

组特异性成份(Gc)亚型在 六个民族中的分布^{①②}

尹娇杨^③ 张贵寅 于世辉 王晓明

(哈尔滨医科大学遗传研究室, 哈尔滨 150086)

关键词 组特异性成份; 遗传多态性; 人类群体遗传学

内 容 提 要

应用超薄层聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳技术结合改良的磺基水杨酸沉淀法 (Pharmalyte pH4.5-5.4) 检测了中国六个民族 1021 名彼此无关的血清的 Gc 亚型。哈尔滨汉族、鄂温克族、达斡尔族、蒙古族、鄂伦春族、锡伯族的 Gc 1F 基因频率分别为 0.4246、0.4941、0.4479、0.4107、0.4606、0.4503; Gc 1S 的基因频率分别为 0.2587、0.2936、0.3151、0.2798、0.3370、0.3035; Gc 2 的基因频率分别为 0.3065、0.2064、0.2266、0.3006、0.2022、0.2388。在五个民族中发现了十六名个体携带罕见的 Gc 等位基因 (1A2、1A6、1A7、1A9、1C2、1C3、1C4、1C10、2A?)。

组特异性成份(Group-Specific Component 简称 Gc), 又称维生素 D 结合球蛋白 (Vitamin D-binding globulin 简称 VDBG), 其生物学功能是与维生素 D₃ 结合, 参与维生素 D₃ 及其衍生物在体内的转运及代谢过程。自从 1959 年, Hirschfeld (1959) 首次验证了 Gc 系统的存在以来, 许多学者对 Gc 已进行了深入而系统的研究。Gc 作为一种血清遗传学标记, 在人类遗传学、法医学、临床医学、分子遗传学等方面都具有其重要意义。

一、材 料 与 方 法

1. 材料

血样标本取自东北及内蒙地区六个民族共计 1021 人: 哈尔滨汉族 199 人(哈医大二院血库献血员), 鄂温克族 172 人(内蒙古海拉尔市学生及居民), 达斡尔族 192 人(内蒙古莫利达瓦旗中学生), 蒙古族 168 人(内蒙古海拉尔市中学生), 鄂伦春族 89 人(黑龙江大兴安岭地区中小學生), 锡伯族 201 人(辽宁沈阳中心血站献血员)。献血者均为健康, 无亲缘关系, 三代是同一民族的个体。抽取受检对象外周血, 放置室温下使血清自然析出或离心使血清析出, 盛于 Eppendorf 管内, -70℃ 超低温保存备用。

① 收稿日期: 1991-09-25

② 国家自然科学基金资助课题。

③ 沈阳医学院生物教研室。

2. 仪器及主要试剂

应用 Pharmacia 公司生产的多功能等电聚焦系统及 LKB 公司出产的循环水冷却装置。两性载体电解质是瑞典 Pharmacia 公司的 Pharmalyte(pH4.5—5.4)。

3. 方法

胶板制作 5ml 蒸馏水, 0.87ml 甘油, 0.42ml 的 40% Pharmalyte(pH4.5—5.4), 0.135g 丙烯酰胺(Acrylamide, Sigma), 0.2g Acrylogel(Acrylamide/ Bis²⁹: 1 混合, BIO—RAD), 混合溶解后, 加入 10% 的核黄素 0.07ml, 充分混匀。注入 240×115×0.2mm 的模板中, 日光灯下聚合 1.5—2 小时, 放入冰箱保湿盒中, 过夜, 备用。

聚焦电泳 阴极电泳液 1M NaOH, 阳极电泳液 1M H₃PO₄。循环水温度为 6.5℃。电压 1800V (开机时 400V)。电流 20mA(可以不限制), 功率 10W, 共电泳 3 小时 30 分左右。

电泳后处理 立即取下胶板, 显带液(15g 磺基水杨酸, 170ml 甲醇, 300ml 蒸馏水)喷洒在胶面上, 瞬即出现白色沉淀线, 固定 5 分钟, 冲洗液(60g 三氯醋酸, 500ml 蒸馏水)冲洗, 以黑色为背景, 8 瓦日光灯从侧面照射, 判型。

