

# 我国东北地区 3 个群体 DYS390 多态位点的遗传学研究

滕百军 陈 峰 傅松滨 张贵寅 李 璞

(哈尔滨医科大学医学遗传学研究室, 哈尔滨 150086)

## 摘 要

目的 研究中国群体 Y 染色体微卫星位点 DYS390 遗传多态性, 可以用于追溯人类进化上的父系祖先, 也可以为人类基因组和法医学等研究积累数据。方法 采用 PCR 技术扩增微卫星 DNA 片段, 再经变性凝胶电泳及银染方法, 对我国东北地区汉族、蒙古族及朝鲜族 3 个群体的 102 例男性个体的 DYS390 位点的遗传多态性进行了研究。结果 除汉族群体发现 5 种等位基因外, 朝鲜族和蒙古族群体均检出 4 种。在汉族群体中, 我们检出 1 例具 223bp 等位基因。等位基因频率分布在汉族、朝鲜族以 211bp 的频率为最高, 分别为 0.439 和 0.451; 而蒙古族群体则以 215bp 的频率为最高 (0.433)。结论 3 个群体之间 DYS390 位点等位基因频率无显著性差异 (Fisher 精确概率检验:  $P=0.930$ )。3 个群体中 DYS390 位点 5 种等位基因的分化程度以 223bp 为最高, 分化程度最低的为 211bp。聚类分析表明 3 个群体的父系亲缘关系较为密切, 其中以汉族与朝鲜族之间的遗传距离最近。

关键词 DYS390, Y 染色体, 微卫星 DNA, 遗传多态性

80 年代后, 对人类 Y 染色体的研究已进入了 DNA 多态性分析阶段。随着 PCR 技术的不断发展, 已开始采用微卫星 DNA (Microsatellite DNA) 标记对 DNA 多态性位点进行研究。由于 Y 染色体属于父系遗传, 其中, Y 染色体特异区 (Y-encoded) (Cantu *et al.*, 1988) 在减数分裂过程中不发生同源重组。从分子水平上讲, 非重组部分的 DNA 序列记录了发生在 Y 染色体上的所有突变。为此, 对人类群体 Y 染色体 DNA 多态性的研究可以用于追溯人类进化上的父系祖先, 从而探讨人类的起源问题 (Jobling *et al.*, 1995)。

DYS390 多态性位点是位于 Y 染色体近端部的一个以四核苷酸 (CTAT) 为重复单位的微卫星位点。本文利用 PCR 技术首次对我国东北地区汉族、朝鲜族及蒙古族 3 个群体 DYS390 等位基因频率的分布特点进行了研究, 目的在于为我国各民族之间父系亲缘关系的研究积累数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本 DNA

102 份血液样本分别采自黑龙江省哈尔滨市 (汉族)、吉林省延边朝鲜族自治州延边市 (朝鲜族) 和内蒙古自治区海拉尔市 (蒙古族)。每例样本采集外周静脉血 3—5 ml, 0.05 mol/L 枸橼酸钠 (ACD) 抗凝, -20℃ 保存至用酚/氯仿法提取基因组 DNA。所有男性个体均无血缘关系, 家系 3 代以内为同一民族。汉族、朝鲜族血样来源于大学生, 蒙古族血样采自当地健康居民。

### 1.2 PCR 扩增

引物系列及 PCR 反应条件均选自基因组数据库 (GDB ID: G00-365-248), 其中引物由中国科学院上海细胞生物研究所合成。25 μl 反应体积中, 含模板 DNA 100 ng, 4 × dNTPs 10 μmol, 引物各 10 pmol, MgCl<sub>2</sub> 2.5 mmol, Taq DNA 聚合酶 1 U。PCR 反应条件为: 94℃ 变性 30 秒、55℃ 退火 75 秒、72℃ 延伸 15 秒, 循环 30 次, 72℃ 延伸 7 分钟。

