

# 中国(广州地区)正常人群 EAP 表型 及血痕 EAP 表型的检测

唐吉斌<sup>1</sup> 伍新尧<sup>2</sup> 罗超权<sup>3</sup> 杨英浩<sup>3</sup>

(1 生化教研室进修生 2 法医物证教研室 3 生化教研室)

**提 要** 本文介绍用琼脂糖凝胶电泳法对广州地区523例健康无关个体 EAP 表型的检测结果。红细胞酸性磷酸酶(erythrocyte acid phosphatase 简称 EAP) A型32例(6.1%), EAP BA型175例(33.5%), EAP B型316例(60.4%), 此外还发现了5例变异型 EAP RA。同时还检测了58例 ESR 升高患者的 EAP 表型, 其结果与正常人群比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。对血痕 EAP 表型检测的结果表明, 在室温下保存5周的血痕 EAP 表型能全部正确定型, 有少数保存6个月仍能正确定型。我们认为, 用此方法检测 EAP 表型有酶谱带清晰、方法简便, 试剂价廉且易得到等优点, 值得推广。

**关键词** 琼脂糖凝胶电泳 EAP 表型 血痕

酸性磷酸酶(acid phosphatase 简称 ACP) 是一类磷酸酯水解酶。ACP 遍及全身各组织细胞中, 以前列腺、红细胞、肝脏的含量较为丰富, 具有多种不同的分子形式<sup>[1]</sup>。

1963年, Hopkinson 等<sup>[2]</sup> 首先用淀粉凝胶电泳对139例个体的红细胞介离液进行红细胞酸性磷酸酶(erythrocyte acid phosphatase 简称 EAP)分型, 发现了A、BA、B、CA、CB 5种表型, 经家系分析, 证明其遗传方式符合孟德尔遗传规律, 提出 EAP 是由常染色体上一组复等位基因  $P^a$ 、 $P^b$ 、 $P^c$  控制。

此后, 许多学者用不同方法对 EAP 表型进行大量的人群调查, 发现了许多稀有的变异型, 如  $EAP^r$ 、 $EAP^k$  等10多种<sup>[3,4]</sup>。

本文报道用琼脂糖凝胶电泳法检测广州地区正常人群 EAP 表型分布情况和血痕 EAP 可分型时限的结果。

## 材料与 方法

**一、血样** 523例血样本取自中山医科大学附属一院血库的健康献血员。58例 ESR (erythrocyte sedimentation rate) 升高( $ESR \geq 20\text{mm/h}$ )的血样本取自中山医科大学附属一院检验科检查的病人。用生理盐水洗涤血样

本3次, 加入与压积红细胞体积相等的双蒸水, 摇匀, 置冰箱内冷冻, 用前取出融冻, 摇匀。

**二、血痕的制备** 随机取10例上述血样本, 将其部分血滴在滤纸或纱布上, 室内晾干, 信封内室温下保存。

**三、方法** 按伍新尧<sup>[5]</sup>介绍的方法, 并作适当修改。

①电极缓冲液 0.018M  $\text{Na}_2\text{-Citrate}$ —0.029M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ —0.0012M  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  pH6.0

②凝胶板的制备 以5倍稀释的电极缓冲液制成1%(w/v)琼脂糖凝胶, 厚1.5mm, 长180mm 宽120mm。

③电泳 吸取红细胞解离液5 $\mu\text{l}$  加于2 $\times$ 5mm大小的滤纸上或取同样大小的血痕用0.05M二硫苏糖醇(DTT)6 $\mu\text{l}$  浸透后, 置于离阴极端3.5cm的凝胶处, 平衡30分钟, 除去滤纸后, 在8 $^{\circ}\text{C}$ 下, 电压梯度10v/cm, 电泳4小时。

④酶谱带的显示 称取4-甲基缬氨酸磷酸盐3mg 溶于0.05M sodium citrate—0.05M Na

OH, pH5.0缓冲液中, 将汲饱上述底物溶液的滤纸, 复盖在原点至阳极端间的凝胶面上, 置37 $^{\circ}\text{C}$ 保温20分钟, 在长波紫外线下, 观察酶活性的荧光带。

⑤酶谱带的显示 称取4-甲基缬氨酸磷酸盐3mg 溶于0.05M sodium citrate—0.05M Na

OH, pH5.0缓冲液中, 将汲饱上述底物溶液的滤纸, 复盖在原点至阳极端间的凝胶面上, 置37 $^{\circ}\text{C}$ 保温20分钟, 在长波紫外线下, 观察酶活性的荧光带。

