

不同人群中绿色觉基因常见多态的差别分布^{*}

申煌煌, 张清炯, 肖学珊, 郭向明, 贾小云

(中山大学中山眼科中心, 广东 广州 510060)

摘要: 为了解视网膜色素变性患者与正常人群中绿色觉基因外显子5常见多态在正常色视人群中的分布, 收集了108例正常色视男性的白细胞基因组DNA [其中视网膜色素变性(RP)男性61名、非RP正常色视男性47名], PCR扩增每例绿色觉基因外显子5, 异源双链SSCP分析PCR产物。用已知序列的绿色觉基因产物作标准, 确定待检个体绿色觉基因外显子5的组成。结果表明, 就基因频率而言(g/p 之比), RP患者为2.9, 而非RP正常色视者为4.0; 就基因型频率而言($g/gp/p$ 之比), RP患者为5.4/1.3/1, 非RP正常色视者为5.3/0.9/1。在RP患者与非RP患者这两种正常色视的人群中, 绿色觉基因外显子5常见多态存在着偏差分布。

关键词: 绿色觉基因; 外显子; 多态分布; 正常色视; 视网膜色素变性

中图分类号: R384.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2002) 04-0125-02

人类正常色觉是由红、绿、蓝3种色觉基因所调控。红与绿色觉基因位于X染色体上, 蓝色觉基因位于常染色体上。正常人有一个红色觉基因和一个或多个绿色觉基因, 在Xq28呈头对尾串联排列^[1,2]。红绿色觉基因高度同源, 同一率达98%。我们曾对先天性红绿色觉异常患者和RP进行了一系列分析^[3-5], 中国男性中发现色觉基因存在着一些特异变化。为了进一步了解中国男性色觉基因的特性, 本文对两群正常色视男性的绿色觉基因外显子5进行了分析。

1 材料与方法

1.1 对象 61例RP患者均来自中山眼科中心研究所眼遗传病门诊, ERG检查结果仅b波异常, a波完全正常或大致正常, 所有RP患者都符合国际通用的RP诊断标准。47例非RP正常色视来自本院职工和本校学生。所有108例受检者均为男性, 且都主诉色觉正常。

1.2 色觉功能测定和基因组DNA制备 参照文献[3]进行。即经色盲本初筛色觉功能后, 再经色觉镜(Netzt)确证; 按常规方法抽提血白细胞基因组DNA。

1.3 绿色觉基因多态分析 绿色觉基因外显子5的引物、PCR扩增条件和异源双链SSCP分析条件参照文献[3]进行。简言之, 58℃复性进行PCR扩增, 在硬度8% (1.49, 0.5×TBE) 和硬度6% (1.99, 1×TBE) 两个条件下跑胶, 银染分析。用已知序列的绿色觉基因产物作标准, 确定待检个体

绿色觉基因外显子5的组成。

2 结果

绿色觉基因外显子5常见多态位于编码子283 (A/C)^[1,2], 属编码区内的单核苷酸多态。将其含A者称g多态, 含C者称p多态^[3]。在正常男性, 一般有1个或1个以上绿色觉基因(g或和p), 可以出现g、p和gp等组合。正常色视者不同人群绿色觉基因外显子与常见多态的分布见附表1。就基因频率而言(g和p), 对于所有正常色觉者来说, g占76.9%, p占23.1%。而对这两类不同人群而言, RP患者中g占74.6%, p占25.4%; 非RP正常色视者中g占80.0%, p占20.0%。基因频率g与p之比, 所有正常色视者为3.3, RP患者为2.9, 非RP正常色视者为4.0。就基因型频率而言(g、gp和p), 对于所有正常色觉者来说, 基因型g占74.1%, 基因型gp占12.0%, 基因型p占13.9%。而对这两类不同人群而言, RP患者中基因型g占70.5%, 基因型gp占16.4%, 基因型p占13.1%; 非RP正常色视者中基因型g占78.7%, 基因型gp占6.4%, 基因型p占14.9%。基因型频率g、gp与p之比, 所有正常色视者为5.3/0.9/1, RP患者为5.4/1.3/1, 非RP正常色视者为5.3/0.4/1。

3 讨论

目前关于色觉基因与视网膜色素变性之间关系的文献不多。视蛋白包括色觉基因蛋白与视紫红质蛋白, 它们都是G偶联的蛋白。视紫红质基因突变, 占视网膜色觉变性常显病例的30%。视紫红

* 收稿日期: 2002-01-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39670776, 30000186); 国家863计划资助项目 (Z19-01-04-02)

