

·信息研究·

浙江省汉族人群 18-STR 基因座的分型资料及其应用

陈 雁, 朱宇宁, 吕时铭*, 尤建飞, 马 裕

(浙江大学医学院附属妇产科医院检验科//浙江大学司法鉴定中心亲子鉴定实验室, 浙江 杭州 310006)

摘要:【目的】建立浙江地区汉族人群 18 个 STR 基因座(D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、TH01、D13S317、D16S539、D2S1338、D19S433、VWA、TPOX、D18S51、D5S818、FGA、PentaE、PentaD、SE33) 的遗传多态性数据资料, 并探讨 18-STR 鉴定分析系统在亲子鉴定、产前诊断等领域的应用。【方法】对浙江汉族 598 例无血缘关系个体, 采用 2 组荧光标记 STR-PCR 复合扩增系统及毛细管电泳基因分型技术, 获取 18 个 STR 基因座数据资料; 在 497 个亲子鉴定案例中, 比较 18-STR 与 15-STR 鉴定系统在亲子鉴定和产前诊断中的应用。【结果】18 个 STR 基因座基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$)。18 个 STR 基因座的杂合度在 0.630 ~ 0.942 之间, 累积个体识别力大于 0.999999999, 基因型分布与中国其它地区汉族人群存在差异。与 15-STR 鉴定系统相比, 18-STR 鉴定系统更有利于二联体亲缘关系的认定及可疑突变的判断。在胎儿亲子鉴定中偶然发现的 1 例 21 三体胎儿在 D21S11、PentaD 两个 STR 基因座出现了特征性峰型。【结论】18 个 STR 基因座在浙江汉族人群中呈高度多态性, 对法医学亲子关系的认定或排除具有较大价值, 部分 STR 基因座的检测也有助于非整倍染色体的产前诊断。

关键词: 浙江; 汉族人群; 短串联重复序列(STR); 遗传多态性; 亲子鉴定; 产前诊断

中图分类号: R89 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2010)01-0122-07

Establishment and Application of 18-STR Database in Han Population from Zhejiang Province

CHEN Yan, ZHU Yu-ning, LU Shi-ming*, YOU Jian-fei, MA Yu

(Department of Laboratory Medicine, Women's Hospital, School of Medicine // Laboratory of Paternity Test, Judicial Identification Center, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China)

Abstract: 【Objective】To construct a database for the genetic polymorphism of 18 STR loci (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, VWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA, PentaE, PentaD, SE33) in Han population from Zhejiang province. To investigate the application of 18 STR loci in the field of paternity testing and prenatal diagnosis. 【Methods】Fluorescent dye labeling multiplex STR-PCR, capillary electrophoresis and DNA sequencer GeneScan were adopted in genotyping 598 unrelated samples collected from Han population in Zhejiang province. 18-STR database was established and analyzed. Population comparison was conducted between Han population in Zhejiang province and 8 other population. 15-STR and 18-STR identification system were compared in 497 paternity testing cases. 【Results】We observed the distribution of 18 STR loci in Han population meet Hardy-Weinberge equilibrium and was different from other 8 population (χ^2 test, $P > 0.05$). Statistical results showed that the heterozygosis (He) ranged from 0.630 to 0.942. The combined power of discrimination was > 0.999999999 . Compared with 15-STR identification system, higher paternity index scores and higher exclusion rate were obtained with 18-STR identification system in dual-case paternity test and mutation identification. One trisomy 21 fetus was found in a prenatal paternity test case which had two characteristic genotypes in 2 STR loci of D21S11 and Penta D. 【Conclusions】The 18 loci were relatively highly genetic polymorphic in Zhejiang Han population and could be used for paternity testing. Some STR loci could be used in prenatal diagnosis for aneuploidy.

