

不同位点 STR 复合扩增技术在亲权鉴定及 D18S51 基因座分型异常中的应用*

党 珍^{1,2} 王业全^{1,2} 李学博³ 王清山⁴ 张国安^{1,2} 崔 文^{1,2,Δ}

(¹ 济宁医学院法医学与医学检验学院;² 济宁医学院司法鉴定中心, 济宁 272067;

³ 山东政法学院山东省高校证据鉴识重点实验室, 济南 250014;⁴ 重庆市公安局物证鉴定中心, 重庆 400021)

摘 要 目的 运用多位点 STR 复合扩增技术进行亲权鉴定, 探讨 Identifiler Plus 及 Goldeneye 20A 试剂盒在突变性亲权鉴定或 STR 异常分型中的作用。方法 用 Identifiler Plus 及 Goldeneye 20A 试剂盒对亲权鉴定中的样本 DNA 进行 PCR 扩增, 扩增产物进行毛细管电泳, 应用 Gene Mapper v3.2 软件基因分型, 最后进行亲权关系的鉴定。结果 两种试剂盒的扩增产物共同的 16 个 STR 基因座分型一致, 在 D18S51 基因座均出现 STR 分型异常, 从而确认 D18S51 基因座为异常三带型。由于本亲权鉴定中共有 5 个基因座不符合孟德尔遗传定律, 故排除单亲遗传关系。结论 Identifiler Plus 及 Goldeneye 20A 两种试剂盒在基因突变或 STR 分型异常的亲权鉴定案例中可以起到相互佐证、补充的作用。

关键词 法医物证学; 亲权鉴定; 短串联重复序列; D18S51

中图分类号: DF795.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2016)08-267-04

The application of STR loci multiplexes PCR in parentage testing and the abnormal genotyping of D18S51 STR loci

DANG Zhen^{1,2}, WANG Yequan^{1,2}, LI Xuebo³, WANG Qingshan⁴, ZHANG Guoan^{1,2}, CUI Wen^{1,2,Δ}

(¹ Institute of Forensic Medicine and Laboratory Medicine of Jining Medical University, ² Center of Forensic Science of Jining Medical University, Jining 272067; ³ Key Laboratory of Evidence Identification in Colleges and Universities of Shandong Province, Shandong University of Political Science and Law, Jinan 250014;

⁴ Institute of Forensic Science, Chongqing Public Security Bureau, Chongqing 400021, China)

Abstract: Objective The mutational or abnormal genotyping of STR loci in parentage testing was performed by using Identifiler-Plus and Goldeneye 20A kits. **Methods** The paternity testing cases was amplified by the Identifiler Plus and Goldeneye 20A kits. The amplified products were detected by capillary electrophoresis, and the genotypes were analyzed by GeneMapper v3.2. **Results** The amplified products had the same abnormal genotyping on D18S51 STR loci using two kinds of kits. According to the laws of inheritance, the results of exclusive paternity were in coordinate with more than 3 loci. **Conclusion** The experiments suggest that two kinds of kits can support each other in the mutational or abnormal genotyping of STR loci in parentage testing cases.

Keywords: Forensic science; Parentage testing; STR; D18S51

短串联重复序列 (short tandem repeats, STR) 是一类在整个人类基因组中广泛分布的遗传标记,

由 2~6 个碱基串联重复排列的 DNA 序列。核心序列重复数的不同, 使其在不同人群之间分布具有很大的差异性, 构成了 STR 位点的遗传多态性。STR 基因座遵循孟德尔遗传规律及共显性遗传模式, 在亲权鉴定及个体识别中广泛应用。

亲权鉴定是司法鉴定领域法医物证学鉴定的

* [基金项目] 济宁医学院科研计划项目 (JY2015KJ006); 济宁市科技发展计划项目 (2015-85); 山东省自然科学基金项目 (ZR2014HQ018); 上海市法医学重点实验室开放课题 (KF1510)

Δ [通信作者] 崔文, E-mail: cuiwenmd@163.com

重要内容之一,由于 STR 具有遗传多态性,其分型技术有高度的灵敏性和可靠性,是目前法医 DNA 分析中最常用的一类遗传标记,也是目前亲权鉴定最有效的检验方法,但基因突变或 STR 分型异常则是干扰亲权鉴定正确判定的重要因素。在目前常用的法医物证 STR 检测系统中,D21S11、PentaD 基因座位于 21 号染色体,而 D18S51 位于 18 号染色体,因此也可作为三体综合征快速筛查方法^[1]。本文用不同位点的 STR 复核扩增技术来探讨不同试剂盒在亲权鉴定或 STR 分型异常中的作用^[2-3]。

