

# 广东汉族人群 24 个 Y-STR 基因座多态性及法医学应用

窦雪丽 王瑛 刘宏 彭珊 孙宏钰 刘超

**【摘要】** **目的** 调查 24 个 Y 染色体上的短串联重复序列 (Y-STR) 基因座在广东汉族无关男性个体中的多态性, 研究 AGCU Y24 检验体系在法医学的应用价值。**方法** 应用 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒 (DYS391、DYS389I/II、DYS439、DYS438、DYS449、DYS456、DYS458、DYS437、DYS635、DYS448、DYS527a/b、Y\_GATA\_H4、DYS447、DYS19、DYS392、DYS522、DYS393、DYS388、DYS390、DYS385a/b、DYS444) 对广东汉族 800 个无关男性个体进行 Y-STR 分型, 调查其多态性, 并对其分型准确性、灵敏度、混合样本、男性特异性、种属特异性进行评估。**结果** 800 个广东汉族男性无关个体中观察到基因座共发现 192 个等位基因, 794 种单倍型, 且均为唯一单倍型, 各基因座的基因多样性值在 0.4286 (DYS438) ~ 0.9605 (DYS385a/b) 之间。24 个 Y-STR 基因座的单倍型多样性值为 0.999981, 系统识别能力值为 0.992500。该体系检测最低阈值为 0.125 ng, 24 个 Y-STR 基因座具有高度男性特异性, 分型不受女性成分干扰。**结论** AGCU Y24 检验体系在广东汉族人群中具有高度多态性, 在父权鉴定、个体识别、群体遗传分析等方面具有良好的应用前景。

**【关键词】** Y 染色体; 短串联重复序列; 遗传多态性; 个体识别; 父权鉴定

**Genetic polymorphisms of 24 Y-STR loci in Han population from Guangdong Province and its application in forensic medicine** DOU Xue-li, WANG Ying, LIU Hong, PENG Shan, SUN Hong-yu, LIU Chao. Department of Forensic Medicine, Zhongshan School of Medicine, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

Corresponding author, LIU Chao, E-mail: liuchaogaj@21cn.com

**【Abstractive】** **Objective** To investigate the polymorphisms of 24 Y-STR loci in Han population from Guangdong Province and explore its application in forensic medicine. **Methods** Twenty-four Y-STR loci (DYS391, DHS389I/II, DHS439, DHS438, DHS449, DHS456, DHS458, DHS437, DHS635, DHS448, DHS527a/b, Y\_GATA\_H4, DHS447, DHS19, DHS392, DHS522, DHS393, DHS388, DHS390, DHS385a/b and DHS444) in 800 unrelated male Han individuals from Guangdong were genotyped using AGCU kit. The genotyping accuracy, sensitivity, mixed samples, male and population specificity were evaluated. **Results** Among 800 subjects, 192 alleles were observed, and 794 haplotypes were detected. The gene diversity of 24 Y-STR loci ranged from 0.4286 (DYS438) to 0.9605 (DYS385a/b). The overall haplotype diversity was 0.999981 and the discrimination capacity was 0.992500. The sensitivity of this test was 0.125 ng. Twenty-four Y-STR loci were highly specific to males and the genotyping was not influenced by female individuals. **Conclusions** The 24 Y-STR loci included in AGCU kit have highly genetic polymorphisms in South China and present with promising prospect for application in paternity identification and population genetic analysis.

**【Key words】** Y chromosome; Short tandem repeats; Genetic polymorphisms; Individual identification; Paternity testing

Y 染色体上的短串联重复序列 (Y-STR) 在法医学个体识别、亲权鉴定、混合斑中男性成分的检

测以及在遗传学群体研究中追溯父系群体起源、迁移、历史演变和民族的迁徙、进化等方面都具有独

DOI: 10.3969/g.issn.0253-9802.2014.12.004

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 (2010A060801001)

作者单位: 510080 广州, 中山大学中山医学院法医学系 [窦雪丽 (现职广东省汕头市公安局), 王瑛, 彭珊, 孙宏钰, 刘超]; 510030 广州, 广州市刑事科学技术研究所 (刘宏)

