

597例亲权鉴定案例中20个STR基因座的应用分析

袁秀冰

广东链信司法鉴定所

DOI:10.12238/bmtr.v7i3.14462

[摘要] 目的: 观察和分析MicroreaderTM 21 Direct ID System6色荧光标记复合扩增试剂所检测的20个短串联重复序列基因座在亲权鉴定案件中的发生的各类情况,并探讨该复合扩增分型系统在亲权鉴定中的实践意义。方法: 收集2024年10月至2025年4月597例亲权鉴定案例的1277份血液样本,对血液样本进行提取DNA、复合扩增STR基因座、毛细管电泳分型。结果: 20个短串联重复序列基因座复合扩增分型系统具有较高的非父排除效能,对日常遇到的亲权鉴定能够达到需求。由于短串联重复序列基因座突变是比较普遍出现的情况,遇到累积父权指数不足10000或者考虑近亲关系等特殊情况的时候需要增加检测短串联重复序列基因座或者通过测序等方法从而保证鉴定意见的准确性。结论: 597例亲权鉴定仅有15例需要增加检测短串联重复序列基因座才能获得肯定性的鉴定意见。并且为了减少二联体亲权鉴定的风险,可采取增加常染色体STR基因座数量、让另一方的亲属进行采样、运用测序方法等进行鉴定。

[关键词] 法医物证学; 亲权鉴定; STR基因座突变; 近亲关系

中图分类号: R89 文献标识码: A

Application analysis of 20 STR loci in 597 cases of parental identification

Xiubing Yuan

Guangdong Chainxin Judicial Appraisal Institute

[Abstract] Objective: To observe and analyze the various situations of 20 short tandem repeat (STR) loci detected by MicroreaderTM 21 Direct ID System6 color fluorescent labeled composite amplification reagent in paternity cases, and to explore the practical significance of this composite amplification typing system in paternity testing. Methods: A total of 1277 blood samples from 597 paternity cases collected between October 2024 and April 2025 were used. DNA was extracted from the blood samples, followed by composite amplification of STR loci and capillary electrophoresis typing. Conclusion: The composite amplification typing system for 20 STR loci demonstrates high non-paternity exclusion efficiency, meeting the needs of routine paternity testing. Given that mutations in STR loci are relatively common, it is necessary to increase testing of STR loci or use sequencing methods when the cumulative paternity index falls below 1000 or when close kinship is suspected to ensure the accuracy of the test results.

[Key words] forensic science; paternity testing; STR locus mutation; consanguinity

法医物证学中的亲权鉴定分为两种,一种是被检测男子(或女子)与孩子,称为二联体亲权鉴定;另一种是被检测男子(或女子)、孩子生母(或生父)与孩子,称为三联体亲权鉴定。按目前最新适用的GB/T37223-2018《亲权鉴定技术规范》,亲权鉴定的鉴定意见主要由一定数量的常染色体的STR基因座所计算的遗传标记系统的排除概率、亲权指数而形成。短串联重复序列(short tandem repeats, STR)是一种微卫星DNA,90年代中期后,逐渐过渡到应用PCR技术分析微卫星STR基因座的多态性,即STR分型技术,该技术充分发挥了PCR技术的高灵敏度和STR基因座

高多态性的优势,使得法医DNA分析实现了高效、灵敏和快速的目标。如今,STR分型已成为法医物证鉴定的常规技术。

本研究收集2024年10月至2025年4月597例亲权鉴定案例的1277份血液样本,对血液样本进行提取、复合扩增、毛细管电泳分型,观察和分析20个STR基因座在亲权鉴定案件中出现的各类情况,并探讨该复合扩增分型系统在亲权鉴定中的实践意义。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究中采用2024年10月至2025年4月597例亲权鉴定案

例的1277份血液样本,均来自广东链信司法鉴定所的日常工作检案。

1.2 检测方法

案例所采的血样全部通过FTA卡法获得DNA,再使用Microreader™ 21 Direct ID System 6色荧光标记复合扩增试剂盒[苏州阅微基因技术股份有限公司]扩增体系在9700型PCR扩增仪进行20个常染色体(D19S433、D5S818、D21S11、D18S51、D6S1043、D3S1358、D13S317、D7S820、D16S539、CSF1PO、Penta D、D2S441、vWA、D8S1179、TPOX、Penta E、TH01、D12S391、D2S1338、FGA)及1个性染色体的STR基因座(Amelogenin)扩增,而后使用ABI-3100基因测序仪进行毛细管电泳并使用GeneMapper ID-X 1.5软件处理电泳数据后得出STR基因座分型。

