基础研究 文章编号:0253-3626(2009)11-1499-03

重庆土家族群体 15 个 STR 基因座的遗传多态性

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:研究重庆土家族人群无关个体的 15 个 STR 基因座(CSF1PO、D13S317、D16S539、D18S51、D19S433、D21S11、D2S1338、D3S1358、D5S818、D7S820、D8S1179、FGA、TH01、TPOX、vWA)的遗传多态性。方法:应用 AmpFlSTR Identifiler 荧光标记复合扩增系统对 115 名重庆土家族无关个体血样 DNA 进行 15 个 STR 基因座的复合扩增,用 ABI310 遗传分析仪对扩增产物进行检测,用 GeneScan、GenoTyper 软件进行基因分型,统计计算 15 个 STR 基因座的群体遗传学参数。结果:15 个 STR 基因座均符合 Hardy-Weinberg 平衡,杂合度在 0.634 8 ~ 0.887 0 之间,累积匹配概率和累积非父排除率分别为 3.12×10^{-17} 和 0.999 997 688 3。结论:15 个 STR 基因座的累积匹配概率和累积非父排除率较高,适用于法医学亲子鉴定和个人识别。

【关键词】土家族;短串联重复序列;遗传多态性;法医学
【中国图书分类法分类号】D919.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-06-09

Genetic polymorphism of 15 STR loci in Chongqing Tujia population

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

【Abstract】*Objective*: To investigate the genetic polymorphism of 15 short tandem repeat (STR) loci(CSF1PO, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, D2S1338, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, FGA, TH01, TPOX and vWA) in Chongqing Tujia population. *Methods*: DNA samples from 115 Tujia unrelated individuals in Chongqing were screened with the use of AmpFlSTR Identifiler PCR Amplification Kit and ABI310 Analyzer.The relative fragment's lengths of PCR products were calculated by gene scan analysis software and afterward genotyped by genotype software. *Results*: All the 15 loci met Hardy-Weinberg equilibrium.The heterozygosity (H) were ranged from 0.6348 to 0.8870. The combined probability of matching (Pm) and power of exclusion (PE) were determined to be 3.12 × 10-17 and 0.999 997 688 3. *Conclusion*: A higher measured value could be obtained for both the combined probability of matching and power of exclusion: The 15 STR loci can meet the needs of the paternity testing and individual identification in forensic medicine.

【Key words】Tujia nationality; STR; Genetic polymorphism; Forensic medicine

荧光标记 STR-PCR 复合扩增结合毛细管电泳基因扫描技术已被广泛应用于短串联重复序列(Short tandem repeat, STR)遗传标记的基因型分型,该方法具有效率高、分型结果准确、标准化等优点,在法医学亲权鉴定和个体识别中成为重要的分析手段[1~3]。AmpFlSTR Identifiler PCR 扩增试剂盒是 ABI 公司生产的用于法医学亲权鉴定与个体识别的多色荧光标记复合扩增 STR 检测试剂,采用 5 色荧光技术,通过单管扩增、毛细管电泳,即可实现 15 个 STR 基因座的同时扩增检测[4]。

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。

1 材料和方法

1.1 实验材料

115 份 EDTA 抗凝血遵照知情同意的原则随机采自重庆石柱土家族自治县 115 名无关个体。

1.2 方法

1.2.1 DNA 模板的制备 用 Chelex-100 法提取血液中的 DNA[5]。

1.2.2 PCR 扩增 采用 ABI 公司的 AmpFlSTR Identifiler PCR 扩增试剂盒进行复合扩增,检测 CSF1PO、D13S317、D16S539、D18S51、D19S433、D21S11、D2S1338、D3S1358、D5S818、D7S820、D8S1179、FGA、TH01、TPOX、vWA 等 15 个 STR 基因座。

PCR 反应体系为 25 μl,其中模板 DNA10 μl(模板DNA

的浓度为 1.0 ng/μl),Master Mix 15μl (PCR Reaction Mix 10.5 μl,Primer Set 5.5μl,AmpliTaq Gold Polymerase 0.5 μl)。每次扩增以阳性对照 DNA 作阳性对照,用纯水代替样本 DNA 作阴性对照。扩增采用 ABI2700 型扩增仪,热循环条件:95℃ 11min 激活热启动 Taq 酶;94℃变性 1 min,59℃退火 1 min,72℃延伸 1 min,28 次循环;60℃保温 60 min。