### 1.3 PCR 产物检测及等位基因表型的判定

采用 2% 琼脂糖凝胶电泳及凝胶自动成像系统 (Bio-Rad 公司, Gel Doc 1000) 检测 PCR 扩增情况。PCR 产物用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (交联比 19:1; 7M 尿素; 离子强度为 1 × TBE), 经银染后在 DNA Marker (PBR322/Hae<sup>III</sup>) 对照下判读等位基因的多态类型 (图 1)。

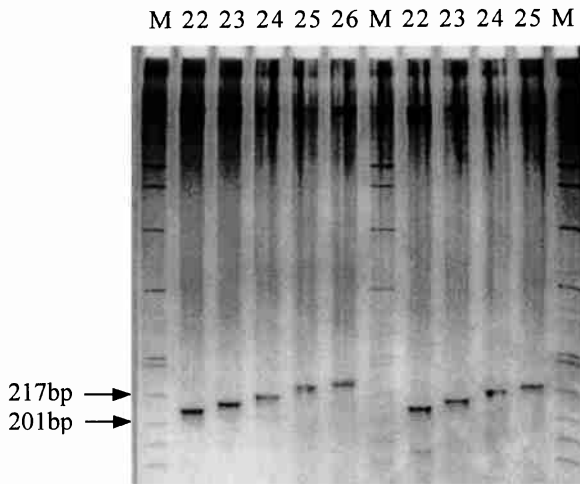


图 1 DYS390 多态位点 5 种等位基因的聚丙烯酰胺凝胶电泳图

5 alleles on polymorphic DYS390 site typed by PAGE

M 示 DNA Marker (PBR322/Hae<sup>III</sup>); M: DNA Marker (PBR322/Hae<sup>III</sup>)

22—26 示核心序列重复次数; 22—26: Repeats of the motifs

## 2 结 果

### 2.1 东北地区 3 个群体 DYS390 多态位点的等位基因频率

图 1 展示了本研究所观察到的 3 个群体的 5 种等位基因, 核心序列重复次数分别为 22 (207bp)、23 (211bp)、24 (215bp)、25 (219bp) 和 26 (223bp)。DYS390 位点在 3 个民族中均具有多态性。图 1 中左侧两条 DNA Marker 之间示汉族男性 DYS390 等位基因; 右侧两条 DNA Marker 之间示朝鲜族和蒙古族男性 DYS390 等位基因, 均无 26 (223bp)。DYS390 多态位点的等位基因频率见表 1、图 2。其中蒙古族最高等位基因频率位于 215bp 上, 而汉族和朝鲜族则位于 211bp。

表 1 中国 3 个群体 DYS390 等位基因频率

The frequencies of alleles in three ethnic groups in China

Allele without sequencing (按不测序命名的等位基因)	DYS 390 loci (DYS390 位点)	Allele frequencies (等位基因频率)		
		Han (汉族)	Korean (朝鲜族)	Mongol (蒙古族)
22	207bp	0.098 (4/41)	0.065 (2/31)	0.033 (1/30)
23	211bp	<u>0.439</u> (18/41)	<u>0.451</u> (14/31)	0.400 (12/30)
24	215bp	0.317 (13/41)	0.323 (10/31)	<u>0.433</u> (13/30)
25	219bp	0.122 (5/41)	0.161 (5/31)	0.133 (4/30)
26	223bp	0.024 (1/41)		

注: 下划线部分示最高等位基因频率 (The underlines show the highest allele frequencies)

