

# 用 DNA 多态性分析福建、江西和浙江 3 省畲族的亲缘关系

郭俊明 张文峰 钟为群 叶金花  
缪春华 赖日勇 钟富有 黄功华

(赣南医学院生物化学教研室, 赣州 341000)

## 摘 要

为分析福建、江西和浙江 3 省畲族之间的关系, 用聚合酶链反应 (PCR) 对上述 3 省的 3 代均为畲族的无关个体的载脂蛋白 B (apoB) 基因和 D17S30 位点的数目可变的串联重复 (VNTR) 序列进行研究。结果为: 6 个共有的 apoB VNTR 和 5 个共有的 D17S30 VNTR 等位基因在 3 省畲族中的分布相同, 为进一步在基因水平上研究他们的亲缘关系奠定了基础。本文报道的检测 DNA 多态性的方法在研究民族起源、变迁和民族识别以及各民族间亲缘关系等方面有广泛的应用价值。

**关键词** DNA 多态性, 聚合酶链反应, 畲族, 亲缘关系

畲族是我国具有悠久历史的民族之一, 分布在我国东南部闽、浙、赣等省的山区。关于畲族族源, 学术界有土著说和外来说两种观点。土著说认为畲族是闽、粤、赣 3 省交界地区的原始居民; 外来说认为畲族是从外地迁来的民族 (施联朱, 1987)。尽管畲族族源尚未定论, 但畲族祖先在广东潮州居住后再往东北方向迁移的路线是比较清楚的, 这说明了目前居住在赣东北、闽东、浙南等地的畲族是有共同的祖先 (施联朱, 1987)。以上观点是根据史籍记载、语言学和民间传说等资料综合比较研究得出的结论。为了从自然科学角度, 在基因水平上客观地研究畲族的变迁和分析福建、江西和浙江 3 省畲族的关系, 本文采用聚合酶链反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 技术研究了人类载脂蛋白 B (apolipoprotein B, apoB) 基因和人类第 17 号染色体上的 D17S30 位点的数目可变的串联重复 (Variable Number of Tandem Repeats, VNTR) 序列, 现报道如下。

## 1 材料与方法

标本: 63 名、27 名和 155 名 3 代均为畲族的无关个体分别取自福建宁德地区、江西铅山县和浙江景宁畲族自治县。

收稿日期: 1997-08-11

本课题为国家自然科学基金资助, 课题号: 39360024

引物: apoB 引物序列为: 5'-ATGGAAACGGA GAAATTATG-3' 和 5'-CCTTCTCACTTGGCAAATAC-3' (Boerwinkel *et al.*, 1989); D17S30 引物序列为: 5'-CGAAGA GTGAA GTGACACAGG-3' 和 5'-CACAGTCTTTATTCTTCA GCG (Horn *et al.*, 1989)。均由中山医科大学生物化学教研室提供。

DNA 提取: 血痕DNA 的提取按常规方法提取 (钟为群等, 1995)。

PCR: apoB 基因和D17S30 位点的扩增方法分别按文献 (钟为群等, 1995; Horn *et al.*, 1989) 进行。

扩增产物的检测: 用 1×TAE 配制 2% 琼脂糖凝胶, 取 5μl 上样缓冲液加入各管中混匀, 取 15μl 扩增液点样。电压 5V/cm, 电泳 3 小时。电泳完毕将胶放入 0.5μg/ml 溴乙锭溶液中染色 5 分钟后, 置于紫外检测仪上观察电泳带。以 λDNA/EcoR I + HindIII 或 φX174DNA/HaeIII 作为分子量标准, 按照文献 (Luo *et al.*, 1995) 的方法用计算机算出扩增片段的大小。