免疫固定法 个别血清样品电泳后做了磺基水杨酸法与免疫固定法的对照处理, 免疫固定法采用刘玉华等人(1989)的方法。

二、结 果 与 讨 论

1. Gc 亚型的分布及基因频率

在六个民族中, 均检测到 Gc 的 1F、1S、2、2—1F、2—1S、1F—1S 六种常见的表型。所检测的各民族的表型数及基因频率比较见表 1、表 2。按 Hardy—Weinberg 遗传平衡法则进行了吻合度检验, 其观察值与预期值相符(P 值均大于 0.05)。

表 1 六个民族 Gc 表型的分布

Gc phenotype distribution in six nationalities

民 族 Nationality	调查人数 Number tested	Gc 表型 (Gc phenotype)													
		1 F		1 S		2		2-1 F		2-1 S		1 F-1 S		V	
		人数 No.	%	人数 No.	%	人数 No.	%	人数 No.	%	人数 No.	%	人数 No.	%	人数 No.	%
哈尔滨 Harbin(han)	199	36	18.09	11	5.53	17	8.54	53	26.63	35	17.59	43	21.61	4	2.01
鄂温克族 Ewenki	172	46	26.74	19	11.05	11	6.40	32	18.60	16	9.30	46	26.74	2	1.16
达斡尔族 Tahur	192	38	19.79	19	9.90	11	5.73	39	20.31	26	13.54	55	28.65	4	2.08
蒙古族 Mongolian	168	26	15.48	13	7.74	15	8.93	45	26.79	26	15.48	40	23.81	3	1.79
鄂伦春族 Oroqen	89	17	19.10	12	13.48	6	6.74	18	20.22	6	6.74	30	33.71	0	0
锡伯族 Xibo	201	43	21.39	25	12.44	15	7.46	43	21.39	22	10.95	50	24.88	3	1.49

综合国内外学者报告,所有人群中,Gc 1 等位基因频率均大于 Gc 2 等位基因频率,在黑种人、黄种人中 Gc 1F 等位基因频率相对高于在白种人中的分布 (Constans *et al.*, 1985; Kido *et al.*, 1984), 而 Gc 1S 等位基因频率在白种人中的分布相对高于在黑种人、黄种人的分布(Garber, 1983), Gc 亚型等位基因频率与皮肤色素和日光强度有关(Kamboh *et al.*, 1986)。表 2 归纳了中国部分群体的 Gc 亚型基因频率。表 2 中的实验结果表明: 中国人群的 Gc 1F 的频率一般都大于 Gc 1S 的频率, 本实验结果也证实了这一点, 六个民族中的 Gc 1F 的频率(0.4107—0.4941)均大于 Gc 1S 的频率(0.2587—0.3370)。

