

新疆蒙古族、锡伯族新生儿 HbF 中 G_γ / A_γ 、 A_γ^I / A_γ^T 比值测定及基因图谱分析^①

钱渡 光炜 庄怡 马梅荪

(新疆医学院生物学教研室, 乌鲁木齐 830054)

陈松森 陈卫东 梁植权

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005)

周静

(新疆巴音郭楞蒙古族自治州卫生学校, 841000)

摘要 用 HPLC 法测定新疆蒙古族 78 例、锡伯族 60 例新生儿胎儿血红蛋白 (HbF) 中 G_γ / A_γ 以及 A_γ^I / A_γ^T 比值。 $\%G_\gamma$ 均值为: 蒙古族 73.99%, 锡伯族 74.59%。 $\%A_\gamma^I$ 均值分别为蒙古族 56.04% 和锡伯族 64.33%。在蒙古族中发现 A_γ^T 纯合体 4 例、杂合体 12 例; 锡伯族中发现 A_γ^T 杂合体 6 例。蒙古族中 A_γ^T 基因频率 ($f^{A_\gamma^T}$) 为 0.128, 锡伯族为 0.05。

关键词 高效液相色谱法 (HPLC), G_γ / A_γ 比值, A_γ^T 基因频率, 蒙古族, 锡伯族

G_γ / A_γ 、 A_γ^I / A_γ^T Ratios of Fetal Hemoglobin of Mongol and Sibo Ethnic Newborns in Xinjiang and Gene Mapping of Seven Cases with Abnormal Ratio

Qian Du Guang Wei Zhuang Yi Ma Meisun

(Department of Biology, Xinjing Medical College, Urumuqi 830054)

Chen Songsen Chen Weidong Liang Zhiquan

(Basic Medical Research Institute, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005)

Zhou Jing

(Health School of Bayinguoleng Mongol Autonomous Prefecture, Xinjiang 841000)

Abstract G_γ / A_γ , A_γ^I / A_γ^T Ratios of fetal hemoglobin (HbF) in 138 cases of newborns of Mongol ($n=78$) and Sibo ($n=60$) ethnic groups in Urumuqi, Xinjiang were determined by HPLC. The means of $\%G_\gamma$ of Mongol and Sibo ethnic groups were 73.99% and 74.59% respectively. 12 A_γ^T cases of heterozygotes in Mongol, 6 in Sibo and 4 cases of A_γ^T homozygotes in Mongol were found. The frequencies of A_γ^T gene were 0.128 in Mongol and 0.05 in Sibo respectively. The means of A_γ^T of Mongol and Sibo ethnic groups were 56.04% and 64.33% respectively.

Key words HPLC, G_γ / A_γ ratio, A_γ^T gene frequency, Mongol, Sibo

我们曾报道过新疆的汉、回、维吾尔、哈萨克族新生儿 HbF 中的 G_γ / A_γ 、 A_γ^I / A_γ^T 比值测定及两例异常者

^①国家自然科学基金资助的课题。

的 γ 珠蛋白基因图谱分析结果^{〔1〕}。最近,作者又对新疆的蒙古族和锡伯族新生儿 HbF 中 G_γ / A_γ , A_γ^I / A_γ^T 比值进行了测定,结果报道如下。

1 材料与 方法

1.1 血样

分别收集新疆巴音郭楞蒙古自治州库尔勒市、和静县、博湖县、焉耆县、和硕县五市县蒙古族和伊犁地区察布查尔锡伯族自治县各乡锡伯族新生儿脐带血,ACD 抗凝,离心,吸取上层白细胞用于提取 DNA。红细胞制备溶血液,低温保存运回实验室。

1.2 珠蛋白肽链分离及 G_γ / A_γ 比值测定

按 Shelton 的高效液相色谱法 (HPLC) 分离珠蛋白肽链^{〔11〕},据分离图谱上各峰面积,计算出 G_γ / A_γ ($G_\gamma / (G_\gamma + A_\gamma) \times 100\%$)、 A_γ^I / A_γ^T ($A_\gamma^I / (A_\gamma^I + A_\gamma^T) \times 100\%$) 比值。按 A_γ^T 链出现的例数计算 A_γ^T 基因频率。