1 材料与方法

1.1 样本来源

受检样品均来自重庆市公安局物证鉴定中心法医物证实验室受理承办的亲权鉴定案件。具体案情为:在某县某人家中发现一女性受害者,经现场勘查和法医学检验认定为他杀,需进行 DNA 亲权鉴定以确定受害者身份。

1.2 仪器与试剂

9700 型 PCR 扩增仪(AB 公司,美国);ABI-3130XL 型遗传分析仪(AB 公司,美国);GeneMapper ID v3.2 软件(AB 公司,美国);Identifiler Plus PCR 扩增试剂盒(AB 公司,美国);Goldeneye 20A PCR 扩增试剂盒(基点认知公司,中国)。

2 STR 分型及鉴定结果

Identifiler Plus 试剂盒扩增产物的 DNA 分型结果发现嫌疑死者父亲在 CSF1PO、D19S433 及 D18S51 3 个基因座与受害人基因型不符合单亲遗传(表 1)。Goldeneye 20A 试剂盒扩增产物的 DNA 分型结果表明除上述 3 个基因座外 D12S391、Pen-

taD 两个基因座与受害人基因型也不符合单亲遗传关系(表 1)。霍振义等认为如果有 3 个以上独立遗传的标记系统不符合孟德尔遗传规律,可做排除结论,在排除实验中主客观因素外,故两者不符合单亲遗传关系^[4]。

在 Identifiler Plus 扩增产物 DNA 分型结果中发现受害者在 D18S51 基因座上出现 3 条带(15/23/24),而疑似父亲在该基因座的分型为 12/13(图 1)。通过 Goldeneye 20A 试剂盒进行复核检验其结果也验证了 Identifiler Plus 试剂盒的检验结果,即 D18S51 基因座 STR 分型为异常三带型,两种试剂盒的检验结果一致。

表 1 Identifiler Plus 及 Goldeneye 20A 试剂盒基因座分型结果

基因座名称	疑似父亲	受害人
D8S1179	15	15
D21S11	30/32. 2	30/32
D7S820	8/10	10/12
CSF1PO	7/10	12/13
D3S1358	15/17	15/18
TH01	7/9	9
D13S317	8/11	8/11
D16S539	9/10	9/10
D2S1338	19	19/23
D19S433	13/14. 2	14/15
vWA	17	17
TPOX	9	9/11
D18S51	12/13	15/23/24
D5S818	13	13
FGA	20/21	20/24
D12S391	17/22	18/21
D6S1043	11/13	11/12
PentaD	10/11	9/12
PentaE	12/17	15/17
Amel	X/Y	X

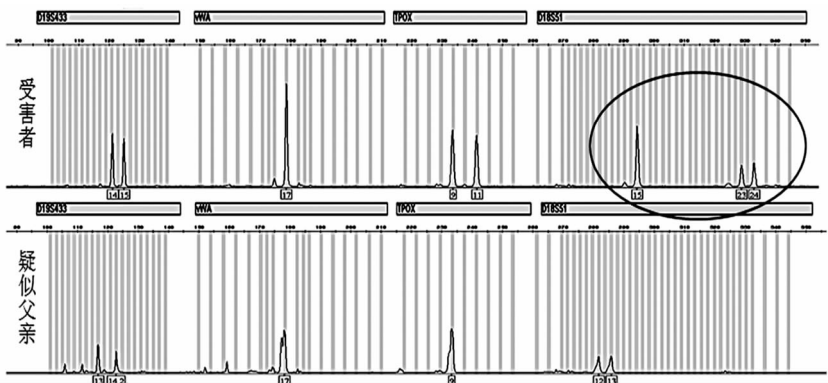


图 1 D18S51 基因座 STR 异常分型

3 讨论

在亲权鉴定案件中要求有 3 个或 3 个以上 STR 基因座的等位基因遗传违反孟德尔遗传规律,才可以排除亲子关系。若只有 1 个或 2 个 STR 基因座不符合遗传规律时,且基因分型相差一个重复单位时,不能轻易做出排除亲子关系的结论,应考虑基因突变的可能,必需加做其它 STR 基因座^[5-7]。伍新尧等认为亲子鉴定中如发现 1 个基因座突变就必须检测 19 个 STR 基因座以便确定亲权关系^[8]。本文通过 Identifiler Plus 试剂盒检测发现有 4 个基因座不符合孟德尔遗传规律,虽然可以排除亲子关系,但也需要加做其它试剂盒 STR 基因座位点来验证。Goldeneye 20A 试剂盒检测结果发现受害者有 5 个基因座不符合单亲遗传规律,综合分析,可排除其单亲遗传关系。两种试剂盒结果的一致性对亲权鉴定的准确性有着重要的支撑作用,不仅可以排除实验中的主客观因素对实验结果的影响,也对试剂盒的适用性进行了验证。

