第28卷第3期
2019年6月
激 光 生 物 学 报
ACTA LASER BIOLOGY SINICA
Vol. 28 No. 3
Jun. 2019

STR基因座中检测出三带型等位基因2例

王亚丽[1#]，宋振祥[2#]，白慧茹[1]，顾 捷[1]，周圆圆[1]，张佳怡[1]，贾富全[1]，杨 越[1]，陈丽琴[1*]

（1. 内蒙古医科大学基础医学院法医学实验室，内蒙古 呼和浩特 010030；
2. 内蒙古医科大学附属医院心脏大血管外科，内蒙古 呼和浩特 010030）

摘 要：针对出现的三等位基因2例亲子鉴定案件，同时检测其唾液斑及毛发，应用Goldeneye 20A、PowerPlex 6C、Investigator 24plex QS及华夏白金试剂盒进行检测验证。结果显示在2例二联体亲子鉴定案件中，一例母亲的D18S51基因座分型为13/16，孩子的分型为15/16/17；另一例父亲的D7S820基因座分型为8/11/12，孩子的分型为10/11。唾液斑及毛发样本结果与FTA血卡结果一致，应用Goldeneye 20A、PowerPlex 6C系统、Investigator 24plex QS及华夏白金试剂盒验证检测的结果相同。在日常亲子鉴定案件中，出现三带型现象较为罕见，针对这种现象，需进行认真判读及确认，以保证检测结果的准确性。

关键词：法医遗传学；短串联重复序列；三带型等位基因
中图分类号：R394 **文献标志码**：A **DOI**：10.3969/j.issn.1007-7146.2019.03.009

Two Cases of Three-banded Patterns of Short Tandem Repeat Loci

WANG Yali[1#], *SONG Zhenxiang*[2#], *BAI Huiru*[1], *GU Jie*[1], *ZHOU Yuanyuan*[1],
ZHANG Jiayi[1], *JIA Fuquan*[1], *YANG Yue*[1], *CHEN Liqin*[1*]
(1. Department of Forensic Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia, China;
2. The Affiliated Hospitals of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia, China)

Abstract: Two cases of three-banded pattern were detected with their saliva spots and hairs by Goldeneye 20A kit, PowerPlex 6C, Investigator 24plex QS and Huaxia Platinum kit. One case of tri-allele in children in D18S51(15/16/17) and the type of this loci of the children's mother is 13 and 16, another case of tri-allele in father in D7S820(8/11/12) and the child is 10 and 11 were genotyped with Goldeneye 20A kit. The results of saliva spot and hair samples are consistent with those of FTA blood card. The results were the same as those by PowerPlex 6C, Investigator 24plex QS and Huaxia Platinum kit. More attention should be paid to the paternity testing because of the rare three-banded patterns of STR loci.

Key words: forensic genetics; short tandem repeat; three-banded patterns.

法医遗传学鉴定的主要工作内容是个体识别和亲权鉴定[1]。目前法医DNA实验室普遍使用的是

收稿日期：2018-11-07；**修回日期**：2019-03-25。
基金项目：上海市法医学重点实验室开放课题项目（KF1813）；内蒙古医科大学青年创新基金项目（YKD2017QNCX010）；内蒙古医科大学实验室开放基金项目（2018KF03）。
作者简介：#共同第一作者。王亚丽，助理实验师；宋振祥，住院医师。
* **通讯作者**：陈丽琴，教授，主要从事法医遗传学和法医病理学研究。E-mail：lqchenyj@163.com。

短串联重复序列(short tandem repeat,STR)为核心序列(2～7 bp)重复的长度多态性遗传标记[2]。通常 STR 基因座为二等位基因,当两个等位基因相同时为纯合子,表现为 1 个峰;当两个等位基因不同时为杂合子,表现为 2 个峰[3]。1999 年 Crouse 等[4]首次发现 TPOX 基因座和 CSF1PO 基因座出现三带型(three-banded patterns),即表现为 STR 基因座上存在 3 个峰,又称为三等位基因(tri-alleles)[5]。三等位基因型主要分为两种峰型模式:Type1 与 Type2,具体见图 1[6]。

