

DOI: 10.16359/j.cnki.cn11-1963/q.2015.0040

# 广西毛南族 DXS7133、DXS8378、DXS6789 和 DXS7423 基因座遗传多态性

周丽宁<sup>1</sup>, 龚继春<sup>1</sup>, 伦军<sup>1</sup>, 邓琼英<sup>1</sup>, 覃耀春<sup>2</sup>

1. 广西医科大学人体解剖学教研室, 南宁 530021; 2. 广西医科大学公共卫生学院, 南宁 530021

**摘要:** 采用PCR-STR及基因分型技术,对广西毛南族167名(女57,男110)健康无关个体4个X-STR基因座(DXS7133、DXS8378、DXS6789和DXS7423)的遗传多态性进行研究。结果显示4个X-STR基因座分别检出4、5、9、3个等位基因和5、9、18、5种基因型,4个X-STR基因座女性的基因型频率分布均符合Hardy-Weinberg平衡定律( $P>0.05$ )。群体遗传多态性指标为:多态信息含量(PIC)0.9611、男性个体识别率( $DP_{male}$ )0.9771、女性个体识别率( $DP_{female}$ )0.9980、父-母-女三联体非父排除率( $MEC_{trio}$ )0.9611、父-女二联体非父排除率( $MEC_{duo}$ )0.8821,显示上述4个X-STR基因座均具有较高多态性,在法医学个人识别、亲权鉴定及群体遗传学研究中有重要应用价值,同时也为人类群体遗传学、法医学等研究提供了广西毛南族群体X-STR基因座的基础数据,丰富了中华民族基因数据库。

**关键词:** X染色体;短串联重复序列;遗传多态性;遗传距离;广西毛南族

中图分类号:Q987;文献标识码:A;文章编号:1000-3193(2015)03-0397-07

## Genetic of DXS7133, DXS8378, DXS6789 and DXS7423 in the Maonan Ethnic Group from Guangxi Province

ZHOU Lining<sup>1</sup>, GONG Jichun<sup>1</sup>, LUN Jun<sup>1</sup>, DENG Qiongying<sup>1</sup>, QIN Yaochun<sup>2</sup>

1. Department of Anatomy, Guangxi Medical University, Nanning 530021;

2. College of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021

**Abstract:** To determine the genetic polymorphism of four X-STR loci among 167 unrelated individuals (57 female, 110 male) for Maonan groups from Guangxi Province, DXS7133, DXS8378, DXS6789 and DXS7423 were genotyped by multiplex PCR and Genscan. The numbers of alleles in the four X-STR loci were 4, 5, 9 and 3, respectively; the numbers of genotypes in the four loci were 5, 9, 18 and 5, respectively. The genotype frequencies in females were in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium ( $P>0.05$ ). The combined polymorphism

收稿日期:2013-10-18;定稿日期:2014-05-23

基金项目:广西自然科学基金项目(2010GXNSFA013164)

作者简介:周丽宁(1970-),女,广西壮族自治区梧州藤县人,广西医科大学副教授,硕士,主要从事人类学及群体遗传学研究。E-mail: liningzhgx@163.com

通讯作者:覃耀春(1967-),男,广西壮族自治区贵港市人,硕士, E-mail: qycgx5888@163.com

**Citation:** Zhou LN, Gong JC, Lun J, et al. Genetic of DXS7133, DXS8378, DXS6789 and DXS7423 in the Maonan Ethnic Group from Guangxi Province[J]. Acta Anthropologica Sinica, 2015, 34(3): 397-403

information content (PIC) was 0.9611, power of discrimination (DP) was 0.9771 in males and 0.0.9980 in females, and the combined mean exclusion chance (MEC) was 0.0.9611 in the trio cases and 0.8821 in the duo cases. The 4 X-STR loci were highly polymorphic in Guangxi Maonan population and it is powerful for individual identification, paternity testing and population genetics. As well as the human population genetics and forensic science research offers Guangxi Maonan group X-STR loci of basic data, enrich the genetic database of the Chinese nation.

