

联合应用常染色体 STR 和 X-STR 标记鉴定单亲疑难案例

邵伟波^{1,2}, 李莉², 柳燕², 赵珍敏², 林源²

(1. 苏州大学 基础医学与生命科学学院 法医学系, 江苏 苏州 215123;

2. 司法部司法鉴定科学技术研究所 上海市法医学重点实验室, 上海 200063)

摘要:目的 通过对常染色体和 X 染色体遗传标记的检测, 探讨单亲疑难案例的鉴定策略。方法 提取 3 个单亲鉴定案例的 6 份血样, 采用 Goldeneye 20A 试剂盒和 AGCU21+1 试剂盒检测常染色体上 39 个 STR 基因座, 采用自主研制的 16 重 X-STR 扩增系统检测 X 染色体上 16 个 STR 基因座。结果 用 Goldeneye 20A 试剂盒检测后发现每个单亲案例均有一个基因座不符合遗传规律, 当常染色体 STR 基因座增加到 39 个时, 案例 1 累计出现 3 个矛盾基因座; 案例 2 和案例 3 均没有出现新的矛盾基因座。X 染色体 STR 分型结果显示案例 1 有 8 个矛盾基因座, 案例 2 和案例 3 无矛盾基因座, 与常染色体分型结论相符。结论 对于出现单基因座不符合遗传规律的母女、母子、父女单亲案例鉴定, 不仅可以增加新的常染色体 STR 检测, 也可以增加 X 染色体 STR 的检测, 这样在相互验证的同时也能获得更加可靠的鉴定意见。

关键词: 法医生物学; 亲子鉴定; STR; X 染色体

中图分类号: DF795.2 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-2072.2011.03.015

文章编号: 1671-2072-(2011)03-0063-03

Application of Autosomal STR and X-STR Markers for Paternity Testing of Special Duos

SHAO Wei-bo^{1,2}, LI Li¹, LIU Yan¹, ZHAO Zhen-min¹, LIN Yuan¹

(1. Department of Forensic Medicine, School of Biology and Basic Medical Sciences of Soochow University, Suzhou 215123, China;

2. Shanghai Key Laboratory of Forensic Medicine, Institute of Forensic Science, Ministry of Justice P.R. China, Shanghai 200063, China)

Abstract: **Objective** Strategies for special duos paternity testing were explored through combination detection of autosomal STR with X-chromosomal STR loci. **Methods** Genomic DNA was extracted from six blood stain samples from three duos cases numbered 1, 2 and 3 respectively. Thirty nine autosomal STR loci were genotyped by Goldeneye 20A kit and AGCU21+1 kits, and sixteen X-chromosomal STR loci were simultaneously genotyped by in-house amplification system. **Results** One contradictory locus in each case appeared through genotyping by Goldeneye 20A kit. When the total number of detected STR loci were increased to thirty nine, three contradictory loci were found in case No.1, so it was excluded that the father was the biological father. There was no new contradictory locus in case No.2 and case No.3. X-STR genotyping results showed that there were 8 contradictory loci in case No.1, and no contradictory locus in case No.2 and No.3. So the X-STR typing results were consistent with the autosomal STRs results. **Conclusions** To special duos cases with only one locus mismatch, combination typing of new autosomal STRs and X-chromosomal STRs can be an effective way to make the identification conclusion reliable.

Key words: forensic genetic; paternity testing; STR; X chromosome

单亲鉴定是日常检案中的一个重要部分, 出现单基因座不符合遗传规律的单亲案例屡见不鲜, 遇到这种情况必须增加更多遗传标记的检测, 以确保结论的可靠性。目前广泛应用的试剂盒有 Powerplex[®]16、Identifiler[™]、Sinofiler[™] 和 Goldeneye 20A 试剂盒, 从中

最多可以获得 19 个 STR 基因座的信息。在大多数标准三联体亲权鉴定中, 这些基因座基本能够满足需求。但是在单亲鉴定案例中, 有时仅检测 19 个 STR 基因座并不能得出可靠的结论, 还必须增加更多常染色体 STR 基因座、X-STR 基因座的检测。

