

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2020.02.027

四川地区 ODF1 基因多态性与特发性弱精子症的相关性研究

邓丹¹, 丁显平^{1,2}, 何娇雨¹, 林小莉¹

(1. 四川大学生命科学学院, 成都 610064; 2. 特色生物资源研究与利用川渝共建重点实验室, 成都 610064)

摘要: 本研究探讨四川地区外周致密纤维 1(outer dense fiber1, ODF1)基因多态性与男性特发性弱精子症的相关性. 选取 106 例特发性弱精子症男性不育患者为病例组和 104 例精液参数正常的男性为对照组, 分析 ODF1 基因多态性在各组中分布的差异. 结果表明: 与对照组相比, ODF1 基因中 27-bp 缺失变异体(c. 656delACCCCTGCAGCCCCTGCAACCCGTGCA)的频率在特发性弱精子症男性不育组中显著升高(OR=1.783, 95%CI=1.178-2.700, P=0.006), 并利用 MEGA 比对分析后发现 10 个氨基酸缺失(C218-P229delinsNPCSPCNPCS). 通过 PROVEAN 与 PMP 软件分析, 27-bp 缺失变异体对蛋白质功能有潜在损害. 因此四川地区 ODF1 基因中 27-bp 缺失变异体极有可能与弱精子症男性不育相关.

关键词: 遗传多态性; ODF1; 弱精子症; 精子活力

中图分类号: Q39 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2020)02-0376-07

Association between ODF1 gene polymorphism and idiopathic asthenozoospermia in Sichuan

DENG Dan¹, DING Xian-Ping^{1,2}, HE Jiao-Yu¹, LIN Xiao-Li¹

(1. College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China;

2. Bio-resource Research and Utilization Joint Key Laboratory of Sichuan-Chongqing, Chengdu 610064, China)

Abstract: The purpose of this research was to study the association between polymorphisms of the ODF1 gene and idiopathic asthenozoospermia in Sichuan. We analyzed the distribution of the ODF1 gene polymorphism in 106 idiopathic asthenozoospermia and 104 fertile men with normospermic parameters. The result shows that the 27-bp deletion (c. 656delACCCCTGCAGCCCCTGCAACCCGTGCA) was increased significantly in idiopathic asthenozoospermic patients compared with fertile counterparts (OR=1.783, 95%CI=1.178-2.700, P=0.006) and ten amino acids (C218-P229delins NPCSPCNPCS) deletion were discovered by MEGA. Moreover, PROVEAN and PMP analysis predicted that this deletion mutation potentially damage to the function of protein. Therefore, these results suggested that the 27-bp deletion variant in ODF1 was highly likely to be one of the genetic factors for idiopathic asthenozoospermia among males in Sichuan.

Keywords: Genetic polymorphism; ODF1; Asthenozoospermia; Sperm motility

收稿日期: 2019-05-17

基金项目: 川渝共建重点实验室基金(2019jds0088)

作者简介: 邓丹(1992-), 女, 汉族, 四川广安人, 硕士生, 研究方向医学遗传与遗传优生优育学. E-mail: 794854279@qq.com

通讯作者: 丁显平. E-mail: brainding@scu.edu.cn

1 引 言

研究报道, 不孕不育发病率约占世界育龄夫妇的 15%, 其中男性因素约占 30%~40%^[1-2]. 无精子症、少精子症、畸形精子症和弱精子症(AZS)是 4 种常见的男性不育疾病. 因此, 探索弱精子症的分子机制, 对于诊断和治疗男性不育具有重要的意义^[3]. 到目前为止, 已经证实了一些易感基因与男性特发性 AZS 相关, 如鞭毛轴丝微管蛋白家族蛋白 2 (Tektin2)^[4]、前列腺睾丸蛋白 1 (PATE1)^[5]、生精蛋白 1 (SEMG1)^[6]、轴丝动力蛋白重链 1 (DNAH1)^[7].

