

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00716

应用 mAPLP 方法分析湖南汉族、苗族和土家族 mtDNA 编码区多态性

周海燕¹, 倪斌¹, 邹永华¹, 张蕊², 陈勇¹

1. 湖南省计划生育研究所省现代优生技术重点实验室, 长沙 410008;
2. 黑龙江省计划生育研究所遗传室, 哈尔滨 150020

摘要: 为建立线粒体 DNA 编码区 SNP 快速分型方法, 在线粒体 DNA 编码区选取 16 个 SNP 位点(5178A, 10398A, 14979C, 8020A, 13104G, 11959G, 10400T, 14178C, 3970T, 5417A, 11969A, 12811C, 10873T, 4580A, 7028C, 12612G), 采用多重扩增产物片段长度多态性分析方法, 对湖南地区汉族、苗族和土家族各 100 人进行了 mtDNA 编码区多态性分析。结果显示 SNP 3970T 在汉族和土家族人群中的分布频率(均为 17%)与苗族相比(8%)存在明显差异($P < 0.01$), SNP 8020A 在汉族人群中的分布频率(6%)与苗族和土家族人群(分别为 2% 和 0%)相比存在差异($P < 0.05$)。在所分析的 300 名个体中, 共检测到 45 种单倍型, 3 个民族共有的单倍型 12 种, 两个民族共有的有 10 种, 有 23 种单倍型仅在 1 个民族中出现, 其中汉族特异性的单倍型有 8 种, 苗族特异性的有 6 种, 土家族特异性的单倍型有 9 种。mAPLP 是通过设计两条不同的正向或反向引物(使 PCR 扩增片段长度不同)和 1 条共用的反向或正向引物, 使两个等位特异扩增片段大小不同, 从而达到 SNP 分型。

关键词: 线粒体 DNA; 单核苷酸多态; 单倍型

Detection of mtDNA coding region variants using mAPLP in Han, Miao and Tujia populations from Hunan Province

ZHOU Hai-Yan¹, NI Bin¹, ZOU Yong-Hua¹, ZHANG Rui², CHEN Yong¹

1. Hunan Provincial Key Laboratory of Reproductive Health, Family Planning Institute of Hunan Province, Changsha 410008, China;
2. Family Planning Institute of Heilongjiang Province, Harbin 150020, China

Abstract: To find a rapid single nucleotide polymorphism (SNP) loci typing method in the mitochondrial DNA (mtDNA) coding regions, we genotyped 16 SNP loci in the mitochondrial DNA coding region in Han, Miao and Tujia populations by the multiplex-amplified product-length polymorphism (mAPLP) technique. This method generates allele-specific fragments that are different in length through PCR amplification using allele-specific forward (or reverse) primers different in size and a common reverse (or forward) primer. Results showed that both of the allelic frequency of 3970T in Han and Tujia populations were 17%, which were significantly different from that of in the Miao population ($P < 0.01$). The allelic frequency of 8020A in Han population was 6%, which was different from that of in the Miao and Tujia populations ($P < 0.05$). In all of 300 samples, a total of 45 different haplotypes were identified, 12 of which were found in all the three populations, 10 were shared by two populations and 23 haplotypes existed only in one of the populations. Among these 23 haplotypes, 8, 6 and 12 haplotypes were exclusively observed in the Han, Miao and Tujia populations, respectively.

收稿日期: 2007-10-18; 修回日期: 2008-02-25

基金项目: 湖南省应用基础科研项目(编号: 06SK3108)资助[Supported by Applied Basic Research Project of Hunan Province (No. 06SK3108)]

作者简介: 周海燕(1977-), 女, 山东泰安人, 硕士, 助理研究员, 专业方向: 分子遗传学。Tel: 0731-4498979; E-mail: zhouhaiyan111@yahoo.com.cn

通讯作者: 倪斌(1962-), 男, 湖南桃源人, 博士, 研究员, 研究方向: 医学遗传学。Tel: 0731-4498979; E-mail: xdysjs@163.com

