

Observation and Analysis of STR Loci Mutation in 942 Cases of Paternity Test

Yumei Liu HuaJuan Dong Yi Liang Jihui Li Yunrong Qin

Judicial Laboratory of Maternal and Child Health Hospital of Yulin City, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Yulin, Guangxi, 537000, China

Abstract

Objective: To observe and analyze the mutation characteristics and regularity of autosomal STR loci in paternity test cases. **Methods:** 942 cases detected by the AGCU EX22 fluorescence detection kit were selected, the mutation events of the 21 autosomal STR loci of the kit were selected, the source of the mutant alleles was determined, the mutation rate of each locus was counted, and the characteristics of the mutation were analyzed. **Results:** Among the 942 paternity tests, there were 317 cases of parent identification and 625 cases of single parent identification. A total of 865 cases concluded as “support”. In the case of “support”, 27 cases were mutated in STR loci and 16 loci were mutated. The mutation rate was between 0.0859% and 0.3436%. 27 cases were all one-step mutations, 1 of them had 2 STR mutations. The ratio of paternal and maternal sources was 5.75:1. **Conclusion:** STR loci mutation is a common phenomenon. When there are 1~2 loci violating the genetic law, we should select genetic markers with low mutation rate and good polymorphism to detect STR loci and use second-generation sequencing to improve the accuracy of identification.

Keywords

paternity test; STR loci; mutation rate; autosomes

942 例亲子鉴定案例中 STR 基因座突变的观察和分析

刘玉梅 董华娟 梁毅 李继慧 覃运荣

广西壮族自治区玉林市妇幼保健院司法鉴定所, 中国·广西 玉林 537000

摘要

目的: 观察和分析亲子鉴定案例中常染色体 STR 基因座的突变特征与规律情况。**方法:** 选择 AGCU EX22 荧光检测试剂盒检测的案件 942 例, 筛选该试剂盒 21 个常染色体 STR 基因座的突变事件, 判断突变等位基因的来源, 统计各基因座的突变率, 分析突变的特点。**结果:** 942 例亲子鉴定中双亲鉴定有 317 例, 单亲鉴定有 625 例, 结论为“支持”的共有 865 例。在结论为“支持”的案例中统计到 27 例有 STR 基因座发生突变, 16 个基因座有突变现象发生, 突变率在 0.0859% ~ 0.3436% 之间。27 例均为一步突变, 其中 1 例有 2 个 STR 位点突变的现象。突变来源上, 父系和母系来源比例为 5.75:1。**结论:** STR 基因座突变是较为常见的现象, 当有 1~2 个基因座违反遗传规律时, 应选择突变率低、多态性好的遗传标记补充检测 STR 位点以及借助二代测序等手段以提高鉴定的准确率。

关键词

亲子鉴定; STR 基因座; 突变率; 常染色体

1 引言

短串联重复序列 (short tandem repeats, STR), 又称微卫星 DNA 或简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR), 是目前在法医物证鉴定中应用最广泛的长度多态性遗传标记, 它的重复单位短, 仅 2~6bp, 其长度多态性来源于重复单位拷贝数的个体差异^[1]。STR 基因座具有高度多态性, 个体识别能力强的优点, 其作为第二代遗传标记, 已被广泛应用于医学遗传学以及法医物证学研究领域。但同时 STR 基因座的突变率也

较高, STR 基因座的突变现象直接关系到亲权鉴定结果的判读^[2], 因此, 在亲权鉴定实践中要不断积累实验数据, 充分研究和分析, 才能确保鉴定结果的准确性和可靠性。本研究对 942 例亲子鉴定案例进行检测分析, 观察 STR 基因座的突变现象和特点, 以及突变对亲子鉴定结果的影响, 报道如下。

2 资料与方法

2.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2019 年 12 月期间在玉林市妇幼保健

院司法鉴定所日常进行的亲子鉴定 942 个案例 2312 份样本，样本包括血斑（2305 份）和口腔拭子（7 份），其中三联体 317 例（33.65%），二联体 625 例（66.35%）。

2.2 方法

所有样本均经 Chelex-100 法提取 DNA，提取方法按照说明书操作；采用 AGCU Expressmarker22 荧光检测试剂盒（无锡中德美联生物技术有限公司），该试剂盒是一个多重短串联重复序列检测试剂盒，采用五色荧光技术（FAM 蓝色、HEX 绿色、TAMRA 黄色、ROX 红色用于标记基因座，SIZ 橙色用于标记分子量内标）复合扩增 21 个常染色体 STR 基因座（D3S1358、D13S317、D7S820、D16S539、PentaE、D2S441、TPOX、TH01、D2S1338、CSF1PO、PentaD、D10S1248、D19S433、vWA、D21S11、D18S51、D6S1043、D8S1179、D5S818、D12S391、FGA）以及 1 个 Amelogenin 性别基因座。扩增结果采用 3500DX 基因分析仪（美国 ABI 公司）进行毛细管电泳和 GeneMapper ID-X 1.4 分析软件进行基因型分析。

