

## 汉族人群 Y 染色体多拷贝基因座 DYS464 遗传多态性

黄艳梅<sup>1,2</sup>, 区敬华<sup>1</sup>, 朱伟锋<sup>1</sup>, 曾艳红<sup>1</sup>, 伍新尧<sup>1</sup>

( 1.中山大学基础医学院法医学系, 广东 广州 510080; 2.新乡医学院基础医学院, 河南 新乡 453000 )

**摘要:**【目的】研究 Y 染色体多拷贝基因座 DYS464 遗传多态性在汉族群体中的分布规律。【方法】选择 106 例汉族无血缘关系男性个体作为研究对象, 荧光标记引物 PCR 扩增 DYS464 基因座片段, ABI377 自动测序仪上变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分析 PCR 产物, 并对不同重复序列分别测序。【结果】DYS464 基因座在 106 例汉族男性无关个体中发现有 8 种片段, 变异 11~18 次。根据其中任意 4 种片段的组合, 即片段大小和峰高的比率来命名等位基因, E-型命名方法, 观察到 61 种等位基因, 其中 36 种等位基因只出现 1 次。基因多样性和个体识别力分别为 0.9853 和 0.9760, 比目前报道的单个 Y-STR 基因座的多态性都高。【结论】多拷贝基因座 DYS464 具有高度多态性, 非常适于法医学实践和人类进化的研究。

**关键词:** Y 染色体; DYS464; 短串联重复序列; 遗传多态性; 法医学

**中图分类号:** Q987 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-3554(2006)01-0055-04

## Genetic Polymorphism of Multi-copy Y Chromosomal Short Tandem Repeat Marker DYS464 in Han Population

HUANG Yan-mei<sup>1,2</sup>, OU Jing-hua<sup>1</sup>, ZHU Wei-feng<sup>1</sup>, ZENG Yan-hong<sup>1</sup>, WU Xin-yao<sup>1</sup>( 1.Department of Forensic Biology, Preclinical Medical School, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2.Preclinical School, Xinxiang Medical College<sup>2</sup>, Xinxiang 453000, China )

**Abstract:**【Objective】To investigate the genetic polymorphism and distribution of Y chromosomal marker DYS464 locus in Chinese Han population. 【Methods】A total of 106 unrelated Han men were selected. The fragments of DYS464 locus were amplified with florescent primers. The PCR products were typed and different repeat fragments were sequenced respectively using denaturing polyacrylamide gels electrophoresis on ABI377 Primer sequencer. 【Results】Among 106 unrelated Han males, 8 fragments, with variable repeats from 11~18 units, were found. According to the combination of different fragments, i.e. different length and peak height ratios of amplified fragments, E-typing method, 61 alleles were identified. Out of them 36 alleles were observed once only. The gene diversity (GD) and the discriminating power (DP) were 0.9853 and 0.9760, respectively, both of which were higher than that of the currently reported single Y-STR loci. 【Conclusion】Multi-copy locus DYS464 is a highly polymorphic marker and useful for applying to forensic science and human evolution study.

**Key words:** Y-chromosome; DYS464; Short tandem repeat; Genetic polymorphism; Forensic medicine

[J SUN YAT-sen Univ(Med Sci),2006,27(1): 55-58]

人类男性的 Y 染色体呈男性伴性遗传, 除拟常染色体区外, 95% 的区域在有丝分裂中不与 X 染色体发生交换重组, 以单倍体的形式由父亲遗传给儿子。Y 染色体遗传标记尤其是其中的短串联重复序列(Y-STR) 已经成为法医学实践和人类进化研究中非常有用的手段<sup>[1,2]</sup>, 可用于混合斑中男性成分的个体识别, 父系男性亲属的亲权鉴定。本文

报道 Y 染色体上多拷贝基因座 DYS464 在河南汉族群体中的遗传多态性。

## 1 材料和方法

## 1.1 材料

106 名汉族无血缘关系男性个体, 10 例父子对

收稿日期: 2005-04-05

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(07-128)

作者简介: 黄艳梅(1971-), 女, 河南新乡人, 讲师, 博士; 伍新尧, 教授, 博士生导师, 通讯作者。E-mail: xyaw@gzsums.edu.cn

和 2 例 3 代父系家庭男性成员的血样本均取自河南省南阳地区, 采用常规酚/氯仿方法提取基因组 DNA。

1.2 引物及 PCR 扩增条件

DYS464 基因座引物序列 [3]: DYS464F: 5'-FAM-CTTTGGGCTATGCCTCAGTTT-3', DYS 464R: 5'-GCCATACCTGGGTAACAGAGAGAC-3', 由上海博亚生物工程有限公司合成。PCR 扩增液 25 μL, 含引物 100 μmol/L, dNTP 300 μmol/L, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L, KCl 50 mmol/L, 10 mmol/L Tris-HCl (pH = 8.3), Taq Plus DNA 聚合酶 1 U(北京, 鼎国生物公司), 基因组 DNA 10~40 ng。热循环参数: 预变性 95 °C 5 min 后, 94 °C 45 s, 60 °C 45 s, 72 °C 45 s, 40 个循环, 再 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。