**Key words:** X-chromosome; Short tandem repeats; Genetic polymorphism; Genetic distance; Guangxi Maonan ethnic group

短串联重复序列 (Short tandem repeats, STR) 由于具有高度多态性, 信息含量高, 检测简便、快捷等优点, 因此在遗传连锁图谱绘制、疾病相关基因定位、克隆以及群体遗传学、法医学等领域具有重要的应用价值。而来自 X 染色体的 STR (X chromosome, X-STR) 基因座由于其具有独特的伴性遗传特征, 引起了相关领域特别是法医学领域工作者的重视, 并且已经应用在某些特殊和复杂的法医学鉴定案例中, 比如父女关系的单亲亲权鉴定、缺乏双亲的同父异母的半姐妹及隔代亲缘关系认定等方面, 具有其他染色体无法比拟的优势<sup>[1]</sup>, 是常染色体和 Y 染色体 STR 基因座的重要补充, 而且在 X 连锁遗传病的基因诊断和基因定位以及人类学研究中具有重要意义。

然而, 目前研究的 X-STR 基因座数量有限, 其群体分布、突变率、连锁平衡和基因结构变异等方面的信息也不够丰富, 因此, 寻求适合我国不同民族的特异性 X-STR 基因座, 进而对更多群体的 X-STR 基因座多态性进行研究是有必要的<sup>[2]</sup>。本研究选取的广西毛南族人群来自广西壮族自治区环江县, 为广西的土著民族之一, 与当地其他各族群之间相对隔离, 历史背景及地理环境特殊, 是进行人类基因组多样性研究的理想人群。因此, 本文通过分子生物学技术, 探讨广西毛南族群体 4 个 X-STR 基因座的遗传多态性, 可为人类群体遗传学、法医学等研究提供广西毛南族群体 X-STR 基因座的基础数据, 丰富中华民族基因数据库。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验样本

根据“知情同意”原则, 采集广西环江三代以上均为毛南族的 167 名 (女 57, 男 110) 无关个体的静脉血样各约 0.1ml, 滴入滤纸, 干燥后常温保存。

### 1.2 试剂与仪器

AGCU X12 STR 荧光检测试剂盒 (无锡中德美联公司), 9700 型扩增仪和 3130 型遗传分析仪 (美国 AB 公司)。

### 1.3 X-STR 分型

打孔器取得血斑样本后, 采用 10 $\mu$ L 体积进行 PCR 扩增, 体系组成为: 基因组 DNA 1.0mm 孔径滤纸, Reaction Mix 4.0 $\mu$ L, Primers 2.0 $\mu$ L, 热启动 C-Taq 酶 0.3 $\mu$ L, sdH<sub>2</sub>O 补水至 10.0 $\mu$ L。PCR 条件为: 预变性 95 $^{\circ}$ C 2min; 94 $^{\circ}$ C 60s, 58 $^{\circ}$ C 60s, 72 $^{\circ}$ C 60s, 30 个循环; 60 $^{\circ}$ C 60min; 4 $^{\circ}$ C 保温。PCR 产物变性后在 3130 型遗传分析仪上进行毛细管电泳, 用 GeneMapper ID v3.2 软件对基因座 DXS7133、DXS8378、DXS6789、DXS7423 和性别基因座 Amelogenin 进行分型。分别采用 X-Allelic Ladder 和 AGCU Marker SIZ-500 作为等位基因阶梯和荧光分子量内标。

### 1.4 数据统计分析

采用直接计数法观察 4 个基因座的等位基因频率和基因型频率, 利用在线软件 (<http://www.chrx-str.org>) 计算多态信息含量 (polymorphism information content, PIC)、男性个体识别力 (discrimination power in males, DP<sup>M</sup>)、女性个体识别力 (discrimination power in females, DP<sup>F</sup>)、父-母-女三联体非父排除率 (mean exclusion chance in standard trios involving daughters, MEC<sup>trio</sup>)、父-女二联体非父排除率 (mean exclusion chance in father/daughter duos, MEC<sup>duo</sup>)<sup>[3]</sup>。采用  $\chi^2$  检验对女性基因型频率进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验。用 Phylip3.69 统计不同群体之间的 Nei 氏遗传距离, 并根据该遗传距离用 MEGA 5.0 软件构建系统进化树 (UPGMA 法)。