⑤酶谱带的显示 称取4-甲基缬氨酸磷酸盐3mg 溶于0.05M sodium citrate—0.05M Na

表1 广州地区正常人群 EAP表型分布和基因频率

EAP表型	观察数	期望数	基因频率
AA	32(6.1%)	27.3	$P^a$ : 0.2285
BA	175(33.5%)	184.4	
BB	316(60.4%)	311.3	$P^b$ : 0.7715

### 结果与讨论

一、广州地区523例健康无关个体的 EAP表型检测结果(表1) 经 $\chi^2$  检验( $\chi^2 = 1.359$ ,  $df = 2$ ,  $P > 0.05$ ),证明本组人群 EAP 表型分布符合 Hardy-Weinderg 氏平衡,另外还发现 5 例稀有的变异型 EAP RA, 经重复检验确证无误, 见图 1。

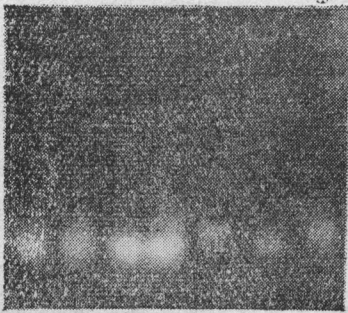


图1 血液 EAP 表型图谱

从左至右为: EAP RA、B、B、BA、B、B、A、B、RA、B、BA、B

近年来,国内外许多学者曾用不同方法对人群 EAP 表型分布情况做了大量调查工作<sup>[2,3,6,8]</sup>, 但用琼脂糖凝胶电泳法检测 EAP 表型的报道不多, 我们应用琼脂糖凝胶电泳法检测 EAP 表型获得满意的结果, 显示的酶谱带清晰, 易于正确定型, 而且方法简便, 试剂便宜、易得, 无需特殊条件。因而本法在基层单位容易推广应用。

我国报道的 EAP 表型有 A、BA、B 三种普通型<sup>[5,6,9]</sup>, 此外, 本组尚发现 5 例变异型, 其电泳图谱与 Kobus 等<sup>[3]</sup> 报道的 RA 型一致, 但其家系遗传特征尚待进一步调查。

二、58例 ESR 升高人群 EAP 表型分布情况(表2) 经统计学分析证明, ESR 增高患者的 EAP 表型也处在 Hardy-Weinderg 平衡状态, 与正常人比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。

表2 ESR升高人群 EAP表型分布及基因频率

EAP表型	观察数	期望数	基因频率
AA	3(5.2%)	2.3	$P^a$ : 0.1983
BA	17(29.3%)	18.4	
BB	38(65.5%)	37.3	$P^b$ : 0.8017

三、不同保存时间的血痕 EAP 表型检出情况 10 例血痕在室温下保存 5 周, EAP 表型能正确定型, 在室温下干燥保存 6 个月的另外 10 例纱布血痕仍有 4 例能正确定型。见图 2。本实验结果较 Harland<sup>[7,10]</sup> 等学者报道的血痕 EAP 表型可测时限要长。



图2 2周血痕 EAP 表型图谱

从左至右为: EAP、BA、BA、B、B、A、B、A

四、不同地区和种族人群 EAP 表型的分布(表3) 经统计学处理, 发现在这些报道中, 不同地区的汉族人群间除了辽宁地区外, 其余均无显著性差异。除日本及美国黑人和印第安人外在不同种族人群之间 EAP 表型分布均有显著性差异。因此, 对 EAP 表型的检测, 可作为人类学研究的一个工具。

### 参 考 文 献

[1] Boansky JA, et al. Acid phosphatase. Adv Clin Chem 1972;15(1):43.

表3 世界部分人群EAP基因频率分布的比较

群 体	例 数	EAP 基因频率			$\chi^2$	P 值
		P <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>	P <sup>c</sup>		
广州地区(本组)	523	0.2215	0.7785	—		
北京地区	445	0.22	0.78	—	0.2907	>0.05
辽宁地区	213	0.169	0.831	—	6.2560	<0.05 >0.01
上海地区	283	0.1873	0.8137	—	3.7882	>0.05
新加坡侨民	620	0.222	0.778	—	0.6858	>0.05
日 本	14741	0.214	0.786	—	3.0528	>0.05
印 度	442	0.2851	0.7104	0.0045	8.7471	<0.05 >0.01
英 国	5576	0.3444	0.6085	0.0471	177.1655	<0.01
澳大利亚	413	0.3220	0.6259	0.0511	28.3730	<0.01
南 非	140	0.0859	0.9143	—	27.1830	<0.01
中 非	92	0.0489	0.9511	—	28.7672	<0.01
美国白人	1239	0.339	0.632	0.031	15.8954	<0.01
美国黑人	718	0.222	0.767	0.009	0.7350	>0.05
美国印第安人	660	0.2076	0.7924	—	2.2458	>0.05

[2] Hopkinson DA, et al. Red cell phosphatase variants: a new human polymorphism. *Nature* 1963;199(4896):969.

