

IBS法和 ITO 法应用于全同胞鉴定中的探讨

孙云龙, 杨金龙, 穆立伟, 赵智超, 邓亚军*
(北京中正司法鉴定所, 北京 101318)

摘要:【目的】应用 Goldeneye™ 20A 扩增体系, 讨论 IBS 法和 ITO 法在全同胞鉴定中的应用价值。【方法】选取 150 对全同胞和 500 对无关个体, 用 Goldeneye™ 20A 体系进行 19 个常染色体 STR 基因座的扩增, 计算状态一致性评分(IFS), 用 ITO 法分别计算全同胞关系指数(FSI)、半同胞关系指数(HSI)及其比值(FSI:HSI)。【结果】在检测 Goldeneye™ 20A 体系 19 个基因座时, (1) 当两个体的 IBS \geq 22 时, 倾向于全同胞; 当 IBS \leq 13 时, 倾向于无关个体; 当 13<IBS<22 时, 无法给出倾向性意见。(2) 当 FSI<0.01 时, 倾向于无关个体; 当 FSI>1 且 FSI:HSI>1 时, 倾向于全同胞; 当 0.01 \leq FSI \leq 1 或 FSI>1 而 FSI:HSI \leq 1 时, 无法给出倾向性意见。【结论】IBS 法和 ITO 法都可以用在全同胞亲缘鉴定中, IBS 法将作为新标准出台, 其具有快速简便, 高准确率的优点, 而 ITO 法计算过程较为复杂, 但具有较高的检出概率, 是 IBS 法一种很好的补充。在实际检案中, 可根据案件具体情况, 综合运用。

关键词: Goldeneye™ 20A; 全同胞鉴定; 状态一致性评分(IFS); ITO 法

中图分类号: D919.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2014)03-0465-04

Discuss IBS and ITO Methods Using in Full Sibling Identification

SUN Yun-long, YANG Jin-long, MU Li-wei, ZHAO Zhi-chao, DENG Ya-jun*
(Beijing DNA Evidence Institute, Beijing 101318, China)

Abstract:【Objective】 To discuss IBS and ITO methods in full sibling identification by using Goldeneye™ 20A PCR system.【Methods】 A total of 150 pairs of full siblings and 500 pairs of unrelated individuals were genotyped by Goldeneye™ 20A system. State score (IFS), full sibling index (FSI), half sibling index (HSI) and the FSI:HSI ratio were calculated.【Results】 In Goldeneye™ 20A system, (1) When two individuals' IBS \geq 22, means it inclined to full sibling; When IBS of the two individuals \leq 13, inclined to unrelated individuals; If 13<IBS<22, means it cannot draw any conclusion. (2) If FSI>1 and FSI:HSI>1, means it inclined to full sibling; If FSI<0.01, inclined to unrelated individuals; If 0.01 \leq FSI \leq 1 or FSI>1, but FSI:HSI \leq 1, means it cannot draw any conclusion.【Conclusion】 Both IBS and ITO methods can be used in full sibling identification. The IBS method has advantages of convenient, high speed, and high accuracy. The ITO method relatively shows more complex, but it could be a supplementary for IBS. It suggests that in actual cases, according to the real situation, both method could be used.

Key words: Goldeneye™ 20A; full sibling identification; identity by state score(IFS); ITO method

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2014, 35(3):465-468]

在法医物证鉴定中, 利用常染色体短串联重复序列进行同胞鉴定, 已逐渐成为父权鉴定外一类主要的亲缘鉴定而被广泛关注和研究。由于同胞鉴定, 被鉴定人关系的特殊性及其能提供的对鉴定有帮助的遗传信息较少, 使得同胞关系鉴定具有复杂性和特殊性, 鉴定结论有一定的风险和

不确定性。全同胞鉴定作为同胞鉴定中的一种, 是近年来国内外比较关注的亲缘关系鉴定的热点和难点之一^[1-6]。本文选取了实际检案中的 150 对全同胞样本和 500 对无关个体样本, 利用 Goldeneye™ 20A 扩增体系, 分别用 IBS 法和 ITO 法对上述案例进行统计计算和分析, 并结合配对

收稿日期: 2013-12-20

作者简介: 孙云龙, 学士, 主要从事法医 DNA 检验工作, E-mail: brain_sun@163.com; * 通信作者: 邓亚军, 博士, 主任法医师, 主要从事法医 DNA 检验工作, E-mail: dengyj39@gmail.com