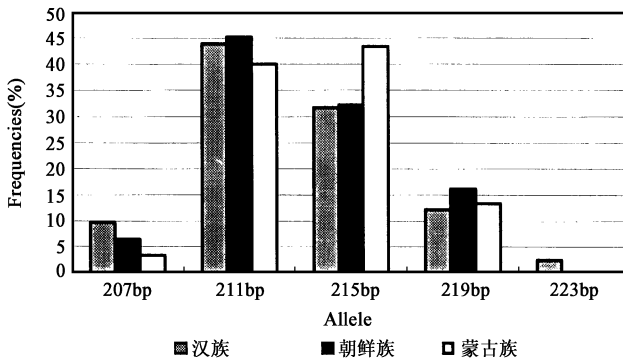


图 2 中国 3 个群体 DYS390 等位基因频率分布柱状图

The histogram of allele frequencies in three ethnic groups in China

### 2.2 等位基因频率的 $\chi^2$ 检验

统计分析结果表明: 3 个群体间 DYS390 等位基因频率无显著差异 (Fisher 精确概率检验:  $P=0.930$ )。

### 2.3 群体间的遗传分化与遗传距离

利用遗传学群体与家系资料计算机分析系统 (PPAP3.0 版), 可以计算出汉族、朝鲜族

和蒙古族 3 个群体 DYS390 多态位点各等位基因的固定指数 ( $F_{st}$ ) 和各民族之间的聚类关系。由表 2 可知, 3 个群体中 DYS390 位点 5 种等位基因的分化程度以 223bp 为最高, 分化程度最低的为 211bp。3 个群体间的遗传距离分别为: 汉族与朝鲜族之间: 0.0047、朝鲜族与蒙古族之间: 0.0229、汉族与蒙古族之间: 0.0250。

表 2 DYS390 位点各等位基因表型的固定指数

The  $F_{st}$  of allele types at DYS390 site

Allele types (等位基因表型)	207bp	211bp	215bp	219bp	223bp
$F_{st}$ . (固定指数)	0.0173	0.0029	0.0186	0.0034	0.0223

### 3 讨 论

目前, DYS390 的等位基因已有 8 种被报道, 详见表 3 (a: Deka *et al.*, 1996; b: 侯一平等, 1999; c: Rodriguez-Delfin *et al.*, 1997; d: Bianchi *et al.*, 1998)。本实验所检测的中国 3 个民族, 除汉族有 5 种等位基因外, 朝鲜族和蒙古族均检出 4 种。同时在汉族群体中, 我们还发现了 1 例具 223bp 的等位基因, 从目前已知的文献来看, 该等位基因仅在汉族中有 1 例报道 (侯一平等, 1999), 很可能是中国汉族所持有的, 这对研究中国群体的父系起源将有重要的作用。关于 DYS390 的突变率问题, 研究人员一直关注利用基因歧化估计分化时间来探讨微卫星 DNA 的突变率, 遗憾的是在这方面的认识还相当的粗浅。

表 3 DYS390 等位基因频率在不同群体中的分布情况

Allele frequencies of DYS390 for different populations

Populations (人 群)	n	Allele frequencies (等位基因频率)								文 献 Reference
		20	21	22	23	24	25	26	27	
Germany	22	0.05	-	0.18	0.23	0.32	0.23	-	-	a
Caucasia	20	-	0.05	0.20	0.15	0.45	0.15	-	-	a
China (Han, Chengdu)	82	-	-	0.0366	0.4878	0.3292	0.1098	0.0366	-	b
Brazil										c
Black	39	0.02	0.67	0.05	0.13	0.13	-	-	-	
White	41	-	0.05	0.17	0.22	0.54	0.02	-	-	
Amerindian	46	-	0.09	0.17	0.46	0.24	0.02	-	0.02	
Native American	125	-	0.008	0.024	0.248	0.568	0.152	-	-	d
China (Han, Harbin)										本文
China (Korean)										本文
China (Moghol)										本文

注: n 为例数 (n: Number of Y chromosomes from each population)

关于中国群体 DYS390 等位基因频率的研究, 目前仅有一篇公开发表的文献 (侯一平等, 1999) 可供参考, 详见表 3。从等位基因频率分布情况上看, 东北汉族和成都汉族最高等位基因频率均位于 211bp。统计分析表明 (Fisher 精确概率检验:  $P=0.720$ ), 两个汉族群体 DYS390 等位基因频率分布无显著差异。

