基础研究 文章编号:0253-3626(2009)10-1326-04

# 重庆汉族、土家族人群 3 个 Y-STR 基因座遗传多态性

邓世雄,陈 伟
(重庆医科大学基础医学院法医学教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究重庆汉族、土家族人群无关个体的 GATA-A7.2、GATA-C4、DYS437 基因座的遗传多态性。方法:重庆汉族男性 115 人,女性 15 人,土家族男性 120 人,女性 15 人无关个体血样,用 Chelex 法提取 DNA,对 2 个群体的 3 个 Y-STR 基因座进行 PCR 扩增,变性聚丙烯酰胺凝胶连续缓冲垂直电泳,银染分型。用直接计数法计算基因频率、基因型频率,计算 3 个基因座的基因变异度(Gene diversity,GD)值和单倍体变异度(Haplotype diversity,HD)值,并比较 2 个群体等位基因分布特点。结果:GATA-A7.2、GATA-C4、DYS437 基因座分别检出 5、5、3 个等位基因,GD 分别为 0.697 9/0.714 1 (汉族/土家族)、0.720 2/0.700 1、0.511 2/0.495 7。共检出 44 种单倍型的 HD 汉族为 0.955 6,土家族为 0.953 2。所有女性样本在 3 个位点均无 PCR 扩增产物,表明 3 个基因座是 Y 染色体特异性的 STR 基因座,X 染色体不存在同源序列。结论:这 3 个基因座适合于法医学个人识别和亲子鉴定,为法医学应用提供了新的可选 Y-STR 遗传标记。

【关键词】汉族;土家族;Y-STR;遗传多态性;法医学
【中图图书分类法分类号】D919.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-06-09

# Genetic polymorphism of 3 Y-STR loci in Chongqing Han and Tujia population

*DENG Shi-xiong, et al*
(*Department of Forensic Medicine, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate genetic polymorphism of three Y Chromosome short tandem repeat (Y-STR) loci (GATA-A7.2、GATA-C4、DYS437) in Chongqing Han and Tujia population. *Methods*: This study based on Han male gender 115, female gender 15, Tujia male gender 120, female gender 15 unrelated individual blood samples. DNA was extracted with Chelex method. Each DNA sample was amplified using PCR for GATA-A7.2, GATA-C4 and DYS437 locus. The PCR products of three Y-STR loci were analyzed by denaturing vertical polyacrylaminde gel electrophoresis with continuous buffer system, genotyping with silver stain method. Use direct counting method to calculate allele and genotype frequency, calculate gene diversity(GD)/haplotype diversity(HD) of three loci and compare two nationalities allele distribution feature. *Results*: We observed 5、5、3 alleles in locus GATA-A7.2、GATA-C4、DYS437 respectively, the GD values are 0.697 9/0.714 1、0.720 2/0.700 1、0.511 2/0.495 7 (Han/Tu jia). 44 haplotypes were found, the HD for the three Y-STR loci was 0.955 6 in Han and 0.953 2 in Tujia. There were no PCR products of three Y-STR loci for the female individual, it indicated that the three loci were specifically for the chromosome Y and there were no their homologous sequences on the chromosome X. *Conclusion*: It was suggested that GATA-A7.2, GATA-C4 and DYS437 locus are suitable for individual identification and paternity testing, and they provide new selectable STR markers for chromosome Y haplotype in forensic application.

【Key words】*Han nationality; Tujia nationality; Y-STR; Genetic polymorphism; Forensic medicine*

Y-STR 是位于 Y 染色体上的 STR 序列。Y 染色体除拟常染体区外,在减数分裂中不发生交换重组,呈单倍型独立向下遗传:由父亲传递给儿子,呈父系遗传特征,序列的变异完全由累积的突变所致。Y-STR 在法医学中具有重要而独特的应用价值[1,2]:(1)在男女混合斑中,避免了常染色体的优势扩增。(2)STR 基因座只有 1 个条带,分型比常染色体简单。(3)Y-STR 可一次性将多个男性的遗传标记分开。

