

联合应用常染色体 STR, X-STR 和线粒体 SNP 鉴别姨甥关系

侯秀迪¹ 马莉² 侯森¹ 王业全¹ 张国安¹

(¹ 济宁医学院司法鉴定中心, 济宁 272067; ² 济宁市第一人民医院产科, 济宁 272011)

摘要 目的 基于毛细管电泳技术, 联合应用常染色体 STR, X-STR 及线粒体 SNP 荧光检测, 探讨复杂亲缘关系中姨甥关系的鉴定方法, 为复杂亲缘鉴定提供数据和理论依据。**方法** 采用华夏白金、Goldeneye 22NC、Goldeneye 17X、Expressmarker mtDNA-SNP 60 荧光检测等试剂盒进行 STR 和 SNP 检测, 根据分型结果分别采用 ITO 法、判别函数法和状态一致性评分 (identity by state score, IBS) 法进行姨甥关系鉴定。**结果** 本案例中通过 ITO 法计算, 姨甥关系指数为 8.7324×10^5 , 倾向于支持庄某 (姨) 与李某 (外甥女) 的姨甥关系; IBS 法联合 ITO 法、判别函数法证实庄某 (姨) 与庄某某 (生母) 为全同胞关系, 结合庄某某 (生母) 与李某 (外甥女) 的累积亲权指数 (combined parentage index, CPI) 为 7.3971×10^{15} , 证实了庄某 (姨) 与李某 (外甥女) 的姨甥关系; 线粒体 SNP 结果表明三者来源于同一母系家族, 也支持以上结论。**结论** 对于姨甥等近亲遗传关系, 应综合应用多种判定方法进行分析, 以获得更为可靠的鉴定意见。

关键词 法医物证; 姨甥关系; 线粒体 DNA-SNP

中图分类号: DF795.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2023)10-345-04

Combined application of autosomal STR, X-STR and mitochondrial SNP to identify in aunt-nephews relationship

HOU Xiudi¹, MA Li², HOU Sen¹, WANG Yequan¹, ZHANG Guoan¹

(¹ Center of Forensic Science, Jining Medical University, Jining, 272067;

² Obstetrical Department, Jining NO. 1 People's Hospital, Jining, 272011)

Abstract: Objective To explore the identification method of aunt-nephew relationship in complex relationship by STR polymorphism detection technique combined with mitochondrial DNA-SNP fluorescence detection, and to provide data and theoretical basis for complex relationship identification. **Methods** STR and SNP were detected by Huaxia Platinum, Goldeneye 22NC, Goldeneye 17X and Expressmarker MTDNA-SNP 60 fluorescence detection kits. ITO method, discriminant function method and IBS method were used to identify the relationship between aunt and nephew. **Results** In this case, cumulative avuncular index was 8.7324×10^5 by ITO method, which tended to support the aunt-niece relationship. IBS method combined with ITO method and discriminant function method proved that aunt and biological mother are full sibling relationship, confirmed that Zhuang (aunt) and Li (niece) is aunt-nephew relationship; The mitochondrial test results showed that the three were from the same maternal family, which also supported this result. **Conclusion** For the genetic relationship of aunts-nephews and other close relatives, multiple determination methods should be applied to analyze comprehensively to obtain reliable results.

Keywords: Forensic genetics; Relationship of aunts and nephews; Mitochondrial SNP

目前我国入户程序逐渐完善, 非婚生育落户的需做亲缘鉴定以明确其身份。在农村过继事件时

有发生, 出现了很多叔侄、姑侄、姨甥、舅甥等广义叔侄关系的鉴定, 但这类鉴定暂无明确标准规范, 难以得出结论。本文旨在采用 ITO 法^[1]、判别函数法^[2]和状态一致性评分 (identity by state score,

[通信作者] 张国安, E-mail: zga2007@126.com

IBS)法^[3-4]等多种分析及线粒体荧光检测技术进行鉴定以得到可靠结果,确定两者的姨甥关系,为复杂亲缘关系鉴定提供思路。

1 材料与方 法

1.1 简要案情

李某自述为庄某外甥女, 因需随庄某入 户, 前 来 本 鉴 定 中 心 证 明 庄 某 与 李 某 为 姨 甥 关 系。后 为 进 一 步 确 定 庄 某 与 李 某 的 姨 甥 关 系, 将 李 某 生 母 庄 某 某 也 作 为 被 鉴 定 人。按 照 知 情 同 意 原 则, 采 集 三 名 被 鉴 定 人 的 指 尖 血 样。本 研 究 经 济 宁 医 学 院 伦 理 委 员 会 审 核 并 同 意 (JNMC-202/-YX-008)。

