

常染色体STR突变率的研究

刘素娟^{1,2}, 李成涛², 陈文静¹, 张胤鸣¹, 洪 丽¹, 陈 勇¹, 孙宏钰^{1,2*}

(1.中山大学中山医学院法医学系, 广东 广州 510080; 2.上海市法医学重点实验室, 司法部司法鉴定科学技术研究所, 上海 200063)

摘要:【目的】观察 10 000 例肯定亲子关系的三联体案例中 STR 基因座的突变事件, 获取 STR 基因座的突变率资料。【方法】采用 PowerPlex™ 16 系统进行 15 个 STR 基因座的检测, 从 10 000 例肯定亲子关系的三联体案例中筛查出包含 STR 基因座突变的案例, 确定突变等位基因的来源和步数, 统计各 STR 基因座特异性、父源和母源特异性及等位基因特异性的突变率及其 95% 置信区间, 分析突变的特点。【结果】10 000 例三联体亲子鉴定中检出 368 例发生突变的案件, 共计 379 个突变事件。突变案件的发生率为 3.68%, 15 个 STR 基因座的突变率为 $0.10 \times 10^{-3} \sim 2.30 \times 10^{-3}$, 平均突变率为 1.26×10^{-3} 。各基因座的父源和母源突变率分别为 $0.05 \times 10^{-3} \sim 1.35 \times 10^{-3}$ 和 $0.05 \times 10^{-3} \sim 0.70 \times 10^{-3}$ 。统计 FGA、vWA 和 D18S51 等三个基因座一步突变的等位基因突变率分别为 $5.0 \times 10^{-5} \sim 40.0 \times 10^{-5}$ 、 $5.0 \times 10^{-5} \sim 50.0 \times 10^{-5}$ 和 $5.0 \times 10^{-5} \sim 35.0 \times 10^{-5}$ 。15 个基因座的父源/母源突变比值为 1.3 : 1 ~ 17.0 : 1, 平均为 3.57 : 1。【结论】STR 基因座突变现象普遍存在于亲子鉴定中, 各基因座的突变率、父源和母源的突变率、各等位基因的突变率均存在差异, 获取这些数据资料对于更准确地评判亲子鉴定结果非常必要。

关键词: 短串联重复序列(STR); 亲子鉴定; 常染色体; 突变率

中图分类号: Q987

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2013)03-0326-05

Mutation Rates of Autosomal Short Tandem Repeat

LIU Su-juan^{1,2}, LI Cheng-tao³, CHEN Wen-jing¹, ZHANG Yin-ming¹, HONG Li¹, CHEN Yong¹, SUN Hong-yu^{1,2*}

(1. Department of Forensic Medicine, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China;

2. Shanghai Key Laboratory of Forensic Medicine, Institute of Forensic Science, Ministry of Justice, Shanghai 200063, China)

Abstract: 【Objective】To observe the mutation events of short tandem repeat (STR) loci in 10 000 parentage confirmed trio-cases and obtain the mutation rates of STR loci. 【Methods】15 STR loci of 10 000 parentage confirmed trio-cases were genotyped with PowerPlex™16 system and the cases containing mutant STR loci were screened. The sources and steps of mutant alleles were ascertained. The locus-specific, paternal or maternal specific and allele-specific mutation rates with the corresponding 95% CIs were calculated, respectively. The characteristics of the mutations were analyzed. 【Results】368 mutant cases, a total of 379 mutation events were observed in 10 000 trio-cases for these 15 STR loci. The incidence of mutant cases was 3.68%. The mutation rates of 15 STR loci were between $0.10 \times 10^{-3} \sim 2.30 \times 10^{-3}$, and the average mutation rate was 1.26×10^{-3} . The paternal and maternal mutation rates were $0.05 \times 10^{-3} \sim 1.35 \times 10^{-3}$ and $0.05 \times 10^{-3} \sim 0.70 \times 10^{-3}$, respectively. The allele-specific single-step mutation rates for FGA, vWA and D18S51 were between $5.0 \times 10^{-5} \sim 40.0 \times 10^{-5}$, $5.0 \times 10^{-5} \sim 50.0 \times 10^{-5}$ and $5.0 \times 10^{-5} \sim 35.0 \times 10^{-5}$, respectively. The ratios of paternal to maternal mutant events for these 15 STR loci were between 1.3 : 1 ~ 17.0 : 1, and the average ratio was 3.57 : 1. 【Conclusion】STR mutation was commonly existed in paternity testing. The mutation rates of various loci, paternal and maternal sources, and various alleles showed significant differences. It was necessary to obtain these data to accurately interpret the genotyping results in paternity testing.

