

江苏人群 12 个非 CODIS STR 基因座的遗传多态性及在亲权鉴定中的应用

居晓斌, 潘 猛, 刘燕婷, 崔 鹤, 周惠英, 顾 民

(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: 利用 3130 遗传基因测序仪的电泳图谱分析江苏人群 D11S4463、D2S1776、D14S1434、D4S2408、D10S1043、D20S482、D12SATA63、D19S433 等 12 个非 CODIS STR 基因座多态性分布, 计算该 12 个基因座的基因频率(P)、个体鉴别能力(DP)、无偏倚期望杂合度(H)、多态性信息总量(PIC)、二联体非父排除率(PE_{du})和三联体非父排除率(PE_{trio}), 并评估其法医学应用价值。方法: 利用 PCR 扩增, 产物通过 3130 测序仪毛细管电泳。读出数据后用分析软件进行分析。结果: 12 个非 CODIS STR 基因座的频率分布在本组人群中均符合 Hardy-Weinberg 平衡。杂合度分布为 0.707 6~0.804 6, 个体鉴别能力为 0.846 8~0.948 6, 二联体非父排除率为 0.278 6~0.482 6, 三联体非父排除率为 0.446 7~0.663 2, 多态性信息总量为 0.643 8~0.807 4。结论: 通过大量的样本实验和等位基因频率的统计, 得出等位基因多态性数据, 用于比对验证, 具有很好的辅助作用, 在一些 CPI 值不足 10 000 及突变案例中具有重要的补充作用。

[关键词] 短串联重复序列; 亲权鉴定; 遗传多态性

[中图分类号] R394-33

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)11-1348-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20161113

Genetic polymorphism of 12 non-CODIS STR loci of Jiangsu population and its application in paternity testing

Ju Xiaobin, Pan Meng, Liu Yanting, Cui He, Zhou Huiying, Gu Min

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

[Abstract] **Objective:** To analyze polymorphism distribution of 12 non-CODIS STR (including D11S4463, D2S1776, D14S1434, D4S2408, D10S1043, D20S482, D12SATA63, D19S433, etc.) of Jiangsu population by 3130 genetic gene sequencing electrophoretograms, and to calculate the gene frequency (P), discrimination power (DP), heterozygosity (H), polymorphic information content (PIC), probability of exclusion of due-testing (PE_{du}) and probability of exclusion of trios-testing (PE_{trio}). And then, to evaluate its forensic application value. **Methods:** The products of PCR amplification were detected by capillary electrophoresis using 3130 sequencer. Data were analyzed by analysis software. **Results:** The frequency distributions of the 12 non-STR CODIS loci were consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium. H ranged from 0.707 6 to 0.804 6, DP was 0.846 8 to 0.948 6, PE_{du} was 0.278 6 to 0.482 6, PE_{trio} was 0.446 7 to 0.663 2, and PIC was 0.643 8 to 0.807 4. **Conclusion:** Through the statistics of a large amount of experimental samples and allele frequencies, the allelic polymorphism data were obtained for comparison and verification. It has a good auxiliary function and play an important complementary role in cases of CPI less than 10 000 and mutation.

[Key words] short tandem; parentage testing; genetic polymorphism

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(11): 1348-1350]

本研究调查江苏地区 1 100 多人份 D11S4463、D2S1776、D14S1434、D4S2408 等 12 个非 CODIS STR 基因座的遗传多态性分布, 从而得出等位基因多态性的数据, 该 12 位点作为辅助基因座, 与亲权鉴定常用的 Goldeneye™ DNA 身份鉴定系统 20A 试剂盒拥有 1 个重复位点(D19S433), 用于比对验证,

具有很好的辅助作用。在一些 CPI 值不足 10 000 及突变案例中更具重要的补充作用。

1 材料和方法

1.1 材料

江苏地区 1 100 多个亲子鉴定无血缘关系的血

样,即每个肯定的家庭中单亲的情况只取一方样本,双亲的取父母的样本。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取

采用常规 Chelex-100 法提取^[1]。

1.2.2 PCR 扩增

12 个 STR 基因座的扩增体系:反应混合物 10 μ L,引物混合物 5 μ L,热启动 *Taq* 酶 0.5 μ L,加 ddH₂O 至 20 μ L,用打孔器取血卡 1 片,PCR 扩增循环参数:95 $^{\circ}$ C 11 min;94 $^{\circ}$ C 1 min,62 $^{\circ}$ C 1 min,72 $^{\circ}$ C 1 min,30 个循环;60 $^{\circ}$ C 60 min;4 $^{\circ}$ C 保持。