Key words: Zhejiang province; Han population; short tandem repeats (STR); genetic polymorphism; paternity testing; prenatal diagnosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2010, 31(1): 122-128]

收稿日期: 2009-05-17

基金项目: 浙江省卫生厅科研项目(2007B130)

作者简介: 陈雁, 学士, 检验师, E-mail: chenyanlenovo@zju.edu.cn; * 通信作者: 吕时铭, E-mail: lusm@zju.edu.cn

短串联重复序列(short tandem repeat, STR)是人类的一种重要遗传标记,它是 2~7 个 bp 组成的核心序列,经过几次到几十次的串联重复,构成特定的 DNA 片段并在人群中呈多态性分布。STR 具有高度遗传多态性和稳定性,在遗传制图、民族研究、疾病筛选、基因诊断、法医学个体识别和亲子鉴定等方面的研究有重要意义。目前一般商品试剂盒只检测 15 个 STR 基因座^[1],用于亲子鉴定(尤其对于二联体)存在着较大风险^[2-3],为保证亲子鉴定结果的准确性和科学性,本研究拟通过分析浙江地区汉族人群 18 个 STR 基因座(D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、TH01、D13S317、D16S539、D2S1338、D19S433、VWA、TPOX、D18S51、D5S818、FGA、PentaE、PentaD、SE33)的遗传多态性,获取该群体的 18-STR 数据资料,并在此基础上评估 18-STR 鉴定系统在亲子鉴定中的应用价值,探讨在产前诊断等领域中的应用。

1 材料与方法

1.1 标本来源

对 2006 年 5 月至 2009 年 3 月在我实验室进行亲子鉴定的 497 个案例(包括二联体鉴定 344 例,三联体鉴定 96 例及父-母-胎儿的三联体鉴定 57 例)进行分析,选择其中 598 例无血缘关系个体(均为浙江地区汉族人)建立 18-STR 数据资料。标本采用新鲜静脉血/手指末梢血 1 μL 或羊水 1 mL,所有标本采集及检测均经过知情同意并保密所涉及的个体信息。

1.2 试剂与仪器

采用美国 ABI 公司的 AmpFlSTR[®] Identifiler[®] Kit 和美国 Promega 公司的 PowerPlex 16 Monoplex System (Penta D、Penta E)、PowerPlex ES Monoplex System(SE33)kit。ABI9700 型 PCR 扩增仪、ABI310 型基因分析仪等。

1.3 DNA 提取

按 Chelex-100 法^[4]提取血液、羊水等标本的 DNA。

1.4 18-STR 鉴定系统分析方法

1.4.1 PCR 扩增 第 1 组:采用 AmpFlSTR Identifiler Kit 检测 D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、TH01、D13S317、D16S539、D2S1338、D19S433、VWA、TPOX、D18S51、D5S818、FGA

等 15 个基因座。反应体系总体积 20 μL ,含 PCR Reaction Mix 7.7 μL 、Identifiler Primer set 4 μL 、Taq Gold DNA Polymerase 0.3 μL 以及样本 DNA 8 μL 。在 ABI9700 型 PCR 扩增仪上扩增,反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 11 min 预变性,然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min、59 $^{\circ}\text{C}$ 1 min、72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,循环 28 次,再 60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 60 min,最后扩增产物于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存备用。

第 2 组:采用 PowerPlex 16 Monoplex System 和 PowerPlex ES Monoplex System kit 的相关组分,制备同时检测 PentaE、PentaD、SE33 等 3 个基因座的复合扩增体系。反应体系总体积 20 μL ,含 10 \times buffer 2.2 μL , PentaE Primer 0.5 μL , PentaD Primer 0.6 μL , SE33 Primer 0.7 μL , Taq Gold DNA Polymerase 0.4 μL , H_2O 7.6 μL 及样本 DNA 8 μL 。在 ABI9700 型 PCR 扩增仪上扩增,反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 11 min, 96 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、70 $^{\circ}\text{C}$ 45 s,循环 10 次;90 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、70 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 再循环 22 次,接着 60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 min,最后扩增产物于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存备用。