1.2.3 扩增产物的电泳及检测 电泳样品的制备:Hi-Di 甲酰胺 24.5 μl,GeneScan-500LIZ 分子量标记 0.5 μl,PCR 产物1.5 μl 混合,用 ABI310 遗传分析仪进行毛细管电泳,用 Genescan v3.1 和 Genotyper v2.5.2 软件进行检测分型。

1.3 统计学分析

用直接计数法计算 15 个 STR 基因座的等位基因频率及基因型频率。用 Powerstates 软件计算杂合度 (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(Power of exclusion,PE)、多态信息总量(Comparision of polymorphism information content,PIC),亲权指数(Paternity Index,PI)等群体遗传学指标[6-10]。用 GENEPOP Version 3.4 软件进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验。

2 结果与讨论

重庆土家族群体无关个体 15 个 STR 基因座等位基因及其频率分布见表 1。在 115 名重庆土家族人群无血缘关系的个体的 CSF1PO、D13S317、D16S539、D18S51、D19S433、D21S11、D2S1338、D3S1358、D5S818、D7S820、D8S1179、FGA、TH01、TPOX、vWA 等 15 个基因座中,共检出 141 个等位基因,其频率分布在 0.004 3~0.534 8 之间;检出 386 种基因型,其频率分布在 0.008 7~0.313 0 之间。15 个 STR 基因作基因型作 χ^2 检验,P 值均大于 0.05,基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。

15 个基因座的杂合度、个体识别力、匹配概率、非父排除率、多态信息含量、亲权指数等多态性参数见表 2。按文献[11]标准 DP≥0.9,H≥0.7 属高鉴别能力的遗传体系来衡量,D13S317、D16S539、D18S51、D19S433、D21S11、D2S1338、D5S818、D8S1179、FGA、vWA 共 10 个基因座属高鉴别能力的基因座。土家族人群中,15 个 STR 基因座的杂合度在 0.634 8~0.887 0 之间,累积个人识别力>0.999 999 999 9,累积匹配概率为 3.12×10^{-17}; 累积非父排除率为0.999 997 688 3;累积多态信息含量为 0.999 999 999 6,亲权指数在 1.369 0~4.423 1 之间,达到同一认定的水平,足以满足法医学个人识别和亲子鉴定的需要。

综上所述,D13S317、D16S539、D18S51、D19S433、D21S11、D2S1338、D5S818、D8S1179、FGA、vWA 在重庆土家族人群中基因频率分布较好、提供的多态信息量大、个体识别率高、非父排除能力较强。此次研究结果为群体遗传学提供了新的数据,为重庆地区法医学亲子鉴定和个体识别提供了新的遗传标记信息。

ABI 公司生产的 AmpFlSTR Identifiler 试剂盒采用荧光标记 STR-PCR 复合扩增,大大提高了工作效率,同时节约检材,检测 15 个基因位点只需要 0.5~1.0 ng DNA,并且因其扩增片段短,对一些高度腐败甚至严重降解的检材也能成功分型,这一特点非常适用于法庭科学。荧光标记 STR-PCR 复合扩增结合毛细管电泳基因扫描技术,对微量、降解检材能快速、准确分型,且标准化,在法医学个体识别、亲权鉴定和基因分析中有重要的应用价值。

参 考 文 献

[1] Krenke B E, Tereba A, Anderson S J, et al. Validation of a 16-locus fluorescent multiplex system[J].J Forensic sci, 2002,47:773-785.

[2] Micka K A,Amiott E A,Hockenberry T L,et al. TWGDAM validation of a nine-locus and a four-locus fluorescent STR multiplex system[J]. J Forensic Sci,1999,44:1243-1257.

[3] Butler J M.Forensic DNA typing:biology and technology behind STR marker[M].London:Academic Press,2001.

[4] 连昌舟, 叶 健. 6 个短片段 STR 基因座复合扩增的法医学初步研究[J].中国人民公安大学学报:自然科学版,2009,1:35-38.

[5] 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.

[6] Fisher R A. Standard calculation for evaluating a blood group system [J]. Heredity,1951, 5:95-102.

