

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.01.006

跳远运动员血管紧张素转化酶基因插入/缺失多态性研究^{*}

张 坤¹,江 雪²,鲜贵平¹,胡小川¹,张俊英¹,杨 浩¹,余大伟¹,邓文骞³,戴小珍^{1△}

(1.成都医学院生物医学系,成都 610500;2.重庆市第一人民医院皮肤科 400011;

3.成都体育学院运动医学系,成都 610041)

摘 要:**目的** 研究汉族跳远运动员血管紧张素转化酶(ACE)基因插入/缺失(I/D)多态分布特点。**方法** 采用 PCR 扩增、DNA 测序、Hardy-Weinberg 遗传平衡定律、SPSS 统计学分析跳远运动员 ACE 基因 I/D 多态性特点,并与普通人群。**结果** ACE 基因 16 号存在 II、DD、ID 3 种,Hardy-Weinberg 检验结果显示该研究受试对象具有群体代表性。跳远运动员 ACE 基因 DD 型和 D 等位基因明显高于普通汉族人群($P<0.05$)。**结论** ACE 基因 DD 型和 D 等位基因可作为跳远运动员遗传选材的分子标记。

关键词:体育运动;跳远运动员;肽基二肽酶 A;I/D 多态
中图分类号:R394.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-8348(2015)01-0018-03

Polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene I/D of broad jumpers^{*}

Zhang Kun¹,Jiang Xue²,Xian Guiping¹,Hu Xiaochuan¹,Zhang Junying¹,

Yang Hao¹,Yu Dawei¹,Deng Wenqian³,Dai Xiaozhen^{1△}

(1. School of Biological Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan 610500, China;

2. Department of Dermatology, the First People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400011, China;

3. School of Sports Medicine, Chengdu Sports College, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract:**Objective** To explore the characteristic of ACE gene I/D polymorphism in Han broad jumpers. **Methods** Distribution of ACE gene I/D polymorphism for broad jumpers was analyzed by PCR, DNA sequencing, Hardy-Weinberg and SPSS, and the results were compared with that of normal people. **Results** There were II, DD and ID in gene ACE 16, and the Hardy-Weinberg results showed that the subjects were group representative. The ACE DD genotype and D allele in broad jumpers was statistically higher than normal controls ($P<0.05$). **Conclusion** The results suggest that ACE DD genotype and D allele are associated with training sensitivity of broad jumpers and could be the molecular marker for athletes choosing genetically.

Key words: sports; long jumper; Peptidyl-dipeptidase A; I/D Polymorphism

遗传因素影响人类的运动能力,并决定了运动训练的敏感性^[1]。因此,寻找与运动能力相关的遗传标记对运动员的早期选材和科学训练具有重要的意义。现阶段,血管紧张素转化酶(ACE)是国内外最受关注的运动能力相关基因。许多研究表明,ACE 基因第 16 号内含子中有一段 Alu 重复序列构成的插入(I)和缺失(D)多态性,ACE 基因插入/缺失(I/D)多态不仅与人类心血管疾病相关,而且是运动训练敏感性的遗传标记^[2-3]。目前,各人群 ACE 基因多态性相关研究较多,但国内跳远运动员这一特殊群体的相关基因多态性的研究尚未见报道。本研究目的在于研究国内汉族跳远运动员 ACE 基因 I/D 多态特点,为进一步探讨跳远运动员的群体遗传背景提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取成都体育学院跳远运动员 75 例为运动员组,男 46 例,女 29 例,年龄(22.0 ± 1.4)岁,BMI(23.2 ± 2.5)kg/m²,国家二级运动员以上,接受专业训练(6.0 ± 1.5)年。另选取非体育专业在校大学生 120 例为对照组,男 68 例,

女 52 例,年龄(22.0 ± 1.2)岁,未经任何专业训练。受试人员均为汉族,身体健康,排除家族有心血管病史,随机抽取符合要求的受试者用于研究,抽样具有普遍性。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 取静脉空腹血 4 mL 于 2%乙二胺四乙酸(EDTA)的离心管(EP 管)中,酚氯仿法提取 DNA,检测符合聚合酶链反应(PCR)要求的 DNA 浓度和纯度($1.7<OD_{260}/OD_{280}<2.0$),将提取的 DNA 4℃保存待用。

