

Y-STR 遗传标记在大家系中的突变

彭珊¹, 刘超^{2,3}, 王瑛¹, 李越^{2,3}, 张楚楚¹, 洪丽¹, 欧雪玲¹, 孙宏钰¹

(1. 中山大学中山医学院法医学系, 广东 广州 510080; 2. 广东省法医遗传学重点实验室, 广东 广州 510030; 3. 广州市刑事科学技术研究所, 广东 广州 510030)

摘要: 目的 调查大家系中 Y-STR 基因座在减数分裂等位基因传递过程中的突变现象。方法 收集一个林姓父系家系的 163 个男性个体口腔拭子样本, 采用 AGCU Y24 荧光检测试剂盒 (AGCU Y24 体系) 进行 22 个 Y-STR 遗传标记分型。AGCU Y24 体系包含 Yfiler™ 复合扩增试剂盒 (Yfiler 体系) 的全部 16 个 Y-STR 遗传标记。比较该家系内男性个体两两之间的 Y-STR 分型差异。结果 该林姓家系 163 个男性个体在 Yfiler 和 AGCU Y24 体系分别获得 20 和 30 种单倍型, 男性个体两两之间单倍型差异率分别为 0.9105 和 0.9227, 平均遗传标记差异数目分别为 6.5821 个和 9.8248 个。男性个体两两之间的单倍型差异率随着减数分裂次数增多而增加。结论 Y-STR 突变会使同一父系男性个体的 Y-STR 基因分型产生差异, 随着减数分裂次数增多差异增加。

关键词: 法医遗传学; 突变; 遗传标记; Y-STR; 家系

中图分类号: DF795.2 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1004-5619.2015.02.008

文章编号: 1004-5619(2015)02-0109-03

Mutations in a Large Pedigree with Y-STR Genetic Markers

PENG Shan¹, LIU Chao^{2,3}, WANG Ying¹, LI Yue^{2,3}, ZHANG Chu-chu¹, HONG Li¹, OU Xue-ling¹, SUN Hong-yu¹

(1. Department of Forensic Medicine, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Forensic Genetics, Guangzhou 510030, China; 3. Guangzhou Institute of Criminal Science and Technology, Guangzhou 510030, China)

Abstract: **Objective** To explore the mutation of Y-STR loci in meiotic allelic transmission in a large pedigree. **Methods** The oral swabs of 163 male individuals were collected from a Lin pedigree. Twenty-two Y-STR genetic markers were typed with AGCU Y24 fluorescent detection kit (AGCU Y24 system), which also contained 16 Y-STR markers included in Yfiler™ multiple amplification kit (Yfiler system). The genotyping results of Y-STR loci were compared between each two males in the pedigree. **Results** There were 20 and 30 kinds of haplotypes obtained with Yfiler and AGCU Y24 systems in 163 male individuals from the Lin pedigree, respectively. The rates referred to haplotype differences (RRHD) of these two typing systems between male pairs were 0.9105 and 0.9227, respectively. The average number of marker differences were 6.5821 and 9.8248, respectively. The RRHD increased along with the incidents of meiosis. **Conclusion** Y-STR mutation leads to different Y-STR haplotypes among the male members in a paternal pedigree and the rate of difference increases along with the incidents of meiosis.

Key words: forensic genetics; mutation; genetic markers; Y-STR; pedigree

Y-STR 为男性所特有, 以单倍型遗传模式从父亲传递给儿子, 因此又被称为“姓氏基因”。这一特点使得 Y-STR 在法医学个体识别和亲权鉴定中有特殊的应用价值, 在人类学研究中也有重要的作用^[1-2]。本研究对一大家系中男性样本进行 Y-STR 分型, 观察 Y-STR 遗传标记的突变现象。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81273347); 广东省科技计划项目 (2013B021500010)

作者简介: 彭珊 (1989—), 女, 湖南娄底人, 硕士研究生, 主要从事法医物证学研究; E-mail: pengshan2007@163.com

通信作者: 孙宏钰, 女, 博士, 教授, 主要从事法医物证学研究; E-mail: sunhongyu2002@163.com

1 材料与方法

1.1 样本采集

林姓父系家系的 163 个男性个体 (含 137 对父子对) 的口腔拭子样本采集自广西壮族自治区岑溪市糯垌镇县海大队林籍公第 11~16 世系的 20 个 3~4 代分支家系, 其共同最近祖先^[3]为林籍公第 2 世系。

