

• 综 述 •

# 亲权鉴定中常染色体 STR 基因座遗传学的研究进展

纪凤卿<sup>1</sup>综述,沈晓丽<sup>2</sup>△审校

(1. 厦门市中医院检验科,福建厦门 361009; 2. 福建省立医院司法鉴定所,福建厦门 351004)

**关键词:**串联重复序列; 基因座; 多态性,单核苷酸; 等位基因; 亲权鉴定**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.037**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2013)21-2871-03

短串联重复序列(short tandem repeats, STR)又称微卫星 DNA,是一种可遗传且具高度多态性的短核苷酸重复序列,广泛存在于人类基因组中。根据所分布的染色体不同,分为常染色体 STR 基因座和性染色体 STR 基因座。常染色体 STR 基因座具有种类多、分布广、高度多态性、高突变率、易检测等优点,是目前 DNA 亲权鉴定实验室使用最广泛的遗传标记,在亲权鉴定中具有重要意义及应用前景。本文就亲权鉴定中常染色体 STR 基因座的应用概况,高度遗传多态性、高度突变率研究,稀有等位基因在实际应用情况作一简单综述。

## 1 亲权鉴定中常染色体 STR 基因座的应用概况

1988 年,Jefferys 首先将 STR 基因座发展为第 2 代遗传标记,此后,随着不同人种群体 STR 基因座信息的不断丰富,常染色体 STR 基因座的数量也在不断增加。为便于各个实验室标准化和 DNA 数据库的建立,美国联邦调查局推荐用联合 DNA 索引系统(combined of DNA index system, CODIS)的 13 个常染色体 STR 基因座(TPOX、D3S1358、D5S818、FGA、CSF1PO、D7S820、D8S1179、TH01、VWA、D13S317、D16S539、D18S51、D21S11)作为各实验室常用遗传标记。目前,被世界广泛认同的常染色体 STR 基因座检测系统包括 Identifiler 系统、Powerplex16 系统,以及新问世的 Powerplex21 系统,它们均包含了上述 13 个 CODIS 的 STR 基因座位点。后来美国又开发了 Penta D、Penta E、D2S1338 和 D19S433 这 4 个基因座,与前述 13 个 CODIS 的 STR 基因座构成了亲权鉴定中的常用 17 个常染色体 STR 基因座。在日常检测中,国内以美国应用生物系统公司(ABI 公司)研发的 Identifiler 系统(共 15 个常染色体 STR 基因座)以及美国 Promega 公司研发的 PowerPlex16 (共 15 个常染色体 STR 基因座)在亲权鉴定和个体识别中的应用最为广泛。除此之外,还有专门针对中国人群特点设计使用的 Sinofiler 系统。2010 年由司法部制订出台的亲权鉴定技术规范中对常染色体 STR 基因座的选择有明确的要求:(1)经过群体遗传学调查,多态性高,非父排除率在 0.700 以上;(2)经 500 次以上减数分裂的家系调查,基因座的突变率在 0.002 以下。存在基因突变情况时,应增加检测其他高度多态性且遗传稳定的 STR 基因座,有条件的应增加检测 X-STR 及 Y-STR。

## 2 亲权鉴定中常染色体 STR 基因座的遗传多态性研究

由于常染色体 STR 基因座较早应用于法医学的亲权鉴定和个体识别,因此,对其研究也相对较为深入和全面。近年来,国内、外文献对广西、福建、上海等有针对常染色体 STR 基因座的遗传多态性报道。台运春等<sup>[1]</sup>应用 PowerPlex16 系统调查广东汉族人群 10 071 例无关个体,分析统计了 15 个 STR 基因座的群体遗传学及法医学参数,结果表明,PowerPlex16 系统能基本满足广东汉族人群法医学的个体识别及亲权鉴定的

需要,该研究发现了 22 个国内首次报道的稀有等位基因,与杨电等<sup>[2]</sup>等的报道比较( $n=332$ ),在 6 个基因座上有差异。如此大样本频率调查有助于获取更可靠的频率资料。