1.2.3 扩增产物的检测与分型

扩增产物在 ABI-3130 型 DNA 测序仪上进行电泳, Gene Scan3.3 软件分析。对 STR 基因座进行分型,然后计算似然率^[2],判定被检个体之间的生物学关系。

1.3 统计学方法

应用 Powerstats V12 分析软件进行相关的统计分析^[3]。

2 结果

2.1 等位基因频率分布

通过对 1 100 多份无关样本的检测,得到 12 个非 CODIS STR 基因座等位基因的频率分布资料(表 1)。

2.2 12 个非 CODIS STR 基因座的群体遗传学数据分析

依据等位基因频率和基因型的分布,按上述方法计算出各基因座的个体鉴别能力(discrimination power, DP)、无偏倚期望杂合度(heterozygosity, H)、多态性信息总量(polymorphic information content, PIC)、二联体非父排除率(probability of exclusion of due-testing, PE_{duo})和三联体非父排除率(probability of exclusion of trios-testing, PE_{trio}),基因频率分布通过 Hardy-Weinberg 平衡检验,其 *P* 值均大于 0.05。各 STR 位点的法医学参数见表 2。

3 讨论

由于 STR 基因座的高度多态性和共显性遗传

表 1 江苏人群 12 个非 CODIS STR 位点等位基因分布及频率

Table 1 Allele distribution and frequency of 12 non-STR CODIS loci in Jiangsu population

STR 位点	等位基因	频率	STR 位点	等位基因	频率	STR 位点	等位基因	频率	STR 位点	等位基因	频率	
D11S4463	11	0.002 3	D2S1776	8	0.004 2	D14S1434	10	0.081 9	D4S2408	7	0.002 1	
	12	0.028 6		9	0.148 7		11	0.155 3		8	0.182 0	
	13	0.228 5		10	0.053 1		12	0.033 1		9	0.295 6	
	14	0.306 8		11	0.262 1		13	0.255 5		10	0.335 5	
	15	0.304 2		12	0.393 3		14	0.446 7		11	0.155 3	
	16	0.117 7		13	0.122 1		15	0.019 7		12	0.026 4	
	17	0.010 9		14	0.015 5		16	0.006 8		13	0.002 1	
D10S1435	10	0.030 9	D20S482	10	0.006 8	D12ATA63	10	0.002 1	D19S433	11	0.002 1	
	11	0.004 4		11	0.013 1		11	0.015 3		12	0.046 7	
	12	0.039 8		12	0.035 4		12	0.326 9		12.2	0.004 2	
	13	0.159 9		13	0.281 9		14	0.030 9		13	0.251 3	
	14	0.339 8		14	0.410 8		15	0.024 1		13.2	0.053 1	
	15	0.246 7		15	0.168 6		16	0.219 9		14	0.242 5	
	16	0.146 6		16	0.075 3		17	0.304 4		14.2	0.106 9	
D18S853	17	0.022 1	D6S474	17	0.004 1	D6S1017	18	0.066 7	D9S1122	15	0.079 9	
	18	0.008 6		18	0.002 1		19	0.008 7		15.2	0.160 1	
	10	0.0043		13	0.002 1		7	0.002 1		16	0.013 1	
	11	0.4109		14	0.346 6		8	0.188 9		16.2	0.037 6	
	12	0.0553		15	0.355 6		10	0.420 9		17.2	0.002 1	
	13	0.2355		16	0.135 4		11	0.022 1		10	0.048 7	
	14	0.2309		17	0.115 4		12	0.275 9		11	0.178 1	
15	0.0621	18	0.044 1	13	0.082 1	12	0.324 7					
								13	0.402 4			
									14	0.037 5		
									15	0.0086		

表 2 12 个非 CODIS STR 基因座的 DP、PIC、PE 和 H 值
Table 2 Values of DP, PIC, PE and H in 12 non-STR CODIS loci

