

中国人群中微卫星位点 DXYS156 的多态研究

许丽萍¹ Michael F. Hammer² Tatiana Karafet² 杜若甫¹

(1 中国科学院遗传研究所, 北京 100101)

(2 美国亚利桑那大学分子分类和进化实验室, 图森 AZ85721)

摘 要

以中国 2 个汉族群体和 8 个少数民族群体的 520 名个体为研究对象, 采用 PCR 扩增后聚丙烯酰胺凝胶电泳分离的方法, 分析了 Y 染色体上 DXYS156Y 和 X 染色体上 DXYS156X 这两个微卫星位点的遗传多态性。结果表明: 在所研究的 10 个中国人群中, 共观察到 10 个不同长度片段的等位基因, 在 X 染色体上的 5 个等位基因是: 130bp、135bp、140bp、145bp、150bp, 在 Y 染色体上的五个等位基因是: 160bp、165bp、170bp、175bp、180bp。DXYS156Y 位点的多态信息量较多, 以 165bp 为 Y 染色体上的主要等位基因, 频率范围在 0.23—0.77; 等位基因 160bp、170bp 和 175bp 次之, 频率范围分别为 0.02—0.36、0.01—0.50 和 0.03—0.31; 而等位基因 180bp 频率较低, 频率范围为 0.02—0.05。DXYS156X 位点的多态信息量较少, 以等位基因 140bp 为各个群体中最普遍的类型, 频率范围为 0.86—0.98, 其余类型均较低。DXYS156X 的基因频率及中国人群中 DXYS156Y 的基因频率至今在文献中尚未见报道。

关键词 中国人, 微卫星 DNA, DXYS156, 遗传多态性

1 前 言

微卫星 (microsatellites) 是一类简单的串联重复 DNA 序列, 通常以 1—6bp 为重复单位, 重复次数可达 100 次 (Queller *et al.*, 1993; Tautz, 1993)。微卫星 DNA 以其在人类基因组中广泛分布、高度的多态性以及快捷简单的检测而成为非常有用的遗传标记 (Weber *et al.*, 1989; Economou *et al.*, 1990)。

DXYS156 是一个以五核苷酸 (TAAAA) 为重复单位的微卫星。它同时存在于 X 染色体和 Y 染色体上, 分别称 DXYS156X 与 DXYS156Y。它在 X 和 Y 上的位点分别带有不同的等位基因, 表明该位点在 X 和 Y 之间没有发生遗传物质的交换, 这与 Y 染色体上拟常染色体区域中的位点不同 (Chen *et al.*, 1994)。由于 DXYS156 具有高度的多态性, 因而有望成为有用的遗传标记之一, 并自 1994 年起被用于人类遗传学的研究 (Chen *et al.*, 1994)。到目前为止, DXYS156 在中国人群中的多态分析尚未见报道。本文对中国陕西汉族等 10 个人群 520 名个体进行了微卫星位点 DXYS156 的遗传多态性研究。

2 材料与方法

2.1 实验材料

本文研究的中国 10 个人群的血液样本采血地点和人数见表 1。每个群体随机取该民族 50 名左右相互间无直接亲属关系、3 代之内均居住在当地的男性正常人。献血者大多是该民族的大、中学校学生，回族献血者则为工人。

表 1 中国 10 个人群的采样地点和人数

Sampling place and number tested in ten Chinese populations

人群 Populations	人类 Number tested	采样地点 Sampling place	经纬度 Longitude and latitude
广东汉族 Han (Guangdong)	41	广东省广宁县 Guangning County, Guangdong Province	(112. 4E, 23. 6N)
陕西汉族 Han (Shaanxi)	44	陕西省麟游县 Linyou County, Shaanxi Province	(107. 8E, 34. 6N)
满族 Manchu	52	辽宁省岫岩满族自治县 Xiuyan County, Liaoning Province	(123. 2E, 40. 2N)
回族 Hui	55	宁夏回族自治区同心县 Tongxia County, Ningxia Hui Autonomous Region	(105. 9E, 36. 9N)
彝族 Yi	43	四川省布拖县 Butuo County, Sichuan Province	(102. 8E, 27. 7N)
藏族 Tibetan	75	西藏西藏自治区拉萨市 Lhasa City, Tibet Autonomous Region	(91. 1E, 29. 6N)
维吾尔族 Uygur	68	新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 Urumqi City, Xinjiang Uygur Autonomous Region	(87. 6E, 43. 8N)
土家族 Tujia	48	湖南省吉首市 Jishou City, Hunan Province	(109. 7E, 28. 3N)
瑶族 Yao	60	广西壮族自治区巴马瑶族自治县 Bama County, Guangxi Zhuang Hui Autonomous Region	(107. 2E, 24. 1N)
壮族 Zhuang	34	广西壮族自治区武鸣县 Wuming County, Guangxi Zhuang Autonomous Region	(108. 2E, 23. 1N)

