

一例亲子鉴定中 D2S441 基因座母系突变的检测案例分析

林翠霞¹, 宋健文^{2*}

(1. 广东广安法医临床司法鉴定所, 广州 510000; 2. 广东司法警官职业学院司法鉴定研究所, 广州 510000)

摘要: **目的** 检测并分析母系突变的亲子鉴定案件, 研究基因突变的意义和影响。**方法** 采用 Microreader™ 21D ID System 试剂盒、Microreader™ 23SP ID System 试剂盒和 Huaxia™ Platinum 扩增试剂盒对 1 例疑似存在遗传异常的家系进行常染色体 STR 检测分析。**结果** D2S441 基因座发生了母系突变, 通过增加位点辅助检测, 分别用二联体、三联体公式计算达到认定标准。**结论** 母系突变的发生概率较低, D2S441 基因座发生母系突变的检测研究提供数据材料。

关键词: 母系突变; 亲子鉴定; D2S441; 等位基因突变

0 引言

法医物证中运用规范和标准方法对常染色体短串联重复序列(STR)进行检测分析是亲权鉴定和个体识别的首选方法。STR 基因座的突变主要由于 DNA 在复制过程中发生滑动或错配, 导致 STR 基因座重复单位数目的变化, 通常表现为增加或减少一个重复单位的一步突变, 约占突变现象的 90%^[1]。根据文献报道, STR 基因座的平均突变率达到 2×10^{-3} ^[2], STR 突变性别特异性高, 母系突变较为罕见^[3-6]。在津巴布韦一项 1135 例案件研究中父系和母系突变率分别为 0.0021 和 0.0011, 其中 D2S441 为突变率最低的位点之一^[7], 而中国尚未发现 D2S441 母系突变的相关报道。因此, D2S441 母系突变的发现具有重要研究意义, 本案例通过不同试剂盒检测验证及不同计算方式进行分析, 为此基因座母系突变的研究提供数据基础。

1 案例资料

1.1 案情摘要

1 例亲子鉴定分析: 委托四人(被检父(AF)、孩子 1(C1)、孩子 2(C2)、生母(M))亲子鉴定案件, 四名被鉴定人均未有骨髓移植、输血及放化疗等病史。按照知情同意原则, 经无菌操作采集被鉴定人的指尖血少许。

1.2 鉴定过程

(1) 检验仪器: ABI9700PCR 仪、ABI3130XL 型基因分析仪等。

(2) 参照《法庭科学 DNA 实验室检验规范》(GA/T 383—2014)^[8] 中 FTA 卡法提取上述检材的 DNA。

(3) 取上述检材的 DNA 提取产物适量, 用荧光标记 STR 复合扩增试剂盒 Microreader™ 21D ID System(苏州阅微)、Microreader™ 23SP ID System(苏州阅微)、Huaxia™ Platinum 扩增试剂盒(ABI 公司)进行 10 μ L 体系扩增(操作步骤按试剂盒说明), 并设立阴性及阳性对照。

(4) 扩增产物应用 ABI3130XL 型基因分析仪进行电泳分离, 用 Gene Mapper 基因座分析软件对电泳数据进行分析, 得到上述检材的基因分型。

(5) STR 多态性检验结果。本例案件中采用苏州阅微基因技术有限公司的 Microreader™ 21D ID System 试剂盒和 Microreader™ 23SP ID 试剂盒共检测 39 个 STR 常染色体基因座: D3S1358、vWA、FGA、D8S1179、D21S11、D5S818、D18S51、D16S539、D13S317、D7S820、D6S1043、PentaE、TPOX、PentaD、D2S441、D12S391、D14S608、D2S1338、D6S477、D18S535、D19S253、D15S659、D11S2368、D20S470、TH01、D1S1656、CSF1PO、D7S3048、D8S1132、D4S2366、D21S1270、D13S325、D9S925、D3S3045、D22-