1.3 γ 基因图谱分析

对 G_γ 值较高的样品,按参考文献〔2〕的方法提取 DNA。用限制性内切酶 *Bgl* II、*Pst* II 和 *Hind* III 酶解,0.8% 琼脂糖凝胶电泳分离,经 Southern 转移,用 ³²P 标记的 γ^{IVS} II 探针作分子杂交、放射自显影。

2 结果与 讨论

我们用 HPLC 法测定的新疆蒙古族脐带血 78 例,新疆锡伯族脐带血 60 例,其 G_γ 值 (% G_γ), A_γ^I 值 (% A_γ^I) 见表 1、表 2 及图 1。

表 1 蒙古族、锡伯族新生儿 HbF 中 G_γ 值分布、均值及标准差

民族	例数	<50%	>50—85%	>85%	均值	标准差
蒙古族	78	0	70	8	73.99	8.00
锡伯	60	0	54	6	74.59	5.50
合计	138	0	124	14		

$$\%G_\gamma = G_\gamma / (G_\gamma + A_\gamma) \times 100\%$$

表 2 蒙古族、锡伯族新生儿 A_γ^T 杂合体 % A_γ^I 均值、标准差及 A_γ^T 基因频率

民族	例数	A_γ^T 杂合体	% A_γ^I ($\bar{x} \pm SD$)	A_γ^T 纯合体	A_γ^T 基因频率
蒙古族	78	12	56.04 \pm 10.48	4	0.128
锡伯	60	6	64.33 \pm 7.49	0	0.050
合计	138	18		4	

$$\%A_\gamma^I = A_\gamma^I / (A_\gamma^I + A_\gamma^T) \times 100\%$$

两个民族的 % G_γ 均值蒙古族为 73.99%, 锡伯族为 74.59%, 偏高于前人的报道。未发现低 G_γ 值者。两民族间 % G_γ 均值的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但两民族 A_γ^T 杂合体中 % A_γ^I 均值差异显著 ($P < 0.05$)。

关于 G_γ / A_γ 比值,一般以高于 80% 或 85% 者为高 G_γ 值^{〔3〕}, 低于 50% 者为低 G_γ 值, 往往有基因异常现象。本文报道的两个民族, G_γ 值高于 85% 者, 蒙古族 8 例, 占群体的 10.26%, 锡伯族 6 例, 占 10%; 均未发现 G_γ 值低于 50% 者。我们对其中 7 例 G_γ 值高者 (84.2—87.72%) 的 DNA 进行了基因图谱分析, 结果见图 2、表 3。用 *Bgl* II 酶解的基因图上只显示 13.0kb 片段; 用 *Pst* I 酶解基因图上只显示 4.9kb、4.1kb、0.8kb 三种片段, 二者均与正常对照一致; 用 *Hind* III 酶解的基因图上也显示与正常对照相同的 8.0kb、3.5kb 两种片段, 另外

还出现了 7.2kb、2.7kb 两种片段。上述分析结果说明, 两个民族群体中 G_γ 值较高者未发现异常基因, 但在群体中 G_γ 和 A_γ 基因都各存在一个多态性位点。