2.2 基因组 DNA 的提取

瑶族、维吾尔族、回族、满族、土家族、藏族和壮族等 7 个群体的基因组 DNA 从 392 份冰冻血液中提取，其余广东汉族、陕西汉族和彝族等 3 个群体从 128 人的永生细胞株中提取，提取方法见 Sambrook *et al.* (1989)。

2.3 PCR 与聚丙烯酰胺凝胶电泳

用 PCR 扩增 DXYS156 同源位点 (DXYS156X 和 DXYS156Y) 相应的靶序列。根据五核苷酸重复序列的侧翼而设计一对引物，其序列为：5'-CAGATACCAAGGTGAGAATC-3' 及 5'-GTAGTGGTCTTTGGCTCC-3' (Chen *et al.*, 1994)。PCR 反应混合物中含 10mM

Tris-HCl (pH 8.8), 75mM KCl, 3.5mM MgCl₂, 200μM dNTPs, 0.28pM 引物 (混合的), 20—50ng 基因组 DNA, 0.3 单位 T_{ag} DNA 聚合酶 (Perkin-Elmer 公司), 反应总体积为 15μl。反应混合物用 20—30μl 石蜡油覆盖。PCR 反应在 Perkin Elmer 热循环仪上进行。每个反应过程为 35 个循环, 每个循环包括 94 变性 30 秒, 58 复性 30 秒, 72 延长 30 秒。每次反应均设置不含模板 DNA 的超纯水对照。PCR 产物在 8% 聚丙烯酰胺和 0.15% 二丙烯酰胺混合制成的凝胶 (20 × 35 × 0.15cm) 上电泳分离, 300 伏恒压电泳 6—7 小时。电泳缓冲液是 TBE (0.18M Tris-Borate, 0.004M EDTA, pH 8.3)。电泳结束后, 用溴化乙锭染色, 紫外光下观察、拍照。

2.4 数据处理

基因频率按计数法计算, 遗传多样性值则由下式获得: $n \left(1 - \sum P^2 \right) / (n - 1)$, 其中, n 是研究的个体数, P 为该位点的各等位基因频率 (Nei, 1987)。

3 结果与讨论

本实验对中国十个群体的 520 个体 DXYS156 微卫星位点进行了研究。共观察到 10 个不同长度片段的等位基因, 其中存在于 X 染色体上有五个等位基因 (130bp、135bp、140bp、145bp、150bp), 存在于 Y 染色体上也有五个等位基因 (160bp、165bp、170bp、175bp、180bp)。图 1 示聚丙烯酰胺凝胶电泳分离结果。表 2 和表 3 分别列出了 DXYS156X 和 DXYS156Y 的等位基因频率。

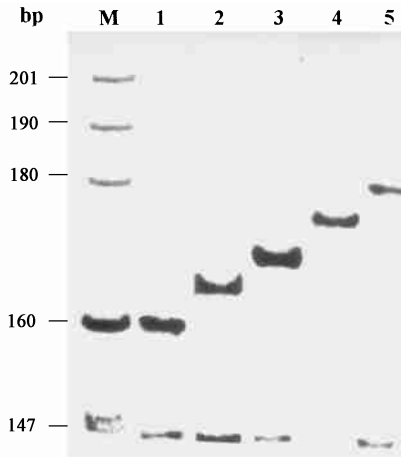


图 1 DXYS156 位点的聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Polyacrylamide Gel Electrophoresis of DXYS156 Microsatellite

M	DNA 分子量标记, pBR/ Msp	Lane M	pBR/ Msp ladder
1	Y8 等位基因 (160bp) 和 X4 等位基因 (140bp)	Lane 1	Y8 allele (160bp) and X4 allele (140bp)
2	Y9 等位基因 (165bp) 和 X4 等位基因 (140bp)	Lane 2	Y9 allele (165bp) and X4 allele (140bp)
3	Y10 等位基因 (170bp) 和 X4 等位基因 (140bp)	Lane 3	Y10 allele (170bp) and X4 allele (140bp)
4	Y11 等位基因 (175bp)	Lane 4	Y11 allele (175bp)
5	Y12 等位基因 (180bp) 和 X4 等位基因 (140bp)	Lane 5	Y12 allele (180bp) and X4 allele (140bp)

表 2 DXYS156Y 等位基因频率在不同人群中的分布
DXYS156Y allele frequencies distribution in different populations