## 2 结果与分析

### 2.1 等位基因频率分布

167 名广西毛南族无关个体中, DXS7133、DXS8378、DXS6789 和 DXS7423 等 4 个 X-STR 基因座分别检出 4、5、9、3 个等位基因, 等位基因频率分布见表 1。

### 2.2 基因型频率分布

57 名广西毛南族女性样本中, DXS7133、DXS8378、DXS6789 和 DXS7423 等 4 个 X-STR 基因座分别检出 5、9、18、5 个基因型, 各基因型分布见表 2。经  $\chi^2$  检验, 各基因座基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 群体多态性指标

广西毛南族 4 个 X-STR 基因座的群体遗传多态性指标计算结果见表 3。

### 2.4 群体间遗传距离及系统进化树

根据本实验获得的 4 个 X-STR 基因座等位基因频率计算广西毛南族与云南纳西族<sup>[4]</sup>、内蒙古达斡尔族<sup>[5]</sup>、西藏藏族<sup>[6]</sup>、湖南土家族<sup>[7]</sup> 五个少数民族之间及其与潍坊汉族<sup>[8]</sup>、浙江汉族<sup>[9]</sup> 之间的 Nei's 遗传距离, 结果见表 4。基于 Nei's 遗传距离所构建的系统进化树见图 1。

表 1 广西毛南族人群 4 个 X-STR 基因座的等位基因频率分布  
**Tab.1 Allele frequency distribution of the X-STR loci of Maonan nationality in Guangxi**

基因座 locus	等位基因 allele	等位基因频率 allelic frequency			基因座 locus	等位基因 allele	等位基因频率 allelic frequency		
		男性 male	女性 female	总体 population			男性 male	女性 female	总体 population
DXS7133	8	0.0091	—	0.0045	DXS6789	15	0.1273	0.2193	0.1741
	9	0.7818	0.7719	0.7768		16	0.0351	0.3684	0.3839
	10	0.1636	0.1842	0.1741		17	0.2982	0.0175	0.0268
	11	0.0455	0.0439	0.0446		18	0.0182	0.0175	0.0179
DXS8378	9	0.0182	0.0175	0.0179	19	0.0091	0.0175	0.0134	
	10	0.4273	0.5088	0.4688	20	0.2364	0.1754	0.2054	
	11	0.2364	0.2982	0.2679	21	0.1091	0.1228	0.1161	
	12	0.2182	0.1579	0.1875	22	0.0455	0.0614	0.0536	
	13	0.0091	0.0175	0.0134	23	0.0182	—	0.0089	
				DXS7423	14	0.4364	0.3860	0.4107	
					15	0.5000	0.5789	0.5402	

表 2 4 个 X-STR 基因座在毛南族女性中基因型的分布  
**Tab.2 Genotype of the X-STR loci of the woman Maonan nationality in Guangxi**

DXS7133		DXS8378		DXS6789		DXS7423	
基因型 genotype	数量 quantity	基因型 genotype	数量 quantity	基因型 genotype	数量 quantity	基因型 genotype	数量 quantity
9-9	34	9-10	2	15-15	3	14-14	8
9-10	16	10-10	14	15-16	8	14-15	25
9-11	4	10-11	20	15-17	1	14-16	3
10-10	2	10-12	7	15-18	1	15-15	19
10-11	1	10-13	1	15-20	3	15-16	2
		11-11	2	15-21	3		
		11-12	9	15-22	3		
		11-13	1	16-16	8		
		12-12	1	16-19	1		
				16-20	8		
				16-21	8		
				16-22	1		
				17-21	1		
				18-21	1		
				19-20	1		
				20-20	3		
				20-22	1		
				21-22	2		
合计 total 5	57	9	57	18	57	5	57
<i>P</i> =0.9950		<i>P</i> =0.2357		<i>P</i> =0.1533		<i>P</i> =0.5219	

