

亲子鉴定中 Penta E 稀有等位基因 28 的确认 1 例

徐冬冬, 王韵, 杨慧凌, 范庆炜, 杜冰

(川北医学院基础医学与法医学院, 四川 南充 637000)

【关键词】法医学物证学; 亲子鉴定; 稀有等位基因; OL 等位基因

【中图分类号】DF795.2 【文献标志码】B

1 案例资料

1.1 简要案情

1 例需鉴定父子关系的个人委托案例, 委托人陈某(男性, 36 岁)为了申报户口要求确定与孩子陈某某(女性, 6 岁)父子亲缘关系。

1.2 检验过程与结果

1.2.1 初次检验 采用 Chelex-100 法提取血样 DNA, 分别使用 PowerPlex® Fusion(美国 Promega 公司)和 AGCU EX21 + 1(江苏无锡中德美联生物技术有限公司)试剂盒进行复合扩增, 采用 ABI 3500 遗传分析仪进行毛细管电泳和基因分析。两个 STR

试剂盒所检验的 39 个 STR 位点中除 Penta E 基因座外, 其余基因组符合孟德尔遗传规律。在 Penta E 基因座, Bin 内被控父与孩子均只有一个等位基因, 分别为“11”和“18”; Bin 外约 477bp 处各有一个检出峰, 将其手动命名为 off-ladder 峰(以下简称 OL 峰)。相同实验条件下, 进行 1 次重复检验, 分型结果不变。按照人类 DNA 荧光标记 STR 分型结果的分析及应用(GA/T 1163-2014)和法医学 STR 基因座命名规范(SF/Z JD0105011-2018)中 OL 等位基因的分析方法, 将该 OL 等位基因命名为等位基因“28”。见图 1。

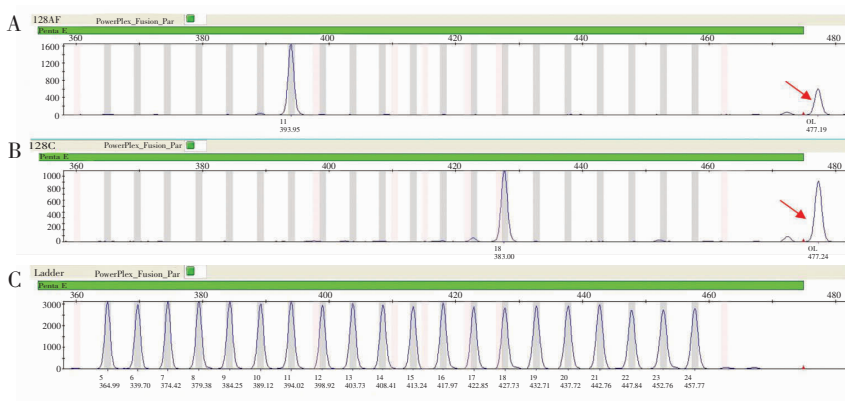


图 1 PowerPlex® Fusion 试剂盒在 Penta E 基因座比对结果

A. 被控父的等位基因为“11”和“OL”(箭); B. 孩子的等位基因为“18”和“OL”(箭); C. Allelic Ladder。

1.2.2 交互验证 分别采用 AGCU EX22(江苏无锡中德美联生物技术有限公司)和 Microreader 21 ID System(北京阅微基因技术有限公司)试剂盒检测两人血样。分析显示, 与上述 2 个检测试剂盒共同的 STR 基因座(PentaE 除外)分型一致。在 Penta E 基因座, 被控父基因型为“11, 28”, 孩子的基因型为“18, 28”。见图 2。

1.2.3 测序验证 参照 STRBase(https://strbase.nist.gov)中 Penta E 引物序列(正向引物为: 5'-ATTACCAA-CATGAAAGGGTACCAATA-3', 反向引物为: 5'-TGGGT-

TATTAATTGAGAAAACCTTACAATTT-3') 合成引物进行单基因扩增检测, 将目的条带纯化后进行一代测序。Penta E 基因座的核心基序为[AAAGA], OL 的核心序列是[AAAGA]₂₈, 根据国际法医遗传学会推荐的 STR 命名方法, 将该等位基因命名为“28”。

1.2.4 父权指数计算及鉴定意见 按照《亲权鉴定技术规范》(GB/T37223-2018), 采用中国汉族群体遗传学资料^[1], 计算 4 个 STR 试剂盒所包含的 39 个常染色体基因座的累积亲权指数(combined paternity index, CPI)为 4.8317×10^{15} , 支持认定父子关系。