在哺乳动物中, 外周致密纤维(ODFs)是精子鞭毛中主要的张力承载元件, 在附睾运输和射精过程中, 鞭毛所累积的剪切力主要通过 ODFs 蛋白传递到鞭毛底部^[1, 3]. ODF1 作为 ODFs 中一种主要的蛋白组成部分, 然而到目前为止, 国内该基因与弱精子症男性不育的相关性研究仍较少^[8], 因此, 本实验旨在探究 ODF1 基因的多态性与四川地区男性特发性弱精子症的相关性.

2 材料与方 法

2.1 材 料

2.1.1 组织样本 选择 2016 年 11 月到 2017 年 9 月就诊于四川生殖卫生研究中心附属医院的弱精子症男性不育患者为病例组, 选择精液参数正常的男性(至少育有一个自然受孕孩子)为对照组. 年龄 22~35 岁(各组年龄无差异, $P>0.05$), 研究对象需符合以下所有条件: ①根据第 5 版世界卫生组织(WHO)的标准, 所有精液样本进行 3 次常规精液参数检测分析, 精液量 >2.0 mL, 正常可育男性组的精液(对照组: 精子密度 $<20 \times 10^6$ /mL, A 级精子 $>25\%$ 或 A + B 级精子 $>50\%$)和弱精子症患者的精液(病例组: 精子活力 A 级精子 $<25\%$ 或 A + B 级精子 $<50\%$); ②参考中国的研究与欧洲男科学院的诊断标准, 选择无 Y 染色体微缺失(AZF)的 DNA 样本为实验对象^[6]; ③排除已知其他非遗传因素的造成的男性弱精子症不育, 如职业病危害、隐睾、酗酒、抽烟和不良生活习惯等^[5]. 所有受试对象均签署知情同意书, 本研究已经伦理委员会审核通过.

2.1.2 主要试剂 胰蛋白酶(北京全式金); 琼脂糖(美国 Invitrogen 公司); Taq DNA 聚合酶(北京全式金); 核酸染料(北京天根生物科技有限公

司); DNA Ladder Maker(北京全式金); Giemsa 染料(潍坊康华生物生物科技有限公司); 秋水仙素溶液(潍坊康华生物生物科技有限公司); DNA 提取试剂盒(北京全式金); Taq DNA 聚合酶(北京全式金); 蛋白酶 K(上海生工).

2.1.3 主要仪器 精液参数自动检测系统 MIX7.5(清华同方); Hema9600PCR 扩增仪(中国杭州朗基有限公司); KQ-100E 超声波清洗器(江苏常州奥森电器有限公司); DYY-6D 电泳仪(北京六一仪器厂); GSG-2000 凝胶成像系(美国 BIO-RA 公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); HH420 恒温水浴箱(江苏常州奥森电器有限公司); 染色体图像分析系统(捷克 Laboratory Imagin 公司); CO₂ 细胞培养箱(上海博远实业).

2.2 方 法

2.2.1 精液分析 按照第 5 版《人类精液检查与处理实验室手册》进行精液参数分析, 将采集的新鲜精液样本 37 °C 孵育液化约 30 min 后, 放入精子参数自动检测系统仪器中进行自动分析, 包括精液浓度, 精子活力等.

2.2.2 核型分析 采集的外周血细胞在植物凝集素作用下, 在 RPMI-1640 培养液中 37 °C, 培养 72 h 获得大量分裂中期的细胞, 加入秋水仙素使分裂中期的细胞停止分裂; 再经低渗膨胀处理, 防止染色体之间相互重叠和缠绕; 最后用甲醇和冰醋酸(3:1) 将细胞固定于载玻片上, 经 Giemsa 染色后, 在光学显微镜和染色体图像分析仪中根据染色体的形状及 G 显带的相对位置对所有的染色体进行计数、分类.

2.2.3 Y 染色体微缺失(AZF)检测 采用多重 PCR 扩增的方法检测 Y 染色体微缺失(AZF)片段. 参考中国的研究与欧洲男科学院的诊断标准, 选取 AZF 微缺失三个区域中的 7 个代表序列标记位点(STS), 如: AZF a 区域: sY86、USP9Y; AZF b 区域: sY127、sY134; AZF c 区域: sY254、sY255^[8](表 1).