表 3 广西毛南族群体 4 个 X-STR 基因座群体遗传多态性指标

Tab.3 The statistical indexes of 4 X-STR loci of Maonan nationality in Guangxi

基因座 locus	H	PIC	PD <sup>F</sup>	PD <sup>M</sup>	MEC <sub>trio</sub>	MEC <sub>duo</sub>
DXS7133	0.3643	0.3251	0.5567	0.3643	0.3251	0.2026
DXS8378	0.6728	0.6204	0.8406	0.6728	0.6204	0.4745
DXS6789	0.7625	0.7308	0.9118	0.7625	0.7308	0.5973
DXS7423	0.5371	0.4364	0.6851	0.5371	0.4364	0.3012
Combined		0.9611	0.9980	0.9771	0.9611	0.8821

表 4 遗传距离计算结果

Tab.4 The result of figuring genetic distance

群体 groups	广西毛南 Guangxi Maonan	云南纳西 Nakhi in Yunnan	内蒙古达斡尔 Daur in Inner Mongolia	西藏藏族 Tibetan	潍坊汉族 Han in Weifang	浙江汉族 Han in Zhejiang
云南纳西 Nakhi in Yunnan	0.1212					
内蒙古达斡尔 Daur in Inner Mongolia	0.2665	0.3948				
西藏藏族 Tibetan	0.1072	0.0615	0.2470			
潍坊汉族 Han in Weifang	0.0211	0.1076	0.2346	0.0630		
浙江汉族 Han in Zhejiang	0.0060	0.2036	0.2481	0.0938	0.0116	
湖南土家 Hunan Tujia	0.1751	0.0678	0.2930	0.1230	0.1780	0.1759

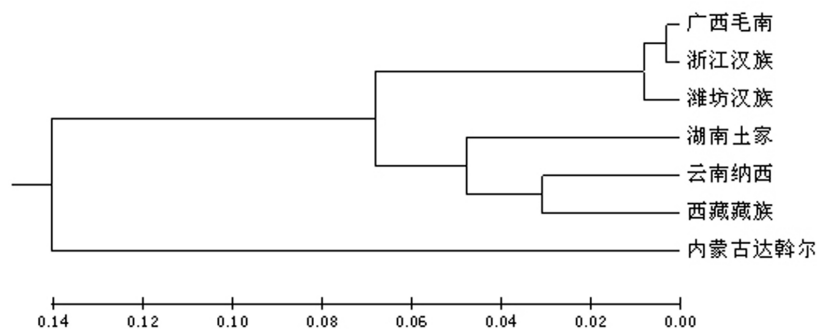


图 1 七个群体的系统进化树

Fig.1 The result of clustering

### 3 讨论

#### 3.1 广西毛南族群体 4 个 X-STR 基因座的遗传多态性分析

广西环江县毛南族是中国人口较少的山地民族之一, 来源于唐、宋时期的土著民族,

称为“僚人”。他们大部分居住在以茅难山为中心的广西环江县上南、中南、下南一带，少部分居住在南丹、都安等县。广西毛南族使用毛南语，属汉藏语系壮侗语族侗水语支，他们在长期的生活中形成了自己的遗传特征。本次对广西毛南族采用的 4 个 X-STR 基因座，覆盖了 X 染色体的长臂和短臂，均为四核苷酸重复，PCR 扩增结果稳定，得到的实验结果的准确、可靠。经检测，在广西毛南族群体中，4 个 X-STR 基因座共检出 21 个等位基因，等位基因频率分布在 0.0045 ~ 0.7768 之间（表 1），男女性高频基因出现位点除 DXS6789 不同外，其他三个基因座男女性相同，DXS7133 基因座为 A9（男性 0.7818，女性 0.7719），DXS8378 基因座为 A10（男性 0.4273，女性 0.5088），DXS7423 基因座为 A15（男性 0.5000，女性 0.5789），而 DXS6789 基因座男性 A20 最高为 0.2364，女性 A16 最高为 0.3684。该 4 个 X-STR 基因座在 57 名广西毛南族女性中分别检测出 5、9、18、5 种基因型（见表 2），且各基因座基因型频率分布经  $\chi^2$  检验均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律（ $P>0.05$ ），说明了本次调查资料的准确性和可靠性。