Keywords: mitochondrial DNA; single nucleotide polymorphism; haplotype

线粒体是人类细胞核外含有遗传物质的细胞器。具有多拷贝、母系遗传、突变率高、重组率低等分子遗传学特性^[1]。由于mtDNA存在于细胞质的线粒体中,平均每个细胞中含有数百至数千个拷贝,且呈环状结构,不易降解,此外,对于毛干、指甲等无细胞核的检材只能提取mtDNA。基于上述特点,mtDNA在法医学个体识别方面具有重要的应用价值。目前对mtDNA多态性的研究主要集中在非编码区中由610个碱基组成的两个高突变区,但由于这两个区域不能够提供足够的多态信息量,识别能力有限,因此,对mtDNA编码区进行SNP研究,能够提高mtDNA的个体识别能力^[2,3]。

本文利用多重扩增产物片段长度多态性分析方法(multiplex-amplified product-length polymorphism, mAPLP)对湖南汉族、苗族和土家族各100例个体mtDNA编码区16个多态位点进行了初步研究,为进一步建立少数民族mtDNA编码区SNP数据库以及开展法医鉴定和个体识别奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

按照知情同意的原则,抽取湖南汉族、苗族和土家族群体中各100名无亲缘关系个体外周血,EDTA抗凝,4℃保存。

1.2 方法

1.2.1 引物设计

根据 revised Cambridge Reference Sequence (rCRS)序列设计引物,由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.2.2 模板DNA制备

采用经典酚/氯仿方法提取DNA。

1.2.3 PCR扩增

PCR扩增体系:总体积20 μL,模板DNA约60 ng, 2 mmol/L dNTP 1.2 μL, 1×PCR反应缓冲液, 1 U *Taq* DNA聚合酶。各种引物浓度及多重PCR分组见表1。

1.2.4 电泳分析

扩增产物经8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,电压360 V,电泳时间2 h,硝酸银染色后观察。

2 结果

2.1 mAPLP方法对单个SNP等位基因的检测

用我们设计的16套引物均能准确地对各SNP基因座的2个等位基因进行明确分型,其中两条单一条带相差4~7 bp。

2.2 mAPLP检测

16个SNP基因座,共发现45种单倍型,各种基因型的分布频率及45种单倍型频率见表2和表3。

3 讨论

编码区信息对mtDNA数据的系统分析是必不可少的。仅通过mtDNA高变区对人群进行系统的世系发育分析,这样做的信息量不足以构建一棵mtDNA的真实系统树,得出的结果一般不能完全反映真实的系统关系。利用mtDNA对人群进行系统分析时,应对编码区的数据进行分析,这样可能更加准确、有效地界定群体的mtDNA世系发育关系^[4-8]。因此,本研究选择了16个位于mtDNA编码区的多态位点进行研究。

3.1 湖南汉族、苗族和土家族人群mtDNA编码区SNP分布特点

我们选择了16个位于mtDNA编码区的多态位点对湖南地区汉族、苗族和土家族群体进行了初步研究,这在国内尚属首例。我们所检测的湖南地区汉族和土家族人群位点3970T多态性频率均为17%,与苗族人群相比(8%)存在显著的差异($P<0.01$);位点8020A在汉族人群中多态性频率为6%,与苗族人群(2%)和土家族人群(0%)相比均存在统计学上的差异($P<0.05$)。这些结果提示在湖南省的土家族、苗族中可能存在与汉族群体不同的mtDNA编码区突变热点,这值得扩大样本量进一步深入研究。

表 1 16个多态位点及各引物浓度

Table 1 Names, sequences and concentrations of primers using in genotyping the 16 SNP loci

