

短串联重复序列 *D7S2201* 基因座的群体遗传学研究

黄代新, 张林, 吴梅筠, 陈国弟, 陈于波

(华西医科大学法医学院法医物证教研室, 四川成都 610041)

摘要: 用扩增片段长度多态性技术分析短串联重复序列 *D7S2201* 基因座的遗传多态性, 在 262 个中国成都地区汉族无关个体及 119 个泰国曼谷地区泰人无关个体中分别发现 7 个和 5 个等位基因, 首次获得该基因座在两群体中的频率分布, 其等位基因片段大小范围为 100~124bp。两群体的基因型频率分布均符合 Hardy Weinberg 平衡。该基因座在两群体中的个人识别能力 (P_D)、杂合度 (H)、多态性信息含量 (C_{PI}) 及非父排除率 (P_E) 分别为 0.7038、0.5992、0.4789、0.2900 和 0.7351、0.5882、0.5012、0.2770。家系调查证实了等位基因的传递遵循孟德尔遗传规律。 χ^2 检验表明两群体间等位基因频率分布无显著性差异。

关键词: 短串联重复序列; 聚合酶链反应; *D7S2201* 基因座; 多态性

中图分类号: Q347, D919.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-977X(2001)02-0107-04

Population Genetic Study of the STR Locus *D7S2201* in Chinese and Thai Populations

HUANG Dai-xin, ZHANG Lin, WU Mei-yun, CHEN Guo-di, CHEN Yu-bo

(Department of Forensic Biology, West China University of Medical Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract: The polymorphism of a new short tandem repeat (STR) locus *D7S2201* was analyzed by using AmpFLP. Seven alleles were observed in 262 unrelated Chinese individuals living in Chengdu and five alleles in 119 unrelated Thai individuals living in Bangkok, the ranges of fragment size were 100~124bp. The genotypes distributions of *D7S2201* locus in the two populations were in accordance with Hardy Weinberg equilibrium. The discriminating power (P_D), observed heterozygosity (H), polymorphism information content (C_{PI}) and power of exclusion (P_E) were 0.7038, 0.5992, 0.4789, 0.2900 in Chinese population and 0.7351, 0.5882, 0.5012, 0.2770 in Thai population respectively. Family studies confirmed Mendelian inheritance of alleles. No significant difference was observed between the two populations.

Key words: short tandem repeat; polymerase chain reaction; *D7S2201* locus; polymorphism

短串联重复序列 (short tandem repeats, STR) 是由 2~6bp 重复单位构成的微卫星 DNA。STR 基因座在人类基因组中含量丰富, 其多态片段长度范围大多在 100~300bp 之间。STR 多态基因座作为一类重要的遗传标记系统被广泛应用于遗传制图、疾病筛选及法医学领域。

D7S2201 是位于人类 7 号染色体上的四核苷酸重复 STR 基因座, 其重复单元为 TARA (R = G 或 A)。目前, 国内外尚未见有关此基因座群体遗传学研究

的报道。本文应用 PCR 和 PAG 垂直电泳技术结合银染方法, 对中国成都地区汉族群体及泰国曼谷地区泰人群体 *D7S2201* 基因座的群体遗传学进行了调查研究, 首次获得该基因座在两群体中的频率分布。现报告如下:

1 材料与 方法

1.1 样本

262 份成都地区汉族无关个体的 EDTA 抗凝血

收稿日期: 2000-03-13; 修回日期: 2000-07-17

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 3004007) 资助

作者简介: 黄代新 (1969-11), 男, 湖北松滋人, 在读博士研究生, 专业方向: 法医学。Tel: 028-5501557, E-mail: huangdaixin@hotmail.com

由华西医科大学附属第一医院血库提供, 119 份泰人无关个体血样取自泰国曼谷。10 个家系检材取自成都市汉族家庭。

1.2 试剂及仪器

D7S2201 基因座引物: 5'-AGTTCAACCTGGG CAACATA-3'; 5'-TCAAGCCAAGGCATTTTCTA-3' 由 GIBCO BRL 公司合成; *Taq* 酶购于华美公司; 丙烯酰胺及甲叉-双丙烯酰胺购于 Fluka 公司。PCR-2400 型扩增仪(PE 公司), 电泳仪(北京六一仪器厂), PCR 产物测序由北京赛百盛生物工程公司完成。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取

