

# 贵州荔波封闭人群 MTHFR 基因 多态性研究分析

肖 雁<sup>1</sup>, 单可人<sup>1</sup>, 李 毅<sup>1</sup>, 赵 艳<sup>1</sup>, 官志忠<sup>1</sup>, 任锡麟<sup>1</sup>

(1. 贵阳医学院分子生物学重点实验室, 贵阳 550004)

**摘要:** 目的 对贵州汉族、布依族亚甲基四氢叶酸还原酶(Methylenetetrahydrofolate Reductase, MTHFR) 基因多态性进行研究, 为贵州少数民族基因多态性数据库的建立提供相关数据。方法 应用聚合酶链式反应及限制性片段长度多态性检测贵州荔波汉族 90 例、布依族 119 例 MTHFR 基因两个单核苷酸(677 及1298位)多态位点的基因频率及基因型频率。结果 汉族、布依族 MTHFR 677 位 T 等位基因的分布频率分别是 22.8%, 16.1%,  $\chi^2 = 1.561$ ,  $P > 0.1$ ; MTHFR 1298 位 C 等位基因的分布频率分别是 28.9%, 39.1%,  $\chi^2 = 2.075$ ,  $P > 0.1$ ; 677CT/1298AC 双杂合子的分布频率分别是 16.66%, 22.7%。结论 MTHFR 677T 和 A1298C 多态性在中国南方和北方人群存在群体差异; 贵州汉族与布依族此两位点无显著性差异。贵州荔波布依族 MTHFR 1298 位有较高的 C 等位基因频率。

**关键词:** 聚合酶链式反应; 限制性片段长度多态性; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性

**中图法分类号:** Q987 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3193 (2005) 04-0315-04

亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)蛋白普遍存在于人、动物及原核生物中, 其生化功能是催化 5- $10\mu$  亚甲基四氢叶酸到 5-甲基四氢叶酸的还原反应。MTHFR 677T 及 A1298C 突变基因在人群中呈多态性分布, 在世界范围内具有相对较高的突变频率。已有研究表明 MTHFR 677T、A1298C 在不同国家、同一国家不同地区、不同民族或种族中的分布有显著差异性。

荔波位于黔南, 是少数民族聚居地, 布依族是云贵高原东南部的土著居民, 贵州布依族占布依族总人口的 95%, 有其独特的文化特点和婚嫁习俗, 即不与族外通婚, 同姓同宗不能通婚。所选汉族标本采自荔波县洞塘乡, 一个封闭的自然群体。上述人群生活环境相对封闭, 家系保留完整。我们通过了解贵州荔波汉族、布依族人群中 MTHFR 677T 及 A1298C 基因的遗传多态性, 获取 C677T 及 A1298C 多态性位点的群体遗传数据。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

根据知情同意的原则, 在贵州荔波县采集汉族 90 名(男性 41 女性 49)、布依族 119 名

收稿日期: 2004-12-20; 定稿日期: 2005-07-12

基金项目: 贵州省省长专项基金资助(黔科教办[2001]3)

作者简介: 肖雁(1972-), 女, 汉族, 硕士, 贵阳医学院分子生物学重点实验室, 讲师, 研究方向: 分子生物学。

通讯作者: 单可人, E-mail: hikerencn@yahoo.com.cn

(男性 40 女性 79) 个体外周血标本, 所选对象均为正常个体、3 代内无族外通婚、彼此间无血缘关系。EDTA-K2 抗凝后, - 20 °C 保存。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 利用常规酚-氯仿抽提法从全血中提取 DNA。

