

亲权鉴定中 D6S1043 基因座检出三带型等位基因 1 例

袁秀冰

广东链信司法鉴定所, 广东 东莞 523000

DOI:10.61369/MRP.2025110003

摘要 : 目的: 探讨在实际工作中进行亲权鉴定时, 如果遇到常染色体 STR 基因座在 DNA 基因图谱上表现为 3 条带或者 3 个基因峰, 是什么原因导致的, 以及如何计算亲权指数。方法: 用相同复合扩增试剂盒复核结果, 再选取另一种或多种不同厂家生产的复合扩增试剂盒进行确认, 多次实验结果相互验证三带型基因的存在。结论: 常染色体 STR 基因座在 DNA 基因图谱上表现为 3 条带或者 3 个基因峰为三等位基因或三带型等位基因, 产生此情况的机制目前仍不明确, 计算亲权指数在目前国内也并未有统一的计算方法, 需要综合分析从而选择最合适的计算方法, 得出更客观、更科学、更准确、更可靠的鉴定意见。

关键词 : 法医物证学; 亲权鉴定 STR 基因座; 三带型等位基因; 二代测序

One Trisomic Allele was Detected at Locus D6S1043 in Paternity Identification

Yuan Xiubing

Guangdong Lianxin Judicial Appraisal Institute, Dongguan, Guangdong 523000

Abstract : Objective: To investigate the causes of three-band or three-peak patterns observed in autosomal STR loci during paternity testing, and to establish standardized calculation methods. Methods: Results were cross-verified using identical composite amplification kits, with validation conducted through multiple experiments employing different manufacturers' kits. Conclusion: The three-band or three-peak patterns in autosomal STR loci indicate the presence of triallelic or tri-banded alleles. The underlying mechanisms remain unclear. Currently, there is no unified calculation standard for paternity indices in China. Comprehensive analysis is required to select optimal methods for obtaining more objective, scientifically rigorous, accurate, and reliable forensic identification conclusions.

Keywords : forensic science; paternity testing STR loci; three-strand alleles; second-generation sequencing

引言

法医 DNA 分型的研究和应用最初是从长度多态性开始的, STR 基因座重复单位为 2~6bp, 按重复单位的碱基数量可以称为二、三、四、五、六核苷酸序列等, 其中四核苷酸 STR 基因座在法医物证学亲权鉴定中最常用。D6S1043 的染色体定位是 6q15, 重复序列为 (AGAT) 和 (ACAT), 等位基因范围 7~25, 该常染色体 STR 基因座在汉族人群中的杂合度为 0.88, DP、DE 及 PIC 值分别为 0.97、0.76 及 0.86, 突变率为 0.20%, 起数量较多且频率分布相对均匀, 个体识别能力 (DP, discrimination power) 和非父排除概率 (PE, probability of exclusion) 均较高, 属于高多态性遗传标记^[1], 可以满足在法医物证实际工作中亲权鉴定案例中检测的常染色体 STR 基因座所需条件。在通常情况下, 每一个常染色体 STR 基因座都具有 2 个等位基因, 1 个来自父亲, 另 1 个来自母亲, 纯合子、杂合子基因座在 DNA 图谱上分别表现为 1 条型或 1 个基因峰、2 条带或 2 个基因峰, 但实际工作中, 某些检测的常染色体 STR 基因座有时会出现 3 条带或 3 个基因峰, 即为三等位基因或三带型等位基因。本文将把实际工作中进行亲权鉴定时遇到的 1 例 D6S1043 基因座三带型等位基因进行法医物证学分析。