STR 基因座	DP	PIC	PE _{obs}	PE _{theo}	H
D11S4463	0.888 5	0.705 4	0.336 4	0.512 7	0.745 4
D2S1776	0.880 3	0.698 2	0.333 4	0.511 6	0.775 1
D14S1434	0.855 1	0.659 2	0.294 7	0.469 5	0.711 6
D4S2408	0.891 6	0.697 2	0.329 3	0.505 1	0.724 3
D10S1435	0.916 3	0.740 3	0.388 2	0.566 8	0.764 6
D20S482	0.867 8	0.670 6	0.306 2	0.480 3	0.760 5
D12ATA63	0.889 6	0.704 2	0.342 5	0.517 6	0.707 6
D19S433	0.948 6	0.807 4	0.482 6	0.663 2	0.804 6
D18S853	0.874 6	0.668 9	0.300 2	0.474 2	0.684 2
D6S474	0.873 6	0.672 3	0.306 1	0.478 8	0.738 6
D6S1017	0.863 2	0.656 7	0.288 9	0.460 2	0.720 3
D9S1122	0.846 8	0.643 8	0.278 6	0.446 7	0.738 9

等特点,PCR-STR 复合扩增荧光检测技术已经成为国际法医学界一项重要的技术手段,在个体识别、亲权鉴定以及 DNA 数据库建设等方面都发挥着越来越重要的作用。

STR 是亲权鉴定中应用最为广泛的遗传性标记,具有显著的人种和地域差异。本文作者居晓斌等^[4]之前已发表过亲权鉴定常用 20 个位点的遗传多态性,本研究通过对 1 100 多份无关样品的 STR 基因座分型结果分析,提供 1 组 12 个非 CODIS STR 基因座的基因多态性分布及基因型频率的可靠数据,此 12 个 STR 与 Goldeneye™ DNA 身份鉴定系统 20A 试剂盒有 1 个重复位点(D19S433),且等位基因频率相近^[5],在亲权鉴定案例中用于辅助鉴定,具有重要作用。

DP、H、PIC 和 PE 作为衡量遗传标记物在人类学、遗传疾病基因的连锁分析、法医学等研究领域应用价值的指标^[6-9],当 PIC>0.5 时标记物提供高度信息量,而本次统计的 PIC 值均在 0.7 以上。通常情况下,当 DP>0.8、PE>0.5 时,说明标记物是高度多态性的遗传标记,具有极高的应用价值^[10]。该 12 个位点作为辅助基因座,尤其在一些 CPI 值不足 10 000 及突变案例中具有重要的补充作用。本研究样本量大,所获得的群体遗传资料的可信度更高^[11]。因此这 12 个非 CODIS STR 位点作为 20A 的辅助鉴定可行,且作为验证实验可大大降低鉴定错误率,在亲权鉴定中具有重要作用。

[参考文献]

[1] Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material[J]. *Bio Techniques*, 2013, 54(3):

134-139

- [2] 张文红,黎青,李少英,等. STR 基因座在二联体亲子鉴定中的应用分析[J]. *法医学杂志*, 2008, 24(6): 446-447
- [3] Meier FM, Frommer KW, Peters MA, et al. Visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor(PBEF), a proinflammatory and cell motility-changing factor in rheumatoid arthritis [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(34): 28378-28385
- [4] 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
- [5] Kruger S, Welte T. Biomarkers in community-acquired pneumonia[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2012, 6(2): 203-214
- [6] 张艳萍,王琳,王毅,等. 203 例汉族人群 9 个 STR 基因座的遗传多态性分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2012, 20(1): 27-29
- [7] 方建新,刘锡杰,程人霖. CODIS 位点在排除亲权中的应用价值[J]. *法医学杂志*, 2001, 17(2): 86-88
- [8] Kraemer L, Beszteri B, Gäbler-Schwarz S, et al. STAMP: extensions to the STADEN sequence analysis package for high throughput interactive microsatellite marker design [J]. *BMC Bioinformatics*, 2009, 10: 41
- [9] Pandu G, Gandhi KP, Sharma JD, et al. Genetic profile of nine STR loci among Goud and Padmashali populations of Andhra Pradesh, India[J]. *Forensic Sci Int*, 2006, 157(2/3): 201-205
- [10] 高雅,李生斌. STR 遗传多态性研究中样本数量对等位基因检出数量的影响[J]. *遗传*, 2008, 30(3): 313-320
- [11] Zha L, Liu Y, Guo Y, et al. Genetic polymorphism of 21 non-CODIS STR loci in the Chinese Mongolian ethnic minority[J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2014, 9(9): e32-e33

[收稿日期] 2016-09-03