2.3 突变基因座、突变来源和突变步数的确定

所有数据均依据亲权鉴定技术规范^[3]对亲权指数（paternity index, PI）和累积亲权指数（CPI）进行计算，若违反遗传规律基因座总数 <3，对突变基因座进行复核并增加检测 AGCU21+1STR 荧光检测试剂盒（无锡中德美联生物技术有限公司）且 CPI>10000，则认定亲子关系，违反遗传规律的基因座视为是突变基因座。参照文献^[4]确定突变等位基因的来源：将孩子中的突变等位基因与发生突变的父方或母方等位基因相比较，相差步数最小的等位基因是突变的等位基因；若相差的步数相同，则判为来源不明。突变步数为重复单位的增加或减少，若同时存在增加或减少同步数的可能则判为不确定。

2.4 统计分析

由直接计数法得出具有 STR 基因座突变的案例数，并根据 STR 基因座突变率的计算公式：STR 基因座的突变率 = 突变 STR 基因座数 / (双亲案例数 × 2 + 单亲案例数) 来计算每个 STR 基因座突变率，分析相关影响因素^[5]。

3 结果

3.1 STR 突变基因座及突变率

在这 942 个亲子鉴定案例中，三联体 317 例，支持 299 例，

18 例发生 STR 基因座突变（其中 1 例有 2 个 STR 基因座同时发生突变）；二联体 625 例，支持 566 例，9 例发生 STR 基因座突变；总共观察到 1164 (299 × 2 + 566 = 1164) 次减数分裂。在 21 个 STR 基因座中观察到 16 个基因座有突变现象（见表 1），其中 vWA 和 FGA 基因座均发生 4 例突变，突变率最高，为 0.3436%；其次为 D12S391 基因座发生 3 例突变，突变率为 0.2577%；其余均为 1 例突变，突变率为 0.0859%。等位基因总的突变发生率为 2.4055% (28/1164)。

表 1 21 个 STR 基因座的突变率

序列号	基因座	突变次数	突变来源		突变率 (%)
			父亲	母亲	
1	D3S1358	2	2	0	0.1718 (2/1164)
2	D13S317	0	0	0	0
3	D7S820	0	0	0	0
4	D16S539	0	0	0	0
5	Penta E	1	1	0	0.0859 (1/1164)
6	D2S441	2	1	1	0.1718 (2/1164)
7	TPOX	0	0	0	0
8	TH01	1	1	0	0.0859 (1/1164)
9	D2S1338	2	2	0	0.1718 (2/1164)
10	CSF1PO	1	1	0	0.0859 (1/1164)
11	Penta D	0	0	0	0
12	D10S1248	1	1	0	0.0859 (1/1164)
13	D19S433	1	0	1	0.0859 (1/1164)
14	vWA	4	4	0	0.3436 (4/1164)
15	D21S11	1	0	1	0.0859 (1/1164)
16	D18S51	1	1	0	0.0859 (1/1164)
17	D6S1043	1	1	0	0.0859 (1/1164)
18	D8S1179	2	2	0	0.1718 (2/1164)
19	D5S818	1	1	0	0.0859 (1/1164)
20	D12S391	3	2	1	0.2577 (3/1164)
21	FGA	4	4	0	0.3436 (4/1164)
	合计	28	24	4	2.4055 (28/1164)

3.2 STR 基因座突变步数分析

本组研究所观察到的 27 例突变家系中，有 1 例为 2 个 STR 基因座（CSF1PO 和 D12S391）同时发生突变，余均为单基因座突变，共发生 28 次突变，且均为一步突变（100%）。28 次突变次数中（见表 2），9 次表现为重复序列的增加，13 次表现为重复序列的减少，另有 6 次不能确定增加或减少。重复序列的增加与重复序列的减少的比例为 0.69:1。

表 2 突变等位基因的突变步数分析

一步突变	突变次数	比例
+1	9	0.3214
-1	13	0.4643
不确定	6	0.2143
合计	28	1

3.3 STR 基因座突变来源统计

分析观察到的 27 例 STR 突变基因座, 发现有 23 例来源于父系, 占 85.2%; 4 例来源于母系, 占 14.8%。父系来源与母系来源突变的比例为 5.75:1。