通讯作者, 刘超, E-mail: liuchaogaj@21cn.com

特的应用价值<sup>[1-3]</sup>。目前,已有的商业化试剂盒中基因座的选择主要是基于欧美人群中各个 Y-STR 基因座多态性,其中部分基因座在我国人群中多样性较低<sup>[4]</sup>。Y-STR 基因座等位基因的频率分布和个体识别能力会因群体不同而有所差异,研发适合我国人群的 Y-STR 检验体系,对调查相关的 Y-STR 多态性、研究其法医学应用价值十分必要。本研究采用无锡中德美联生物技术有限公司新近研发的 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒,调查 24 个 Y-STR 基因座在广东汉族无关男性个体中的多态性,并从准确性、灵敏度、混合样本、种属特异性及遗传多态性等方面对该试剂盒的法医学应用价值进行评估,现报道如下。

## 材料与方法

### 一、标本来源

从中山大学法医鉴定中心日常亲子鉴定案件中随机抽取 800 个广东汉族男性无关个体血样,并抽取 30 个女性无关个体血样作对照。用法医遗传学通用男性标准品 2800M、9948 及女性标准品 9947A 作为灵敏度及混合检测样本。

### 二、多态性检测

使用 TECANEQ 磁珠法医 DNA 提取试剂盒,利用 TECAN Freedom evo-2150 base DNA 提取自动化工作站提取所有样本基因组 DNA,4℃ 保存待用。24 个 Y-STR 基因座的 PCR 扩增按照试剂盒提供的说明书进行,产物采用 ABI 3130X 遗传分析仪电泳,使用 Gene Mapper 3.2 对等位基因进行分析和数据处理。

### 三、准确性检测

从上述 800 个男性个体样本中随机抽取 100 例,按文献 [3] 方法采用 Y-Filer™ 试剂盒(美国应用生物系统公司),检测 17 个 Y-STR 基因座的分型,并与 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒的检测结果进行比对。

### 四、灵敏度检测

取 2800M 标准品,分别以 1.0、0.5、0.125、0.0625、0.03125 ng 的 DNA 模板量,用 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒进行检测并重复 3 次。

### 五、种属特异性检测

收集猴、牛、驴、羊、猪、马、鼠、兔、鸡、鸭和鱼等 11 种动物的血样,用 Chelex 100 法提取 DNA,用 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒进行检测

并重复 3 次。

## 六、混合成分检测

### 1. 男男混合

男性样本 1 为标准品 2800M,样本 2 为标准品 9948, DNA 模板量为 1 ng 不变,样本 1 和样本 2 分别以 1:1、1:3、1:9 和 1:19 的比例混合,用 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒进行检测并重复 3 次。

### 2. 男女混合,男性成分保持不变

男性样本为标准品 2800M,其成分保持为 0.125 ng,女性样本为标准品 9947A。标准品 2800M 与 9947A 分别以 1:1 000、1:2 000、1:3 000、1:4 000、1:5 000 和 1:6 000 混合,用 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒进行检测并重复 3 次。

### 3. 女男混合,女性成分保持不变

女性样本为标准品 9947A,其成分保持在 400 ng 不变,男性样本为标准品 2800M。2800M 以 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125 ng 分别与 9947A 混合,用 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒进行检测并重复 3 次。

### 4. 男性特异性检测

用 Chelex 100 法提取 30 个女性无关个体血样的 DNA,用 AGCU Y24 STR 荧光检测试剂盒进行检测并重复 3 次。

## 七、遗传多态性分析

基因座第  $i$  个等位基因的频率 ( $P_i$ ) = 第  $i$  个等位基因频数/ $N$  ( $N$  为该基因座的等位基因总数)<sup>[1]</sup>。基因多样性 ( $GD$ ) =  $n(1 - \sum P_i^2) / (n - 1)$  ( $n$  为样本例数),单倍型多样性 ( $HD$ ) 计算公式与  $GD$  相同。随机匹配概率 ( $MP$ ) =  $\sum P_i^2$ ,系统识别能力 ( $DC$ ) =  $H/N$  (其中  $H$  为观察到的单倍型种数,  $N$  为样本例数)。