一、材料与方法

(一) 案例

2025 年 3 月某日, 当事人疑父 F (男, 37 岁) 委托本机构对

其与孩子 Z (女, 1 月龄) 进行二联体亲权鉴定, 鉴定用途为办理户籍, 本机构对疑父 F、孩子 Z 两位被鉴定人采集了血液样本。

(二) 方法

首先将本机构所采集被鉴定人 F、Z 的血液样本通过 FTA 卡

作者简介: 袁秀冰 (1995.06—), 女, 汉族, 广东东莞人, 本科, 法医临床学、法医物证学。

法提取 DNA，再使用 MicroreaderTM 21 Direct ID System6色荧光标记复合扩增试剂盒和 9700型 PCR 扩增仪 [美国 AB 公司] 进行 20 个常染色体（累积非父排除概率 CPE>99.99%）及 1 个性染色体的 STR 基因座扩增，而后使用 ABI-3100 基因测序仪 [美国 AB 公司] 进行毛细管电泳并使用 GeneMapper ID-X 1.5 软件处理电泳数据，最后得出各个 STR 基因座分型，其中疑父 F 血液样本在 D6S1043 基因座出现了 3 个基因峰，为排除排除模板污染、PCR 扩增引起的非特异产物、内标或 ladder 分型是否正确等问题或 pull up、stutter、over lap 等人为峰干扰，本机构用相同的复合扩增试剂盒对疑父 F、孩子 Z 的血液样本重新检测从而进行对实验结果的复核，得出相同的 DNA 基因图谱分型。

被机构再使用另一种不同厂家生产的复合扩增试剂盒 (PowerPlex[®]21 System) 对疑父 F、孩子 Z 的血液样本用以上相同的方法、仪器进行检测，疑父 F 血液样本同样在 D6S1043 基因座出现了 3 个基因峰，其基因分型为 15.1, 18, 19，而且这 3 个基因峰的峰高相近，其电泳峰高和峰面积之比约为 1: 1: 1，并且基因分型与此前进行的两次使用复合扩增试剂 (MicroreaderTM 21 Direct ID System) 检测得出的基因分型一致，DNA 基因图谱分型如下：

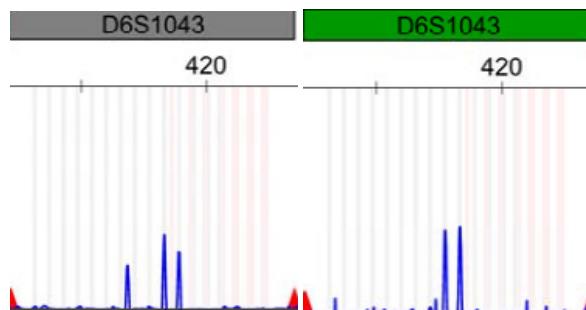


图1 疑父 F 的 D6S1043 基因座的基因分型 15.1, 18, 19

图2 孩子 Z 的 D6S1043 基因座基因分型为 17, 18

二、结果

(一) 形成机制

按现有的研究数据，三带型等位基因主要是两种类型，分别为 Typer1 和 Typer2，其中 Typer1 型在 DNA 基因图谱中表现为 2 个峰的峰高之和约等于另外 1 个峰的峰高；Typer2 型在 DNA 基因图谱中表现为 3 个峰的峰高都相近。据 Clayton^[2] 报道 Typer1 型的三带型等位基因最常见，而本文报道的案例由于疑父 F 的 D6S1043 基因座的基因分型 15.1, 18, 19 这三个峰的峰高相近，其电泳峰高和峰面积之比约为 1: 1: 1，属于 Typer2 型，并且该基因座三带型非常罕见。

按目前研究，形成三等位基因的原因尚不明确，其可能的原因为：1. 三体综合征；2. 同源染色体在减数分裂时出现不等交换；3. 受精卵发育阶段若发生染色体不分离，则可能产生由不同基因型细胞组成的嵌合体，出现三等位基因；4. 双胞胎在胚胎发育期间发生血液交换，产生三带等位基因；5. 染色体复制导致三个不同的染色体节段存在，形成三带等位基因，属于大跨度拷贝数多

态性 (large-scale copy number polymorphism, CNP)；6. 异基因骨髓或造血干细胞移植后形成的嵌合体，形成三或四等位基因。^[3] 由于本案例的疑父 F 只在 D6S1043 基因座出现了 3 个基因峰，该基因座不在 21 号染色体上，且否认双胞胎兄弟及骨髓移植等手术史，所以该三带等位基因形成的原因可能是同源染色体在减数分裂时出现不等交换或者染色体复制导致三个不同的染色体节段存在。