[3] Kobus HJ, et al. The erythrocyte acid phosphatase isoenzyme distribution among the Negroid population of Rhodesia. *Forensic Sci Int* 1979;13(1):97.

[4] Turowska B. Evidence of a "new" allele of red cell phosphatase ACP\*. *Foren Sci Int* 1984;26(2):163.

[5] 伍新尧. 法医学物证学讲义(下册). 云南: 昆明医学院 1987:67~68.

[6] 常彩琴,等. 中国人(北京地区)红细胞酸性磷酸酶同工酶的电泳分析及频率研究.

中华血液学杂志 1982;3(2):139.

[7] Harland WA, et al. A method of phenotyping erythrocyte acid phosphatase by isoelectric focusing. *Med Sci Law* 1980; 20(1):43.

[8] 柳燕,等. EAP聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳分型研究. *法医学杂志* 1989;5(1):19.

[9] 卢笛,等. 辽宁地区EAP型的分布及血痕的检测. *中国法医学杂志* 1987;2(1):93.

[10] Finney ST, et al. The use of isoelectric focusing (IEF) as a method for the combined phenotyping of erythrocyte acid phosphatase (EAP) and esterase D (EsD). *Foren Sci Int* 1985;27(3):237.

# THE DETERMINATION OF EAP PHENOTYPES OF CHINESE POPULATION IN GUANGZHOU AREA AND EAP PHENOTYPING OF BLOODSTAINS

<sup>1</sup>Tang Jibin    <sup>2</sup>Wu Xinyao    <sup>1</sup>Luo Chaoquan    <sup>1</sup>Yang Yinghao

( 1. Department of Biochemistry 2. Department of Forensic Biology )

The results of EAP phenotyping of Chinese population(N = 523) in Guangzhou area, using the agarose gel electrophoresis, were presented. Basing on the distribution of EAP phenotypes in this population, EAP A = 32(6.1%), EAP BA = 175(33.5%), and EAP B = 316(60.4%), the gene frequencies of EAP<sup>a</sup> and EAP<sup>b</sup> were calculated as 0.2285 and 0.7715, respectively, it was consistent with the Hardy-Weinberg's equilibrium. We found the variant EAP RA in 5 cases.

Meanwhile, the EAP phenotypes of 58 patients, whose ESR were over the normal level, were determined. Comparing the results of EAP phenotyping of patient-group with that of healthy group, no significant difference existed.


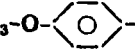

The results of determination of EAP phenotypes in bloodstains showed that EAP phenotypes could be detected correctly in bloodstains stored at room temperature within 5 weeks.

**Key words**    Agarose gel electrophoresis    EAP phenotypes    Bloodstains

( 上接第70 )

附表

5 种鱼腥草素类似物元素定量分析及熔点

编号	名称	R*	实验式	分子量	熔点℃	计算值%		实验值%		收率
						C	H	C	H	
1.	己酰乙醛 亚硫酸氢钠	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> O <sub>5</sub> SNa	246.05	159~161	39.02	6.13	38.91	6.13	44%
2.	ω-十一烯酰乙醛 亚硫酸氢钠	CH <sub>2</sub> =CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> -	C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> O <sub>5</sub> SNa	314.66	158~161	49.71	7.37	49.43	7.44	21%
3.	苯甲酰乙醛 亚硫酸氢钠		C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O <sub>5</sub> SNa	252.20	176~177	42.85	3.59	41.73	3.43	41%
4.	对甲氧基苯甲酰 乙醛亚硫酸氢钠	CH <sub>3</sub> -O- 	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub> SNa	282.21	168~170	42.55	3.93	41.19	4.22	68%
5.	邻羟基苯甲酰 乙醛亚硫酸氢钠		C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O <sub>6</sub> SNa	268.91	155~157	40.30	3.37	39.69	3.70	59%

鱼腥草素类似物通式为R-CO-CH<sub>2</sub>-CHOH-SO<sub>3</sub>Na