从衡量遗传标记的多态性程度及其应用价值的杂合度 (H)、多态信息量 (PIC)、个体识别力 (DP) 和非父排除率 (MEC) 等指标显示，在 167 名广西毛南族无关个体 4 个 X-STR 基因座中，DXS7133 基因座杂合度分别为 0.3643，多态信息量为 0.3251，女性个体识别力 0.3643，总体显示较低，但均符合较高遗传多态性要求<sup>[10]</sup>。其余 3 个基因座的群体遗传多态性指标均较高，其中 DXS6789 基因座各项多态性指标最高，杂合度、多态信息含量、个体识别力分别是 0.7625、0.7308、0.9118（女性）和 0.7625（男性）。这表明在广西毛南族群体的 4 个 X-STR 基因座中，除 DXS7133 多态性相对较低外，均属于高度多态性遗传标记。该 4 个 X-STR 基因座的累计效能 PIC 为 0.9611， $PD^F$  为 0.9980， $PD^M$  为 0.9771，三联体 MEC 为 0.9611，二联体 MEC 为 0.8821，基本可以满足法医学应用和群体遗传学等研究的要求。比较广西毛南族男女两组 X-STR 的法医学评估参数后表明，本研究所检测的 4 个 X-STR 基因座的  $PD^F$  均大于  $PD^M$ ，表明 X-STR 在应用时，女性较男性能提供更多的遗传信息。

### 3.2 民族间的比较

由于国内外对人类 X-STR 基因座的研究开展得都较少，特别是广西及周边地区的更是少之又少，因此缺乏可以利用地缘关系较密切的理想研究样本来探讨广西毛南族人群与周边其他民族人群之间的亲缘关系。本文利用在国内对相同基因座研究报告较多的湖南土家族、云南纳西族、西藏藏族、内蒙达斡尔族等四个少数民族和浙江汉族、潍坊汉族进行比较，计算民族之间的遗传距离，并加以聚类分析，对广西毛南族与该 6 个民族人群的亲缘关系进行初步探讨。结果显示，广西毛南族与浙江汉族遗传距离最小，为 0.0060；与潍坊汉族的传距离次之，为 0.0211；而与内蒙达斡尔族的遗传距离最远，为 0.2665。根据计算得到的 Nei 氏遗传距离，利用 MEGA 5.0 构建这 7 个民族的系统进化树，结果显示，广西毛南族首先和浙江汉族、潍坊汉族同属为一类，但这是否说明广西毛南族群体与浙江汉族、潍坊汉族群体的亲缘关系较为密切，有待进一步调查研究。

### 3.3 X-STR 基因座遗传多态性应用的初步探讨

短串联重复序列 (Short tandem repeat, STR) 由于具有高度多态性，信息含量高，检测



简便、快捷等优点,因此 STR 在遗传连锁图谱绘制、疾病相关基因定位、克隆以及群体遗传学、法医学等领域具有重要的应用价值。人类 X 染色体是一个中等大小的亚中着丝粒染色体,短臂较长,中央部有一个大的深带 p21,长臂近侧有一个很宽着色深带 q21,随后 3 个较小的着色中度的带 q23、q25、q27<sup>[11]</sup>。女性是 XX 型,有两条 X 染色体;而男性是 XY 型,只有 1 条 X 染色体,所以在遗传过程中,X 染色体上的遗传标记具有伴性遗传的特征,表现为性连锁遗传,以单倍体形式遗传给后代,即母亲的 X 染色体可以遗传给女儿和儿子,而父亲的 X 染色体只能遗传给女儿。X-STR 是指位于 X 染色体上的一些短串联重复序列,绝大多数 STR 位于非编码区,不受选择压力的影响,具有丰富的遗传多态性。

