率分布
Table 1 Distribution of three short tandem repeat gene loci frequencies in Liaoning Xibo population (n=147)

Allele	Frequency		
	D16S539	D13S317	THO1
6	0.048		0.147
7	0.234	0.254	0.303
8	0.159	0.119	0.053
9	0.238	0.188	0.422
10	0.190	0.254	0.075
11	0.087	0.135	
12	0.008	0.042	
13	0.004	0.008	
14	0.008		
15	0.024		

对此3个STR基因座的基因型频率进行了Hardy-Weinberg遗传平衡检验,检验结果表明3个STR基因座的基因型分布均符合Hardy-Weinberg平衡($P > 0.05$),见表2。

表2 辽宁锡伯族群体3个STR位点的遗传学指标
Table 2 Genetic indicators of three short tandem repeat gene loci in Liaoning Xibo population (n=147)

Item	D16S539	D13S317	THO1
P	0.205	0.142	0.194
H	0.810	0.769	0.781
DP	0.928	0.929	0.824
PE	0.790	0.770	0.565
PIC	0.790	0.710	0.650
Pm	0.205	0.142	0.176

P: P value test by genetic equilibrium χ^2 ; H: heterozygosity; DP: discriminative power; PE: non-parental eliminant rate; PIC: polymorphism information; Pm: individual probability matching

2.4 受试者3个STR位点的个体识别力、多态信息总量、非父排除率及杂合度 在辽宁锡伯族群体中,3个STR基因座的多态性及其法医学应用参数见表2。

由表2可见, 3个STR基因座的杂合度分布在0.769~0.810; 个人识别力分布在0.824~0.929, 累积个人识别能力为0.999; 多态信息量分布在0.650~0.790; 非父排除率分布在0.565~0.790, 累积非父排除率为0.979。各位点的匹配概率介于0.142~0.205。

3 讨论

实验对辽宁锡伯族群体3个STR位点进行了遗传平衡检验, 检验结果显示此3个位点均符合Hardy-Weinberg平衡定律, 说明研究样本来自群体, 资料准确、可靠。

在150名辽宁锡伯族人群3个STR基因座中共检测出22个等位基因, 其中D16S539为10个, D13S317为7个, 而THO1为5个。频率分布在0.004~0.422。

遗传标记的多态性程度及其应用价值一般可用杂合度、多态信息量、个体识别力和非父排除率来衡量。平均杂合度越大, 表明群体内的遗传变异越大, 平均杂合度大于0.7为高度遗传变异^[15]。多态信息量可直接反映出一个遗传标记所包含或所能提供的遗传信息容量, 一般认为多态信息量大于0.5时, 标记具有高度的可提供信息性; 多态信息量在0.25~0.50时, 标记能够较合理地提供信息; 而当多态信息量< 0.25时, 标记可提供的信息较差^[16]。个体识别力和非父排除率则反映了该遗传标记在法医学个体识别及亲权鉴定中的能力, 一般个体识别力大于0.8, 非父排除率大于0.5时, 属于高度多态性遗传标记, 具有较高的应用价值^[17]。实验中辽宁锡伯族群体3个STR基因座的杂合度分布在0.769~0.810, 均大于0.7, 多态信息总量分布在0.824~0.929, 均大于0.5; 个人识别力分布在0.824~0.929, 均大于0.8; 非父排除率分布在0.565~0.790, 均大于0.5。说明辽宁锡伯族的此3个STR基因座为具有高鉴别能力的遗传标记, 其实用价值较高。

群体遗传学研究的是群体中基因的行为, 也就是群体中各种基因及基因型的频率及其变化规律。任何一个遗传多态性标记在应用之前, 必须获得群体遗传学的有关资料。由于同一遗传标记在不同人群中的多态分布情况存在差异, 因此, 有必要对中国人群中的STR多态性分布进行调查, 建立中华民族STR基因数据库。实验结果为辽宁锡伯族群体的法医学个体识别、亲子鉴定和人类群体遗传学等研究积累了遗传学方面的基础资料。

4 参考文献

[1] Possamai CO, Carvalho FM, Silva MF, et al. Utility of STR markers for the molecular diagnosis of a large Brazilian family with Charcot-Marie-Tooth disease. *Genet Mol Res.* 2008;7(4): 1179-1185.