基金项目: 粤高职工公安司法与公共管理教指委 2023 年度教育教学改革项目(2023YL16)

第一作者: 林翠霞, 研究方向为法医物证学。

*** 通信作者:** 宋健文, 硕士, 副教授、副主任法医师, 研究方向为法医鉴定、毒品成瘾康复。E-mail: fayisong@163.com

GATA198B05、D10S1435、D17S1290、D19S433、D5S2500。
本检测系统的累积非父排除率达 0.9999 以上。

2 结果与分析

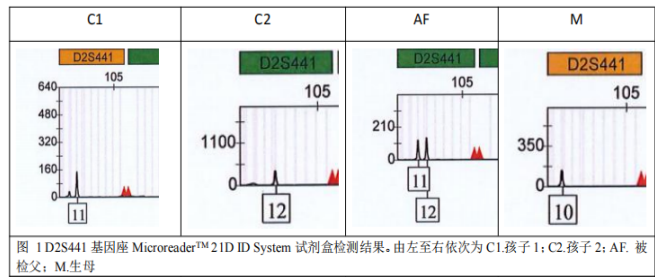
2.1 D2S441 基因突变

根据《亲权鉴定技术规范》(GB/T 37223-2018)^[9] 的公式分两种方式进行计算。若分别以 AF/M-C 二联体进行分析，在 Microreader™ 21D ID System 检测的 21 个基因座， $CPI_{F/C1}$ 为 1.5654×10^6 ， $CPI_{F/C2}$ 为 3.3178×10^7 ，均大于 10000，达到认定标准。值得注意的是，在 D2S441 基因座，计算 $PI_{M/C1}$ 为 0.0031， $PI_{M/C2}$ 为 0.0005， $CPI_{M/C1}$ 为 3.5965×10^4 ， $CPI_{M/C2}$ 为 7.4334×10^3 ， $CPI_{M/C2}$ 未达到认定标准(如表 1~2 所示)。Microreader™23SP ID 试剂盒的检测共计 39 个基因座， $CPI_{F/C1}$ 为 3.3045×10^{13} ， $CPI_{F/C2}$ 为 2.1296×10^{14} ，均大于 10000，达到认定标准。 $CPI_{M/C1}$ 为 1.3431×10^{10} ， $CPI_{M/C2}$ 为 4.2022×10^{10} ，均大于 10000，达到认定标准。

若以生母为前提，按 AF-M-C 三联体进行分析，在 Microreader™ 21D ID System 检测的 21 个基因座，在 D2S441 基因座，计算 PI_{trio1} 为 1.5253，计算 PI_{trio2} 为 2.6137， CPI_{trio1} 为 3.4329×10^8 ， CPI_{trio2} 为 1.1676×10^{10} ，均大于 10000，达到认定标准。Microreader™23SP ID 试剂盒的检测共计 39 个基因座， CPI_{trio1} 为 5.6292×10^{18} ， CPI_{trio2} 为 1.30434×10^{20} ，均大于 10000，达到认定标准(如表 3 所示)。

在本次 Microreader™21D ID System 试剂盒检测中，M 和 C1、C2 在 D2S441 基因座上均表现为纯合子峰型，且 C1、C2 的基因分型均能从 AF 中找到来源，无法从 M 的基因分型中找到来源。经 Microreader™21D ID System(表 1 和表 2)试剂盒检测，再经 Microreader™23SP ID System(表 3)试剂盒进行加位点辅助检测，发现 C1、C2 在检测的试剂盒中所有基因座的基因分型均能在 AF 中找到来源。

因此，子 1(C1)、子 2(C2)、父(AF)和母(M)的 D2S441 基因座基因分型分别为 11/11、12/12、11/12、10/10，不符合孟德尔遗传规律(图 1)，而其余基因暂未发现类似情况。