Key words: short tandem repeat (STR); paternity testing; autosome; mutation rate

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2013, 34(3): 326-330]

收稿日期: 2013-01-14

基金项目: 国家自然科学基金(81273347); 上海市法医学重点实验室资助项目(12DZ2271500); 2012 年高校基本科研业务费中山大学青年教师培育项目(09YKPY78)

作者简介: 刘素娟, 硕士研究生, E-mail: lsjqb618@sina.com; * 通信作者: 孙宏钰, 教授, 硕士生导师, E-mail: sunhongyu2002@163.com

短串联重复序列(short tandem repeat, STR)是目前亲子鉴定中应用最广泛的一种长度多态性遗传标记,其多态信息含量高,非父排除能力强,但相应的突变率也较高^[1],对亲子鉴定结果评判造成干扰。本研究通过大样本的三联体家系调查分析,获得常用15个STR基因座特异性的突变率、父源和母源特异性的突变率,并初步获取等位基因特异性的突变率,为突变事件的识别提供依据,并为中国人群突变案件的分析提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 案例筛选及突变基因座的确定

10 000例肯定亲子关系的三联体案件来自中山大学法医鉴定中心法医物证鉴定室2005年至2011年日常工作检案。检验材料包括血痕、毛发(带毛囊)、羊水、肌肉组织等。

参考《法庭科学DNA亲子鉴定规范》(GA/T 965-2011)^[2],本研究对肯定亲子关系的标准设定为:经PowerPlex™ 16系统的15个STR基因座(D3S1358、TH01、D21S11、D18S51、PentaE、D5S818、D13S317、D7S820、D16S539、CSF1PO、Penta D、vWA、D8S1179、TPOX和FGA)检测,分型结果均符合孟德尔遗传规律,且亲权指数(paternal index, PI) > 10 000。若出现1~3个基因座违反遗传规律,经加测其它STR基因座,未发现新的违反遗传规律的基因座或总的违反遗传规律的基因座数目小于4,且计算PI > 10 000,亦视为肯定亲子关系。对肯定亲子关系的案例中违反遗传规律的基因座通过测序进行复核确认,剔除等位基因丢失、稀有等位基因等非重复单位数目增减的案例(另文报道),筛选总案例数目至10 000例。

1.2 亲权指数(PI)计算

采用《法庭科学DNA亲子鉴定规范》(GA/T 965-2011)^[2]所推荐的方法:符合遗传规律的基因座根据Lee等^[3]的方法计算PI值;不符合遗传规律的基因座则按照Brenner法^[4]以STR基因座突变率结合突变步数作为传递概率计算PI值,即 $PI = [(生母提供生母基因或发生突变基因概率) \times (假设父提供生父基因或发生突变基因概率)] / [(生母提供生母基因或发生突变基因概率) \times (随机男子提供生父基因概率)]$,其中等位基因突变率采用 $m_{i,j} = \mu / 10^{n-1}$ 具体化, μ^{n-1} 为STR基因座突

变率,统一取0.002; n 为等位基因 i 突变为 j 的突变步数。当 i 突变成 j 为2步时, $m_{i,j} = 0.002/10$;当 i 突变成 j 为 n 步时, $m_{i,j} = 0.002/10^{n-1}$ 。此外,需判断突变等位基因的来源,规定父系突变是母亲突变发生率的3.5倍,即对母源突变的等位基因突变率要在父源突变的基础上除以3.5。

1.3 等位基因突变来源和突变步数的确定

参考Brinkmann等^[5-6]的方法分别确定D18S51等15个基因座的突变等位基因的来源,比较子代与亲代的等位基因,以重复单位相差最小的亲代等位基因作为突变基因;在步数相差相同的情况下,则根据重复单位的结构相似度来判断,结构最接近者作为突变来源;否则判为来源不确定。突变步数即为重复单位的增加(+ n)或减少(- n),若同时存在增加或减少同步数的可能则判为不确定。