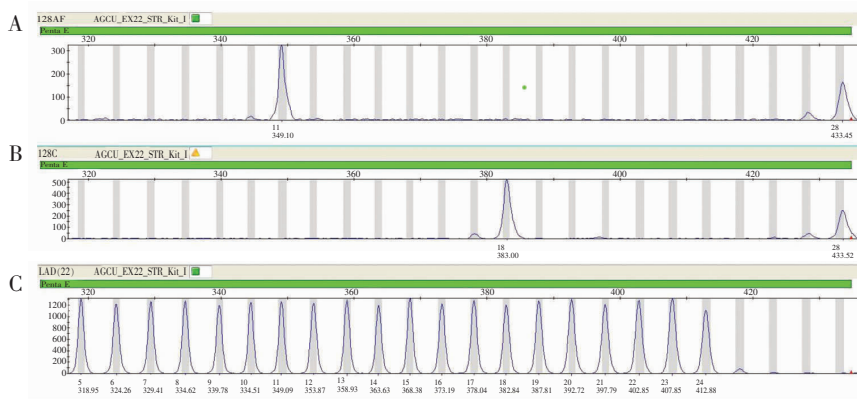


图2 AGCU EX22 试剂盒在 Penta E 基因座比对结果

A.被控父的基因型为“11,28”;B.孩子的基因型为“18,28”;C.Allelic Ladder。

2 讨论

在亲子鉴定中,当出现被控父(和或母)与孩子某个 STR 基因座的分型结果不符合遗传规律时,除考虑该基因座发生突变外,还应注意是否存在等位基因漏检的可能^[2]。研究表明,90% 以上的 STR 突变为一步突变,多步突变发生的机会较小^[3]。因此,本案 Penta E 基因座被检父等位基因“11”发生 7 步突变为“18”的可能性很低。进一步分析分型图谱发现,被检父和孩子在 Bin 外相同位置存在检出峰,推测该基因座存在等位基因漏检的可能。采用 AGCU EX22 和 Microreader 21 ID System 试剂盒进行核验,证实 PowerPlex[®] Fusion 试剂盒在 Penta E 基因座的分型漏检了被检父和孩子的等位基因“28”。Penta E 等位基因“28”是罕见的等位基因,澳大利亚 Grover 首次在 STRbase 中对该稀有等位基因进行了报道^[4],国内已报道的其在汉族群体基因频率为 0.000 2^[1]。

研究表明,OL 等位基因的形成原因有 4 种^[5]: (1)重复单位完整重复,但重复次数在等位基因分型参照物范围外,如本例中的 Penta E 等位基因“28”,比分型标准物最大等位基因“24”多 4 个重复单位;(2)重复单位不完整重复,如 TH01 基因座等位基因“9.3”;(3)侧翼序列碱基的插入或缺失,如 D7S820 等位基因 9.1,是由侧翼序列插入 1 个 C 碱基导致;(4)较大片段的缺失,如 D21S11 等位基因 21.1,是核心序列区 29 bp 的缺失导致。对于检案中遇到的可疑 OL 等位基因,首先应通过重复扩增或更换其它 STR 试剂盒进行核验,以排除污染或非特异性扩增等影响^[6]。其次,根据检出峰特征综合分析,对于出现在基因座两个相邻等位基因之间的 OL 等位基因,一般属于等位基因的微变异,不易出现分型误判;对于超出基因座 Allelic Ladder 之外的 OL 等位基因,其分型确定较为复杂。此类 OL

等位基因属于大片段或小片段等位基因,可能落入相邻基因座,易引起误判^[7]。由于 PCR-CE 检测到的 OL 等位基因只反映出其长度大小,不能确定具体形成原因。因此,建议对检案中遇到的 OL 等位基因进行序列测定,以便使分型结果更加严谨、准确。OL 等位基因在人群中的基因频率一般较低,有些属于稀有等位基因(频率 < 0.1%)^[8]。低频率的 OL 等位基因的发现和确证,可显著提高个体识别能力和排除概率,有助于检案和研究^[9-10]。

参考文献

- [1] Wu WW, Chen DL, Fu YF, *et al.* Population structure of Han population in China revealed by 41 STR loci [J]. *Ann Hum Biol*, 2020, 47(1): 65-69.
- [2] 姜磊,徐倩楠,朱如心,等.联合运用多种手段证实亲子鉴定案件中 D21S11 基因座表型 1 例[J]. *中国司法鉴定*, 2019, 104(3): 102-104.
- [3] 胡锡阶,刘祖林,章涛,等.亲子鉴定中 STR 基因座 D18S51 罕见多步突变 1 例[J]. *中国法医学杂志*, 2019, 34(1): 98-100.
- [4] Denise G. https://strbase.nist.gov/var_Penta_E.htm [OL].
- [5] 马晓燕,李少英,何文智,等. Expressmarker22 系统检测广东汉族人群中的标准梯度外等位基因[J]. *中山大学学报(医学版)*, 2018, 39(2): 73-78.
- [6] Yao YN, Yang QR, Shao CC, *et al.* Null alleles and sequence variations at primer binding sites of STR loci within multiplex typing systems [J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2018, 30(1): 10-13.
- [7] Li XN, Zheng JL, Yao J. Genetic polymorphisms of 15 autosomal STR loci in 3962 individuals from the Han population of Jiangxi, Southeast China [J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2017, 31: e57-e58.
- [8] 张应爱,王顺兰,文小红,等.一例大片段重复序列 Penta E 基因座 off-ladder 等位基因的测序鉴定[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2019, 36(2): 168-170.
- [9] 范庆炜,任贺,刘志勇,等.亲子鉴定中“off-Ladder”等位基因的确认[J]. *中国法医学杂志*, 2020, 35(6): 613-617.
- [10] Tvedebrink T, Bright JA, Buckleton JS, *et al.* The effect of wild card designations and rare alleles in forensic DNA database searches [J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2015, 16(8): 98-104.

(收稿日期:2021-10-12

修回日期:2022-01-12)