

20 个常染色体 STR 基因座的突变分析

林钻芳

(广东经纬司法鉴定所, 广东 佛山 528000)

摘要:目的 分析 20 个常染色体 STR 基因座的突变情况。方法 收集 2015~2018 年广东经纬司法鉴定所 5862 例亲子鉴定案件, 筛选出基因突变事件, 统计基因座的突变率、突变详情, 分析各 STR 基因座的突变规律。结果 确定为“支持”结论的 5862 例案件中, 三联体案件 3546 例, 二联体案件 2316 例, 共观察到 9408 次减数分裂。5862 例案件中 201 次突变事件, 三联体突变次数为 160 次, 平均突变率为 0.1068%(95%CI: 0.0510~0.1954), 累计突变率达到 2.1365%(95%CI: 1.8539~2.4492)。20 个 STR 基因座中观察到 18 个基因座存在突变现象, 其中 CSF1PO 与 FGA 突变率最高, Penta D 突变率最低, 仅 TH01、TPOX 基因座未发现突变事件。201 次突变事件中, 一步突变 196 次, 二步突变 3 次, 三步突变 2 次。父源突变 150 次, 三联体 113 次, 二联体 37 次, 母源突变 25 次, 三联体 21 次, 二联体 4 次, 不确定父/母突变 26 次, 父源与母源突变比例为 6:1。结论 STR 基因座突变现象日益增加, 其中 CSF1PO 与 FGA 突变率最高, Penta D 突变率最低, 父源突变多母源突变。若出现 1~3 个 STR 基因座不符合遗传规律, 特别是突变基因座为纯合子等位基因或近亲鉴定时, 应谨慎分析判断突变的具体情况。

关键词:亲子鉴定; 法医物证学; STR 基因座; 突变

中图分类号: DF79

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.04.042

文章编号: 1006-1959(2020)04-0133-03

Mutation Analysis of 20 Autosomal STR Loci

LIN Zuan-fang

(Guangdong Jingwei Forensic Laboratory, Foshan 528000, Guangdong, China)

Abstract: Objective To analyze the mutations of 20 autosomal STR loci. Methods A total of 5,862 paternity test cases from Guangdong Jingwei Forensic Laboratory were collected from 2015 to 2018, and gene mutation events were screened, the mutation rate and details of the mutations were counted, and the mutation rules of each STR loci were analyzed. Results Of the 5,862 cases identified as "supporting", 3,546 cases of triad cases and 2,316 cases of duo cases, a total of 9,408 meiotic cases were observed. There were 201 mutation events in 5862 cases, and the number of triplet mutations was 160. The average mutation rate was 0.1068%(95% CI: 0.0510~0.1954), and the cumulative mutation rate reached 2.1365%(95% CI: 1.8539~2.4492). Among 20 STR loci, mutations were observed in 18 loci, among which CSF1PO and FGA had the highest mutation rates and Penta D had the lowest mutation rates. Only TH01 and TPOX loci had no mutation events. Among 201 mutation events, 196 mutations occurred in one step, 3 mutations in 2 steps, and 2 mutations in 3 steps. 150 paternal mutations, 113 triplets, 37 duplexes, 25 maternal mutations, 21 triads, 4 duplexes, 26 uncertain parent/mother mutations, and ratio of paternal to maternal mutations is 6:1. Conclusion The mutation phenomenon of STR loci is increasing day by day. Among them, the mutation rate of CSF1PO and FGA is the highest, and the mutation rate of Penta D is the lowest. If the occurrence of 1 to 3 STR loci does not conform to the genetic law, especially when the mutation locus is a homozygous allele or the identification of a close relative, the specific situation of the mutation should be analyzed carefully.

Key words: Paternity test; Forensic physical evidence; STR loci; Mutation

短串联重复序列 (short tandem repeat, STR) 是核心序列为 2~6 个碱基的短串联重复结构, 是目前法医物证鉴定中应用最广泛的长度多态性遗传标记。STR 分型具有高灵敏度、高度鉴别能力以及标准化、自动分型等技术特征, 已成为当前法医学亲权鉴定的主要技术。本研究对 20 个常染色体 STR 基因座进行突变情况分析, 旨在增加本地区乃至全国的大样本突变数据, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 样本材料 将广东经纬司法鉴定所 2015~2018 年确定为“支持”结论的 5862 例案件作为观察对象, 案例样本包括血样、毛发、口腔拭子、指甲、口香糖胶块、羊水、卫生巾血迹等。

1.2 STR 基因座基因型 根据 GA/T383-2014 标准, 将检材用 chelex-100 的方法分别提取 DNA。用 PowerPlex 21(美国 Promega 公司)或 STRtyper-21G(宁波海爾施基因科技有限公司)扩增系统对检材 DNA 进

行扩增, 经 D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、D5S818、D13S317、D16S539、D2S1338、D19S433、VWA、D12S391、D18S51、AMEL、D6S1043、FGA、D1S1656、Penta D、Penta E、TH01、TPOX 扩增, 扩增产物用 ABI-3130XL 型基因分析仪 (美国 AB 公司) 进行荧光检测、分型, 得到各基因座基因型。