4 讨论

4.1 STR 基因座突变率分析

本研究采用 AGCU Expressmarker22 荧光检测试剂盒, 检测并统计本所 942 例亲子鉴定, 鉴定结论为“支持”的案例 865 例, 共计减数分裂 1164 次。常用 STR 基因座的突变率大约在 0.1% ~ 0.5%^[6], 本研究的 21 个 STR 基因座中有 16 个基因座发生基因突变现象, 突变率在 0.0859% ~ 0.3436% 之间, 其中 vWA 和 FGA 基因座的突变率最高, 其次为 D12S391 基因座, 另外 D13S317、D7S820、D16S539、TPOX、Penta D 五个基因座未发现突变现象, 在今后的案例中将继续关注这些基因座的突变情况。STR 基因座的突变率与等位基因中基序的碱基结构和重复次数有一定的关系, 基序碱基结构均一的基因座容易发生突变, 而等位基因中含有不完全基序的基因座突变发生率反而较低。亲权鉴定技术规范规定用于亲权鉴定的遗传标记的突变率应低于 0.002^[9]。本研究中除了 vWA、FGA、D12S391 这三个基因座突变率大于 0.002 外, 其它均符合此规律, 因此采用这些 STR 基因座进行亲子鉴定时应注意其高突变率。

4.2 STR 基因座突变机制分析

在细胞的减数分裂过程中, 存在有基因的交换与重组, 或由于某些外在影响因素的作用, 导致基因的核苷酸顺序或数目发生改变, 这就是基因突变^[6]。许多文献报道^[7-9]复制滑动或复制滑链错配学说是 STR 基因座发生突变的机制。即在 DNA 的合成复制过程中, 新生链由于碱基错配从而比模板链延长或缩短, 表现为新合成的 DNA 链增加或减少一个或多个重复单位, 即一步突变或几步突变。90% 以上 STR 基因座的突变均为增加或减少一个重复单位, 即一步突变^[10-11]。本研究观察到 27 例突变均为一步突变 (100%), 这可能与观察到的突变案例数太少以致于没发现有多步突变的案例。帅莉^[7]、赖力^[12]、林鹏飞^[13] 等研究报道的 STR 基因座突变也均为一步突变, 这与本研究相符合。本研究还发现基因座突变核心序列减少的概率略高于增加的概率, 但对于每个基因座而言,

增加或减少核心重复序列以及出现无法判断增加还是减少的概率差异无统计学意义^[7,14]。

4.3 STR 基因座突变来源分析

STR 基因突变与性别有关, 一般的规律是父方基因突变比母方基因突变多见, 文献报道男性与女性的突变比例观察值为 17:3, 分析其中的原因是男性精子细胞分化经历的细胞分裂次数比卵细胞多 10 倍, 其次是精子染色体中碱基替换的积累比卵细胞快 2 倍^[6]。本研究观察到的 27 例突变家系中, 有 23 例来源于父系, 4 例来源于母系, 父系和母系来源的突变比例为 5.75:1, 具有明显性别差异。这与董华娟^[15] 研究发现 15 个 STR 基因座的父、母来源突变比例为 6:1 相符合。而与其他研究相比, 彭苗苗^[5] 等报道父系和母系来源的突变比例为 2.44:1, 这比本文发现的性别差异的比例要小。帅莉^[7] 等观察到的 24 例突变的家系中, 22 例来源于父系, 2 例来源于母系, 父系与母系来源突变比例为 10:1; 邱平明^[16] 等研究显示父系和母系来源的突变比例为 13.33:1; 而这些比本研究发现的性别差异的比例要大许多。上述研究与本研究数据存在较大差异, 究其原因可能是与不同研究的地域差异、群体结构、样本数量、观察的突变案例数量等有关。

在亲子鉴定中 STR 基因座等位基因发生突变的情况时有发生, 多为一个基因座发生一步突变^[17]。本研究 942 例案例中 21 个 STR 基因座中有 16 个基因座发生了突变, 1 个基因座突变 26 例, 2 个基因座同时发生突变 1 例。本批案件中发现一例女孩子与被检母排除, 被检父与女孩子有 3 个基因座不符合孟德尔遗传规律均为相差 1 个重复单位; 遂用 AGCU21+1 试剂盒增加检测 21 个 STR 基因座分型, 又发现 2 个不符的基因座违反孟德尔遗传规律, 其中 1 个相差一步, 1 个相差两步; 但是计算他们俩的累计亲权指数却达不到排除的标准 (CPI < 0.0001)。故推断他们俩存在血缘关系, 后联系当事人证实, 该被检父是该女孩子的舅舅, 他们做亲子鉴定的目的是做出排除意见然后更改女孩子出生证上父母的信息。由此案例可见, 当我们遇到 3 个基因座不符合孟德尔遗传规律时, 不能武断的下排除结论, 而应选择突变率低、多态性好的遗传标记补充检测 STR 位点, 在实验室条件允许的情况下, 还可以进行二代测序加以验证, 分析其突变的来源, 充分了解案例具体情况后综合分析再下结论。