1.4 STR基因座及等位基因突变率的计算

采用直接计数法计算D18S51等15个基因座特异性的突变率、父源和母源特异性的突变率。选择本研究中包含来源明确的一步突变最多的3个基因座,参考美国血库协会(American Association of Blood Banks, AABB)^[7]初步计算等位基因特异性的突变率。利用网址<http://statpages.org/confint.html>根据二项分布法计算以上各种突变率的95%置信区间(confidence interval, CI)。

2 结果

2.1 突变事件观察概况

10 000例肯定亲子关系的三联体案件经PowerPlex™ 16系统检测共观察到368例发生突变的案件,15个STR基因座均检出突变,共计379个突变事件。其中358例(97.28%)仅出现一个基因座突变,9例(2.45%)为两个基因座同时发生突变,1例(0.27%)为三个基因座同时发生突变。在379个突变事件当中,确定的父源突变事件为246个(64.91%),母源突变事件69个(18.21%),来源不确定的突变事件64个(16.89%)。一步突变354次(93.40%),增加一个重复单位(+1)178次,减少一个重复单位(-1)127次,不确定者49次;两步、三步、四步突变分别为17次(4.49%)、7次(1.85%)、1次(0.26%)。

2.2 STR基因座突变率及其父源或母源的突变率

15个STR基因座突变率为 $0.10 \times 10^{-3} \sim 2.30$

表 1 15 个 STR 基因座及其父(母)源突变的突变率和 95% 的置信区间

Table 1 Mutation rates and 95% CIs of 15 STR loci and the paternal/maternal source

Locus	Total		Paternal		Maternal	
	n°mutations/meioses	Rates[95%CI](×10 ⁻³)	n°mutations/meioses	Rates[95%CI](×10 ⁻³)	n°mutations/meioses	Rates[95%CI](×10 ⁻³)
D18S51	46/20 000	2.30[3.00,1.06]	27/19 990	1.35[1.89,0.82]	14/19 990	0.70[1.09,0.32]
vWA	41/20 000	2.05[2.71,1.40]	32/19 988	1.60[2.18,1.02]	3/19 988	0.15[0.33,0.029]
CSF1PO	40/20 000	2.00[2.65,1.35]	25/19 984	1.25[1.77,0.74]	7/19 984	0.35[0.62,0.077]
FGA	39/20 000	1.95[2.59,1,31]	28/19 994	1.40[1.95,0.86]	8/19 994	0.40[0.69,0.11]
Penta E	36/20 000	1.80[2.42,1.18]	26/19 994	1.30[1.83,0.78]	7/19 994	0.35[0.62,0.077]
D21S11	33/20 000	1.65[2.24,1.06]	15/19 988	0.75[1.15,0.35]	12/19 988	0.60[0.96,0.24]
D8S1179	25/20 000	1.25[1.77,0.74]	16/19 986	0.80[1.21,0.39]	2/19 986	0.10[0.25,0.046]
D3S1358	21/20 000	1.05[1.52,0.58]	14/19 990	0.70[1.09,0.32]	2/19 990	0.10[0.25,0.046]
D13S317	21/20 000	1.05[1.52,0.58]	14/19 994	0.70[1.09,0.31]	4/19 994	0.20[0.41,0.006]
D7S820	19/20 000	0.95[1.40,0.50]	17/19 998	0.85[1.28,0.43]	1/19 998	0.05[0.15,0.053]
D16S539	19/20 000	0.95[1.40,0.50]	9/19 990	0.45[0.76,0.14]	5/19 990	0.25[0.48,0.02]
D5S818	18/20 000	0.90[1.34,0.46]	16/19 996	0.80[1.21,0.39]	-	-
Penta D	13/20 000	0.65[1.02,0.28]	6/19 992	0.30[0.55,0.048]	3/19 992	0.15[0.33,0.029]
TH01	6/20 000	0.30[0.55,0.047]	-	-	1/19 990	0.05[0.15,0.053]
TPOX	2/20 000	0.10[0.25,0.046]	1/19 998	0.05[0.15,0.053]	-	-

“-”: Mutation was not observed. n° means number of mutations.