1.4.2 毛细管电泳及基因分型检测 取 Hi-Di Formamide 15 μL , 分子质量标记物 0.5 μL , PCR 扩增产物 1.5 μL ,于 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 3 min,迅速冰冷 3 min 后置入 ABI310 型基因分析仪上进行电泳。用 ABI PRISM 310 Data Collection Software-Version 3.1.0 软件将收集的电泳图谱信息处理成数据信息,使用 Gene Mapper ID software V3.2 软件,以美国 ABI 公司及美国 Promega 公司的等位基因标准物(Ladder)为参照进行样本等位基因分型。

1.4.3 DNA 测序 采用 ABI 公司的 3100 基因分析仪,对等位基因阶梯(allelic ladder)中没有的等位基因(off-ladder allele, OL)进行测序分析,以核实其重复序列的片段长度,并根据国际法医遗传学会等位基因命名原则和 Ladder 命名。

1.5 18-STR 数据资料群体多态性分析

对 598 例个体在 18 个基因座的基因型进行统计,采用美国 Promega 公司的 PowerstatesV12 软件(<http://www.promega.com>)计算 18 个 STR 基因座的等位基因频率、基因型频率、杂合度(He)、匹配概率(PM)、个人识别力(DP)、非父排除率(PE)、多态信息总量(PIC)等群体遗传学指标,并用 HWE 精确检验软件^[5]进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验;用 RxC 软件(<http://bioweb.usu.edu/mpmbio>)比较不同群体间的等位基因频率

差异。

1.6 18-STR 鉴定系统在二联体亲子鉴定中的应用

采用 18-STR 鉴定系统的等位基因频率信息,对 238 例在 15 个基因座符合遗传学规律的二联亲子鉴定案例进行亲权指数和亲权概率再分析,与本实验室常规采用的 15-STR 鉴定系统(ABI 商品用试剂盒, AmpFISTR® Identifiler® Kit) 的结果进行比较。

1.7 18-STR 鉴定系统在可疑突变案例(15-STR 鉴定系统下矛盾基因座小于 3 个)中的应用

对本实验室常规进行鉴定的 497 案例中出现的 12 个可疑突变案例(出现 2 个矛盾基因座的有 3 例且均为二联体;出现 1 个矛盾基因座的有 9 例其中 6 例为二联体、3 例为三联体),采用 18-STR 鉴定系统进行重新分析。

1.8 18-STR 鉴定系统在胎儿鉴定及产前诊断中的应用

采用 18-STR 鉴定系统对 57 例父-母-胎儿的三联体标本进行回顾性分析。

2 结 果

2.1 18-STR 数据资料

598 例无血缘关系浙江汉族个体的 18 个 STR 基因座基因型频率分布在 0.001 ~ 0.537 之间,所有基因座基因型频率分布(表 1)均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$)。其中,发现了某些在国内尚未见报道的等位基因,如 D21S11 等位基因 33.1, D19S433 等位基因 14.1, VWA 等位基因 17.1, PentaE 等位基因 15.1 和 SE33 等位基因 17.1、18.1、29.3、34.2、35.2;另外,也经测序发现了试剂盒检测系统中没有的等位基因(OL),如 D7S820 等位基因 9.1、10.1、11.1;D13S317 等位基因 5、PentaE 等位基因 26 等,这些等位基因在广东等地区汉族人群中也有报道^[6]。除此之外,某些在其它地区人群中较常见的等位基因却未在浙江汉族中发现,如 D21S11 等位基因 26、FGA 等位基因 17 等(表 1)。

2.2 18-STR 数据库群体遗传学多态性参数统计

浙江汉族 18 个 STR 基因座的杂合度(He)在 0.630 ~ 0.942 之间、个体识别力(DP)在 0.798 ~ 0.992 之间、匹配概率(PM)在 0.008 ~ 0.202 之间、非父排除率(PE)在 0.329 ~ 0.883 之间、多态信息

