

用毛细管电泳技术对北京汉族人群 9 个 STR 基因座遗传多态性的研究

裴黎^{1)*} 王俭^{1)*} 季安全¹⁾ 荣辽江²⁾ 王海生³⁾ 邓华¹⁾

(¹⁾公安部第二研究所, 北京 100038; ²⁾内蒙古自治区公安厅, 呼和浩特 010051; ³⁾湖北省公安厅, 武汉 430070)

摘要 为对北京汉族 D3S1358、vWA、FGA、D8S1179、D21S11、D18S51、D5S818、D13S317 及 D7S820 等 9 个 STR 基因座的遗传多态性进行群体遗传学研究, 利用荧光标记复合扩增及毛细管电泳自动荧光检测的方法, 对 236 名无关个体获得 9 个 STR 基因座等位基因的分布频率, 结果均符合 Hardy-Weinberg 平衡. 计算了各基因座的杂合度 (H)、个人识别能力 (DP)、偶合率 (PM)、非父排除率 (EPP) 和多态性信息总量 (PIC) 等群体遗传学数据. 结果表明, 这 9 个 STR 基因座多态性好, 灵敏度高, 可用于人类遗传分析及法医学中的亲子鉴定和个人识别.

关键词 毛细管电泳, 短串联重复序列 (STR), 复合扩增, 群体遗传学

学科分类号 D919.2

毛细管电泳 (CE) 技术是近几年来发展迅速的一种微分离技术, 在对 DNA、蛋白质等生物大分子的分离、检测及分析中将成为一个核心技术, 在生命科学时代具有无限的发展潜力^[1].

短串联重复序列 (short tandem repeat, STR) 具有较高的多态性, 存在于人类基因组 DNA 中, 由 2~7 bp 重复单元构成 DNA 片段, 其重复单元的数目变化显现出长度多态性^[2]. STR 做为类重要的遗传标记系统, 已被广泛用于人类个体识别、亲子鉴定及基因作图. 本文利用四色荧光标记复合扩增及毛细管电泳自动荧光检测的方法, 对 236 名北京汉族无关个体的 D3S1358、vWA、FGA、D8S1179、D21S11、D18S51、D5S818、D13S317 及 D7S820 等 9 个 STR 基因座的遗传多态性进行研究, 获得了北京地区汉族群体 9 个 STR 基因座的分布频率, 计算了各基因座的杂合度 (H)、个人识别能力 (DP)、偶合率 (PM)、非父排除率 (EPP) 和多态性信息总量 (PIC) 等群体遗传学数据.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本: 236 名汉族无关个体的血样, 系本实验室日常检案积累.

1.1.2 仪器: 9600 型 PCR 扩增仪, ABI310 型基因分析仪 (PE 公司).

1.1.3 试剂: Chelex-100 (Bio-Rad 公司), AmpF1STR profiler plus 反应试剂盒, POP-4 液态胶 (PE 公司),

10× 电泳缓冲液 (PE 公司) 和 47 cm × 50 cm 毛细管 (PE 公司).

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取: 上述血样均采用 5% Chelex-100 提取 DNA^[3].

1.2.2 复合扩增: 9 个 STR 基因座的特性见表 1^[4]. 扩增在 10 μl 反应体系中进行. 反应体系包括缓冲液 4 μl, 引物 2 μl, Taq 酶 0.2 μl (5 U/μl), 模板 DNA 1 μl (DNA 1~2.5 ng), 用无菌去离子水补足体系. 热循环参数为 95℃ 11 min; 94℃ 1 min、59℃ 1 min、72℃ 1 min, 28 个循环; 60℃ 45 min.

1.2.3 扩增产物的检测: 12 μl 去离子甲酰胺, 0.2 μl Genescan-500 Rox 内标, 1 μl 扩增产物. 95℃ 变性 3 min 后速置冰水中保温至少 3 min, 47 cm × 50 μm 毛细管, POP-4 液态胶, 恒温 60℃, 电压 15 kV. ABI310 型基因分析仪中自动进行电泳分离并检测. 用 Genescan3.1 和 Genotyper 2.0 分析软件, 以标准阶梯等位基因为标准进行基因分型.