(二) 亲权指数计算

目前对于亲权鉴定案件中常染色体 STR 基因座涉及的三带型等位基因的，尚未有统一的亲权指数计算方法^[4]，所以通常将亲代传给子代的两位等位基因作为整体进行计算^[5]。三带型的其中两个等位基因可视为整体在群体中遗传的频率可以用这两个等位基因频率的乘积进行计算，但是若不能确认作为整体遗传的等位基因，可用任意两个等位基因频率乘积中的最小值进行估算^[6]。

本案件中，疑父 F 在 D6S1043 基因座的基因分型为 15.1, 18, 19，孩子 Z 在 D6S1043 基因座的基因分型为 17, 18，疑父 F 能提供给孩子 Z 必须的等位基因 18，遵循孟德尔遗传定律，因此计算其亲权指数为 1.4069；但是在 D19S433、D18S51、D13S317、CSF1PO、Penta D、D2S441、vWA、Penta E、D2S1338、FGA 这 10 个常染色体 STR 基因座中，疑父 F 不能提供给孩子 Z 必须的等位基因，不符合孟德尔遗传定律。经计算，该案例的累积亲权指数为 8.0792×10^{-29} (小于 0.0001)，可得出排除的鉴定意见^[7]。

三、讨论

(一) 确定三带型等位基因

在进行亲权鉴定的实际工作中，若在对样本检测中发现 DNA 基因图谱中有常染色体 STR 基因座出现 3 条带或者 3 个峰，不能马上确认为三带型等位基因。需要用同个复合扩增试剂系统对其进行二次实验，排除模板污染、PCR 扩增引起的非特异产物、内标或 ladder 分型是否正确等问题或 pull up、stutter、over lap 等人为峰干扰，若两次实验的 DNA 基因图谱中均出现 3 条带或者 3 个峰，且基因分型一致，则可初步认定为三带型等位基因^[8]。再进一步用不同的复合扩增试剂系统对其进行第三次检测，若出现的结果与前两次一致，通过三次检测结果的相互印证，则可确定该样本的常染色体 STR 基因座存在三带型等位基因。

(二) 亲权指数计算

亲权指数 (PI, parentage index) 是亲子鉴定中用于量化生物学亲缘关系的核心指标，是判断亲权关系所需的两个条件概率的似然比率，是判断证据强度的指标，PI 计算依据如下：

$$PI = \frac{\text{概率}(\text{检测到当事人的遗传标志型}/\text{假设被检测个体是孩子的生物学父亲或母亲})}{\text{概率}(\text{检测到当事人的遗传标志型}/\text{假设一个随机个体是孩子的生物学父亲或母亲})}$$

本文报道的案例，虽然疑父 F 在 D6S1043 基因座出现三带型基因，但是能提供给孩子 Z 必须的等位基因 18，且另外存在 10 个常染色体 STR 基因座 (D19S433、D18S51、D13S317、CSF1PO、Penta D、D2S441、vWA、Penta E、D2S1338、FGA) 中，疑父 F 不能提供给孩子 Z 必须的等位基因，不符合孟德尔遗传定律。经计算，该案例的累积亲权指数为 8.0792×10^{-29} (小于 0.0001)，可得出排除的鉴定意见^[7]。

FGA)不能提供给孩子Z必须的等位基因,不符合孟德尔遗传定律,因此减轻了亲权指数计算的难度,得出的鉴定意见更加科学、准确。但是当实际工作中遇到的二联体亲权鉴定,若检测的常染色体STR基因座中有个别出现三带型基因,且其余STR基因座均符合孟德尔遗传定律,在无法确定出现三带型基因的STR基因座如何通过父代传向子代时,应该增加常染色体STR基因座的检测数量,也可以采取二代测序明确三带型基因的序列,必要时采集另一方亲代的DNA样本进行三联体亲权鉴定,从而使鉴定意见更加可靠^[9]。