筛选稳定性好,多态性高,易于扩增和分型的 STR 基因座是法医遗传学研究的热点。Y 染色体是人染色体中具有多态性遗传标记量最少的染色体,很有必要寻找新的 Y 染色体特异 STR 基因座,以提高 Y 染色体单倍型系统的鉴别能力,满足法医实际工作的需要。本研究选择了以 4 核苷酸重复为核心

作者介绍:邓世雄(1963- ),男,教授,硕士,
研究方向:法医物证学、法医病理学。

序列的 GATA-A7.2、GATA-C4、DYS437 基因座，调查其在重庆汉族、土家族群体中的遗传多态性。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 样本 本研究遵照知情同意的原则随机采自重庆地区汉族和土家族的无关个体：汉族男性 115 人，女性 15 人（重庆市渝中区）；土家族男性 120 人，女性 15 人（重庆市石柱土家族自治县）。采集新鲜静脉血，EDTA-K2 抗凝，4℃保存。

1.1.2 引物 Y-STR 引物序列来自 GenBank 数据库。所有引物均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成，序列如下：GATA-A7.2：引物 1：5'-AGG CAG AGG ATA GAT GAT ATG GAT-3'；引物 2：5'-TTC AGG TAA ATC TGT CCA GTA GTG A -3'；GATA-C4：引物 1：5'- AGT GTC TCA CTT CAA GCA CCA AGC AC -3'；引物 2：5'- GCA GCA AAA TTC ACA GTT GGA AAA ATG T-3'。DYS437：引物 1：5'- GAC TAT GGG CGT GAG TGC AT -3'；引物 2：B：5'- AGA CCC TGT CAT TCA CAG ATG A -3'。

### 1.2 方法

1.2.1 DNA 模板的制备 用 Chelex-100 法提取血液中的 DNA[3]。

1.2.2 PCR 扩增 3 个 Y-STR 基因座反应体系见表 1。各基因座加入模板 DNA5～10 ng，补超纯水至终体积 25 μl。PCR 反应条件：96℃2 min 激活热启动 Taq 酶；94℃变性 50 s，60℃退火 50 s，70℃延伸 50 s，10 次循环；90℃变性 50 s，60℃退火 50 s，70℃延伸 50 s，再进行 20 次循环；60℃保温 30 min。

1.2.3 电泳分离及显色 聚丙烯酰胺凝胶（T=5%，C=6%），380 V 恒电压同步电泳 90 min，银染显色[4]。

1.2.4 测序和命名 按照文献[5]方法制备等位基因分型标准物。用 ABI377 型荧光自动测序仪对等位基因进行测序。按照国际法医遗传学会 DNA 委员会（the DNA commission of the international society of forensic genetics，ISFG）推荐的命名原则命名 GATA-A7.2、GATA-C4、DYS437 的等位基因[6,7]。

1.2.5 数据分析 用直接计数法计算等位基因频率及单倍型频率。基因座的基因变异度（Gene diversity，GD）及其标准误（Standard error，SE）的公式分别为 $GD=n\frac{(1-\sum x^2)}{(n-1)}$ 和 $SE=\left\{\frac{2\left[\sum x^3-(\sum x^2)^2\right]}{n}\right\}^{\frac{1}{2}}$，其中 GD 为基因变异度，$n$ 为等位基因数，$x$ 为各等位基因的频率，个人识别力（Power of discrimination，DP）和非父排除率（Probability of paternity exclusion，PE）的公式同变异度公式。单倍型的变异度（Haplotype diversity，HD）、SE、DP、DE 的公式同基因座[6,8]。

**表 1 3 个 Y-STR 基因座 PCR 反应体系（单位：μl）**

| 基因座 | 10×PCR 缓冲液 | $MgCl_2$ (25 mmol/L) | dNTP (10 mmol/L) | 引物 (25 μmol/L) | Taq DNA 聚合酶 (2.5 U/μl) |
|---|---|---|---|---|---|
| GATA-A7.2 | 2.5 | 1.5 | 0.6 | 0.25 | 0.6 |
| GATA-C4 | 2.5 | 1.5 | 0.6 | 0.2 | 0.5 |
| DYS437 | 2.5 | 1.5 | 0.5 | 0.25 | 0.5 |

