

## 江苏汉族人群全新 STR 基因座的遗传多态性分析

陈 奇,潘 猛,张小燕,居晓斌,刘燕婷,崔 鹤,周惠英

(南京医科大学第一附属医院司法鉴定所,江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的:分析全新短串联重复序列(short tandem repeat,STR)基因座在江苏人群中的基因多态性和基因频率。方法:2015 年江苏省 598 例无血缘关系的汉族个体,利用 STRtyper-10G Direct Kit 试剂盒对 9 个 STR 位点进行扩增,自动基因分析仪进行片段分析并进行基因分型。结果:累积 STR 等位基因共发现 111 个,其中罕见等位基因 13 个。基因型频率大于 0.08 的基因型组合 13 个,其中 D13S325 基因座的等位基因型 19/20 的频率最高达到 0.130 4,杂合度达到了  $0.851 \pm 0.068$ ,随机个体相同表型偶合率为  $0.054 \pm 0.022$ ,个体识别能力为  $0.946 \pm 0.022$ ,多态信息总量为  $0.808 \pm 0.052$ ,非父排除率达到了  $0.697 \pm 0.130$ 。结论:通过大量的样本实验和等位基因频率总结,得到了江苏人群更多基因多样性的客观数据,以便在出现微变异等情况时满足进一步实际应用的需要。

**[关键词]** 亲权鉴定;江苏人群;基因多态性;全新短串联重复序列

**[中图分类号]** R394-33

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)11-1344-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20161112

### A genetic polymorphism analysis on the new STR loci among Jiangsu Han population

Chen Qi, Pan Meng, Zhang Xiaoyan, Ju Xiaobing, Liu Yanting, Cui He, Zhou Huiying

(Judicial Authentication Institute, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To describe the distribution of polymorphic site of the new short tandem repeat(STR) loci in Jiangsu Chinese Han population. **Methods:** A total of 9 STR loci were amplified by STRtyper-10G Direct Kit and genotyped by Genetic Analyzer, and all samples were collected from 598 unrelated individuals in Jiangsu Han population during 2015. **Results:** A total of 111 genotypes were found, of which 13 were rare alleles. The frequency, greater than 0.08, was 13, of which the maximum frequency of "19/20" from D13S325 locus was 0.130 4. Heterozygosity was  $0.851 \pm 0.068$ , matching probability was  $0.054 \pm 0.022$ , polymorphism information content was  $0.808 \pm 0.052$ , power of discrimination was  $0.946 \pm 0.022$  and probability of paternity exclusion was  $0.697 \pm 0.130$ . **Conclusion:** With the analysis of alleles in a large number of samples and frequencies, objective alleles of more genetic polymorphism data of Jiangsu population should be obtained, so that the need of further practical application could be met in the case of micro alterations.

**[Key words]** parentage testing; Jiangsu population; genetic polymorphism; new short tandem repeats

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(11): 1344-1347]

应用 STRtyper-10G Direct Kit 试剂盒对江苏地区人群 D18S1364、D12S391、D13S325、D6S1043、D2S1772、D11S2368、D22-GATA198B05、D8S1132、D7S3048 的 9 个短串联重复序列(short tandem repeat,STR)基因座(除 Amel 基因座外)遗传多态性进行调查,为医学鉴定及相关研究提供基础数据。在本系列的基因座中,除 D6S1043 和 D12S391 外,其余 7 个基因座较少在国内外使用,但在中国人群中都有很好的个体识别能力和非父排除率,从而大大提高了试剂盒的实用性。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

研究对象为 2015 年在鉴定所进行亲权鉴定的江苏人群无关个体 598 例,取新鲜全血 2.5  $\mu\text{L}$  加到 1 000  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O 中。采用常规 Chelex-100 方法提取 DNA,详细操作见参考文献[1-2]。

#### 1.2 方法

按照 STRtyper-10G Direct Kit 试剂盒的使用说明配制反应液,选用 10  $\mu\text{L}$  反应体系(其中 PCR

Master Mix 5  $\mu$ L、STRtyper-10G Primer Mix 2.5  $\mu$ L、样品 DNA 2~4 ng、ddH<sub>2</sub>O 加至 10  $\mu$ L),循环参数采用三步法,约 90 min:95 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 10 s,61 $^{\circ}$ C 1 min,70 $^{\circ}$ C 30 s,28 个循环;60 $^{\circ}$ C 10 min;4 $^{\circ}$ C 保存。

