

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.01.030

· 法医学 ·

四川省夹江县人群 18 个 STR 位点的遗传多态性*

王 乐¹ 赵兴春^{1△} 张 建¹ 陈 婷² 王邦义¹ 白 雪¹ 叶 健¹

(1 公安部物证鉴定中心 北京 100038; 2 山西医科大学法医学院 山西 太原 030001)

摘要 目的:利用 DNATyper™19 试剂盒研究 18 个短串联重复序列(Short Tandem Repeat, STR)位点(D5S818、D21S11、D7S820、CSF1PO、D2S1338、D3S1358、vWA、D8S1179、D16S539、Penta E、TPOX、TH01、D19S433、D18S51、FGA、D6S1043、D13S317、D12S391)在四川省夹江县人群中的基因频率分布和群体遗传学参数,并计算 DNATyper™19 试剂盒的相关技术参数。**方法:**利用血卡直接作为模板,采用 PCR 扩增和毛细管电泳检测技术对 226 名个体的 18 个 STR 基因座进行分析,并使用 PowerStatsV12 软件统计分析。**结果:**共检出 202 种等位基因,基因频率分布在 0.002~0.527 之间。18 个 STR 基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$),杂合度均不低于 0.633,随机匹配概率均不低于 0.018,个人识别能力均不小于 0.790,多态信息含量均不小于 0.56,非父排除概率均不小于 0.332,典型父权指数均不小于 1.36。**结论:**本文研究了四川省夹江县人群 18 个 STR 位点的遗传多态性,为人类群体遗传学及法医学后续研究提供详实可靠的基础数据。DNATyper™19 试剂盒的累积随机匹配概率达到 3.477×10^{-22} ,累积非父排除概率为 0.999999974。

关键词:法医遗传学;DNATyper™19;STR;遗传多态性

中图分类号:DF795;D919 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)01-126-05

Genetic Polymorphism of 18 Short Tandem Repeat Loci in Jiajiang County of Sichuan Province*

WANG Le¹, ZHAO Xing-chun^{1△}, ZHANG Jian¹, CHEN Ting², WANG Bang-yi¹, BAI Xue¹, YE Jian¹

(1 Institute of forensic science, ministry of public security, Beijing, 100038, China;

2 Shanxi medical university, school of forensic medicine, Taiyuan, Shanxi, 030001, China)

ABSTRACT Objective: The aim of this study was to determine the allele frequencies and population genetic parameters of 18 STR (short tandem repeat) loci (D5S818, D21S11, D7S820, CSF1PO, D2S1338, D3S1358, vWA, D8S1179, D16S539, Penta E, TPOX, TH01, D19S433, D18S51, FGA, D6S1043, D13S317, and D12S391) in Jiajiang county of Sichuan province and to calculate the technical parameters of the DNATyper™19 kit. **Methods:** PCR amplification using blood as template directly and capillary electrophoresis technologies were employed to determine the genotypes of 18 STR loci for 226 individuals. PowerStatsV12 software was used for analysis and statistics. **Results:** 202 alleles were recognized, with frequencies ranging from 0.002 to 0.527. No departures from Hardy-Weinberg expectations were detected for all 18 loci studied ($P > 0.05$). The statistical analysis of 18 STR loci showed the heterozygosity ≥ 0.633 , the matching probability ≥ 0.018 , the discrimination power ≥ 0.790 , the polymorphic information content ≥ 0.56 , the probability of paternity exclusion ≥ 0.332 , and the typical paternity index ≥ 1.36 . **Conclusion:** This work studied the genetic polymorphism of 18 short tandem repeat loci in Jiajiang county of Sichuan province providing pronounced basic data for subsequent human population genetic and forensic DNA research work. The cumulative matching probability of the DNATyper™19 kit reaches 3.477×10^{-22} , while its cumulative excluding probability of paternity is 0.999999974.