## 结果

### 一、准确性检测结果

对 100 例广东汉族男性无关个体的 Y-Filer™ 试剂盒和 AGCU Y24 STR 试剂盒中 17 个相同基因座 (DYS19、DYS389I、DYS389II、DYS390、DYS391、DYS392、DYS393、DYS385 a/b、DYS438、DYS439、DYS437、DYS448、DYS456、DYS635、Y\_GATA\_H4 和 DYS458) 的分型进行比较,结果均一致,分型结果中没有出现等位基因丢失或扩增不平衡现象。

### 二、灵敏度检测结果

AGCU Y24 STR 试剂盒在 DNA 模板量为 0.125 ~ 1 ng 之间时均得到完整分型图谱,扩增均衡性、

峰高符合要求, 最低阈值为 0.125 ng。当 DNA 模板量为 0.0625 ng 时出现等位基因丢失, 平均等位基因检出率为 83%。

### 三、种属特异性检测结果

猴、牛、驴、羊、猪、马、鼠、兔、鸡、鸭和鱼等 11 种动物血样中均未检出特异性分型。

### 四、混合样本检测结果

#### 1. 男男混合

2800M 在 1:1、1:3 的混合比例中均得到了完整的分型结果, 在 1:9、1:19 时出现等位基因丢失; 标准品 9948 在所有的混合比例中均得到完整分型。两者的荧光检测信号 (RFU) 随着混合比例改变呈递增或递减趋势。

#### 2. 男女混合, 男性成分保持不变

在 1:1 000 ~ 1:6 000 之间, 随着 9947A 的增加, 均得到 2800M 的完整分型图谱, 且峰高、分型结果均未改变, 说明 Y-STR 分型结果不受女性成分干扰, 进一步说明 24 个 Y-STR 基因座的男性特异性。

### 3. 女男混合, 女性成分保持不变

2800M 在 DNA 模板量为 0.125 ~ 0.5 ng 之间均能得到完整分型图谱, 0.0625 ng 时出现等位基因丢失, 说明该系统在此 DNA 模板量时已无法准确地获得完整的检测信息。

### 4. 男性特异性检测

30 例女性样本均未检测到扩增产物。

### 五、遗传多态性分析

AGCU Y24 体系的 24 个 Y-STR 基因座在 800 个广东汉族男性无关个体中发现 794 种单倍型, MP 为 0.001269, HD 值为 0.999981, DC 值为 0.992500。24 个 Y-STR 基因座 GD 值在 0.4286 (DYS438) ~ 0.9605 (DYS385a/b) 之间。DYS385a/b、DYS527a/b 均有 a 和 b 两个拷贝, DYS385a/b 发现 73 种单倍型, 有 3 个三拷贝单倍型, 2 个四拷贝单倍型; DYS527a/b 发现 49 种单倍型, 6 个三拷贝单倍型。各基因座的等位基因频率见表 1, 其余基因座发现 4 ~ 19 种基因型, 24 个 Y-STR 基因座共发现 192 个等位基因, 见表 1。