扩增产物在 3130 型遗传分析仪(AB 公司,美国)进行电泳,用 GeneScan3.3 软件进行基因型分型。

### 1.3 统计学方法

应用 PowerMarker v3.25、Powerstat v12 和 SPSS13.0 分析统计软件进行 Hardy Weinberg 平衡(H-W 平衡)分析以及相关基因座的基因频率(gene frequency)、基因型频率(genotype frequency)、杂合度(heterozygosity, H)、随机个体相同表型偶合率(matching probability, P<sub>m</sub>)、个体识别能力(power of discrimination, DP)、多态信息总量(polymorphism information content, PIC)、非父排除率(probability of paternity exclusion, PE)等相关量值的分析。

## 2 结 果

9 个 STR 基因座经  $\chi^2$  检验获得 H-W 平衡吻合度分析数据见表 1。9 个 STR 基因型分布及等位基因频率见表 2。杂合度(H)、随机个体相同表型偶合率(P<sub>m</sub>)、个体识别能力(DP)、多态信息总量(PIC)、非父排除率(PE)等遗传多态性参数见表 3。9 个基因座等位基因型频率统计见表 4。

## 3 讨 论

STR 是亲权鉴定中应用最为广泛的遗传标记,具有显著的人种、民族和地域差异。江苏地区人口众多,且以汉族为主<sup>[3]</sup>。但 STR 易产生变异,目前常用的 STR 基因座突变率为 0.1%~0.5%,其中以 D19S433、FGA、vWA 基因座突变率较高(0.20%~0.22%)<sup>[4]</sup>。普遍接受的突变机制是复制滑链错配(slipped-strand mispairing)学说,即在 DNA 复制过程中,重复序列易碱基错配,形成一个或数个重复序列的环状结构,如继续复制,就会出现新生链加长或缩短的现象<sup>[5]</sup>。突变是进化和分化的分子基础,只有基因型改变的突变形成了 DNA 的多态性<sup>[6]</sup>。在亲权鉴定过程中,一个或两个基因座不符合孟德尔遗传定律,不宜立即作出排除结论,因为有基因突变的可能,这时需要补充检验其他多态性基因座。

根据《亲权鉴定技术规范》(SF/Z JD0105001-2010)和《法庭科学 DNA 实验室规范》(GA/T382-2014)。父权指数(paternal index, PI)表示假设父成为孩子

表 1 江苏地区 9 个 STR 基因座 H-W 平衡分布  
Table 1 Hardy-Weinberg balance analysis of 9 STR loci in Jiangsu province (n=598)

基因座	P 值
D18S1364	0.270 7
D12S391	0.462 1
D13S325	0.201 4
D6S1043	0.824 6
D2S1772	0.313 7
D11S2368	0.080 9
D22-GATA198B05	0.439 6
D8S1132	0.687 9
D7S3048	0.529 4

生父的机会是随机父成为孩子生父的多少倍。测定多个 STR 基因座,累计父权指数(cumulative paternity index, CPI)为每个 PI 基因座的乘积<sup>[7]</sup>。当 CPI < 0.000 1 时,支持被检测男子不是孩子生物学父亲的假设;当 CPI > 10 000 时,支持被检测男子是孩子生物学父亲的假设;而当 0.000 1 < CPI < 10 000 时,应当通过增加检测的遗传标记来达到要求。

在亲权鉴定实际工作中往往会遇到少量样本,出现突变或 0.000 1 < CPI < 10 000 的情况,以往使用的是 Powerplex 16HS system、SE33 基因座体系、FEEL 体系等试剂盒增加检测效能。该进口试剂盒较为昂贵且并不是针对中国人群专门研制的,其在中国人群中的 H、DP、PE、PIC 较差。而本次统计研究用到的 STRtyper-10G Direct Kit,作为常规鉴定工作的有效补充,主要起到增加基因座数量、提高检测体系效能的作用。有报道表明 STRtyper-10G 系统多态信息含量高,可作为 CODIS 系统的有效补充<sup>[8-9]</sup>。其涉及的基因座在中国人群中都具有很好的多态性,扩增产物都在 300 bp 之内,重复序列都由最稳定的四碱基串联而成。

当然,对于疑似案例如何增加检测标记,目前尚无统一意见。伍新尧等<sup>[10]</sup>认为如发现 1 个矛盾基因座,至少检测 19 个(三联体)或 29 个(二联体) STR 基因座。司法部《亲权鉴定技术规范》则规定尽可能增加检测 Y-STR 或 X-STR,但无论 Y-STR 或 X-STR 都会受到性别的限制。国外也有研究者主张补充 SNP 和 INDEL 标记用于出现 STR 突变的亲子鉴定<sup>[11]</sup>。

