

# 亲子鉴定中23个常染色体STR基因座突变分析

## Mutational analysis of 23 autosomal STR loci in paternity test

郭振民<sup>1</sup>, 武海鹏<sup>2</sup>, 霍志鑫<sup>1</sup>, 张科文<sup>1</sup>, 赵旭东<sup>1</sup>, 苏丽娟<sup>1</sup>

(1. 内蒙古医科大学基础医学院法医学教研室, 呼和浩特 010059; 2. 内蒙古慧眼司法鉴定所法医物证实验室, 呼和浩特 010070)

**摘要** 收集2019年至2023年内蒙古医科大学司法鉴定中心1 360份鉴定结果均为“认定”的亲子鉴定案例, 分析案例中23个短串联重复序列 (STR) 位点的突变现象。在23个STR基因座总计1 840次的遗传传递中, 共观察到41例突变, 包括40例一步突变和1例三步突变; 41例突变中, 有1例突变来源不明; 其余40例中, 来自父系的突变32例, 来自母系的突变8例, 父源概率大于母源。本研究对亲子鉴定案件的检测结果进行统计分析, 评价其在亲子鉴定中的应用价值, 并探讨了STR基因座的突变现象、突变率及突变特征。

**关键词** 法医学; 遗传学; 突变分析; 亲子鉴定; 短串联重复序列

**中图分类号** R89 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2024)04-0363-04

**网络出版地址** <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240408.1004.008>

**DOI:** 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.04.013

亲子鉴定是基于遗传学、生物学、临床医学等多个学科, 利用其基础理论和操作技术, 根据子代和父母之间遗传性状的规律, 确定被控父母与子女之间是否存在遗传关系的鉴定。提高亲子鉴定的权威性和科学性, 对法医鉴定具有重要意义<sup>[1]</sup>。短串联重复序列 (short tandem repeats, STR) 是一种多态性DNA序列, 在人类基因组中广泛存在。作为最常用的遗传标记, 其片段长度短, 易于扩增, 个体识别能力强。近年来, STR基因座的检测与分析在亲子鉴定和个体鉴定等学科研究和鉴定实践中有着至关重要的地位。然而STR位点在遗传过程中发生突变的概率较高, 差异主要表现在不同个体常染色体STR基因群体中区域位点的突变分布。

近年来国内外研究<sup>[2-4]</sup>发现越来越多的常染色体STR基因座发生突变。本研究以内蒙古医科大学2019年至2023年的1 360例亲子鉴定案例作为研究对象, 对23个常染色体STR基因座进行深度突变分析, 探究STR基因座突变的特点和规律, 为法医遗传

标记的选择提供客观依据。另外, 通过对STR基因座突变数据进行不断地积累和丰富, 对亲子鉴定中的STR基因座进行有效的筛选, 可以增加鉴定结果的准确性和可靠性。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

选取内蒙古医科大学司法鉴定中心2019年至2023年日常鉴定积累的1 360例亲子鉴定案例作为研究对象。其中, 三联体 (父母+子或女) 案例480例, 二联体 (父子、父女、母子和母女) 880例, 案例样本均为血痕, 鉴定结论均为“认定”。本研究获得内蒙古医科大学伦理委员会伦理审批。

### 1.2 DNA提取和STR检测

采用1.2 mm打孔器对血痕检材打1孔取样, 作为扩增模板。采用10  $\mu$ L标准反应体系对23个常染色体STR基因座 (*D3S1358*、*vWA*、*D16S539*、*CSF1PO*、*TPOX*、*PentaE*、*D8S1179*、*D21S11*、*D18S51*、*D2S441*、*D19S433*、*TH01*、*FGA*、*D22S1045*、*D5S818*、*D13S317*、*D7S820*、*D6S1043*、*D10S1248*、*D1S1656*、*D12S391*、*D2S1338*、*PentaD*) 和*Amelogenin*进行PCR直接扩增。体系组成包括华夏<sup>TM</sup>白金PCR引物组4.0  $\mu$ L, 华夏<sup>TM</sup>白金反应混合物4  $\mu$ L, Prep-n-GO<sup>TM</sup> Buffer 2  $\mu$ L; 血痕直径为1.2 mm。实时PCR条件为95.0  $^{\circ}$ C 1 min, 94.0