Key words: Forensic genetics; DNATyper™19; STR; Genetic polymorphism

Chinese Library Classification(CLC): DF795; D919 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)01-126-05

前言

短串联重复序列(short tandem repeats, STR)是广泛存在于人类基因组中的一类具有高度多态性的遗传学标记^[1-3],常用于

基因图谱人类遗传学和法医学研究^[4-6]。其等位基因频率具有地区差异性,不同地区相同 STR 位点的等位基因分布可能存在显著差异。DNATyper™19 是由公安部物证鉴定中心研制推出的商业化试剂盒,是 DNATyper™15 试剂盒的更新换代产品^[7-10],

* 基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费重大项目(2012JB001)

作者简介:王乐(1983-),男,博士,主检法医师,主要从事法医 DNA 相关试剂研究与开发工作,E-mail:wangle_02@163.com

△ 通讯作者:赵兴春(1974-),男,主任法医师,主要从事法庭科学产品研究与开发工作,E-mail:zhaoxchun@sina.com

(收稿日期:2014-07-06 接受日期:2014-07-29)

采用五色荧光技术(FAM 蓝色、HEX 绿色、TAMRA 黄色、ROX 红色、分子量内标标记为橙色),可以同时扩增和检测 18 个 STR 基因座以及 Amelogenin 性别基因座。

本文调查了四川省夹江县人群 18 个 STR 位点的遗传多样性,并报道 DNATyper™19 试剂盒的相关技术参数。

1 对象与方法

1.1 样本

血液样本随机采自四川省夹江县 226 名无关个体,以滤纸血卡形式保存。

1.2 PCR 扩增

按照 DNATyper™19 试剂盒推荐的反应体系和条件进行扩增。总反应体积 10 μ L,含 2 $\times$ PCR 反应液 5 μ L,直径 1.0 mm 血卡一片,加石蜡油 10 μ L 覆盖液面。用 ABI9700 型 PCR 仪扩增,热循环参数为:(1)95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,(2)94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,(3)59 $^{\circ}$ C 退火 2 min,(4)72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,(2)-(4)循环 29 次,72 $^{\circ}$ C 保温 60 min,4 $^{\circ}$ C 长期保存。

1.3 电泳与检测

用 ABI3730xl 遗传分析仪进行毛细管电泳及检测。1 μ L 扩增产物和 0.3 μ L 内标稀释于 20 μ L 去离子甲酰胺中,混匀后 95 $^{\circ}$ C 温浴 5 min,迅速转移至 -20 $^{\circ}$ C 放置 5 min,使 DNA 解链。电泳条件为:进样电压 15000V,进样时间 6 s。

1.4 统计学处理方法

采用美国 Promega 公司 PowerStatsV12 软件统计基因频

率^[1],并计算杂合度、个体识别能力、多态信息含量和非父排除概率等法医遗传学参数。应用 Hardy-Weinberg 平衡软件对各个基因座的基因型数据进行 χ^2 检验^[2]。

2 结果

2.1 等位基因频率

18 个 STR 基因座在四川省夹江县 226 名无关个体中共检出 202 种等位基因,基因频率分布在 0.002~0.527 之间(表 1)。对其观察值和期望值进行检验,结果表明各位点的基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P>0.05$),说明该群体调查资料具有可靠性和科学性。

2.2 法庭科学参数与亲权鉴定参数

四川省夹江县人群 18 个 STR 基因座的杂合度、匹配概率、个人识别能力、多态信息含量、非父排除概率和典型父权指数等群体遗传学指标见表 2。18 个位点的杂合度均在 0.633~0.929 之间,匹配概率均在 0.018~0.210 之间,累积随机匹配概率达到 3.477×10^{-22} (表 3),优于 DNATyper™15 试剂盒四个数量级。个人识别能力均不小于 0.790,多态信息含量均不小于 0.56。非父排除概率均在 0.332~0.855 之间,累积非父排除概率为 0.99999974,显著优于 DNATyper™15 试剂盒。以上统计学数据表明:18 个位点中 Penta E 基因座最适于对四川省夹江县人群进行人类个体识别分析^[3],而 TPOX 和 TH01 基因座的个体识别能力相对较差。

表 1 18 个 STR 基因座的等位基因频率(n=226)

Table 1 Allele frequencies of 18 short tandem repeat loci (n=226)