人群 Populations	人数 No.	Y8 160bp	Y9 165bp	Y10 170bp	Y11 175bp	Y12 180bp	遗传多样性值 Genetic diversity	文献 Reference
广东汉族(Han)	41	2(0.05)	25(0.61)	7(0.17)	6(0.15)	1(0.02)	0.59	
陕西汉族(Han)	44	2(0.05)	11(0.25)	20(0.46)	9(0.21)	2(0.05)	0.70	
满族(Man)	52	14(0.27)	17(0.33)	14(0.27)	6(0.12)	1(0.02)	0.75	
回族(Hui)	55	14(0.26)	27(0.49)	8(0.15)	6(0.11)		0.67	
彝族(Yi)	43	1(0.02)	28(0.65)	4(0.09)	10(0.23)		0.52	
藏族(Tibetan)	75	27(0.36)	24(0.32)	1(0.01)	23(0.31)		0.68	本文
维吾尔族(Uygur)	68	12(0.18)	41(0.60)	13(0.19)	2(0.03)		0.58	
土家族(Tujia)	48	12(0.25)	11(0.23)	18(0.38)	6(0.13)	1(0.02)	0.74	
瑶族(Yao)	60	13(0.22)	15(0.25)	30(0.50)	2(0.03)		0.65	
壮族(Zhuang)	34	2(0.06)	26(0.77)	2(0.06)	4(0.12)		0.40	
总计	520	99(0.19)	225(0.43)	117(0.23)	74(0.14)	5(0.01)	0.71	
非洲 (Sub-Saharan Africans)	30	25(0.83)	5(0.17)				0.29	Sajantila <i>et al.</i> , 1996
芬兰(Finns)	54		53(0.98)	1(0.02)			0.04	Sajantila <i>et al.</i> , 1996
瑞典(Swedes)	40		39(0.98)	1(0.02)			0.04	Sajantila <i>et al.</i> , 1996
瑞士(Swiss)	51		51(1.00)				0.00	Sajantila <i>et al.</i> , 1996

表 3 DXYS156X 等位基因频率在中国 10 个人群中的分布
DXYS156X allele frequencies distribution in ten Chinese populations

人群 Populations	人数 No.	X2 130bp	X3 135bp	X4 140bp	X5 145bp	X6 150bp	遗传多样性值 Genetic diversity
广东汉族(Han)	41	1(0.02)		40(0.98)			0.04
陕西汉族(Han)	44	1(0.02)		41(0.93)	2(0.05)		0.14
满族(Man)	52			51(0.98)	1(0.02)		0.04
回族(Hui)	55		1(0.02)	49(0.89)	5(0.09)		0.20
彝族(Yi)	43	2(0.05)		37(0.86)	4(0.09)		0.26
藏族(Tibetan)	75	1(0.01)		71(0.95)	3(0.04)		0.10
维吾尔族(Uygur)	66			61(0.92)	3(0.05)	2(0.03)	0.15
土家族(Tujia)	47	2(0.04)		43(0.92)	2(0.04)		0.15
瑶族(Yao)	60			55(0.92)	3(0.05)	2(0.03)	0.15
壮族(Zhuang)	34	1(0.03)		30(0.88)	3(0.09)		0.22
合计	517	8(0.015)	1(0.002)	478(0.925)	26(0.050)	4(0.008)	0.13

(1) DXYS156Y

在所研究的中国 10 个人群中, DXYS156Y 表现出遗传多态性较大。165bp 是主要的等位基因。在 10 个人群中, 有 6 个人群的 165bp 频率都是最高的, 其中壮族 165bp 频率高达 0.77, 而在陕西汉族、土家族和瑶族中, 则 170bp 是主要的等位基因, 其频率分别为 0.46、0.38 和 0.50。藏族的基因频率分布比较特殊, 它虽有 4 种等位基因, 但其中 3 种等位基因 (160bp、165bp、175bp) 的频率均为 0.30 左右, 而 170bp 等位基因在 75 个藏人中只检出 1 例 (频率为 0.01)。

从 DXYS156Y 位点的遗传多样性值可以看出: 壮族在 10 个人群中该值最低, 但也达 0.40, 彝族、维吾尔族、广东汉族的遗传多样性值分别为 0.52、0.58 和 0.59, 而陕西汉族、满族、回族、藏族、土家族、瑶族等 6 个人群的遗传多样性值高达 0.65—0.75。

据文献报道 (Sajantla *et al.*, 1996), 在撒哈拉沙漠以南的非洲人中, 仅有 160bp 和 165bp 两种等位基因, 以 160bp 为主要等位基因, 其频率高达 0.83, 遗传多样性值较低。一些欧洲群体, 如芬兰、瑞典、瑞士等, 以 165bp 等位基因为最普遍的类型, 频率范围为 0.98—1.00, 表现出多态信息量较少, 遗传多样性值范围仅为 0.00—0.04。