按 Erlich 介绍的细胞裂解/蛋白酶 K DNA 抽提法提取 DNA^[1]。

1.3.2 PCR 扩增

反应体系 20 μ l, 内含 0.2 μ mol/L 每种引物, 200 μ mol/L dNTPs, 50mmol/L KCl, 10mmol/L Tris-HCl pH8.3, 1.5mmol/L MgCl₂, 0.5U *Taq* 酶, 模板 DNA 2 μ l(约 20ng)。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 2min, 然后 94 $^{\circ}$ C 45s, 58 $^{\circ}$ C 45s, 72 $^{\circ}$ C 50s, 30 个循环, 最后一个循环延伸 10min。

1.3.3 电泳分离

PAG 的凝胶浓度(*T*) = 6%, 交联度(*C*) = 5%, 凝胶大小 190mm \times 120mm \times 0.6mm。在每管 20 μ l 扩增产物中加入 20 μ l 2 \times STR 载样缓冲液(10mmol/L NaOH, 95% 甲酰胺, 0.05% 溴酚蓝, 0.05% 二甲苯青 FF), 混匀后取 2 μ l 加样, 以 50bp(序列)梯和 Φ X174/*Hae* III 作分子量标准, 恒压 500V 电泳 1.5 小时。

1.3.4 等位基因序列梯(ladder)的制备

将 4 个具有不同基因型的杂合子 DNA 浓度调整至相同后, 各取相同体积混匀, 取 4 μ l 混合物按上述条件扩增, 其产物即为含 7 个等位基因的序列梯。

1.3.5 银染

按 Bassam 等^[2]介绍的银染法染色。

1.3.6 DNA 测序

将扩增产物用 PAG 电泳分离, 溴化乙锭染色, 紫外灯下切下目的片段, 用“压碎与浸泡”法^[3]回收 DNA, 取回收产物用 ABI377 自动测序仪(美国)进行 DNA 测序。

1.3.7 统计学分析

记录每个样品的基因型, 计算基因频率, 对基因

型分布作 χ^2 检验。按有关公式分别计算杂合度(*H*), 杂合度及基因频率标准误^[4], 个人识别能力(*P_D*)及其标准误^[5], 多态性信息含量(*C_{PI}*)^[6], 非父排除率(*P_E*)^[7]等相关统计量。两群体间比较用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 等位基因及基因型分布

262 名汉族无关个体及 119 名泰国泰人无关个体中分别检出 7 个和 5 个等位基因(图 1, 2)。两群体等位基因频率分布见表 1。

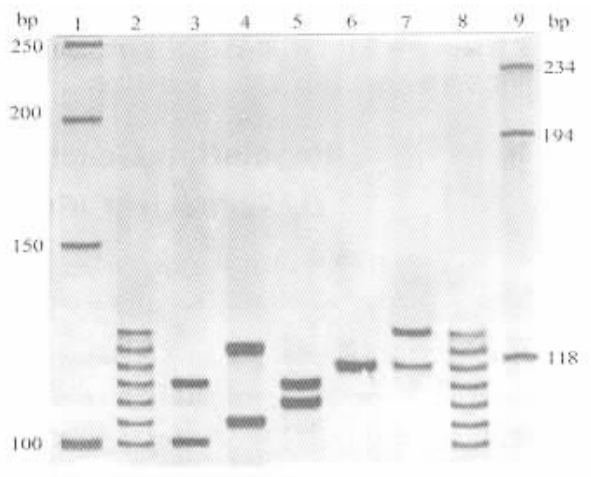


图 1 汉族群体 *D7S2201* 基因座的 7 个等位基因(负极在上)
1: 50bp(序列)梯; 2: 8 等位序列梯; 3: 11/14; 4: 12/16;
5: 13/14; 6: 15/15; 7: 15/17; 9: Φ X174/*Hae* III。

Fig. 1 7 alleles of the *D7S2201* locus in a Han population (Cathode is at the top)