1.2.2 PCR 扩增引物 MTHFR-C677T 引物参照 Frosst 等<sup>[1]</sup> 的设计; MTHFR-A1298C 引物自行设计。

1.2.3 限制性酶 C677T 位点 *Hinf*I 限制酶酶切; A1298C 位点 *Mbo*II 限制酶酶切。

1.2.4 测序 用 ABI310 型全自动 DNA 测序仪对突变纯合子进行测序并与基因库序列进行比较。

1.2.5 统计方法 用 SSCP11.0 软件对数据进行分析。

2 结 果

2.1 贵州荔波汉族及布依族 MTHFR 677C<sup>-></sup>T 基因频率及基因型频率见表 1, 两个民族 MTHFR-C677T 基因型分布均以野生型为主。

表 1 贵州荔波汉族及布依族 MTHFR 基因 677 位基因型与等位基因频率  
MTHFR C677T genotype and allele frequencies of Han and Bouyei in Guizhou

| 民族  | 合计  | 基因型频率    |          |         | 基因频率  |       |
|-----|-----|----------|----------|---------|-------|-------|
|     |     | CC       | CT       | TT      | C     | T     |
| 汉 族 | 90  | 51(56.7) | 37(41.1) | 2(2.2)  | 0.772 | 0.228 |
| 布依族 | 119 | 82(68.8) | 36(30.3) | 1(0.90) | 0.839 | 0.161 |

( $\chi^2= 1.561, P> 0.1$ )

2.2 贵州荔波汉族及布依族 MTHFR 基因 1298A<sup>-></sup>C 多态性的比较见表 2。

表 2 贵州荔波汉族及布依族 MTHFR 基因 1298 位基因型与等位基因频率  
MTHFR A1298C genotype and allele frequencies of Han and Bouyei in Guizhou

| 民族  | 合计  | 基因型频率    |          |        | 基因频率  |       |
|-----|-----|----------|----------|--------|-------|-------|
|     |     | AA       | AC       | CC     | A     | C     |
| 汉 族 | 90  | 42(46.7) | 44(48.9) | 4(4.4) | 0.712 | 0.289 |
| 布依族 | 119 | 35(29.4) | 75(63.1) | 9(7.5) | 0.609 | 0.391 |

( $\chi^2= 2.075, P> 0.1$ )

2.3 贵州荔波汉族及布依族 MTHFR C677T 和 A1298C 基因型之间的分布。汉族中 MTHFR 基因 677CT/1298AC 双杂合子频率为 16.7%; 布依族双杂合子的频率为 23.6%。

3 讨 论

MTHFR 基因有多种突变类型, 1988 年 Kang 等<sup>[2]</sup> 发现 MTHFR 一种常见的不耐热错义突变(C677T) 与血浆同型半胱氨酸(Hcy) 浓度升高有关。C677T 在人群中有很高的突变频率, 贵州上述两民族 MTHFR C677T 基因多态性与其它国家人群的分布有所不同<sup>[3]</sup>, 与南方广州汉族(19.6%)<sup>[4]</sup> 677T 等位基因频率相一致, 与国内北方地区汉族(40%)<sup>[5]</sup> 有显著性差异。

1997 年发现 MTHFR 基因另一个常见突变是 A1298C, 这个等位基因的频率亚洲为 17%—38%, 西欧为 27%—36%<sup>[9]</sup>, 贵州上述两民族该位点的基因频率与亚洲相符。

与中国北方汉族及少数民族<sup>[6-7]</sup>相比, 贵州两个民族 MTHFR 基因 677C<sup>→</sup>T 位及 1298 位 A<sup>→</sup>C 的多态性有其民族特点: 中国北方汉族 677 位点基因型以杂合型为主, 贵州两个民族基因型以野生型为主, T 等位基因频率较低, 1298 位 C 等位基因频率较高。贵州荔波汉族 677 位 T 等位基因频率低于北方地区汉族; 1298 位 C 等位基因频率高于国内其它地区的汉族<sup>[8]</sup>, 提示 MTHFR 基因这两个位点不仅有民族差异还可能有地域差异。本研究发现贵州荔波汉族 677 位 T 等位基因频率高于同一地区的布依族, 1298 位 C 等位基因频率则低于布依族, 但差异均无显著性。