- [2] Madsen BE, Villesen P, Wiuf C. Short tandem repeats in human exons: a target for disease mutations. *BMC Genomics.* 2008;9: 410.
- [3] Lin Y, Liu T, Li J, et al. A genome-wide scan maps a novel autosomal dominant juvenile-onset open-angle glaucoma locus to 2p15-16. *Mol Vis.* 2008;14:739-744.
- [4] Xie ZH. Dezhou Xueyuan Xuebao. 2005;21(6):40-42. 谢兆辉. 人类STR标记的研究进展[J]. 德州学院学报, 2005,21(6): 40-42.
- [5] Yuan WT, Xu HY, Zhao J, et al. *Zhonghua Yixue Yichuanxue Zazhi.* 2000;17(2):65-71. 袁文涛, 徐红岩, 赵进, 等. 微卫星位点在基因组扫描中的信息表现[J]. 中华医学遗传学杂志, 2000, 17(2):65-71.
- [6] Xing JX, Ding M, Wang BJ, et al. *Zhongguo Fayixue Zazhi.* 2010;25(3):185-186. 邢佳鑫, 丁梅, 王保捷, 等. 辽宁地区汉族群体15个STR基因座遗传多态性调查[J]. 中国法医学杂志, 2010, 25(3):185-186.
- [7] Huang S, Zhu Y, Shen X, et al. Genetic variation analysis of 15 autosomal STR loci of AmpFISTR Sinofiler PCR Amplification Kit in Henan (central China) Han population. *Leg Med (Tokyo).* 2010; 12(3):160-161.
- [8] Zhu B, Yan J, Shen C, et al. Population genetic analysis of 15 STR loci of Chinese Tu ethnic minority group. *Forensic Sci Int.* 2008;174(2-3):255-258.
- [9] Wu YH, Ge SD, Sun ZF, et al. *Jiepouxue Jinzhan.* 2008;14(1): 76-78. 吴雨虹, 葛盛东, 孙中芙, 等. 辽宁省锡伯族及汉族惯用手基因频率的分布[J]. 解剖科学进展, 2008, 14(1):76-78.
- [10] Sun ZF, Zhang W, Ge SD, et al. *Zhongguo Linchuang Kangfu.* 2006, 10(6):18-19. 孙中芙, 张威, 葛盛东, 等. 辽宁锡伯族旋发式遗传性状与汉族及其他地区不同民族基因频率的差异性比较[J]. 中国临床康复, 2006, 10(6):18-19.
- [11] Zhang W, Sun ZF, Liu J, et al. *Jiepouxue Jinzhan.* 2006;12 (3): 240-242. 张威, 孙中芙, 刘健, 等. 辽宁锡伯族和汉族睫毛与蒙古褶两种遗传性状的基因频率[J]. 解剖科学进展, 2006, 12 (3):240-242.
- [12] Zhang W, Sun ZF, Liu J, et al. *Jiepouxue Jinzhan.* 2005;11(2): 120-121. 张威, 孙中芙, 刘健, 等. 辽宁锡伯族和汉族两种舌运动类型的遗传学研究[J]. 解剖科学进展, 2005, 11(2):120-121.
- [13] Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques.* 1991;10(4):506-513.
- [14] Tereba A. Tools for analysis of population on statistics. *Profiles in DNA* 1999;2(3):14-16.
- [15] Lai JH, Zhang BH, Zheng HB, et al. *Yichuan Xuebao.* 2002;29(7): 576-580. 赖江华, 张保华, 郑海波, 等. 中国纳西族STR遗传结构研究[J]. 遗传学报, 2002, 29(7):576-580.
- [16] Lu DR, Qiu XF, Xue JL. Shanghai: Fudan Daxue Chubanshe. 1998:446-449. 卢大儒, 邱信芳, 薛京伦. 医学分子遗传学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1998:446-449.
- [17] Gill P, Urquhart A, Millican E, et al. A new method of STR interpretation using inferential logic-development of a criminal intelligence database. *Int J Legal Med.* 1996;109(1):14-22.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 沈阳医学院科学研究基金(编号: 20081026), 课题名称: 辽宁锡伯族群体6个STR基因座遗传多态性研究。

作者贡献: 刘健进行实验设计, 实验实施为郭丽、祁荣、田秀荣, 实验评估为尹娇杨, 资料收集为张威、郭丽、祁荣, 刘健成文, 高兵审校, 刘健对文章负责。

伦理批准: 研究征得了受试者及其家属的知情同意, 符合医学伦理学要求。

本文创新性:

提供证据: 检索 Medline 及 CNKI 中 2011-07 前发表的文章, 检索关键词为: “Liaoning Xibo, STR, D16S539, THO1, D13S317”或“辽宁锡伯族、STR、D16S539、THO1、D13S317”, 国内外未见类似报道。

创新点说明: 目前尚未见有关辽宁锡伯族的 D16S539, THO1 和 D13S317 三个 STR 位点的基因频率的报道。