## 2 结 果

### 2.1 福建、江西和浙江 3 省畲族 apoB 基因 VNTR 调查结果

每例DNA 经扩增后可见 2 条片段大小相同或不同的扩增带; 2 条相同扩增带者为纯合子, 2 条不同扩增带者为杂合子 (图 1)。在 55 名 (110 条等位基因)、27 名 (54 条等位基因) 和 113 名 (226 条等位基因) 分别来自福建、江西和浙江 3 省的畲族群体中共检测到 21 个 apoB VNTR 等位基因 (表 1), 其中有 6 个等位基因 (4- 9) 在 3 省中均发现, 经统计学分析 ( $\chi^2$  检验) 证明这 6 个共有的等位基因在 3 省畲族中的分布相同 ( $\chi^2 = 11.6261$ ,  $df = 10$ ,  $P = 0.3109 > 0.05$ )。

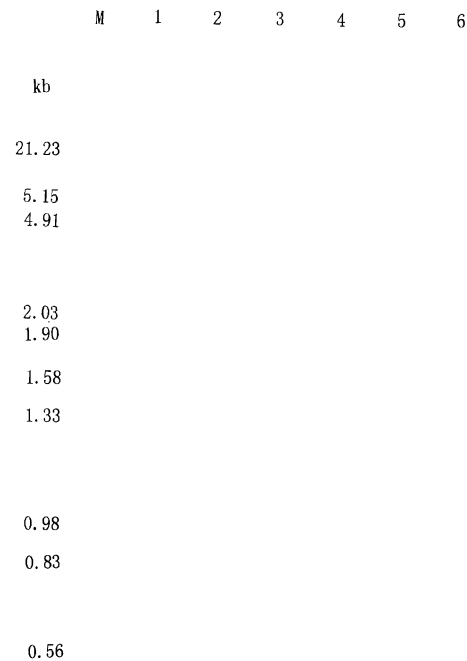


图 1 福建、江西和浙江 3 省畲族 apoB VNTR 多态性

The Polymorphisms of ApoB VNTR in She ethnic groups of Fujian, Jiangxi and Zhejiang Provinces

M: λDNA/EcoR I+ HindIII 分子量标准

福建畲族: 1. 等位基因 6 和 12;

2. 等位基因 6 和 6;

3. 等位基因 6 和 16

江西畲族: 4. 等位基因 6 和 7

浙江畲族: 5. 等位基因 4 和 6;

6. 等位基因 6 和 6

M: λDNA/EcoR I+ HindIII Markers

She ethnic group of Fujian Province:

1. A llele 6 and 12; 2. A llele 6 and 6;

3. A llele 6 and 16

She ethnic group of Jiangxi Province:

4. A llele 6 and 7

She ethnic group of Zhejiang Province:

5. A llele 4 and 6; 6. A llele 6 and 6

表1 福建、江西和浙江3省畲族apoB基因VNTR等位基因频率  
Allele frequency of ApoB VNTR in She ethnic groups of  
Fujian, Jiangxi and Zhejiang Provinces

等位基因 A llele	大小 (bp) Size	福建 (n= 110) Fujian		江西 (n= 54) Jiangxi		浙江 (n= 226) Zhejiang	
		例数 No.	频率 Frequency	例数 No.	频率 Frequency	例数 No.	频率 Frequency
		1	420	1	0.0091	0	0.0000
2	510	0	0.0000	0	0.0000	6	0.0265
3	540	0	0.0000	0	0.0000	5	0.0221
4	570	1	0.0091	4	0.0741	4	0.0177
5	600	14	0.1273	15	0.2778	36	0.1593
6	630	7	0.0636	6	0.1111	22	0.0973
7	660	23	0.2091	19	0.3519	62	0.2743
8	690	18	0.1636	6	0.1111	35	0.1549
9	720	10	0.0909	3	0.0556	22	0.0973
10	750	3	0.0273	0	0.0000	23	0.1018
11	780	1	0.0091	0	0.0000	3	0.0133
12	810	10	0.0909	0	0.0000	0	0.0000
13	840	1	0.0091	0	0.0000	0	0.0000
14	870	0	0.0000	1	0.0185	0	0.0000
15	900	1	0.0091	0	0.0000	7	0.0310
16	930	7	0.0636	0	0.0000	1	0.0044
17	990	1	0.0091	0	0.0000	0	0.0000
18	1020	5	0.0455	0	0.0000	0	0.0000
19	1080	2	0.0182	0	0.0000	0	0.0000
20	1200	2	0.0182	0	0.0000	0	0.0000
21	1230	3	0.0273	0	0.0000	0	0.0000