含量(PIC)在 0.57 ~ 0.94 之间(表 1)。

2.3 浙江人群与其它群体的等位基因频率分布比较

所研究的浙江汉族人群与文献报道^[6-15]的群体在不同 STR 基因座上存在基因频率分布差异(表 2):浙江汉族人群在所有相同检测基因座上与广东地区汉族人群^[6]、东北地区汉族人群^[9]、新加坡华人^[14]之间差异有统计学意义($P < 0.05$);与华东地区汉族人群^[7]比较除 TPOX 外其余基因座差异有统计学意义($P < 0.05$);与四川^[8]、河南^[10]、北京^[12]和香港^[13]地区比较在大多数基因座等位基因频率差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 18-STR 鉴定系统与传统 15-STR 鉴定系统在二联亲子鉴定中的应用比较

在 238 例 15 个 STR 基因座符合遗传学规律的二联体鉴定中,亲权概率小于 99.99% 的有 36 例,占 15.1%,增加至 18 个基因座后,仅有一例亲权概率未达到 99.99%,并且亲权概率大于 99.999 9% 有 226 例占 95%(表 3)。

2.5 18-STR 鉴定系统在可疑突变案例鉴定中的应用

12 个可疑突变案例在增加了 3 个 STR 基因座(即 18-STR 鉴定系统)检测后,其中 4 例达到否定标准(三联体:四个及以上基因座不符合遗传学规律;二联体:三个及以上基因座不符合遗传学规律)而得以排除亲子关系,另外 8 例(均为 1 个矛盾基因座)未发现新的不符合遗传规律的遗传位点,经计算 $PI \geq 10\ 000$,亲权概率已达到 99.99% 以上,考虑该基因座存在突变。突变基因座有 D13S317、D8S1179、D2S1338、VWA、D7S820、CSF1PO、D8S1179,突变率在 0.15% ~ 0.31% 之间,详见表 4。

2.6 1 例 21 三体胎儿标本的检出

采用常规的 15-STR 鉴定系统进行鉴定的 57 例父-母-胎儿的三联体鉴定中,有一例胎儿标本在 D21S11 基因座(染色体位置:21q21.1)出现 3 个独立的等高的峰(图 1),余标本均扩增平衡。在采用 18-STR 鉴定系统后,该例标本在 Penta D 基因座(染色体位置:21q22.3)出现了 2:1 峰高比例的两个峰(图 2),余标本未见异常峰型。该胎儿标本后经本院细胞遗传室采用传统染色体核型分析方法确诊为 21 三体。

表 1 598 例浙江汉族无血缘个体 18 个基因座的基因频率分布
Table 1 Frequencies of 18 STR loci in 598 individuals in Han population from Zhejiang province