1.3 突变基因的确定 当发现 1~3 个基因座不符合遗传规律, 考虑存在突变, 应使用另一种试剂盒进行验证, 必要时增加 AGCU X-19 试剂盒 (无锡中德美联生物技术公司) 或 Y-filer 试剂盒 (美国 AB 公司) 检测, 若累计亲权指数 (CPI) > 10000 且 X 或 Y 试剂盒基因型一致, 则认定亲子关系。

1.4 统计学处理 基因座的突变率计算公式: STR 基因座突变率 = (基因座检出的突变次数 / 基因座观察的减数分裂总次数) × 100%。突变率的 95% 可信区间 (95% CI) 采用二项分布的精确概率法, 通过在线软件进行计算。

2 结果

2.1 STR 基因座突变率结果分析 确定为“支持”结

作者简介: 林钻芳 (1987.10-), 女, 广东佛山人, 本科, 法医物证学司法鉴定人, 主要从事法医物证工作

论的 5862 例案件中,三联体案件 3546 例,二联体案件 2316 例,其中父子案件 1573 例,母子案件 743 例,共观察到 9408 次减数分裂。5862 例案件中观察到 201 次突变事件,三联体突变次数为 160 次,平均突变率为 0.1068%(95%CI:0.0510~0.1954),累计突变率达到 2.1365%(95%CI:1.8539~2.4492)。在 20 个 STR 基因座中观察到 18 个基因座存在突变现象,其中 CSF1PO 与 FGA 突变率最高,Penta D 突变率最低,仅 TH01、TPOX 基因座未发现突变事件,见表 1。

表 1。

2.2 STR 基因座突变详情分析 201 次突变事件中,一步突变 196 次,二步突变 3 次,三步突变 2 次。一步突变现象中增加 1 个重复单位 80 次,减少 1 个重复单位 77 次,不确定增加或减少 1 个重复单位 39 次。另外,父源突变 150 次,三联体 113 次,二联体 37 次,母源突变 25 次,三联体 21 次,二联体 4 次,不确定父/母突变 26 次,父源与母源突变比例为 6:1,见表 2。

表 1 20 个 STR 基因座突变率和 95%CI(n=9408)

基因座	突变次数(次)	突变率(%)	95%CI	基因座	突变次数(次)	突变率	95%CI
D8S1179	20	0.2126	0.1299~0.3281	D12S391	11	0.1169	0.0584~0.2091
D21S11	14	0.1488	0.0814~0.2496	D18S51	17	0.1807	0.1053~0.2892
D7S820	11	0.1169	0.0584~0.2091	D6S1043	5	0.0532	0.0173~0.1240
CSF1PO	24	0.2551	0.1635~0.3793	FGA	24	0.2551	0.1635~0.3793
D3S1358	7	0.0744	0.0299~0.1532	D1S1656	4	0.0425	0.0116~0.1088
D5S818	6	0.0638	0.0234~0.1388	Penta D	3	0.0319	0.0066~0.0932
D13S317	8	0.0850	0.0367~0.1675	Penta E	12	0.1276	0.0659~0.2227
D16S539	5	0.0532	0.0173~0.1240	TH01	0	0	0~0.0392
D2S1338	7	0.0744	0.0299~0.1532	TPOX	0	0	0~0.0392
D19S433	8	0.0850	0.0367~0.1675	总计	201	2.1365	1.8539~2.4492
vWA	15	0.1594	0.0893~0.2628				

表 2 20 个 STR 基因座突变详情

基因座	一步突变			二步突变-2	三步突变-3	突变来源		
	+1	-1	+1 或 -1			父源	母源	不确定
D8S1179	7	8	5	0	0	16	0	4
D21S11	8	3	3	0	0	7	5	2
D7S820	5	3	3	0	0	5	2	4
CSF1PO	9	8	6	1	0	19	1	4
D3S1358	2	4	1	0	0	5	2	0
D5S818	0	4	2	0	0	2	3	1
D13S317	5	1	2	0	0	8	0	0
D16S539	1	1	3	0	0	2	2	1
D2S1338	2	5	0	0	0	6	0	1
D19S433	4	2	2	0	0	5	1	2
vWA	7	8	0	0	0	11	3	1
D12S391	4	6	1	0	0	9	2	0
D18S51	6	6	4	1	0	15	0	2
D6S1043	1	4	0	0	0	5	0	0
FGA	8	10	4	1	1	19	2	3
D1S1656	4	0	0	0	0	4	0	0
Penta D	2	0	1	0	0	2	1	0
Penta E	5	4	2	0	1	10	1	1
TH01	0	0	0	0	0	0	0	0
TPOX	0	0	0	0	0	0	0	0
总计	80	77	39	3	2	150	25	26