实例,讨论 IBS 法和 ITO 法在全同胞关系鉴定中的应用。

1 材料与方法

1.1 样本来源

从日常检案中随机抽取 150 对全同胞样本(编号第 1 组)和 500 对无关个体样本(编号第 2 组)。其中全同胞样本均来自至少含有两个子代的三联体家系,排除子代为同卵双生双胞胎及发生 STR 基因座突变的家系;500 对无关个体样本为 1000 例无亲缘关系的个体两两随机组合。

1.2 试剂与仪器

Chelex-100 法提取 DNA,Goldeneye™ 20A 扩增试剂盒(基点认知公司),利用 9700 型扩增仪(ABI 公司)扩增 19 个常染色体 STR 基因座,扩增产物在 ABI 3130XL DNA 测序仪上电泳,利用 GeneMapper 软件判读样本的基因型。

1.3 计算状态一致性评分

两个个体在同一基因座上可出现相同的等位基因,这些等位基因的“一致性”即称为状态一致性。该等位基因也称为状态一致性等位基因。相应地,在 1 个 STR 基因座上,两名被鉴定人间的状态一致性等位基因个数称之为状态一致性评分(Identity by state score, IBS)^[7]。利用状态一致性评分(IFS 法)分别计算两个组别中每个配对个体之间的 IBS 值,并以 $IBS \geq 22$ 、 $13 < IBS < 22$ 和 $IBS \leq 13$ 的标准^[7]对两组数据进行统计整理。

1.4 ITO 法计算同胞指数

根据我所验证并使用的 Goldeneye™ 20A 体系各个基因座等位基因频率资料,用 ITO 法^[8]分别计算两个组别中配对个体之间的全同胞指数(FSI)、半同胞指数(HSI)和全同胞指数与半同胞指数的比值(FSI:HSI)。

2 结果

2.1 IBS 统计结果

两组的 IBS 值分布见表 1,第 1 组 IBS 值的分布范围为 14~30,第 2 组 IBS 值的分布范围为 4~18。以 $IBS \geq 22$ 倾向于全同胞、 $IBS \leq 13$ 倾向于无关个体和 $13 < IBS < 22$ 无法给出倾向性意见为标准,对两组的数据进行统计整理,结果见表 2。第 1

组中有 125 对全同胞样本被检出,25 对全同胞样本无法给出倾向性意见,没有全同胞样本被误判为无关个体,全同胞检出率为 83.33%,检测准确率为 100%;第 2 组中有 374 对无关个体样本被检出,126 对无关个体样本无法给出倾向性意见,没有无关个体样本被误判为全同胞,无关个体检出率为 74.80%,检测准确率为 100%。综合两组数据共有 499 对样本可以正确的得到判定,151 对样本在本系统下无法得出倾向性意见,实际检出率为 76.77%,检测准确率为 100%。

表 1 两组 IBS 值分布

Table 1 Distribution of two IBS values

IBS value	Group 1(n = 150)	Group 2(n = 500)
4	0	2
5	0	1
6	0	4
7	0	13
8	0	28
9	0	53
10	0	54
11	0	81
12	0	87
13	0	51
14	1	44
15	1	46
16	0	22
17	2	10
18	2	4
19	6	0
20	5	0
21	8	0
22	17	0
23	21	0
24	28	0
25	21	0
26	14	0
27	8	0
28	9	0
29	5	0
30	2	0

2.2 ITO 法计算结果

第 1 组 FSI 值范围为 $3.06 \times 10^{-2} \sim 2.81 \times 10^{11}$, FSI:HSI 值的范围为 $7.92 \times 10^{-3} \sim 1.39 \times 10^5$;第 2 组 FSI 值范围为 $1.14 \times 10^{-9} \sim 3.48$,FSI:HSI 值的

表2 两组IBS值分布

Table 2 The distribution of two IBS values

Range of IBS value	Group 1 (n = 150)	Group 2 (n = 500)
IBS ≤ 13	0	374
13 < IBS < 22	25	126
IBS ≥ 22	125	0

范围为 $2.85 \times 10^{-7} \sim 2.05 \times 10^{-1}$ 。两组个体的同胞关系指数具体分布见表3。根据两组样本个体的同胞关系指数分布情况,以 $FSI < 0.01$ 和 $FSI > 1$ 且 $FSI:HSI > 1$ 分别作为无关个体和全同胞的判断标准,当 $0.01 \leq FSI \leq 1$ 或 $FSI > 1$ 而 $FSI:HSI \leq 1$ 时暂作为“无法判断”处理。按此标准,两组中各对样本的判断结果见表4,总检出率为 92.31%,误判率为 0。