Allele	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	PentaE	PentaD	SE33
5							0.001									0.068		
6						0.105	0.001										0.002	
7			0.003	0.003		0.249	0.001							0.019		0.002	0.010	
8	0.002		0.140	0.002		0.066	0.276	0.008			0.537			0.006		0.007	0.049	
9	0.001		0.051	0.054		0.514	0.129	0.287			0.135	0.001	0.067			0.012	0.341	
9.1			0.002															
9.2			0.001															
9.3						0.037												
10	0.126		0.168	0.220		0.028	0.153	0.145		0.001	0.026	0.001	0.198			0.051	0.116	
10.1			0.002															
11	0.086		0.339	0.259		0.002	0.250	0.224		0.003	0.267	0.002	0.309			0.117	0.117	0.001
11.1			0.001															
12	0.129		0.246	0.344	0.001		0.148	0.217		0.041	0.036	0.038	0.252			0.117	0.197	0.002
12.2										0.003								
13	0.218		0.043	0.100	0.002		0.033	0.101		0.309	0.001		0.175	0.140		0.058	0.107	
13.2										0.039								0.001
14	0.192		0.006	0.015	0.048		0.008	0.018		0.232	0.275		0.221	0.008		0.082	0.052	0.006
14.1										0.001								
14.2										0.094								
15	0.162			0.003	0.353					0.080	0.031		0.188	0.001		0.079	0.007	0.010
15.1																0.001		
15.2										0.135								
16	0.065				0.315				0.012	0.016	0.171		0.134		0.002	0.091	0.001	0.022
16.2										0.040								
17	0.014				0.203				0.059		0.233		0.078			0.076		0.033
17.1											0.001							0.001
17.2										0.005								
18	0.004				0.071				0.112	0.171			0.040		0.034	0.091		0.051
18.1																		0.002
18.2										0.002								
19					0.008				0.165	0.094		0.036		0.040	0.051			0.083
19.2																		0.003
20									0.121	0.023		0.026		0.043	0.042			0.065
20.2																		0.004
21									0.030			0.023		0.102	0.021			0.044
21.2														0.006				0.022
22									0.054			0.022		0.161	0.015			0.028
22.2														0.006				0.052
23									0.209			0.008		0.242	0.007			0.008
23.2														0.006				0.042
24									0.153			0.008		0.184	0.005			0.001
24.2														0.010				0.058
25									0.063			0.001		0.099	0.004			
25.2														0.003				0.067
26									0.019			0.001		0.048	0.001			0.002
26.2														0.003				0.082
27		0.003							0.003					0.010				
27.2																		0.062
28		0.050													0.001			
28.2		0.004																0.080
29		0.255													0.001			
29.2		0.001																0.067
29.3																		0.001
30		0.268																
30.2		0.013												0.001				0.045
30.3		0.005																
31		0.106																
31.2		0.070																0.029
32		0.037																
32.2		0.126																0.013
33		0.009																
33.1		0.001																
33.2		0.042																0.008
34.2		0.006																0.002
35.2		0.003																0.001
n	598	598	598	598	598	598	598	598	598	598	598	598	598	598	598	536	537	486
He	0.818	0.824	0.758	0.724	0.732	0.630	0.809	0.779	0.891	0.803	0.819	0.630	0.855	0.759	0.841	0.922	0.804	0.942
DP	0.956	0.947	0.917	0.902	0.877	0.836	0.929	0.922	0.966	0.943	0.929	0.798	0.963	0.915	0.963	0.987	0.934	0.992
PM	0.044	0.053	0.083	0.098	0.123	0.164	0.071	0.078	0.034	0.057	0.071	0.202	0.037	0.085	0.037	0.013	0.066	0.008
PE	0.632	0.645	0.523	0.466	0.480	0.329	0.617	0.561	0.778	0.604	0.636	0.329	0.704	0.526	0.677	0.840	0.607	0.883
PIC	0.83	0.80	0.74	0.71	0.68	0.61	0.77	0.76	0.85	0.79	0.77	0.57	0.84	0.74	0.84	0.92	0.78	0.94
P	0.076	0.409	0.721	0.304	0.159	0.077	0.274	0.455	0.167	0.507	0.229	0.386	0.640	0.148	0.683	0.521	0.688	0.076

表 2 浙江汉族人群与其它地区汉族人群 18 个基因座基因频率比较 *P* 值Table 2 *P* values of the frequencies of the 18 STR loci as compared with the other population

Loci	Guangdong ^[6,15]	Eastern ^[7]	Sichuan ^[8]	Northeast ^[9]	Henan ^[10]	Beijing ^[11,12]	Hong Kong ^[13]	Singapore ^[14]
D8S1179	< 0.001	0.047	0.066	0.042	< 0.001	0.006	< 0.001	< 0.001
D21S11	< 0.001	< 0.001	0.020	0.020	0.033	0.002	0.002	< 0.001
D7S820	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.002	0.380	0.029	0.497	< 0.001
CSF1PO	< 0.001	0.004	< 0.001		0.099		0.015	< 0.001
D3S1358	< 0.001	0.015	< 0.001	0.022	0.102	0.336	0.018	< 0.001
TH01	< 0.001	0.001	0.132		0.744		< 0.001	< 0.001
D13S317	< 0.001	0.001	0.110	0.039	0.155	0.121	0.002	< 0.001
D16S539	< 0.001	< 0.001	0.027		0.759		0.186	< 0.001
D2S1338		< 0.001			0.061		0.037	
D19S433		< 0.001			0.223		< 0.001	
VWA	< 0.001	< 0.001	0.045	< 0.001	0.074	0.051	0.550	< 0.001
TPOX	< 0.001	0.208	< 0.001		0.175		0.009	< 0.001
D18S51	< 0.001	< 0.001	0.381	0.008	0.020	0.164	0.907	< 0.001
D5S818	< 0.001	0.004	0.320	0.035	0.017	0.187	0.003	< 0.001
FGA	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.004	0.343	0.064	< 0.001
PentaE	< 0.001		0.056	< 0.001				< 0.001
PentaD	< 0.001		< 0.001	0.003				< 0.001
SE33	< 0.001					< 0.001		