近几年又逐步出现了 miniSTR 技术、单核苷酸-多态性分型技术、线粒体 DNA 遗传标记及表观遗传学等新技术。这些 DNA 鉴定的检测手段和遗

表 2 江苏地区 9 个 STR 基因座的等位基因分布及频率  
Table 2 Distribution and frequency of 9 STR loci in Jiangsu province (n=598)

基因座	等位基因	基因频率	基因数	基因座	等位基因	基因频率	基因数	基因座	等位基因	基因频率	基因数
D18S1364	12	0.029	35	D6S1043	10	0.028	33	D22-GATA198B05	13*	0.001	1
	13	0.174	208		11	0.105	125		14	0.005	6
	14	0.208	249		12	0.138	165		15	0.021	25
	15	0.217	259		13	0.149	178		16	0.071	85
	16	0.196	234		14	0.150	179		17	0.150	179
	17	0.041	49		15	0.012	14		18	0.072	86
	18	0.072	86		16	0.003	3		19	0.082	98
	19	0.055	66		17	0.039	47		20	0.096	115
	20	0.007	8		18	0.164	196		21	0.311	372
	21*	0.002	2		19	0.153	183		22	0.158	189
D12S391	15	0.008	10	20	0.046	55	23	0.024	29		
	16	0.006	7	20.3*	0.003	3	24	0.008	10		
	17	0.084	100	21	0.003	4	25*	0.001	1		
	18	0.227	272	21.3*	0.007	8	D8S1132	16	0.013	16	
	19	0.227	272	22*	0.002	2		17	0.087	104	
	20	0.179	214	24*	0.001	1		18	0.205	245	
	21	0.110	131	D2S1772	17	0.008		9	19	0.197	236
	22	0.080	96		18	0.019		23	20	0.166	199
23	0.043	51	19		0.024	29		20.3*	0.001	1	
24	0.023	28	20		0.080	96		21	0.134	160	
D13S325	16	0.003	3		21	0.107		128	22	0.120	143
	17	0.010	12		22	0.072	86	23	0.054	65	
	18	0.049	59		23	0.010	12	24	0.019	23	
	19	0.262	313		24	0.280	335	24.3*	0.001	1	
	19.3*	0.001	1	25	0.061	73	25	0.003	3		
	20	0.248	297	26	0.059	70	D7S3048	16	0.002	2	
	21	0.201	240	27	0.137	164		17	0.007	8	
	22	0.151	180	28	0.107	128		18	0.089	106	
	23	0.055	66	29	0.028	33		19	0.085	102	
	24	0.018	22	30	0.008	10		19.3*	0.001	1	
25	0.002	2	D11S2368	14*	0.002	2		20	0.165	197	
27*	0.001	1		15	0.003	3		21	0.089	107	
				16	0.023	28		22	0.086	103	
				17	0.153	183	23	0.158	189		
				18	0.099	118	24	0.191	228		
				19	0.172	206	25	0.103	123		
				20	0.173	207	26	0.018	22		
				21	0.223	267					
			22	0.092	110						
			23	0.048	58						
			24	0.010	12						
			25	0.002	2						

\* : 罕见基因。

传标记都有各自独特的用途,因为受到仪器试剂等方面的限制,当代主流的检测手段还是 DNA STR 分型技术<sup>[12]</sup>。

从本次统计的结果来看,STRtyper-10G Direct Kit 检测系统中各个基因座均符合 H-W 平衡。说明

本次统计所收集的数据符合群体遗传学特点。除基因座 D6S1043 外,D2S1772 位点基因型和等位基因最多,D22-GATA198B05 次之,而 D18S1364 和 D12S391 的等位基因最少。

此次 Pm 值为 0.054 ± 0.022,PIC 值为 0.808 ±

表 3 江苏地区 9 个 STR 基因座遗传多态性参数

Table 3 Polymorphism data of 9 STR loci in Jiangsu province

(n=598)					
基因座	H	Pm	DP	PIC	PE
D18S1364	0.851	0.054	0.946	0.808	0.697
D12S391	0.824	0.048	0.952	0.820	0.645
D13S325	0.783	0.069	0.931	0.772	0.567
D6S1043	0.886	0.032	0.968	0.860	0.768
D2S1772	0.836	0.034	0.966	0.850	0.668
D11S2368	0.865	0.044	0.956	0.830	0.724
D22-GATA198B05	0.843	0.052	0.948	0.810	0.681
D8S1132	0.826	0.042	0.958	0.830	0.648
D7S3048	0.873	0.033	0.967	0.856	0.740

表 4 等位基因型频率统计

Table 4 Genotype frequency statistics (n=598)