分组 Set	引物名称 Primer name	序列 Sequence (5' 3')	浓度 Concentration (pmol/20 mL)	产物大小 Product size(bp)
A	10398A	atcactCTACAAAgAGGATTAGACTGAA	4.3	151
	10398G	CTACAAgAAGGATTAGACTGrG	4.3	145
	10398R	CTAGAAGTGAGATGGTAAATGC tgat	4.3	
	5178A	caaCGCACCTGAAACAAGA	2.8	107
	5178C	gTCGCACCTGAAgCAAGC	2.0	102
	5178R	CCCATTGgGCAAAAAGCC tataAGACG	2.0	
	14979T	TAAATTaAGGCTGAAT AGACGTAAAT	3.1	86
	14979C	TATGGCaGAAC	2.4	82
	14979R	GATGTGTAGGAAGAGGCAGA taa	2.4	
	8020A	GACAATCGAGTAGTtCTCCCA	3.3	78
	8020G	ACAATCGAGTAGTACaCCCG	6.6	74
	8020R	TCATGAGTGCAAGACGTCT	3.3	
	13104A	attAGCACTATAGTTGTtGCAGGA AG	2.2	70
B	13104G	CACTATAGTTGTAGCtGGG	2.2	67
	13104R	aTGGGCTATTTTCTGCTAGG aaaTCC	2.2	
	11959A	TACTTACAGGACTCtACATA	2.0	58
	11959G	TCCTACTTACAGGACTCAtCATG	2.0	55
	11959R	AATATGTAGAGGGAGTATAGGG	2.0	
	11969A	ttaaAATATGTAGAGGGAGTaaAGGGT	1.4	127
	11969G	AATATGTAGAGGGAGTAtGGGC	1.1	121
	11969F	CCACTATTAACCTACTGGGAG ag	1.4	
	12811T	gaTCTTGCTCATCAGTTGtTGAT	1.6	79
	12811C	TCTTGCTCATCAGTaGATGAC	3.2	75
	12811R	atCGGTTGTATAGGATTGCTTG	1.6	
C	10400T	taattaTACAAAAAGGATTAGACTGtgCT	2.4	149
	10400C	TACAAAAAGGATTAGACaGAACC	3.0	142
	10400R	GAAGTGAGATGGTAAATGCTAG	3.0	
	14178T	atttCCGAGCAATCTCAATaACAAT CCGAG	2.9	79
	14178C	CAATCTCAATTtCAAC	2.9	75
	14178R	aATGGGCGTTGATTAGTAG	2.9	
	3970T	taaaaTGTATTCGGCTATGAAGAtTAA	3.1	70
	3970C	GTGTATTCGGCTATGAAGtATAG	1.6	66
	3970F	AGTCTCAGGCTTCAACATCG	2.1	
	5417A	aattGTGGGTTTTGTATGTaCAAAT	3.8	62
	5417 G	GTGGGTTTTGTATGTTCtAAC	1.2	58
	5417F	TACTCCCCATATCTAACAAACG	3.1	
D	10873T	aatataCCTAATTATTAGCATCaCCCT	3.3	136
	10873C	CCTAATTATTAGCATCATtCCC tGGTA	4.1	130
	10873R	GAGTCAGGTAGTTAG	4.1	
	4580A	aaaGGTTAGAACTGGAATAAAAGCaAGT	2.0	106
	4580G	TTAGAACTGGAATAAAAtGCTAGC	2.0	101
	4580F	TACCATCTTTGCAGGCAC ttCGACACG	2.0	
	7028T	TACTACGTaGTAGCT ACACGTAC	1.5	59
	7028C	TACGaTGTAGCCG	1.3	56
	7028R	AATACAGCTCCTATTGATAGGAC	1.5	
	12612A	taaCTCCATAATATTCAaCCCTGTA	2.5	53
	12612G	CTCCATAATATTCAttCCTGTG	2.0	50
	12612R	CTATGATGGACCATGTAACG	2.5	

注：表中所列引物中不能互补的核苷酸用小写字母标示。

Note: The non-complementary nucleotides in the primers are written in small letters.