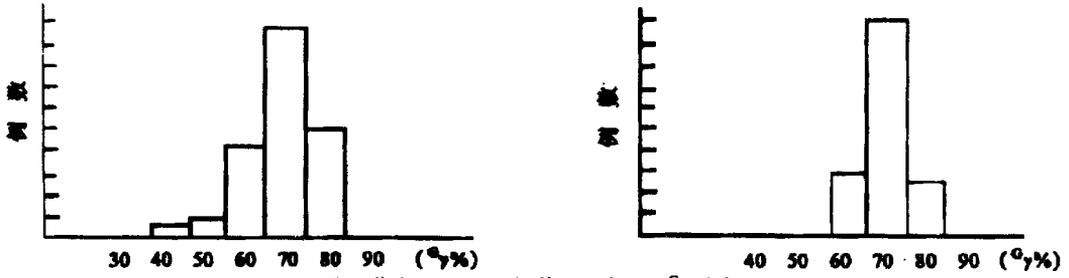


图1 蒙古族(左)、锡伯族(右) % G_γ 分布图

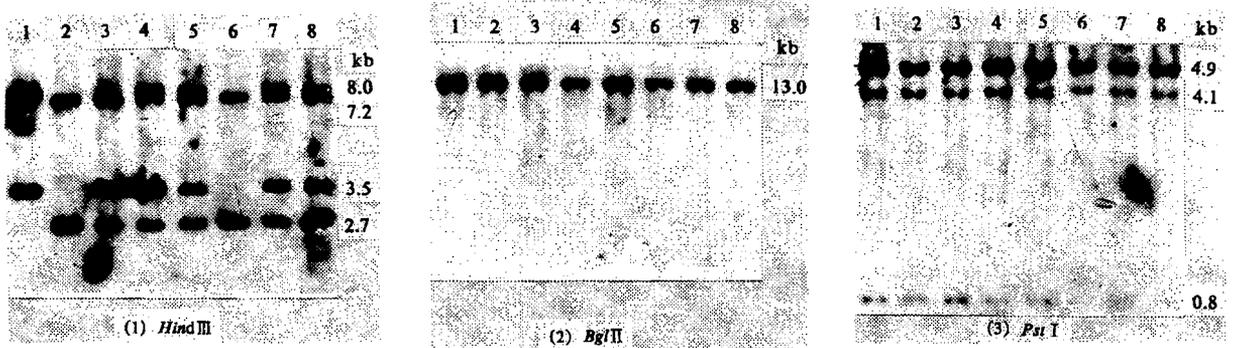


图2 用3种限制性内切酶酶解的 DNA 片段图谱

1. 正常; 2. 蒙古 6; 3. 锡伯 15; 4. 锡伯 36; 5. 锡伯 41; 6. 蒙古 66; 7. 蒙古 73; 8. 蒙古 83.

表3 7例 G_γ 值偏高者和正常对照的 DNA 限制性内切酶酶解片段

限制性内切酶	<i>Bgl</i> II (kb)	<i>Pst</i> I (kb)	<i>Hind</i> III (kb)
正常对照	13.0	4.9 4.1 0.8	8.0 3.5
蒙古 6 ($G_\gamma\%$ = 85.93)	13.0	4.9 4.1 0.8	7.2 2.7
蒙古 66 ($G_\gamma\%$ = 86.06)	13.0	4.9 4.1 0.8	7.2 2.7
蒙古 73 ($G_\gamma\%$ = 87.72)	13.0	4.9 4.1 0.8	8.0 7.2 3.5 2.7
蒙古 83 ($G_\gamma\%$ = 87.19)	13.0	4.9 4.1 0.8	8.0 7.2 3.5 2.7
锡伯 15 ($G_\gamma\%$ = 86.82)	13.0	4.9 4.1 0.8	7.2 3.5 2.7
锡伯 36 ($G_\gamma\%$ = 84.20)	13.0	4.9 4.1 0.8	8.0 7.2 3.5 2.7
锡伯 41 ($G_\gamma\%$ = 85.89)	13.0	4.9 4.1 0.8	8.0 7.2 3.5 2.7

一般认为, 新生儿 HbF 中 G_γ / A_γ 比例偏高或偏低是基因异常所致。我们对 7 例高 G_γ 值者的 DNA 进行基因分析却未见异常。珠蛋白肽链合成在胚胎发育过程中表现出严格的消长过程, 这种消长过程是 β 基因簇自 5'→3' 方向逐渐开启的结果。我们的实验严格掌握条件, HPLC 图形稳定, 方法技术的原因可以排除。笔者推测可能基因开启速度变化导致 G_γ / A_γ 比值偏高, 而这种改变是基因调控异常的结果, 并不是结构基因异常所致。值得回顾的是我们曾于 1980、1983 年分别对新疆锡伯族和同一地区蒙古族各作过千例血红蛋白病普查, 均未发现一例异常血红蛋白者, 这似乎可作为这两个少数民族群体突变基因确实较少的旁证。