2.2.4 提取基因组 DNA 采用 DNA 提取试剂盒提取精子全基因组 DNA. 将精子重新悬浮在无菌水中, 与含有 20 mg/mL 蛋白酶 K 和结合缓冲液 3 的溶解溶液混合, 室温下溶解 10 min. 将裂解液加入离心柱, 结合 DNA. 清洗结合的 DNA, 从离心柱中洗脱. 所有的 DNA 样品于 -20 °C 下保存, 备用.

表 1 AZF 区域的 6 个 STS 位点引物

Tab. 1 Primers used for the amplification of the six exons of the AZF gene

STS	区域	引物序列 (5'-3')	产物长度/bp
SRY	SRY	F GAATATTCCCCTCTCCGGA R GCTGGTGCTCCATTCTTGAG	470
sY254	AZFc	F GGGTGTACCAGAAGGCAAA R GAACCGTATCTACCAAAGCAGC	381
sY127	AZFb	F AGCACCCACTGGAATCTACC R CATGGCTACACAGACAGGGA	195
sY86	AZFa	F AGACTATGCTTCAGCAGGTC R CCAGTCTTTGGGATTTCTTT	157
sY255	AZFc	F GTTACAGGATTCGGCGTGAT R CTCGTCATGTGCAGCCACAG	123
sY134	AZFb	F GTCGTCCTCACCATAAAAACG R ACCACTGCCAAAACCTTCAAG	303
USP9Y	AZFa	F AGCCTGTTTCAGTGTGTTGGG R ATACCCTCAAGGAACCTCAA	169

2.2.5 PCR 扩增 利用表 2 的引物对 ODF1 基因的两个外显子和部分侧翼内含子序列进行了 PCR 扩增. PCR 扩增条件如下:预变性(95 °C, 5 min), 变性(94 °C, 30 s), 退火(56 °C, 30 s), 延伸(70 °C, 30 s). 扩增体系总体积为 25 μ L, 包

括:10 \times buffer 3.0 μ L, dNTPs 2.5 μ L, 双蒸水 9.6 μ L, 正、反引物各 1.0 μ L, DNA 模板 6 μ L. 所有 PCR 扩增产物均进行 2% 的琼脂糖凝胶电泳, 采用全能凝胶成像系统进行观察检测. 合格样品送往上海生工测序.

表 2 ODF1 基因的扩增引物

Tab. 2 Primers used for the amplification of the 2 exons of the ODF1 gene

外显子	引物名称	引物序列(5'-3')	长度/bp	PCR 扩增产物/bp
1	ODF1-1F	CGGAGTGCCATTTCCCAAAG	20	500
	ODF1-1R	TCCTAAGTCACCAGGGTCAT	20	
2	ODF1-2F	TCTGGCTTCCTCCTGCTGTA	20	460
	ODF1-2R	GCCTGGCTGGAGTAACTGAC	20	

注:F forward primer, R reverse primer

2.2.6 基因突变分析 使用 MEGA 对所有测序结果进行比对、分析. 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学数据分析, 用 χ^2 检验和哈迪温伯格平衡定律分析比较对照组和病例组, 使用非条件 Logistic 回归方程计算 OR 比值和 95% 置信区间(95% CI), 衡量弱精子症与变异基因型相关的风险, $P < 0.05$ 时具有统计学意义. 从蛋白模型网站 PMP(<http://www.proteinmodelportal.org>) 获取 ODF1 蛋白的 3D 结构. 通过生物信息学软件 PROVEAN 软件 (<http://provean.jcvi.org/index.php>) 预测变异体对 ODF1 蛋白功能的影响. 此外, 利用 ExPASy-ProtScale (<http://web.expasy.org/protscale/>) 分析错义突变对 ODF1 蛋白亲疏水性的影响.