D5S818		D21S11		D7S820		CSF1PO		D2S1338		S3S1358	
Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency
7	0.022	26	0.002	8	0.133	7	0.004	16	0.018	13	0.002
8	0.004	28	0.040	9	0.071	8	0.007	17	0.064	14	0.038
9	0.062	28.2	0.011	9.1	0.004	9	0.027	18	0.106	15	0.343
10	0.190	29	0.271	10	0.162	10	0.263	19	0.144	16	0.334
11	0.319	29.2	0.004	10.1	0.002	11	0.281	20	0.144	17	0.219
12	0.268	30	0.231	11	0.352	12	0.342	21	0.018	18	0.058
13	0.126	30.1	0.002	12	0.228	13	0.067	22	0.062	19	0.007
14	0.007	30.2	0.009	13	0.040	14	0.007	23	0.223		
15	0.002	30.3	0.002	14	0.009	15	0.002	24	0.148		
		31	0.078					25	0.060		
		31.2	0.082					26	0.011		
		32	0.029					27	0.002		
		32.2	0.171								
		33	0.007								
		33.2	0.047								
		34.2	0.013								
vWA		D8S1179		D16S539		Penta E		TPOX		TH01	
Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency
14	0.215	10	0.0104	8	0.015	5	0.051	7	0.002	5	0.002
15	0.022	11	0.091	9	0.250	6	0.002	8	0.527	6	0.088
16	0.186	12	0.117	10	0.117	7	0.007	9	0.106	7	0.288
17	0.272	13	0.215	11	0.308	8	0.004	10	0.033	8	0.069

18	0.199	14	0.157	12	0.195	9	0.009	11	0.299	9	0.498
19	0.086	15	0.212	13	0.102	10	0.055	12	0.033	9.3	0.035
20	0.020	16	0.069	14	0.013	11	0.155			10	0.020
		17	0.031			12	0.124				
		18	0.004			13	0.060				
						14	0.093				
						15	0.091				
						16	0.080				
						17	0.046				
						18	0.064				
						19	0.073				
						20	0.033				
						21	0.022				
						22	0.015				
						23	0.013				
						24	0.002				
D19S433		D18S51		FGA		D6S1043		D13S317		D12S391	
Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency	Allele	Frequency
11.2	0.002	11	0.004	18	0.004	8	0.002	7	0.002	15	0.013
12	0.042	12	0.046	19	0.038	10	0.031	8	0.294	16	0.002
12.2	0.004	13	0.181	20	0.058	11	0.115	9	0.159	17	0.100
13	0.299	14	0.204	21	0.108	12	0.126	10	0.144	18	0.223
13.2	0.046	15	0.188	21.2	0.002	13	0.144	11	0.232	19	0.201
14	0.232	15.2	0.002	22	0.168	14	0.142	12	0.128	20	0.170
14.2	0.113	16	0.113	22.2	0.002	15	0.0118	13	0.035	21	0.128
15	0.060	17	0.077	22.3	0.002	16	0.002	14	0.004	22	0.077
15.2	0.142	18	0.038	23	0.221	17	0.027			23	0.051
16	0.013	19	0.058	23.2	0.009	18	0.146			24	0.018
16.2	0.033	20	0.029	24	0.188	18.2	0.002			25	0.011
17.2	0.009	21	0.027	24.2	0.015	19	0.170			26	0.002
18	0.002	22	0.018	25	0.128	20	0.066			27	0.002
18.2	0.002	23	0.009	25.2	0.002	20.3	0.002				
		24	0.004	26	0.038	20	0.007				
				26.2	0.002						
				27	0.004						
				28	0.004						
				29	0.004						

表 2 18 个 STR 基因座的法庭科学及亲权鉴定参数(n=226)

Table 2 Forensic and paternity parameters for 18 short tandem repeat loci (n = 226)

Locus	Heterozygosity	法庭科学参数			亲权鉴定参数	
		Forensic parameter			Paternity parameter	
		Matching probability	Discrimination power	Polymorphic information content	Probability of paternity exclusion	Typical paternity index
D5S818	0.717	0.090	0.910	0.73	0.455	1.77
D21S11	0.818	0.050	0.950	0.080	0.632	2.74
D7S820	0.743	0.085	0.915	0.74	0.498	1.95
CSF1PO	0.732	0.127	0.873	0.68	0.480	1.87