1.2 方 法

按照 Chelex-100 法提取外周血 DNA, 采用 华 夏 白 金 试 剂 盒 (AB 公 司), Goldeneye 22NC 试 剂 盒 (北 京 基 点 认 知 技 术 有 限 公 司)、Goldeneye 17X 试 剂 盒 (北 京 基 点 认 知 技 术 有 限 公 司)、Expressmarker mtDNA-SNP 60 荧 光 检 测 试 剂 盒 分 别 进 行 复 合 PCR 扩 增, 用 3500 遗 传 分 析 仪 进 行 毛 细 管 电 泳, 并 用 GeneMapper ID-X 软 件 进 行 基 因 型 分 析, 得 到 40 个 常 染 色 体 STR 基 因 座 等 位 基 因、16 个 X-STR 基 因 座 等 位 基 因 和 60 个 线 粒 体 SNP 位 点。

2 结 果 及 数 据 分 析

检测得到李某、庄某 D3S1358 等 40 个 常 染 色 体 STR 基 因 座 基 因 型、DXS6795 等 16 个 X-STR 基 因 座 基 因 型 (见 表 1、表 2) 及 10398 等 59 个 线 粒 体 SNP (见 图 1)。

以上 D3S1358 等 40 个 常 染 色 体 STR 基 因 座, 除 FGA、D15S659、D5S2500 等 3 个 基 因 座, 李 某 在 必 需 等 位 基 因 均 能 从 庄 某 的 基 因 型 中 找 到 来 源, 根 据 陆 惠 玲 等^[1]报 道 的 ITO 法 计 算 两 者 的 姨 甥 关 系 指 数, 得 到 D3S1358 等 40 个 常 染 色 体 STR 基 因 座, 计 算 姨 甥 关 系 指 数 为 8.7324×10^5 , 即 庄 某 为 李 某 姨 母 的 可 能 性 是 庄 某 和 李 某 为 无 关 个 体 的 可 能 性 的 8.7324×10^5 倍。计 算 两 者 为 母 女 关 系 的 可 能 性 与 两 者 为 姨-外 甥 女 关 系 的 比 值, 得 到 似 然 率 (likely ration, LR) 为 8.0574×10^{-4} , 即 庄 某 为 李 某 的 生 母 的 可 能 性 是 庄 某 为 李 某 姨 母 的 可 能 性 的 8.0574×10^{-4} 倍, 故 倾 向 于 支 持 庄 某 与 李 某 的 姨 甥 关 系。

为 进 一 步 确 定 庄 某 与 李 某 的 姨 甥 关 系, 采 集 李 某 生 母 庄 某 某 血 样, 检 测 D3S1358 等 40 个 常 染 色

体 STR 基 因 座 基 因 型, 李 某 某 的 等 位 基 因 均 能 从 庄 某 某 的 基 因 型 中 找 到 来 源, 庄 某 某 与 李 某 的 累 积 亲 权 指 数 (combined parentage index, CPI) 为 7.3971×10^{15} , 支 持 庄 某 某 为 李 某 的 生 物 学 母 亲^[5]。

