

中国人群染色体Q带多态性*

——汉族和黎族人群的比较

周宪庭 汤火顺 许碧珍 肖桂芳 傅维宁

(中国科学院遗传研究所) (美国中康涅狄格州州立大学生物系)

摘 要

应用染色体Q带显带法,比较100个汉族和50个海南岛黎族人群的染色体多态性。发现这两个民族Q荧光变异带数基本一致,但第21对染色体21p11区有显著性差异。黎族人群的Y染色体相对长度大于汉族。统计分析表明各染色体上荧光变异带分布符合Hardy-Weinberg法则。

一、引 言

人类近端着丝点染色体的短臂、随体和Y染色体长臂的异染色质区以及某些染色体着丝点的荧光区(富AT区)常显示遗传的多态性(或称异态性 Heteromorphism),可因种族、民族或性别不同而不同^[1,2]。这种可变区似乎含有重复序列的DNA(某种随体DNA),它们可能没有转录活性,也不转译成蛋白质,因此可能没有表型效应^[3]。

不同的种族或民族,由于突变,长期的生殖隔离和自然选择,形成各自不同的遗传背景。群体遗传多态性的研究可能会有助于阐明种族和民族的起源和遗传差异。处于我国最南端的海南岛黎族是我国民族大家庭的一个成员。她的人口约39万(1957年),主要分布于海南岛中南部^[4]。关于黎族的起源有几种意见:有人认为黎族是由秦汉以前(公元前100年前)骆越的一支从两广大陆陆续迁到海南岛;有人认为黎族的起源与我国东南沿海一带有密切的关系。二千多年来,由于历史和地理的原因,黎族人很少和汉族人通婚,形成自然的群体隔离。本文研究了50例黎族人群的染色体Q带多态性,并与100例汉族的Q带研究结果进行比较,以期探明不同民族间染色体多态性的差异。

二、材料和方法

1. 取材 培养所用血液材料,黎族大部分取自海南岛万宁县和陵水县黎族农民,少部分取自中央民族学院黎族学员。汉族血源大部分取自实验室汉族工作人员,少部分取自北京西郊农村汉族农民。所有个体核型皆属正常。

本文1980年9月23日收到,1981年8月15日收到修改稿。

* 李锦霞、李立容、崔梅影、徐玖瑾参加部分工作。

2. 培养和制片 每个个体取血2毫升,用半微量全血法培养。培养基为RPMI 1640和小牛血清(4:1),加适量PHA(Gibco)。于培养的第三天加秋水仙碱,使细胞分裂停止于中期。细胞经0.075MKCl低渗处理。甲醇:冰醋酸(3:1)固定。火焰干燥法制片。

3. QFQ 显带法¹⁾ 标本制成后三天至一月内进行Q带显带。制片经小火温热(60℃),置于通风柜中,黑暗下用0.005%奎吡因氮芥(QM)(西德SERVA厂产),染色30分钟。0.07M磷酸缓冲液(pH6.8)分色,同一缓冲液封固。尽量吸去盖片和载片间的水层。用HBO200荧光显微镜(Zeiss Jena)激发滤光片BG12,阻挡滤光片G247下观察和照相。胶卷为Kodak panatomic-X或Kodak 2415。每人照5—10张相。分析5个核型。用匈牙利Forte BHO型放大纸,每细胞放大4—6英寸照片二张。

4. 变异带(Variant band) 荧光强度标准和测定方法 染色体QFQ荧光变异带(简称Q变异带)可以分为5级。按巴黎国际定命体系(见表1):染色体无荧光或几乎无荧光为1级;弱荧光(相当于1P末端)为2级;中强荧光(相当于9p的两个主带)为3级;强荧光(相当于13q的远半部分)为4级;特强荧光(相当于Yq远端)为5级。凡荧光强度为4级以上者,计作Q变异带;荧光强度为1—3级者,不计数。为了减少观察误差,整个分析和比较过程由一人完成。

