基础研究 文章编号:0253-3626(2010)04-0553-04

重庆地区汉族人群 X 染色体 4 个 STR 基因座的遗传多态性及其法医学意义

李 虹,蒋 朴,黄 海,邓世雄
(重庆医科大学基础医学院法医学教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究重庆地区汉族人群无关个体 X 染色体上 DXS7132、DXS6789、HPRTB、DXS8378 基因座的遗传多态性及其法医学意义。方法:利用 PCR 和非变性聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳对中国重庆地区无亲缘关系汉族个体 4 个 X-STR 基因座进行分型。用直接计数法计算基因频率、基因型频率,检验女性基因型频率分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡,并计算法医学常用各种概率。结果:4 个短串联重复序列(Short tandem repeats,STR)基因座在重庆地区汉族群体均具有遗传多态性,女性的基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。结论:这 4 个基因座可用于重庆地区法医学个人识别和亲子鉴定,并为人类群体研究提供了中国重庆汉族群体 X 染色体 4 个 STR 基因座的数据。

【关键词】重庆;汉族; X-STR;遗传多态性;法医学
【中国图书分类法分类号】R89 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-10-27

Genetic polymorphisms of four STR loci on chromosome X and their forensic application in Chongqing han population

LI Hong, et al
(*Department of Forensic Medicine, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate genetic polymorphism of four X chromosome short tandem repeats (X-STR) loci (DXS7132、DXS6789, HPRTB, DXS8378) in Chongqing Han population. *Methods*: EDTA-blood samples were collected from the unrelated individuals in Chongqing. After being extracted with Chelex-100 method, the DNA samples were amplified by PCR technique. The PCR products were analyzed by PAGE, genotyped with silver stain method. Hardy-Weinberg equilibrium was tested, and then used direct counting method to calculate allele and genotype frequency of these four loci. *Results*: The polymorphisms of all four STR loci were obtained from 120 unrelated females and 91 unrelated males from Chinese Han group. χ^2 tests on the genotype frequencies in female reveal that genotype frequencies in females did not depart from Hardy—Weinberg equilibrium. *Conclusion*: It was suggested that DXS7132, DXS6789, HPRTB, DXS8378 locus are suitable for individual identification and paternity testing, and we provide new selectable STR markers for chromosome X haplotype in forensic application.

【Key words】Chongqing; Han nationality; X-STR; Genetic polymorphism; Forensic medicine

短串联重复序列(Short tandem repeats,STR)分型技术快捷简便,灵敏度好,可靠性高,是国内外法医学个体识别和亲权鉴定主要研究和发展方向。目前,大量的常染色体和 Y 染色体 STR 已成为法医学领域最常用的 DNA 多态性遗传标记,而 X 染色体 STR 的应用却相对较少。

X 染色体 STR 在男性基因组中呈单倍型形式存在,父亲的等位基因只能遗传给女儿,故这种特殊的遗传方式,使其具有一些常染色体遗传标记不具备的优点[1,2]。本研究选择了以四核苷酸重复为核心序列的 DXS7132、DXS6789、HPRTB、DXS8378 基因座,调查其在重庆汉族群体中的遗传多态性,探讨其法医学意义。

作者介绍:李 虹(1984-),女,硕士,
研究方向:法医物证学,法医病理学。
通讯作者:邓世雄,男,教授,E-mail:dengshixiong1963@163.com。

1 材料和方法

1.1 样本来源与 DNA 提取

随机选取重庆地区(籍贯为重庆市)无血缘关系、健康汉族个体 211 名(女 120 名,男 91 名),EDTA 抗凝,Chelex-100 法提取 DNA 后[3],-20℃保存。

1.2 引物

X-STR 引物序列来自 GenBank、STR 数据库(http://www.chrx-str.org/)及相关文献[4,5]。所有引物均由 Takara 有限公司合成,序列见表 1。

1.3 PCR 扩增

PCR 反应体系总体积 20 μl，含 2 μl 10 × PCR 缓冲液(Mg^{2+}Free)、1.5 μl $MgCl_2$(25 mmol/L)、1.5 μl dNTP(10 mmol/L)、引物各 0.8 μl(10 μmol/L)、5UTaq 聚合酶 0.2 μl，3 μl 扩增样本(3~9 ng)。PCR 扩增参数见表 2。

1.4 电泳分离及显色

聚丙烯酰胺凝胶(T=5%，C=6%)，200 V 恒电压同步电泳 4 h，停止电泳后，冰醋酸固定，$AgNO_3$ 染色，Na_2CO_3 显色，冰醋酸停显[6]。