表 3 238 例二联体鉴定 15-STR 与 18-STR 亲权概率比较表

Table 3 Relative chance of paternity (RCP) between 15-STR and 18-STR identification system in 238 dual-case paternity testing cases case(%)

RCP	15-STR	18-STR
< 99.73	2(0.8)	0
99.73 ~ 99.90	6(2.5)	0
99.90 ~ 99.95	7(2.9)	0
99.95 ~ 99.99	21(8.9)	1(0.4)
99.99 ~ 99.999 9	135(56.7)	11(4.6)
> 99.999 9	67(28.2)	226(95.0)

3 讨论

3.1 18 个 STR 基因座是浙江汉族人群理想的鉴定系统

598 例无血缘关系的浙江汉族个体在 18 个 STR 基因座的基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律,说明本研究结果可以代表浙江汉族人群在上述基因座的群体遗传特征。18 个 STR 基因座杂合度均 > 0.62,多态信息含量均 > 0.55,显示出较高的遗传多态性;18-STR 累积个体识别力 >

表 4 18-STR 鉴定系统基因座突变特点

Table 4 Characteristics of mutation loci in 18-STR identification system

Loci	Allele			Source/Mutation type	Mutation allele	Mutation rate/%
	Father	Mother	Child			
D13S317	10, 12	8, 11	11	father/ ± 1	10→11/12→11	0.15
D8S1179	12, 14	10, 13	10, 13	father/ ± 1	12→13/14→13	0.15
D2S1338	24		17, 25	father/+1	24→25	0.15
VWA	18, 19		17, 20	father/ ± 1	18→17/19→20	0.15
D7S820	11, 12		8, 10	father/-1	11→10	0.31
	13		12	father/-1	13→12	
CSF1PO	11		10, 12	father/ ± 1	11→10/11→12	0.15
D8S1179	14, 16	11, 14	14, 17	father/+1	16→17	0.15

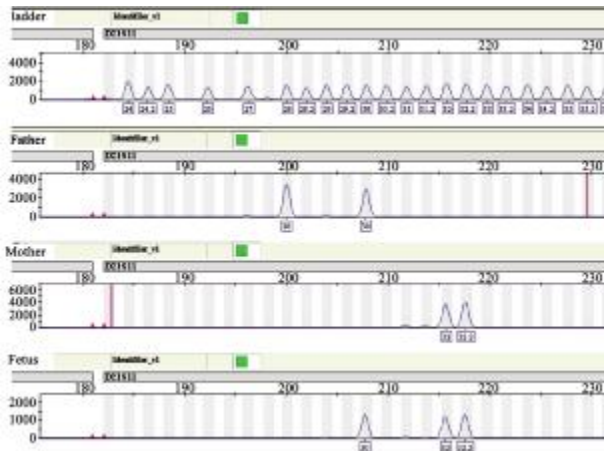


图 1 唐氏综合征样本 D21S11 基因座电泳图

Fig.1 The trisomy 21 fetus's characteristic fluorescence peaks in D21S11 locus



图 2 唐氏综合征样本 PentaD 基因座电泳图

Fig.2 The trisomy 21 fetus's characteristic fluorescence peaks in Penta D locus

0.999 999 999 9, 累积非父排除率 $> 0.999 999 9$, 基因座突变率在 0.001 5 ~ 0.003 1 之间, 提示 18-STR 对浙江汉族人群是较理想的遗传鉴定系统, 在法医学个体识别和亲子鉴定中有较高的应用价值。另外, 与其它群体数据的比较中显示出浙江汉族群体在所研究的 18 个 STR 基因座上有其遗传特殊性, 因此, 本研究资料及数据库的建立还有助于浙江汉族群体遗传学的相关研究。