表 2 湖南汉族、苗族、土家族群体 16 个 mtDNA SNP 基因座的等位基因频率
Table 2 Allele frequencies of 16 mtDNA SNP loci in Hunan Han, Miao and Tujia populations

SNP 基因座 SNP locus	基因型 Genotype	例数 (等位基因频率) <i>n</i> (Frequency)		
		汉族 Han	苗族 Miao	土家族 Tujia
3970*	T	17 (17%)	8 (8%)	17 (17%)
	C	83 (83%)	92 (92%)	83 (83%)
10398	A	35 (35%)	29 (29%)	32 (32%)
	G	65 (65%)	71 (71%)	68 (68%)
10400	C	41 (41%)	33 (33%)	39 (39%)
	T	59 (59%)	67 (67%)	61 (61%)
5178	A	17 (17%)	12 (12%)	17 (17%)
	C	83 (83%)	88 (88%)	83 (83%)
10873	T	20 (20%)	22 (22%)	29 (29%)
	C	80 (80%)	78 (78%)	72 (71%)
12612	A	0	0	0
	G	100 (100%)	100 (100%)	100 (100%)
11969	A	0	5 (5%)	4 (4%)
	G	100 (100%)	95 (95%)	96 (96%)
12811	C	7 (7%)	12 (12%)	5 (5%)
	T	93 (93%)	88 (88%)	95 (95%)
14178	T	0	1 (1%)	1 (1%)
	C	100 (100%)	99 (99%)	99 (99%)
5417	A	4 (4%)	0	1 (1%)
	G	96 (96%)	100 (100%)	99 (99%)
4580	A	0	0	0
	G	100 (100%)	100 (100%)	100 (100%)
11959	A	0	0	0
	G	100 (100%)	100 (100%)	100 (100%)
13104	G	1 (1%)	1 (1%)	1 (1%)
	A	99 (99%)	99 (99%)	99 (99%)
8020*	A	6 (6%)	2 (2%)	0
	G	94 (94%)	98 (98%)	100 (100%)
7028	T	0	1 (1%)	0
	C	100 (100%)	99 (99%)	100 (100%)
14979	C	2 (2%)	0	0
	T	98 (98%)	100 (100%)	100 (100%)

*: 表示存在统计学上的差异。
*: Represents statistically significant difference between two ethnic groups.

3.2 群体数据分析

在湖南地区汉族、苗族和土家族 3 个民族 300 名个体中检测到 45 种单倍型, 3 个民族共有的单倍型 12 种, 两个民族共有的有 10 种, 有 23 种单倍型仅在一个民族中出现, 其中, 汉族特异性的单倍型

有 8 种, 苗族特异性的有 6 种, 土家族特异性的单倍型有 9 种。表明不同民族在单倍型频率上存在差异。

3.3 mAPLP 技术在 mtDNA 多态性分析中的优势

mtDNA 测序是检测 mtDNA 序列多态性的最常用方法之一, 该方法具有准确度与灵敏度高、结果

表 3 16 个 mtDNA SNP 基因座在湖南汉族、苗族和土家族群体的单倍型分布

Table 3 Haplotypes of 16 mtDNA SNP loci in Han, Miao and Tujia populations from Hunan

编号 Number	频率 Frequency																单倍型 Haplotype		
	3970	10398	10400	5178	10873	12612	11969	12811	14178	5417	4580	11959	13104	8020	7028	14979	汉族 Han	苗族 Miao	土家族 Tujia
H1	C	G	T	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.27	0.36	0.33
H2	C	G	T	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.09	0.04	0.08
H3	C	A	C	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.09	0.10	0.04
H4	C	A	C	C	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.07	0.07	0.02
H5	C	G	C	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.06	0.02	0.07
H6	C	G	T	C	C	G	G	C	C	G	G	G	A	G	C	T	0.05	0.10	0.02
H7	C	A	T	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.03	0.01	0.05
H8	C	G	C	C	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.02	0.04	0.03
H9	C	G	T	C	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.02	0.04	0.06
H10	T	G	T	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.02	0.01	0.01
H11	T	A	C	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.07	0.04	0.03
H12	C	G	T	A	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.01	0.01	0.01
H13	T	A	C	C	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.03	0.02	0.00
H14	C	G	T	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	A	C	T	0.03	0.01	0.00
H15	C	G	T	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	A	C	T	0.02	0.01	0.00
H16	C	G	T	C	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.01	0.01	0.00
H17	C	A	C	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.01	0.01	0.00
H18	C	A	T	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.01	0.01
H19	C	A	C	A	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.01	0.04
H20	C	G	T	C	C	G	A	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.02	0.03
H21	C	A	T	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.02	0.00	0.01
H22	T	G	C	C	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.01	0.00	0.01

