

· 简 报 ·

DYS390 位点在广东汉族人群中的多态性与法医学应用

吕德坚, 伍祥林, 李建金, 倪星群, 陈玉川

(中山医科大学法医学系, 广东 广州 510089)

关键词: 重复序列, 核酸; Y 染色体; 基因频率; 多态性, 限制性片段长度; 广东

中图分类号: R 89 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2000)03-0238-02

DYS390 是位于 Ypter-Yqter 上以 4 个核苷酸为重
复单位的短串联重复 (STR) 位点, 不同的人群已发现
有 3~8 等位基因^[1]。而在法医实际工作中要求使
用与被鉴定者相应的群体资料^[2], 因此本文通过调
查 128 名无关男性个体, 获得 DYS390 位点在广东汉
族群体中的基因频率, 并评价其法医学应用价值。

1 材料与方 法

1.1 群体样本来源与 DNA 的提取

广东汉族无关男性个体和家系样本来自本室
检案标本。用 Chelex-100 法提取 DNA。

1.2 PCR 扩增

1.2.1 DYS390 引物序列 P1: 5'-TAT ATT TTA CAC
ATT TTT GGG CC3'; P2: 5'-TGA CAG TAA AAT GAA
CAC ATT GC3'。

1.2.2 PCR 扩增条件 反应的总体积为 50 μ L, 含
50 mmol/L KCl, 10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.3, 1.5
mmol/L MgCl₂, 0.1 g/L 明胶, 200 μ mol/L dNTP 3 μ L,
引物 P1 和 P2 各 0.3 μ mol/L, Taq 酶 1 U, 模板 20
ng。循环参数: 预变性 95 $^{\circ}$ C 5 min, 然后 94 $^{\circ}$ C 1
min, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环, 再 72 $^{\circ}$ C 延
伸 5 min。

1.3 电泳检测

凝胶浓度为 70 g/L 的聚丙烯酰胺凝胶 (Arc:
Bis = 29:1), 含 15% (v/v) 甘油, 以 0.035 mol/L
H₂SO₄-Tris 为凝胶缓冲液, 阴极用 0.5 \times TBE, 阳极
用 1 \times TBE 和 3 mol/L NaAc (v/v = 2:1) 电泳, 以
pBR322/Hae III 为 Marker, 银染法显带。

1.4 等位基因 Ladder 的制备

取有不同等位基因的扩增产物各 5 μ L, 混匀后

用双蒸水稀释 10 000 倍, 取 5 μ L 作为模板, 按
“1.2”的条件作 PCR 扩增即可。

1.5 数据分析

等位基因频率采用直接计数法, 用 χ^2 检验比
较群体之间基因频率的差异, 按 $DP = 1 - \sum f^2$ 计
算个人识别率, $PE = \sum f(1-f)$ 计算非父排除率
和 $H = n(1 - \sum f^2) / (n-1)$ 计算遗传多样性期
望值, 公式中 f 为等位基因频率, n 为个体数。

1.6 案例应用

从强奸杀人案中, 提取被害人的血痕和阴道内
内容物, 5 个嫌疑人的血痕送验。检材均用 Chelex-
100 法处理后 PCR 扩增。

2 结 果

2.1 DYS390 的基因频率

本调查共发现了 4 个等位基因 (图 1)。按相对
分子质量由小到大命名为 A1、A2、A3、A4, 其频率分
布见表 1。

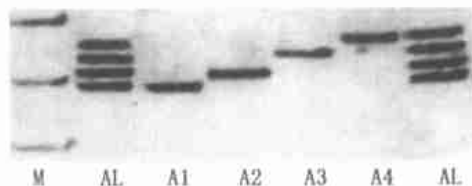


图 1 广东汉族人群中 DYS390 位点检出的 4 个等位基因
Fig 1 Four alleles were observed in Guangdong Han
population at DYS390 locus

