

中国人 ϵ 珠蛋白基因5'侧序列中多态性 Hinc II 位点的进一步研究

方福德 吴冠芸 左瑾 沈岩

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京)

王荣新 张尼佳 黄有文

(中国人民解放军303医院)

杨国英

(四川省人民医院, 成都)

张锦

(重庆医学院儿科医院)

摘 要

本文进一步研究了我国不同民族的正常个体以及 β 地中海贫血患者 ϵ 珠蛋白基因5'侧序列中的多态性 Hinc II 位点及其遗传性质。在广西壮族正常个体和 β 地中海贫血纯合子中, 该多态性位点的发生频率均为75%, 与正常汉族人测得值相近。家系分析资料表明, 该多态性位点完全按照孟德尔规律进行遗传。

关键词: 多态性限制酶位点 Hinc II ϵ 珠蛋白基因。

ϵ 基因是 β 类珠蛋白基因簇中的一员, 其 5' 侧序列中所存在的一个多态性 Hinc II 位点对 β 地中海贫血的基因诊断 (特别是产前基因诊断) 具有很重要的意义^[1, 2]。我们在前文^[3]已报告中国正常汉族人该位点的存在及其出现频率。本文进一步研究该位点的遗传性质及在 β 地中海贫血患者中的存在情况, 以便更好地加以利用。同时为了对比该位点在不同民族中的分布特点, 还对广西地区正常壮族人作了分析。

材 料 和 方 法

一、材料

用于酶解人 DNA、 λ DNA 和重组质粒的限制酶 Hinc II、Hind III、BamHI 和 EcoRI 以及 DNA 聚合酶 I (E. coli) 皆购自 BRL 公司; DNase I 和蛋白酶 K 分别购自 Sigma 和 Merck 公司。含人 ϵ 珠蛋白基因序列的重组质粒 P ϵ 1.3 系英国 Old, JM 所赠。硝酸纤维素膜购自

Schleicher & Schüll, GmbH公司。 α [^{32}P]-dTTP和 α [^{32}P]-dCTP购自英国 Amersham 公司。其他试剂和材料使用分析试剂及纯品，实验器具和溶液保持无菌。

二、DNA

本文分析的DNA分别提取自正常壮族、汉族家系及 β 地中海贫血患者。

三、实验方法

(1) 重组质粒的转化、扩增、质粒DNA提取及 ϵ 珠蛋白基因探针片段的回收和同位素标记均见前文^[3, 4]。

(2) 人外周血白细胞分离、白细胞DNA提取以及限制酶图谱分析(Southern印迹杂交)同前^[3, 4]。

结 果

一、广西壮族人 ϵ 基因5'侧序列中的多态性Hinc II 位点

观察了20个正常壮族人DNA的Hinc II限制酶图谱。用 ϵ 基因标记探针进行Southern印迹杂交的放射自显影图显示，在多数样品(12例)中仅呈现3.7kb杂交片段，部分样品(6例)呈现3.7kb和8.0kb两条杂交片段，少数样品仅呈现8.0kb杂交片段(2例)(Fig.1)，这些结果说明在壮族人中存在5'侧序列中的多态性Hinc II位点。由于人的两条染色单体均含有 ϵ 基因，故可由20个人的40条染色单体所出现的限制酶酶切片段计算发生频率，结果是：3.7kb和8.0kb的发生频率分别为75%和25%。以杂交片段表示的基因型有3.7kb/3.7kb、3.7kb/8.0kb和8.0kb/8.0kb三种，其发生频率分别为60%、30%和10%。

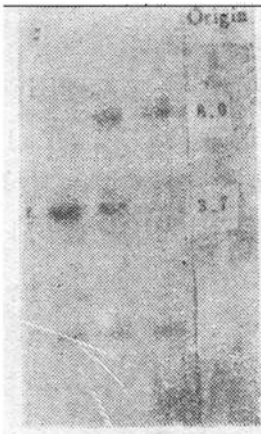


Fig. 1 The Polymorphic HincII Site 5' to ϵ Globin Gene Among Zhuang People Living in the Guangxi Zhuang Autonomous Region. genotypes: 1: 3.7/3.7 2: 3.7/8.0 3: 8.0/8.0 (length unit kb. the same as below)

二、 ϵ 基因5'侧序列中多态性Hinc II位点的遗传性质

为研究该位点的遗传性质，观察了7个汉族家系(共21人)的Hinc II酶切图谱，结果表明，在这7个家系中共呈现6种类型的图谱(Fig.2)。由Fig.2可知，在全部家系分析资料中，子代的多态性Hinc II位点都由其父或母或父母遗传而来，符合孟德尔遗传规律。