1.2.4 统计学分析: 记录各无关个体 9 个 STR 位点的基因型, 计算基因频率, 并对基因型分布作 χ^2 检验. 据此, 分别计算北京汉族人群 STR 位点各基因座的实际杂合度 (H)、预期杂合度 (H_e)、偶合率 (PM)、非父排除率 (EPP)、多态性信息总量 (PIC)^[5~7].

* 通讯联系人.

¹⁾裴黎和王俭同为第一作者.

Tel: 010-65203230, E-mail: pl128@sina.com.cn

收稿日期: 2002-08-15, 接受日期: 2002-11-20

Table 1 Characteristics of nine STR loci

Loci	Chromosome	Repetitive sequence	bp	Allele
D3S1358	3p	TCTA(TCTG) ₁₋₃ (TCTA) _n	111~ 144	12~ 20
vWA	12p12-pter	TCTA(TCTG) ₃₋₄ (TCTA) _n	163~ 191	13~ 20
FGA	4q28	(TTC) ₃ TTTT TTCT (CTTT) _n CTCC(TTCC) ₂	214~ 257	17. 2~ 28
D8S1179	8	(TCTR) _n R	123~ 126	8~ 18
D21S11	21	(TCTA) _n (TCTG) _n [(TCTA) ₃ TA(TCTA) ₃ TCA(TCTA) ₂ TCCA TA](TCTA) _n	201~ 231	28~ 35. 2
D18S51	18q21. 3	(AGAA) _n	283~ 334	12~ 24
D5S818	5q21-31	(AGAT) _n	131~ 161	7~ 14
D3S317	13q22-31	(GATA) _n	201~ 229	7~ 14
D7S820	7q11. 21-22	(GATA) _n	252~ 289	7~ 14

2 结果与讨论

用毛细管电泳和荧光标记复合扩增的方法对

236 名无关北京汉族人群进行 D3S1358、vWA、FGA、D8S1179、D21S11、D18S51、D5S818、D13S317 及 D7S820 等 9 个 STR 基因座遗传多态性

Table 2 Distribution of genotypes and allele frequencies of nine STR loci in Han Chinese of Beijing

D3S1358		vWA		D5S818		D13S317		D7S820	
Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency
12	0. 002 1	13	0. 002 1	7	0. 019 1	7	0. 008 5	7	0. 002 1
								8	0. 161 0
13	0. 004 2	14	0. 182 6	8	0. 008 5	8	0. 226 7		
14	0. 059 3	15	0. 019 8	9	0. 072 0	9	0. 169 5	9	0. 055 2
15	0. 334 0	15. 2	0. 002 1	10	0. 203 4	10	0. 156 8	10	0. 161 0
16	0. 306 5	16	0. 196 8	11	0. 324 2	11	0. 243 6	11	0. 319 9
17	0. 207 2	17	0. 258 8	12	0. 230 8	12	0. 133 5	12	0. 247 9
18	0. 074 0	18	0. 177 2	13	0. 122 9	13	0. 052 9	13	0. 048 7
19	0. 008 5	19	0. 139 4	14	0. 019 1	14	0. 008 5	14	0. 004 2
20	0. 004 2	20	0. 021 2						
Total	1. 000		1. 000		1. 000		1. 000		1. 000
FGA		D21S11		D8S1179		D18S51			
Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency		
17. 2	0. 004 2	28	0. 033 7	8	0. 008 5	12	0. 038 7		
18	0. 029 4	28. 2	0. 004 2	10	0. 114 4	13	0. 207 2		
18. 2	0. 004 2	29	0. 253 0	11	0. 076 3	14	0. 221 6		
19	0. 056 6	29. 2	0. 004 2	12	0. 120 8	14. 2	0. 002 1		
20	0. 044 2	30	0. 277 4	13	0. 203 4	15	0. 154 6		
21	0. 086 3	30. 2	0. 014 6	14	0. 205 5	16	0. 110 2		
21. 2	0. 006 3	30. 3	0. 004 2	15	0. 197 0	17	0. 086 3		
22	0. 172 5	31	0. 125 0	16	0. 067 8	18	0. 044 2		
22. 2	0. 004 2	31. 2	0. 082 5	17	0. 004 2	19	0. 051 6		
23	0. 216 6	32	0. 014 8	18	0. 002 1	20	0. 023 7		
23. 2	0. 018 9	32. 2	0. 112 3			21	0. 027 8		
24	0. 183 2	33	0. 010 6			22	0. 025 7		
25	0. 110 2	33. 2	0. 048 7			23	0. 004 2		
25. 2	0. 004 2	34. 2	0. 006 4			24	0. 002 1		
26	0. 042 4	35	0. 004 2						
27	0. 014 6	35. 2	0. 004 2						
28	0. 002 1								
Total	1. 000		1. 000		1. 000		1. 000		