[7] Jones D A. Blood samples: probability of discrimination[J]. J Forensic Sci Soc, 1972, 12(2): 355-359.

[8] Odelberg S J, White R. Repetive DNA: Molecular structure, polymorphism, and forensic application In DNA and other polymorphisms in forensic science[M]. Chicago: Year book medical pubhshers Inc,1990.26.

[9] Botstein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Hum Genet,1980, 32(3): 314-331.

[10] Brenner C,Morris J. International symposium on human identification[M]. Wisconsin: Promega Corporation,1989,21-53.

[11] Gill P, Urquhart A, Millican E, et al. A new method of STR interpretation using inferential logic--development of a criminal intelligence database[J]. Int J Legal Med, 1996, 109(1):14-22.

(责任编辑:冉明会)

表 1 重庆土家族 15 个 STR 基因座等位基因频率分布

CSF1PO	
等位基因	基因频率
7	0.013
8	0.004 3
9	0.026 1
10	0.221 7
11	0.256 6
12	0.421 7
13	0.052 22
14	0.004 3

D13S317	
等位基因	基因频率
8	0.313
9	0.126 1
10	0.113
11	0.256 5
12	0.147 8
13	0.021 7
14	0.021 7

D16S539	
等位基因	基因频率
8	0.017 4
9	0.304 3
10	0.130 4
11	0.252 2
12	0.126 1
13	0.134 8
14	0.034 8

D18S51	
等位基因	基因频率
10	0.008 7
11	0.004 3
12	0.052 2
13	0.204 3
13.2	0.008 7
14	0.191 3
15	0.121 7
16	0.126 1
17	0.091 3
18	0.056 5
19	0.056 5
20	0.026 1
21	0.026 1
22	0.026 1

D19S433	
等位基因	基因频率
10	0.026 1
12	0.039 1
12.2	0.008 7
13	0.247 5
13.2	0.043 5
14	0.217 4
14.2	0.130 4
15	0.056 5
15.2	0.169 6
16	0.021 7
16.2	0.034 8
17.2	0.004 3

D21S11	
等位基因	基因频率
28	0.082 9
29	0.239 1
29.2	0.004 3
30	0.2
30.2	0.008 7
31	0.117 4
31.2	0.043 5
32	0.034 8
32.2	0.104 3
33	0.004 3
33.2	0.056 5
34.2	0.004 3

D2S1338	
等位基因	基因频率
16	0.017 4
17	0.043 5
18	0.121 7
19	0.147 8
20	0.1
21	0.017 4
22	0.052 2
23	0.243 5
24	0.182 6
25	0.069 6
26	0.004 3

D3S1358	
等位基因	基因频率
12	0.017 4
13	0.013
14	0.043 5
15	0.360 9
16	0.343 5
17	0.156 5
18	0.056 5
19	0.008 7

D5S818	
等位基因	基因频率
7	0.034 8
8	0.008 7
9	0.060 9
10	0.182 6
11	0.356 5
12	0.239 1
13	0.095 7
14	0.017 4
15	0.004 3

D7S820	
等位基因	基因频率
8	0.117 4
9	0.052 2
10	0.165 2
11	0.378 3
12	0.247 8
13	0.039 1

D7S820	
等位基因	基因频率
9	0.004 3
10	0.108 7
11	0.078 3
12	0.1
13	0.243 5
14	0.204 3
15	0.182 6
16	0.060 9
17	0.017 4

FGA	
等位基因	基因频率
17	0.004 3
19	0.078 3
20	0.052 2
21	0.130 4
21.2	0.004 3
22	0.173 9
22.2	0.017 4
23	0.173 9
23.2	0.013
24	0.191 3
24.2	0.008 7
25	0.069 6
25.2	0.004 3
26	0.522
26.3	0.004 3
27	0.017 4
32	0.004 3

TH01	
等位基因	基因频率
6	0.087
7	0.308 7
8	0.082 6
9	0.421 7
9.3	0.034 8
10	0.056 5
11	0.008 7

TPOX	
等位基因	基因频率
7	0.008 7
8	0.534 8
9	0.1
10	0.047 8
11	0.269 6
12	0.034 8
13	0.004 3

vWA	
等位基因	基因频率
14	0.256 5
15	0.026 1
16	0.178 3
17	0.260 9
18	0.182 6
19	0.087
20	0.008 7