**基金项目:** 内蒙古自治区高等学校科学研究项目 (NJZZ23005); 内蒙古自治区教育科学“十三五”规划课题 (NGJGH2019216); 内蒙古医科大学一流课程建设项目 (NYYLKC202202003)

**作者简介:** 郭振民 (1997-), 男, 硕士研究生。

**通信作者:** 苏丽娟, E-mail: nmgyfslj@163.com

**收稿日期:** 2023-05-22

**网络出版时间:** 2024-04-10 18:52:47

℃ 3 s, 59.0 ℃ 16 s, 65.0 ℃ 29 s, 27个循环; 60.0 ℃ 20 min, 4.0 ℃保温。电泳分型采用3130型基因分析仪(美国Thermo Fisher公司ABI)对PCR产物进行扩增、变性,随后进行毛细管电泳。用Gene Mapper3.2软件对STR基因座进行分型。分型标准含分子量内标和等位基因分型标准物。若检测出现1~2个不符合遗传规律的STR基因座,采用Goldeneye®22NC荧光检测试剂盒,增加遗传标记的检测数量,包括D4S2366、D6S477、GATA198B05、D15S659、D8S1132、AMEL、D3S1358、D3S3045、D14S608、D17S1290、D3S1744、D2S441、D18S535、D13S325、D7S1517、D10S1435、D11S2368、D19S253、D1S1656、D7S3048、D10S1248、D5S2500共22个位点,以保证鉴定结果的准确性。

### 1.3 突变观察

如果有1或2个STR位点结果不符合孟德尔遗传规律,或者累积亲权指数(cumulative paternity index, CPI)为0.000 1~10 000,并且增加检测数量后,鉴定出亲权关系结果依然为“认定”,那么可以确定不符合遗传规律的基因座为突变引起。

对于突变位点应观察其突变来源和突变步数<sup>[5-6]</sup>。突变步数是指在遗传过程中,亲代和子代的STR重复序列不同的数量。重复序列每增加1个或减少1个基序都被判断为突变增加或减少一步;将突变的后代等位基因与其父亲或母亲同一位置的等位基因比较,步数相差最小的是突变的来源,即来自父源或母源的等位基因。如果被检双亲的同一位点等位基因的步数差与后代突变等位基因的步数差相等,即可判断突变来源不明,那么突变可能来自双亲中的任意一方。

### 1.4 统计学分析

采用SPSS 15.0软件进行统计分析。所有案例均根据亲子鉴定技术规范(GB-T 37223-2018)和CPI计算。利用Excel软件对突变位点的突变来源、数量和突变步骤进行统计分析,根据直接计数法得到相应STR位点的突变率。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 STR基因座突变情况

在1 360例结果为“认定”的亲子鉴定案件中,共观察到1 840次减数分裂,41例案例发生突变,

每个案例均发生1次突变,涉及CSF1PO、D12S391、D13S317、D16S539、D18S51、D19S433、D1S1656、D21S11、D5S818、D6S1043、D7S820、D8S1179、FGA、Penta E、vWA共计15个位点,发生突变的平均突变率为0.15%。23个STR基因座中D12S391的突变率最高(0.38%),TPOX、D2S441、TH01、D3S1358、D22S1045、D10S1248、D2S1338、Penta D 8个STR基因座未记录到突变,见表1。

### 2.2 STR基因座突变步数分析

41例突变案件中,一步突变高达40次(97.56%),三步突变1次(2.44%),一步突变明显多于二步突变,有统计学差异( $P < 0.001$ )。一步突变中减少1个重复单位的案例17次,增加1个重复单位的案例15次,其余不确定增减的案例8次;三步突变仅有1例,表现为减少3个重复单位。见表1。

### 2.3 STR基因座突变来源统计

在观察到的41例突变案件中(除去1例不确定来源案例),32例为父系来源突变,占80.0%;8例为母系来源突变,占20.0%。父源突变与母源突变的比例为4:1,有统计学差异( $P < 0.001$ ),父源突变率显著高于母源突变率。父系来源突变中,一步突变32例,三步突变1例;母系来源突变中,一步突变8例,无二步及以上突变。