1.2 常染色体 STR 分型

采用 Goldeneye™ 20A 试剂盒 (北京基点认知技术有限公司) 的常染色体 STR 分型进行亲子关系确认。按试剂盒说明书进行 PCR 复合扩增, 扩增产物通过 3500XL 遗传分析仪 (美国 AB 公司) 进行分离, 用

GeneMapper ID-X 进行基因分型。

1.3 Y-STR 分型

采用 AGCU Y24 荧光检测试剂盒(无锡中德美联生物技术有限公司,简称 AGCU Y24 体系)进行 22 个 Y-STR 遗传标记的分型。该体系包括 AmpF ℓ STR[®] Yfiler[™] 复合扩增试剂盒(美国 AB 公司,简称 Yfiler 体系)的全部 16 个 Y-STR 遗传标记(*DYS391*、*DYS389 I*、*DYS439*、*DYS389 II*、*DYS438*、*DYS456*、*DYS458*、*DYS437*、*DYS635*、*DYS448*、*Y_GATA_H4*、*DYS19*、*DYS392*、*DYS393*、*DYS390* 和 *DYS385a/b*),并新增 *DYS449*、*DYS527a/b*、*DYS447*、*DYS522*、*DYS388* 和 *DYS444* 共 6 个标记,其中 *DYS527a/b* 和 *DYS385a/b* 为多拷贝基因座,分别视为一个遗传标记。按照试剂盒说明书进行 PCR 复合扩增,扩增产物通过 3500XL 遗传分析仪进行分离,用 GeneMapper ID-X 进行基因分型。

1.4 统计分析

分析该林姓家系的 Y-STR 单倍型差异,计算并比较 Yfiler 体系和 AGCU Y24 体系在 163 个男性个体两两之间的单倍型差异率(the rate referred to haplotype differences,RRHD)和平均遗传标记差异数目(the average number of marker differences,ANMD)^[4]。

2 结果

2.1 突变情况

经常染色体 STR 分型结果确认了 137 对父子关系,在 *CSFIPO*、*D8S1179*、*Penta D* 和 *TH01* 基因座共检出 4 个常染色体 STR 突变事件,平均突变率为 1.5367×10^{-3} 。检出 15 个 Y-STR 突变事件,其中 *DYS439*、*DYS449*、*DYS437*、*DYS392*、*DYS385a/b* 各发生 1 例,*DYS389 II*、*DYS458* 和 *DYS444* 各 2 例,*DYS527a/b* 4 例,平均突变率为 4.9768×10^{-3} 。未检见常染色体 STR 与 Y-STR 同时突变的父子对。

2.2 各分支家系单倍型差异情况

该林姓家系 163 个男性个体在 AGCU Y24 体系中共检出 30 种 Y-STR 单倍型,在 Yfiler 体系中共检出 20 种 Y-STR 单倍型。以各分支家系中占多数的单倍型作为其代表单倍型(表 1),结果显示,第 2、4、5 和 13 家系的单倍型相同,第 8 和 18 家系的单倍型相同,第 9、10、20 家系的单倍型相同。全部个体的 *DYS391* 基因座分型全相同,其余基因座检出连续的等位基因,例如 *DYS439* 在 163 个男性个体中分型为等位基因 12 或 13,*DYS389 II* 分型为等位基因 28、29 或 30。

