

贵州省苗族及布依族人群 *CYP1A1*2C* 基因多态性研究

郑波^{1,2}, 黄海燕², 张兵^{1,2}, 王晓梅^{1*}, 刘建军^{2*}

摘要: [目的] 检测贵州省苗族及布依族正常人群细胞色素氧化酶 *1A1*2C* (*CYP1A1*2C*) 基因多态性。[方法] 采用 Taqman-MGB 探针, 通过实时定量 PCR (real-time PCR) 对贵州省三都县 125 名苗族及 122 名布依族人群的血液样本进行 *CYP1A1*2C* 基因多态性分析, 并采用 χ^2 检验比较两民族该基因分布的差异。[结果] *CYP1A1*2C* 野生纯合子 (基因型 *AA*)、突变杂合子 (基因型 *AG*)、突变纯合子 (基因型 *GG*) 在苗族及布依族中基因型频率分别为 65.6%、28.0%、6.4% 及 68.9%、25.4%、5.7%; *A* 和 *G* 在苗族及布依族中基因频率分别为 79.6%、20.4% 及 81.6%、18.4%, 两民族人群的基因多态性分布差异无统计学意义。[结论] 中国贵州省苗族及布依族人群中 *CYP1A1*2C* 基因型频率分布没有明显不同。

关键词: 细胞色素氧化酶 *1A1*2C*; Taqman MGB 探针; 实时定量 PCR; 基因多态性

***CYP1A1*2C* Gene Polymorphisms in Miao, Buyi Populations of Chinese Guizhou Province** ZHENG Bo^{1,2}, HUANG Hai-yan², ZHANG Bing^{1,2}, WANG Xiao-mei^{1*}, LIU Jian-jun^{2*} (1. Key Laboratory of Biomedical Engineering School of Medicine Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518060, China; 2. Shenzhen Centre for Disease Control and Prevention, Shenzhen, Guangdong 518020, China). *Address correspondence to WANG Xiao-mei and LIU Jian-jun; E-mail: xmwang67@yahoo.com.cn. and junii8@126.com

Abstract: [Objective] To investigate the gene polymorphisms of *CYP1A1*2C* in Chinese Miao, Buyi nationalities. [Methods] Taqman-MGB probe was used in real-time RealTime -PCR to test the polymorphisms of *CYP1A1*2C* in Chinese Miao (125), Buyi (122) people, and the significant difference between Miao and Buyi was checked by χ^2 test. [Results] The distribution of wild homozygote (genetic type *AA*), mutant heterozygote (genetic type *AG*), mutant homozygote (genetic type *GG*) of *CYP1A1*2C* in Chinese Miao, Buyi populations were 65.6%, 28.0%, 6.4% and 68.9%, 25.4%, 5.7%, respectively. The distribution of *A* and *G* allele frequency of *CYP1A1*2C* in Miao, Buyi populations were 79.6%, 20.4% and 81.6%, 18.4%, respectively. [Conclusion] The distribution of genetic frequency and allele gene frequency of *CYP1A1*2C* are without statistically significance in difference between Miao, Buyi nationalities in Guizhou Province China.

Key Words: *CYP1A1*2C*; Taqman MGB Probe; Real-time PCR; Polymorphisms

环境中的外源物在人体中通过不同途径中的 I 相酶和 II 相酶进行代谢。外源物代谢酶 (xenobiotic-metabolizing enzymes, XMEs) 的基因多态性是分子流行病学研究的一个重要课题, 也是研究不同人群疾病易感性的主要方向。体内和体外实验证明编码 XMEs 的不同基因的多态性决定了不同人群对致癌物活化或失活的能力之不同。中国是多民族国家, 包含汉族及其它 55 个少数民族, 这与其它国家很不相同。同处于中国贵州省的苗族与布依族, 具有不同起源和遗传背景, 从而极可能造成 XMEs 的基因多态性具有不同的民族依赖性。

CYP1A1 (cytochrome 1A1, 细胞色素氧化酶 1A1) 是 CYP450 酶系 (I 相代谢酶) 中最重要的同功酶之一, 共含有 512 个氨基酸, 属于 I 相代谢酶。*CYP1A1* 基因位于第 15 号染色体

q22-q24 上, 基因全序列共 5 810 个碱基对, 含 7 个外显子和 6 个内含子。*CYP1A1* 主要分布于肝脏外的肺组织, 主要催化多种多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs), 某些 PAHs 被认为是危险的致癌物。*CYP1A1* 催化 PAHs 等外源化合物形成具有活性的原致癌物, 它被转移进入细胞核后, 与 DNA 结合成复合物, 引起癌基因与抑癌基因的突变, 最终造成肺癌、口腔癌、鼻咽癌等多种恶性肿瘤的发生^[1]。