1.2.2 PCR 引物的设计与合成 引物序列由华大基因公司合成。ACE 基因上游引物为 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3',下游引物为 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3',序列长度 49 bp。

1.2.3 PCR 反应体系及条件 总体系 25 μL;ddH₂O 17 μL、dNTP 1 μL、10×buffer 2.5 μL、引物各 1.0 μL、模板 2.0 μL、Taq 酶 0.5 μL。反应条件 94℃预变性 4 min,94℃变性 30 s,58℃退火 30 s,72℃延伸 1 min,共 30 个循环,72℃延伸 10 min,延伸循环完毕,取出 EP 管,置于 4℃冰箱待测。

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81301919);国家自然科学基金资助项目(81200917);省级大学生创新创业训练计划项目(201313705026);成都医学院大学生创新实验计划(CXJS201310)。 作者简介:张坤(1984—),讲师,博士,主要从事遗传学方向研究。 △ 通讯作者,Tel:13678083357;E-mail:xiaozhendai2012@163.com。

1.2.4 琼脂糖凝胶电泳 2%琼脂糖电泳,80 V 电压,30 min,电泳后取出凝胶块放置于凝胶成像分析仪内,观察记录电泳条带并留取图片。

1.2.5 实验数据处理 采用基因型和等位基因频率经遗传平衡定律(Hardy-Weinberg)检验,以确认受试人群是否具有群体代表性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行分析,组间采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ACE 基因型的鉴定 ACE 基因 16 号内含子具有 I/D 多态性,存在 II、DD、ID 3 种基因型,经上述 PCR 扩增,2%琼脂糖凝胶电泳后呈现 3 种条带:仅有 490 bp 条带的为插入纯合子(II、DD、ID 型),仅有 190 bp 条带的为缺失纯合子(DD 型),有 490 bp 和 190 bp 两种条带的为插入缺失杂合子(ID 型),见图 1。

2.2 ACE 基因多态分布的 Hardy-Weinberg 检验 Hardy-Weinberg 检验结果表明,本研究所选择的受试对象具有群体

代表性($P>0.05$),见表 1。

2.3 跳远运动员 ACE 基因多态分布与普通人群比较 跳远运动员和普通人群比较,ACE 基因型和等位基因分布差异有统计学意义($\chi^2=8.28, P=0.016; \chi^2=8.35, P=0.004$),跳远运动员 DD 基因型和 D 等位基因分布明显高于普通人群($\chi^2=4.79, P=0.029; \chi^2=8.35, P=0.004$),见表 2。

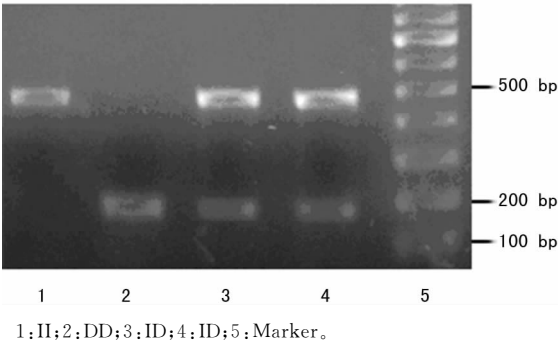


图 1 ACE 基因型电泳图

表 1 ACE 基因多态分布 Hardy-Weinberg 检验[n(%)]

组别	n	基因型			等位基因		H-W 平衡检验	
		II	ID	DD	I	D	χ^2	P
运动员组	75	13(17.3)	35(46.7)	27(36.0)	61(40.7)	89(59.3)	0.081	0.775
对照组	120	41(34.2)	53(44.2)	26(21.6)	135(56.3)	105(43.7)	1.260	0.261
合计	195	54(27.7)	88(45.1)	53(27.2)	196(50.3)	194(49.7)	1.850	0.174