在所建立的 18-STR 鉴定系统中, SE33 基因座尤其值得关注。目前有关 SE33 基因座的应用及数据报道甚少, 国内文献中仅见北京地区汉族人群^[11]及广东汉族人群^[15]数据。本研究获取了浙江汉族人群的 SE33 基因座数据, 并且发现与北京

地区及广东地区汉族人群之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在所研究的 18 个基因座中, SE33 的基因型分布最广, 等位基因最多, 杂合度和个体识别力均为最高, 显示了该基因座有极高的遗传多态性, 可作为现有法医学亲子鉴定系统和群体遗传学研究的有力补充。

3.2 18-STR 鉴定系统对法医学亲子关系的认定或排除具有较大价值

目前法医学亲子鉴定一般使用商品试剂盒 (Identifiler® Kit 或 PowerPlex 16 等) 检测 15 个 STR 基因座, 在各基因座等位基因符合遗传规律的情况下, 经常出现亲权概率不能达到 99.99% 的认定水平, 尤以二联体亲子鉴定较为多见。本研究中的 238 例二联体鉴定, 如用商品试剂盒检测 15 个 STR 基因座, 亲权概率不能达到认定标准 99.99% 有 36 例 (15.1%), 而亲权概率大于 99.999 9% 只有 67 例 (28.2%)。采用 18 个 STR 基因座后, 除 1 例外其余 237 例均大于 99.99%, 且大于 99.999 9% 有 226 例 (95.0%)。由此可见, 采用 18-STR 鉴定系统可使亲子鉴定结果更加可靠, 亲缘关系认定更具有科学性。

18-STR 鉴定系统对亲子关系的排除也非常有价值。STR 基因座突变在亲子鉴定中是不容忽视的一个风险因素, 因此不能仅凭 1 个或 2 个 STR 遗传标记不匹配而排除亲子关系。在本实验室常规检测 (15-STR) 中出现的 12 个可疑突变案例中, 其中 3 例二联体出现 2 个矛盾基因座在增加至 18-STR 鉴定后出现了 3 个及以上矛盾基因座从而排除亲子关系; 1 例三联体出现 1 个矛盾基因座在增加至 18-STR 鉴定后达到了 4 个矛盾基因座从而排除亲子关系。另外 8 例矛盾基因座为 1 个的可疑突变案例在增加至 18-STR 鉴定后没有出现新的矛盾基因座, 计算 PI 值均大于 10 000, 然而是否能凭新增的 3 个 STR 位点就判定突变还有待进一步探讨。

3.3 18-STR 鉴定系统中部分基因座有助于非整倍体等染色体异常的产前诊断

在胎儿亲子鉴定案例分析中偶然发现的 1 例 21 三体胎儿标本值得重视。通过对 21 号染色体的 D21S11、Penta D 基因座的比对发现, 胎儿父母的 21 号染色体均为正常二倍体, 胎儿样本在 D21S11 基因座出现了 1:1:1 等比例峰高的三个峰 (图 1), 其中两个是母源性的不同大小的片段 (杂合性

未改变),另一个是父源性片段;胎儿标本在 Penta D 基因座出现了 2:1 峰高比例的两个峰(图 2),其中两个是母源性的相同大小的片段(杂合性降为纯合性),另一个是父源性片段。结合 D21S11 基因座(较 Penta D 接近着丝粒)、Penta D 两个基因座的峰型分析,可诊断胎儿为 21 三体(唐氏综合征)并推断多余的染色体源于母亲减数分裂 I 期不分离^[16]。21 三体、18 三体(爱德华综合征)是人群中发病率较高的染色体异常疾病,也是目前产前筛查和产前诊断的主要对象,传统的细胞染色体核型诊断方法存在诊断时间长(2~3 周)、技术要求高等问题,已难以满足日益增长的产前诊断需求,STR 基因分型技术因其染色体定位明确、检测快速和自动化程度高而有可能成为产前诊断技术的有益补充,本研究的偶然发现也提示采用相关染色体上多态性较高的 STR 基因座组合检测可以用于诊断非整倍体染色体异常。已有很多文献对 STR 在产前诊断应用中的可行性做了探讨^[17-18],在国外也已出现了商品化的荧光定量 PCR 产前诊断试剂盒,当然,用于产前诊断的 STR 基因座选择和数量是否适合中国人群同样需要进行群体遗传学评估。