表 2 国内部分群体中的 Gc 基因频率
Gc gene frequency in 19 Chinese populations

群 体 Population	检测人数 No. tested	基因频率 Gene frequency			其它	资料来源 Data source
		Gc 1		Gc 2		
		Gc 1S	Gc 1F			
北 京 (Han)	155	0.2000	0.4774	0.3065	0.0161	Zeng <i>et al.</i> , 1987
广 州 (Han)	256	0.2871	0.4316	0.2734	0.0080	Zeng <i>et al.</i> , 1987
成 都 (Han)	125	0.2550	0.4520	0.2960	—	赵渠等,1987
辽 宁 (Han)	356	0.2725	0.4326	0.2838	0.0112	刘玉华等,1989
华 北 (Han)	93	0.4893	0.2473	0.2634	—	陈良忠等,1987
布 依 族 (Buyi)	200	0.2900	0.5000	0.2050	0.0050	Xu <i>et al.</i> , 1989
彝 族 (Yi)	206	0.3350	0.4296	0.2233	0.0121	Xu <i>et al.</i> , 1989
苗 族 (Miao)	201	0.2687	0.4254	0.3035	0.0025	Xu <i>et al.</i> , 1989
白 族 (Bai)	196	0.3112	0.4133	0.2602	0.0153	Xu <i>et al.</i> , 1989
哈 尼 族 (Hani)	219	0.3470	0.3995	0.2489	0.0046	Xu <i>et al.</i> , 1989
土 家 族 (Tujia)	199	0.2864	0.3668	0.3367	0.0101	Xu <i>et al.</i> , 1989
香 港 人	362	0.258	0.494	0.247	—	Kwok <i>et al.</i> ,1981
台 湾 (Han)	373	0.2708	0.3968	0.3029	0.0295	Matsumoto <i>et al.</i> ,1980
哈 尔 滨 (Han)	199	0.2587	0.4246	0.3065	0.0101	本 文
鄂温克族 (Ewenki)	172	0.2936	0.4941	0.2064	0.0058	本 文
达斡尔族 (Tahur)	192	0.3151	0.4479	0.2266	0.0104	本 文
蒙古族(Mongolian)	168	0.2798	0.4107	0.3006	0.0090	本 文
鄂伦春族(Oroqen)	89	0.3370	0.4606	0.2022	—	本 文
锡 伯 族 (Xibo)	201	0.3035	0.4503	0.2388	0.0075	本 文

将其它五个少数民族的 Gc 频率分布分别与哈尔滨汉族的 Gc 频率分布进行比较, 经 X^2 检验发现: 鄂温克族($X^2_6 = 15.79347$ $P < 0.05$)和鄂伦春族($X^2_6 = 16.60896$ $p < 0.05$)的 Gc 分布明显不同于哈尔滨汉族的 Gc 分布; 其它三个民族无显著性差异(达斡尔族 $X^2_6 = 8.28138$ $P > 0.1$; 蒙古族 $X^2_6 = 1.52672$ $P > 0.95$; 锡伯族 $X^2_6 = 10.864$ $P > 0.05$)。进一步分析表明: 鄂温克族与哈尔滨汉族的基因频率差异主要是: 1F—1F 表型 ($X^2_1 = 4.0089$ $p < 0.05$)和 2—1S 表型($X^2_1 = 5.336$ $P < 0.05$)的分布差异所造成。而鄂伦

春族与哈尔滨汉族的基因频率差异主要是: 1S—1S 表型($X_1^2=5.2907$ $P< 0.01$)、1F—1S 表型($X_1^2=4.7567$ $P< 0.05$)和 2—1S 表型($X_1^2=5.9253$ $P< 0.01$)的分布差异所造成。

Zeng 和 Omoto(1987)调查了北京、广州两地的 Gc 亚型分布, 比较 Gc 1S 基因频率, 有显著性差异。根据 Yuasa 等人(Zeng *et al.*, 1987)提出的 Gc 2 频率在日本从东北到西南有逐渐增高趋势的观点, Zeng 和 Omoto 提出: 是否 Gc 1S 在中国汉族人群中分布也有从南到北逐渐降低的趋势, 并指出这种 Gc 亚型的地理分布或许也存在于东亚地区, 如果确实存在, 这不是由于特殊的 Gc 亚型选择因素, 而是可解释为基因流效应。刘玉华等人(1989)的研究结果不支持这一观点, 参考一些实验数据及本实验研究结果也不足以支持这一观点: 广州汉族 Gc 1S: 0.2871, 成都汉族 Gc 1S: 0.2550, 北京汉族 Gc 1S: 0.2000, 辽宁汉族 Gc 1S: 0.2725(Zeng *et al.*, 1987; 刘玉华等, 1989), 哈尔滨汉族 Gc 1S: 0.2587。

2. Gc 亚型的变异型

我们在东北及内蒙地区六个民族 1 021 人中, 共检出 16 名个体携带有罕见的 Gc 亚型变异基因(归纳见表 3)。初步鉴定均为杂合子, 其中大部分是同标准血清相对照所鉴定, 个别是根据图谱对照所鉴定。