表 2 跳远运动员与普通人群比较

组别	n	基因型频率(%)			χ^2	P	等位基因频率(%)		χ^2	P
		II	ID	DD			I	D		
跳远运动员	75	17.3	46.7	36.0			40.7	59.3		
对照组	120	34.2	44.2	21.6	8.28	0.016	56.3	43.7	8.35	0.004
χ^2		6.530	0.037	4.790			8.350	8.350		
P		0.011	0.847	0.029			0.004	0.004		

3 讨 论

3.1 跳远运动员 ACE 基因 I/D 多态与普通人群比较 随着现代分子生物学技术的不断发展,众多学者开始从基因水平去揭示人类运动能力存在差异的遗传学机制,以解决优秀运动员的早期选材问题^[4-5]。ACE 基因定位于 17q23,第 16 号内含子具有插入/缺失(I/D)多态,有 II、DD 和 ID 等 3 种基因型^[6-7]。有研究表明,ACE 基因 I/D 多态不仅影响运动员的运动能力,还决定了运动训练的敏感性,是运动员科学选材的遗传标记^[8-9]。跳远是田径竞技运动的重要项目,但是国内跳远运动员这一特殊群体的运动能力相关基因研究在国内尚未见报道。本研究旨在探明跳远运动员 ACE 基因 I/D 多态分布的特点,为跳远运动员科学选材提供理论依据。本研究结果显示,跳远运动员 ACE 基因型频率 ID>DD>II,等位基因频率 D>I,与普通汉族人群相比 ACE 基因 I/D 多态具有显著差异,DD 基因型和 D 等位基因明显高于普通人群,这提示 DD 基因型和 D

等位基因可作为跳远运动员科学选材的分子标记。

3.2 不同专项运动员 ACE 基因 I/D 多态分布 研究表明,ACE 基因 I/D 多态分布与运动员专项运动能力相关。随着运动距离的增加,I 等位基因在长距离耐力型运动员中的出现频率明显高于对照组($P<0.05$)^[10]。ACE 基因 I/D 多态性不仅与运动耐力素质相关,与运动员速度力量素质也存在联系。Papadimitriou 等^[11]研究发现,最大力量型和速度型运动员与耐力型运动员相比,D 等位基因频率明显增高。Costa 等^[12]对 39 名奥林匹克短距离速度型游泳运动员(≤ 200 m)的研究表明,携带 D 等位基因的运动员比赛成绩及训练敏感性明显高于其他组群。为分析国内不同专项运动员 ACE 多态分布特点,将本次研究与国内其他相关文献研究结果进行了对比。与耐力性运动员相比(马拉松和游泳)^[13-14],跳远运动员 DD 基因型和 D 等位基因频率明显增高($P<0.05$),与力量型运动员相比(武术和举重)^[15-16],ACE 基因型和等位基因频率差异无统

计学意义($P>0.05$),这表明不同专项运动员 ACE 基因 I/D 多态分布不同。上述研究显示不同专项运动员 ACE 基因 I/D 多态分布不同,速度力量项目运动运动员 D 等位基因出现频率较高,这提示 ACE 基因 I/D 多态可作为专项运动员基因选材的遗传标记。本研究也证实了这一特点,速度力量型的跳远运动员 D 等位基因明显高于对照组,提示 D 等位基因可作为速度力量型专项运动遗传选材的分子标记。

综上所述,ACE 基因 I/D 多态性可能与跳远运动员运动能力相关,ACE DD 基因型和 D 等位基因可作为跳远运动员遗传选材的分子标记。目前,ACE 基因影响运动能力的机制并不十分清楚,进一步分析 ACE 基因 I/D 多态与肌纤维类型、线粒体密度及活性等关系有利于从更深的水平上认识 ACE 基因与运动能力关系。

参考文献:

- [1] Tucker R, Santos-Concejero J, Collins M. The genetic basis for elite running performance[J]. Br J Sports Med, 2013, 47(9): 545-549.
- [2] Ma F, Yang Y, Li X, et al. The association of sport performance with ACE and ACTN3 genetic polymorphisms: a systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e54685.
- [3] Rasyid H, Bakri S, Yusuf I. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms, blood pressure and pulse pressure in subjects with essential hypertension in a South Sulawesi Indonesian population[J]. Acta Med Indones, 2012, 44(4): 280-283.
- [4] Eynon N, Hanson ED, Lucia A, et al. Genes for elite power and sprint performance: ACTN3 leads the way[J]. Sports Med, 2013, 43(9): 803-817.
- [5] Tucker R, Collins M. What makes champions? A review of the relative contribution of genes and training to sporting success[J]. Br J Sports Med, 2012, 46(8): 555-561.
- [6] Allison SJ. Hypertension; Role of renal ACE in response to hypertensive stimuli[J]. Nat Rev Nephrol, 2013, 9(7):

372.

- [7] Pereira A, Costa AM, Izquierdo M, et al. ACE I/D and ACTN3 R/X polymorphisms as potential factors in modulating exercise-related phenotypes in older women in response to a muscle power training stimuli[J]. Age (Dordr), 2012, 35(5): 1949-1959.
- [8] Di Cagno A, Sapere N, Piazza M, et al. ACE and AGTR1 polymorphisms in elite rhythmic gymnastics[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2013, 17(2): 99-103.
- [9] Soubrier F. From an ACE polymorphism to genome-wide searches for eQTL[J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 111-112.
- [10] Cieszczyk P, Krupecki K, Maciejewska A, et al. The angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in Polish rowers[J]. Int J Sports Med, 2009, 30(8): 624-627.
- [11] Papadimitriou ID, Papadopoulou C, Kouvatzi A, et al. The ACE I/D polymorphism in elite Greek track and field athletes[J]. J Sports Med Phys Fitness, 2009, 49(4): 459-463.
- [12] Costa AM, Silva AJ, Garrido ND, et al. Association between ACE D allele and elite short distance swimming[J]. Eur J Appl Physiol, 2009, 106(6): 785-790.
- [13] 席翼, 张秀丽, 胡杨, 等. 中国优秀马拉松运动员 ACE 基因 I/D 多态性频率分布特[J]. 中国运动医学杂志, 2006, 25(4): 391-393.
- [14] 高炳宏, 陈佩杰, 董强刚, 等. 上海地区汉族优秀游泳运动员 ACE 基因 I/D 多态性研究[J]. 中国运动医学杂志, 2006, 25(5): 517-521.
- [15] 余黎霞, 宋磊刚. 武术散打运动员 ACE 基因 I/D 多态性研究[J]. 现代预防医学, 2010, 37(5): 893-896, 899.
- [16] 孙小敏, 甄文娟, 王煜, 等. 运动员血管紧张素转换酶基因插入或缺失多态性研究[J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23(5): 546-547.

(收稿日期: 2014-09-15 修回日期: 2014-10-19)

(上接第 17 页)

- endothelial cells[J]. Molecular Cell, 2011, 44(4): 545-558.
- [11] Choi MH, Lee IK, Kim GW, et al. Regulation of PDGF signalling and vascular remodelling by peroxiredoxin II[J]. Nature, 2005, 435(7040): 347-353.
- [12] Zhang B, Wang Y, Su Y. Peroxiredoxins, a novel target in cancer radiotherapy[J]. Cancer Lett, 2009, 286(2): 154-160.
- [13] Shiota M, Yokomizo A, Kashiwagi E, et al. Peroxiredoxin 2 in the nucleus and cytoplasm distinctly regulates androgen receptor activity in prostate cancer cells[J]. Free

Radic Biol Med, 2011, 51(1): 78-87.

- [14] Lee KW, Lee DJ, Lee JY, et al. Peroxiredoxin II restrains DNA damage-induced death in cancer cells by positively regulating JNK-dependent DNA repair[J]. J Biol Chem, 2011, 286(10): 8394-8404.
- [15] Agrawal-Singh S, Isken F, Agelopoulos K, et al. Genome-wide analysis of histone H3 acetylation patterns in AML identifies PRDX2 as an epigenetically silenced tumor suppressor gene[J]. Blood, 2012, 119(10): 2346-2357.

(收稿日期: 2014-09-12 修回日期: 2014-10-14)