1.5 数据分析

采用直接计数法计算等位基因频率及女性基因型频率；用 χ^2 检验对女性样本进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验[7,8]；用 Promega 公司的 Powerstates 软件 1.2 版本(http://www.promega.com/geneticidtools/defaults.html.) 和 Excel 表计算杂合度(Heterozygosity，H)，匹配概率(Probability of matching，Pm)、个人识别力(Probability of discrimination power，DP)，非父排除率(Exclusion probability of paternity，PE)、多态信息总量(Polymorphism information content，PIC)等群体遗传学指标。

2 结 果

2.1 重庆汉族 4 个 X-STR 位点的遗传多态性

重庆地区汉族人群 DXS7132、DXS6789、HPRTB、DXS8378 基因频率分布数据见表 3，其杂合度(H)、多态信息量(PIC)、匹配概率(Pm)、女性个体识别率(PD female)、男性个体识别率(PD male)及非父排除率(PE)等见表 4。

2.2 女性 4 个 X-STR 个体基因型分布

在 120 例女性无关个体中，DXS7132 检出 17 种基因型，DXS6789 检出 31 种基因型，HPRTB 共检出 28 种基因型，DXS8378 共检出 12 种基因型，见表 5，经 χ^2 检验 $P>0.05$，符合 Hardy-Weinberg 平衡。

表 1 4 个 X-STR 位点引物序列

X-STR 位点	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
DXS7132	AGCCCATTTTCATAATAAATCC	GCCAAACTCTATTAGTCCAC
DXS6789	TTGGTACTTAATAAACCCTCTTTT	CTAGAGGGACAGAACCAATAGG
HPRTB	ACTTTTGAGTGAAGACCTA AAAGA	TATACCACTAAAGATTTCCTTCCC
DXS8378	TTAGGCAACCCGGTGGTCC	ACAAGAACGAAACTCCAACTC

表 2 4 个 X-STR 位点 PCR 条件

X-STR 位点	变性	退火	延伸	循环数
DXS7132	94℃，45 s	52℃，45 s	72℃，30 s	30
DXS6789	94℃，45 s	55℃，45 s	72℃，30 s	35
HPRTB	94℃，45 s	54℃，45 s	72℃，30 s	35
DXS8378	94℃，45 s	56℃，45 s	72℃，30 s	35

表 3 4 个 X-STR 位点在重庆汉族人群中的基因频率(女 =120，男 =91)

等位基因	DXS7132		DXS6789		HPRTB		DXS8378	
	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性
9	-	-	-	-	0.021 0	0.077 0	0.046 0	0.032 9
10	-	-	-	-	0.013 0	0.033 0	0.458 0	0.219 8
11	0.008 0	0.033 0	-	-	0.124 0	0.033 0	0.338 0	0.329 7
12	0.054 0	0.164 9	-	-	0.205 0	0.340 6	0.146 0	0.285 7
13	0.300 0	0.274 7	-	-	0.269 0	0.274 7	0.008 0	0.098 9
14	0.208 0	0.296 7	-	-	0.175 0	0.098 9	0.004 0	0.033 0
15	0.254 0	0.131 8	0.025 0	0.054 9	0.141 0	0.054 9	-	-
16	0.117 0	0.066 0	0.163 0	0.219 8	0.043 0	0.054 9	-	-
17	0.058 0	0.033 0	0.175 0	0.186 8	0.009 0	0.033 0	-	-
18	-	-	0.017 0	0.033 0	-	-	-	-
19	-	-	0.021 0	0.033 0	-	-	-	-
20	-	-	0.050 0	0.109 9	-	-	-	-
21	-	-	0.175 0	0.142 9	-	-	-	-
22	-	-	0.217 0	0.120 9	-	-	-	-
23	-	-	0.113 0	0.066 0	-	-	-	-
24	-	-	0.046 0	0.033 0	-	-	-	-

3 讨 论

3.1 重庆地区汉族人群 4 个 X-STR 位点等位基因分布多态性的研究

本实验结果显示重庆地区汉族人群等位基因的遗传多态性在与其他国家或地区人群中检出的等位基因的分布和频率存在差异，说明 4 个 X-STR 位点等位基因的分布在不同地区的不同人群中分布存在多态性：(1)与其他国家的数据相比较发现，DXS7132 与韩国人群相比较[9]，等位基因 10、19 未被检出；DXS6789 同德国人群相比较，本实验检出等位