注：由左至右依次为 C1. 孩子 1；C2. 孩子 2；AF. 被检父；M. 生母

图 1 D2S441 基因座 Microreader™ 21D ID System 试剂盒检测结果

表 1 采用 Microreader™ 21D ID System 试剂盒检测常染色体 STR 基因座分型结果

STR 基因座	AF	C1	M	PI(AF/C1)	PI(M/C1)	PI(trio)
D19S433	14,2,15,2	14,2,15	13,2,15	2.2046	3.8880	4.4092
D5S818	10,11	9,10	9,11	1.3990	3.2300	2.7980
D21S11	29,30	29,32,2	32,32,2	0.9137	2.2046	1.8275
D18S51	14,16	14,15	14,15	1.2255	2.7270	1.3495
D6S1043	13,19	14,19	11,14	1.7007	1.7960	3.4014
D3S1358	17	17,18	17,18	2.5291	4.6659	3.6873
D13S317	8	8	8,12	3.7693	1.8847	3.7693
D7S820	10,11	11	8,11	1.4819	1.4819	1.4819
D16S539	11,12	11,13	10,13	1.0309	2.4462	2.0619
CSF1PO	10,12	10,11	10,11	1.0697	2.0885	1.0436
Penta D	9,12	12	12,14	3.1037	3.1037	3.1037
D2S441*	11,12	11	10	1.5253	0.0031	1.5253
vWA	14,20	17,20	17	32.0513	2.0661	64.1026
D8S1179	12,13	13,15	10,15	1.1832	1.3550	2.3663
TPOX	8,11	8,11	8,11	1.3233	1.3233	1.2284
Penta E	11,20	11,17	11,17	2.2831	5.0889	2.5176
TH01	9	9	9	1.8965	1.8965	1.8965
D12S391	17,18	17,18	17,19	3.4851	2.4108	2.1487
D2S1338	16,18	18,19	18,19	1.9984	3.5265	1.7319
FGA	25,26	22,25	18,22	2.3878	1.3843	4.7755
AMEL	X,Y	X	X	-	-	-

表 2 采用 Microreader™ 21D ID System 试剂盒检测常染色体 STR 基因结果

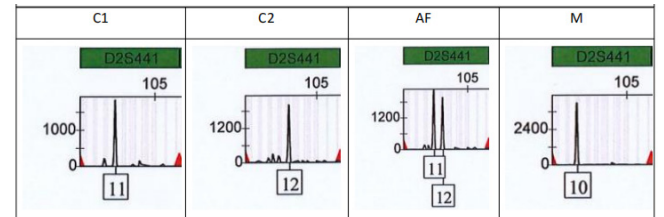
STR 基因座	AF	C2	M	PI(AF/C2)	P(M/C2)	PI(trio)
D19S433	14,2,15,2	13,2,14,2	13,2,15	2.2046	5.7737	4.4092
D5S818	10,11	11	9,11	1.5038	1.5038	1.5038
D21S11	29,30	30,32	32,32,2	0.8600	10.9170	1.7200
D18S51	14,16	15,16	14,15	2.0542	1.5015	4.1085
D6S1043	13,19	14,19	11,14	1.7007	1.7960	3.4014
D3S1358	17	17	17,18	5.0582	2.5291	5.0582
D13S317	8	8	8,12	3.7693	1.8847	3.7693
D7S820	10,11	11	8,11	1.4819	1.4819	1.4819
D16S539	11,12	12,13	10,13	1.1489	2.4462	2.2978
CSF1PO	10,12	11,12	10,11	0.6550	1.0187	1.3099
Penta D	9,12	9,12	12,14	2.3643	1.5518	1.6250
D2S441*	11,12	12	10	2.6137	0.0005	2.6137
vWA	14,20	17,20	17	32.0513	2.0661	64.1026
D8S1179	12,13	10,13	10,15	1.1832	2.5432	2.3663
TPOX	8,11	11	8,11	1.6779	1.6779	1.6779
Penta E	11,20	11	11,17	4.5662	4.5662	4.5662
TH01	9	9	9	1.8965	1.8965	1.8965
D12S391	17,18	17	17,19	4.8216	4.8216	4.8216
D2S1338	16,18	18	18,19	3.9968	3.9968	3.9968
FGA	25,26	22,25	18,22	2.3878	1.3843	4.7755
AMEL	X,Y	X,Y	X	-	-	-