3 讨论

突变率是指每代细胞发生突变的百分率,是评估遗传标记稳定性与亲子鉴定可靠性的指标。因此在亲子鉴定中,应选取那些突变率低的遗传标记。为了避免因遗传标记的突变而错误地排除亲子关系,法医学亲子鉴定所选用的遗传标记必须经家系调查,且至少观察 500 次减数分裂,选用的遗传标记突变率应低于 0.2%^[1]。本研究观察到 18 个发生突变的 STR 基因座突变率介于 0.0319%~0.2551%,除 D8S1179、CSF1PO、FGA 基因座外,其余 17 个基因座的突变率均小于 0.2%,这些基因座的多态性较高且等位基因数量众多,在使用这些基因座时要注意其高突变率,避免 STR 遗传标记的高突变率会导致在该基因座的错误排除。表明无论是采用 21G 试剂盒还是 PowerPlex 试剂盒,累计突变率均接近 2%,即约 100 次减数分裂就可能遇上 1~2 例亲子鉴定突变,说明突变现象在亲子鉴定实践中越来越常见。

复制滑动是形成 STR 多态性的原因之一,也是 STR 基因座基因突变的主要原因。复制滑动突变多表现为等位基因增加或减少一个重复单位。本研究 201 次突变事件中,一步突变 196 次,二步突变 3 次,三步突变 2 次。表明一步突变明显多于多步突变,与大多数研究结果一致^[3,4]。此外,一步突变现象中增加 1 个重复单位 80 次,减少 1 个重复单位 77 次,不确定增加或减少 1 个重复单位 39 次,可见一步突变中增加与减少 1 个重复单位的比例相当。STR 基因突变与性别有关,有研究显示^[5],父源突变比母源突变要多,原因是男性精子细胞分化经历的细胞分裂次数比卵细胞多 10 倍,其次是精子染色体中碱基替换的积累比卵细胞快 2 倍。本研究显示中父源突变与母源突变的比例是 6:1,具有明显的性别差异,与上述研究结果一致,但与张林等^[6]研究结果不一致,产生差异的原因可能与研究群体结构、民族、地域、数量等有关。

因引物结合区域的突变而非重复结构的突变导致其在单一 STR 基因座上出现不一致被称为无效等位基因,可能存在于父母或者孩子,表现为不符合

等位基因的遗传^[7-9]。本研究中有 1 例二联体父子一步突变,在加入母亲鉴定并使用另一种厂家试剂盒对突变进行复核确认时,发现父亲假纯合子突变;又 1 例为三联体母子三步突变,在使用另一种厂家试剂盒对突变进行复核确认时,发现孩子假纯合子突变。因此,当遇到基因突变特别是纯合子突变时,应使用不同厂家试剂盒对样本进行重新检测,防止因等位基因丢失的突变现象。

综上所述,STR 基因座突变现象日益增加,其中 CSF1PO 与 FGA 突变率最高,Penta D 突变率最低,父源突变多余母源突变。在亲子鉴定检案中 1~3 个 STR 基因座不符合遗传规律时,有条件的实验室可增加基因座数目、使用新一代测序技术来检测,当遇到基因座突变时,应使用另一种试剂盒进行复核确认,单亲案件尽量让父母双方都加入鉴定中,近亲鉴定案件尽量让生物学父母加入鉴定,或加做 X、Y 染色体的遗传信息来帮助确定个体间的亲缘关系,以提高鉴定结论的可靠性。

参考文献:

- [1]侯一平,王保捷,李莉.法医物证司法鉴定实务[M]北京:法律出版社,2012.
- [2]陈玲,刘超,邱平明,等.STRtyper-10G 系统 9 个 STR 基因座突变分析[J].中国法医学杂志,2014,29(5):420-423.
- [3]邱平明,陈玲,余嘉欣,等.法医学常用 15 个 STR 基因座的突变分析[J].分子诊断与治疗杂志,2016,8(4):222-226.
- [4]毕洁,畅晶晶,李妙霞,等.20723 例亲子鉴定中 19 个 STR 基因座的突变分析[J].中国法医学杂志,2017,33(3):263-266.
- [5]帅莉,汪军,景强,等.1483 例亲子鉴定 STR 基因座突变的分析[J].法医学杂志,2014,30(1):44-46.
- [6]张林,王克杰,武红艳,等.河南汉族群体 20 个常用 STR 基因座突变分析[J].中国法医学杂志,2017,32(1):33-35.
- [7]胡利平,聂爱婷,张秀峰,等.云南人群 1199 例亲子鉴定案件基因突变分析[J].广东医学,2016,37(9):1370-1372.
- [8]赵佩翔,陈鹏宇,于丽梅.法医物证检验中常染色体 STR 位点突变的研究进展[J].遵义医学院学报,2019,42(3):350-354.
- [9]孟庆丽,于卫建,叶萍,等.41 例常染色体 STR 基因座突变的观察与分析[J].中国法医学杂志,2011,26(4):313-314.

收稿日期:2019-12-20;修回日期:2019-12-30

编辑/杜帆