1.3 统计学方法

案例根据亲权鉴定技术规范(GB/T 37223-2018)计算亲权指数(PI)和累积亲权指数(CPI)。本研究对597例亲权鉴定进行分析统计,包括鉴定意见为“排除”的时候,统计是否为多个STR基因座排除基座的突变概率;鉴定意见为“支持”的时候,对发生STR基因座突变或其它特殊情况时进行分析。

2 结果

2.1 鉴定案例的排除情况

在597例亲权鉴定案件中,鉴定意见为“排除”的占19例,即占3.18%,当中分别为2例三联体亲权鉴定和17例二联体亲权鉴定,均为多个STR基因座排除,且都在3个STR基因座以上。经统计,本研究应用的STR复合扩增体系中没有位点未在排除基因座内。

2.2 鉴定案例的支持情况

在597例亲权鉴定案件中,鉴定意见为“支持”的占578例,即占96.82%,其中三联体亲权鉴定有493例、二联体亲权鉴定有85例。578例当中,有11例发生STR基因座突变的情况,而这11例中又包括10例发生STR基因座突变的情况且CPI<10000、1例发生STR基因座突变的情况但CPI>10000;有4例没有出现STR基因座突变的情况但CPI<10000。

2.2.1 STR基因座突变分析

11例的STR基因座突变情况分析观察到在20个常染色体基因座中的6个位点(D5S818、D18S51、CSF1PO、vWA、Penta E、D12S391)发生11次突变,在14个位点(D19S433、D21S11、D6S1043、D3S1358、D13S317、D7S820、D16S539、Penta D、D2S441、D8S1179、TPOX、TH01、D2S1338、FGA)中没有发生突变。11例的STR基因座突变情况中,一步突变出现10次,表现为6次减少1个重复序列,3次增加1个重复序列,1次不确定增加或者减少1个重复序列;两步突变出现1次,变现为减少2个重复序列。本研究的11例的STR基因座突变情况中,经统计得出有10次突变来源于父系,1次突变不能确定来源于母系或者父系,没有突变能确认来源于母系。因此本研究当中的11例STR基因座突变情况中父源突变发生的频率显著高于母源突变的发生。

11例的STR基因座突变情况中,有1例是二联体亲权鉴定,该

案例观察到在D12S391基因座中,发生了一步突变,变现为减少1个重复序,但是20个STR基因座的CPI>10000。由于二联体亲权鉴定是对被检测男子(女子)与孩子是否存在亲子关系的判定,但是缺乏父母中一方的遗传信息,鉴定过程中存在许多不确定性,其鉴定意见的准确性常常受到质疑。^[1]特别是二联体亲权鉴定需要特别注意近亲关系的影响,在考虑叔侄、姑侄、姨甥、祖孙、半同胞这五种近亲血缘关系干扰影响,当检出1、2、3个不符合孟德尔遗传定律的常染色体STR基因座时,检测基因座总数应增加至24、35、43个^[2]。因此该案例虽然CPI>10000,但是由于出现了1个STR基因座发生突变,因此需增加检测STR基因座总数至少为24个才能保证鉴定意见的准确性。

将该案例再使用Microreader™ 23SP Direct ID System (V3.1) 6色荧光标记复合扩增体系进行复合扩增样本,结合使用Microreader™ 21 Direct ID System 6色荧光标记复合扩增试剂盒所检测的常染色体STR基因座,得出共39个常染色体基因座中仅有D12S391基因座发生了一步突变,经计算,其CPI>10000,鉴定意见为支持该被检测男子为该孩子的生物学父亲。

2.2.2 累积父权指数小于10000

父权指数(paternity index, PI)是亲权关系鉴定中判断遗传证据强度的指标,它是判断亲子关系所需的两个条件概率的似然比,多个遗传标记用于亲权鉴定时,若父权不能否定,由每一个遗传标记获得的父权指数需单独计算,设每个遗传标记的父权指数分别为 $PI_1, PI_2, PI_3, \dots, PI_n$, n 个遗传标记的父权指数相乘则为累积父权指数(combined paternity index, CPI)。根据亲权鉴定技术规范(GB/T 37223-2018),CPI需要大于10000才能支持被检测男子(女子)是孩子的生物学父亲(母亲)。