表2 福建、江西和浙江3省畲族D17S30 VNTR等位基因频率  
Allele Frequency of D17S30 VNTR in She ethnic groups of  
Fujian, Jiangxi and Zhejiang Provinces

等位基因 A llele	大小 (bp) Size	福建 (n= 126) Fujian		江西 (n= 44) Jiangxi		浙江 (n= 310) Zhejiang	
		例数 No.	频率 Frequency	例数 No.	频率 Frequency	例数 No.	频率 Frequency
		1	168	28	0.2222	4	0.0909
2	238	42	0.3333	17	0.3864	84	0.2710
3	308	26	0.2063	16	0.3636	75	0.2419
4	378	11	0.0873	6	0.1364	25	0.0806
5	448	5	0.0397	1	0.0227	21	0.0677
6	518	2	0.0159	0	0.0000	27	0.0871
7	588	4	0.0317	0	0.0000	5	0.0161
8	658	2	0.0159	0	0.0000	5	0.0161
9	728	1	0.0079	0	0.0000	4	0.0129
10	868	4	0.0317	0	0.0000	2	0.0065
11	938	0	0.0000	0	0.0000	12	0.0387
12	1008	1	0.0079	0	0.0000	3	0.0097

### 2.2 福建、江西和浙江 3 省畲族 D17S30 位点 VNTR 调查结果

在 63 名 (126 条等位基因)、22 名 (44 条等位基因) 和 155 名 (310 条等位基因) 分别来自福建、江西和浙江 3 省的畲族群体中共检测到 12 个 D17S30 位点 VNTR 等位基因 (表 2), 其中有 5 个等位基因 (1- 5) 在 3 省中均发现 (图 2)。经  $\chi^2$  检验, 证明这 5 个共有等位基因在 3 省畲族中的分布相同 ( $\chi^2 = 10.7392, df = 8, P = 0.2169 > 0.05$ )。

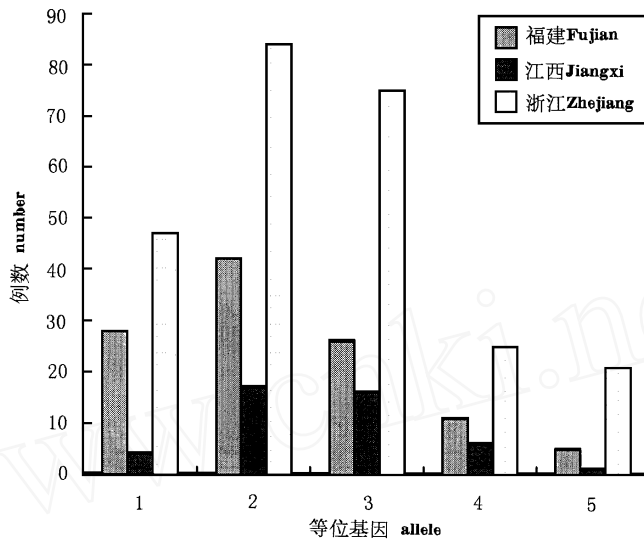


图 2 福建、江西和浙江 3 省畲族 D17S30 VNTR 共有的等位基因的分布  
The Distribution of A lles of D 17S30 VNTR shared by She ethnic groups of Fujian, Jiangxi and Zhejiang Provinces