表 1 广东汉族男性 24 个 Y-STR 基因座的等位基因频率及 GD 值

DYS385 (GD = 0.9605)										DYS439 (GD = 0.6698)		DYS447 (GD = 0.8214)			
等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率		
9,19	0.0013	12,12	0.0200	13,15	0.0100	14,20	0.0138	16,20	0.0025						
10,12	0.0025	12,12.2	0.0013	13,16	0.0063	14,21	0.0050	16,21	0.0025	10	0.0288	19	0.0013		
10,17	0.0025	12,13	0.0175	13,17	0.0538	14,22	0.0088	17,17	0.0038	11	0.3200	20	0.0063		
10,19	0.0013	12,14	0.0125	13,18	0.0800	14,25	0.0013	17,18	0.0038	12	0.4425	21	0.0125		
10,20	0.0013	12,15	0.0025	13,19	0.0600	15,15	0.0050	17,19	0.0013	13	0.1763	22	0.0213		
11,11	0.0188	12,16	0.0350	13,20	0.0363	15,16	0.0050	18,18	0.0013	14	0.0313	23	0.2100		
11,12	0.0325	12,17	0.0275	13,21	0.0238	15,17	0.0088	19,19	0.0013	15	0.0013	24	0.2138		
11,13	0.0063	12,18	0.0413	13,22	0.0163	15,18	0.0125	19,22	0.0013	DYS438 (GD = 0.4286)		25	0.2388		
11,14	0.0038	12,19	0.0438	13,23	0.0013	15,19	0.0100	13,14,18	0.0013	等位基因 频率		26	0.1138		
11,16	0.0150	12,20	0.0225	14,14	0.0025	15,20	0.0088	13,17,18	0.0013	9	0.0088	27	0.1313		
11,17	0.0100	12,21	0.0088	14,15	0.0038	15,21	0.0063	13,18,19	0.0013	10	0.7125	28	0.0450		
11,18	0.0150	12,22	0.0013	14,16	0.0050	15,22	0.0025	12,13,20,21	0.0013	11	0.2525	29	0.0050		
11,19	0.0138	12,23	0.0013	14,17	0.0088	16,17	0.0038	13,14,19,20	0.0025	12	0.0213	31	0.0013		
11,20	0.0038	13,13	0.1075	14,18	0.0463	16,18	0.0025			13	0.0050				
11,21	0.0013	13,14	0.0350	14,19	0.0163	16,19	0.0050								
DYS527 (GD = 0.9398)										DYS393 (GD = 0.6531)		DYS458 (GD = 0.8281)		DYS522 (GD = 0.6879)	
等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率	等位基因	频率		
17,20	0.0013	20,20	0.0163	21,26	0.0025	24,26	0.0025								
18,18	0.0013	20,21	0.0250	22,22	0.0825	24,27	0.0013	10	0.0013	13	0.0063	9	0.0125		
18,19	0.0013	20,22	0.0388	22,23	0.0838	25,25	0.0013	11	0.0025	14	0.0225	10	0.1225		

