

# 中国汉族群体 DXS101 位点的多态性

吕德坚, 李建金, 刘秋玲, 伍新尧

(中山医科大学法医学物证教研室, 广东 广州 510089)

**摘要:** 【目的】调查 X 染色体特异性位点 DXS101 在中国汉族人群的多态性。【方法】利用 PCR 和聚丙烯凝胶电泳对短串联重复序列(short tandem repeat, STR)位点 DXS101 进行分型, 并检验女性基因型频率分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡, 计算法医学常用各种概率。【结果】在 147 名女性和 150 名男性中国汉族无关个体共发现了 8 个等位基因。等位基因的频率分布在 0.0133~0.2279 之间。正合检验表明女性的基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。DXS101 的基因多样性达 0.8296, 女性和男性样本的个体识别率分别 0.9474 和 0.8277, 当母亲和女儿同时检验时, 非父排除率为 0.8049。【结论】DXS101 是一个高度多态性的系统, 适用于个人识别和女孩的亲权认定。

**关键词:** 串联重复序列; 等位基因; X 染色体; 法医学; 多态性现象(遗传)

中图分类号: R89 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)02-0122-03

## Polymorphism of DXS101 Locus in Chinese Han Population

LU De-jian, LI Jian-jin, LIU Qiu-ling, WU Xin-yao

(Faculty of Forensic Medicine, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510089, China)

**Abstract:** 【Objective】To investigate the polymorphism of DXS101 locus in Chinese Han population. 【Methods】A X-chromosome linked short tandem repeat locus DXS101 was analyzed by PCR following by polyacrylamide gel electrophoresis. Hardy-Weinberg equilibrium was tested and forensic interested value was calculated. 【Results】Among 147 unrelated females and 150 unrelated males from Chinese Han population, 8 alleles were detected, with frequencies ranging from 0.0133 to 0.2279. Exact tests demonstrated that genotype frequencies in females did not depart from Hardy-Weinberg equilibrium. The unbiased estimating gene diversity was 0.8296, and the discrimination powers for female and male original samples were 0.9474 and 0.8277, respectively. When both mother and her daughter were tested, the probability of excluding a random man as father was 0.8049. 【Conclusion】This highly discriminatory locus is appropriate for individual identification and paternity testing involving a female child.

**Key words:** tandem repeat sequence; allele; X chromosome; forensic medicine; polymorphism(genetics)

X 染色体与性别有关, 其特异的 STR 在男性的基因组中呈单倍体形式存在, 且不能遗传给儿子, 因此 X 染色体特异性的 STR 在姐妹认定的亲权案件中有重要的应用价值。但是目前国内外在法医学上应用的 X 染色体上的 STR 数目并不多, 只有 AR 和 HPRT 这两个位点<sup>[1]</sup>。由于位点有限, 不能满足检案的需要。1993 年 Allen<sup>[2]</sup> 发现 DXS101 位点具有较高的多态性, 但一直未被应用

到法医学上。为了克服常染色体 STR 在姐妹认定亲权案件中应用的缺点, 寻找更多适用于这类案件的 X 染色体 STR 位点, 我们调查了 DXS101 位点的群体数据, 结果表明它具有很高的法医学应用价值。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 群体样本来源与 DNA 的提取

收稿日期: 2000-03-28

作者简介: 吕德坚(1966-), 男, 广西玉林人, 硕士, 讲师。

无关个体的血液样本来自中国汉族人群。用 Chelex-100 法提取 DNA。

1.2 PCR 扩增

1.2.1 引物序列<sup>[2]</sup> DXS101. AAT: 5'-AAA TCA CTC CAT GGC ACA TGT AT-3'; DXS101. ATT: 5'-ACT CTA AAT CAG TCC AAA TAT CT-3'

1.2.2 扩增条件 反应的总体积为 50 μL, 含 50 mmol/L KCl, 10 mmol/L Tris-HCl, pH8. 2, 1. 5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0. 1 g/L 明胶, 200 μmol/L dNTP 3 μL, 引物 DXS101. AAT 和 DXS101. ATT 各 0. 2 μmol/L, Taq 酶 1 U, 模板 30 ng。热循环参数: 预变性 95 °C 5 min, 然后 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 1 min, 30 个循环, 再 72 °C 延伸 5 min。4 °C 保存扩增产物。