1 材料和方法

1.1 样本

6 份血斑检材来自本实验室 3 个单亲鉴定案例。案例 1 为母子亲生血缘关系鉴定 (被检母亲和儿子分别编号为 M1、S1); 案例 2 为母女亲生血缘关系鉴

收稿日期: 2010-12-6

基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划项目课题 (08251203200)

作者简介: 邵伟波 (1983—), 男, 硕士研究生, 主要从事法医学生物学研究。E-mail: swbcy0131@sina.com。

通信作者: 李莉 (1965—), 女, 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事法医物证学科研、鉴定和教学工作。

定(被检母亲和女儿分别编号为M2、D2); 案例3为父女亲生血缘关系鉴定(被检父亲和女儿分别编号为D3、F3)。

1.2 试剂与仪器

Goldeneye 20A 试剂盒(北京基点认知公司), AGCU21+1 STR 试剂盒(无锡中德美联生物技术公司), 16重X染色体STR扩增试剂盒(本实验室自主研发), 3100-Avant型遗传分析仪和9700型扩增仪(美国AB公司)。

1.3 基因组DNA的提取

采用Chelex-100法提取基因组DNA。

1.4 常染色体STR基因座分型

采用Goldeneye 20A试剂盒对常染色体上总共19个STR基因组进行分型检测。PCR反应体系总体积为12.5 μL, PCR组分及反应条件参照说明书。采用AGCU21+1STR试剂盒(10μL体系)对常染色体上21个STR基因座(D6S474、D12ATA63、D22S1045、D10S1248、D1S1677、D11S4463、D1S1627、D3S4529、D2S441、D6S1017、D4S2408、D19S433、D17S1301、D1GATA113、D18S853、D20S482、D14S14343、D9S1122、D2S1776、D10S1435和D5S2500, 其中D19S433为这两个试剂盒共同的基因座)进行分型检测, PCR具体组分及反应条件参照文献[1]。

1.5 X染色体STR基因座分型

采用本所自主研发的X染色体STR扩增试剂盒对X染色体上16个STR基因座(GATA165B12、DXS101、GATA172D05、HPRTB、DXS981、DXS8378、DXS6795、GATA31E08、DXS6809、DXS6803、DXS9902、DXS6807、DXS7423、DXS7133、DXS6810和DXS7132)进行分型检测。PCR反应体系总体积为12.5 μL, 含10×PCR缓冲液1.25 μL, 25 mmol.L⁻¹ MgCL₂ 0.75 μL, 10mmol.L⁻¹ dNTP 0.25 μL, 引物混合液1 μL, 金牌Taq酶0.25 μL, H₂O 4 μL, 模板DNA 5 μL。PCR反应循环参数如下: 95℃ 15 min; 94℃ 30 s, 57℃ 90 s, 72℃ 60 s, 循环30次; 60℃ 60 min。扩增产物通过遗传分析仪进行毛细管电泳, 用GeneMapper ID v3.2软件分析各基因座的基因型。

1.6 亲权指数值计算

按照文献[1, 2, 3]提供的中国汉族人群STR基因座的等位基因频率, 计算上述3个案例的亲权指数(PI)和累计亲权指数(CPI)。

2 结果

2.1 常染色体STR基因座分型

2.1.1 Goldeneye 20A 试剂盒分型结果及PI值计算结果

使用Goldeneye 20A试剂盒对常染色体上19个STR基因座进行分型(结果见表1, 表中PI₁、PI₂和PI₃)