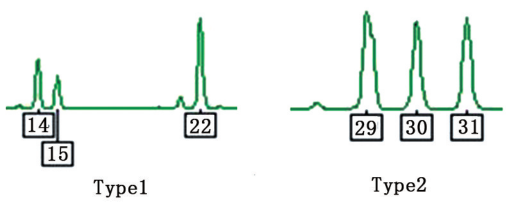

图 1　STR 基因座三带型两种类型

Fig. 1　Two types of three-banded pattern of STR loci

本人在整理本单位 2017-2018 年亲子鉴定案件时发现有两例出现三等位基因。现应用 4 种国内外商品化 STR 试剂盒对出现的三带型进行验证分析。

1　材料与方法

1.1　样本

本研究的 2 例样本来源于内蒙古医科大学司法鉴定中心日常亲子鉴定案件,其中一例为母子二联体,一例为父子二联体。其每个案件的样本类型均包含 FTA 卡上的血样、唾液斑和毛发。

1.2　主要试剂与仪器

Goldeneye 20A 试剂盒(基点认知技术有限公司,北京);标准品 9947A (基点认知技术有限公司,北京);PowerPlex 6C 系统(Promega 公司,美国);Investigator 24plex QS 试剂盒(Qiagen 公司,德国);标准品 9948(Qiagen 公司,德国);华夏白金 PCR 扩增试剂盒(Thermo Fisher 公司,美国);标准品 007 (Thermo Fisher 公司,美国)。

1.2 mm 孔径打孔器(Harris 公司,美国);9700 型 PCR 扩增仪(Thermo Fisher 公司,美国);3130 型基因分析仪(Thermo Fisher 公司,美国)。

1.3　PCR 扩增和 STR 分型

用 1.2 mm 孔径打孔器对 FTA 卡血样及唾液斑进行打孔取样;毛发采用 5% 的 Chelex 100 进行 DNA 提取。4 个试剂盒均采用 10 μL 反应体系进行 PCR 扩增。其中 Goldeneye 20A 与 PowerPlex 6C 系统均采用标准品 9947A 作为阳性对照,Investigator 24plex QS 试剂盒采用标准品 9948 作为阳性对照,华夏白金 PCR 扩增试剂盒采用标准品 007 作为阳性对照,去离子水作为阴性对照。PCR 扩增产物变性后,在 3130 型基因分析仪上进行毛细管电泳,Gene Mapper ID-X 软件对 STR 基因座进行分型。

2　结果与分析

2 例亲子鉴定的案件中,出现三等位基因的具体结果见表 1。其中 1 例为母子单亲鉴定,母亲的 D18S51 基因座分型为 13/16,孩子为 15/16/17;在 1 例父子单亲鉴定中,父亲的 D7S820 基因座分型为 8/11/12,孩子为 10/11,四种试剂盒检测结果一致,三种不同类型的检材检测结果一致,峰高比例及类型均一致,具体见图 2。

表 1　2 例亲子鉴定中三等位基因

Tab. 1　Two cases of three-banded pattern of paternity test

Loci	Sample type	Sample source	Chromosome position	Genotype	Three-banded patterns type
D7S820	Father and child	Father	7q21.11	8/11/12	Type1
D18S51	Mother and child	Child	18q21.33	15/16/17	Type1

通过对 STRbase 数据库的检索,发现目前常用的 22 个常染色体 STR 基因座(Goldeneye 20A、PowerPlex 6C、Investigator 24plex QS 及华夏白金 PCR 扩增试剂盒所包含)共收录的三带型共有 341 种,具体见表 2[6]。