续表

编号 Number	频率 Frequency																单倍型 Haplotype		
	3970	10398	10400	5178	10873	12612	11969	12811	14178	5417	4580	11959	13104	8020	7028	14979	汉族 Han	苗族 Miao	土家族 Tujia
H23	C	G	C	C	T	G	G	T	C	A	G	G	A	G	C	T	0.02	0.00	0.00
H24	T	A	C	C	T	G	G	T	C	A	G	G	A	G	C	T	0.01	0.00	0.00
H25	C	A	C	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	A	C	T	0.01	0.00	0.00
H26	C	G	T	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	C	0.01	0.00	0.00
H27	C	G	T	C	C	G	G	T	C	G	G	G	G	G	C	T	0.01	0.00	0.00
H28	T	G	T	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.01	0.00	0.00
H29	C	G	C	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	C	0.01	0.00	0.00
H30	T	A	C	C	C	G	G	C	C	G	G	G	A	G	C	T	0.01	0.00	0.00
H31	C	G	T	C	C	G	A	T	C	G	G	G	A	G	T	T	0.00	0.01	0.00
H32	C	G	T	C	C	G	G	T	T	A	G	G	A	G	C	T	0.00	0.01	0.00
H33	C	G	T	A	C	G	G	T	C	G	G	G	G	G	C	T	0.00	0.01	0.00
H34	C	G	C	C	C	G	A	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.01	0.00
H35	T	G	T	C	C	G	A	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.01	0.00
H36	C	A	C	C	T	G	G	C	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.01	0.00
H37	T	A	C	A	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.00	0.07
H38	T	G	C	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.00	0.02
H39	C	G	C	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.00	0.02
H40	C	A	C	A	T	G	G	T	T	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.00	0.01
H41	C	A	C	A	T	G	G	T	C	A	G	G	A	G	C	T	0.00	0.00	0.01
H42	C	G	C	A	T	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.00	0.01
H43	T	A	T	C	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.00	0.01
H44	T	A	C	A	C	G	G	T	C	G	G	G	A	G	C	T	0.00	0.00	0.01
H45	C	G	T	C	T	G	G	C	C	G	G	G	G	G	C	T	0.00	0.00	0.01

稳定等特点, 但此技术费用昂贵。微测序与DNA芯片技术进行SNP检测虽然有特异性好、能实现自动化、高通量分析等优点, 但这两种方法也同样存在技术条件要求高, 成本高等缺点, 在普通实验室难以得到应用^[9,10]。mAPLP可在同一管中同时检测多个野生型和突变型等位基因。其原理是: 正向引物(或反向引物)为针对SNP碱基设计的两条等位基因特异性引物, 两条引物相差 5~9 个碱基, 反向引物(或正向引物)为公共引物。这样, 野生型和突变型的基因型为一条长度不同的单一条带。本研究结果证明此方法是一种经济、快速、准确、有效的SNP分型方法。它在法医学实践及多种母源性疾病的关联性研究中均具有广阔应用前景。

参考文献(References):