## 3 讨 论

群体染色体 DNA 中核苷酸排列顺序存在一定的差异, 其中有些 DNA 变异类型 (等位 DNA 片段或称等位基因) 在群体中存在的频率不低于 10%, 这种现象称为 DNA 多态性 (郭俊明, 1995)。DNA 多态性技术已在遗传性疾病和肿瘤的基因诊断、法医学个体识别和亲权鉴定中得到了广泛应用 (吴冠芸等, 1986; 李伯龄等, 1992)。各民族之间除了在文化、习俗等方面不同外, 其遗传特性也不同。因而各民族之间的 DNA 多态性也有不同程度的差别。我国汉族人与美国白种人在 apoB 3' 端 VNTR 多态性方面有明显的差异 (Lu o *et al.*, 1995); 汉族、美国白种人和美国混合人种 (白人、黑人和西班牙人等) 之间的 D 17S30 VNTR 多态性分布也存在不同程度的差异 (陈 林等, 1995)。因此, DNA 多态性的实际应用 (如法医鉴定等) 要依照本民族的相应多态性位点的等位基因频率分布来进行概率计算。

为研究福建、江西和浙江等主要畲族分布省之间畲族群体的亲缘关系, 我们以二种 DNA 多态性位点 (apoB 和 D 17S30 的 VNTR) 作为遗传标记。实验结果表明 6 个共有的 apoB VNTR 等位基因 (分别占检测的本省畲族总等位基因数的 66.37%、98.15% 和 80.01%) 在 3 省中的分布相同; 5 个共有的 D 17S30 VNTR 等位基因 (分别占检测的本省畲族总等位基因数的 88.89%、100.00% 和 81.29%) 在 3 省中的分布也相同, 提示他们在

这两个位点上可能具有相同的遗传背景, 为进一步在基因水平上研究他们的亲缘关系提供了线索。实验中还发现3省畲族之间除主要等位基因相同外, 还有一些不同的等位基因。形成这种现象的主要原因可能是畲族与汉族通婚造成的。畲族的分布特点是与当地汉族大杂居、小聚居, 且畲汉之间是可以通婚的。

畲族 apoB 基因 VNTR 多态性除与美国白种人的不同外 (Boerwinkle *et al.*, 1989), 还与广东汉族人的也不同。在畲族群体中共检测到 21 个等位基因, 而在广东汉族群体中检测到 19 个等位基因 (Luo *et al.*, 1995)。尽管畲族与广东汉族的最常见的等位基因都是 660bp, 但 3 省畲族的 6 个共有的等位基因的分布与广东汉族的相应等位基因的分布完全不同 ( $\chi^2 = 32.3556$ ,  $df = 5$ ,  $P < 0.0001$ )。

畲族 D17S30 VNTR 等位基因中最常见的为 238bp, 而广东汉族中为 308bp (Yang *et al.*, 1995)、成都汉族中为 378bp (陈林等, 1995)。3 省畲族的 5 个共有的等位基因的分布不仅与广东汉族的相应等位基因的分布完全不同 ( $\chi^2 = 51.1702$ ,  $df = 4$ ,  $P < 0.0001$ ), 而且与成都汉族的相应等位基因的分布也完全不同 ( $\chi^2 = 64.2106$ ,  $df = 4$ ,  $P < 0.0001$ )。畲族 apoB 基因和 D17S30 VNTR 多态性与汉族的差异性, 提示若进一步积累其他民族的相关资料和使用多种遗传标记系统, 便有可能从分子水平揭示出中华各民族之间的亲缘关系。

根据血型分布资料, 用聚类分析的方法可以阐明不同民族之间的血缘关系 (金锋等, 1994)。血型检测是针对基因表达的产物, 而在基因表达的过程中会受到许多因素的干扰, 因此血型检测具有一定的局限性。DNA 多态性的检测是直接检测遗传物质, 又由于它比现有的血型系统具有更高的多态性信息量和杂合度 (Luo *et al.*, 1995; 陈林等, 1995), 而后两者是衡量遗传标记系统价值大小的重要指标。具有高度多态性的遗传标记系统除 apoB 基因和 D17S30 位点外, 还有人类白细胞抗原 (HLA) 基因、D1S80 等位点 (陈林等, 1995)。在研究各民族 DNA 多态性的基础上, 可以发现它们的分布规律和特征以及相互联系。因此, 本文报道的检测 DNA 多态性的方法在研究民族起源、变迁和民族识别以及各民族间遗传距离等方面具有广泛的应用前景。