作者简介: 申煌煌 (1968-), 男, 博士研究生; 通讯联系人: 张清炯; E-mail: qizhang2000@yahoo.com

表 1 正常色视者绿色觉基因外
显子 5 常见多态的分布¹⁾

Fig 1 The distribution of the common exon 5

polymorphism of green pigment gene in the trichromats

人群		非 RP 正常色视	RP 患者	所有正常色视者
基因型频率	g	37(78.7)	43(70.5)	80(74.1)
	gp	3(6.4)	10(16.4)	13(12.0)
	p	7(14.9)	8(13.1)	15(13.9)
	总计	47	61	108
基因频率	g	40(80.0)	53(74.6)	93(76.9)
	p	10(20.0)	18(25.4)	28(23.1)
	总计	50	71	121

1) 括号里为所占的百分比/%

质蛋白是 G 偶联的关键的转膜蛋白,启动视锥细胞中视觉转递的联级放大。色觉视蛋白是视杆细胞中视觉传导的 G 偶联的受体^[6]。另外,在一蓝锥单色视的家系中,发现缺失包含 LCR(locus control region, 基因座位控制区)的 9.5 kb 片段、红色觉基因启动子元件及外显子 1,并伴随着视网膜黄斑萎缩^[7]。本文的研究结果是在分析红绿色觉异常基因时,利用正常色视的 RP 男性患者,作为人群中正常色视的相对对照时,无意中统计出来的。从绿色觉基因外显子 5 常见多态存在偏差分布这一结果,表明这一位于编码区内的单核苷酸多态与视网膜色素变性可能存在着一定程度上的相关性。对于色觉基因的研究,目前尚许多方面有待于进一步确定。如人类红色觉基因究竟是人们公认的 1 个^[1,2]或还是 1 个以上^[8],正常色觉视中红绿或绿红杂种基因的表

达^[9]。

参考文献:

[1] NATHANS J, THOMAS D, HOGNESS D S. Molecular genetics of human color vision: the genes encoding blue, green and red pigments[J] . Science, 1986, 232(4747): 193—202.

[2] NATHANS J, PIANTANIDA T P, EDDY R L, et al. Molecular genetics of inherited variation in human color vision[J] . Science, 1986, 232(4747): 203—210.

[3] ZHANG Q, MAO W, MA Q, et al. Molecular basis of congenital color vision defects in Chinese patients[J] . Jpn J Ophthalmol, 1992, 36: 479—487.

[4] ZHANG Q, XIAO X, SHEN H, et al. Correlation of gene structure and psychophysical measurement in red-green color vision deficiency in Chinese[J] . Jpn J Ophthalmol, 2000, 44(6): 596—600.

[5] ZHANG Q, LI S, GUO X, et al. Screening for CRX gene mutations in Chinese patients with Leber congenital amaurosis and mutational phenotype[J] . Ophthalmic Genetics, 2001, 22(2): 89—96.

[6] ABITBOL M, EPELBAUM M, DOLFUSS H, et al. Pathology of opsins and vision disorders[J] . Rev Prat, 1994, 44(9): 1173—1176.

[7] AYAGARI R, KAKUK L E, COATS C L, et al. Bilateral macular atrophy in blue cone monochromacy (BCM) with loss of the locus control region (LCR) and part of the red pigment gene[J] . Mol Vis, 1999, 5: 13.

[8] NEITZ M, NEITZ J. Numbers and ratios of visual pigment for normal red—green color vision[J] . Science, 1995, 267: 1013—1016.

[9] HAYASHI T, MOTULSKY A G, DEEB S S. Position of a green-red hybrid gene in the visual pigment array determines colour-vision phenotype[J] . Nature Genet, 1999, 22: 90—93.

Biased Distribution of a Common Polymorphism
of Green Pigment Gene in Different Trichromats

SHEN Huang xuan, ZHANG Qing jiong, XIAO Xue shan, GUO Xiang ming, JIA Xiao yun

(Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat sen(Zhongshan) University, Guangzhou 510060, China)

Abstract: To understand the distribution of a common exon 5 polymorphism of green pigment gene in trichromats between the patients with retinitis pigmentosa (RP) and the normals without RP, the genomic DNA of leukocyte was prepared from 108 male trichromats. Sixteen one of them were with RP and 47 were normals. Exon 5 of green pigment gene of each trichromat was analysed by PCR heteroduplex SSCP method. The component of green pigment gene was determined by comparison with the patterns of known sequence. It was 2.9 in the RP trichromats but 4.0 in the non-RP trichromats for the gene frequency (the ratio of g to p) . Moreover, it was 5.4/1.3/1.0 in the RP trichromats but 5.3/0.4/1.0 in the non-RP trichromats for the genotype frequency (the ratio of g, gp to p) . There is a biased distribution of the common exon 5 polymorphism of green pigment gene in the two groups of trichromats(RP trichromats and non-RP trichromats) .

Key words: green pigment gene; exon; polymorphism distribution; normal trichromat; retinitis pigmentosa