表1 染色体变异带荧光强度和长度测定标准

强 度	长 度
1 无(无或几乎无荧光)	1 极少 $\leq 0.25 \times 18P$
2 弱(如1P末端)	2 小 $> 0.25 - 0.5 \times 18P$
3 中强(如9q两个主带)	3 中 $> 0.5 - 0.75 \times 18P$
4 强(如13q远半部分)	4 大 $> 0.75 - 1.0 \times 18P$
5 特强(如Yq的远端)	5 极大 $> 1.0 \times 18P$

5. 变异带的长度和测定方法 荧光变异带长度,按Yamada的测定方法^[5](以18P为标准),亦分为5级(表1)。记录荧光变异带的荧光强度和长度的方法如文献[6]。如QFQ15指此变异带1级长度,5级强度。Y染色体长臂长度测定方法,同文献[6]。用三个指标:(1)Yq/21q;(2)Yq12/Yq11;(3)按Lin的标准^[7]Y强荧光区/Y弱荧光区(弱荧光区包括弱荧光的长臂和短臂)。按此标准Y染色体的长度可分为大Y:Y染色体强荧光区大于弱荧光区;中Y:Y染色体强荧光区~弱区;小Y:Y染色体强荧光区小于弱区;极少Y:Y染色体强荧光区~ $\frac{1}{3}$ 弱区。

三、结 果

人类七对常染色体和Y染色体,十三个区带为可变荧光区,即3C, 4P11, 13P11, 13P13, 14P11, 14P13, 15P11, 15P13, 21P11, 21P13, 22P11, 22P13和Yq。根据表1所列的标准分析和计数汉族和黎族人群染色体Q变异带数。100个汉族人共有363个Q变异带,平均每人有3.63(S.D. = 1.99)变异带;50个黎族人共有154个变异带,平均每人有3.08(S.D. = 1.90)。汉族人平均Q变异带数高于黎族人,但两者间无显著性差异($p > 0.05$)。

1) QFQ 指用奎吡因作荧光Q带。

1. 染色体 3—4 汉族人和黎族人第 3 染色体的着丝点区(3C)皆有频繁的 Q 变异带。其中汉族人 3C 变异带的频率为 39%(每 100 条染色体上变异带数,以百分率表示)。黎族人 3C 变异带频率为 38%。汉族人和黎族人间 3C 变异带数无显著性差异($p > 0.05$) (表 2)。

汉族人和黎族人第 4 染色体短臂(4P11)的荧光变异带有一些差异,汉族人(17%)稍高于黎族人(13%),但差异不显著。

表 2 汉族人(100 人)和黎族人(50 人) Q 带多态性频率的比较

民族 分组		汉 族						黎 族							
		QFQ 14	QFQ 24	QFQ 15	QFQ 25	QFQ 34/35	总数	频率%	QFQ 14	QFQ 24	QFQ 15	QFQ 25	QFQ 34/35	总数	频率%
3C		38	14	10	15	1	78	39	18	10	1	5	4	38	38
4P11		28	1	3	2		34	17	13					13	13
13	P11	61	20	12	12		105	52.5	37	6	5	5		53	53
	P13	6	5		1		12	6	6				1	7	7
14	P11	7	2		1		10	5	1					1	1
	P13	1	4	2	1		8	4	6	1				7	7
15	P11	5	1				6	3	3	1				4	4
	P13	5	6	2	1	1	15	7.5	6	1				7	7
21	P11	17	6				23	11.5*	3					3	3*
	P13	20	12				32	16	10					10	10
22	P11	10	1				11	5.5	3	1				4	4
	P13	21	7	1			29	14.5	6	1				7	7
总 计		363/100=3.63±1.99						154/50=3.08±1.9							

* $\chi^2 = 6.05, p < 0.05$.