续表

18,20	0.0013	20,23	0.0688	22,24	0.0438	26,26	0.0013	12	0.4663	14.1	0.0050	11	0.3588
18,21	0.0025	20,24	0.0775	22,25	0.0088	18,20,24	0.0013	13	0.2950	15	0.1563	12	0.4013
18,22	0.0025	20,25	0.0263	22,26	0.0050	19,20,21	0.0013	14	0.2063	15.1	0.0013	13	0.0888
18,23	0.0038	20,26	0.0038	23,23	0.0563	20,21,22	0.0013	15	0.0275	16	0.1713	14	0.0138
19,19	0.0075	20,27	0.0013	23,24	0.0175	20,24,25	0.0013	16	0.0013	17	0.2238	15	0.0025
19,20	0.0125	21,21	0.0600	23,25	0.0075	21,22,23	0.0038	DYS388 (GD=0.4941)		18	0.2225	Y_GATA_H4 (GD=0.5832)	
19,21	0.0125	21,22	0.1188	23,27	0.0038	21,22,24	0.0013	等位基因 频率		19	0.1275	等位基因 频率	
19,22	0.0138	21,23	0.0863	23,28	0.0013			9	0.0063	21	0.0063	9	0.0025
19,23	0.0163	21,24	0.0438	24,24	0.0100			10	0.1850	22	0.0050	10	0.0713
19,24	0.0100	21,25	0.0075	24,25	0.0013			12	0.6800	DYS444		11	0.2900
DYS391 (GD=0.4473)		DYS389I (GD=0.5953)		DYS390 (GD=0.7056)		DYS449 (GD=0.8864)		13	0.0950	(GD=0.7376)		12	0.5700
等位基因 频率		等位基因 频率		等位基因 频率		等位基因 频率		14	0.0288	等位基因 频率		13	0.0588
6	0.0013	11	0.0163	18	0.0038	22	0.0013	15	0.0050	10	0.0125	14	0.0063
9	0.0350	12	0.5500	21	0.0025	24	0.0013	DYS437 (GD=0.4937)		11	0.2288	DYS389II (GD=0.7399)	
10	0.7000	13	0.2900	22	0.0575	25	0.0088	等位基因 频率		12	0.2538	等位基因 频率	
11	0.2488	14	0.1363	23	0.3600	26	0.0625	13	0.0050	13	0.3575	26	0.0175
12	0.0113	15	0.0075	24	0.3338	27	0.0563	14	0.6088	14	0.1363	27	0.0538
13	0.0013	DYS448 (GD=0.7281)		25	0.2250	28	0.0500	15	0.3688	DYS19 (GD=0.6895)		28	0.3613
15	0.0013	等位基因 频率		26	0.0175	28.2	0.0013	16	0.0175	等位基因 频率		29	0.2875
23	0.0013	15	0.0013	DYS635 (GD=0.7817)		29	0.0913	DYS456 (GD=0.6154)		12	0.0013	30	0.1975
DYS392 (GD=0.6727)		16	0.0038	等位基因 频率		29.2	0.0013	等位基因 频率		13	0.0400	31	0.0750
等位基因 频率		17	0.0175	18	0.0013	30	0.1438	11	0.0025	14	0.2188	32	0.0063
9	0.0013	18	0.3263	19	0.1100	30.2	0.0013	13	0.0175	15	0.4575	33	0.0013
10	0.0050	18.1	0.0013	20	0.2775	31	0.1638	14	0.1475	16	0.2213		
11	0.0838	18.2	0.0025	21	0.3125	32	0.1550	15	0.5750	17	0.0600		
12	0.0913	19	0.2975	22	0.1463	33	0.1338	16	0.1550	18	0.0013		
13	0.3913	19.2	0.0013	23	0.0975	34	0.0775	17	0.0925				
14	0.3988	20	0.2700	24	0.0375	35	0.0350	18	0.0100				
15	0.0263	21	0.0675	25	0.0150	36	0.0113						
16	0.0013	22	0.0088	26	0.0013	37	0.0025						
17	0.0013	23	0.0025	27	0.0013	38	0.0025						

## 讨论

在不同民族、不同的群体中，Y-STR 遗传多态性有着明显的差异，应用 Y-STR 分析技术对我国不同种族、群体的遗传多态性进行研究十分必要<sup>[1]</sup>。Hedman 等<sup>[4]</sup> 针对芬兰人群选择了 7 个 Y-STR 基因座 (DYS449、DYS460、DYS505、DYS522、

DYS576、DYS612、DYS627)，研究发现这 7 个基因座所组成的单倍型在芬兰人群的个体识别能力比 Y-Filer 系统的 17 个 Y-STR 更高。刘宏等<sup>[3]</sup> 发现部分在非洲人群中个体识别能力高的基因座或单倍型在中国人群中却不高。如果能够收集足够量的中国不同群体的样本和单倍型数据，对于筛选和验证适合中国人群的 Y-STR 基因座、建立新的 Y-STR 检

验体系, 将具有重要价值<sup>[5]</sup>。选择适合中国不同群体的多态性高的基因座, 还可进一步揭示相关群体特有的遗传学特征。如 DYS390 基因座在辽南地区、湖南汉族群体中最常见的等位基因为 24, 在广西苗族、瑶族、侗族中最常见的等位基因为 14<sup>[6-8]</sup>。本文中常见的等位基因是 23。对中国不同民族群体遗传多态性的研究, 不仅在法医学应用方面有重要价值, 对了解我国不同地区、不同群体的遗传结构及其分布特点也有重要的参考价值。

由于 Y-STR 基因座具有男性特异性, 且通常男性个体中 1 个 Y-STR 基因座只有 1 个等位基因, 分型相对于常染色体 STR 更为简单。当 1 个基因座出现 2 个或 2 个以上等位基因可以怀疑为混合样品, 可见, 对混合样品中男性成分的 Y-STR 基因分型优于常染色体基因座。由于不受女性 DNA 的干扰, 直接提取混合检材 DNA, 可避免在差异提取过程中男性 DNA 成分丢失, 使得分型成功率明显提高<sup>[1-3]</sup>。本研究结果显示, 所用的扩增系统特异性好, 灵敏度高, 最低可检测的 DNA 模板量为 0.125 ng, 且不受女性成分影响, 这对于轮奸案件的检验尤有价值。