表3 两组FSI和FSI:HSI值分布

Table 3 Distribution of two FSI and FSI:HSI value

Value	Group 1 (n = 150)		Group 2 (n = 500)	
	FSI	FSI:HSI	FSI	FSI:HSI
$\sim < 0.01$	0	1	461	456
$0.01 \sim < 0.1$	2	2	27	42
$0.1 \sim < 1$	1	8	10	2
$1 \sim < 10$	2	34	2	0
$10 \sim$	145	105	0	0

表4 采用ITO法获得的两组结果

Table 4 Result of two groups using ITO method

Groups	Result			Detection probability (%)	Error probability (%)
	Full sibling	Unrelated individual	Unable to determine		
Group 1	139	0	11	92.31	0
Group 2	0	461	39		

3 讨论

根据《生物学同胞关系鉴定实施规范(征求意见稿)》中提出的以 $IBS \geq 22$ 倾向于全同胞、 $IBS \leq 13$ 倾向于无关个体和 $13 < IBS < 22$ 无法给出倾向性意见为标准进行的全同胞-无关个体亲缘鉴定,无论在第1组还是在第2组中,均出现了无法给出倾向性意见的检测结果,未检出率分别为

16.67%和 25.20%,综合两组数据,利用此方法可以给出结论的概率为 76.77%,与该征求意见稿中给出的 75%的检测系统效能相仿^[7]。在这些给出结论的配对中,对比实际情况,检测结论的准确率为 100%。因此该方法适合作为全同胞鉴定的主要方法,具有较高的检出率和判别准确率。

利用 ITO 法,并以实际得出的数据分布情况进行分类归纳,以 $FSI < 0.01$ 和 $FSI > 1$ 且 $FSI:HSI > 1$ 分别作为无关个体和全同胞的判断标准,当 $0.01 \leq FSI \leq 1$ 或 $FSI > 1$ 而 $FSI:HSI \leq 1$ 时暂作为“无法判断”处理的方法,分别对第1组和第2组的各对样本进行判断,结果显示,两组中各自能给出检测结论的概率分别为 92.67%和 92.20%,综合两组样本,共有 92.31%的样本配对可以根据此方法给出鉴定结论,误判率为 0%,证明该方法也可以作为全同胞鉴定的主要方法,且具有极高的检出率和判别准确率。

在数据处理过程中,IBS法具有快速简捷易判断的特点,在全同胞-无关个体的亲缘鉴定中可以直观迅速地给出鉴定意见,检出率为 76.77%;ITO法虽然数据的计算过程稍显复杂,不易直观判定,不过其检出率为 92.31%,高于 IBS 法。在实际检案中,建议首选 IBS 法,尤其是遇到稀有等位基因的情况下,IBS 法优于 ITO 法。

如下例所示:A与B是我们随机抽取的两名无关个体,其基因分型见表5,两者的共同特点是具有 D6S1043 基因座上相同的稀有等位基因 17.3 (410 bp)。ITO 法计算 FSI 为 1.2809,FSI:HSI 为 0.002949,若单纯以 $FSI > 1$ 为标准进行判断,则倾向于二者为全同胞;如果以 $FSI > 1$ 而 $FSI:HSI \leq 1$ 作为“无法判断”的标准,结果倾向于无法认定。用 IBS 法判断,IBS=13,二者倾向于无关个体。通过这个例子可以发现,当两无关个体的某一基因座具有相匹配的稀有等位基因时,会大大增加 FSI 的值,在全同胞-无关个体的亲缘鉴定中,利用 ITO 法就可能会出现误判或无法判断的结果,而 IBS 法就显现出它的优势。同时也发现,利用增加的 FSI:HSI 的判定标准,本案的结论为无法判断,而单独使用 FSI 作为判别标准,本案则出现误判,因此我们觉得有必要增加 FSI:HSI 是否大于 1 的判别标准,有助于提高鉴定的严谨性和准确性。