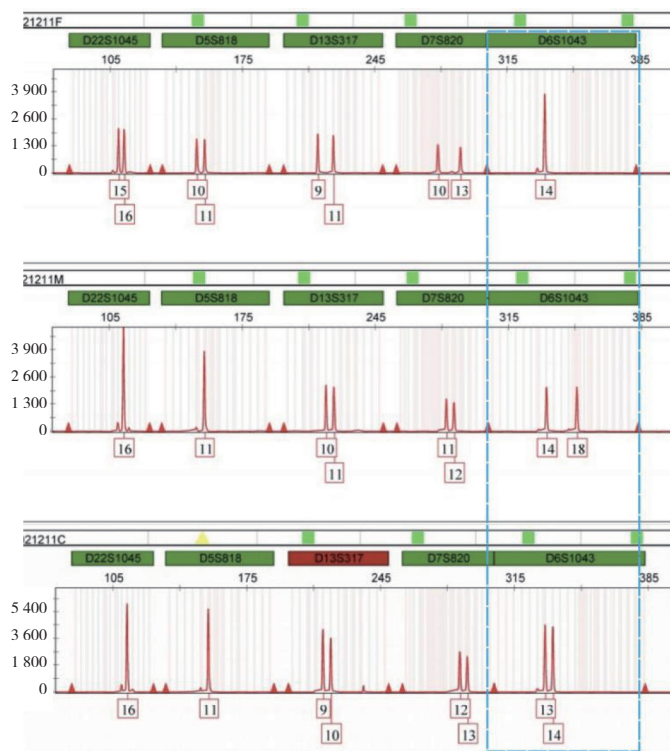
本研究中有1例为来源不确定的突变(图1),突变位点为等位基因D6S1043,父亲的等位基因基因型为纯合子(14,14),母亲的基因型为(14,18),而孩子的基因型为(13,14),不能确定其重复序列(13)来自父亲(14)还是母亲(14)。

## 3 讨论

本研究观察到23个常染色体STR基因座的突变率为0~0.38%,平均突变为0.15%,低于目前常用的平均突变率(0.2%)。除D12S391、D18S51、D6S1043、FGA基因座外,其余19个基因座的突变率均 $< 0.2%$ ,在使用突变率 $> 0.2%$ 的位点进行亲子鉴定时,需要注意突变问题。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关<sup>[7]</sup>,基因重复的次数越多,会导致基因座的多态性程度升高,相应的突变率也会有一定的增加。本研究观察到FGA基因座突变率 $> 0.2%$ ,与张丹妍等<sup>[8]</sup>的研究结果一致。D12S391基因座突变率为0.38%( $> 0.2%$ ),与毕洁等<sup>[9]</sup>

表1 STR 突变基因座的特点及频率

基因座	n	突变率 (%)	一步突变	三步突变	父源	母源	不确定来源
CSF1PO	3	0.16	3	-	1	2	-
D12S391	7	0.38	7	-	7	-	-
D13S317	1	0.05	1	-	1	-	-
D16S539	1	0.05	1	-	1	-	-
D18S51	5	0.27	5	-	4	1	-
D19S433	2	0.11	2	-	2	-	-
D1S1656	2	0.11	2	-	1	1	-
D21S11	3	0.16	3	-	1	2	-
D5S818	1	0.05	1	-	1	-	-
D6S1043	4	0.22	3	1	2	1	1
D7S820	1	0.05	1	-	1	-	-
D8S1179	1	0.05	1	-	1	-	-
FGA	6	0.33	6	-	5	1	-
Penta E	1	0.05	1	-	1	-	-
vWA	3	0.16	3	-	3	-	-



由上至下顺序依次为父亲、母亲、儿子。

图1 突变来源不确定案例

的研究结果相同。目前普遍接受的STR突变机制最适宜的解释为DNA复制滑动或称滑动错配<sup>[10]</sup>。即在DNA合成和复制过程中,由于碱基错配,新链比模板链长或短,表现为新合成的DNA链增加1个至多个重复单元或减少1个至多个重复单元。

STR位点主要以逐步突变方式发生,主要是单

个重复单元的增加或减少,占90%以上,2个或2个以上重复单元的变化较少见。本研究结果显示,在41例突变案例中发现41次基因突变,其中一步突变为40例,三步突变1例,未发现二步突变,一步突变率为97.6%,显著高于二步和三步突变,这与杨飞等<sup>[11]</sup>研究结果一致。一步突变包括减少1个重复单元有