## 2 结果与讨论

### 2.1 Y-STR 基因座等位基因频率

GATA-A7.2 检出 5 种等位基因（等位基因 9~13），片段大小分别为 174~190 bp，频率分布在 0.426 1~0.017 4 之间；GATA-C4 检出 5 种等位基因（等位基因 19~23），片段大小分别为 246~262 bp，频率分布在 0.426 1~0.016 7 之间；DYS437 检出 3 种等位基因（等位基因 14~16），片段大小分别为 185~193 bp，频率分布在 0.633 3~0.026 1 之间。各基因座在不同民族的分布频率见表 2。

用 $\chi^2$ 检验不同人群间各基因座等位基因频率分布的差异性，发现这 3 个 Y-STR 基因座在汉族和土家族两个群体中的等位基因频率分布无显著性差异（$P>0.05$），提示 2 个民族在起源上可能有同源性。

根据本实验获得的 3 个 Y-STR 基因座等位基因频率分布与其他民族和种族之间基因频率分布相比较，GATA-A7.2 及 GATA-C4 国内尚未见报道，DYS437 基因座在辽宁汉族人群中发现了等位基因 9、10、11、12 和 13[9]，在内蒙古汉族、南通汉族、广州汉族人群中发现了等位基因 13[10-12]，在重庆汉族及土家族人群中未发现这些等位基因。

### 2.2 Y-STR 的遗传差异性

与常染色体相比，Y 染色体上的多态性遗传标记呈单倍型遗传，HD、DP、PE 三者的数值是相同的。从实验结果看（见表 3），汉族群体中 GATA-C4 的 GD 值最大（0.720 2），3 个基因座组成的单倍型

表 2 重庆汉族、土家族群体中 3 个 Y-STR 基因座的等位基因频率分布

| 基因座 | 等位基因 | 片段大小 | 汉族 | | 土家族 | | 2 个群体数据差异性比较($\chi^2$ 检验) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 样本量 | 频率 | 样本量 | 频率 | |
| GATA-A7.2 | 9 | 174 | 11 | 0.095 7 | 6 | 0.050 0 | $\chi^2$=4.562, df=4 $P$>0.05 |
| | 10 | 178 | 35 | 0.304 3 | 36 | 0.300 0 | |
| | 11 | 182 | 49 | 0.426 1 | 47 | 0.391 7 | |
| | 12 | 186 | 18 | 0.156 5 | 25 | 0.208 3 | |
| | 13 | 190 | 2 | 0.017 4 | 6 | 0.050 0 | |
| | | 合计 | 115 | 1.000 0 | 120 | 1.000 0 | |
| GATA-C4 | 19 | 246 | 14 | 0.121 7 | 17 | 0.141 7 | $\chi^2$=7.060, df=4 $P$>0.05 |
| | 20 | 250 | 49 | 0.426 1 | 46 | 0.383 3 | |
| | 21 | 254 | 27 | 0.234 8 | 43 | 0.358 3 | |
| | 22 | 258 | 21 | 0.182 6 | 12 | 0.100 0 | |
| | 23 | 262 | 4 | 0.034 8 | 2 | 0.016 7 | |
| | | 合计 | 115 | 1.000 0 | 120 | 1.000 0 | |
| DYS437 | 14 | 185 | 67 | 0.582 6 | 76 | 0.633 3 | $\chi^2$=1.395, df=2 $P$>0.05 |
| | 15 | 189 | 45 | 0.391 3 | 39 | 0.325 0 | |
| | 16 | 193 | 3 | 0.026 1 | 5 | 0.041 7 | |
| | | 合计 | 115 | 1.000 0 | 120 | 1.00 0 | |