表 1 汉族群体及泰人群体 *D7S2201* 基因座的等位基因频率

Table 1 Allele frequencies of *D7S2201* locus in Chinese and Thai populations

等位基因	片段大小(bp)	频率 \pm 标准误	
		汉族群体 (<i>n</i> = 262)	泰人群体 (<i>n</i> = 119)
11	100	0.0038 \pm 0.0027	—
12	104	0.0286 \pm 0.0073	0.0504 \pm 0.0142
13	108	0.3817 \pm 0.0213	0.3866 \pm 0.0316
14	112	0.5362 \pm 0.0218	0.5126 \pm 0.0324
15	116	0.0344 \pm 0.0080	0.0420 \pm 0.0130
16	120	0.0134 \pm 0.0050	0.0084 \pm 0.0059
17	124	0.0019 \pm 0.0019	—
		$\chi^2 = 2.4225$	<i>df</i> = 4 <i>P</i> = 0.6586

标准对照,判定基因型准确,确定 *D7S2201* 基因座共有 7 个等位基因,其多态性片段长度范围为 100 ~ 124bp。根据国际法医血液遗传学学会(ISFH) DNA 委员会的规定,STR 基因座的等位基因可按分子质量大小或重复单位的重复次数命名。我们根据测序结果按重复单位的重复次数将 *D7S2201* 基因座的 7 个等位基因命名为 11、12、13、14、15、16、17 (见图 1)。对该基因座所有分型结果作卡方检验,其基因型的观察值与期望值吻合良好,符合 Hardy Weinberg 平衡(汉族群体: $\chi^2 = 13.942$, $df = 21$, $P = 0.8721$; 泰人群体: $\chi^2 = 7.946$, $df = 10$, $P = 0.6342$)。两群体间等位基因频率分布具有显著性差异($P = 0.6586$)。

以本次调查结果计算 *D7S2201* 基因座在汉族群体及泰国泰人群体中的 H 、 D_p 、 C_{PI} 和 P_E 值见表 2。该位点在汉族群体及泰人群体的 7 个和 5 个等位基因中,基因频率大于 0.05 的常见等位基因分别为 2 个(13、14)和 3 个(12、13、14)。上述结果表明,*D7S2201* 基因座的多态性程度较好,加之等位基因片段很小,非常易于扩增,尤其适用于 DNA 高度降解检材的分型,因而在法医学中有较高实用价值。该基因座在汉族群体及泰人群体中最常见的等位基因均为 14,其频率分别为 0.5362、0.5126,最常见基因型均为 13 ~ 14,其频率分别为 0.4542、0.4118。

对 10 个家系调查结果表明,该基因座等位基因传递符合孟德尔遗传规律,同时也未观察到突变基

因的存在。虽然本次观察的家系数较少,但仍可说明该基因座突变率较低,在法医学中应用于亲子鉴定是可靠的。

参考文献(References):

- [1] Erlich HA 主编(田丁等译). PCR——DNA 扩增的原理与应用 [M]. 北京: 北京医科大学出版社, 1991. 43.
- [2] Basam B J, Gustavo C A, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels [J]. Analytical Biochemistry, 1991, 196(1): 80 ~ 83.
- [3] J. 萨姆布鲁克, E. F. 弗里奇, T. 曼尼阿蒂斯著(金冬雁, 黎孟枫译). 分子克隆实验指南(第二版) [M]. 北京: 科学出版社, 1992. 332 ~ 333.
- [4] Edwards A, Hammond H A, Jin L, et al. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups [J]. Genomics, 1992, 18(2): 241 ~ 253.
- [5] Sjerps M, van der Geest N, Pieron C, et al. A Dutch population study of the STR loci HUMTH01, HUMFES/FPS, HUMVWA31/1 and HUMF13A1, conducted for forensic purposes [J]. Int J Legal Med, 1995, 108(3): 127 ~ 134.
- [6] Botstein B, White R L, Skolnich M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Hum Genet, 1980, 32(3): 314 ~ 331.
- [7] Brenner C, Morris J. Paternity index calculations in single locus hyper-variable DNA probes: validation and other studies. p. 21 - 53 [C]. In Proceedings for the International Symposium on Human Identification 1989. Promega Corporation, Madison, WI, 1990.
- [8] Edwards A, Civitello A, Hammond H A, et al. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats [J]. Am J Hum Genet, 1991, 49(4): 746 ~ 756.