薛天羽等<sup>[3]</sup>应用 PowerPlex16 检测系统对 4 786 名华南地区汉族无关个体进行调查,表明这 15 个 STR 基因座的基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡,共检出 241 个等位基因,频率为 0.000 1~0.545 8,1 043 种基因型,还有 60 个等位基因阶梯(ladder)以外的等位基因。常用 15 个基因座的观察杂合度(Ho)为 0.603 0~0.907 6,多态性信息量(polymorphism information content, PIC)为 0.542 8~0.904 0,个体识别能力(discrimination power, DP)为 0.781 7~0.985 5,三联体非父排除率(probabilities of paternity exclusion, PPE)为 0.392 3~0.831 2。其研究表明, PentaE 的 Ho、PIC、DP、PPE 值最大,共发现 31 个基因型,12 个罕见等位基因; TPOX 的 Ho、PIC、DP、PPE 值最小,共发现 12 个基因型,4 个罕见等位基因。对于华南汉族人群来说,常染色体 STR 基因座中 PentaE 的多态性程度最高,因此,应用于法医学个体识别及三联体亲子鉴定效能最高,而 TPOX 最低。该研究还通过与郝宏蕾等<sup>[4]</sup>报道的中国浙江汉族群体相比,在 7 个基因座上的差异具有统计学意义,与 Soták 等<sup>[5]</sup>报道的高加索人群及 Alves 等<sup>[6]</sup>报道的非洲人群相比,15 个常用 STR 基因座的差异均有统计学上意义。2012 年潘猛等<sup>[7]</sup>应用 Sinofiler 系统检测江苏 1 000 例无关汉族个体,研究发现 STR 等位基因 211 个。其中, D3S1358 基因座的 15/16 等位基因型频率最高,杂合度为 0.751~0.853, PIC 为 0.718~0.838, DP 和 PPE 分别为 0.900~0.964 和 0.516~0.698。2011 年 Deng 等<sup>[8]</sup>应用 Identifiler 试剂盒对青海 2 975 例回族无关个体 15 STR 基因座的多态性调查,其基因座频率介于 0.000 2~0.532 2,与之前报道的闽南汉族、维吾尔族、鄂温克族、毛南族和马来民族人群相比,15 个常用 STR 基因座上的差异均有统计学上意义。

目前数据库已收录美国、德国及英国等群体的常染色体 STR 基因座遗传信息。Khodjet-el-Khil 等<sup>[9]</sup>对利比亚 99 个无关个体进行检测,除 CSF1PO 外,其余基因型分布均为 Hardy-Weinberg 平衡, DP 和 PPE 均超过 0.999,并与北非突尼斯、摩洛哥、埃及人群的基因座相比,15 个 STR 基因座的差异均有统计学上意义。Gaibar 等<sup>[10]</sup>对伊利亚半岛上的地中海人群进行检测,该研究显示单倍型基因多态性分别达 1.00 和 0.98。Muñoz 等<sup>[11]</sup>对阿根廷西北部地区 110 个个体进行研究,该研究指出这 15 个常染色体基因座累计 PPE 和 DP 分别达 0.999 94 和 0.999 999 999 999 999 8。Yoo 等<sup>[12]</sup>对韩国 1 805 例个体进行研究, DP 和 PPE 都比国内高,最高的是 D2S1338,其 DP 达 0.969 9。Parys-Proszek 等<sup>[13]</sup>对波兰, Stepanov 等<sup>[14]</sup>对俄国人群也进行过常染色体 STR 基因座的多态性调查。以上学者均

采用 Identifiler 系统进行检测。

综上所述,国外学者所调查群体的常染色体 STR 基因座的 PPE 和 DP 均较高,其原因在于目前广泛使用的试剂盒中大部分 STR 基因座是针对外国人群体遗传特点而设计应用。由此可见,不同人种、民族及地区的等位基因频率分布差异较大,即使同一民族,地域不同的人群 STR 等位基因频率的分布也有一定的差异。在个体识别及亲权鉴定中,为使遗传学参数和法医学应用相关参数能够正确应用,调查及分析不同地区人群的群体遗传学背景资料具有重要意义。

### 3 亲权鉴定中常染色体 STR 基因座的突变研究

常染色 STR 基因座存在高度多态性的同时,也具有很高的突变率。目前多数学者认为突变的机制是 DNA 复制滑动或复制滑链错配。2013 年 Mardini 等<sup>[15]</sup>对 10 595 例亲权鉴定案例进行突变分析,研究显示 355 例突变中,348 例一步突变,3 例两步突变,4 例不是逐步突变,突变率介于 0.004 60%~0.230 00%,平均突变率为 0.120 00%。父源性突变是母源性的 5 倍。林敏等<sup>[16]</sup>研究 2 318 例亲权鉴定案例的突变规律及特点与其一致,STR 基因座的突变率介于 0.00%~0.22%。李海霞等<sup>[17]</sup>研究的基因座突变率介于 0.000%~0.492%,且各基因座突变率之间存在统计学差异。Lu 等<sup>[18]</sup>、Zhang 等<sup>[19]</sup>均研究过常染色 STR 基因座的突变现象,突变率均不一致。STR 基因座突变现象会直接影响父权指数 (paternity index, PI) 的计算,使 PI 值达不到可以认定亲权关系的标准。蔡颖等<sup>[20]</sup>研究中国大样本人群基因座平均突变率,合并计算 Identifiler 和 PowerPlex16 两个系统的平均突变率介于 0.012 0%~0.207 8%,不同 STR 基因座的平均突变率差异显著。该研究有助于疑似突变案例的累积亲权指数计算,但更多情况下还是应增加检测其他高度多态性且遗传稳定的 STR 基因座,有条件的甚至应增加检测 X-STR 基因座及 Y-STR 基因座。计算突变基因座的 PI 值,合并计算联合 PI (combined PI, CPI),以免因 STR 基因的突变而导致错误排除亲缘关系。因而,这也鼓励研究机构设计出高度多态性且遗传稳定的 STR 基因座作为常规检测的补充。