国内法医学者报道的 Y-STR 分型多在 4 ~ 17 个基因座之间, 且大多采用商品化试剂盒检测。新近报道的文献多为 Y-Filer 检验的群体遗传学数据<sup>[2-3,7-8]</sup>。本研究所选的 24 个 Y-STR 基因座同时包含了欧洲 Y 染色体分型学会建立的“最小单倍型”9 个基因座、PowerPlex Y 试剂盒的 12 个基因座、Y-Filer 试剂盒的 17 个基因座, 有良好的兼容性。我国不少鉴定单位和实验室已积累了许多案件相关物证 (如 Y-Filer 等试剂盒检验分型结果), 这些数据如与本研究所用的 Y-STR 检验系统结合, 建立 Y-STR 数据库技术, 对于排查犯罪嫌疑人具有重要价值。

本研究中 24 个 Y-STR 基因座中 Y-Filer 包含的 DYS438、DYS391、DYS437 基因座的 GD 值低于 0.5, 为 GD 值最低的 3 个基因座, 与其他文献相符<sup>[2,5-7]</sup>。其他基因座在广东汉族人群中均为高度多态性遗传标记。而新增的 7 个 Y-STR 基因座中 DYS527a/b 及 DYS449 的 GD 值排在前 3 位。800

个广东汉族男性无关个体中观察到基因座共发现 192 个等位基因, 94 种单倍型, 且均为唯一单倍型。可见, AGCU Y24 STR 试剂盒新增的 7 个 Y-STR 基因座明显提高了系统的遗传多态性。对于 Y 染色体来说, 其单倍型多样性与个人识别能力、非父排除率意义相同。理论上单倍型多样性值 (HD 值) 越接近 1, 鉴别能力越强, 本文中 AGCU Y24 STR 试剂盒检测的 24 个 Y-STR 基因座 HD 值为 0.999981。本研究结果得到的遗传学数据显示, AGCU Y24 STR 试剂盒有重要的法医学应用价值, 在家系排查、亲缘搜索、来源人群推断、混合样本检验、亲缘关系鉴定等方面有良好的应用前景。

### 参 考 文 献

- [1] Coble MD, Hill CR, Butler JM. Haplotype data for 23 Y-chromosome markers in four U. S. population groups. *Forensic Sci Int Genet*, 2013, 7: e66-e68.
- [2] Weng W, Liu H, Li S, et al. Mutation rates at 16 Y-chromosome STRs in the South China Han population. *Int J Legal Med*, 2013, 127: 369-372.
- [3] 刘宏, 刘超, 刘长晖, 等. 广州地区非洲籍群体 17 个 Y-STR 基因座遗传多态性及群体遗传分析. *新医学*, 2012, 43: 559-562.
- [4] Hedman M, Neuvonen AM, Sajantila A, et al. Dissecting the Finnish male uniformity: the value of additional Y-STR loci. *Forensic Sci Int Genet*, 2011, 5: 199-201.
- [5] Liu C, Liu H, Li Y, et al. Development of a 24-plex Y chromosomal STR loci typing system. *Forensic Sci Int Genet*, 2013, 4S: e67-e68.
- [6] 杜泓, 胡政明, 余光. 辽南地区汉族人群 19 个 Y-STR 基因座的遗传多态性. *法医学杂志*, 2013, 29: 375-377.
- [7] 杨立, 蔡继峰, 常云峰, 等. 湖南汉族人群 16 个 Y-STR 基因座遗传多态性. *中国法医学杂志*, 2011, 26: 136-137.
- [8] 焦伟, 刘斐, 黎海澜, 等. 16 个 Y-STR 基因座在广西苗族、瑶族、侗族人群中的遗传多态性. *法医学杂志*, 2012, 28: 355-358.

(收稿日期: 2014-09-02)

(本文编辑: 林燕薇)