3 结果

3.1 对照组与病例组精液参数对比分析

经过严格的精液分析、染色体 G 显带分析和 AZF 微缺失等步骤, 此次实验总共挑选出符合条件的病例组 106 例(四川地区特发性弱精子症男性不育患者)和对照组 104 例(具有正常孕育史的男性), 两组精子浓度、精子活力(A+B 级)均有统计学差异($P < 0.05$), 而年龄无统计学意义(表 3).

3.2 ODF1 基因的突变分析

对 106 例 AZS 患者的 ODF1 基因两个外显子和部分侧翼内含子序列进行测序后, 我们发现 2 号外显子里有三种核苷酸突变和两种核苷酸缺失: P211P (c. C633G)、P214P (c. C642G)、S216N

(c. G647A)、C221-P229delinsSPCNPCS (c. 665del GCCCC TGCAACCCGTGCA, 缺失 18 bp) 和 C218-P229delinsNPCSPCNPCS (c. 656del AC-CCCTGC AGCCCCTGCAACCCGTGCA, 缺失 27 bp). 病例组和对照组中 c. C633G、c. C642G 和 18-bp 缺失变异分布情况几乎相同(P 值 >0.05), 无统计学意义. 然而, 与对照组相比, 等位基因中 27-bp 缺失变异体($OR=1.783$, $95\%CI=1.178-2.700$, $P=0.006$)的频率在弱精子症患者中显著增加(表 4). 此外, 错义突变 c. G647A ($OR=1.671$, $95\%CI=1.116-2.502$, $P=0.012$)的基因型和等位基因频率也与对照组有明显的差异(表 5), 并且将 216 位的丝氨酸转变为天冬酰胺. 总之, 27-bp 缺失突变和错义突变分散在病例组和对照组的比例有明显差异(图 1). 采用 PMP 蛋白质的模拟软件, 发现这两个突变均位于蛋白质 3D 模型的侧面褶皱区域, 是 ODF1 蛋白的功能区域(图

2), 在人类近缘的物种中具有相对较高的保守性. 同时通过 PROVEAN 软件分析, 错义突变被预测为中性突变, 而缺失突变则会对蛋白质的功能有潜在损害, 且分值为-10.462(图 3).

表 3 病例组和对照组的基本信息

Tab. 3 Comparison of age and semen parameter between asthenozoospermic group and control

临床参数	对照组($n=104$) ^a	病例组($n=106$) ^a	P
年龄	33.6±4.2	32.1±3.5	0.431
精液浓度/($\times 10^6$ /mL)	68.4±15.3	36.3±17.6	<0.001
快速精子活力/%	37.3±4.6	8.1±5.1	<0.001
精子活力/%	62.61±6.2	19.8±7.6	<0.001
AZF 微缺失	无	无	
核型	46, XY	46, XY	
后代个数	1.4(1-3)	0	

注:^a数据的平均值±SD $P<0.05$ 具有统计学意义

表 4 特发性弱精子症和正常组中 ODF1 基因中 27-bp 缺失的基因型和等位基因频率

Tab. 4 Genotype and allele frequencies for ODF1 the 27-bp deletion among idiopathic asthenozoospermia and control

等位基因	对照组($N=104$)	病例组($N=106$)	95%CI	P
A-G/A-G	53(50.96%)	32(30.19%)		
A-G/A27G	38(36.54%)	53(50.00%)	2.310(1.261-4.231)	0.006 * *
A-G/A18G	4(3.85%)	6(5.66%)	2.484(0.651-9.479)	0.172
A27G/A27G	9(8.65%)	15(14.15%)	2.760(1.083-7.036)	0.030 *
A-G/A27G+A27G/A27G	47(45.19%)	68(64.15%)	2.396(1.348-4.259)	0.003 * *
A-G	148(71.16%)	123(58.02%)		
A18G	4(1.92%)	6(2.83%)	1.805(0.498-6.541)	0.362
A27G	56(26.92%)	83(39.15%)	1.783(1.178-2.700)	0.006 * *