1.3 等位基因 Ladder 的制备

取有不同等位基因的扩增产物等量混合后, 用酚/氯仿纯化 DNA, 溶于适量的 TE 中。

1.4 PCR 产物的电泳检测与分型

凝胶厚 0. 2 cm, 长 35 cm, 质量浓度为 70 g/L 的聚丙烯酰胺凝胶 (Arc : Bis = 29 : 1), 含 150 mL/L 甘油, 以 0. 035 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Tris 为凝胶缓冲液, 阴极用 0. 5 × TBE, 阳极用 1 × TBE 和 3 mol/L NaAc (V / V = 2 : 1) 作电泳缓冲液, 并以等位基因 Ladder 为分型标准, pBR322/Hae III 为分子参照物, 500 V 电压电泳 4 h 后, 用银染法显带。

1.5 数据分析

等位基因频率的计算采用直接计数法。按 Guo 和 Thompson 的正合检验 (exact test) 检验女性的基因型频率是否符合 Hardy-Weinberg 平衡<sup>[3]</sup>。用 R × C 列联表比较男、女群体间的等位基因频率差异。并用下列公式计算各种概率 (P):

无偏估计基因多样性 (gene diversity):

$$H = 2N(1 - \sum p) / (2N - 1)$$

个体识别力 (DP, P<sub>d</sub>)<sup>[4]</sup>:

$$(1) \text{ 女性样本 DP } P_{d f} = 1 - 2(\sum p_i^2) + \sum p_i^4,$$

或

$$(2) \text{ 男性样本 DP } P_{d m} = 1 - \sum p_i^2$$

女孩的亲权排除率:

(1) 当母亲和女儿均检验时, 排除非父的概率

$$P_e = \sum_{i=1}^n p_i (1 - p_i) (1 - p_i + p_i^2) + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i p_j (p_i + p_j) (1 - p_i - p_j)$$

$$p_i p_j (p_i + p_j) (1 - p_i - p_j)$$

(2) 只检验女儿时, 排除非父的概率

$$P_e = \sum_{i=1}^n p_i^2 (1 - p_i) + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i p_j (1 - p_i - p_j)$$

公式中 N 为样本的个体数, p<sub>i</sub>, p<sub>j</sub> 为等位基因的频率, n 为等位基因数。

2 结 果

2.1 DXS101 位点的等位基因分布

实验结果发现 DXS101 位点的等位基因扩增产物长度在 209 ~ 233 bp 之间。所有被检验男性个体中, 发现 DXS101 的电泳分型只出现 1 条带, 而女性个体可以出现 1 ~ 2 条带。在 147 个女性和 150 个男性无关个体中均发现了 8 个等位基因 (图 1), 按长度从小到大, 各等位基因的频率, 见表 1。

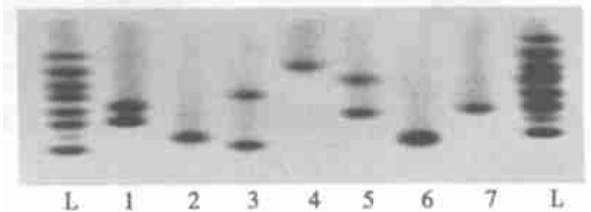


图 1 DXS101 位点的基因型样图

Fig 1 A genotype example for DXS101 locus

L: Ladders. 1 ~ 7: 7 unrelated individuals

表 1 中国汉族人群 DXS101 位点的等位基因频率

Table 1 DXS101 allele frequencies in Chinese Han population

Allele	Allele Frequencies		
	Females	Males	Pooled
A1	0. 030 6	0. 100 0	0. 054 1
A2	0. 112 2	0. 186 7	0. 137 4
A3	0. 210 9	0. 200 0	0. 207 2
A4	0. 224 8	0. 173 3	0. 223 0
A5	0. 227 9	0. 180 0	0. 211 7
A6	0. 108 8	0. 086 7	0. 104 4
A7	0. 044 2	0. 060 0	0. 049 5
A8	0. 017 0	0. 013 3	0. 015 8
Total <sup>1)</sup>	294	150	444

1) Numbers of chromosomes

用 R × C 列联表 χ<sup>2</sup> 检验比较男女之间的等位基因频率, 无显著性差异 (χ<sup>2</sup> = 17. 554, ν = 1, P > 0. 01)。正合检验<sup>[3]</sup> 结果, 中国汉族女性个体 DXS101 位点的符合 Hardy-Weinberg 平衡 (组数 B = 20, 每组样本数 C = 10 000, P = 0. 223 4, for Markov chain method)。

2.2 法医学评价参数

法医学应用的各个统计参数见表 2。

表 2 中国汉族群体 DXS101 位点的基因多样性、个人识别率和非父排除率。

Table 2 Gene diversity, discriminating power and probability of exclusion for DXS101 locus in Chinese Han population