2. 染色体 13—15 在所有的荧光变异染色体中,染色体 13(13P11 和 P13)有最高频率的 Q 变异带,尤其 P11 处;而染色体 14 和 15,变异带频率最低。汉族人和黎族人比较,此三对染色体 Q 变异带频率十分接近。其中染色体 13 分别为 58.5% 和 60%;染色体 14 分别为 9% 和 8%;染色体 15 分别为 10.5% 和 11%。三者皆无显著性差异。

3. 染色体 21—22 汉族和黎族染色体 Q 带多态性的明显差异,表现在第 21 对染色体上。汉族人第 21 对染色体上 Q 变异带频率为 27.5%;黎族人为 13%。其中 21P11 带区,两者相差十分显著。汉族人为 11.5%,黎族人为 3% ($p < 0.05$)。21P13 区差异不显著。第 22 对染色体变异带频率稍有差异(分别为 20% 和 11%),但不显著 ($p > 0.05$)。

在七对常染色体上,荧光变异带的长度大部分为 1—2 级,3 级只占极少。没有发现有 4—5 级长度的变异带。

4. Y 染色体 57 个男性汉族人和 24 个男性黎族人 Y 染色体相对长度测定结果为: (1)

Yq/21q: 汉族人为 1.74 (S.D. = 0.33), 黎族人为 1.78 (S.D. = 0.3); (2) Yq12/Yq11 汉族人为 1.43 (S.D. = 0.31), 黎族人为 1.47 (S.D. = 0.28); (3) Y 强荧光区/弱荧光区: 汉族人有 17.5% 的大 Y; 74% 的中 Y 和 8.8% 的小 Y; 黎族人有 33.3% 的大 Y, 62.5% 的中 Y 和 4.2% 的小 Y, 上述三项指标测定表明, 黎族人 Y 染色体相对长度大于汉族人, 但差异尚不显著。

4. 群体中荧光变异带的分布 为了研究各对染色体荧光变异带的分布是否遵循 Hardy-Weinberg 法则, 现把一对同源染色体上有两个变异带的(以++表示)或无变异带的(以--表示)作为纯合(Homologous), 只有一个变异带的(以+-表示)作为杂合(Heterozygous)。

表 3 汉族人和黎族人(150 人)强荧光带的分布

区 域	+		+		-		p*	q**	p***
	No.	%	No.	%	No.	%			
3C	23	15	71	47	56	37	0.39	0.61	>0.05
4P11	7	4.7	33	22	110	73	0.16	0.84	>0.05
13P11	37	24.7	84	56	29	19	0.53	0.47	>0.05
13P13	1	0.6	17	11.3	132	88	0.063	0.94	>0.05
14P11	0	-	10	6.7	140	93	0.033	0.97	>0.05
14P13	0	-	15	10	135	90	0.05	0.95	>0.05
15P11	0	-	11	7.3	139	93	0.037	0.96	>0.05
15P13	0	-	21	14	129	86	0.07	0.93	>0.05
21P11	0	-	26	17	124	82.6	0.087	0.92	>0.05
21P13	3	2	35	23.3	112	75	0.14	0.86	>0.05
22P11	1	0.6	13	8.7	136	91	0.033	0.97	>0.05
22P13	2	1.3	32	21.3	115	77	0.11	0.89	>0.05

* P 指有荧光变异带的染色体的比率。

** q 指无荧光变异带的染色体的比率。

*** 根据 p^2 , $2Pq$, q^2 推算得的理论值和观察值的比较结果。

表 4 男性和女性 Q 带多态性的比较

组 合	区 带		3C		4P11		13*		14*		15*		21*		22*	
	性别		男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女
	+	+														
+ + (%)			14	9	4	3	23	15	0	0	0	0	2	1	2	2
			17	13	5	4	14	11	-	-	-	-	1.2	0.7	1.2	1.4
+ - (%)			44	27	17	16	54	47	17	9	17	15	41	21	25	18
			54	39	21	23	33	34	10	7	10	11	25	15	15	13
- - (%)			23	33	60	50	85	76	145	129	145	123	119	116	135	118
			28	48	74	72	52	55	90	93	90	89	73	84	83	86

* P11 加 P13 上荧光变异带总和。

分别计算每对染色体纯合和杂合的频率,并与 Hardy-Weinberg 预期值比较(表 3)。结果表明每一对染色体上荧光变异带的频率符合 Hardy-Weinberg 法则。

5. 两性间荧光变异带的分布 为了比较两性间的差异,分别计数了汉族人和黎族人共 81 个男性和 69 个女性七对染色体上荧光变异带数及分布。男性平均变异带数为 3.75, 女性为 3.1。男性稍高于女性,但两者无显著性差异。此外两性同源染色体上纯合和杂合变异带的分布,也无明显差异(表 4)。