表 1 庄 某、李 某、庄 某 某 40 个 常 染 色 体 STR 基 因 座 分 型 结 果

试剂盒	基因座	庄某	李某	亲权指数 (庄某和李某)	姨甥关系指数 (庄某和李某)	庄某某	亲权指数 (庄某某和李某)
华夏白金	D3S1358	15/15	15/15	2.8629	1.9314	15/15	2.8629
	vWA	16/19	16/19	4.4343	2.7013	16/19	4.4343
	D16S539	11/11	9/11	1.9357	1.5309	11/11	1.9357
	CSF1PO	10/12	10/11	1.0827	1.0414	10/12	1.0827
	TPOX	11/12	8/11	0.8221	0.911	8/11	1.3019
	D8S1179	14/15	10/15	1.4368	1.1775	15/16	1.4368
	D21S11	30/30	30/31	1.8044	1.36	30/30	1.8044
	D18S51	14/14	13/14	2.343	1.6715	14/14	2.343
	Penta E	16/18	14/18	3.2895	2.0375	17/18	3.2895
	D2S441	11/11	11/12	1.5038	1.2627	11.3/12	1.3767
	D19S433	14/14.2	14/15.2	1.0093	0.9956	14/14.2	1.0093
	TH01	6/9	9/9	1	1	9/9	2
	FGA	25/26	22/23	0.0001	0.5	21/22	1.4384
	D22S1045	11/16	16/17	1.0425	1	11/17	1.29
	D5S818	10/13	12/13	1.763	1.3556	10/13	1.763
	D13S317	8/8	8/10	1.8012	1.4423	8/10	2.6307
	D7S820	12/12	11/12	2.1044	1.5522	8/12	1.0522
	D6S1043	10/13	11/13	1.8302	1.3256	10/13	1.8302
	D10S1248	13/15	15/16	1.1787	1.1823	16/16	5.5679
	D1S1656	15/17	15/15	1.6852	1.3544	15/17	1.6852
D12S391	19/19	19/23	2.3245	1.6996	19/21	1.1623	
D2S1338	19/23	23/23	2.4085	1.7042	20/23	2.4085	
Penta D	10/11	9/10	1.9841	1.4266	9/10	2.7598	
CPI(以上 23 个 STR)				21.7597			
Goldeneye 22NC	D4S2366	11/11	9/11	1.4112	1.2056	11/11	1.4112
	D6S477	14/15	13/14	1.2947	1.1473	14/15	1.2947
	GATA198B05	17/21	17/22	1.6057	1.3028	17/21	1.6057
	D15S659	11/11	12/17	0.0023	0.5	12/14	1.1505
	D8S1132	18/19	18/21	1.2077	1.1039	18/21	2.9633
	D3S3045	9/14	9/14	2.1496	1.5748	14/15	1.4872
	D14S608	10/11	11/13	1.3096	1.1548	10/11	1.3096
	D17S1290	15/17	16/17	1.4802	1.2401	16/17	2.3025
	D3S1744	18/21	17/21	48.077	24.5385	18/21	48.077
	D18S535	13/14	9/13	1.2519	1.1259	9/9	2.6911
	D13S325	19/20	20/20	1.8861	1.443	20/20	3.7722
	D7S1517	23/25	21/25	1.4577	1.2289	23/25	1.4577
	D10S1435	13/14	13/14	2.8457	1.9228	12/13	0.9925
	D11S2368	17/22	17/21	1.8811	1.4406	17/20	1.8811
	D19S253	13/14	14/14	8.0128	4.5064	7/14	8.0128
	D7S3048	18/23	18/22	2.6824	1.8412	18/25	2.6824
	D5S2500	15/15	11/12	0.0500	0.5000	12/15	2500
CPI(以上 40 个 STR)				603.2535	8.7324×10^5	7.3971×10^{15}	

表 2 庄某、李某、庄某某 16 个 X-STR 基因座分型结果

试剂盒	基因座	庄某	李某	庄某某
Goldeneye	DXS6795	10/13	10/11	10/13
17X	DXS9902	10/11.1	11.1/12	10/11.1
	DXS8378	10/11	10/11	10/11
	HPRTB	11/12	12/13	11/12
	GATA165B12	9/10	10/11	9/10
	DXS7132	14/15	12/15	14/15
	DXS7424	14/15	14/16	14/15
	DXS6807	11/13	11/14	11
	DXS6803	11/13.3	11/11.3	11/11.3
	GATA172D05	9/10	8/9	9/10
	DXS6800	16	16/19	16
	DXS10134	37	38.3	37/38.3
	GATA31E08	9/10	10/12	9/10
	DXS10159	25	24/27	25/27
	DXS6789	15/16	16/17	15/16
	DXS6810	17/18	17/19	17/18