D2S1338	0.858	0.036	0.964	0.85	0.712	3.53
D3S1358	0.730	0.135	0.865	0.67	0.476	1.85
vWA	0.805	0.074	0.926	0.77	0.609	2.57
D8S1179	0.819	0.045	0.955	0.83	0.634	2.76
D16S539	0.810	0.089	0.911	0.75	0.617	2.63
Penta E	0.929	0.018	0.982	0.91	0.855	7.06
TPOX	0.642	0.210	0.790	0.56	0.344	1.40
TH01	0.633	0.165	0.853	0.60	0.332	1.36
D19S433	0.867	0.060	0.940	0.79	0.729	3.77
D18S51	0.850	0.034	0.966	0.85	0.694	3.32
FGA	0.841	0.038	0.962	0.84	0.677	3.14
D6S1043	0.867	0.032	0.968	0.86	0.729	3.77
D13S317	0.801	0.073	0.927	0.77	0.601	2.51
D12S391	0.841	0.044	0.956	0.83	0.677	3.14

表 3 DNATyper™15 试剂盒与 DNATyper™19 试剂盒技术参数比较

Table 3 Comparison of technical parameters between the DNATyper™15 and DNATyper™19 kits

	DNATyper™15	DNATyper™19
Number of STR loci	14	18
Cumulative matching probability	2.66×10^{-18}	3.477×10^{-22}
Cumulative excluding probability of paternity	0.9999997	0.999999974

3 讨论

由于 STR 基因座在群体之间和群体内部的异质性水平较高,地理因素在遗传学多样性形成中的作用比语言因素要更显著^[14,15],所以在将 STR 用于人类群体学研究、法医个体识别和亲权鉴定时,必须对该群体进行多态性调查。本文中 18 个 STR 基因座在四川省夹江县人群中基因频率分布均匀,表现出高度多态性,符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。Gin 等^[16,20]认为 $DP \geq 0.9$, $H \geq 0.7$ 的基因座具有高鉴别力。按此标准,本研究中的 14 个基因座 D5S818、D21S11、D7S820、D2S1338、vWA、D8S1179、D16S539、Penta E、D19S433、D18S51、FGA、D6S1043、D13S317、D12S391 属于高鉴别力、高杂合度的基因座。

参考文献(References)

- [1] Butler JM. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing[J]. Biotechniques, 2007, 43(4)
- [2] Gill P. Role of short tandem repeat DNA in forensic casework in the UK--past, present, and future perspectives[J]. Biotechniques, 2002, 32(2): 366, 370, 372, passim
- [3] Tracey M. Short tandem repeat-based identification of individuals and parents[J]. Croat Med J, 2001, 42(3): 233-238
- [4] Hans Ellegren. Microsatellites: simple sequences with complex evolution[J]. Nature, 2004, 5(6): 435-445
- [5] Dunham I, Shimizu N, Roe BA, et al. The DNA sequence of human chromosome 22[J]. Nature, 1999, 402(6761): 489-495
- [6] International Human Genome Sequencing Consortium, Finishing the euchromatic sequence of the human genome [J]. Nature, 2004, 431: 931-945
- [7] 叶健, 姜成涛, 赵兴春, 等. DNATyper™15 与 Identifiler™试剂盒遗传学调查应用比较[J]. 中国法医学杂志, 2008, 23(4): 223-225

Ye Jian, Jiang Chen-tao, Zhao Xing-chun, et al. Genetic study of DNATyper™15 and Identifiler™ kits in Chinese Han populations [J]. Chin J Forensic Med, 2008, 23(4): 223-225

- [8] 赵兴春, 姜成涛, 叶健, 等. DNATyper™15 试剂盒的法医学应用研究[J]. 中国法医学杂志, 2008, 23(3): 169-171
- [9] 姜成涛, 叶健, 赵兴春, 等. DNATyper™15 试剂盒的确证试验[J]. 中国法医学杂志, 2008, 23(2): 73-81
- [10] 张建, 姜成涛, 赵兴春, 等. DNATyper™15 试剂盒直接扩增检验纸质样本的研究[J]. 刑事技术, 2011, 4: 33-35
- [11] Antoinette A. Westen, Hinda Haned, Laurens J. W. Grol, et al. Combining results of forensic STR kits: HDplex validation including allelic association and linkage testing with NGM and Identifiler loci [J]. International Journal of Legal Medicine, 2012, 126(5): 781-789
- [12] Raymond M, F Rousset. GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism [J]. J Hered, 1995, 86(3): 248-283
- [13] 白雪, 姜成涛, 赵兴春, 等. 应用 DNATyper™15TM Direct 试剂盒对河南地区汉族人群 14 个基因座遗传多态性的调查[J]. 刑事技术, 2012, 2: 32-34
- [14] Bai Xue, Jiang Cheng-tao, Zhao Xing-chun, et al. The application of DNATyper™15 kit in the DNA database construction [J]. Forensic