综上所述,本研究所建立的 18-STR 鉴定系统及数据资料有助于开展浙江汉族人群的亲子鉴定工作,对产前诊断也有一定的提示价值。

参考文献:

- [1] 郝宏蕾,吴微微,潘立鹏,等. 浙江汉族人群 15 个 STR 基因座遗传多态性[J]. 中国法医学杂志,2006, 21(5):303-304.
- [2] 霍振义,唐 晖,刘雅诚. 亲子鉴定技术标准和质量控制探讨[J]. 中国司法鉴定,2004,3:34-35.
- [3] 赵珍敏,柳 燕,林 源. Identifiler™ 系统在亲子鉴定中的突变观察和分析[J]. 法医学杂志,2007,23(4): 290-294.
- [4] Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R, et al. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR based typing from forensic material[J]. Bio Techniques, 1991,10(4):506-513.
- [5] Guo SW, Thompson EA. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles[J]. Biometrics, 1992,78(9):361-372.
- [6] 台运春,陆惠玲,李海燕,等. 广东汉族人群 15 个 STR 基因座的遗传多态性[J]. 广东公安科技,2004, 4(1):17-21.
- [7] Gao YS, Zhang ZX, Wang ZF, et al. Genetic data of 15 STR forensic loci in eastern Chinese population [J]. Forensic Sci Int, 2005,154(9):78-80.
- [8] Zhang HJ, Li YB, Jiang JP, et al. Analysis of 15 STR loci in Chinese population from Sichuan in West China [J]. Forensic Sci Int, 2007,171:222-225.
- [9] Zheng YJ, Xu QS, Lee JB. Population data for 11 STR loci in northeast China Han[J]. Forensic Sci Int, 2003, 138(8):116-118.
- [10] Zeng ZS, Zheng XD, Zhu YL, et al. Population genetic data of 15 STR loci in Han populatin of Henan province [J]. Legal Med, 2007,9(8):30-32.
- [11] 任 贺,荆玉婷,焦章平,等. 北京地区汉族人群 SE33 基因座遗传多态性[J]. 中国法医学杂志,2006, 21(5):311-301.
- [12] Fung WK, Ye J, Hu L, et al. Allele frequencies for nine STR loci in Beijing Chinese [J]. Forensic Sci Int, 2001,121(9):207-209.
- [13] Chan KM, Chin CT, Tsui P, et al. Population data for the Identifier 15 STR loci in HongKong Chinese[J]. Forensic Sci Int, 2005,152(9):307-309.
- [14] Yong RY, Aw LT, Yap EPH. Allele frequencies of 15 STR loci of three main ethnic population in Singapore using an in-house marker panel [J]. Forensic Sci Int, 2004,141(9):175-183.
- [15] 孙宏钰,台运春,曾艳红,等. 广东汉族人群复杂短串联重复 SE33(ACTBP2)位点的多态性[J]. 中山大学学报:医学科学版,2004,25(1):55-58.
- [16] 安娜,方 群,伍新尧,等. STR-PCR 分析诊断常见染色体三体及其亲缘性、染色体不分离时期 [J]. 中山大学学报:医学科学版,2005,26(2):214-218, 222.
- [17] Onay H, Ugurlu T, Aykut A, et al. Rapid prenatal diagnosis of common aneuploidies in amniotic fluid using quantitative fluorescent polymerase chain reaction [J]. Gynecol Obstet Invest, 2008,66(2):104-110.
- [18] Cho EH, Park BYN, Kang YS, et al. Validation of QF-PCR in a korean population[J]. Prenal Diagn, 2009,29(9):213-216.

(编辑 刘清海)