1.3 PCR 产物分析

PCR 产物通过 ABI PRISM 377 DNA 自动测序仪用 50 g/L 的变性聚丙烯酰胺凝胶和 ABI3100 遗传分析仪进行分析。

1.4 等位基因命名及分型标准对照物的制备

DYS464 在 Y 染色体上分布于 4 个位置, 预期扩增后观察到的片段有 1~4 个[4]。将不同等位基因的扩增产物电泳分离后进行序列分析 (上海博亚公司测序), 仅根据观察到的片段个数命名, 称为 C-型命名法; 既根据观察到的不同大小的片段, 又结合电泳所出现的波峰高比率进行命名, 称为 E-型命名法[5]。本文采用 E-型命名法。

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳银染法回收各种扩增片段, 分别放入 500 μL EP 管中, 加 200 μL 0.2 × TE 混匀, 过夜后, 取 2.0 μL 作模板, 按“1.2”条件扩增。

1.5 统计学处理

基因多样性 (gene diversity, GD) 计算按公式:

$GD = n(1 - \sum x^2)/(n-1)$  式中的 n 表示样本数, x 为群体中每一种等位基因频率 [6]。个体识别力 (the discriminating power, DP) 计算公式:  $DP = 1 - \sum P_i^2$  [7]

2 结 果

2.1 DYS464 基因座各等位基因测序结果及模块结构

在 106 例汉族无关男性个体中发现 8 个不同片段的参考序列结构见表 1。根据序列分析 (图 1), DYS464 基因座序列可以归为一种简单的重复序列, 包括 1 个重复数目变异 n 次的核心序列 CCTT 结构和 5 个固定的重复序列, 即 (CCTT)<sub>n</sub> .. (CCTT)<sub>2</sub> . (CCTT)<sub>3</sub> . (CCTT)<sub>4</sub> . (CCTT)<sub>2</sub> . (CCTT)<sub>2</sub>。按其核心序列重复次数变异的模块命名, 在河南汉族群体中核心序列重复数目变异在 11~18 次 (表 1)。

表 1 DYS464 基因座在汉族男性群体中的 8 种片段序列结构  
Table 1 The sequence of 8 fragments of DYS464 locus among Han population

Repeat motif (Size)	Sequence
Consensus sequence	<u>cttgggctatgctcagtttaaatatcagctg</u> (cctt) <sub>n</sub> ctt (cctt) <sub>2</sub> cttccctctctctctctccctccatccctc (cctt) <sub>3</sub> gttccct (cctt) <sub>4</sub> ctt(cctt) <sub>2</sub> tctct (cctt) <sub>2</sub> cctcctctctctctctttttctttctccgtgaaga <u>gtctctctgtaccaggatag</u>
11 (250 bp)	35 bp (CCTT) <sub>11</sub> 171 bp
12 (254 bp)	35 bp (CCTT) <sub>12</sub> 171 bp
13 (258 bp)	35 bp (CCTT) <sub>13</sub> 171 bp
14 (262 bp)	35 bp (CCTT) <sub>14</sub> 171 bp
15 (266 bp)	35 bp (CCTT) <sub>15</sub> 171 bp
16 (270 bp)	35 bp (CCTT) <sub>16</sub> 171 bp
17 (274 bp)	35 bp (CCTT) <sub>17</sub> 171 bp
18 (278 bp)	35 bp (CCTT) <sub>18</sub> 171 bp

Note: The underlined base pairs are the sequence of primers of DYS464. The bdd stands for the core sequence

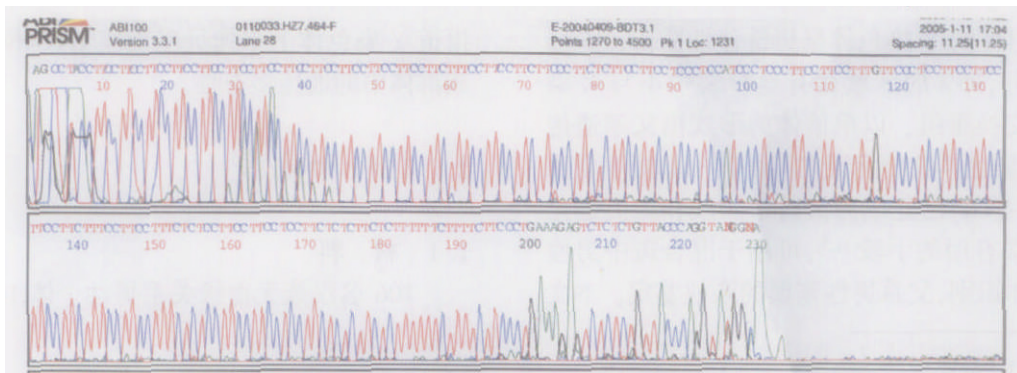


图 1 DYS464 基因座重复序列测序结果 (正向)