表 3 采用 Microreader™23SP ID System 试剂盒检测常染色体 STR 基因结果

STR 基因座	AF	C1	M	PI(AF/C1)	P(M/C1)	PI(trio)
D6S477	12,14	12,15	13,15	4.2808	0.8660	8.5616
D18S535	9,13	9,14	14,15	1.3550	0.8732	2.7100
D19S253	7,13	7,13	7,13	2.7195	2.7195	2.6918
D15S659	12	12,13	12,13	2.1617	2.9762	2.7533
D11S2368	21,22	21,22	18,22	3.7138	2.5800	2.2676
D20S470	10,12	12,16	11,16	5.7737	1.3881	11.5473
D1S1656	14,15	15,17.3	17,17.3	0.8544	3.8880	1.7088
D22-GATA198B05	20,21	20,21	21,22	3.5890	0.8418	5.4945
D16S539	11,12	11,13	10,13	1.0309	2.4462	2.0619
D7S3048	18,24	21,24	21	1.5235	4.5249	3.0469
D8S1132	18,22	19,22	19,20	2.1133	1.3340	4.2265
D4S2366	9,11	9	9,11	1.6978	1.6978	1.6978
D21S1270	10,12	10,12	10,14	6.8398	0.8732	11.9332
D13S325	21,22	19,22	19,22	1.8671	2.9170	1.3441
D9S925	14,17	16,17	16	1.1018	1.7088	2.2036
D3S3045	13,14	9,13	9,14	1.2346	0.7474	2.4691
D14S608	10,11	7,10	7,10	1.0903	2.2365	1.1176
D10S1435	13,14	13	10,13	2.0056	2.0056	2.0056
D12S391	17,18	17,18	17,19	3.4851	2.4108	2.1487
D2S1338	16,18	18,19	18,19	1.9984	3.5265	1.7319
D17S1290	10,17	10,11	11,17	6.7568	5.1867	13.5135
D5S2500	11,14	14	14,15	6.7114	6.7114	6.7114
AMEL	X,Y	X	X	-	-	-

2.2 D2S441 基因表达二次检验

根据 GA/T 1163—2014《人类 DNA 荧光标记 STR 分型结果的分析及应用》^[10] 对所检测的图谱进行观察分析突变 STR 基因座的峰高和峰面积, Microreader™21D ID System 试剂盒检测的 M、C1、C2 在 D2S441 基因座的峰高和峰面积来看(图 1), 无法判断是否基因沉默或基因漏检。通过 Huaxia™Platinum 扩增试剂盒检测验证, M、C1、C2 的峰高和峰面积可以排除基因沉默或等位基因漏检的情况(图 2)。



注: 由左至右依次为 C1. 孩子 1; C2. 孩子 2; AF. 被检父; M. 生母

图 2 D2S441 基因座 Huaxia™Platinum 扩增试剂盒检测结果

通过对比 Microreader™21D ID System 试剂盒和 Huaxia™Platinum 扩增试剂盒(STR 常染色体基因座包涵 D3S1358、vWA、FGA、D8S1179、D21S11、D5S818、D18S51、

D16S539、D13S317、D7S820、D6S1043、PentaE、TPOX、PentaD、D2S441、D12S391、D2S1338、TH01、D1S1656、CSF1PO、D19S433、D22S1045、D10S1248)检测结果, AF、C1、C2、M 四人在两个不同厂家生产的常染色体试剂盒包涵相同的 20 个常染色体基因座分型结果一致(表 1~4)。本案例母亲(M)分别与子 1(C1)、子 2(C2)在 D2S441 基因座上不符合孟德尔遗传规律, 因此判断为 D2S441 基因座“母系突变”。