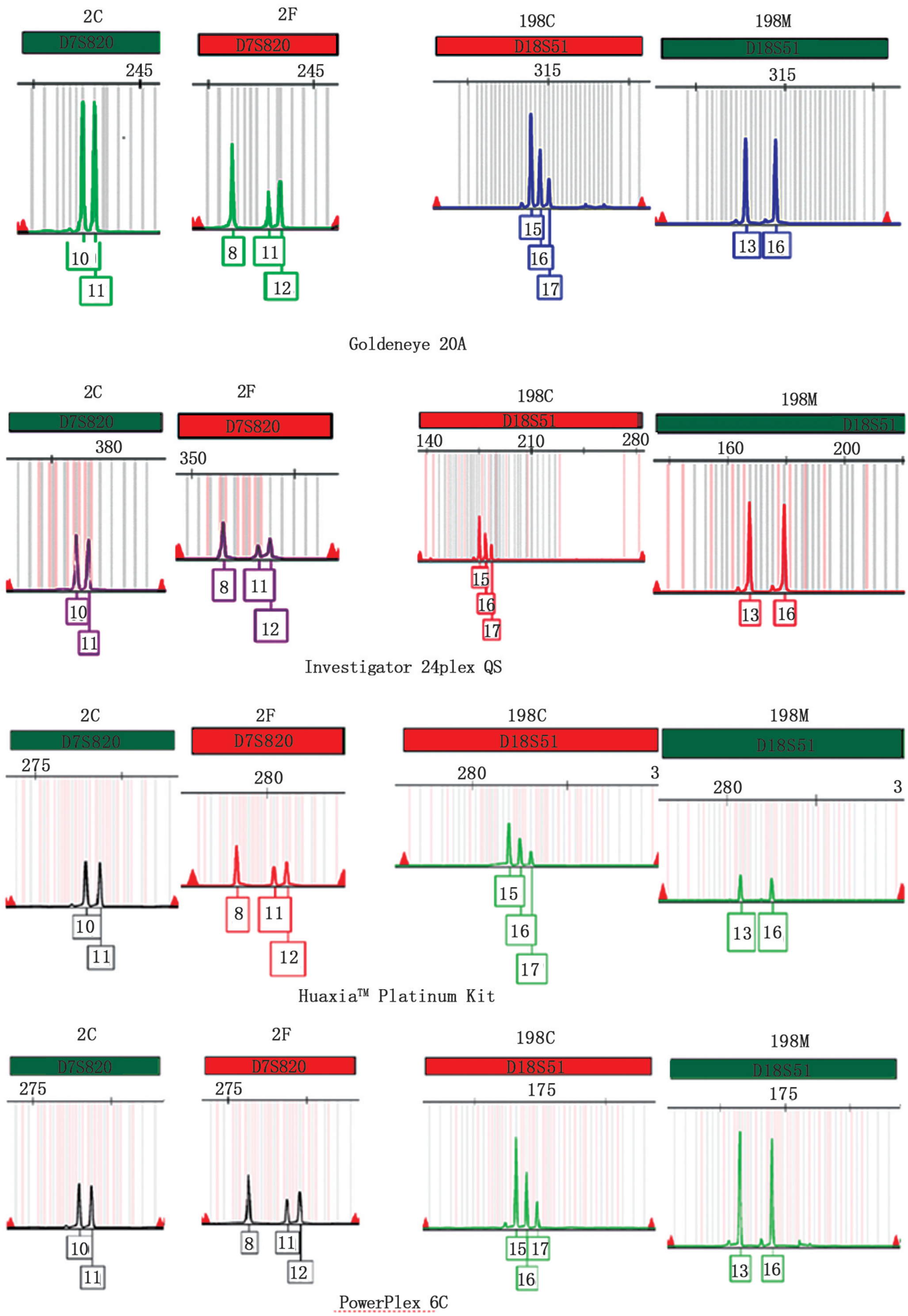

图 2　四种试剂盒对 2 例亲子鉴定中三等位基因复核验证

Fig. 2　Validation of two cases of three-banded patterns of paternity test with four kits

表 2　常用的 22 个 STR 基因座三等位基因分型

Tab. 2　Genotype of three-banded patterns of 22 autosomal STR loci

FGA(40)	CSF1PO(9)	vWA(26)	D3S1358(10)	D8S1179(22)	D18S51(44)
17/19/22	7/8/11	10.3/15/18	14/15/16	9/11/13	8/11/15
18/24/25	8/12/13	11/16/17	14/17/21	10/11/12	10/12/16
18.2/21/23	9/11/12	12/14/15	14/18/19	10/11/17	10/13/14

表 2(续)