表 3 五个民族 Gc 十六个变异型的等位基因

Rare variant alleles of 16 persons in five nationalities

民 族 Nationality	本文编号 Number	基因型 Genotype	变异区带 Variant band	罕见等位基因 Rare variant allele
汉族 (哈尔滨) Han (Harbin)	V1	1F—1A7	1A	1A7*
	V2	1S—1A6		1A6*
	V3	1S—1C2	1C	1C2
	V4	1S—1A9	1A	1A9
鄂温克族 Ewenki	V5	1S—1A9	1A	1A9
	V6	2—1A2		1A2
达斡尔族 Tahur	V7	1F—2A7	2A	2A7
	V8	1F—1A6	1A	1A6*
	V9	1S—1C2	1C	1C2
	V10	1S—1C3		1C3*
蒙古族 Mongolian	V11	1S—1A9	1A	1A9
	V12	1F—1A6		1A6*
	V13	1S—1C4	1C	1C4
锡伯族 Xibo	V14	1F—1A2	1A	1A2
	V15	1F—1C10	1C	1C10*
	V16	2—1A2	1A	1A2

* 根据图谱鉴定 (Identification according to atlas).

Gc 位点的突变等位基因数目已达 120 多个(Cleve *et al.* 1988), 这些变异型广泛分布于世界各群体中。Gc 的一些稀有变异等位基因存在很高的限制性区域分布。Gc 1A2 和

Gc 1A9 可作为蒙古人种的遗传标记, 这两个变异基因在日本和中国出现相当普遍, 而在爱斯基摩人中频率极低。本实验在哈尔滨汉族、鄂温克族、蒙古族中各检出一名个体携带有罕见的 Gc 1A9 变异基因; 在鄂温克族检出一名、锡伯族中检出二名个体携带有罕见的 Gc 1A2 变异基因; 徐玖瑾等人 (Xu *et al.*, 1989) 在土家族、彝族、苗族、白族中均检测到了 Gc 1A2 变异基因的存在; 可见 Gc 1A9 和 Gc 1A2 变异基因在中国各民族中存在较普遍。本实验在哈尔滨汉族、达斡尔族、蒙古族中各检测到一名个体携带有罕见的 Gc 1A6 变异基因; 这个变异基因在彝族、白族、哈尼族、土家族出现频率也很高 (Xu *et al.*, 1989), Gc 1A6 变异基因看来分布范围很广, 最初是在非洲的吉布提、马达加斯加等地被观察到。在哈尔滨汉族、达斡尔族中各检测到一名个体携带有罕见的 Gc 1C2 变异基因, 这个基因在布依族、土家族中 (Xu *et al.*, 1989), 在日本, 澳大利亚土著人中 (Cleve *et al.* 1988) 均有一定的频率分布。在蒙古族中检测到一名个体携带有罕见的 Gc 1C4 变异基因, 这个变异基因最初在日本被检测到 (Cleve *et al.*, 1988)。

在哈尔滨汉族中检测到一名个体携带有罕见的 Gc 1A7 变异基因 (根据图谱鉴定)。Gc 1C10 是存在于美洲黑人中的另一个多态变异基因, 这个变异基因在美洲与非洲之外还不曾被检测到 (Kamboh *et al.*, 1986; Cleve *et al.*, 1988)。Gc 1C3 变异基因是撒哈拉沙漠与非洲东北部人类学之间联系的又一例证, 这个变异基因从非洲东北部的吉布提共和国扩散通过北非的阿尔及利亚经过马里到了西非的塞内加尔 (Kamboh *et al.*, 1986)。Gc 1C10 和 Gc 1C3 本是美洲和非洲黑人所特有的群体遗传 Gc 变异基因的标志。本实验在锡伯族中检测到一名个体携带有 Gc 1C10 变异基因, 在达斡尔族中检测到一名个体携带有 Gc 1C3 为变异基因, 这两个变异基因都是根据图谱鉴定, 如经标准血清鉴定确证后, 的确值得进一步讨论。还在达斡尔族中发现一名个体携带有罕见的 2A 变异基因, 是 2A1, 2A2, 尚需进一步鉴定。