表 4 采用 Huaxia™Platinum 扩增试剂盒检测常染色体 STR 基因结果

STR 基因座	AF	C1	C2	M
D3S1358	17	17,18	17	17,18
vWA	14,20	17,20	17,20	17
D16S539	11,12	11,13	12,13	10,13
CSF1PO	10,12	10,11	11,12	10,11
TPOX	8,11	8,11	11	8,11
D8S1179	12,13	13,15	10,13	10,15
D21S11	29,30	29,32.2	30,32	32,32.2
D18S51	14,16	14,15	15,16	14,15
Penta E	11,20	11,17	11	11,17
D2S441*	11,12	11	12	10
D19S433	14.2,15.2	14.2,15	13.2,14.2	13.2,15
TH01	9	9	9	9
FGA	25,26	22,25	22,25	18,22
D22S1045	15,17	11,15	15,17	11,17
D5S818	10,11	9,10	11	9,11
D13S317	8	8	8	8,12
D7S820	10,11	11	11	8,11
D6S1043	13,19	14,19	14,19	11,14
D10S1248	14,17	15,17	13,14	13,15
D1S1656	14,15	15,17.3	14,17	17,17.3
D12S391	17,18	17,18	17	17,19
D2S1338	16,18	18,19	18	18,19
Penta D	9,12	12	9,12	12,14
Y-indel	2	-	2	-
Amelogenin	X,Y	X	X,Y	X

注: 基因座带 * 为突变基因

3 讨论与结论

在实际的亲权鉴定工作中, 如果发现被检父母的某一方存在某个等位基因不能遗传给亲代时, 除了需要考虑该基因座是否发生基因突变, 还需要排除该基因座上是否存在基因沉默或者等位基因漏检的现象^[11-12]。从遗传学角度来看, STR 基因座的突变虽然在总体上发生率相对较低, 但却可能对个体识别、亲权鉴定等法医实践产生深远影响。传统的 STR 分析基于等位基因的稳定遗传模式, 然而突变事件的存在挑战了这种常规认

知。若发生基因突变,需要分析是“父系突变”“母系突变”还是“无法判断”,进而才可以根据《亲权鉴定技术规范》(GB/T 37223—2018)中规定的计算方法进行计算,得出被检父母与孩子之间是否存在亲子关系。

根据研究,STR基因座发生突变机制的共识是DNA复制滑动(replication slippage)或称滑动错配(slip strand mispairing),表现为基序的插入或缺失,从而使新合成的DNA链增加或减少1个或多个基序,对应则被称为一步突变或多步突变^[13]。人体生殖细胞通过减数分裂形成配子的过程中,男性精子有丝分裂的次数比女性的配子细胞分裂次数多,有文献统计报道称女性突变率是男性突变率的0.25倍^[3-6]。D2S441基因座发生突变的报道较少,而在D2S441基因座发生母系突变的案例更是未见相关报道。

从本案例检验结果来看,在D2S441基因座,M的等位基因10突变成C1的等位基因11为一步突变,突变成C2的等位基因12为二步突变。用Microreader™ 21D ID System试剂盒检测时,若二联体计算方式,在D2S441基因座, $PI_{M/C1}$ 是 $PI_{M/C2}$ 的6.2倍, $CPI_{M/C1}$ 是 $CPI_{M/C2}$ 的4.8倍,可见在检测20个常染色体基因座时,除基因频率影响外,突变步数越多,亲权指数或累计亲权指数越低,甚至出现达不到认定标准。加位点至39个基因座时, $CPI_{M/C2}$ 反而略大于 $CPI_{M/C1}$,且均大于认定标准,可见二联体亲子鉴定遇到基因突变时,增加位点检测有利于判定亲权关系。若三联体计算方式,检测20个常染色体时, PI_{trio1} 是 PI_{trio2} 的0.58倍, CPI_{trio1} 是 CPI_{trio2} 的0.0029倍,检测39个基因座时, CPI_{trio1} 是 CPI_{trio2} 的0.043倍,二步突变的亲权指数或累计亲权指数反而比一步突变的数值大。在D2S441基因座,计算 PI_{trio1} 是 $PI_{M/C1}$ 的492倍, PI_{trio2} 是 $PI_{M/C2}$ 的5227倍,随着检测STR基因座数目的增加,不管是二联体还是三联体的CPI都随之增大,而三联体 CPI_{trio} 增大的幅度更大,证明三联体的证据力度比二联体的要更大。因此,综合判断该亲子鉴定结果为D2S441基因座母系突变,此次检测结果有望为D2S441基因座后续的检测和结果分析提供参考价值。