FGA(40)	CSF1PO(9)	vWA(26)	D3S1358(10)	D8S1179(22)	D18S51(44)
18.2/22/23	9/12/13	12/18/19	15/16/17	10/12/13	11/13/17
18.2/24/25	10/11/12	14/15/16	15/17/18	10/12/14	12/13/14
19/20/21	10/12/13	14/15/17	15/18/21	10/12/15	12/13/15
19/20/22	10/13/14	14/15.1/17	16/17/18	10/13/14	12/13/16
19/20/23	11/12/13	14/15/18	16/17/19	10/14/15	12/13/18
19/20/24	11/13/14	14/16/18	16/18/19	11/12/13	12/14/15
19/20/26	**TH01(5)**	14/16/19	17/18/19	11/13/14	12/14/18
19/21/22	6/8/9	14/17/18/	**D5S818(7)**	11/14/15	12/15/19
19/22/23	6/9/10	14/18/19	7/10/11	11/15/16	12/16/17
19/22.3/23	7/8/9	15/16/17	9/12/13	12/13/14	12/17/18
19/23/24	7/9/9.3	15/16/20	10/11/12	12/13/15	12/18/19
19/24/25	8/9/10	15/17/18	10/12/13	12/14/15	13/14/15
19/25/26	**TPOX(17)**	15/17/19	10/13/14	12/15/16	13/14/16
20/21/22	6/8/10	15/18/19	11/12/13	12/16/17	13/14/17
20/21/23	6/9/10	15/19/20	11/13/14	12/17/18	13/14/21
20/21/24	6/10/11	15/20/21	**D7S820(22)**	13/14/15	13/15/16
20/22/23	6/10/12	16/17/18	8/8.1/10	13/15/16	13/15/19
20/23/24	7/8/10	16/17/19	8/9/9.1	14/15/16	14/15/16
20/29/30	7/9/10	16/18/19	8/9/10	14/16/17	14/15/17
21/22/22.2	7/10/11	17/18/19	8/9/11	**D21S11(27)**	14/15/19
21/22/23	8/9/10	17/18/20	8/9/12	26/28/29	14/15/22
21/22/24	8/9/11	17/19/20	8/10/11	27/31.2/33.2	14/16/17
21/24/25	8/10/11	18/19/20	8/10/10.1	28/29/30	14/16/18
21/25/26	8/10/12	23/24/25	8/10/13	28/29/31	14/16/22
21/25/46.2	8/11/12	**D13S317(16)**	8/10/14	28/29/33.2	14/17/18
21/26/27	8/11/14.3	5/8/13	8/11/12	28/30/31	14/18/19
22/23/24	9/10/11	8/9/11	8/13/16	28/30/31.2	14/19/20
22/24/25	9/10/12	8/9/12	9/9.1/10	28/30.2/32	15/16/20
22/25/26	9/11/12	8/9/13	9/9.1/11	28/30.2/32.2	15/16/17
22/26/27	10/11/12	8/10/11	9/9.1/11	28/31/32	15/17/18
22.2/23/23.2	**D16S539(13)**	8/11/12	9/9.1/12	28/31.2/32.2	15/18/19
22.2/23/25	7/11/12	8/11/13	9/10/10.1	29/30/31	15/19/20
23/24/25	9/9.2/11	8/13/14	9/10/14	29/30/32	15/23/24
23/25/26	9/10/11	9/10/11	9/11/14	29/30/32.2	15/24/25
23/27/29	9/10/12	9/11/12	10/10.1/11	29/30/33.2	16/17/18
24/25/26	9/11/12	9/13/14	10/11/12	29/30.2/31.2	16/17/19
24/26/27	9/13/14	10/11/12	10/11/13	29/31/32	16/17/20
25/26/27	9.2/11/12	10/11/15	10/11/14	29/31.2/32.2	16/19/20
25/28/29	10/12/13	10/12/13	10/12/14	29/32.2/33.2	16/21/22
SE33(19)	10/12/14.2	10/12/17	11/11.1/12	30/30.2/31/25	17/18/19
<4.2/19/26.2	11/12/13	11/12/13	11/12/12.1	30/30.2/33.2	17/19/20
13/19/20	11/13/14	11/12/14	11/12/14	30/31/32	19/20/21
14/29.2/30.2	12/13/14	11/13/14	11/12/17	30/31/33.2	19/22.2/23.2
16/19/20	12/14/15	11/14/15	**Penta E(15)**	30/33.2/34	**Penta D(12)**
17/18/19	**D2S1338(12)**	13/14/15	5/7/16	30.2/32.2/33.2	2.2/6/9
17/18/19.2	16/22/24	**D12S391(3)**	7/8/14	31/32/33	2.2/10/11
17/18/30.2	17/18/25	17/18/20	7/8/16	31.2/34.2/35.2	8/10/12
18/21/22	17/19/21	17/19/20	7/17/18	32.2/37/38	8/10/13
18/31.2/32.2	17/21/22	18/19/22	9/16/17	**D19S433(12)**	9/10/12
19/20/22.2	17/24/25	**D10S1248(2)**	11/12/14	12/13/14	9/10/13
20/21/23.2	17/25/26	12/13/15	11/14/15	12/14/15	9/11/12
20/21/24.2	18/19/20	13/14/16	11/16/17	12/15.2/16.2	9/12/13
21/29.2/30.2	19/20/22	**D22S1045(3)**	12/17/18	12.2/13.2/14	9/12/14
23/24/26.2	20/21/22	11/15/16	12/20/21	13/14/15	10/11/13
23.2/26.2/27.2	20/22/23	12/13/16	12/21/22	13/14/16	10/12/13
24.2/26.2/30.2	20/25/26	15/16/17	13/14/17	13/15/16	10/13/14
26.2/30.2/31.2	25/27/28	**D1S1656(5)**	13/16/17	14/14.2/15	
27.2/29.2/30.2		12/13/15.3	13/21/22	14/14.2/15.2	
28.2/29.2/30.2		14.3/15/16	14/18/19	14/15/16	
		15/15.3/16	15/16/17	14/15.2/16.2	
		15.3/16/17	16/17/18	14/16.2/17.2	
		16/17/18.3			