通常情况下,法医学领域在进行亲权鉴定时采用的是常染色体的遗传标记,对发生于父亲和儿子之间亲缘关系可以用 Y-STR 来验证,然而对于在某些特殊和复杂的法医学鉴定案例中,比如父女关系的单亲亲权鉴定、缺乏双亲的同父异母的亲姐妹<sup>[12]</sup>及隔代亲缘关系认定<sup>[13]</sup>等,常染色体和 Y 染色体无法分辨的血缘关系时,X-STR 基因座因其独特的伴性遗传方式使之具有无法比拟的优势,成为除常染色体和 Y 染色体外在该领域的重要补充,并且在 X 连锁遗传病的基因诊断和基因定位以及人类学研究中亦具有重要意义。

但与其他遗传标记的研究现状相比,世界各国各地区的科技工作者在该领域的研究较少,而且研究成果均以分散式的零星报道为主,因此没有足够的资料来将各国各地区的研究成果进行分析整合,所以没有得到一个人类 X-STR 基因座全球性或地域性的群体遗传学结论,以至于在关于人类起源,人口迁移等的研究中,该类基因只能作为一个辅助的研究工具来使用。

## 参考文献

- [1] Szibor R, Krawczak M, Hering S, et al. Use of X-linked markers for forensic purposes [J]. *Int J Legal Med*, 2003, 117: 67-74
- [2] Szibor R, Hefing S, Edelmann J, et al. A new web site compiling forensic chromosome X research is now online[J]. *Int J Legal Med*, 2006, 120: 252-254
- [3] Desmarais D, Zhong Y, Charkraborty R. Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene(HUMARA)[J]. *Forensic Sci*, 1998, 43(5): 1046-104
- [4] 陈腾, 辛娜, 朱俊艳, 等. 云南纳西族 10 个 X-STR 基因座遗传多态性研究 [J]. *遗传*, 2007, 29(2): 180-184
- [5] 侯巧芳, 高放, 桂宏胜, 等. 达斡尔民族 X 染色体遗传多态性与亲缘的关系 [J]. *第四军医大学学报*, 2007, 28(11): 1045-1048
- [6] 高雅, 金天博, 余兵, 等. 藏族 X 染色体 10 个 STR 位点的遗传多样性 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2006, 23(1): 97-99
- [7] 韩卫, 杨丽, 桂宏胜, 等. 湖南土家族群体 X 染色体 10 个 STR 位点的遗传多态性及法医学应用价值评估 [J]. *遗传*, 2008, 30(5): 568-574
- [8] 王新杰, 吴启波, 许欣, 等. 潍坊汉族男性 15 个 X-STR 基因座遗传多态性 [J]. *中国法医学杂志*, 2010, 25(5): 353-355
- [9] 吴微微, 郝宏蕾, 周怀谷, 等. 浙江汉族人群 12 个 X-STR 基因座遗传多态性调查 [J]. *刑事技术*, 2011, (1): 7-12
- [10] 陈艳娟, 陈峰, 辛娜, 等. 中国甘肃裕固族 X-STR 遗传多态性及其应用研究 [J]. *遗传*, 2008, 30(9): 1143-1152
- [11] 吕梅励, 吴梅筠, 梁伟波, 等. X 染色体与性别鉴定 [J]. *刑事技术*, 2004, (1): 37-39
- [12] Pinto N, Gusmao L, Amorim A. X-Chromosome markers in kinship testing: a generalisation of the IBD approach identifying situations where their contribution is crucial [J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2010, 5(1): 27-32
- [13] 张胤鸣, 刘素娟, 吴小洁, 等. X-STR 分型用于祖孙关系鉴定 1 例 [J]. *法医学杂志*, 2012, 28(3): 236-237