表 1 20 个分支家系的单倍型比较

基因座	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>DYS391</i>	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
<i>DYS389 I</i>	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12	12	12	12	12
<i>DYS439</i>	12	12	12	12	12	13	13	12	13	13	13	12	12	12	12	13	13	12	12	13
<i>DYS389 II</i>	29	29	29	29	29	28	28	30	30	30	28	29	29	28	29	28	29	30	29	30
<i>DYS438</i>	11	11	11	11	11	10	10	11	11	11	10	11	11	11	11	10	11	11	11	11
<i>DYS456</i>	15	15	15	15	15	15	15	15	14	14	15	15	15	15	15	15	15	15	15	14
<i>DYS458</i>	19	18	18	18	18	19	18	18	16	16	18	17	18	18	18	18	19	18	19	16
<i>DYS437</i>	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	14	15	15	15	15
<i>DYS635</i>	20	20	20	20	20	22	22	20	19	19	22	20	20	20	20	22	20	20	20	19
<i>DYS448</i>	20	20	20	20	20	19	19	20	20	20	19	20	20	20	20	19	20	20	20	20
<i>Y_GATA_H4</i>	12	12	12	12	12	11	11	12	12	12	11	12	12	12	12	11	12	12	12	12
<i>DYS19</i>	14	14	14	14	14	15	15	14	13	13	15	15	14	14	15	15	14	14	14	13
<i>DYS392</i>	14	14	14	14	14	13	13	14	11	11	13	14	14	14	14	13	14	14	14	11
<i>DYS393</i>	12	12	12	12	12	12	12	12	13	13	12	12	12	12	12	12	12	12	12	13
<i>DYS390</i>	23	23	24	23	23	24	24	23	24	24	24	23	23	23	23	24	23	23	23	24
<i>DYS385a/b</i>	15/ 19	15/ 19	15/ 19	15/ 19	15/ 19	12/ 18	12/ 18	15/ 19	15/ 16	15/ 16	12/ 19	15/ 19	15/ 19	15/ 19	15/ 19	12/ 18	15/ 19	15/ 19	15/ 19	15/ 16
<i>DYS449</i>	33	33	33	33	33	33	33	31	26	26	33	33	33	33	32	33	31	31	31	26
<i>DYS527a/b</i>	20/ 23	20/ 24	20/ 24	20/ 24	20/ 24	21/ 22	21/ 22	20/ 24	19/ 24	19/ 24	21/ 22	20/ 24	20/ 24	20/ 24	20/ 24	21/ 22	20/ 25	20/ 24	20/ 24	19/ 24
<i>DYS447</i>	23	23	23	23	23	24	24	23	28	28	24	23	23	23	23	24	23	23	23	28
<i>DYS522</i>	11	11	11	11	11	13	13	11	11	11	13	11	11	11	11	13	11	11	11	11
<i>DYS388</i>	10	10	10	10	10	12	12	10	14	14	12	10	10	10	10	12	10	10	10	14
<i>DYS444</i>	14	14	14	14	14	13	14	14	11	11	13	14	14	14	14	13	14	14	14	11

2.3 两个 Y-STR 分型体系的单倍型差异比较

163 名男性个体两两之间减数分裂次数为 1~28 次,各减数分裂次数的样本对数目为 24~2080 个,共计 13 203 个样本对。

由表 2 可见, Yfiler 体系在各减数分裂次数样本对间的 RRHD 为 0.058 4~1.000 0, 平均 RRHD 为 0.910 5; AGCU Y24 体系 RRHD 为 0.109 5~1.000 0,

平均 RRHD 0.922 7。 Yfiler 体系在各减数分裂次数样本对间的 ANMD 为 0.058 4~9.833 3 个, 总体 ANMD 为 6.582 1 个, 最大差异为 13 个; AGCU Y24 体系在各减数分裂次数样本对间的 ANMD 为 0.109 5~14.833 3 个, 总体 ANMD 为 9.824 8 个, 最大差异为 19 个。两个检测体系在不同减数分裂次数中的 RRHD 差异具有统计学意义 ($t=3.438 0, P<0.05$)。