D2S441基因座发生的母系突变凸显了即使母系突变在亲权鉴定案例中相对罕见的情况下,突变仍有发生的可能性。这一发现提示在进行亲权鉴定时,不能仅仅依赖于常规STR基因座的匹配情况,对于可能出现的突变情况需要有更为深入的考虑与检测策略:(1)当遇到亲子关系在某些STR基因座存在不符时,需深入探究基因失活或等位基因遗漏与基因变异的可能性,而不是轻易排除亲子关系。(2)不同实验员检测或者不同实验室间不同仪器检测的同时需要结合其他厂家生产的检测试剂

盒进行进一步验证,从而更全面地判断和解析STR突变的机制与规律;(3)若存在突变,二联体鉴定时尽量补充另一方生父或者生母样本进行比对计算或者三联体鉴定;(4)当存在突变未达到认定标准,需增加常染色体基因座检测,必要时增加X、Y性染色体、SNP、线粒体等辅助检测,以更好地确定突变的来源和方向,进而根据具体突变得出对应的分析方式及客观的鉴定结论。

参考文献

- [1] 兰菲菲,梁杰,胡听听,等.常染色体STR基因座母源突变的观察分析与亲权指数计算[J].中国生育健康杂志,2022,33(04):330-336.
- [2] BRINKMANN B, KLINTSCHAR M, NEUHUBER F, et al. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat [J]. Am J Hum Genet, 1998, 62(06):1408-1415.
- [3] 李海霞,马晓燕,张晋湘,等.24个常用STR基因座的突变观察与分析[J].中山大学学报(医学科学版),2010,31(01):13-16.
- [4] 候一平.法医物证学4版[M].北京:人民卫生出版社,2016.
- [5] 刘素娟,李成涛,陈文静,等.常染色体STR突变率的研究[J].中山大学学报(医学科学版),2013,34(03):326-330.
- [6] 穆豪放,徐达,刘滨,等.227例疑似常染色体STR基因座突变的回顾分析[J].法医学杂志,2013,29(03):196-198.
- [7] THELINGWANI RS, JONHERA CA, MASIMIREMBWA C. Analysis of data and common mutations encountered during routine parentage testing in Zimbabwe [J]. Sci Rep, 2024, 14(01):1385-1394.
- [8] 中华人民共和国公安部.法庭科学DNA实验室检验规范:GA/T 383—2014[S].北京:中国标准出版社,2014.
- [9] 国家市场监督管理总局,国家标准化管理委员会.亲权鉴定技术规范:GB/T 37223—2018[S].北京:中国标准出版社,2018.
- [10] 中华人民共和国公安部.人类DNA荧光标记STR分型结果的分析及应用:GA/T 1163—2014[S].北京:中国标准出版社,2014.
- [11] 彭苗苗,周炜.亲子鉴定中D21S11和D2S1338基因座母系突变两例[J].生物化工,2023,9(02):85-88.
- [12] 彭苗苗.7例母系突变的亲子鉴定案例分析[J].生物化工,2023,9(03):87-91.
- [13] 徐冬冬,王韵,杨慧凌,等.亲子鉴定中PentaE突变1例[J].中国法医学杂志,2020,35(04):444-445.