表1 19个STR基因座分型结果

STR 基因座	M1	S1	PI(1)	M2	D2	PI(2)	F3	D3	PI(3)
D19S433	13,13.2	13,13.2	7.8013	14,15	14,15	5.2213	14.2,14.2	14,14.2	3.2658
D5S818	12,13	10,13	1.7593	10,13	10,12	1.3055	12,13	11,12	1.0391
D21S11	29,32.2	32.2,33.2	2.0064	29,32	31,31	0.0014	31,32.2	30,31	2.5126
D18S51	17,22	14,17	3.5211	15,17	13,17	3.5211	15,15	15,18	2.9206
D6S1043	12,18	12,19	1.7781	11,19	11,12	2.2852	12,18	12,12	3.5562
D3S1358	15,17	15,15	1.4480	15,17	15,17	1.9364	16,16	16,16	3.0516
D13S317	11,12	8,11	1.0557	10,12	8,12	1.5704	8,10	8,11	0.8699
D7S820	11,11	11,12	1.4405	10,12	10,11	1.5291	8,8	8,11	3.6179
D16S539	12,13	12,13	3.6778	9,9	9,12	1.7606	11,11	11,11	3.8685
CSF1PO	10,12	10,12	1.7058	11,13	11,11	2.0072	12,13	10,12	0.6782
Penta D	9,13	9,13	3.1559	9,12	9,14	0.6855	11,12	11,12	3.9118
vWA	16,17	17,18	1.0589	16,17	16,16	3.0414	14,16	14,14	1.9478
D8S1179	13,14	13,14	2.4755	13,13	13,13	4.5025	14,15	15,16	1.4603
TPOX	8,9	8,11	0.4868	8,11	11,11	1.6739	8,11	8,9	0.4868
Penta E	15,17	17,23	4.3029	10,18	14,18	3.2383	12,22	12,18	2.1240
TH01	8,9	7,9	0.4794	7,7	6,7	1.8769	6,7	7,9.3	0.9384
D12S391	21,22	18,22	2.4606	24,24	18,24	64.1026	18,21	19,22	0.0036
D2S1338	19,19	23,24	8.3153×10 ⁻⁸	17,19	19,19	2.5394	23,23	19,23	2.4618
FGA	21,24	22,24	1.3200	24,24	24,24	5.2798	24,25	24,25	3.8973

分别表示案例1、2、3的亲权指数),发现3个案例中均有1个基因座不符合遗传规律。

2.1.2 AGCU21+1 试剂盒分型结果及累计 CPI 值

使用 AGCU21+1 试剂盒对常染色体上 21 个 STR 基因座进行分型(结果见表 2),从表 2 中可以看出,案例 1 中有 2 个基因座不符合遗传规律;案例 2 和案例 3 均符合遗传规律。结合表 2 的 PI 值计算,案例 1、案例 2 和案例 3 累计亲权指数(CPI)分别为 3.23×10^{-5} 、 4.77×10^8 和 3.18×10^8 。

2.2 X 染色体 STR 基因座分型结果

利用 X 染色体 STR 扩增体系对 16 个 X-STR 基因型进行分型(结果见表 3),发现案例 1 的两个个体之间有 8 个基因座不符合遗传规律,案例 2、案例 3 的两个个体之间均符合遗传规律。

3 讨论

在日常检案过程中,若遇到单个基因座不符合遗传规律的单亲案例,必须增加检测更多的 STR 基因座,以明确鉴定意见^[4]。运用常规 STR 试剂盒对上述三个特殊案例(若出现了单个基因座不符合遗传规律的情形)进行检测后发现,必须增加检测基因座才能得出明确的鉴定意见。当基因座数量增加至 39 个时,

案例 1 检出 3 个矛盾基因座,CPI 为 3.23×10^{-5} ,据此可对案例 1 作出否认亲生关系的结论;案例 2 和案例 3 均没有检出新的矛盾 STR 基因座,CPI 分别为 4.77×10^8 和 3.18×10^8 ,所以对案例 2 和案例 3 作出不排除亲生关系的结论,其矛盾基因座疑为突变所致。

女性个体含有两条 X 染色体,男性个体只有一条 X 染色体,因此 X 染色体遗传标记在遗传过程中,因性别不同而存在着遗传方式的差异,母亲可将两条 X 染色体上的等位基因随机地遗传给她的子女,而父