目前, 在 *CYP1A1* 基因中发现大量的单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) 位点, 其中 *CYP1A1*2C* 位于第 7 外显子内, 为 *A*→*G* 的置换, 导致异亮氨酸被缬氨酸取代, 故亦称为 I462V (rs1048943 或 *CYP1A1* A4889G); 有研究表明 *CYP1A1*2C* 基因多态性与 *CYP1A1* 酶的活性有关^[2]。*CYP1A1* 基因多态性具有种族依赖性, 所以研究不同民族 *CYP1A1* 基因的多态性将为疾病易感性、药物有效性、民族相关性等领域提供有力的数据支持和理论依据。

1 对象与方法

1.1 对象

[作者简介] 郑波 (1980-), 男, 硕士生; 研究方向: 生物化学与分子生物学; E-mail: zheng2_2@126.com

[*通信作者] 王晓梅教授; E-mail: xmwang67@yahoo.com.cn; 刘建军研究员; E-mail: junii8@126.com

[作者单位] 1. 深圳大学医学院生物医学工程重点实验室, 广东 深圳 518060; 2. 深圳市疾病预防控制中心, 广东 深圳 518020

中国贵州省三都县苗族(125例)和布依族(122例)的血液标本取自无亲缘关系,无吸烟、饮酒史,无遗传性疾病且三代之内无其他民族直系亲属的健康个体。其中,苗族男66例、女60例,平均年龄(30.20±16.82)岁;布依族男54例、女68例,平均年龄(14.54±1.44)岁。

1.2 试剂与仪器

ABI TaqMan Master Mix(AMERICAN ABI产品); QIGEN Mini Kit(51104, GERMANY QIAGEN产品); Agarose H(05068, AMERICAN SIGMA产品); Reagent/equipments (Manufacturers产品); 50bp DNA Marker(D512A, 中国 TaKaRa产品); RealTime-PCR扩增仪(ABI 7500, American ABI产品); 冷冻离心机(GS-15R, 美国 BECKMAN产品); 紫外成像仪(UVITEC, 英国 UVITEC公司); 高压灭菌锅(HVE-50, 日本 HIRAYAMA产品); 制冰机(SIM-F124, 日本 SANYO产品); 纯水仪(Biocel, 美国 MILLIPORE产品); 电子天平(BP1211S, 德国 SARTORIUS产品); 超净工作台(AIRTECH, 中国苏净安泰产品); 振荡器(MSI, 中国广州仪科产品); 微波炉(G3850, 日本 PANASONIC产品)。

1.3 DNA 的提取

采用 QIAGEN DNA Mini Kit 试剂盒提取全血 DNA。

1.4 Real-Time PCR SNP 分型 采用 Taqman-MGB 探针 对 *CYP1A1**2C 位点进行基因分型。用 Primer Express 软件设计引物和探针,其碱基序列见表1(委托美国 ABI 公司合成)。PCR 反应体系总体积为 5μL,其中 Real-Time PCR Master Premix 2.5μL (TAKARA 公司),引物、探针浓度分别为 6.25 nmol/L、18 nmol/L, DNA 模板 20~300 ng。在 ABI7500 实时定量 PCR 仪上反应条件为:95℃预变性 15 s, 95℃变性 20 s, 56℃退火 20 s, 60℃延伸 34 s,共 40 个循环。

表1 *CYP1A1**2C 位点 Taqman-MGB 引物及探针序列

Table 1 *CYP1A1**2C Taqman-MGB primer sequences and probe

引物及探针 (Primer & probe)	碱基序列 (5'→3') (Base sequence)
引物 (Primer)	F: 5'-GCCAAGCCGAAGTGTATCG-3' R: 5'-CAGGATAGCCAGGAAGAGAAAGAC-3'
探针 (Probe)	W: 5'-VIC-TGAGACCATGCCCC-MGB-3' M: 5'-FAM-TGAGACCGTTGCC-MGB-3'