此外, 本文测定的两个少数民族群体总人口都较少, 难以取得较大的样本。据查, 新疆巴州地区的蒙古族原系成吉思汗西征的一个部落, 曾在伏尔加河流域生活居住, 1671 年随部落首领渥加锡东返故土, 定居在新疆巴音布鲁克草原。新疆察布查尔锡伯族自治县的锡伯族, 在清代西迁, 至今已在新疆定居 200 余年, 屯垦在伊犁河谷。这两个民族长期来一直在这两个地区生活繁衍, 很少与外界往来、通婚, 处于封闭状态。这可能也是造成这两个民族 HbF 中 G_γ 均值偏高的一个原因。

表 4 我国各民族高^G γ 值、低^G γ 值分布频率比较⁽³⁻⁷⁾

民 族	高 ^G γ 值者(%)	低 ^G γ 值者(%)	民 族	高 ^G γ 值者(%)	低 ^G γ 值者(%)
汉 (上海)	3.0	2.0	汉 (新疆)	4.90	0
汉 (北京)	3.9	2.6	维吾尔 (新疆)	11.11	0
侗 (广西、湖南)	0.8	0	回 (新疆)	3.92	2.94
壮 (广西)	2.45	2.45	哈萨克 (新疆)	7.25	1.45
藏 (西藏)	0	1.30	蒙古 (新疆)	10.26	0
			锡伯 (新疆)	10.00	0

蒙古族中^A γ ^T 杂合体的发生率为 15.38%，锡伯族为 10%，其发生率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。蒙古族中发现 4 例^A γ ^T 纯合体，^A γ ^T 基因频率为 0.128。锡伯族中未发现^A γ ^T 纯合体，^A γ ^T 基因频率为 0.05。

^A γ ^T 基因频率具有民族差异，国内外许多学者曾测定了不少民族的^A γ ^T 基因频率^(9,10)，其结果列于表 5。

表 5 不同民族^A γ ^T 基因频率

民 族	^A γ ^T 基因频率 ($f^{A\gamma T}$)	民 族	^A γ ^T 基因频率 ($f^{A\gamma T}$)
意大利人	0.237	南斯拉夫	0.238
佐治亚白人	0.224	保加利亚	0.238
日 本 人	0.178	印 度	0.173
汉 (上海)	0.079	汉 (北京)	0.100
壮 (广西)	0.000	藏 族	0.149
汉 (新疆)	0.113	苗族 (贵州)	0.065
维 吾 尔	0.141	回 族 (新疆)	0.123
蒙古 (本文)	0.128	哈 萨 克	0.225
		锡 伯 (本文)	0.050

从上表可以看出，蒙古族^A γ ^T 基因频率与回族接近而介于汉、维吾尔之间。锡伯族^A γ ^T 基因频率较低，接近于汉族^A γ ^T 基因频率，但两个民族的^A γ ^T 基因频率都与西方各民族有显著差异。这进一步说明各民族^A γ ^T 基因频率是不同的，具有种族特异性。同时也在一定程度上反映出各民族间亲缘关系的远近。

参 考 文 献

(1) 邹起练等, 1995. 遗传学报, 22(1): 22—27.
 (2) 吴冠云, 王申五, 1988. 基因诊断, 北京: 人民卫生出版社.
 (3) 朱芝芳, 梁植权, 1986. 中国医学科学院学报, 8 (6): 445—449.
 (4) 朱芝芳, 梁植权, 1988. 中国医学科学院学报, 10 (3): 166—169.
 (5) 刘永明等, 1990. 遗传学报, 17 (5): 344—348.
 (6) 敖朝晖等, 1989. 生物化学杂志, 5 (5): 436—440.
 (7) 陈松森等, 1991. 生物化学与生物物理学报, 23 (6): 532—536.
 (8) 易志勤等, 1993. 遗传, 15 (3): 1—3.
 (9) Huisman T H J, 1983. Am. J. Hematol., 14(2): 133—148.
 (10) Schroeder W A *et al*, 1979. J. Clin. Invest., 63: 268—275.
 (11) Shelton J B *et al*, 1984. J. Lig. Chromatogr., 7(10): 1969—1977.

本文于 1994 年 4 月 5 日收到。

* * * * *

第五届国际植物分子生物学会议将于 1997 年 9 月 21—27 日在新加坡召开, 会议由国际植物分子生物学学会组织。联络处: International Society for Plant Molecular Biology
 Biochemistry and Molecular Biology University of Georgia, Athens, GA 30602—7229 USA