× 10⁻³(表 1),其中 D18S51、vWA、CSF1PO 和 FGA 基因座的突变率较高,而 TPOX、TH01 和 Penta D 基因座则较低。父源突变率总体而言均高于母源

(表 2),但在 D21S11 基因座,父源与母源突变率相差不大(0.75 × 10⁻³ 和 0.60 × 10⁻³),而在 D7S820 基因座,父源与母源突变率则有较大差异(0.85 × 10⁻³ 和 0.05 × 10⁻³)。

2.3 STR 基因座的等位基因突变率

本研究挑选出在突变来源确定的情况下观察到的一步突变事件最多的三个基因座 D18S51(41 次)、FGA(36 次)和 vWA(35 次)进行等位基因突变率的初步探讨(表 3),结果显示各等位基因的突变率存在明显的差异,如基因座 vWA 的等位基因突变率最低值(5.0 × 10⁻⁵)与最高值(50.0 × 10⁻⁵)之间相差近 10 倍。

3 讨 论

3.1 STR 基因座特异性的突变率的分析

常用 STR 基因座的突变率大约在 0.1% ~ 0.5%^[8]。本研究的 15 个 STR 基因座突变率为 0.01% ~ 0.23%(表 1),平均突变率约为 1.26 × 10⁻³,突变率最高的基因座 D18S51(2.30 × 10⁻³)与最低的基因座 TPOX(0.10 × 10⁻³)的突变率相差 20 多倍。

李海霞等^[9]对 5 084 例肯定亲权的二联体和

表 2 15 个 STR 基因座的父源/母源突变比

Table 2 Ratio of paternal/maternal mutations observed at the 15 STR loci

Locus	Paternal/maternal mutations	Indeterminate mutations	Ratio of paternal/maternal mutations	Paternal proportion [95%CI](%)
D7S820	17/1	1	17.0	0.94 [1,0.84]
vWA	32/3	6	10.7	0.91 [1,0.82]
D8S1179	16/2	7	8.0	0.89 [1,0.74]
D3S1358	14/2	5	7.0	0.88 [1,0.71]
Penta E	26/7	3	3.7	0.79 [0.93,0.65]
CSF1PO	25/7	8	3.6	0.78 [0.92,0.64]
D13S317	14/4	3	3.5	0.78 [0.97,0.59]
FGA	28/8	3	3.5	0.78 [0.91,0.64]
Penta D	6/3	4	2.0	0.67 [0.97,0.36]
D18S51	27/14	5	1.9	0.66 [0.8,0.51]
D16S539	9/5	5	1.8	0.64 [0.89,0.39]
D21S11	15/12	6	1.3	0.56 [0.74,0.37]
D5S818	16/-	2	All paternal	All paternal
TPOX	1/-	1	All paternal	All paternal
TH01	-/1	5	All maternal	All maternal

“-”: Mutation was not observed.

表 3 FGA、vWA、D18S51 基因座的等位基因突变率和 95% 的置信区间
Table 3 Allelic mutation rates and 95% CIs for FGA, vWA and D18S51

Allele	FGA		vWA		D18S51	
	n°mutations/meioses	Rate[95%CI](×10 ⁻⁵)	n°mutations/meioses	Rates[95%CI](×10 ⁻⁵)	n°mutations/meioses	Rates[95%CI](×10 ⁻⁵)
13					3/19 994	15.0[3.1,43.8]
14					2/19 994	10.0[1.2,36.1]
15					2/19 994	10.0[1.2,36.1]
16			4/19 990	20.0[5.5,51.2]	6/19 994	30.0[11.0,65.3]
17			10/19 990	50.0[24.0,92.0]		
18			9/19 990	45.0[20.6,85.4]	1/19 994	5.0[0.1,27.9]
19			7/19 990	35.0[14.1,72.1]	1/19 994	5.0[0.1,27.9]
20			4/19 990	20.0[5.5,51.2]	7/19 994	35.0[14.1,72.1]
21	1/19 988	5.0[0.1,27.9]	1/19 990	5.0[0.1,27.9]	6/19 994	30.0[11.0,65.3]
22	1/19 988	5.0[0.1,27.9]			5/19 994	25.0[8.1,58.3]
23	8/19 988	40.0[17.3,78.8]			4/19 994	20.0[5.5,51.2]
24	8/19 988	40.0[17.3,78.8]			1/19 994	5.0[0.1,27.9]
25	6/19 988	30.0[11.0,65.3]				
26	3/19 988	15.0[3.1,43.9]			1/19 994	5.0[0.1,27.9]
27	4/19 988	20.0[5.5,51.2]				