(三) DNA测序

目前,STR分型技术在法医物证学上被广泛应用,如亲权鉴定、个体识别、亲缘鉴定等均需用到此技术进行计算、分析,但其存在一定的局限性:若DNA结合复合扩增试剂盒里所设计的引物的结合位点发生变异,可能导致STR基因座的分型结果错误;若STR分型技术遇到三带型,由于引物、核苷酸核心序列等的突变,或者模板污染、PCR扩增引起的非特异产物、内标或ladder分型是否正确等问题或pull up、stutter、over lap等人为峰干扰,采用DNA测序可以确定三带型基因的存在及其核苷酸序列的组成;目前大部分STR基因座属于符合序列或复杂序列,就是说相同的基因座的核心重复序列有两种或两种以上,或同一基因座中等位基因间既有长度差异也有序列差异,STR基因分型技术无法识别STR等位基因座的核心重复序列微变异(包括SNP

等),采用DNA测序可以更准确得出核心重复序列组成;在近亲关系的亲权鉴定中,由于存在亲属关系,在其进行STR基因座分型时往往遇到多个常染色体STR基因座分型相同,导致增加误判的风险,而进行检测的复合扩增试剂盒和能够检测的常染色体STR基因座数量有限,采用DNA测序可以更好分析每个常染色体STR基因座的微突变,从而使鉴定意见更加科学、准确;在法医学检材的DNA中发生严重腐败、降解,进行STR基因座分型可能会获得不准确的STR基因座分型或无结果^[10]。

DNA测序(DNA sequencing)是DNA测序是解析DNA分子中碱基(A、T、G、C)排列顺序的技术,其发展经历了从一代到三代的迭代,一代DNA测序读长长、通量低、成本高,二代DNA测序读长短、通量极高、成本低,三代DNA测序读长极长、通量中、成本中,当前技术趋势是结合二代高通量与三代长读长优势,如IGS技术通过原位测序实现序列与空间结构联合分析。现DNA测序技术广泛应用于科研、医疗和工业领域,可提高在法医物证日常工作中遇到三带型基因、近亲关系的亲权鉴定等的准确率,也在法医学检材的个体识别、降解DNA中具有重要的应用价值。

结论:综上所述,参与法医物证工作的人员应该需通过实际案件积累鉴定经验,确保技术操作的准确性和规范性,并且多参与培训学习,提高自身的技术水平,优化实验室检测设备,从而使鉴定意见更加客观、科学、准确。

参考文献

- [1]张晨,丁梅,王保捷,庞灏,杨达,周勤虎,徐振亮,王巍巍,冯春梅.辽宁汉族人群D6S1043和D12S391基因座的遗传多态性[J].中国法医学杂志,2011,26(5):405-406.
- [2]Clayton TM, Guest JL, Urquhart AJ, et al. A genetic basis for anomalous band patterns encountered during DNA STR profiling[J]. J Forensic Sci, 2004, 49(6):1207-1214.
- [3]黄代新,杨庆恩.基因分型错误或异常的量化评估[J].中国法医学杂志,2008,23(3):189-192.
- [4]林汉光,许传超,唐剑频,邝文健,陈锐,赖小平,邱升元.常染色体STR三体基因座父权指数计算方法探讨[J].中国法医学杂志,2013,28(5):400-403.
- [5]Charles HB. Forensic mathematics[EB/OL].<http://charlesbrenner.com/>,2014-12-19/2014-12-25.
- [6]Lukka M, Tasa G. Ellonen Pet al. Triallelic patterns in STR loci used for paternity analysis: evidence for a duplication in chromosome 2 containing the TPOX STR locus[J]. Forensic Sci Int, 2006, 164(I):3-9.
- [7]李忠杰,郭成钢.D19S433基因座突变亲权鉴定1例[J].中国法医学杂志,2024,39(04):425-429.
- [8]任贺,陈冲,康霞,等.亲权鉴定中涉及骨髓移植后嵌合体STR基因分型1例[J].中国法医学杂志,2023,38(03):336-338.
- [9]肖南,于卫建,周世航,等.亲权鉴定中D18S51基因座等位基因丢失1例[C]//中国输血协会.中国输血协会第十届输血大会论文摘要汇编(2020.10 天津).大连血液中心;,2020:173.
- [10]赖力,黄肖利,林赛梅,等.亲权鉴定中性染色体STR基因座异常分型的研究[J].中国优生与遗传杂志,2015,23(11):7-9+2.