四、讨 论

不同种族和人群间染色体多态性的差异已有一些报道。本文结果表明汉族人群平均荧光变异带数高于黎族,尤其是第 21 对染色体,差异显著。可能反映了这两个民族具有某些不同的遗传背景。由于变异和长期隔离,可能造成这对染色体上某些随体 DNA(Satellite-DNA) 量的明显差异。但就大部分染色体而论,汉族人和黎族人间的差别不甚明显,有的染色体上变异带数十分接近,意味着汉族人和黎族人可能有共同的起源。我们的结果和 Lubs^[2] 等关于美国黑人和白人的结果(3C, 4C, 13P, 13S 各组间差异均显著或极显著, $p < 0.01$ 或 0.001) 比较,可以认为在染色体多态性的变异方面,民族间的差异少于种族间的差异。

人类 Y 染色体是最具有多态性的染色体之一。很早就发现了种族间 Y 染色体的显著变异。但由于测定 Y 染色体相对长度的指标不同,结果间的比较甚为困难。据 Cohen^[8] 报道,日本人的 Y 染色体显著大于白种人、黑人和印度人。Matsuura^[9] 把太平洋地区居民 Y 染色体分为三类:澳洲土著人 Y 染色体很小;波利尼亚人有中等的 Y;东方人(主要为日本人)及菲律宾人大 Y 染色体。本研究表明汉族人和黎族人皆以中等 Y 染色体为主,介于日本人和南太平洋人之间,而黎族人 Y 染色体又比汉族人稍大。Y 染色体相对长度的变化尚未发现有任何临床意义。

多态性的染色体变异稳定地存在于每个细胞中,并且如同孟德尔显性性状(trait)一样从亲代传给子代。在群体中多态性的分布应遵循 Hardy-Weinberg 法则。本研究结果表明,每对染色体上变异带的分布符合这一法则。由此可知,群体中荧光变异带按孟德尔方式遗传。

关于两性间染色体多态性的差异,有两种不同的意见。据 Mikelsaar A. V. N 等报道^[2],不同性别间荧光变异带的分布有明显的不同。他们发现,在男性中纯合状态(++)占优势,女性中杂合状态占优势。他们认为,造成性别差异的原因,在于不同染色体的荧光区有相似的核苷酸序列,导致染色体间异位配对(ectopic pairing)。但 Lin^[7] 和 Muller^[3] 的结果和本研究结果都不能证明上述假设。从大部分研究来看,两性间的差异可能不大。

目前,虽然异染色质和荧光变异带的多态性的生物学意义还不清楚,但它在基础和临床研究中有着极为广泛的应用。由于荧光变异带是稳定的、可遗传的,它可以作为遗传标记,用于研究诸如 21 三体不分离的起源,确定减数分裂过程中染色体不分离的时间等理论问题。本研究表明,不同个体间荧光变异带数目和类型极为不同,如果包括荧光强度为 2—3 级的变异带以及 C 带变异,则相同者极少。可以用此来区分羊水胎儿细胞中母体细胞的污染,提高染色体疾病产前诊断的准确性。

本工作得到海南岛农垦第一医院的大力协助,谨致谢意。

参 考 文 献

- [1] Lubs, H. A., Kimberling, W. J., et al. *Nature*, **268**(1977), 631—633.
- [2] Mikelsaar, A. V. N., et al. *Humangenetik*, **23**(1974), 59—63.
- [3] Muller, H. J., et al., *Cytogenet and Cell Genet.*, **15**(1975), 239—255.
- [4] 辞海“民族分册”, 上海辞书出版社, 1977.
- [5] Yamada, K. & Hasegawa, T., *Human Genet.*, **44**(1978), 89—98.
- [6] 周宪庭、傅维宁等, 科学通报, **25**(1980), 1089—1091.
- [7] Lin, C. C., Gedeon, M. M., et al., *Human Genet.*, **31**(1976), 315—328.
- [8] Cohen, M. M., Shaw, M. W., MacCluer, J. W., *Cytogenet.*, **5**(1966), 34—52.
- [9] Matsuura, J. S., et al., *Human Genetics*, **52**(1979), 203—210.