n°means number of mutations

三联体亲子鉴定案例进行分析，观察到 PowerPlex™16 体系的 15 个常染色体 STR 基因座的突变率为 0.011% ~ 0.239%，与本研究相比，由于研究的群体数目都相对较大，都是中国南方汉族人群，获得的突变率也比较接近。而申琴等^[10]对 1 013 例认定亲子关系的案例在 Identifiler™ 系统的 15 个 STR 基因座中仅检出 5 个基因座发生突变，突变率为 0.07% ~ 0.15%，这项研究观察的群体数目相对较少，突变数据不一定能充分地反映群体的突变情况。Mardini 等^[11]对巴西南部群体 13 个 CODIS 核心基因座的突变率的调查研究显示，TH01 基因座的突变率最低，为 4.6×10^{-5} ，而 FGA 基因座突变率最高，达 2.4×10^{-3} ；本研究突变率最低的为基因座 TPOX (0.10×10^{-3})，最高的为基因座 D18S51 (2.30×10^{-3})，这些都说明不同 STR 基因座之间突变率具有显著性差异，有时可能会相差成上百倍。本研究主要观察与分析了中国南方汉族人的 STR 基因座的突变率，国内外对于 STR 基因座突变率的研究还显示，不同种族与地域的人群之间同一 STR 基因座的突变率也存在差异^[12-14]。

3.2 父源和母源特异性的基因座突变率的比较

已有大量研究显示，STR 的突变表现出性别差异，父源突变约是母源突变的 3 ~ 5 倍^[5,15]，本

研究的父源突变与母源突变的平均比值约为 3.57 : 1。虽然目前不同作者的研究结果均支持父源突变多于母源突变，但是美国血库协会的研究显示不同 STR 基因座的父源/母源突变率比值也存在差异，最低为 1.25 倍，而最高的则达 18.466 倍^[7]。从表 1 和表 2 中可以看出，父源突变率最高的基因座为 vWA (1.60×10^{-3})，母源突变率最高的基因座为 D18S51 (0.70×10^{-3})，父源/母源突变比值最大的基因座为 D7S820 (17.0/1)，比值最小的基因座为 D21S11 (1.3/1)。

3.3 突变案例的 PI 值计算

对常规的三联体亲子鉴定案件我们一般会检测 15 ~ 20 个常染色体 STR 基因座，随着检测的 STR 基因座数目增加，检出突变现象的总机率会更高。蔡颖等^[16]的研究数据表明无论是采用 Identifiler™ 还是 PowerPlex™16™ 试剂盒的 15 个常染色体 STR 基因座检测，累积突变案件的发生率均接近 1.75%。本研究在 10 000 例肯定亲子关系的三联体案件中检出 368 例发生突变的案件，而且有 9 例出现两个基因座同时突变、1 例为三个基因座同时突变，突变案件的发生率约为 3.68%，即每 100 例双亲亲子鉴定就可能遇上 2 ~ 4 例发生突变。同一案件中出现两个以上的基因座突变的情况相对少见，但也不容忽视。

目前国内关于 STR 基因座突变率的报道通常只包括几百或数千例样本,囿于突变数据不充分,目前国内同行在采用 Brenner 法计算突变案例的 PI 值时,对所有的 STR 基因座突变率通常取 0.002 的均值、母源突变率按父源突变率的 1/3.5 代入计算。但是,本研究结果显示不同基因座的突变率及其父(母)源突变率均存在明显的差异,仅笼统设定一个数值进行计算将降低分析结果的准确性,尤其对存在多个基因座同时突变的案例影响会更大。