Fig.1 The sequence of repeat motif DYS464 locus (forward)

### 2.2 DYS464 等位基因及频率

结合观察到的不同大小片段和电泳时各片段的峰高比率进行 DYS464 基因座的等位基因命名即 E- 型命名法(图 2), 106 例河南南阳无关男性个体中, 观察到 61 种等位基因, 其中 36 种只出现 1 次, 频率最高的等位基因为 15- 15- 15- 15, 占 7.6 % (表 2)。基因多样性(GD)和个体识别力(DP)分别为 0.9853 和 0.9760。用 C- 型方法命名, 则只可以观察到 43 种类型。

### 2.3 DYS464 基因座的遗传稳定性

通过对 10 例父子对和 2 例三代父系家庭男性成员 DYS464 基因座的检测, 儿子、父亲和兄弟之间具有相同的等位基因。

## 3 讨 论

DYS464 基因座是 2002 年 Redd 等 [4] 首次报

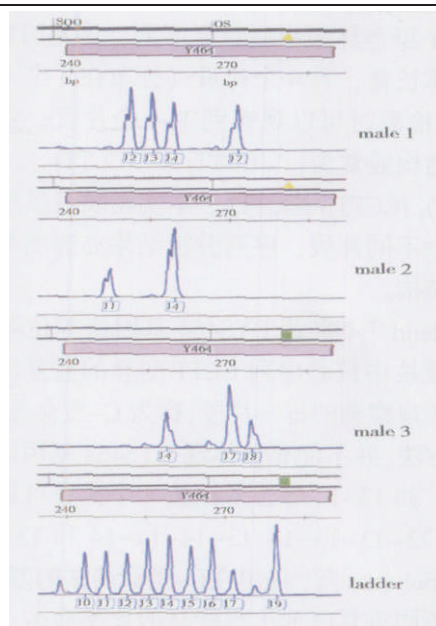


图 2 DYS464 基因座部分等位基因图谱

Fig.2 Some alleles of DYS464 locus on ABI 3100

表 2 DYS464 基因座等位基因在汉族群体中的分布情况

Table 2 The allele distribution of multi-copies DYS464 among Han population in Henan Province

Code	Allele	Frequency	Code	Allele	Frequency
1	11- 11- 12- 12	0.0094	32	12- 15- 15- 16	0.0283
2	11- 11- 14- 15	0.0094	33	12- 15- 16- 16	0.0094
3	11- 12- 12- 12	0.0094	34	13- 13- 13- 13	0.0283
4	11- 12- 12- 18	0.0094	35	13- 13- 13- 14	0.0094
5	11- 12- 13- 13	0.0094	36	13- 13- 13- 15	0.0189
6	11- 12- 13- 14	0.0094	37	13- 13- 14- 14	0.0189
7	11- 12- 14- 15	0.0094	38	13- 13- 15- 15	0.0094
8	11- 12- 15- 16	0.0094	39	13- 13- 15- 16	0.0094
9	11- 13- 14- 15	0.0283	40	13- 13- 15- 18	0.0094
10	12- 12- 12- 13	0.0189	41	13- 13- 16- 16	0.0189
11	12- 12- 12- 14	0.0283	42	13- 14- 14- 15	0.0283
12	12- 12- 13- 13	0.0189	43	13- 14- 14- 16	0.0094
13	12- 12- 13- 14	0.0094	44	13- 14- 15- 15	0.0094
14	12- 12- 14- 14	0.0094	45	13- 14- 15- 16	0.0094
15	12- 12- 14- 15	0.0283	46	13- 14- 17- 18	0.0094
16	12- 12- 15- 15	0.0189	47	13- 15- 15- 15	0.0094
17	12- 13- 13- 13	0.0094	48	13- 15- 15- 17	0.0094
18	12- 13- 13- 14	0.0189	49	13- 15- 16- 16	0.0094
19	12- 13- 13- 15	0.0189	50	13- 15- 16- 17	0.0094
20	12- 13- 13- 17	0.0094	51	14- 14- 14- 14	0.0094
21	12- 13- 14- 14	0.0094	52	14- 14- 15- 15	0.0377
22	12- 13- 14- 15	0.0283	53	14- 14- 16- 16	0.0283
23	12- 13- 15- 15	0.0094	54	14- 14- 17- 17	0.0094
24	12- 13- 16- 16	0.0189	55	14- 15- 15- 15	0.0283
25	12- 13- 16- 17	0.0094	56	14- 15- 15- 16	0.0094
26	12- 13- 16- 18	0.0094	57	14- 15- 16- 16	0.0189
27	12- 14- 14- 15	0.0189	58	15- 15- 15- 15	0.0755
28	12- 14- 14- 16	0.0283	59	15- 15- 15- 17	0.0094
29	12- 14- 15- 16	0.0189	60	15- 15- 16- 16	0.0377
30	12- 14- 16- 16	0.0094	61	16- 16- 16- 16	0.0094
31	12- 15- 15- 15	0.0094			