表 4 X 染色体 4 个 STR 位点的统计学数据

	H(f)	PIC	Pm	PDf	PDm	PE
DXS7132	0.825	0.75	0.090	0.910	0.7854	0.646
DXS6789	0.808	0.83	0.045	0.955	0.8590	0.615
HPRTB	0.769	0.79	0.061	0.939	0.7835	0.543
DXS8378	0.658	0.60	0.194	0.806	0.7494	0.367

表 5 4 个 X-STR 位点基因型分布(n=120)

DXS7132		DXS6789		HPRTB		DXS8378	
基因型	数量	基因型	数量	基因型	数量	基因型	数量
11-13	2	15-16	3	9-12	1	9-9	1
12-13	6	15-22	3	9-13	1	9-10	5
12-14	3	16-16	4	9-14	2	9-11	4
12-15	4	16-17	7	9-15	1	10-10	26
13-13	11	16-19	2	10-11	1	10-11	40
13-14	18	16-21	8	10-12	2	10-12	14
13-15	17	16-22	8	11-11	3	10-13	1
13-16	7	16-23	3	11-12	8	11-11	12
14-15	15	17-17	4	11-13	7	11-12	13
14-16	8	17-18	1	11-14	3	12-12	3
14-17	6	17-19	2	11-15	4	12-13	1
15-15	7	17-20	1	12-12	4	12-14	1
15-16	7	17-21	8	12-13	15		
15-17	4	17-22	9	12-14	6		
16-16	2	17-23	6	12-15	5		
16-17	2	18-20	1	12-16	3		
17-17	1	18-23	1	13-13	10		
		18-22	1	13-14	11		
		19-20	1	13-15	7		
		20-21	4	13-16	1		
		20-22	4	13-17	1		
		20-24	1	14-14	5		
		21-21	4	14-15	7		
		21-22	4	14-16	2		
		21-23	6	15-15	4		
		21-24	4	15-16	1		
		22-22	7	16-16	1		
		22-23	5	16-17	1		
		22-24	4				
		23-23	3				
		24-24	1				
合计	17	31	120	28	120	12	120

基因 15 至 24,而 Szibor R 等[10]检出的是等位基因 9 至 15,这与本实验结果差异较大;HPRTB 与韩国人群比较,Shin SH[11]等检出的是等位基因 10 至 15,及 16.2,本实验检出的是等位基因 9 至 17;DXS8378 与韩国人群相比较,其检出的是等位基因 8 至 12[9],本实验检出的是 9 至 14;但同日本人群相比较[12],都检出的是等位基因 9 至 14,且两个群体检出的多态信息量与女性非父排除率均非常接近。(2)与我国其他地区汉族人群数据相比较发现:DXS7132 同台湾人群相比较[11],等位基因 8、18、19 未被检出;DXS6789 同台湾人群相似[11];HPRTB 与中国西安汉族相比较[13],检出了等位基因 9 和 17,但等位基因 18 未被检出,PDf 低于本实验结果;DXS8378 与中国西安汉族人群相似,但西安汉族人群 PIC 低于本实验结果[13]。

故 X-STR 存在人群和种族差异,本实验结果与部分国外检出等位基因结果差异较大,与我国部分其他地区人群差距较小,可能与 STR 重复单位高度保守而重复数量易于变异有关,可能是与不同地域人群通婚有关,也可能与抽样数量有限,只能检出部分等位基因型有关。

3.2 法医学意义

X 染色体 STR 基因座在遗传过程中异于常染色体,以单倍体形式传给子代,故男性的基因组必然传给女儿,女性两条 X 染色体上的 1 对 STR 必有 1 个遗传给儿子或者女儿。由于这一遗传特点,X-STR 在法医学、遗传学、人类学研究中的作用日益突出。

本实验扩增的 4 个 X-STR 在人类基因组中分布广泛,等位基因片段长度多在 200 bp 以下,灵敏度高、可重复性好。研究表明,在 PIC≥0.6 时,可认为该基因具有高度多态性[14],检出结果显示,重庆地区汉族人群中,4 个 X-STR 的 PIC 值均达上述标准,且 PD 及 PE 也均处于较高水平。因此,其在法医学上的应用价值可总结如下:(1)一些特殊的亲权鉴定案件中,如缺乏双亲的姐妹亲缘关系的认定、同父异母姐妹亲缘关系的认定及父女关系单亲亲权鉴定等方面,X-STR 能提供常染色体所不能提供的信息;(2)对于肢解尸体、腐败尸体及白骨化尸体,尸体毁坏严重,对于各种微量检材,X-STR 在性别鉴定中有一定的作用;(3)在本文被检所有男性样本中,4 个 STR 位点电泳分型只出现一条带,而女性样本出现 1 条或 2 条带,故若在精液(精斑)或其他体液中检测到不只 1 条 X-STR 基因座的基因,则说明为混合斑,因此,X-STR 可作为混合斑和混合体液的辅助鉴定[15]。