注:A-G 为无缺失;A27G 为缺失 27-bp;A18G 为缺失 18-bp;CI 为置信区间

* $P<0.05$ 和 * * $P<0.01$ 具有统计学意义

表 5 特发性弱精子症和正常组中 ODF1(c. G647A)的基因型和等位基因频率

Tab. 5 Genotype and allele frequencies for ODF1(c. G647A)among idiopathic asthenozoospermia and control

等位基因	对照组($N=104$)	病例组($N=106$)	95%CI	P
647GG	52(50.00%)	34(30.08%)		
647AG	42(40.38%)	56(52.83%)	2.039(1.132-3.675)	0.017 *
647AA	10(9.62%)	16(15.09%)	2.447(0.994-6.022)	0.048 *
647(AG+AA)	52(50.00%)	72(67.92%)	2.118(1.209-3.709)	0.008 * *
647G	146(71.19%)	124(58.49%)		
647A	62(29.81%)	88(41.51%)	1.671(1.116-2.502)	0.012 *

注:* $P<0.05$ 和 * * $P<0.01$ 具有统计学意义

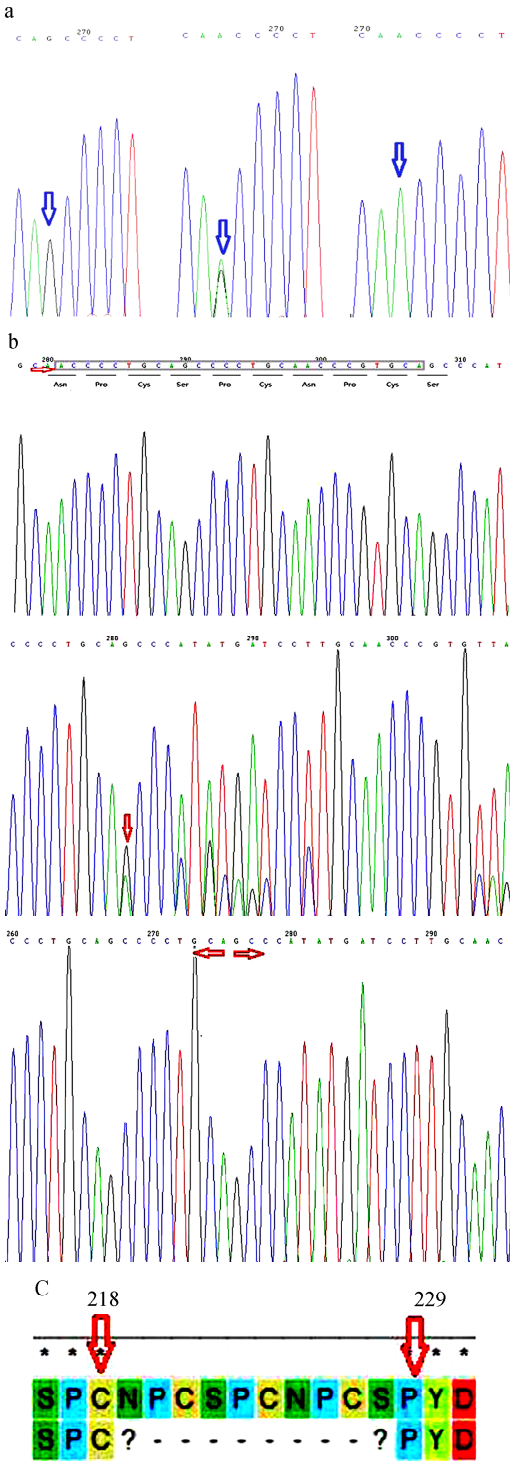


图 1 ODF1 基因中突变的序列峰图

a 图为 c. G647A 的峰图, 从左到右依次为的野生纯合子(GG)、突变杂合子(GA)、突变纯合子(AA); b 图为 27-bp 缺失的峰图, 从上到下依次为野生纯合子、缺失杂合子、缺失纯合子; c 图为 27-bp 缺失导致 10 个氨基酸缺失