在本研究中,鉴定意见为“支持”的占578例,有4例没有出现STR基因座突变的情况但CPI<10000,本研究中的20个STR基因座具有较高遗传多态性,获得的综合群体的遗传多态性数据是目前采样地域范围最为广泛、研究基因座位最多、研究群体数量最大的调查结果,但是不能排除与各省/区之间抽样的数量、地域分布等因素的局限性所致^[3],也可能是由于二联体亲权鉴定缺乏父母中一方的来源。而参与检测的样本的STR基因座分型频率在人群中比较高,因此该4例案子均不能判断其被检测男子(女子)是否孩子的生物学父亲(母亲),需要增加检测STR基因座的数量。

将该4个案例的所采的血样再使用Microreader™ 23SP Direct ID System (V3.1) 6色荧光标记复合扩增体系进行复合扩增,结合使用Microreader™ 21 Direct ID System 6色荧光标记复合扩增试剂盒所检测的常染色体STR基因座,得出共39个常染色体基因座均未出现突变情况,经计算所得的CPI均大于10000,鉴定意见为支持被检测男子(女子)是孩子的生物学父亲(母亲)。

3 讨论

本研究采用Microreader™ 21 Direct ID System 6色荧光标记复合扩增试剂检测体系进行检测,597例亲权鉴定案例

中, 19例亲权鉴定案例鉴定意见为“排除”, 其余的578例亲权鉴定案例鉴定意见为“支持”, 578例亲权鉴定案例中仅15例需要增加Microreader™ 23SP Direct ID System(V3.1)6色荧光标记复合扩增试剂检测体系后进行认定, 占比仅为2.51%, 提示Microreader™ 21 Direct ID System6色荧光标记复合扩增试剂检测体系能够满足日常的亲权鉴定需求, 只有在个别特殊情况下才需要使用另外的复合扩增试剂检测体系去增加检测的STR基因座。

STR基因座是目前最常用的亲权鉴定遗传标记, STR突变使亲权鉴定面临错判的风险。复制滑动是形成STR多态性的原因之一, 也是STR基因座基因突变的主要原因。复制滑动突变多表现为等位基因增加一个或减少一个重复序列, 这种只涉及一个重复序列的增加或者减少的突变称为一步突变, 大约占STR基因座突变的90%。本研究中有11例亲权鉴定案例发生STR基因座突变, 其中一步突变有10例, 大约占90.9%, 符合STR基因座突变的占比规律; STR基因座突变又与性别有关, 一般规律是父方基因突变比母方发生的几率高, 本研究中有10例STR基因座突变来源于父亲, 有1例STR基因座突变不能确认来源于父亲或母亲, 突变来源于父亲的频率显著高于来源于母亲; 本研究中D12S391出现4次突变情况, 为20个STR基因座中突变频率最高的。在一项对197个丹麦人的研究中, 通过NGS分析得到D12S391具有53个不同的等位基因, 而许多等位基因有相同的长度, 但在重复序列中由不同的碱基构成, 甚至有的STR基因座重复序列内部多有变异, 应

用常规的STR分型技术得到的两个个体STR分型一致的结果, 但实际上两者基因序列是存在差异的, 此时, 唯有通过DNA测序技术才能鉴别, 从而使鉴定结果获得准确性。

在实际工作中, 遇到的二联体亲权鉴定要比三联体亲权鉴定要多, 但是由于二联体亲权鉴定缺乏父母中一方的基因分型, 且检测的STR基因座重复序列长度虽没增加或者减少, 但内部多有变异, 为了减少二联体亲权鉴定的风险可采取以下方法: (1) 增加常染色体STR基因座数量, 在遇到发生STR基因座突变时, 或者遇到可能存在近亲血缘关系干扰影响时, 确保鉴定意见的准确性。(2) 在增加常染色体STR基因座检测数量后, 仍不能得出明确的鉴定意见时, 需让另一方的亲属进行采样, 依次进行二联体、三联体的亲权鉴定。(3) 在不能进行三联体亲权鉴定时, 采取测序方法进行鉴定。

[参考文献]

[1]吴婕, 杨金龙, 熊新. 二联体亲权鉴定风险分析[J]. 中国法医学杂志, 2017, 32(3): 269.

[2]郭剑章, 刘雅诚. 从近亲干扰角度对亲缘鉴定标准的研究[D]. 山西医科大学硕士学位论文, 2011(05): 9.

[3]吴微微, 刘冰, 郝宏蕾. 中国28个省/区汉族人群41个STR基因座多态性数据分析[J]. 中国法医学杂志, 2016, 31(1): 32.

作者简介:

袁秀冰(1995--), 女, 汉族, 广东东莞人, 本科, 法医临床学、法医学物证学。