1.5 统计学处理

记录样本的分型结果,计算各基因和基因型频率。不同民族之间分布差异采用 SPSS 11.3 进行 Hardy Weinberg 定律符合度检验及 χ^2 检验。

2 结果

2.1 Real-Time PCR SNP 分型图

对中国贵州省苗族(125例)和布依族(122例)样本采用 Taqman-MGB 进行 Real-Time PCR 后,得到的不同样本的基因分型图。其中中国贵州省布依族 46 例样本基因型分布如图 1 所示,突变纯合子、突变杂合子和野生纯合子分别为 2、23 和 21 例。

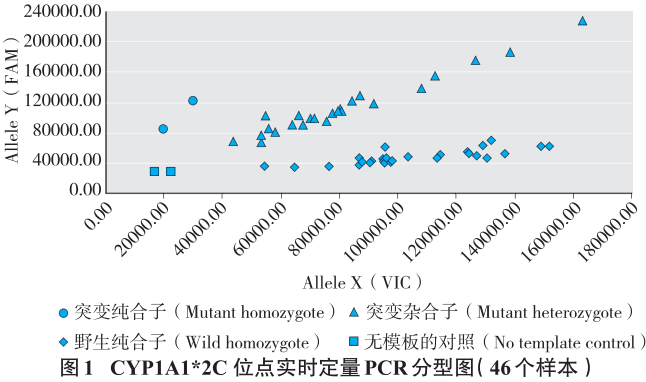


Figure 1 Typing in *CYP1A1**2C loci real time quantification (46 samples)

2.3 基因多态性及基因频率

由表2可知,中国贵州三都县苗族和布依族 *CYP1A1**2C 基因的多态性为野生纯合子(基因型 *A/A*)、突变杂合子(基因型 *A/G*)、突变纯合子(基因型 *G/G*)在苗族及布依族中的频率分别是 65.6%、28.0%、6.4% 及 68.9%、25.4%、5.7%; *A* 和 *G* 在苗族及布依族中的频率分别为 79.6%、20.4% 及 81.6%、18.4%, 两民族之间差异无统计学意义。对所检测样本的基因分型结果进行统计分析表明:两个民族的基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律(苗族 $P=0.12$, 布依族 $P=0.09$),用 χ^2 方差检测两民族之间的遗传分布,发现两者之间差异无统计学意义 ($P=0.86$)。

表2 中国贵州省三都县苗族和布依族 *CYP1A1**2C 位点基因型及基因频率

Table 2 Genotype and allele frequencies of *CYP1A1**2C in Chinese Miao and Buyi populations

民族 Nationality	基因型 Genotype	实际数(理论数) Actual No.(Theoretical)	频率(%) Frequency	基因 Gene	频率(%) Frequency
苗族(Miao) (n=125)	AA	82(79.20)	65.6	A	79.6*
	AG	35(40.60)	28.0	G	20.4
	GG	8(5.20)	6.4	—	—
布依族(Buyi)* (n=125)	AA	84(81.23)	68.9	A	81.6*
	AG	31(36.64)	25.4	G	18.4
	GG	7(4.13)	5.7	—	—

[注]*: Hardy-Weinberg 平衡定律符合度 $P>0.05$ 为符合 Hardy-Weinberg 平衡定律; #: 苗族和布依族基因型分布比较, $\chi^2=0.30$, $P=0.86$ 。

3 讨论

在人类基因组上大约每 1000 个碱基对就有一个 SNP 位点,人类基因组上的 SNP 总量大概是 3×10^6 个,因此 SNP 成为继限制性内切酶、卫星序列后的第三代遗传标志。SNP 广泛用于高危人群地发现、疾病易感基因筛选、药物和新物质测试、种群进化及生物学的基础研究等领域。虽然有关 *CYP450* 的基因多态性的研究已进行了几十年,也有少量关于中国不同地区或民族的相关文献^[3-6],但大多数研究没有对所选样本(包括患病组及对照组)进行不同种族人群、不同地区来源等方面的深入分层分析,所以其研究结果可能存在倚偏。

目前,人类 *CYP1A1* 基因有 151 个候选的 SNP 位点(截至 2009 年 11 月),其中主要研究的有四个位点: *CYP1A1**2A (rs4646903)、*CYP1A1**2C、*CYP1A1**3(rs4986883)、*CYP1A1**4