基础研究 文章编号:0253-3626(2009)11-1502-04

2 型糖尿病患者脂肪细胞胰岛素抵抗与微炎症的研究

黄朝莉[1],钟 玲[2],陈建伟[2]

(1. 四川成都铁路中心医院肾内科,成都 610081;2. 重庆医科大学附属第二医院肾内科,重庆 400010)

【摘 要】目的:观察 2 型糖尿病患者脂肪细胞内胰岛素信号转导蛋白:胰岛素受体底物 -1(Insulin receptor substrate-1,IRS-1)酪氨酸磷酸化及蛋白激酶 B(Protein kinase B ,PKB/AKT)Ser473 磷酸化水平以及微炎症因子白细胞介素 6(Interleukin-6,IL-6)的表达。方法:取 2 型糖尿病患者(2 型糖尿病组)及非糖尿病患者(非糖尿病对照组)腹部皮下脂肪组织原代培养,用免疫沉淀法及蛋白印迹法(Western blot)检测两组脂肪细胞内胰岛素刺激后 IRS-1 酪氨酸磷酸化及 AKT-Ser473 磷酸化程度,酶联免疫吸附法检测脂肪细胞培养液中 IL-6 蛋白的水平。结果:(1)2 型糖尿病组脂肪细胞内胰岛素刺激后 IRS-1 酪氨酸磷酸化及 AKT-Ser473 磷酸化水平明显低于非糖尿病对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);(2)2 型糖尿病组脂肪细胞培养液中 IL-6 蛋白的水平明显高于非糖尿病对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:2 型糖尿病患者脂肪细胞存在胰岛素抵抗和微炎症状态。

【关键词】2 型糖尿病;脂肪细胞;胰岛素抵抗;微炎症

【中国图书分类法分类号】R587.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-01-04

Study of insulin resistance and microinflammation in the adipocytes of type 2 diabetics

HUANG Chao-li, et al

(*Department of Nephrology, Chengdu Railway Central Hospital*)

作者介绍:黄朝莉(1981-),女,硕士,
研究方向:糖尿病肾病。

通讯作者:钟 玲,女,副教授,E-mail: lzhi92@sina.com.cn。

基金项目:重庆市卫生局科研基金资助项目(04-2-080)。

【Abstract】*Objective*: to investigate the insulin signal transduction protein in the adipocytes of Type 2 diabetics: Insulin Receptor Substrate-1(IRS-1) tyrosine phosphorylation and Protein Kinase B (PKB/AKT) Ser473 phosphorylation level and expression of microinflammatory cytokine interleukin-6(IL-6). *Methods*: Using

表 2 重庆土家族 15 个 STR 基因座多态性参数比较

基因座	H	DP	Pm	PE	PIC	PI
CSF1PO	0.695 7	0.861 4	0.138 6	0.421 6	0.654 1	1.642 9
D13S317	0.800 0	0.917 4	0.082 6	0.599 0	0.753 2	2.500 0
D16S539	0.800 0	0.919 3	0.080 7	0.599 0	0.761 1	2.500 0
D18S51	0.843 5	0.963 2	0.036 8	0.682 1	0.858 3	3.194 4
D19S433	0.800 0	0.944 0	0.056 0	0.599 0	0.816 9	2.500 0
D21S11	0.843 5	0.933 5	0.066 5	0.682 1	0.792 4	3.194 4
D2S1338	0.826 1	0.951 5	0.048 5	0.648 3	0.833 8	2.875 0
D3S1358	0.739 1	0.878 6	0.121 4	0.491 4	0.675 7	1.916 7
D5S818	0.704 3	0.911 2	0.088 8	0.435 0	0.734 7	1.691 2
D7S820	0.782 6	0.895 9	0.104 1	0.567 2	0.712 9	2.300 0
D8S1179	0.887 0	0.939 3	0.060 7	0.768 9	0.812 6	4.423 1
FGA	0.852 2	0.964 2	0.035 8	0.699 2	0.854 8	3.382 4
TH01	0.643 5	0.872 4	0.127 6	0.346 3	0.663 5	1.402 4
TPOX	0.634 8	0.796 5	0.203 5	0.334 7	0.576 4	1.369 0
vWA	0.765 2	0.919 8	0.080 2	0.536 2	0.760 9	2.129 6