3 讨论

在亲子鉴定中,STR 基因座是目前应用最广泛的遗传标记。大多数个体(90%)STR 基因分型是两个条带,为杂合子,少数人(10%)分型为一个条带,为纯合子,极少数人分型出现三个条带,为三等位基因型[7]。三等位基因型主要分为两种峰型模式,Type1 是两个峰的峰高总和与第三个峰高接近,较为常见,其发生机制可能与杂合子基因座体细胞突变有关;Type2 是三个峰高相一致,其发生机制可能与杂合子基因座染色体重排有关[8]。本研究中发现的两例亲子鉴定出现三等位基因型,一例是孩子 D18S51 基因型为 15/16/17;另一例是父亲 D7S820 基因型为 8/11/12,这两例三等位基因型的峰型模式均属于 Type1。应用 4 款不同的试剂盒进行复核验证,其检测结果均一致,排除了因 PCR 非特异性扩增、泳道渗漏及实验过程中的污染所造成的假阳性结果。

常染色体 STR 基因座与 Y-STR 基因座中出现的三等位基因已被 STRbase 数据库所收录,目前常用的 22 个常染色体 STR 基因座(D19S433、D5S818、D21S11、D18S51、D3S1358、D13S317、D7S820、D16S539、CSF1PO、Penta D、vWA、D8S1179、TPOX、Penta E、TH01、D12S391、D2S1338、FGA、D22S1045、D1S1656、D10S1248、SE33)共收录的三带型共有 341 种。其中,D18S51 基因座出现三带型种类最多,为 44 种;D22S1045 基因座出现三带型种类最少,为 2 种,这可能与 D22S1045 基因座于 2017 年 1 月 1 日才强制纳入 20 个 CODIS 核心基因座有关[9-11],因此关于该基因座的相关文献报道较少。本研究中的 D18S51 三带型 15/16/17 与 D7S820 三带型 8/11/12 均已被 STRbase 数据库收录,但目前国内学者尚未对此类型三等位基因型报道。国内学者刘芳等[5]检测到 D18S51 基因座三等位基因分型为 13/18/19 与 12/22/23,均属于 Type1,D7S820 基因座三等位基因分型为 8/9/11,属于 Type2;兰菲菲等[12]报道 D7S820 基因座三带型分型为 8/11/12,属于 Type2;许泽辉等[13]通过对 3 600 例亲子鉴定案件检测发现 1 例 D18S51 基因座三带型分型(17/18/19),属于 Type1。陈玲等[14]对 29 111 名中国人群个体检测发现 3 种 D18S51 基因座三带型分型,分别为 14/15/17(Type2),13/19/20(Type1),13/14/15(Type1)。曾艳红等[6]在 5 500 名个体中检出 D18S51 的 2 种三带型分型:14/20/21 与 16/21/22,均属于 Type1。