表 2 两个 Y-STR 分型体系的单倍型差异比较

减数分裂次数	样本对数	Yfiler 体系			AGCU Y24 体系				
		单倍型差异数/个	RRHD	遗传标记差异数/个	ANMD/个	单倍型差异数/个	RRHD	遗传标记差异数/个	ANMD/个
1	137	8	0.058 4	8	0.058 4	15	0.109 5	15	0.109 5
2	184	19	0.103 3	19	0.103 3	38	0.206 5	38	0.206 5
3	199	32	0.160 8	32	0.160 8	51	0.256 3	53	0.266 3
4	151	30	0.198 7	30	0.198 7	46	0.304 6	49	0.324 5
5	103	20	0.194 2	20	0.194 2	24	0.233 0	27	0.262 1
6	92	12	0.130 4	12	0.130 4	14	0.152 2	14	0.152 2
7	100	20	0.200 0	20	0.200 0	24	0.240 0	24	0.240 0
8	89	34	0.382 0	40	0.449 4	38	0.427 0	47	0.528 1
9	68	53	0.779 4	86	1.264 7	53	0.779 4	99	1.455 9
10	88	88	1.000 0	154	1.750 0	88	1.000 0	182	2.068 2
11	105	105	1.000 0	175	1.666 7	105	1.000 0	201	1.914 3
12	111	111	1.000 0	164	1.477 5	111	1.000 0	179	1.612 6
13	146	146	1.000 0	192	1.315 1	146	1.000 0	235	1.609 6
14	142	142	1.000 0	195	1.373 2	142	1.000 0	258	1.816 9
15	84	84	1.000 0	128	1.523 8	84	1.000 0	177	2.107 1
16	70	70	1.000 0	159	2.271 4	70	1.000 0	192	2.742 9
17	189	187	0.989 4	463	2.449 7	188	0.994 7	615	3.254 0
18	458	444	0.969 4	1 275	2.783 8	451	0.984 7	1 805	3.941 0
19	732	696	0.950 8	2 660	3.633 9	708	0.967 2	3 910	5.341 5
20	933	867	0.929 3	5 026	5.386 9	879	0.942 1	7 560	8.102 9
21	1 309	1 224	0.935 1	9 466	7.231 5	1 240	0.947 3	14 361	10.971 0
22	1 785	1 734	0.971 4	14 740	8.257 7	1 747	0.978 7	22 320	12.504 2
23	2 080	2 062	0.991 3	17 941	8.625 5	2 072	0.996 2	26 985	12.973 6
24	1 876	1 867	0.995 2	16 330	8.704 7	1 876	1.000 0	24 363	12.986 7
25	1 226	1 220	0.995 1	10 772	8.786 3	1 226	1.000 0	15 969	13.025 3
26	558	557	0.998 2	5 032	9.034 1	558	1.000 0	7 421	13.299 3
27	164	164	1.000 0	1 528	9.317 1	164	1.000 0	2 262	13.792 7
28	24	24	1.000 0	236	9.833 3	24	1.000 0	356	14.833 3

3 讨 论

3.1 Y-STR 遗传标记的突变

本研究大家系的 137 对父子分别检出 15 个 Y-STR 突变事件和 4 个常染色体 STR 突变事件,均为一步突变。20 个分支家系中的差异 Y-STR 多表现为连续等位基因,显示符合逐步突变模式^[9]。实际应用中, Y-STR 的突变会对父系亲缘关系鉴定造成干扰,当出现 1~3 个差异遗传标记时,应当结合常染色体 STR 分型结果进行分析,不应轻易下排除同一父系的

结论。

3.2 不同减数分裂次数的 Y-STR 单倍型差异

本研究比较了包含 16 个 Y-STR 遗传标记的 Yfiler 体系和包含 22 个 Y-STR 遗传标记的 AGCU Y24 体系在该林姓家系 163 个男性个体的分型,两个体系分别获得 20 和 30 种单倍型,平均 RRHD 分别为 0.910 5 和 0.922 7,平均 ANMD 分别为 6.582 1 和 9.824 8 个,均提示 AGCU Y24 体系较 Yfiler 体系具有更高的多态性和识别力。家系内男性个体两两之间的 RRHD 随着减数分裂次数增多而增大。(下转第 122 页)