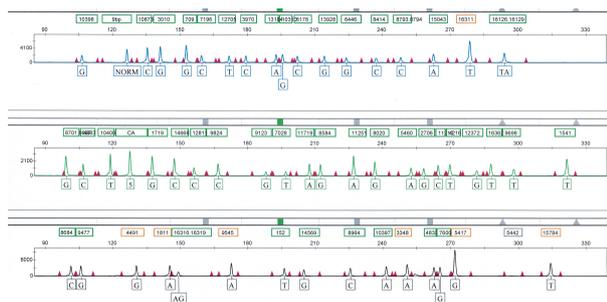


图 1 mtDNA-SNP 60 荧光检测庄某、庄某某、李某的分型结果

依据《生物学全同胞关系鉴定实施规范》^[6] 计算 D3S1358 等 40 个常染色体 STR 基因座上庄某与庄某某的累计状态一致性评分 (combined identity by state score, CIBS) 为 48, 倾向于认为两名有争议个体为全同胞关系; 依据《用 ITO 法计算两个体间的血缘关系机会》^[7] 中的方法计算庄某与庄某某的全同胞指数为 3.5163×10^{11} , 大于半同胞指数 3.1500×10^7 ; 依据《ITO 法和判别函数法在同胞关系鉴定中的应用》^[8] 中的方法计算庄某与庄某某的全同胞 D 值为 12.494, 大于无关个体 D 值 1.316。在 DXS6795 等 16 个 X-STR 基因座基因型中庄某与庄某某均有相同等位基因, 以上各种分析结果均支持庄某与庄某某为生物学全同胞姐妹, 即支持庄某与李某的姨甥关系。

图 1 中 60 个 SNP 位点中庄某、庄某某、李某分型均一致, 支持 3 人来源于同一母系家族。支持

庄某与庄某某为生物学全同胞关系、庄某某与李某的生物学母女关系和庄某与李某的姨甥关系。

3 讨论

在我国过继事件中, 叔侄、姑侄、舅甥、姨甥等关系普遍存在, 常以冒充父(母)子关系进行亲子鉴定, 如将本案中庄某作为李某的母亲鉴定, 通过华夏白金试剂盒 23 个 STR 基因座检测后, 庄某与李某仅有 1 个基因座不符合孟德尔遗传定律且可认定为两步突变 CPI 值为 21.7597 (大于 0.0001, 小于 10000) (表 1), 无法得出确定结论; 增加基因座至 40 个, 检测出 3 个 STR 基因座不符合孟德尔遗传定律, CPI 值为 603.2535 (大于 0.0001, 小于 10000) (表 1), 依然无法给出确定结论; 经与被鉴定人沟通, 联系并采集到李某生母庄某某血样。经过检测计算, 确认了李某与庄某某的亲子关系; 并确认了庄某与庄某某的生物学全同胞关系。最终确定李某与庄某的姨甥关系。因此, 叔侄、姑侄、舅甥、姨甥等复杂亲缘关系给亲子鉴定工作带来极大的干扰。对于这种情况, 法医物证从业人员在工作中需更加详细询问被鉴定人真实情况, 了解是否为近亲关系, 并尽量要求进行三联体亲子鉴定; 要采用多种方法, 反复验证, 得出正确结论。

当然在司法鉴定工作中也存在户口本上为亲子关系, 但实际并非亲子关系, 需排除两者亲子关系, 但叔侄、姑侄、舅甥、姨甥等关系影响亲子关系的判断, 需采用增加基因位点、Y-STR 基因座或线粒体 SNP 检测辅助判断^[9]。以本案为例, 如庄某、李某需要鉴定排除二者的母女关系, 40 个常染色体 STR 基因座, 李某在 FGA、D15S659、D5S2500 等 3 个 STR 基因座无法在庄某的基因型中找到来源, CPI 值为 703.6061 (大于 0.0001, 小于 10000), 依据《亲权鉴定技术规范》GB/T 37223-2018^[5] 无法排除两者的母女关系, 因无法获取李某生物学父亲的 DNA, 而增加了生物学母亲的 DNA 分型, 可推断出父亲部分基因座传递给孩子的等位基因, 由此可见庄某在 D2S441、FGA、D22S1045、D10S1248、D15S659、D18S535、D5S2500 均无法提供给李某必须的等位基因, 排除两者之间的生物学母女关系。