Fig. 1 Sequencing mutations of ODF1 gene

a. sequencing analysis of c. G647A from left to right: wild homozygote (GG), mutant heterozygote (GA), mutant homozygote (AA); b. sequencing analysis of 27-bp deletion from top to bottom: wild homozygote, deletion heterozygote, deletion homozygote; c. 27-bp deletion caused ten amino acids deletion

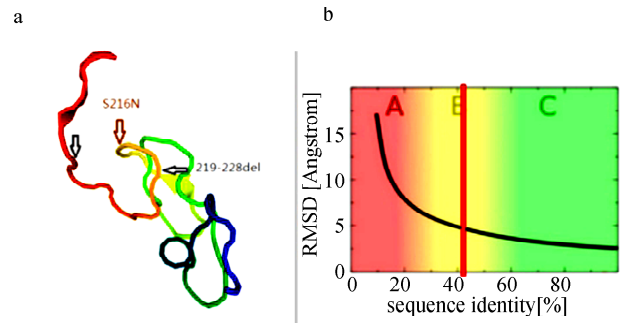


图 2 PMP 蛋白质模型软件中 ODF1 的蛋白质结构模型 a 突变位点在 ODF1 蛋白三维结构中的位置; b 该模型基于 42% 序列标识的目标模板序列对齐

Fig. 2 Protein structure model of ODF1 was given from the protein model portal

a. The location of mutation in ODF1 protein 3D structure; b. this model is based on target-template sequence alignment of 42% sequence identity

PROVEAN Result (Download)

PROVEAN Prediction - Job ID: 2117383124631912

- Query sequence (fasta)
- Supporting sequence set used for prediction
 - Number of sequences: 71 (fasta, E-values)
 - Number of clusters: 22
- Score thresholds for prediction
 - (1) Default threshold is -2.5, that is:
 - Variants with a score equal to or below -2.5 are considered "deleterious,"
 - Variants with a score above -2.5 are considered "neutral."
 - (2) How to use a more stringent threshold.

Variant	PROVEAN score	Prediction (cutoff= -2.5)
S216N	0.267	Neutral

- Submitted at 3:05:10 EDT, Monday, Sep 10, 2018
- Started at 3:05:13 EDT, Monday, Sep 10, 2018
- Finished at 3:05:15 EDT, Monday, Sep 10, 2018

PROVEAN Result (Download)

PROVEAN Prediction - Job ID: 044263758136439

- Query sequence (fasta)
- Supporting sequence set used for prediction
 - Number of sequences: 71 (fasta, E-values)
 - Number of clusters: 22
- Score thresholds for prediction
 - (1) Default threshold is -2.5, that is:
 - Variants with a score equal to or below -2.5 are considered "deleterious,"
 - Variants with a score above -2.5 are considered "neutral."
 - (2) How to use a more stringent threshold.

Variant	PROVEAN score	Prediction (cutoff= -2.5)
C218_P229delinsNPCSPNCPS	-10.462	Deleterious

图 3 PROVEAN 分析预测突变对 ODF1 蛋白功能影响 Fig. 3 PROVEAN analysis predicts the effect of mutation on the function of ODF1 protein

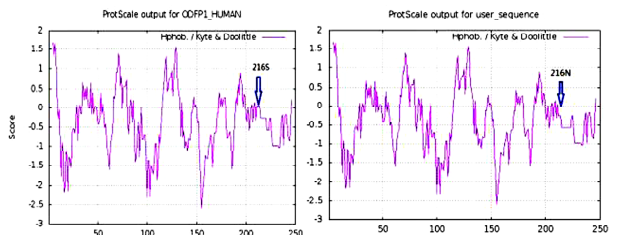


图 4 ExPASy-ProtScale 软件分析 ODF1 蛋白中 S216N 的亲疏水性

Fig. 4 The hydrophobicity of S216 N in ODF1 protein was analyzed by ExPASy-ProtScale software

4 讨论

精子活力即依靠精子尾部鞭毛的不断摆动完成向前运动的能力,已经被证实是引起男性不育的重要因素之一^[9]. AZS 常表现为精子活力低下,因此精子鞭毛的形态和结构异常均可以导致精子运动障碍.大量研究显示,染色体异常、Y 染色体微缺失和基因变异也与 AZS 有关联^[10-11].近年来随着研究的不断深入,已鉴定了许多与精子形成密切相关的基因^[4].