## 参 考 文 献

- 李伯龄, 倪锦堂, 丁焰等. 1992. DNA 的 apoB 位点扩增片段长度多态性的检测及其在法医学中的应用. 中国法医学杂志, 7 (1): 1- 3.
- 陈林, 孙光云, 吴梅筠. 1995. 用 PCR 法分析中国汉族群体 D17S30 位点遗传多态性. 中华医学遗传学杂志, 12 (2): 85- 88.
- 吴冠芸, 张俊武, 沈岩等. 1986. 应用 DNA 多态性进行  $\beta$  地中海贫血产前诊断的可行性. 中国医学科学院学报, 8 (5): 395- 397.
- 金锋, 郝露萍, 杜若甫等. 1994. 福建畲族的红细胞血型分布. 遗传, 16 (2): 6- 9.
- 钟为群, 郭俊明, 缪春华等. 1995. 畲族人群载脂蛋白 B (apoB) 基因多态性遗传规律的研究. 赣南医学院学报, 15 (2): 73- 76.
- 郭俊明. 1995. 人类 DNA 多态性及其应用. 赣南医学院学报, 15 (1): 61- 64.
- 施联朱. 1987. 关于畲族来源与迁徙. 见: 施联朱编著. 畲族研究论文集. 北京: 民族出版社, 34- 52.
- Boerwinkle E, Xiong W, Fourest E *et al.* 1989. Rapid typing of tandemly repeated hypervariable loci by the polymerase chain reaction: Application to the apolipoprotein B 3 hypervariable region. Proc Natl

Acad Sci USA, 86: 212- 216

Horn GT, Richards B, Klinger KW. 1989. Amplification of a highly polymorphic VNTR segment by the polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res*, 17 (5): 2140

Luo CQ, Guo JM, Yang YH *et al* 1995. Studying on genetic polymorphism of apolipoprotein B gene 3 - end VNTR in the Han Nationality of Guangdong, China. In: Jacob B and Bonte W eds. *Advances in Forensic Sciences*. Berlin: Verlag, Vol 6, 4- 6

Yang YH, Wu XY, Luo CQ *et al* 1995. Studies on VNTR polymorphism of D17S30 locus of Han Nationality population in Guangdong, China. In: Jacob B and Bonte W eds. *Advances in Forensic Sciences*. Berlin: Verlag, Vol 6, 11 - 13

## ANALYSIS OF THE CONSANGUINITY AMONG SHE ETHNIC GROUPS FROM FUJIAN, JIANGXI AND ZHEJIANG PROVINCES BY DNA POLYMORPHISM

Guo Junming   Zhang Wenfeng   Zhong Weiqun   Ye Jinhua

Miao Chunhua   Lai Riyong   Zhong Fuyun   Huang Gonghua

*(Department of Biochemistry, Gannan Medical College, Ganzhou 341000)*

### Abstract

In order to analyse the consanguinity among She ethnic groups from Fujian, Jiangxi, and Zhejiang provinces, the variable number of tandem repeat (VNTR) sequences of apolipoprotein B (apoB) gene and D17S30 locus have been studied by polymerase chain reaction (PCR). The results showed that six alleles of apoB VNTR and five alleles of D17S30 VNTR were shared by She ethnic groups from those three provinces. It can be used as a part of the base for further investigating their consanguinity. The method used to detect the DNA polymorphism has practical value in studying the origin and change of different ethnic groups and their consanguinity.

**Key words**   DNA polymorphism, Polymerase chain reaction, She ethnic group, Consanguinity