亲权鉴定中,有时会在某一基因座发现三带型或三等位基因分型 STR 结果。这一现象可能是由于出现其它的染色体或者是引物的结合区发生突变导致的,具体原因目前尚不清楚。三带型基因座的三个峰高可能相同也可能不同。Picano 等^[9]发现 TPOX 基因座的三带型在峰值上基本一致,但本文发现在 D18S51 基因座 2 个等位基因的峰高之和相当于第 1 个峰高,即等位基因 23、24 的峰高之和接近于等位基因 15 的峰高。本文通过多位点 STR 复核扩增技术的两种试剂盒进行相互验证 D18S51 基因座确为三带型,以排除检测过程中人为因素的干扰及混合样本的怀疑。本文证实该受害者本身存在智力障碍,结合身体特征可以推测为 18 三体综合征患者。

常染色体 18 三体是人类最为常见的染色体畸变类型之一。传统细胞遗传学核型分析技术是检测染色体三体最经典的方法,被誉为染色体产前诊断的金标准,但是该技术需要经过细胞培养等过程耗时太长且易污染。Mansfield 等^[10]首次利用 STR 遗传多态性对染色体三体进行诊断。李少英等^[1]将 Identifiler 系统应用到产前胎儿 21、18、13 三体快速诊断上并成为目前染色体三体筛选快速有效的方法之一。李晓州等选取 D18S53、D18S59、D18S488 3 个 STR 基因座作为 18 三体综合征产前

基因诊断的遗传标记。因此,D18S51 基因座也可以作为 18 三体染色体异常快速诊断的 STR 位点^[11]。由于 Identifiler Plus 及 Goldeneye 20A 试剂盒都含有 D21S11、D18S51、D13S317 基因座,因此也可用于染色体 21、18、13 三体异常的快速诊断。

基因突变或染色体数目异常是干扰亲权鉴定正确判定的重要因素。如果不注意 STR 基因座突变或分型异常,可能导致亲权鉴定误排生父^[8]。因此在亲权鉴定过程中要注意 STR 位点的突变及分型异常情况,对多个 PCR 试剂盒的检测结果进行综合判断,排除各种可能因素的干扰,以便有效地降低错误分析结论的风险。

参考文献:

- [1] 李少英,黎青,孙筱放,等. Identifiler™ 系统在产前基因诊断中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志,2011, 19(05):27-28. DOI:10.13404/j.cnki.cjbhh.2011.05.024.
- [2] 王洁,焦章平,黄艳梅,等. 国产试剂盒 Goldeneye™ 20A 在亲权鉴定中的应用评估[J]. 中国法医学杂志,2012,27(3):205-208. DOI:10.3969/j.issn.1001-5728.2012.03.008.
- [3] 欧阳曙明,殷照初,申琴,等. 3 种 STR 试剂盒在二联体亲缘鉴定中联合应用 1 例[J]. 中国法医学杂志,2014,29(2):165-166. DOI:10.13618/j.issn.1001-5728.2014.02.028.
- [4] 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. DOI:10.3969/j.issn.1671-2072.2004.03.011.
- [5] 刘素娟,李成涛,陈文静,等. 常染色体 STR 突变率的研究[J]. 中山大学学报(医学科学版),2013,34(3):326-330. DOI:10.13471/j.cnki.j.sun.yat-
- [6] 帅莉,汪军,景强,许彬,等. 1483 例亲子鉴定 STR 基因座突变的分析[J]. 法医学杂志,2014,30(1):44-46. DOI:10.3969/j.issn.1004-5619.2014.01.010.
- [7] 兰菲菲,陈延冰,杜丽,等. 亲子鉴定常用 STR 基因座突变的特点[J]. 广东医学,2016,37(2):218-220. DOI:10.13820/j.cnki.gdyx.2016.02.013.
- [8] 伍新尧,杨庆恩,刘雅诚,等. 亲权鉴定判断标准和结论表述的建立[J]. 中山大学学报(医学科学版),2010,31(1):20-22,44.
- [9] Picano JB, Raimann PE, Paskulin GA, et al. Tri-allelic pattern at the TPOX locus: a familial study[J]. Gene, 2014,535(2):353-358. DOI:10.1016/j.gene.2013.10.019.
- [10] Mansfield ES. Diagnosis of Down Syndrome and other

aneuploidies using quantitative polymerase chain reaction and small tandem repeat polymorphisms [J]. Hum Mol Genet, 1993, 2 (1): 43-50. DOI: 10. 1093/hmg/2. 1. 43.