本文主要探讨全同胞与无关个体之间的判别鉴定,并未涉及半同胞样本的检测与判别标准,因

表 5 A 与 B STR 基因座分型结果

Table 5 STR results of A and B

Marker	A		Marker	B	
	Allele1	Allele2		Allele1	Allele2
D19S433	12	14	D19S433	14	16
D5S818	11		D5S818	11	12
D21S11	28	30	D21S11	30	31
D18S51	16	18	D18S51	13	15
D6S1043	12	17.3	D6S1043	17.3	18
D3S1358	16		D3S1358	15	16
D13S317	8	11	D13S317	9	12
D7S820	10	12	D7S820	11	12
D16S539	9	11	D16S539	11	12
CSF1PO	11		CSF1PO	9	11
Penta D	8	12	Penta D	9	12
AMEL	-	-	AMEL	-	-
vWA	14	18	vWA	16	17
D8S1179	16	18	D8S1179	14	15
TPOX	9	10	TPOX	11	
Penta E	10	22	Penta E	17	21
TH01	9	9.3	TH01	6	9.3
D12S391	19		D12S391	19	20
D2S1338	25	26	D2S1338	20	23
FGA	21	24	FGA	21	24

此,在使用本文得出的判别标准和方法前,要先排除被鉴定方具有半同胞关系的可能。而在实际检案工作中,我们经常会遇到被鉴定人不能确定双方是否为真正的全同胞(可能为半同胞),或由于家庭原因被鉴定人误认双方为全同胞(实际为半同胞),要求鉴定机构进行全同胞-无关个体的亲缘鉴定要求,为了避免错判,建议鉴定时增加计算FSI; HSI。

在实际的检测过程中还可以利用补充检验X染色体遗传标记、Y染色体遗传标记^[9]或线粒体DNA测序结果,获取更多的遗传信息,进行综合分析,辅助判断,做出正确的结论。对于未能给出倾向性意见的个体,还可以利用增加检测基因座的个数来提高IBS值和同胞指数来进行判断^[7]。

参考文献

[1] 陆惠玲,刘秋玲,台运春,等.常染色体STR遗传标

记在同胞鉴定中的应用[J].中国法医学杂志,2003,18(3):154-156.

Lu HL, Liu QL, Tai YC, et al. Application of autosomal STR genetic markers in siblings identification[J]. Chin J Forensic Med, 2003, 18(3): 154-156.

[2] 周惠英,丁小健.短串联重复序列检测法用于同胞血缘关系鉴定[J].江苏医药,2006,32(12):1117-1118.

Zhou HY, Ding XJ. The siblings' identification with short tandem repeats [J]. Jiangsu Med J, 2006, 32(12): 1117-1118.

[3] Reid TM, Wolf CA, Kraemer CM, et al. Specificity of sibship determination using the ABI identifier multiplex system[J]. J Forensic Sci, 2004, 49(6): 1262-1264.

[4] Tzeng CH, Lyou JY, Chen YR, et al. Determination of sibship by PCR-amplified short tandem repeat analysis in Taiwan [J]. Transfusion, 2000, 40(7): 840-845.

[5] 陆惠玲,周科伟,吕德坚,等. ITO法和判别函数法在同胞关系鉴定中的应用[J].法医学杂志,2009,25(2):118-122.

Lu HL, Zhou KW, Lv DJ, et al. Application of ITO method and discriminant functions in full sibling and half sibling identification [J]. J Forensic Med, 2009, 25(2): 118-122.

[6] 台运春,陆惠玲,吕德坚,等.常染色体STR鉴定同胞的应用探讨[J].中山大学学报:医学科学版,2006,27(3):302-305.

Tai YC, Lu HL, Lv DJ, et al. Application of autosomal STR genetic markers in sibling identification[J]. J Sun Yat-sen Univ: Med Sci, 2006, 27(3): 302-305.

[7] 李成涛,孙宏钰,赵书民,等.生物学全同胞关系鉴定实施规范(SF/Z JD0105002-2014)[S].司法部鉴定管理局.2014-03-17.

Li CT, Sun HY, Zhao SM, et al. Criterion of biological sibling identification (SF/Z JD0105002-2014) [S]. Ministry of Justice, P.R.China, 2014-03-17.

[8] 陆惠玲,杨庆恩.用ITO法计算两个体间的血缘关系机会[J].中国法医学杂志,2002,17(3):188-191.

Lu HL, Yang QE. Using ITO method calculate the chance of two individuals' biological relationships [J]. Forensic Med, 2002, 17(3): 188-191.

[9] Roewer L, A memann J, Spurr NK, et al. Simple repeat sequences on the human Y chromosome microsatellite variation [J]. Genome Res, 1999, 9: 558-567.

(编辑 刘清海)