17次,增加1个重复单位有15次,其余不确定的有8次。重复单位增加的案例和减少的案例的数目相近,这与毕洁等<sup>[9]</sup>的研究结果一致。

本研究共发现41个突变(排除1个来源不明的突变),其中32个突变来自父亲,8个突变来自母亲,比例为4 : 1,与多个研究<sup>[12-13]</sup>结果(父系突变率大于母系突变率)一致。STR基因座的突变与性别有关,一般规律是父亲一方的基因突变比母亲一方的基因突变多见,考虑有以下两方面原因:(1)精子细胞的分裂比卵子细胞多进行10倍;(2)精子染色体中碱基置换的积累速率比卵细胞快2倍。因此,STR基因座突变的父系来源明显多于母系来源。另外本研究存在突变来源不明的情况:父亲基因型为(14, 14),母亲基因型为(14, 18),孩子基因型为(13, 14),突变来源不确定来自母亲还是父亲。根据逐步突变模式理论,90%的STR位点突变为一步突变,父源突变率高于母源突变率,约为3.5 : 1<sup>[14]</sup>,因此具有较高概率其孩子的等位基因14来自母亲,而另一个等位基因13来自父亲。

综上所述,为提高亲缘鉴定的准确性,在法医鉴定实践中必须秉持严谨客观的态度。本研究对STR基因座的突变规律进行了深入研究,为更加科学准确地判定亲子关系提供了客观依据。

#### 参考文献:

- [1] 侯一平. 法医物证学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社,2016.
- [2] ČERVENÁK Z, ČERVENÁK F, BALDOVIČ M, et al. Mutational analysis of 16 STR markers in the Slovak population [J]. *Ann Hum Biol*, 2022, 49 (5/6) : 248-253. DOI: 10.1080/03014460.2022.2105397.
- [3] CHANDRA D, MISHRA VC, RAINA A, et al. Mutation rate evaluation at 21 autosomal STR loci: paternity testing experience [J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2022, 58 : 102080. DOI: 10.1016/j.legalmed.2022.102080.
- [4] 周冰焱, 徐珊珊, 顾恒, 等. 亲子鉴定案件中21个STR基因座的突变分析[J]. *中国医药导报*, 2021, 18 (2) : 20-22, 43.
- [5] SAMPAIO B, DOS SANTOS SILVA AM, DE SÁ PAIVA LEITÃO JÚNIOR S, et al. Allelic frequencies distribution and forensic parameters of 23 autosomal short tandem repeats in the population of the State of Pernambuco, Brazil [J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2022, 59 : 102112. DOI: 10.1016/j.legalmed.2022.102112.
- [6] 舒波, 扶新芝, 乔红花. 广东英德地区汉族人群23个常染色体STR基因座突变分析[J]. *广东公安科技*, 2021, 29 (1) : 52-54.
- [7] 兰菲菲, 丁红珂, 陈延冰, 等. 亲子鉴定中STR基因座来源不明突变的分析[J]. *检验医学*, 2021, 36 (2) : 185-189. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2021.02.013.
- [8] 张丹妍, 杨玉有, 杨智曦, 等. 重庆地区22个STR基因座突变分析[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2018, 6 (15) : 179-181. DOI: 10.16282/j.cnki.cn11-9336/r.2018.15.135.
- [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, 33 (3) : 263-266. DOI: 10.3969/j.issn.1004-5619.2017.03.010.
- [10] HUANG YJ, LIU C, XIAO C, et al. Mutation analysis of 28 autosomal short tandem repeats in the Chinese Han population [J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48 (6) : 5363-5369. DOI: 10.1007/s11033-021-06522-7.
- [11] 杨飞, 董露斌. STR基因座突变对亲子鉴定准确性的影响研究[J]. *法制博览*, 2021 (19) : 115-116. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4379.2021.19.047.
- [12] 林琳, 蒋欢畅, 任苹, 等. 温州地区人群21个STR基因座的突变情况分析[J]. *温州医科大学学报*, 2022, 52 (5) : 388-393. DOI: 10.3969/j.issn.2095-9400.2022.05.008.
- [13] 侯一平. 法医物证司法鉴定实务[M]. 北京:法律出版社,2013.
- [14] BRINKMANN B, KLINTSCHAR 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. DOI: 10.1086/301869.

(编辑 于 溪)