但目前 X 染色体 STR 发现和应用的数量不多,且大部分的 X-STR 并未进行群体调查,群体分布、突变率等资料均不完整,尚存在以下不足:(1)X-STR 在亲权鉴定中只能起到排除作用,必须与常染色体 STR,线粒体染色体 STR 相结合才能得出肯定结论;(2)与国内其他地区汉族人群比较 4 个基因座的 PIC 及 DP 等群体遗传学指标发现,DXS7132 及 DXS6789 的各项指标差距不大,HPRTB 在台湾地区汉族人群中 PIC 及 DP 均小于本实验结果[11],DXS8378 在西安汉族人群中 PIC 及 DP 也较低[13]。说明 X-STR 存在人群和种族差异,因此必须寻找适合于本地区本民族的位点进行检测。

综上所述,X-STR 作为特殊的遗传标记,因其独特的遗传方式,其重要性已逐渐得到重视,成为常染色体 STR 分型的补充方法。DXS7132、DXS6789、HPRTB、DXS8378 在重庆地区汉族人群中基因频率分布较好、多态信息量大、个体识别率高,本次研究结果为构建法医 DNA 数据库和群体遗传学数据库提供了基础数据,为重庆地区汉族人群个人识别和亲子鉴定提供了新的遗传标记信息。

参 考 文 献

[1] Barbaro A, Cormaci P.X-STR typing for an identification casework[J]. Int Congr Ser, 2006, 1288:513-515.

[2] Szibor R, Krawczak M, Hering S, et al. Use of X-linked markers for forensic purposes[J]. Int J Legal Med, 2003, 117(2):67-74.

[3] Walsh P S, Metzger D A, Higuchi R.Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material[J]. Biotechniques, 1991, 10(4):506-513.

[4] Edelmann J, Deichsel D, Hering S, et al. Sequence variation and allele nomenclature for the X-linked STRs DXS9895, DXS8378, DXS7132, DXS6800, DXS7133, GATA172D05, DXS7423 and DXS8377[J]. Forensic Sci Int, 2002, 129(2):99-103.

[5] Mertens G, Cielis M, Mommer N, et al. Mutation of the repeat number of the HPRTB locus and structure of rare intermediate alleles[J]. Int Leg Med, 1999, 122(3):192-194.

[6] Bassam B J, Anolles G C, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels[J]. Anal Biochem, 1991, 196(1):80-83.

[7] Guo S W, Thompson E A.Performing the exact test of Hardy-Weinberg proporting for multiple alleles[J].Bio-metrics, 1992, 48(2):361-372.

[8] 侯一平.法医物证学[M].第 2 版.北京:人民卫生出版社, 2005. 16-18.

[9] Shin S H, Yu J S, Park S W, et al.Genetic analysis of 18 X-linked Short tandem repeat markers in Korean population[J].Forensic Sciense International, 2005, 147(1):35-41.

[10] Szibor R, Lautsch S, Plate I, et al. Population data on the X chromosome short tandem repeat locus Hum HPRTB in two regions of Germany[J].Forensic Sci, 2000, 45(1):231-233.

[11] Chen M Y, Pu C E. Population data on the X chromosome short tandem repeat loci DXS10011, DXS101, DXS6789, DXS7132, DXS8377 and DXS9895 in Taiwan [J].Forensic Sciense International, 2004, 146(1):65-67.

[12] Becker D, Rodiq H, Auqustin C, et al. Population genetic evaluation of eight X-chromosomal short tandem repeat loci using mentype Argus X-8 PCR amplification kit[J].Forensic Sciense International, 2008, 2(1):69-74.

[13] 余 兵,秦群霞,闫金成,等.西安汉族 X 染色体上 6 个 STR 位点的遗传多态性[J].法医学杂志, 2005, 21(3):188-191.

[14] Yu B, Zhang H B, Li S B.X-chromosome STRs polymorphisms of Han ethnic group from northwest China[J].Forensic Sci Int, 2005, 153(2-3):269-271.

[15] 吴梅励,吴梅筠,梁伟波,等.X 染色体与性别鉴定[J].刑事技术, 2004, 28(1):37-39.

(责任编辑:冉明会)