[11] 李晓洲, 刘静, 史云芳, 等. 天津汉族胎儿 D18S53、

D18S59 和 D18S4883 个 STR 基因座遗传多态性研究 [J]. 天津医药, 2014, 42 (2): 105-108. DOI: 10. 3969/j. issn. 0253-9896. 2014. 02. 003.

(收稿日期 2016-05-09)

(上接第 266 页)

这与国内马芳^[5]、葛虹^[6]、易淑明^[7]等的调查总分相似。究其原因,可能与关爱能力的得分与调查对象本身的特点有关。关爱能力受到调查对象所处国家的教育体制、文化差异、宗教信仰等多种因素影响。这也说明了高校医学生的关爱能力有待进一步提高。

3.2 医学生感戴总体现状

本文结果显示,医学生感戴总体水平较高,这与国内大多数学者的调查结果相似。申正付等^[8]研究发现,大学生感戴现状总体良好,医学生的感戴倾向明显高于非医学生。这可能和医学生的教育培养模式有关,大部分医学生能更多体验到感戴情绪,更多的关注生活中积极美好的方面。

3.3 医学生关爱能力与感戴的关系

本文结果表明,高校医学生的关爱能力及其各维度得分与感戴呈显著正相关,高关爱能力组的学生在感戴上的平均得分均显著高于低关爱能力组,关爱能力的理解维度和耐心维度对感戴有显著的预测效应。分析原因有:1)关爱能力是在与他人交往的过程中展现出的关爱他人的能力以及表达关爱倾向、与他人建立关爱关系的能力。诺丁斯关爱理论^[9]认为,关爱者关爱他人时首先要从感情上接受对方,理解他人的现实、体会他人的感受。因此具有较高关爱能力的人更能体验关爱,接受关爱,付出关爱,这类人更能在一系列的体验经历中表现出强烈的感戴倾向。2)拉扎勒斯等认为,感戴是一种“移情情绪”,它根植于移情于他人的能力。McCullough 及其同事认为,长期体验感戴的人,更能体验到他人的爱和关心^[10]。高关爱者在不断付出关爱的同时可能对他人的爱和关心更敏感,更容易产生感戴情绪,从而表现出较高的爱戴水平。

综上所述,高校医学生的关爱能力总体水平较低,感戴总体水平相对较高。医学生的关爱能力及其各维度与感戴呈显著正相关关系,关爱能力的理解维度和耐心维度可以在一定程度上预测感戴水

平。因此,建议高校应通过改革课程设置、改进教学方法,营造关爱氛围,开展关爱教育,让学生获得关爱的知识和技能,提升学生的关爱能力,进而提高其感戴水平。

参考文献:

- [1] Sadler J. A pilot study to measure the caring efficacy of baccalaureate nursing students [J]. Nurs Educ Perspect, 2003, 24 (6): 295-299.
- [2] Nkongho NO. The Caring Ability Inventory [M]//Strickland, Waltz C (Eds). Measurement of Nursing Outcomes. New York: Springer, 1990: 3-16.
- [3] Fjortoft N, Zgarrick D. An assessment of pharmacists' caring ability [J]. J Am Pharm Assoc (2003), 2003, 43 (4): 483-487. DOI: 10. 1331/154434503322226220.
- [4] McCullough ME, Emmons RA, Tsang JA. The grateful disposition: a conceptual and empirical topography [J]. J Pers Soc Psychol, 2002, 82 (1): 112-127. DOI: 10. 1037/0022-3514. 82. 1. 112.
- [5] 马芳, 朱丹. 护理本科生关爱能力调查分析 [J]. 护理学杂志, 2007, 22 (3): 9-11. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-4152. 2007. 03. 004.
- [6] 葛虹, 黄弋冰, 何晓琦. 高专护生关爱能力状况的调查分析 [J]. 华北煤炭医学院学报, 2011, 13 (3): 417-419. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-6633. 2011. 03. 096.
- [7] 易淑明, 陈辉, 杨石麟. 大专护生关爱能力的调查分析及培养策略 [J]. 齐鲁护理杂志, 2010, 16 (22): 4-6. DOI: 10. 3969/j. issn. 1006-7256. 2010. 22. 003.
- [8] 申正付, 赵东城, 杨秀木. 大学生感恩状况调查及相关因素分析 [J]. 蚌埠医学院学报, 2011, 36 (2): 181-182, 186. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-2200. 2011. 02. 027.
- [9] 赵雪霞. 诺丁斯关心理论对教师素质的全新要求 [J]. 外国教育研究, 2003 (3): 25-28.
- [10] Peterson B E, Stewart A J. Antecedents and contexts of generativity motivation at midlife [J]. Psychol Aging, 1996, 11 (1): 21-33. DOI: 10. 1037/0882-7974. 11. 1. 21.

(收稿日期 2016-04-13)