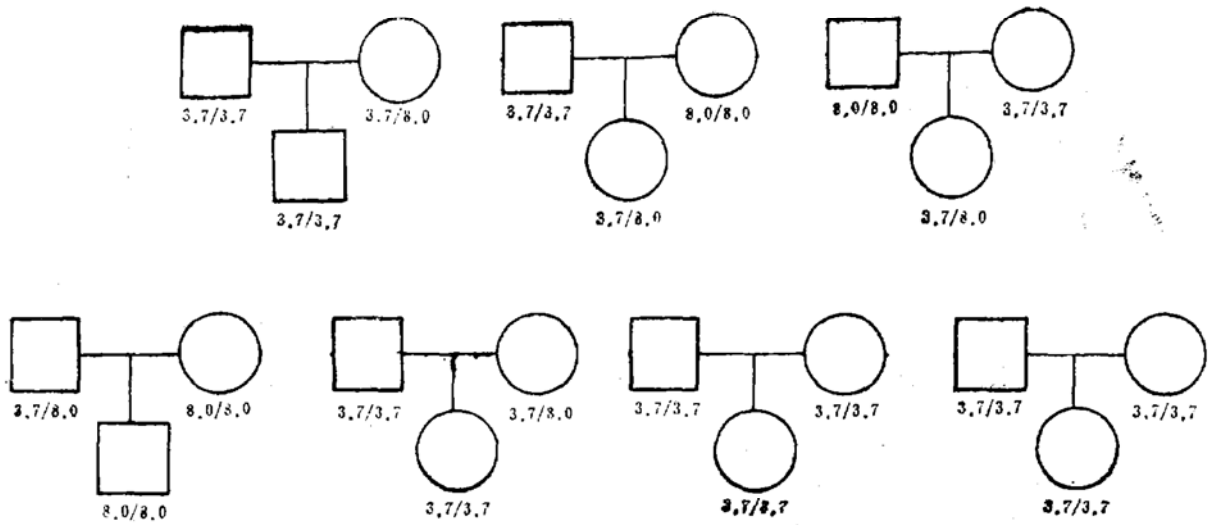


Fig 2 Genetic Property of the Polymorphic Hinc II Site 5' to Globin Gene in Seven Families.

三、 β 地中海贫血患者 ϵ 基因5'侧序列中的多态性Hinc II位点

检测了18例不同类型 β 地中海贫血(2例 β^0 纯合子、2例 β^+ 纯合子和14例 β 地贫杂合子)的Hinc II限制酶图谱,结果表明,无论纯合子或杂合子患者都存在 ϵ 基因5'侧序列中的多态性Hinc II位点,其杂交图谱上出现的片段长度与正常人无异。在纯合子患者中,出现3.7kb和8.0kb杂交片段的频率分别为75%和25%,与正常人(汉、壮族)的情况相仿。在14例杂合子患者中有7例呈现3.7kb/3.7kb基因型,故可肯定其携带地贫基因所在的单基因组中存在该多态性位点;另4例呈现3.7kb/8.0kb基因型,尚不能确定该多态性位点位于正常单基因组中还是带病基因所在的单基因组中;还有3例呈8.0kb/8.0kb基因型,他们不含该多态性位点。

讨 论

我们在前文^[3]已对正常汉族人 ϵ 珠蛋白基因5'侧序列中的多态性Hinc II位点作过研究,结果表明,由于存在该位点,在Southern印迹杂交图谱中形成一条3.7kb的杂交自显影带,在19个个体的检测结果中,显示这一多态性位点的出现频率为84.6%。本文对正常壮族人检测的结果也与此比较接近。我们之所以要对广西壮族人进行检测,一方面为了解不同民族基因多态性的异同提供一定的实际资料,另一方面结合我国 β 地中海贫血高发区之一——广西壮族自治区各民族基因多态性的调查,为该病的产前基因诊断提供分子遗传学的背景材料。以上工作在国内外尚未见报道。

在此基础上,我们还通过家系分析证明了该多态性位点是遵循孟德尔遗传规律由亲代遗传给子代的,这与国外文献的报告结论一致。

本文结果还表明,在 β 地中海贫血患者中也同样存在上述的多态性Hinc II位点,且其出现频率很高,因此,在我国开展 β 地中海贫血的基因诊断特别是产前基因诊断中,这一位点是很 useful 的。

参 考 文 献

- [1] Antonarakis, S.E., et al, (1982), Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 79, 137—141.
- [2] Boehm, C.D., et al, (1983), New Eng. J. Med. 308, 1054—1058.
- [3] 方福德等, 《中国医学科学院学报》, 发表中.
- [4] 吴冠芸等, (1983), 《中国医学科学院学报》, 5, 275—279.

Further Studies on Polymorphic Restriction Enzyme Hinc Site 5' to ϵ Globin Gene among Chinese

Fang, Fu-de Wu, Guan-yun Zhuo, Jin Shen, Yian
(Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Science, Beijing)

Wang, Rong-xing Zhang, Ni-jia Huang, Yiu-wen
(303th Hospital of People Liberation Army)

Yang, Guo-ying
(Sichuan Provincial Hospital, Chendu)

Zhang, Jin
(Paediatric Hospital, Chuongchin Medical College)

ABSTRACT

Further studies on Hinc II polymorphic restriction site 5' to ϵ globin gene of human DNAs from normal Zhuan individuals members of Han families and β -thalassemia patients have been carried out by restriction enzyme analysis. The frequency of the Hinc II site polymorphism among Zhuan people and β -thalassemia patients were found to be 75%, which was rather close to that previously reported among Han people. Results from family study showed that the inheritance of the polymorphic site among family members seemed to follow Mendel's rule.

Key word: polymorphic restriction site, Hinc II, ϵ globin gene.