- [7] 陈小莉,张智勇,冯流星,等. 健康老人血液中微量元素 ICP-MS 分析研究[J]. 武警医学, 2006, 17(3): 166-168.
- [8] 张敏莉,顾小红. 成人 600 例血铅检测结果分析[J]. 重庆医学, 2014, 43(4): 480-481.
- [9] 闫赖赖,陈曦,王京宇,等. 四城市成人血液中主要重金属含量分析[J]. 卫生研究, 2012, 41(5): 840-843.
- [10] 张素静,马栋,王跃进,等. 加热板消解-ICP-MS 检测血液中的 33 种元素[J]. 中国司法鉴定, 2014, (5): 21-27.
- [11] Wilhelm M, Ewers U, Schulz C. Revised and new reference values for some trace elements in blood and urine for human biomonitoring in environmental medicine[J]. Int J Hyg Environ Health, 2004, 207(1): 69-73.
- [12] Goullé JP, Mahieu L, Castemant J, et al. Metal and metalloids multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair: Reference values[J]. Forensic Sci Int, 2005, 153(1): 39-44.
- [13] Heitland P, Köster HD. Biomonitoring of 30 trace elements in urine of children and adults by ICP-MS[J]. Clin Chim Acta, 2006, 365(1-2): 310-318.
- [14] Zacharski LR, Omstein DL, Woloshin S, et al. Association of age, sex, and race with body iron stores in adults: analysis of NHANES III data[J]. Am Heart J, 2000, 140(1): 98-104.
- [15] Búrány E, Bergdahl IA, Bratteby LE, et al. Mercury and selenium in whole blood and serum in relation to fish consumption and amalgam fillings in adolescents[J]. J Trace Elem Med Biol, 2003, 17(3): 165-170.
- [16] Clarkson TW. The toxicology of mercury[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 1997, 34(4): 369-403.
- [17] Meltzer HM, Brantsaeter AL, Borch-Johnsen B, et al. Low iron stores are related to higher blood concentrations of manganese, cobalt and cadmium in non-smoking, Norwegian women in the HUNT 2 study[J]. Environ Res, 2010, 110(5): 497-504.
- [18] Bocca B, Madeddu R, Asara Y, et al. Assessment of reference ranges for blood Cu, Mn, Se and Zn in a selected Italian population[J]. J Trace Elem Med Biol, 2011, 25(1): 19-26.
- [19] Tumlund JR. Human whole-body copper metabolism[J]. Am J Clin Nutr, 1998, 67(S5): 960-964.
- [20] Gil F, Capitán-Vallvey LF, De Santiago E, et al. Heavy metal concentrations in the general population of Andalusia, South of Spain: a comparison with the population within the area of influence of Aznalcóllar mine spill (SW Spain)[J]. Sci Total Environ, 2006, 372(1): 49-57.

(收稿日期: 2015-01-28)

(本文编辑: 严 慧)

(上接第 111 页)一次减数分裂的样本对(即父子间)采用两个体系分型的 RRHD 分别为 0.0584 和 0.1095;二次减数分裂的样本对(兄弟或祖孙间)RRHD 分别为 0.1033 和 0.2065;三次减数分裂的样本对(叔侄或曾祖孙间)RRHD 分别为 0.1608 和 0.2563,四代减数分裂的样本对(第一代堂兄弟等)RRHD 为 0.1987 和 0.3046。在 8~10 次减数分裂后,两个体系在样本对间均获得 100% 的差异率。因此, Y-STR 突变为区分同一父系男性个体提供了可能性^[6-7], AGCU Y24 体系较 Yfiler 体系具有更高的同一父系男性个体识别能力。

本研究结果也提示在实际工作中,可以先选用 Yfiler 体系进行家系排查,缩小检测范围,再用 AGCU Y24 等体系对家系内的男性个体进行进一步鉴别。

参考文献:

- [1] Regueiro M, Alvarez J, Rowold D, et al. On the origins, rapid expansion and genetic diversity of Native Americans from hunting-gatherers to agriculturalists[J]. Am J Phys Anthropol, 2013, 150(3): 333-348.
- [2] Boattini A, Samo S, Pedrini P, et al. Traces of medieval migrations in a socially stratified population

from Northern Italy. Evidence from uniparental markers and deep-rooted pedigrees[J]. Heredity (Edinb), 2015, 114(2): 155-162.

- [3] Roewer L, Nothnagel M, Gusmão L, et al. Continent-wide decoupling of Y-chromosomal genetic variation from language and geography in native South Americans[J]. PLoS Genet, 2013, 9(4): e1003460.
- [4] Ballantyne KN, Keerl V, Wollstein A, et al. A new future of forensic Y-chromosome analysis: rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages[J]. Forensic Sci Int Genet, 2012, 6(2): 208-218.
- [5] Ellegren H. Heterogeneous mutation processes in human microsatellite DNA sequences[J]. Nat Genet, 2000, 24(4): 400-402.
- [6] Rohlf s RV, Murphy E, Song YS, et al. The influence of relatives on the efficiency and error rate of familial searching[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e70495.
- [7] Kayser M, Sajantila A. Mutations at Y-STR loci: implications for paternity testing and forensic analysis[J]. Forensic Sci Int, 2001, 118(2-3): 116-121.

(收稿日期: 2015-02-11)

(本文编辑: 李成涛)