M: pBR322/Hae III; AL: Alleles ladder; A1~A4: Alleles

经计算, 个人识别率和非父排除率均为
0.6776, 遗传多样性为 0.68295。

收稿日期: 1999-09-06

作者简介: 吕德坚 (1966-), 男, 广西玉林人, 硕士, 讲师。

2.2 中国群体间的基因频率比较

经 χ^2 检验比较,本调查的基因频率与其他文献^[3,4]报道的有显著性的差异($P < 0.05$)。

表1 广东汉族人群 DYS390 位点的基因频率

Table 1 The allelic frequencies of DYS390 in Guangdong Han population

Alleles	Numbers of chromosome	Allele frequency	Size(bp)
A4	27	0.2109	223
A3	49	0.3828	219
A2	46	0.3594	215
A1	6	0.0469	211

2.3 家系调查结果

对25个二代家系,两个三代家系调查均呈父系遗传。同时扩增女性成员的DNA模板,未检出有扩增产物。

2.4 案例应用结果

案例中各检材检出的基因:嫌疑人1、2和5为A2,嫌疑人3和4为A4,受害人的阴道内容物为A3,5个嫌疑人均被排除,与破案结果一致(图3)。

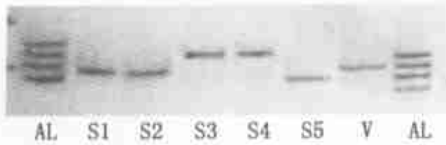


图2 1例强奸案 DYS390 的检验结果

Fig. 1 A profile of DYS390 in a sexual assault

AL: allele ladder. S1, S2, S3, S4 and S5: five suspects.

V: specimen from vagina

3 讨论

Y染色体的DNA多态性的一个特点是在不同人群中经常存在着显著性的差异^[3]。本次调查发现广东人群与北京人群DYS390位点无论是等位基因数或是等位基因分布都不一样^[3]。这主要是由Y染色体DNA呈父系遗传的特点所决定的^[3]。与文献^[4]中调查的广州地区人群资料的差异可能是由于调查的个体数尚未足够大所造成的。因此在

实际工作中引用DYS390的频率资料时,必须采用相应群体的数据,而且这些数据必须是来自群本量足够大的调查。

本调查DYS390的遗传多样性为0.68295,个人识别率为0.6776,是一个多态性较好的遗传标记,但与常染色体的STR比较,其多态性水平则较低^[2]。若能同时扩增多个Y染色体上的STR,则可以提高个体识别和非父排除率。

家系调查DYS390呈稳定的父系遗传,非父排除率达0.6776,表明对于缺失双亲的兄弟关系鉴定或爷孙等隔代亲权鉴定是一很好的遗传标记。

通常采用二步消化法除去男女混合斑中女性的DNA,但常去除不完全或去除了部分精子的DNA,影响PCR扩增或判型。DYS390的PCR扩增产物长度约200bp,只有一条Y特异带,适合于法医中男女混合斑的检验。本文中的强奸案例的阴道内容物直接用Chelex-100法处理,PCR特异地扩增出男性特有的条带,不受女性DNA的影响,无须采用二步消化提取DNA,具有快速、简化、扩增效率高和易于判型的优点。

另外,在家系调查中未发现女性基因组DNA被扩增的现象,因此DYS390的成功扩增也可以作性别鉴定的辅助标志。

参考文献:

- [1] Rodriguez D, Santos S E, Zago M A. Diversity of the human Y chromosome of South American Amerindians: a comparison with blacks, whites, and Japanese from Brazil [J]. *Ann Hum Genet*, 1997, 61(pt5): 439.
- [2] Jobling M A, Pandya A, Tyler-Smith C. The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing [J]. *Int J Legal Med*, 1997, 110(3): 118.
- [3] 郑秀芬,吴薇薇,谢志萍,等. 中国汉族群体Y染色体DYS390位点多态性分析[J]. *法医学杂志*, 1999, 15(1): 33.
- [4] 唐双柏,郭景元,刘超,等. 广州地区汉族人群Y染色体多态性STR位点的研究[J]. *法医学杂志*, 1999, 15(2): 86.

(编辑 关淡庄)