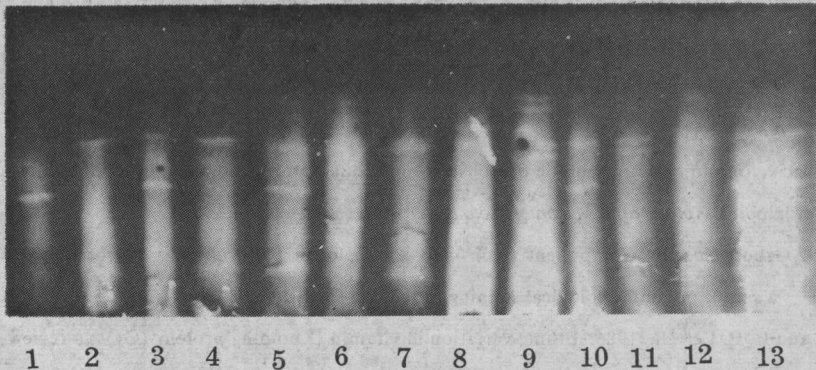


图1 等电聚焦电泳结合磺基水杨酸沉淀法所检测的 Gc 亚型

1. 2—2 2. 1F—1F 3. 2—1F 4. 2—1F 5. 2—1S 6. 1F—1S 7. 1F—1S
8. GcV 9. GcV 10. 2—1S 11. GcV 12. 1F—1S 13. 2—1F

Gc subtype observed by isoelectric focusing on ultra-thin
polyacrylamide gel followed by the sulfosalicylic acid precipitation method

3.改良的磺基水杨酸沉淀法

一般采用等电聚焦后免疫固定的方法进行 Gc 亚型的检测, 此法所需的抗 Gc 血清要求纯度高, 种属特异性强, 制备较难, 且价格昂贵。一些学者曾采用磺基水杨酸沉淀法进行 Gc 亚型的检测(Kuhnl *et al.*, 1978; Hoste, 1979), 他们所用的两性载体电解质 pH 范围为 4.0—6.5(或 4.0—6.0)。本实验采用改良的磺基水杨酸沉淀法, Pharmalyte pH4.5—5.4, 在此 pH 范围内, 等电聚焦后, 其胶板表面, 其它蛋白质杂带特少, 采用磺基水杨酸与三氯(醋酸)分别冲洗胶面, 增强了背景亮度, 可非常清晰地认定 Gc 谱带(图 1), 准确、快速、经济。少数血清电泳后, 做了磺基水杨酸法与免疫固定法对照, 表明两种实验方法结果较好吻合。用磺基水杨酸法所检出的变异型, 经免疫固定法鉴定后均为 Gc 亚型变异型, 也表明本实验方法的准确性。

承蒙中国科学院遗传研究所徐玖瑾老师帮助鉴定所观察到的部分变异型, 特表深谢! 本实验方法系作者在中国医大法医系血清室所学, 在此深深地感谢王崑、刘玉华老师在实验方法上的指导, 李庆生、姚绍华老师的照片摄影。