n=106 GD=0.9853

道的 Y 染色体短串联重复序列, 该基因座位于 Y 染色体长臂, 有 4 个拷贝 (分布在 4 个不同的位置), 检测时可以观察到 1~4 个片段, 重复序列模块结构通常为: (CCTT)<sub>n</sub> (CCTT)<sub>2</sub> (CCTT)<sub>3</sub> (CCTT)<sub>4</sub> (CCTT)<sub>2</sub> (CCTT)<sub>20</sub>。本实验发现汉族群体中有 8 个不同片段, 序列分析结果亦表明具有上述模块结构。

Redd 等<sup>[4]</sup>推荐 DYS464 基因座等位基因根据上述模块中核心序列 CCTT 变异的重复次数 n 来命名所观察到的每一片段, 称为 C-型命名法, 但是这种方法, 并不能充分体现 DYS464 基因座的 4 个拷贝, 如 13-14 等位基因按 4 个拷贝可以有 3 种情况: 13-13-13-14、13-14-14-14 和 13-13-14-14, 故 Schoske 等<sup>[3]</sup>提出在 C-型命名法的基础上, 再根据不同重复序列出现峰高的比率命名 (估算片段的拷贝数), 称为 E-型命名法, 显然 E-型方法是较为合理的。本实验采用 E-型命名方法, 在 106 例汉族无关男性个体中, 观察到 61 种类型, 而用 C-型方法命名, 则仅观察到 43 种类型。因此, E-型分型方法可以更充分地揭示 DYS464 基因座的多态性。

本研究用 E-型方法命名, DYS464 基因座在河南汉族群体中出现最多的等位基因类型为 15-15-15-15, 占 7.55%, 与美国人群和白种奥地利人比较有所不同<sup>[5,6]</sup>, 后两群体均以等位基因 15-15-17-17 (10.6%、8.2%) 多见, 因此, 可应用于群体遗传学研究。DYS464 基因座在河南汉族群体中基因多样性 (GD) 和个体识别力 (DP) 分别为 0.9853 和 0.9760。比目前使用的单个 Y-STR 基因座的多态性都高<sup>[8]</sup>, 同时, 通过对 10 例父子对和 2 例三代父系家系的研究, DYS464 基因座的等位基因能够稳定地从父亲遗传给儿子, 未发现变异现象, 因此可应用于法医学和重大灾难事故中的男

性个体识别。

参考文献:

- [1] de KNIJFF P, KAYSER M, CAGLIA A, et al. Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects [J]. *Int J Legal Med*, 1997, 110(3): 134-149.
- [2] PRINZ M, SANSONE M. Y chromosome-specific short tandem repeats in forensic casework [J]. *Croat Med J*, 2001, 42(3): 288-291.
- [3] SCHOSKE R, VALLONE PM, KLINE M C, et al. High-throughput Y-STR typing of U.S. populations with 27 regions of the Y chromosome using two multiplex PCR assays [J]. *Forensic Sci Int*, 2004, 139 (2-3): 107-121.
- [4] REDD A J, AGELLON A B, KEARNEY V A, et al. Forensic value of 14 novel STRs on the human Y chromosome [J]. *Forensic Sci Int*, 2002, 130 (2-3): 97-111.
- [5] Butler J M, Schoske R. Forensic value of the multicopy Y-STR marker DYS464 [J]. *Int Congr Seri*, 2004, 1261: 278-280.
- [6] BOSCH E, LEE A C, CALAFELL F, et al. High resolution Y chromosome typing: 19 STRs amplified in three multiplex reactions [J]. *Forensic Sci Int*, 2002, 125(1): 42-51.
- [7] HOU Y P, ZHANG J, LI Y B, et al. Allele sequences of six new Y-STR loci and haplotypes in the Chinese Han population [J]. *Forensic Sci Int*, 2001, 118 (2-3): 147-152.
- [8] BERGER B, NIEDERSTATTER H, BRANDSTATTER A, et al. Molecular characterization and Austrian Caucasian population data of the multi-copy Y-chromosomal STR DYS464 [J]. *Forensic Sci Int*, 2003, 137(2-3): 221-230.

(编辑 黄小延)