Statistics parameter	Probability
$H$ (pool data)	0.829 6
$P_d$ (expected)	
(1) for female sample ( $P_{d,f}$ )	0.947 4
(2) for male sample ( $P_{d,m}$ )	0.827 7
$P_e$ (for girl only)	
(1) test both mother and daughter, exclude father	0.804 9
(2) test daughter only, exclude father	0.689 0

### 2.3 法医学应用结果

在 160 例由 SE33、D19S253、D11S554、D12S391、D7S809、D21S11、FGA、vWA、TH01、FES/FPS、CSF1PO 和 AR 等 12 个 STR 已确定母亲—女儿—父亲关系的案例中, DXS101 也不排除父亲。在 66 例由上述位点排除父权关系的案例中, DXS101 排除了 53 例的父亲, 其排除率为 0.8030。而在 50 例已认定母亲—儿子—父亲的案件中, 却有 41 例 DXS101 的分型结果与上述位点的结果相矛盾。

### 3 讨论

DXS101 位点是以 3 个碱基为重复单位的 STR<sup>[2]</sup>。实验中发现当用非变性 PAG 电泳时, 有时会出现 Ladder 中相邻等位基因分型不清楚的现象, 而采用本文的方法, 电泳的条带细窄, 凝胶的背景较浅, 在 123~434 bp 范围内无泳带不清或其它非特异的条带出现, Ladder 清晰, 分型明确(图 1)。等位基因的分布情况对该多态性位点的法医学应用价值有直接的影响, 表 1 的结果不仅表明 DXS101 位点有 8 个等位基因, 而且等位基因的频率均小于 0.230 0, 最高为 0.227 9, 最低为 0.013 3, 分布相当均衡。

很多遗传分析、个人识别与亲权鉴定的统计都是基于 Hardy-Weinberg 平衡的。由于 DNA 的高度多态性, 用经典的  $\chi^2$  法检验 STR 位点的 Hardy-Weinberg 平衡有很大的局限性<sup>[5]</sup>, 采用目前国际上最常用的是正合检验法<sup>[3]</sup>, 结果表明女性个体 DXS101 位点的基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡, 并且  $\chi^2$  检验比较男女之间的等位基因频率

并无显著性差异, 是符合法医统计要求的一个位点。

法医学上常用来说明遗传标记在个人识别和亲权鉴定中应用价值的参数是基因多样性、个人识别力和非父排除率。表 2 中数据表明 DXS101 位点优于 X 染色体的 HPRT 位点和许多常染色体 STR 位点, 如 TH01、vWA、CSF1PO、D19S253 和 FES/FPS 等位点, 显示出 DXS101 位点具有很高的个人识别能力和非父排除率。

66 例由 12 个 STR 位点排除父权关系的案例中, DXS101 排除了 53 例的父亲, 其排除率为 0.8030, 高于很多常染色体 STR 位点。160 例由 12 个 STR 已确定母亲—女儿—父亲关系的案例, DXS101 也不排除父亲, 而在 50 例已认定母亲—儿子—父亲的案件中, 却有 41 例 DXS101 分型结果与 12 个 STR 的结果相矛盾, 这符合 DXS101 位于 X 染色体上, 父亲不能遗传给儿子, 只能遗传给女儿的遗传规律。因此, DXS101 在缺乏双亲怀疑是同父的姐妹认亲案件中有重要应用价值。同时, 在所有被检验男性个体中, 发现 DXS101 的电泳分型只出现 1 条带, 而女性个体可以出现 1~2 条带, 说明 DXS101 位点在男性为单倍体, 分型中若出现 2 条带, 则系女性样本, 可以作为性别鉴定的辅助标记。本文的结果表明 DXS101 位点在中国汉族人群中具有高度的多态性, 在个人识别和亲权鉴定, 尤其是姐妹认亲的案件中有重要的应用价值。

### 参考文献:

- [1] Hommond H A, Jin L, Zhong Y, *et al.* Evaluation of 13 short Tandem repeat loci for use in personal identification applications[J]. *Am J Hum Genet*, 1994, 55(1): 175.
- [2] Allen R C, Belmont J W. Trinucleotide repeat polymorphism at DXS101[J]. *Hum Mol Genet*, 1993, 2(9): 1508.
- [3] Guo S W, Thompson E A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles[J]. *Biometrics*, 1992, 48(2): 361.
- [4] Desmarais D, Zhong Y, Chakraborty R J, *et al.* Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA)[J]. *J Forensic Sci*, 1998, 43(5): 1046.
- [5] Wire B S. Independence of VNTR alleles defined as fixed bins[J]. *Genetics*, 1992, 130(4): 873.

(编辑 黄小延, 张敏瑞)