本研究 942 例案例中还发现了 2 例 STR 基因座检测出三

带型等位基因,均为父子二联体。1例发生在D18S51基因座,孩子基因型为14/23,被检父基因型为16/23/24,此例用另外一种试剂Identifiler Plus荧光检测试剂盒复核证实该基因座是一样的三带型等位基因。另外1例发生在D12S391基因座,孩子基因型为19/20/22,被检父基因型为19/20,被检父陈述该孩子智力存在问题故一直未上户口。相关报道^[18-20]D18S51基因座检测出三带型等位基因种类最多。由此可见,STR基因座不仅会发生突变,还会出现三带型等位基因现象,形式多变复杂,在亲子鉴定实践中要加以注意鉴别,避免出现差错。

5 结语

综上所述,在亲子鉴定中,STR基因座发生突变的情况比较常见,多为单个基因座一步突变。突变可能会影响到亲子鉴定结果的准确性,从而对案件的侦破与审判产生误导,当有1-2个基因座违反遗传规律时,应选择突变率低、多态性好的遗传标记补充检测STR位点以及借助二代测序等手段以提高鉴定的准确率,避免由于基因突变导致基因分型错误,而做出错误的鉴定意见。

参考文献

- [1] 侯一平.法医学[M].第3版.北京:人民卫生出版社,2013:84.
- [2] 蔡金洪,汤美云,黄健.亲子鉴定中常用10个STR基因座突变的观察和分析[J].湖南中医药大学学报,2013(4):8-9.
- [3] GB/T37223-2018,中华人民共和国司法部,司法鉴定管理局,亲权鉴定技术规范[S].
- [4] 吕德坚,陆惠玲.DNA亲权鉴定[M].广州:暨南大学出版社,2005:108-113.
- [5] 彭苗苗,吴秋昀,吴昊.安徽人群1871例亲子鉴定案件中STR基因座突变的分析[J].皖南医学院学报,2017(3):215-216+220.
- [6] 侯一平.法医学[M].第3版.北京:人民卫生出版社,2013:286-288.
- [7] 帅莉,汪军,景强,等.1483例亲子鉴定STR基因座突变的分析[J].法医学杂志,2014(1):44-46.
- [8] 张晓嘉,张更谦,刘晋汀.546例亲子鉴定案件中基因突变的观察和分析[J].川北医学院学报,2015(1):11-14.
- [9] 毕洁,畅晶晶,李妙霞,等.20723例亲子鉴定中19个STR基因座的突变分析[J].法医学杂志,2017(3):263-266.
- [10] 吕德坚,陆惠玲.亲子鉴定STR突变的考虑[J].中国司法鉴定,2009(4):43-45.
- [11] 侯一平.法医学[M].第4版.北京:人民卫生出版社,2016:182.
- [12] 赖力,薛士杰,金静君,等.福建地区亲子鉴定2363例STR基因座突变研究[J].中外健康文摘,2011(33):24-26.
- [13] 林鹏飞.2016年福建汉族人群1621例亲子鉴定案例中的基因突变观察[J].今日健康,2016(6):342.
- [14] 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(1):13-16.
- [15] 董华娟.浅谈亲子鉴定中常用15个STR基因座突变的观察和分析[J].中国保健营养,2019(13):283-284.
- [16] 邱平明,陈玲,余嘉欣,等.法医学常用15个STR基因座的突变分析[J].分子诊断与治疗杂志,2016(4):222-226.
- [17] 陈启华,蒋劲鹏,陈莹.广东肇庆汉族人群20个常染色体STR基因座突变分析[J].中国司法鉴定,2019(2):37-39.
- [18] 王亚丽,宋振洋,白慧茹,等.STR基因座中检测出三带型等位基因2例[J].激光生物学报,2019(3):264-269.
- [19] 刘芳,任贺,陈冲,等.三联体常染色体STR三带型基因座父权指数计算[J].刑事技术,2017(6):471-475.
- [20] 陈玲,刘超,邱平明,等.常染色体STR基因座三带型的观察与分析[J].中国法医学杂志,2014(4):316-318.