目前三带型产生机制尚不清楚,学者大多认为:1)同源染色体不分离:在减数分裂时,当母系或者父系同源染色体不分离而整体遗传给子代,因此多了一条染色体,从而 STR 基因座中出现三带型,即三体综合征[15],较常出现的是染色体 18, 21, 13 三体综合征;2)同源染色体不等价交换产生等位基因重复的染色体异常[16];3)嵌合体:受精卵发育阶段,染色体不分离会产生不同基因型细胞,也会出现三带型[17];4)骨髓移植受体的体内有供体的细胞,可以检测到多条带,或不同组织检出不同的基因型[18];5)双胞胎在胚胎发育过程中出现血液交换,也会出现三带型等位基因[19];6)发生肿瘤病变时组织或细胞,如肺癌、消化道肿瘤、妇科肿瘤等,STR 基因座检测到三条或者三条以上的带[20]。

在日常亲子鉴定及个体识别案件中,一旦出现三带型等位基因,必须进行重复试验以及应用不同引物设计的试剂盒进行检测验证,有条件可以通过测序验证,同时要排除实验室污染及泳道渗漏等原因造成的假象,从而保证鉴定结果的准确性、科学性和可靠性。

参考文献(References):

[1] BUDOWLE B, MORETTI T R, BAUMASTARK A L, *et al*. Population data on the thirteen CODIS core short tandem repeat loci in African Americans, U. S. Caucasians, Hispanics, Bahamians, Jamaicans, and Trinidadians[J]. Journal of Forensic Sciences, 1999, 44(6): 1277-1286.

[2] EDWARDS A, HAMMOND H A, JIN L, *et al*. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups[J]. Genomics, 1992, 12(2): 241-253.

[3] 刘振平, 杨扬, 童继军, 等. 法医常用 STR 基因座三带型模式的分析[J]. 刑事技术, 2018, 43(2): 148-151.
LIU Zhenping, YANG Yang, TONG Jijun, *et al*. Triallelic STR loci in routine forensic analysis[J]. Forensic Science and Technology, 2018, 43(2): 148-151.

[4] 贾雲舒, 钱水, 周风蕾, 等. D13S317 基因座三等位基因遗传学分析[J]. 中国法医学杂志, 2015, 30(3): 312-313.
JIA Yunshu, QIAN Shui, ZHOU Fenglei, *et al*. Genetic analysis of D13S317 of triallelic STR loci[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2015, 30(3): 312-313.

[5] 刘芳, 任贺, 陈冲, 等. 三联体常染色体 STR 三带型基因座父权指数计算[J]. 刑事技术, 2017, 42(6): 471-475.
LIU Fang, REN He, CHEN Chong, *et al*. Patenity index calculated from the parents-offspring-triadic autosomal STR shown in three-banded patterns[J]. Forensic Science and Technology, 2017, 42(6): 471-475.

[6] Tri-Allelic Patterns reports[EB/OL]. https://strbase.nist.gov/tri_tab.htm, 2017.

[7] 曾艳红, 孙宏钰, 伍新尧, 等. STR 基因座中检出三带型等位基因 5 例[J]. 中国法医学杂志, 2003, 18(2): 112-113.
ZENG Yanhong, SUN Hongyu, WU Xinyao, *et al*. Five cases of three-banded patterns of short tandem repeat loci[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2003, 18(2): 112-113.

[8] CLAYTON T M, GUEST J L, URQUHART A J, *et al*. A genetic basis for anomalous band patterns encountered during DNA STR profiling[J]. Journal of Forensic Sciences, 2004, 49(6): 1207.

[9] HARES D R. Expanding the CODIS core loci in the United States[J]. Forensic Science International Genetics, 2012, 6(1): e52-e54.