表 3 16 个 X-STR 分型结果

STR 基因座	M1	S1	M2	D2	D3	F3
GATA165B12	10,11	10	9,9	9,10	9,10	10
DXS101	23,26	24	26,26	26,26	24,24	24
GATA172D05	9,10	10	9,11	9,10	6,9	9
HPRTB	11,12	13	13,14	13,14	12,13	12
DXS981	14.3,14.3	13.3	13.3,14.3	13.3,13.3	13,14	13
DXS8378	10,11	11	10,10	10,11	10,10	10
DXS6795	13,16	16	13,16	16,16	13,16	13
GATA31E08	9,10	7	10,11	11,12	11,11	11
DXS6809	32,38	35	33,35	33,35	31,31	31
DXS6803	12,12	10	12,13	12,13	10,12	10
DXS9902	12,12	10	11,11	10,11	10,12	10
DXS6807	11,11	11	14,14	11,14	14,15	15
DXS7423	14,15	15	15,16	15,16	14,15	15
DXS7133	9,10	9	9,9	9,9	9,10	10
DXS6810	17,18	18	18,18	18,18	18,18	18
DXS7132	14,14	13	14,14	14,15	14,15	15

表 2 21+1 STR 基因座分型结果

STR 基因座	M1	S1	PI ₁	M2	D2	PI ₂	F3	D3	PI ₃
D6S474	15,15	15,16	1.4061	14,14	14,15	1.4426	14,15	14,15	1.4243
D12ATA63	12,17	17,17	1.6426	12,16	16,17	1.1364	16,16	16,16	4.5455
D22S1045	16,16	16,16	3.5714	16,16	11,16	1.7857	11,17	11,15	1.4245
D10S1248	14,15	14,15	2.2400	13,15	14,15	1.1478	15,15	14,15	2.2957
D1S1677	14,14	14,14	2.1128	15,15	15,16	1.5959	14,15	14,15	1.3262
D11S4463	13,15	14,15	0.8213	12,13	13,14	1.0931	11,13	13,14	1.0931
D1S1627	13,13	14,14	0.0013	13,13	12,13	0.8303	13,14	14,14	2.2282
D3S4529	14,16	14,14	1.7857	14,16	15,16	1.6308	15,16	16,16	3.2616
D2S441	12,14	12,14	3.2555	11,11	11,14	1.3312	10,12	10,11	1.2933
D6S1017	8,13	10,13	3.0414	10,12	10,12	1.5023	13,14	10,14	56.8182
D4S2048	9,10	10,11	1.6077	9,9	9,9	3.3829	8,11	10,11	1.6067
D19S433	13,13.2	13,13.2	7.8013	14,15	14,15	5.2213	14.2,14.2	14,14.2	3.2658
D17S1301	12,12	11,13	0.0015	11,14	12,14	5.6306	12,14	12,13	0.5515
D1GATA113	7,11	7,7	1.0269	12,12	11,12	1.4241	7,7	7,7	2.0547
D18S853	11,13	11,15	0.6081	13,14	13,13	2.1222	11,13	11,13	1.6692
D20S482	13,16	12,13	0.8862	14,14	12,14	1.2162	13,15	14,15	1.4793
D14S1434	11,11	11,14	3.2154	11,14	12,14	0.5597	11,14	14,14	1.1193
D9S1122	12,13	12,12	1.5413	12,13	12,13	1.3922	10,13	10,11	5.1125
D2S1776	11,12	11,12	1.5888	12,12	12,12	2.5426	10,11	11,13	0.9535
D10S1435	12,13	10,12	0.7353	11,14	9,14	1.7042	11,13	13,14	1.0134
D5S2500	17,18	14,18	1.0616	14,17	14,14	1.2282	14,17	17,18	0.9374

(下转第 73 页)

3.4.1 P300 波幅

目前 P300 波幅尚无明确的正常值范围,就个体而言,刺激引出的波幅越高,说明记忆越清晰,内容记住的可能性越大,另外,任务难度大,包含信息越多,P300 波幅越明显,这是因为要加工消耗更多的资源,也称为任务效应。

3.4.2 P300 波面积

P300 波面积可以代表大脑的神经元在单位时间内发放生物电的总和,面积的大小与记忆清晰度相关。

3.4.3 P300 潜伏期

潜伏期反应相关神经元突触传递的快慢及对刺激的评估时间。心理学所说的反应时间(Response Time, RT)反映了从刺激—认知加工—反应选择和执行的整个过程。P300 只涉及刺激—认知加工过程,不包括反应选择和执行,P300 潜伏期表示的是对刺激的识别和编码,与原来表征比较并存储的过程。