参 考 文 献

- 刘玉华、贾静涛, 1989. Gc 亚型在辽宁汉族人群中的分布. 中国医科大学学报, 18(3): 187—190.
- 陈良忠、崔梅影, 1985. 我国汉族四个蛋白质(酶)的遗传多态性初步分析. 科学通报, (4): 292—295.
- 赵渠、吴梅筠, 1987. 成都地区汉族 Gc 亚型的分布及血痕中 Gc 亚型的检测. 中国法医学杂志, 2(2): 85—88.
- Cleve, H., J. Constans, 1988. The mutants of the vitamin D binding protein: more than 120 variants of the Gc/ DBP system. *Vox. Sang.*, 54: 215—225.
- Constans, J. *et al.*, 1985. Population distribution of the human vitamin D binding protein: anthropological considerations. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 68: 107—122.
- Carber, R. A., 1983. PGM1 and Gc subtypes gene frequencies in a California Hispanic population. *Am. J. Hum. Genet.*, 35: 773—776.
- Hirschfeld, J., 1959. Immuno-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. *Acta. Pathl. Microbiol. Scand.*, 47: 160—168.
- Hoste, B., 1979. Group-Specific Component (Gc) and Transferrin (Tf) subtypes ascertained by isoelectric focusing—a simple nonimmunological staining procedure for Gc. *Hum Genet.*, 50: 75—79.
- Kamboh, M. I. and R. E. Ferrell, 1986. Ethnic variation in vitamin D binding protein (Gc) : a review of isoelectric focusing studies in human populations. *Hum. Genet.*, 72: 281—293.
- Kido, A. *et al.*, 1984. Distribution of Gc subtypes in Yamanashi prefecture. *Jpn. J. Legal. Med.*, 38 (4): 391—396.
- Kuhnl, P. *et al.*, 1978. An improved method for the identification of Gc1 subtypes (Group-Specific Component) by isoelectric focusing. *Vox. Sang.*, 35: 401—404.
- Kwok, K. R. R., W. H. P. Lewis, 1981. Group-Specific Component (Gc) subtypes in the Chinese population of Hong Kong. *Hum. Genet.*, 59: 72—74.
- Matsumoto, M. *et al.*, 1980. The distribution of Gc subtypes among the Mongoloid population. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 53: 505—508.

- Xu, J. J. *et al.*, 1989. Studies of subtypes of Group-Specific Component (Gc) in six ethnic groups of China. *Gene Geography*, (3): 27—31.
- Zeng, Z. M. and K. Omoto, 1987. Group-Specific Component (Gc) subtypes in two Chinese populations. *Jpn. J. Hum. Genet.*, 32: 83—89.

THE DISTRIBUTION OF THE SUBTYPES OF GROUP-SPECIFIC COMPONENT (Gc) OF SIX NATIONALITIES IN NORTH CHINA

Yin Jiaoyang Zhang Guiyin Yu Shihui Wang Xiaoming

(Laboratory of Medical Genetics, Harbin Medical University, Harbin 150086)

Key words Group-Specific Component (Gc) ; Genetic polymorphism;
Human population genetics

Abstract

The frequencies of Gc subtypes of six nationalities in north China were studied by isoelectric focusing on ultra-thin polyacrylamide gel followed by the improved sulfosalicylic acid precipitation. The gene frequencies of Gc1F in Han (Harbin) , Ewenki, Tahir, Mongolian, Oroqen and Xibo nationalities were 0.4246, 0.4941, 0.4479, 0.4107, 0.4606, 0.4503; those of Gc1S were 0.2587, 0.2936, 0.3151, 0.2798, 0.3370, 0.3035 and those of Gc2 were 0.3065, 0.2064, 0.2266, 0.3006, 0.2022, 0.2388, respectively. In addition, 16 persons who had rare variant alleles of Gc (1A2, 1A6, 1A7 1A9, 1C2, 1C3, 1C4, 1C10, 2A?) were found in five nationalities

吉林榆树大桥屯发现人类化石

吉林省文物考古研究所和榆树市博物馆考古工作者,最近在整理大桥屯 1991 年、1992 年出土的哺乳类动物化石过程中,发现一根人类左胫骨化石。该标本两端的关节残缺,仅保存胫骨的中上段部分,长 23.3 厘米。经初步观察、对比,榆树大桥屯人类胫骨化石属于成年人。

另外,在整理动物化石过程中,除了发现人类化石外,还获有几件人工打制的石制品,石制品仅有石核和石片,未见第二步加工的石器。

与人类胫骨化石和石制品同时出土的有真猛马象、披毛犀、最后鬣狗、野马、野牛和鹿等 10 种哺乳动物化石。依动物化石种类和性质分析,人类化石的时代应属于旧石器时代晚期。榆树大桥屯人类化石的发现,是继周家油坊人类化石之后,又一新的收获。这样在吉林省发现人类化石地点共有 4 处,在榆树市境内就有两处。

(伊松龄)