ODFs 蛋白作为一种特异性表达在精子尾部的细胞骨架结构,是支持精子运动的重要组成部分.它由 9 根纵向平行的柱状蛋白围绕而成,每一根致密纤维都与其对应二联微管相互平行,外周包裹着纤维鞘,主要表达在精子尾部^[12-13]. ODF1 和 ODF2 是 ODFs 种蛋白中最主要的两种蛋白. ODF1 蛋白的 N 末端是与亮氨酸拉链结构相似的两性 α 螺旋结构, C 末端是重复的三肽结构(Cys-Gly-Pro, CGP)^[14-15].由于 ODF1 蛋白蜷曲成棒状结构,因此推测, N 末端的亮氨酸拉链结构和 C 末端的三肽重复结构在 ODF1 蛋白自身的作用或与其他蛋白相互作用中可能起着一定的作用,从而实现了对精子运动的调节^[9, 16].

在此次研究中,我们发现 ODF1 基因中 27-bp 缺失变异体在弱精子症患者中杂合子(A-G/A27G)和纯合子(A27G/A27G)的频率和为 64.15%,在对照组中为 45.19%,病例组和对照组之间的显著性增加(OR=2.396, 95%CI=1.348~4.259, $P=0.003$),这表明 27-bp 缺失变异体可能增加精子形成过程中发生障碍的风险(OR=1.783, 95%CI=1.178~2.700, $P=0.006$).且 PROVEAN 软件预测这一缺失可能对蛋白质功能造成潜在损害.借助 MEGA 软件发现在这缺失的 10 个氨基酸序列中存在 4 个类似的 C-X-P 的结构(图 1), Krausz 等^[12]研究表明果蝇中重复的三肽结构(Cys-Gly-Pro, CGP)缺失直接导致功能精子中减少 2 倍的 mRNA. Lourenco 等^[10]也证实了弱精子症组中 ODF1 基因转录的 mRNA 明显低于正常人, ODF1 蛋白的平均带强度较低,数量较少.对于约为 27 kDa 的 ODF1 小分子蛋白质来说,侧面保守区域内 10 个氨基酸的缺失可能直接对蛋白质功能产生不利影响^[17].除此之外, ODF1 蛋白作为一种小的热休克蛋白(sHSP),可以与其他蛋白相互影响,如 Sha 等^[18]发现 SUN5 基因中

c.381delA 突变不仅会导致 SUN5 蛋白的表达量下降,也会改变 ODF1 蛋白的在精子尾部的分布情况.因此, ODF1 基因中的 4 个类似的 C-X-P 序列结构缺失可能导致了 ODF1 基因转录的 mRNA 减少,同时也会影响其他蛋白的表达量,进而引起弱精子症患者精子的活力下降.

此外,我们还检测到一个错义突变(c. G647A)将 216 位的丝氨酸转变为天冬酰胺.在 PROVEAN 软件中被预测为中性突变,但我们通过亲水性观测发现氨基酸的改变导致蛋白质的表面的亲疏水性下降(图 4),可引起蛋白质在相应位点疏水不平衡,对蛋白质的功能造成影响^[4].因此,需要进一步评估错义突变带来的影响.

综上所述,此次研究结果表明 ODF1 基因中 27-bp 缺失变异体极有可能与四川地区特发性弱精子症男性不育相关.考虑到区域遗传差异和较小的样本量,未来需要扩大研究标本的数量以及选取来自不同区域的样本,为诊断和治疗男性弱精子症提供理论基础.