在 Polygraph 心理测试中,测试结果要通过对准绳问题、相关问题、无关问题的心理生理反应进行比较来判断,P300 心理测试同样需要通过对靶刺激和

非靶刺激问题的反应进行比较。计算每一个刺激的波幅和波面积,如果靶与非靶刺激所产生的 P300 波幅和波面积的差在 50%以上,可以判定被测人对该组靶刺激的反应呈阳性,其余各组都遵照同样的方法。在对每一组照片的靶与非靶刺激所引出的 P300 值进行比较后,以判定是否为阳性,并据此确定被测试人与该案的关系。

参考文献:

- [1] 奚玮. 中国古代“五听”制度述评[J]. 中国刑事法杂志, 2005, (2): 107-112.
- [2] 付有志. 犯罪记忆检测技术[M]. 北京: 中国人民公安大学出版社, 2004: 19.
- [3] Miyake, T. Okita, K. Konishi & Matsunaga: Event-related brain potentials as an index of detection of deception. Report of National Research Institute of Police Science: Research on Forensic Science, 1986, 39: 132-138.
- [4] 潘映福. 临床诱发电位学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 581.
- [5] 付翠. 事件相关电位在刑事测谎中的基本原理和方法[J]. 吉林公安高等专科学校学报, 2008, 23(2): 56-58.

(本文编辑: 管唯)

(上接第 65 页)

亲 X 染色体上的等位基因则只能遗传给女儿^[5]。也就是说, 女儿的两条 X 染色体必定一条来自父亲一条来自母亲, 而儿子的 X 染色体必定来自母亲。所以, 在母女关系鉴定中, X-STR 与常染色体 STR 价值相似; 在母-子、父女关系鉴定中, X-STR 则比常染色体 STR 更加直观有效^[6]。本文描述的三个案例分别为母子、母女和父女关系鉴定, 所以可选择 X 染色体上的 STR 基因座进行检测。通过对上述三个案例 16 个 X-STR 基因座检测发现: 案例 1 有 8 个矛盾基因座, 排除率达到 50%, 案例 2 和案例 3 在每个基因座上均检出相同的等位基因, 符合遗传规律。进一步验证了常染色体 STR 基因座检测所得出的结论。

常染色体 STR 与 X-STR 已被有效地联合应用于全同胞^[7]、半同胞^[8]等关系的鉴定中, 同样也可以应用于母女、母子、父女单亲鉴定等疑难案例中, 这样不仅能够相互验证检测结果, 也为对这类案件的鉴定提供了新思路和新方法。

参考文献:

- [1] 邵伟波, 张素华, 李莉. 21 个非 CODIS STR 基因座的遗传多态性[J]. 法医学杂志, 2011, 27(1): 42-44.
- [2] Li C Li L Zhao Z. Genetic polymorphism of 17 STR loci for forensic use in Chinese population from Shanghai in East China[J]. Forensic Sci Int Genet, 2009, 3(4): e117-e118.
- [3] 郭宏, 林源, 柳燕, 等. D6S1043 和 D12S391 基因座在亲权鉴定中的应用[J]. 法医学杂志, 2007, 32(5): 345-346.
- [4] 亲权鉴定技术规范, SF/Z JD0105001-2010.
- [5] 张素华, 李莉, 林源, 等. X-STR 和常染色体 STR 在二联体亲权鉴定中的应用[J]. 中国司法鉴定, 2009, (4): 52-54.
- [6] 曾祥培, 李海霞, 孙宏钰. X-STR 基因座的法医学应用研究进展[J]. 中国司法鉴定, 2010, (1): 58-62.
- [7] 唐泽英, 陆惠玲, 刘秋玲. 常染色体及 X 染色体 STR 用于同胞鉴定 1 例[J]. 中国法医学杂志, 2010, 25(4): 291-292.
- [8] 阙庭志, 赵书民, 李成涛. 多种遗传标记在同母异父半同胞关系鉴定中的综合应用[J]. 法医学杂志, 2010, 26(4): 279-281.

(本文编辑: 李成涛)