在出现无法给出确切结论的亲缘关系鉴定中, 均为男性的鉴定可增加父系遗传关系 (Y-STR 检验) 的检验, 观察被鉴定人是否来源于同一父系家族, 以考虑被鉴定人是否隐瞒近亲关系。有女性参

与的鉴定,相比 X-STR 检验,更推荐增加线粒体 SNP 的检测,能更好的反应母系遗传关系^[10-11]。本案中庄某与李某在 16 个 X-STR 基因座的检验中,有两个基因座两者无相同等位基因,无法判断两者有无亲缘关系,但在 59 个线粒体 SNP 检验中,庄某与李某检验结果均一致,能明确的判断出两者来源于同一母系家族。

目前,叔侄、姑侄、舅甥、姨甥等复杂亲缘关系(广义的叔侄关系)在司法鉴定业务中并未有明确的规范,本文旨在为复杂亲缘关系鉴定提供思路和方法,为规范复杂亲缘关系鉴定提供研究依据。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

[1] 陆惠玲,孙宏钰,欧雪玲,等.叔侄指数计算方法[J].法医学杂志,2011,27(6):421-424. DOI:10.3969/j.issn.1004-5619.2011.06.006.

[2] 陈子翔,王福振,陆惠玲,等.判别函数在同胞鉴定中的应用[J].中国法医学杂志,2012,27(2):129-132. DOI:10.3969/j.issn.1001-5728.2012.02.011.

[3] 袁丽,任贺,李运丽,等.IBS法在全同胞和无关个体鉴定中的应用[J].中国法医学杂志,2020,35(5):495-498. DOI:10.13618/j.issn.1001-5728.2020.05.010.

[4] 马冠车,李淑瑾.CIBS在不同亲缘关系中概率分布的计算及其应用[J].法医学杂志,2021,37(3):372-

377. DOI:10.12116/j.issn.1004-5619.2020.500311.

[5] 中华人民共和国国家标准.亲权鉴定技术规范:GB/T 37223-2018[S].北京:中国标准出版社,2018:12.

[6] 中华人民共和国司法部.生物安全同胞关系鉴定技术规范:SF/T 0117-2021[S].2021:11.

[7] 陆惠玲,杨庆恩.用 ITO 法计算两个体间的血缘关系机会[J].中国法医学杂志,2002(3):188-191. DOI:10.3969/j.issn.1001-5728.2002.03.039.

[8] 陆惠玲,周科伟,吕德坚,等.ITO法和判别函数法在同胞关系鉴定中的应用[J].法医学杂志,2009,25(2):118-122. DOI:10.3969/j.issn.1004-5619.2009.02.012.

[9] Parson W, Ballard D, Budowle B, et al. Massively parallel sequencing of forensic STRs: Considerations of the DNA commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG) on minimal nomenclature requirements[J]. Forensic Sci Int Genet, 2016, 22: 54-63. DOI:10.1016/j.fsigen.2016.01.009.

[10] Zhang C, Li H, Zhao X, et al. Validation of expressmarker mtDNA-SNP60: A mitochondrial SNP kit for forensic application[J]. Electrophoresis, 2016, 37(21): 2848-2861. DOI:10.1002/elps.201600042.

[11] 王小娟,钱恩芳,刘金杰,等.Y-SNP和Mt-SNP单倍群研究及法医学应用[J].刑事技术,2020,45(3):229-234. DOI:10.16467/j.1008-3650.2020.03.002.

(收稿日期 2023-3-17)

(本文编辑:石俊强)

本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计。应交待统计要就设计的名称和主要做法,如调查设计具体类型;实验设计类型等。主要围绕着 4 个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明,尤其是要交待如何控制非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述。用 $(\bar{x} \pm s)$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 M(QR) 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,须合理安排纵横坐标,并将数据的意义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数字原则;用相对数时,分母不宜小于 20,须注意区分百分率与百分比。

3. 统计学分析方法。对于定量或定性资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选择合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验、单因素方差分析或 χ^2 检验;对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型;对具有重复实验数据的回归分析资料,不应简单化处理,对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计学分析方法,以便对因素之间的交互作用和对指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的表达。当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$) 时,应说明对比组之间的差异有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别;应写明所用统计学分析方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 t 值, x 值, F 值等),应尽可能给出具体的 P 值;当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部