参考文献:

- [1] Azizi F, Ghafoun-Fard S. Outer dense fiber proteins: bridging between male infertility and cancer [J]. Arch Iran Med, 2017, 20: 320.
- [2] Lin L, Achermann J. Steroidogenic factor-1 (SF-1, Ad4BP, NR5A1) and disorders of testis development [J]. Sex Dev, 2008, 2: 200.
- [3] Hamada A J, Esteves S C, Agarwal A. A comprehensive review of genetics and genetic testing in asthenozoospermia [J]. Clinics, 2013, 68: 39.
- [4] Zhang S H, Zhang J H, Ding X P, et al. Association of polymorphisms in Tektin-t gene with idiopathic asthenozoospermia in Sichuan, China [J]. J Assist Reprod Genet, 2016, 181: 234.
- [5] Zhang S, Wang Q M, Ding X P, et al. Association of polymorphisms in PATE1 gene with idiopathic asthenozoospermia in Sichuan, China [J]. J Reprod Immunol, 2016, 118: 54.
- [6] Feng Q, Zhou Q, Wei Q, et al. SEMG1 May be the candidate gene for idiopathic asthenozoospermia [J]. Andrologia, 2013, 46: 158.
- [7] Bashamboo A, Ferraz-de-Souza B, Lourenço D, et al. Human male infertility associated with mutations in ODF1 encoding steroidogenic factor 1 [J]. Am J Hum Genet, 2010, 87: 505.
- [8] Sekido R, Lovell-Badge R. Sex determination in-

- volves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer [J]. *Nature*, 2008, 453: 930.
- [9] Xie T, Yu C H, Zheng Y, *et al.* The polymorphism G4C14-to-A4T14 in P73 gene may affect the susceptibility to male infertility with severe spermatogenesis impairment in chinese population [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2016, 204: 74.
- [10] Lourenco D, Brauner R, Lin L, *et al.* Mutations in NR5A1 associated with ovarian insufficiency [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360: 1200.
- [11] 李宗鑫, 贺正池, 肖雪薇, 等. FEZF1 在结直肠癌组织和癌旁正常组织中的表达及临床意义[J]. *四川大学学报:自然科学版*, 2019, 56: 338.
- [12] Krausz C, Riera-Escamilla A. Genetics of male infertility [J]. *Nat Rev Urol*, 2018, 15: 369.
- [13] Mitchison H M, Schmidts M, Loges N T, *et al.* Mutations in axonemal dynein assembly factor DNAAF3 cause primary ciliary dyskinesia[J]. *Nat Genet*, 2012, 44: 381.
- [14] Ben K M, Coutton C, Zouari R, *et al.* Mutations in DNAH1, which encodes an inner arm heavy chain dynein, lead to male infertility from multiple morphological abnormalities of the sperm flagella[J]. *Am J Hum Genet*, 2014, 94: 95.
- [15] Xu A, Hua Y, Zhang J, *et al.* Abnormal Hypermethylation of the VDAC2 promoter is a potential cause of idiopathic asthenospermia in men [J]. *Sci Rep*, 2016, 8: 1.
- [16] 陈静, 王勇, 许祥, 等. 外周致密纤维 1 在人精子中的表达差异及其意义[J]. *中华男科学杂志*, 2009, 15: 891.
- [17] Schlaubitz S, Yatsenko S A, Smith L D, *et al.* Ovotestes and XY sex reversal in a female with an interstitial 9q33. 3-q34. 1 deletion encompassing ODF1 and LMX1B causing features of Genitopatellar syndrome [J]. *Am J Med Genet A*, 2007, 143: 1071.
- [18] Sha Y W, Xu X, Ji Z Y, *et al.* Genetic contribution of SUN5 mutations to acephalic spermatozoa in Fujian, China [J]. *Gene*, 2018, 08: 221.

引用本文格式:

中文: 邓丹, 丁显平, 何娇雨, 等. 四川地区 ODF1 基因多态性与特发性弱精子症的相关性研究[J]. *四川大学学报:自然科学版*, 2020, 57: 376.

英文: Deng D, Ding X P, He J Y, *et al.* Association of polymorphisms in ODF1 gene with idiopathic asthenozoospermia in Sichuan [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2020, 57: 376.