- [1] GUO Xiao-Hua, JIANG Pi-Wen. Molecular genetics characteristics of human mitochondrial DNA. *Bulletin of Biology*, 2003, 38(12): 19–20.
郭晓华, 江丕文. 人类线粒体DNA的分子遗传特性. *生物学通报*, 2003, 38(12): 19–20.
- [2] CHEN Wei, LI Yu, CHEN Yu, FENG Hui-Chen, FU Song-Bin, ZHANG Gui-Yin, LI Pu. A study on polymorphism of mitochondrial DNA D loop in the Han nationality in China. *Chin J Med Genetics*, 1999, 16(4): 246–248.
陈伟, 李钰, 陈宇, 冯会臣, 傅松滨, 张贵寅, 李璞. 中国北方汉族人 mtDNA D 环多态性研究. *中华医学遗传学杂志*, 1999, 16(4): 246–248.
- [3] GAO Lu, DONG Yong-Li, HAO Zhao-Jing, WANG Ou, YANG Zhi-Li, SU Yan-Hua, ZHENG Bing-Rong, ZAN Rui-Guang, XIAO Chun-Jie. Genetic polymorphism of mitochondrial DNA in coding region in 16 ethnic population of Yunnan. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(2): 118–123.
高路, 董永利, 郝肇菁, 王欧, 杨智丽, 苏艳华, 郑冰蓉, 曾瑞光, 肖春杰. 云南 16 个少数民族群体的线粒体 DNA 多态性研究. *遗传学报*, 2005, 32(2): 118–123.
- [4] SUN Hong-Yu, OU Ning-Feng, LU Hui-Ling, CAI Gui-Qing, CHEN Li-Xian, WU Xin-Yao. The study on the polymorphism of the mitochondrial DNA control region in Han population in Guangdong Province. *Chin J Forensic*, 2004, 19(6): 334–339.
孙宏钰, 欧宁峰, 陆惠玲, 蔡贵庆, 陈丽娴, 伍新尧. 中国广东汉族群体 mtDNA 控制区的多态性. *中国法医学杂志*, 2004, 19(6): 334–339.
- [5] QI Xiao-Lan, XIE Yuan, SHAN Ke-Ren, CHU Xun, LIU Xuan, LI Yi, ZHAO Yan, WU Chang-Xue, MA Jiao, XIU Jin, REN Xi-Lin. The sequence polymorphism of Y-chromosome DNA and mtDNA of Dong ethnic of Congjiang Guizhou. *Hereditas(Beijing)*, 2005, 27(1): 30–34.
齐晓岚, 谢渊, 单可人, 褚迅, 刘烜, 李毅, 赵艳, 吴昌学, 马骄, 修瑾, 任锡麟. 贵州从江侗族 Y-DNA 及线粒体 DNA 序列多态性分析. *遗传*, 2005, 27(1): 30–34.
- [6] WANG Jin-Feng, WANG Li, ZHANG Duan-Yang, YIN Chang-Cheng, JIN Feng. Studies of mtDNA haplotype polymorphism of rongcheng population in China. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(12): 1098–1106.
王金凤, 王沥, 张端阳, 尹长城, 金锋. 山东荣成人线粒体 DNA 多态性研究. *遗传学报*, 2001, 28(12): 1098–1106.
- [7] Sigurdsson S, Hedman M, Sistonen P, Sajantila A, Syvänen AC. A microarray system for genotyping 150 single nucleotide polymorphisms in the coding region of human mitochondrial DNA. *Genomics*, 2006, 87: 534–542. [\[DOI\]](#)
- [8] Kazuo U, Masashi T, Isao Y, Noboru A, Aya M, Seiichi K, Kyung P, Yau HW, Gotaro W, Motoki O. Multiplex amplified product-length polymorphism analysis of 36 mitochondrial single-nucleotide polymorphisms for haplogrouping of East Asian populations. *Electrophoresis*, 2005, 26, 91–98. [\[DOI\]](#)
- [9] Chen X, Sullivan PF. Single nucleotide polymorphism genotyping: biochemistry, protocol, cost and throughput. *Nature*, 2003, 3: 77–96.
- [10] GAO Xiu-Li, JING Feng-Xiang, YANG Jian-Bo, ZHAO Jian-Long. Detection of single nucleotide polymorphisms. *Hereditas(Beijing)*, 2005, 27(1): 110–122.
高秀丽, 景奉香, 杨剑波, 赵建龙. 单核苷酸多态性检测分析技术. *遗传*, 2005, 27(1): 110–122.