$n = 236$.

研究, 从中分别发现 9、9、17、10、16、14、8、8、8 个等位基因, 扩增片段长度均在 100~ 350 bp 之间, 便于检测. 9 个 STR 基因座发现的基因型分别为 19、26、55、33、47、52、24、26、23 个, 所有基因座的基因型分布已经 χ^2 检验, 结果均符

合 Hardy-Weinbrge 平衡 (表 2).

每个基因座的实际杂合度 (H)、预期杂合度 (He)、偶合率 (PM)、非父排除率 (EPP)、多态性信息总量 (PIC) 的详细数据见表 3.

Table 3 Heterozygosity, expected heterozygosity discrimination power, probability of matching excluding probability of paternity and polymorphic information content of nine STR loci in Han population in Beijing

Loci	H	He	DP	PM	EPP	PIC
D3S1358	0.783 8	0.744 3	0.889 7	0.110 3	0.560 9	0.738 3
VWA	0.832 5	0.827 2	0.944 9	0.055 1	0.638 8	0.815 6
FGA	0.855 9	0.863 6	0.960 8	0.039 2	0.697 7	0.860 5
D8S1179	0.864 4	0.841 2	0.926 8	0.073 2	0.716 4	0.830 8
D21S11	0.839 8	0.813 2	0.943 1	0.056 9	0.669 8	0.813 8
D18S51	0.860 2	0.812 8	0.964 5	0.035 5	0.725 4	0.852 4
D5S818	0.780 0	0.780 8	0.918 1	0.081 9	0.615 4	0.756 4
D13S317	0.822 0	0.816 9	0.939 7	0.060 3	0.667 8	0.805 6
D7S820	0.796 6	0.780 6	0.918 1	0.081 9	0.612 2	0.811 9
Accumulate	0.826 1	0.809 0	0.999 999 999 9	$0.142 48 \times 10^{-12}$	0.999 938 9	0.999 999 722

由表 3 看出: 实际杂合度在 0.775 4~ 0.864 4; DP 值在 0.889 7~ 0.964 5, 累计 DP 值达 0.999 999 999 9; PM 在 0.035 5~ 0.110 3, 累计 PM 值达 $0.142 48 \times 10^{-12}$; EPP 在 0.560 9~ 0.725 4, 累计 EPP 值达 0.999 938 9; PIC 值在 0.738 3~ 0.860 5, 累计 PIC 值达 0.999 999 722. 按文献 [8] 标准, $DP \geq 0.9$, $H \geq 0.7$ 的基因座是高鉴别能力遗传体系, 在本研究中的 9 个基因座均属高鉴别力、高杂合度、高信息量的基因座 ($H \geq 0.78$ 、 $DP \geq 0.9$ 、 $PIC \geq 0.756 4$). 其中 FGA 位点发现的等位基因数最多、基因型数最多、 H 、 DP 及 PIC 的指标也最高. 这 9 个 STR 基因座均适合法医学的应用.

本研究所用的 9 个 STR 基因座均为四联体, 结构稳定, 使用价值高, 所有基因座的累计 PM 值达 $0.142 48 \times 10^{-12}$, 远低于 10^{-9} , 用这 9 个 STR 基因座进行个体识别时, 可作为“认定”的依据, 其认定率可达 99.999 9%.