此外,美国血库协会及国际法医遗传学会(International Society of Forensic Genetics, ISFG)推荐的另一种突变基因座的亲权指数计算方法——Fimmers 法^[7]以 STR 等位基因突变率作为传递概率计算 PI 值,这种方法考虑到了具体的等位基因突变方式,理论上会更准确。但是,由于目前对于 STR 等位基因突变率的数据在国际上仍不齐全,在国内更是空白,至今仍无法应用于实际工作检案。本研究初步对三个 STR 基因座的等位基因特异性突变率进行统计,结果显示各等位基因的突变率的确存在明显的差异。随着 STR 分型技术在亲子鉴定中的广泛持续应用,基于更大数量的家系积累,相信今后可以获得各个基因座的等位基因突变率,促进亲子鉴定实践更准确、科学地进行结果评估。

参考文献:

- [1] Henke L, Henke J. Mutation rate in human microsatellites [J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64(5): 1473-1474.
- [2] 中华人民共和国公安部. 法庭科学 DNA 亲子鉴定规范(GA/T 965-2011)[S], 2011.
Ministry of Public Security of the People's Republic of China. Regulation for DNA parentage testing in forensic science(GA/T 965-2011)[S], 2011.
- [3] Lee HS, Lee JW, Han GR, et al. Motherless case in paternity testing[J]. *Forensic Sci Int*, 2000, 114(2): 57-65.
- [4] Brenner CH. Mutations in Paternity [EB/OL]. <http://dna-view.com/mudisc.htm>.
- [5] Brinkmann B, Klitsch M, Neuhuber F, et al. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat[J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 62(6): 1408-1415.
- [6] Weber JL, Wong C. Mutation of human short tandem repeats [J]. *Hum Mol Genet*, 1993, 2(8): 1123-1128.
- [7] American Association of Blood Banks (AABB). Annual report for testing in 2008 [EB/OL]. http://www.aabb.org/Documents/areditation/Parentage_Testing_Accreditation_Program/rtannrpt06.pdf
- [8] 郑秀芬. 法医 DNA 分析[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 209-213.
Zheng XF. Forensic DNA typing [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 209-213.
- [9] 李海霞, 马晓燕, 张晋湘, 等. 24 个常用 STR 基因座的突变观察与分析[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2010, 31(1): 13-16.
Li HX, Ma XY, Zhang JX, et al. Observation and analysis of mutation of 24 short tandem repeat loci [J]. *J Sun Yat-sen Univ: Med Sci*, 2010, 31(1): 13-16.
- [10] 申琴, 倪斌, 欧阳曙明, 等. 湖南地区 1013 例亲子鉴定中的突变位点研究[J]. 生命科学研究, 2009, 13(6): 517-520.
Shen Q, Ni B, Ouyang SM, et al. Mutations of short tandem repeat loci in 1013 cases of parentage testing in Hunan [J]. *Life Sci Res*, 2009, 13(6): 517-520.
- [11] Mardini AC, Rodenbusch R, Schumacher S, et al. Mutation rate estimates for 13 STR loci in a large population from Rio Grande do Sul, Southern Brazil [J]. *Int J Legal Med*, 127(1): 45-47.
- [12] Yan J, Liu Y, Tang H, et al. Mutations at 17 STR loci in Chinese population [J]. *Forensic Sci Int*, 2006, 162(1-3): 53-54.
- [13] Butler JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing [J]. *J Forensic Sci*, 2006, 51(2): 253-265.
- [14] Henke L, Henke J. Supplemented data on mutation rates in 33 autosomal short tandem repeat polymorphisms [J]. *J Forensic Sci*, 2006, 51(2): 446-447.
- [15] Leopoldino AM, Pena SD. The mutational spectrum of human autosomal tetranucleotide microsatellites [J]. *Hum Mutat*, 2002, 21(1): 71-79.
- [16] 蔡颖, 周广彪, 赵书民, 等. 中国人群亲权鉴定常用 STR 基因座平均突变率的估计 [J]. 中国司法鉴定, 2010, 52(5): 56-59.
Cai Y, Zhou GB, Zhao SM, et al. Estimation of average mutation rates of routine STR loci in parentage testing [J]. *Chin J Forensic Sci*, 2010, 52(5): 56-59.

(编辑 孙慧兰)