本研究结果显示贵州荔波汉族、荔波布依族 C677T/A1298C 双杂合子频率分别为 16.7%、23.6%, 与 Weisberg<sup>[9]</sup>等研究表明 C677T/A1298C 双杂合子在人群中的发生频率为 15%—20% 相符合。对人群 MTHFR 基因多态性的研究有助于进一步弄清人群中突变等位基因频率, 对该基因多态与疾病的关系做更明确探讨提供理论依据, 本研究为此提供有意义的数据积累。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Frosst P, Blom HJ, Milos R, *et al.* A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase[ J ]. *Nat Genet*, 1995, 10: 111—113.
- [ 2 ] Kang SS, *et al.* Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase[ J ]. *Am J Hum Genet*, 1988, 43( 4 ): 414—421.
- [ 3 ] Viel A, Dall' Agnese L, Simone F, *et al.* Loss of heterozygosity at the 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase locus in human ovarian carcinomas[ J ]. *Br J Cancer*, 1997, 75: 1105—1110.
- [ 4 ] 梁剑宁, 陈盛强. 143 例正常人甲基四氢叶酸还原酶基因的检测[ J ]. *广州医学院学报*, 2002, 30( 1 ): 38.
- [ 5 ] 于佳梅, 王新春, 陈白滨. 中国 5 个民族亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性的研究[ J ]. *人类学学报*, 1998, 17( 3 ): 242—246.
- [ 6 ] Kim Robien, Comelia M, Ulrich, *et al.* 5, 10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms and Leukemia Risk American[ J ]. *Journal of Epidemiology*, 2003, 157( 7 ): 571—582.
- [ 7 ] Budowle B, Cgakraborty R, Giusti AM, *et al.* Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE[ J ]. *Am J Hum Genet*, 1991, 48( 1 ): 137.
- [ 8 ] 孙文萍, 万琪, 苏明权, 等. 西安地区汉族亚甲基四氢叶酸还原酶基因的两种基因多态性[ J ]. *第四军医大学学报*, 2003, 24( 7 ): 634—636.
- [ 9 ] Weisberg IS, Jacques PF, Selhub J, *et al.* The 1298AC polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): In vitro expression and association with homocysteine[ J ]. *Atherosclerosis*, 2001, 156: 409—415.

## 5,10-methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphism in Three Nationalities in Guizhou Province

XIAO Yan<sup>1</sup>, SHAN Ke-ren<sup>1</sup>, LI Yi, ZHAO Yan, GUAN Zhi-zhong<sup>1</sup>, REN Xi-lin<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Molecular Biology of Guiyan Medical College, Guiyang 55004)

**Abstract: Objective** To study the genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) among the Han and Bouyei populations in Guizhou and to provide genetic data for the establishment of the genetic polymorphism bank of Guizhou minorities. **Methods** The technique of polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) is used to detect the gene frequency and genotype frequency of two mononucleotide sites (677 and 1298) of MTHFR among the Han population in Libo County, and the Bouyei population in Libo County. **Results** At mononucleotide site 677, T allele frequencies are 22.8%, 16.1%,  $\chi^2 = 1.561$ ,  $P > 0.1$  respectively, for the Han and Bouyei. At mononucleotide site 1298, C allele frequencies are 28.9%, 39.1%,  $\chi^2 = 2.075$ ,  $P > 0.1$  respectively, for Han, Bouyei. The frequencies with combined heterozygote of 677CT/1298AC are 16.66% and 22.7%, respectively for the two populations. **Conclusion** The polymorphisms of the two mononucleotide sites (677 and 1298) of MTHFR are diverse between northern and southern populations of China, but they are not significantly different between the Han and Bouyei in two sites. The C allele frequencies at site 1298 of the Bouyei in Libo County are higher.

**Key words:** Polymerase chain reaction; Restriction fragment length polymorphism; Polymorphisms; Methylenetetrahydrofolate reductase