通过比较 DXYS156Y 位点的等位基因频率在非洲、欧洲和中国人群中的分布, 可以看出 DXYS156Y 位点的多态分布呈现较强的人群异质性, 非洲人以 Y8 型 (160bp) 为主, 欧洲和亚洲人以 Y9 型 (165bp) 为主。而且这个位点在以本文中国人为代表的亚洲人中表现出较大的多态信息量。10 个中国人群遗传多样性值达 0.71。

(2) DXYS156X

在所研究的中国 10 个人群中, DXYS156X 的遗传多态性较低。140bp 的等位基因是各个群体中最普遍的类型, 频率范围从 0.86 到 0.98, 其它类型出现的频率均较低。145bp 等位基因在广东汉族中未发现, 在其他人群中其频率为 0.02 至 0.09。130bp 等位基因在满族、回族、维吾尔族及瑶族中均未发现, 在其他人群中的频率 0.01 至 0.05。150bp 等位基因仅在维吾尔族与瑶族中各发现 2 例, 频率均为 0.03; 而 135bp 等位基因则仅在回族中发现 1 例, 在人群中的频率为 0.02。

从 DXYS156X 位点的遗传多样性值可以看出: DXYS156 位点在 X 染色体上表现出较少的多态信息量, 遗传多样性值的范围仅为 0.04—0.26, 10 个人群的遗传多样性值为 0.13。

目前在文献中尚无 DXYS156X 位点的基因频率报道, 因而不可能将我们所得的结果与世界上其他人群进行比较。

虽然本研究对中国 10 个群体的 Y 染色体 DNA 研究尚属初步, 但其结果已为人类群体遗传学积累了一些基本数据, 为民族遗传学提供了一些有价值的资料。我们的结果表明, DXYS156, 尤其是 DXYS156Y 是人类、特别是亚洲群体遗传学研究的好指标。

参 考 文 献

- Chen H, Lowther W, Avramopoulos D *et al.* 1994. Homologous loci DXYS156X and DXYS156Y contain a polymorphic pentanucleotide repeat (TAAAA) n and map to human X and Y chromosomes. *Human Mutation*, 4: 208—211.
- © 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net
- Economou EP, Bergen AW, Warren AC *et al.* 1990. The polydeoxyadenylate tract of Alu repetitive elements is

- polymorphic in the human genome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87: 2951—2954.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia Univ. Press.
- Queller DC, Strassmann JE, Haghies CR. 1993. Microsatellites and kinship. *Trends in Ecology and Evolution*, 8: 285—288.
- Sajantila A, Salem AH, Savolainen *P et al.* 1996. Paternal and maternal DNA lineages reveal a bottleneck in the founding of the Finnish population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 12035—12039.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Second Edition. NY, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Tautz D. 1993. Notes on the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequence. In: Pena SDJ, Chakraborty R, Eppelen JT *et al.* eds. *DNA Fingerprinting: State of the Science*. Basel: Birkhauser Verlag, 21—28.
- Weber JL, May PE. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet*, 44: 388—396.

A STUDY ON POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE LOCUS DXYS156 IN CHINESE POPULATIONS

Xu Liping¹ Michael F. Hammer² Tatiana Karafet² Du Ruofu¹

(1 *Institute of Genetics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, P. R. China*)

(2 *Laboratory of Molecular Systematics and Evolution, University of Arizona, Tucson, AZ 85721, USA*)

Abstract

The genetic polymorphisms of microsatellite loci, DXYS156Y on the Y chromosome and DXYS156X on the X chromosome were studied by using PCR method followed by PAGE, in 520 males of 10 populations (2 Han subpopulations and 8 ethnic minorities) in China. The result shows that the ten alleles with different length fragments were found in Chinese populations surveyed. Among them, five are alleles 130bp, 135bp, 140bp, 145bp, 150bp on the X chromosome, and the others are alleles 160bp, 165bp, 170bp, 175bp, 180bp on the Y chromosome. The locus DXYS156Y has a high polymorphic information content, and the allele 165bp with the frequency range from 0.23—0.77 is predominant in Chinese populations, followed by alleles 160bp, 170bp, and 175bp with the frequency range from 0.02—0.36, 0.01—0.50 and 0.03—0.31, respectively, while the allele 180bp takes the last place with the frequency range from 0.02—0.05. The DXYS156X has a low information content, and the allele 140bp, with the frequency range from 0.86—0.98, is the most common type, while the other alleles have a quite low frequencies. The allele frequency of DXYS156Y in Chinese populations and that of DXYS156X in human populations have not been reported so far.

Key words Chinese, Microsatellite DNA, DXYS156, Genetic polymorphism