(rs1799814)。CYP1A1*2C 与 CYP1A1(细胞色素氧化酶(A1)的活性有关^[2],有研究发现该位点与多种疾病有关,如:肺癌^[4]、白血病^[7]等。本实验对中国贵州省三都县苗族及布依族的 CYP1A1*2C 位点进行基因多态性研究发现,两民族的基因型分布都符合 Hardy-Weinberg 平衡定律,但无统计学差异($P=0.86$)。与中国其他地区或民族的研究结果比较发现,只有布依族与台湾地区少数民族(A/A 56.2%, A/G 36.5%, G/G 7.3%)^[3]相比时,差异才具有统计学意义($P=0.03$),其他都未发现显著差异^[4,6]。与江苏汉族人^[5]相比,苗族和布依族 G 基因的频率低于汉族,但也不具有统计学差异,这也就说明苗族、布依族及汉族亲缘关系可能较近。

分析 CYP1A1*2C 位点的基因多态性,不但可以协助病因诊断,了解中国各民族之间的亲缘关系及各民族起源问题,并对预测某些疾病的危险性、药物有效性作出评估。所以,进一步研究不同地区不同民族 CYP1A1 特征,对保护和开发我国人群遗传资源是十分必要的。

参考文献:

- [1]冷欣夫,邱星辉.细胞色素 P450 酶系的结构、功能与应用前景[M].北京:科学出版社,2001:63-89.
- [2]CROFTS F, COSMA G N, CURRIE D, et al. A novel CYP1A1 gene

polymorphism in African - Americans[J].Carcinogenesis, 1993, 14(9): 1729-1731.

- [3]YEH C C, SUNG F C, TANG R, et al. Association between polymorphisms of biotransformation and DNA-repair genes and risk of colorectal cancer in Taiwan[J]. J Biomed Sci, 2007, 14(2): 183-193.
- [4]董彩婷,杨青,江宾,等.四川人群中 CYP1A1 基因 Ile-Val 和 MspI 位点多态性与肺癌易感性的研究[J].中国肺癌杂志,2004,7(1): 38-42.
- [5]YANG J, QIAN L X, WU H F, et al. Genetic polymorphisms in the cytochrome P450 1A1 and 2E1 genes, smoking, drinking and prostate cancer susceptibility: A case-control study in a Han nationality population in Southern China[J]. Int J Urol, 2006, 13(6): 773-778.
- [6]YE Y, CHENG X, LUO H B, et al. CYP1A1 and CYP1B1 genetic polymorphisms and uterine leiomyoma risk in Chinese women[J]. J Assist Reprod Genet, 2008, 25(8): 389-394.
- [7]PELLOSO L A, Da SILVA I D, De SOUZA N C, et al. CYP1A1 polymorphisms modify overall survival in acute myeloid leukemia patients[J]. Leukemia Lymphoma, 2007, 48(6): 1211-1215.

(收稿日期:2010-01-28)

(英文编审:薛寿征;编辑:洪琪;校对:徐新春)

【精彩预告】

上海市居民家庭工频电磁场水平

沈春琳,唐传喜,高树森,等

为了解上海市居民家庭工频电磁场强度及其影响因素,上海市疾病预防控制中心的研究人员采用 KombiTEST 场强仪,现场检测 5 种类型供电方式 125 户居民家庭两种工况下的工频电磁场强度。采用成组设计多样本比较的秩和检验,分析不同类型供电方式工频电磁场强度的差异;采用配对设计差值的符号秩和检验,比较两种工况工频电磁场强度的不同。结果显示,在家用电器关闭、开启两种工况下,工频电场强度中位数从 1 V/m 上升到 2 V/m,工频电场强度的差异具有统计学意义($Z=24.791, P<0.001$);磁场强度中位数从 0.023 μ T 增加到 0.035 μ T,工频磁场强度亦具有显著性差异($Z=28.137, P<0.001$)。9 个居民家庭某一房间的工频磁场强度超过 0.4 μ T。五种类型供电方式居民家庭中,电力线路跨越的民房工频磁场强度水平最高,其次为采用三相或两相一地供电的别墅,其他三种供电方式居民家庭最低;电力线路跨越的民房磁场强度远高于三相或两相一地供电的别墅及其他三种供电方式的居民家庭,差异具有统计学意义(家用电器关闭工况 $\chi^2=421.565, P<0.001$;家用电器开启工况 $\chi^2=265.575, P<0.001$)。因此,居民家庭附近的高压输电线路、户外低压配电线和室内配电布线及家用电器设备是家庭工频磁场水平的主要电磁源。其中,高压输电线路和户外低压配电线对整个家庭工频磁场水平的影响较大,而室内配电布线和家用电器设备的影响则比较有限。

此文将于近期刊出,敬请关注。