基因座	等位基因型	数量	频率
D18S1364	13/15	57	0.095 3
	14/15	54	0.090 3
D12S391	18/20	60	0.100 3
	18/19	55	0.092 0
D13S325	19/20	78	0.130 4
	19/21	70	0.117 1
	20/21	53	0.088 6
D2S1772	24/24	52	0.087 0
D11S2368	17/21	49	0.081 9
	21/22	64	0.107 0
D22-GATA198B05	21/21	57	0.095 3
	17/21	61	0.102 0
D8S1132	18/19	48	0.080 3

取频率大于 0.08 的等位基因型组合。

0.052, 意义在于当 PIC>0.5 时, 标记物提供高度的信息量。通常当 DP>0.8、PE>0.5 时, 说明标记物属于高度多态性遗传标记, 有较高的应用价值<sup>[13]</sup>。本次 DP 和 PE 值分别为  $0.946 \pm 0.022$  和  $0.697 \pm 0.130$ , H 值为  $0.851 \pm 0.068$ 。根据文献标准<sup>[14]</sup>,  $DP \geq 0.9$ 、 $H \geq 0.7$  的基因座是高鉴别能力的遗传体系, 具有很高的应用价值。

STR 等位基因多态性分析共发现等位基因 111 个, 其中罕见等位基因 13 个。取基因型频率大于 0.08 的基因型组合 13 个, 其中 D13S325 基因座的等位基因型 19/20 的频率最高达到 0.130 4。所有样本的 H 值为  $0.851 \pm 0.068$ , 说明随机抽取的样本中两个等位基因不相同的可能性非常高, 对于区分等位基因、减少基因漏检率具有意义<sup>[15]</sup>。

本次统计分析的结果是对常规 STR 检测体系效能的有效补充, 同时对增加江苏人群常染色体群体遗传学数据、丰富法医学 STR 分型数据库具有实际意义。

[参考文献]

- [1] Applied Biosystems Corporation. AmpF/STER SGM plus amplification kit user's manual[Z]. 1999
- [2] Rolf B, Bulander N, Wiegand P. Insertion-/deletion polymorphisms close to the repeat region of STR loci can cause discordant genotypes with different STR kits [J]. Forensic Sci Int Genet, 2011, 5(4): 339-341
- [3] 李淑瑾, 张晓静, 付丽红, 等. 亲权鉴定若干问题综述 [J]. 中国司法鉴定, 2011, 57(4): 46-49
- [4] 林 敏, 车 敏, 黄以兰, 等. 2 318 例亲子鉴定中的基因突变观察和分析 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(7): 20-21, 19
- [5] 陈 玲, 刘 超, 邱平明, 等. STR-10G 系统 9 个 STR 基因座突变分析 [J]. 中国法医学杂志, 2014, 29(5): 422-423
- [6] 查锡良, 周春燕, 周爱儒, 等. 生物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 259-264
- [7] 居晓斌, 潘 猛, 刘燕婷, 等. 江苏人群 19 个 STR 基因座的遗传多态性 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2014, 34(6): 750-754, 792
- [8] Liu C, Liu C, Nabar NR, et al. Genetic polymorphisms of 9 non-CODIS short tandem repeat loci in two ethnic minority populations in Southern China [J]. Forensic Sci Int Genet, 2013, 7(4): e114-e115
- [9] 张艳萍, 王 琳, 王 毅, 等. STRtyper-10F/G 联合 CODIS 系统鉴定突变三联体和二联体 [J]. 中国法医学杂志, 2012, 27(6): 445-447
- [10] 伍新尧, 童大跃, 朱运良, 等. 用 STR 分型技术作亲权鉴定时判断标准的研究 [J]. 中山大学学报(医学科学版), 2010, 31(1): 1-6
- [11] Børsting C, Morling N. Mutation and/or close relatives? Six case work examples where 49 autosomal SNPs were used as supplementary markers [J]. Forensic Sci Int Genet, 2011, 5(3): 236-241
- [12] 申 琴, 杨红旗, 袁朝晖, 等. DNA 鉴定技术在法医学物证学中的现状和展望 [J]. 生物技术世界, 2015, 10(10): 252-253
- [13] Amar A, Brautbar C, Motro U, et al. Genetic variation of three tetrameric tandem repeats in four distinct Israeli ethnic groups [J]. J Forensic Sci, 1999, 44(5): 983-986
- [14] Gill P, Urquhart A, Millican E, et al. A new method of STR interpretation using inferential logic--development of a criminal intelligence database [J]. Int J Legal Med, 1996, 109(1): 14-22
- [15] 潘 猛, 陈子庆, 丁小健, 等. 江苏汉族群体 15 个 STR 基因座遗传多态性分析 [J]. 江苏医药, 2012, 38(5): 561-564

[收稿日期] 2015-11-24