根据现有的文献资料，我们用DYS390位点绘制了包含10个群体的聚类图(图3)，虽然仅用一个遗传位点的数据绘制的人群聚类图可能不够全面，但该聚类图依然能反映一定的信息：10个人群分为3组，每组具有不同的肤色。我国的4个群体(包括本文所研究的3个群体)同属于黄色人种分支，表明4个群体的父系亲缘关系较近。东北地区汉族与东北地区朝鲜族首先相聚，而不是与成都汉族最先融合，这一结果支持中国汉族以长江为界分为南方与北方两大汉族人种的观点，也表明了从中原地区迁移至东北地区的汉族人群中已融入有当地少数民族血缘(杜若甫等，1998)。我国的4个群体与巴西的美洲印第安群体相聚，则与考古学所证明的美洲土著人来源于“1.5万年前的亚洲群体大迁移”的观点相符合。



图3 用DYS390位点基因频率绘制的聚类图(放大10倍)

The clustering chart with Allele frequencies of DYS390 loci (×10)

综上所述，DYS390作为探讨人类进化及起源的Y-DNA多态位点，是具有一定研究价值的。我们应更加广泛的检测DYS390等位基因频率在世界各地和/或种群的分布情况，还应努力寻找在Y染色体系统进化过程中其它有意义的微卫星多态位点，通过单体型多样性的研究，积累更多的群体遗传学数据，并综合分析考古学、人类学、语言学及遗传地理学等有关人类进化的研究成果，从而更加准确地探索人类的父系起源问题。我国是一个人口众多、基因资源丰富的大国，对于分析人类起源及进化问题，应是一个十分理想的群体。

### 参 考 文 献

杜若甫, 肖春杰, Cavalli-Sforza LL. 1998. 用38个基因座的基因频率计算中国群体间遗传距离. 中国科学·C辑, 28(1): 83—89.

侯一平, 吴谨, 李英碧等. 1999. Y染色体特异短串联重复序列初步研究. 中华医学遗传学杂志, 16(2): 65—69.

Bianchi NO, Catanesi CI, Bailliet G *et al.* 1998. Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes of New World native populations. *Am J Hum Genet*, 63(6): 1862—1871.

Cantu ES, Marsh RD, Boecklen KE *et al.* 1988. Selective protection of specific DNA sequences in the heterochromatin of C-banded human Y chromosomes. *Am J Hum Genet*, 43(6): 948—953.

Deka R, Jin L, Shriver MD *et al.* 1996. Dispersion of human Y chromosome haplotypes based on five microsatellites in global populations. *Genome Res*, 6: 1177—1184.

Jobling MA, Tyler Smith C. 1995. Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. *Trends Genet*, 11(11): 449—456.

Rodriguez-Delfin L, Santos SE, Zago MA. 1997. Diversity of the human Y chromosome of South American Amerindians: a comparison with blacks, whites, and Japanese from Brazil. *Am J Hum Genet*, 61(Pt 5): 439—448.

## THE GENETICS STUDY OF CHINESE Y CHROMOSOMAL MICROSATELLITE LOCUS DYS390

Teng Baijun Chen Feng Fu Songbin Zhang Guiyin Li Pu

(*Department of Genetics, Harbin Medical University, Harbin 150086*)

### Abstract

**Purpose** The study of Chinese Y chromosomal microsatellite locus DYS390 are used to trace paternal lineage of human origins and evolution. The data in this study may be useful in human population genetics and forensic applications. **Methods** In this experiment, the distribution of a Y-chromosome specific polymorphic locus, DYS390, in 102 unrelated males of three ethnic groups in China was studied by using PCR method followed by PAGE and silver staining. The three nationalities are Han in Northeast of our country, Korean in Yan Bian and Mongol in Inner Mongolia Municipalities. **Results** The results showed that 5 alleles were existed in Han population, 4 alleles were existed in Korean and Mongolian populations. Their highest allele frequencies were 0.439(211bp) in Han, 0.451(211bp) in Korean, and 0.433(215bp) in Mongolian population. Besides, one case of allele 223bp was found in Han population (1/41). **Conclusion** The allele frequency difference among three populations is insignificant (Fisher's Exact Test:  $p=0.930$ ). Clustering analyses showed that paternal lineage is intimate among the three nationalities.

**Key words** DYS390, Y-chromosome, Microsatellite DNA, Polymorphism (genetics)