对本研究所得数据进行分析, 发现和国内不同区域人群分布比较有一定的差异^[4], 如与浙江汉族人群比较, 主要表现在某一位点最高频率的等位基因重复单位数和/或基因频率的差异, 如 D13S317* 11 (0.243 6), 而浙江人群为 D13S317* 8 (0.330 0). 同时还出现浙江人群中未检见的

等位基因, 如 D3S1358-12 (0.002 1)、vWA-13 (0.002 1)、FGA-17.2 (0.004 2)-22.2 (0.004 2)-28 (0.002 1)、D21S11-35 (0.004 2)、D18S5123- (0.004 2)、D5S818-8 (0.008 5)、D13S317-7 (0.008 5), 这些基因频率都很低, 属于稀有基因, 是否为北方人群所特有, 有待进一步研究.

本研究采用了毛细管电泳技术和荧光复合扩增的方法, 将 9 对引物于一个试管内同时进行扩增, 充分利用了检材的 DNA. 另外, 在毛细管的单一泳道内, 四色荧光标记的扩增产物与内标同时电泳, 仪器自动进样, 自动荧光分析, 减少了扩增产物的用量、人工制胶的繁琐过程以及人为操作引起的误差, 从而显示了毛细管电泳的优势所在. 毛细管电泳检测一个样本仅需 30 min, 经与阶梯等位基因比对进行基因分型, 结果准确、客观、可靠、便于保存, 适合法医实际检案工作的需要.

参 考 文 献

- 1 中国法医学会. 中国法医学最新科研与实践. 北京: 中国人民公安大学出版社, 2000. 270~ 277
The Forensic Medicine Association of China. The newest researches and practices of Chinese forensic. Beijing: Chinese People's Public Security University Press, 2000. 270~ 277
- 2 裴 黎, 邓 华, 张丽君, 等. 毛细管电泳-短小串联重复序列多态性方法及对人凝血因子 XIII STR 位点的检测. 生物化学与生物物理进展, 2002, 29 (3): 460~ 463

- Pei L, Deng H, Zhang L J, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2002, 29 (3): 460~ 463
- 3 Walsh Ps, Metzgar D A, Higuchi R. Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. Biotechniques, 1991, 10 (4): 506~ 513
- 4 吴微微, 徐林苗, 朱虹辉, 等. 浙江汉族人群 9 个 STR 基因座的遗传多态性调查. 中国法医学杂志, 2001, 16 (1): 38~ 40
- Wu W W, Xu L M, Zhu H H, *et al.* Chinese Journal of Forensic Medicine, 2001, 16 (1): 38~ 40
- 5 Guo S W, Thompson E A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple allele. Biometrics, 1992, 48 (2): 361~ 372
- 6 Ohno Y, Sebetan I M, Akaishi A. A simple method for calculating the probability of excluding paternity with any number of codominant allele. Forensic Sci Int, 1982, 19 (1): 93~ 98
- 7 Bostein D, White R L, Skolnich M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. Am J Hum Genet, 1980, 32 (3): 314~ 331
- 8 Gill P. A new method of STR interpretation using inferential logic development of a criminal intelligence database. Int J Leg Med, 1996, 109 (1): 14~ 22

A Study Using Capillary Electrophoresis in Genetic Polymorphism of 9 STR Loci in Han Population of Beijing

PEI Li^{1)*}, WANG Jian^{1)*}, JI An-Quan¹⁾, RONG Liao-Jiang²⁾, WANG Hai-Sheng³⁾, DENG Hua¹⁾

¹⁾ Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing, 100038, China;

²⁾ Bureau of NeiMengGu Public Security, Huhehaote 010051, China;

³⁾ Institute of Forensic Science and Technology, Bureau of Hubei Public Security, Wuhan 430070, China)

Abstract Totally 236 unrelated individuals from majority population of Han Chinese in Beijing have been inspected with 9 polymorphism STR loci D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820 by means of capillary electrophoresis and fluorescence multiple amplification. The results indicated a good correspondence with the Hardy-Weinberg equilibrium. Observed heterozygosity, expected heterozygosity, *DP*, *PM*, *EPP*, and *PIC* were calculated for evaluation of forensic application.

Key words capillary electrophoresis, short tandem repeat, multiplex amplification, population genetics

* Corresponding author. ¹⁾ These two authors contributed equally to this work.

Tel: 86-10-65203230, E-mail: pl128@sina.com.cn

Received: August 15, 2002 Accepted: November 20, 2002