- science and technology, 2012, 2: 32-34
- [14] Mitchell, Robert John. Y-chromosomal diversity in Europe is clinical and influenced primarily by geography, rather than by language[J]. American Journal of Human Genetics, 2000, 67: 1526-1543
- [15] Nuno M. Silva, Lu??sa Pereira, Estella S. Poloni, et al. Human Neutral Genetic Variation and Forensic STR Data [J]. PloS ONE, 2012, 7 (11). e49666
- [16] Gill P, Urquhart A, Millican E, et al. A new method of STR interpretation using inferential logic--development of a criminal intelligence database[J]. Int J Legal Med, 1996, 109(1): 14-22
- [17] 纪凤卿, 滕菁, 赖力, 等. 福州地区汉族群体 15 个 STR 基因座遗传多态性研究[J]. 中国医药科学, 2013, 3(17): 14-16, 32
- Ji Feng-qin, Teng Jing, Lai Li, et al. A study on genetic polymorphism of 15 STR loci in Fuzhou Han population [J]. China Medicine and Pharmacy, 2013, 3(17): 14-16, 32
- [18] 刘建兴, 秦洁, 景强, 等. 云南布朗族群体 15 个 STR 基因座遗传多态性研究[J]. 昆明医学院学报, 2007, 2 (28): 1-5
- Liu Jian-xing, Qin Jie, Jing Qiang, et al. Polymorphism Investigation on 15 STR Loci of Yunnan Bulang Nationality[J]. Journal of Kunming Medical College, 2007, 2(28): 1-5
- [19] 杨昭庆, 褚嘉祐. 中国人类遗传多样性研究进展[J]. 遗传 (北京), 2012, 34(11): 1351-1364
- Yang Zhao-qing, Chu Jia-you. The research progress of human genetic diversity in China[J]. HEREDITAS (Beijing), 2012, 34(11): 1351-1364
- [20] 薛天羽, 成建定, 张晋湘, 等. 华南地区汉族群体 15 个 STR 基因座的遗传多态性调查[J]. 中山大学学报 (医学科学版), 2009, 30(3S): 45-50
- Xue Tian-yu, Cheng Jian-ding, Zhang Ji-xiang, et al. Genetic Polymorphisms of 15 STR Loci for a Chinese Population in South China Using PowerPlexTM16 kits [J]. Journal of Sunyat-sen University (Medical Sciences), 2009, 30(3S): 45-50

· 重要信息 ·

热烈祝贺本刊名誉主编阮长耿教授荣获 “法国医学科学院塞维雅奖”!

近日,“第四届中法医学研讨会”在中国西安盛大召开,会议公布了“法国医学科学院塞维雅奖”获奖名单。本刊《现代生物医学进展》名誉主编、中国工程院院士、苏州大学博士生导师阮长耿教授凭借其多年来对血液疾病的研究以及中法医学科学合作交流等方面的杰出贡献而获此殊荣,这对我国医学科学事业的发展具有重要意义。

“法国医学科学院塞维雅奖”于 2013 年设立,每年评选一次,由法国医学科学院院士在法国投票评选终定,用以表彰在中国医学科学技术及管理领域有重要发现、发明,并有显著应用成效的科学家,以及为中法医学科学合作交流做出杰出贡献的科技工作者。

阮长耿,1939 年生于上海,1979-1981 年赴法国进修期间,首次发现并从事国际上第一株抗人血小板单克隆抗体的研究工作,学成回国后建立了我国第一个血栓与止血研究室,1983 年,阮院士成功研制了我国第一组抗人血小板膜糖蛋白单克隆抗体,随后又成功研制了“苏州系列”单克隆抗体,并且其中 5 株单抗已被确认为国际血小板研究试剂。