[10] HARES D R. Addendum to expanding the CODIS core loci in the United States[J]. Forensic Science International Genetics, 2012, 6(5): e135.

[11] MARTIN P, SIMON L F D, LUQUE G, *et al*. Improving DNA data exchange: validation studies on a single 6 dye STR kit with 24 loci[J]. Forensic Science International Genetics, 2014, 13(7): 68-78.

[12] 兰菲菲, 陈延冰, 李海霞, 等. 1 例 D7S820 基因座三带型等位基因检出报告[J]. 热带医学杂志, 2015, 15(9): 1182-1184.
LAN Feifei, CHEN Yanbing, LI Haixia, *et al*. Report of one case of three-banded patterns of D7S820 loci[J]. Journal of Tropical Medicine, 2015, 15(9): 1182-1184.

[13] 许泽辉, 严提珍, 罗世强, 等. 两例短串联重复序列三带型等位基因的遗传多态性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2015, 7(2): 97-102.
XU Zehui, YAN Tizhen, LUO Shiqiang, *et al*. Genetic analysis of two cases of three-banded patterns of STR[J]. Journal of Molecular Diagnosis and Therapy, 2015, 7(2): 97-102.

[14] 陈玲, 刘超, 邱平明, 等. 常染色体 STR 基因座三带型的观察与分析[J]. 中国法医学杂志, 2014, 29(4): 316-318.
CHEN Ling, LIU Chao, QIU Pingming, *et al*. Observation and analysis of three-banded patterns of STR[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2014, 29(4): 316-318.

[15] 宋晓丽, 赵奇, 刘晓云, 等. D16S539 基因座中检出三带型等位基因及遗传分析[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2015, 36(2): 143-145.
SONG Xiaoli, ZHAO Qi, LIU Xiaoyun, *et al*. Genetic analysis of a tri-allelic variant case of the STR locus D16S539[J]. Journal of Jinan University (Natural Science & Medicine Edition), 2015, 36(2): 143-145.

[16] 魏淑荣, 张付瑶, 王峰. 亲子鉴定 Penta D 检出三等位基因 1 例[J]. 中国法医学杂志, 2013, 28(4): 357-357.
WEI Shurong, ZHANG Fuyao, WANG Feng. A tri-allelic variant case of the Penta D in paternity testing[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2013, 28(4): 357-357.

[17] 李璞. 医学遗传学(第 2 版)[M]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2004: 126-127.
LI Pu. Medicogenetics(Second edition)[M]. Beijing: China Union Medical University Press, 2004: 126-127.

[18] 周单华, 陈鹏宇, 余丽梅. 常染色体 STR 基因座三等位基因在法医 DNA 鉴定及临床实践中的意义[J]. 遵义医学院学报, 2018, 41(3): 384-388.
ZHOU Danhua, CHEN Pengyu, YU Limei. The significance of tri-allele on autosomal STR loci in forensic DNA testing and clinical paractic[J]. Journal of Zunyi Medical University, 2018, 41(3): 384-388.

[19] RUBOCKI R J, MCCUE B J, DJUFFY K J, *et al*. Natural DNA mixtures generated in fraternal twins in utero[J]. Journal of Forensic Sciences, 2001, 46(1): 120.

[20] 钟巧娥, 王景舟, 王红梅, 等. 人肺癌组织 19 个常染色体 STR 及性别基因座变异分析[J]. 中国法医学杂志, 2015, 30(1): 45-48.
ZHONG Qiaoe, WANG Jingzhou, WANG Hongmei, *et al*. A study on genetic alternation of 19 autosomal STR loci and Amel loci in human lung cancer tissues[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2015, 30(1): 45-48.

(上接第 263 页)

[18] GUO T, REPETTO G M, MCDONALD MCGINN D M, *et al*. Genome-wide association study to find modifiers for tetralogy of fallot in the 22q11.2 deletion syndrome identifies variants in the *gpr*98 locus on 5q14.3[J]. Circulation Cardiovascular Genetics, 2017, 10(5): e001690

[19] KNAPP B, WOLFRUM U. Adhesion GPCR-Related protein networks[J]. Handbook of Experimental Pharmacology, 2016, 234: 147-178.