表 3 重庆汉族、土家族 3 个 Y-STR 基因座多态性参数比较

| 群体 | GD | | | HD |
|---|---|---|---|---|
| | GATA-A7.2 | GATA-C4 | DYS437 | |
| 汉族 | 0.697 9 | 0.720 2 | 0.511 2 | 0.955 6 |
| 土家族 | 0.714 1 | 0.700 1 | 0.495 7 | 0.953 2 |

的 HD 为 0.955 6。土家族群体中 GATA-A7.2GD 值最大(0.714 1)，单倍型 HD 为 0.953 2。随着染色体上多态性基因座个数的增多，其单倍型的 HD 值也随之增大，系统的识别效能随之增高，因而寻找新的适合于法医学应用的多态性基因座，以提高染色体单倍型系统的鉴别能力是十分必要的。

2.3 单倍型频率分布(见表 4)

汉族、土家族 2 个群体均检出 34 种单倍型，有 12 种单倍型只出现 1 次。汉族群体单倍型频率在 0.121 7~0.008 7 之间，单倍型 11-20-15 的频率最高。土家族群体单倍型频率在 0.133 3~0.008 3 之间，单倍型 11-20-14 的频率最高。2 个群体中共检出 44 种单倍型，有 24 种为两群体共有。经过计算，重庆汉族和土家族群体中由这 3 个 Y-STR 基因座组成的单倍型 HD 分别为 0.955 6、0.953 2。Y 染色体上的基因座单倍型非随机分布，单倍型频率分布具有群体特异性。因而对群体遗传亲缘关系分析而言，研究 Y 染色体单倍型多态性分布比研究单个基因座的等位基因频率分布调查更有价值。

2.4 法医学意义

本研究对 265 份样本(男性 235 人，女性 30人)的 3 个 Y-STR 基因座进行扩增，所有女性样本均没有扩增产物产生，表明这 3 个基因座是 Y 染色体特异性的 STR 基因座，X 染色体上不存在其同源序列。在分析阴道分泌物与精液构成的混合斑时，利用 Y 染色体特异性 STR 遗传标记，可以不受女性成份的干扰，对男性成份进行精确检验[13,14]。

综上所述，GATA-A7.2、GATA-C4、DYS437 基因座的等位基因频率分布数据可作为个人识别和亲子鉴定进行概率计算的依据，同时为构建法医 DNA 数据库和群体遗传学数据库提供了基础数据。3 个 Y-STR 电泳分型准确、容易、可重复性好，因此可以作为法医学个人识别和亲子鉴定中备选的新的 Y 染色体特异基因座。

## 参 考 文 献

[1] Jobling M A, Tyler-Smith C. Fathers and sons: the Y chromosome

表 4 重庆汉族、土家族群体中 3 个 Y-STR 基因座单倍型频率分布

| 编号 | 单倍型(GATA-A7.2/GATA-C4/DYS437) | 分布频率 | | 编号 | 单倍型(GATA-A7.2/GATA-C4/DYS437) | 分布频率 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 汉族 | 土家族 | | | 汉族 | 土家族 |
| 1 | 09-19-14 | 0.008 7 | | 23 | 11-20-14 | 0.095 7 | 0.133 3 |
| 2 | 09-19-15 | 0.008 7 | | 24 | 11-20-15 | 0.121 7 | 0.016 7 |
| 3 | 09-20-14 | 0.017 4 | 0.0250 | 25 | 11-21-14 | 0.052 2 | 0.091 7 |
| 4 | 09-20-15 | | 0.008 3 | 26 | 11-21-15 | 0.043 5 | 0.033 3 |
| 5 | 09-20-16 | | 0.008 3 | 27 | 11-21-16 | | 0.008 3 |
| 6 | 09-21-14 | 0.008 7 | | 28 | 11-22-14 | 0.043 5 | 0.033 3 |
| 7 | 09-21-15 | 0.008 7 | 0.008 3 | 29 | 11-22-15 | 0.034 8 | 0.008 3 |
| 8 | 09-22-14 | 0.017 4 | | 30 | 11-22-16 | | 0.008 3 |
| 9 | 09-22-15 | 0.017 4 | | 31 | 11-23-14 | | 0.008 3 |
| 10 | 09-23-16 | 0.008 7 | | 32 | 12-19-14 | 0.017 4 | 0.025 0 |
| 11 | 10-19-14 | 0.026 1 | 0.041 7 | 33 | 12-19-15 | 0.017 4 | 0.025 0 |
| 12 | 10-20-14 | 0.052 2 | 0.066 7 | 34 | 12-20-14 | 0.043 5 | 0.016 7 |
| 13 | 10-20-15 | 0.052 2 | 0.041 7 | 35 | 12-20-15 | 0.034 8 | 0.033 3 |
| 14 | 10-21-14 | 0.060 9 | 0.066 7 | 36 | 12-21-14 | 0.008 7 | 0.050 0 |
| 15 | 10-21-15 | 0.026 1 | 0.050 0 | 37 | 12-21-15 | 0.017 4 | 0.050 0 |
| 16 | 10-21-16 | 0.008 7 | | 38 | 12-21-16 | | 0.008 3 |
| 17 | 10-22-14 | 0.060 9 | 0.016 7 | 39 | 12-22-14 | 0.008 7 | 0.016 7 |
| 18 | 10-22-15 | | 0.008 3 | 40 | 12-23-14 | 0.008 7 | |
| 19 | 10-23-14 | 0.017 4 | 0.008 3 | 41 | 13-19-16 | 0.008 7 | |
| 20 | 11-19-14 | 0.026 1 | 0.025 0 | 42 | 13-20-14 | 0.008 7 | |
| 21 | 11-19-15 | 0.008 7 | 0.016 7 | 43 | 13-20-15 | | 0.025 0 |
| 22 | 11-19-16 | | 0.008 3 | 44 | 13-22-14 | | 0.008 3 |

and human evolution[J]. Trends Genet, 1995, 11(11):449-456.

[2] 孟祥宁,薛雅丽,傅松滨. 利用 Y 染色体进行人类起源和进化分析[J]. 国外医学遗传学分册,2003,26:63-66.

[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] 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.

[5] 张 林,辛军平,陈国弟,等.用分子克隆技术构建 D12S391 基因座等位基因分型标准物及群体遗传学研究[J].中华医学遗传学杂志,2002,19(1):17-22.

[6] Bar W, Brinkmann B, Lincoln P, et al. DNA recommendations -1994 report concerning further recommendations of DNA commission of the ISFH regarding PCR-based polymorphisms in STR systems[J]. Int J Legal Med, 1994, 107(3):159-160.

[7] Bar W, Brinkmann B, Budowle B, et al. DNA recommendations: further report of the DNA commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems[J]. Int J Legal Med, 1997, 110(4):175-176.

[8] Nei M. Evolution Genetics[M].New York:Columbia University Press, 1987.176-181.

[9] 于卫建,叶 萍,孟庆丽,等.辽宁汉族人群 11 个 Y-STR 基因座遗传多态性[J].中国法医学杂志,2009,24(2):119-120.

[10] 王永在,王 勇,黄太宇,等.内蒙古汉族人群 17 个 Y-STR 基因座遗传多态性[J].中国法医学杂志,2009,24(2):117-118.

[11] 张玉红,贾东涛,韩海军,等.南通汉族群体 16 个 Y-STR 基因座遗传多态性[J].中国法医学杂志,2008,23(3):197-198.

[12] 刘 超,陈 玲,陈晓辉,等.广州汉族人群 12 个 Y-STR 基因座多态性及法医学应用研究[J].南方医科大学学报,2007,27(5):599-601.

[13] Kayser M, Caglia A, Corach D, et al.Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study[J]. Int J Legal Med, 1997, 110(3): 125-133, 141-149.

[14] Prinz M, Boll K, Baum H, et al. Multiplexing for Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples[J]. Forensic Sci Int, 1997, 85(3): 209-218.

(责任编辑:冉明会)