### 4 亲权鉴定中常染色体 STR 基因座中稀有等位基因的实际应用

常染色体 STR 基因座系统的 ladder 中包含了大部分的常见等位基因片段。当大量群体进行 STR 分型时,往往会发现一些新的等位基因,其在等位基因 ladder 中没有对应大小的片段,通常在实践中称这些等位基因为 off-ladder (OL) 等位基因,即罕见等位基因<sup>[21]</sup>。这些罕见等位基因在人群中频率极低,一般以 1/1 000 为标准。罕见等位基因的出现给检测结果判读带来一定困难。在亲权鉴定检测系统中常染色体 STR 基因座系统的 ladder 是以欧洲人群遗传学背景资料设计的。目前,国内学者对于罕见等位基因大规模的系统研究尚少。曾艳红等<sup>[22]</sup>研究过 PowerPlex16 系统中的 OL 基因,表明这些基因基本上是由于染色体分裂出现的等价交换、酶的滑脱等原因,发生 DNA 缺失、插入而产生的新等位基因。陆惠玲等将罕见等位基因分为 4 类<sup>[23]</sup>:(1)重复单位完整重复,但重复次数在 ladder 范围外;(2)不完整重复;(3)侧翼序列个别碱基的插入或缺失;(4)较大片断的缺失。徐志成等<sup>[24]</sup>用 Identifiler 系统对罕见等位基因及其频率的研究提出,Identifiler 检测系统中 ladder 也是以欧美等西方人群遗传背景为基础制备,而这些基因座的核心序列,在不同种族的人群中分布差异比较大,为此,该体系并不完全适用于中国人群。可见,对于低频率罕见等位基因的出现,容易产生误判,从而影响 DNA 数据库的

建立以及实验室间的数据交流。罕见等位基因的存在及其确定,一方面有助于提高 STR 基因座的 DP、PPE 等;另一方面也提示各试剂生产公司应制备更加完善、适合中国人群的 ladder 以分析这些数据,尤其在试剂国产化的过程中,更要注重这方面数据的收集,并将这些数据放在 ladder 中,使 DNA 个体识别和亲权鉴定的试剂更符合中国人群。

### 5 小结与展望

中国是一个多民族国家,各民族由于地域、风俗、宗教等因素,聚集在相对稳定的区域内,各民族拥有各自独特的遗传特征,在群体遗传信息上存在差异。寻找符合中国人群体遗传特征的高鉴别能力 STR 基因座,丰富中国人群的遗传信息十分必要,这是目前国内该领域的研究热点。目前国内、外在 DNA 亲子鉴定中,通常情况下仅做 15~20 个 STR 基因检测,除少数基因突变外,对具有生物学关系的亲代与子代,STR 基因位点均符合。然而近年来有报道无关个体也有符合遗传规律的情况。那么,在无关个体之间,使用目前国际、国内通用的试剂盒是否会有无关个体存在完全相同的 STR 等位基因?抑或仅 1~2 个 STR 等位基因不同?这是一个极富挑战和令人感兴趣的问题,这对于指导亲子鉴定结果的正确判定具有重要的意义,也有待于人们进一步研究。

### 参考文献

- [1] 台运春,陆惠玲,李海燕,等. 广东汉族人群 15 个 STR 基因座的遗传多态性[J]. 广东公安科技,2004(4):17-21.
- [2] 杨电,刘超,彭汝标,等. 南方汉族、黎族人群 15 个 STR 基因座频率调查[J]. 法医学杂志,2002,18(4):207-209.
- [3] 薛天羽,成建定,张晋湘,等. 华南地区汉族群体 15 个 STR 基因座的遗传多态性调查[J]. 中山大学学报:医学科学版,2009,30(3S):45-50.
- [4] 郝宏蕾,吴微微,潘立鹏,等. 浙江汉族人群 15 个 STR 基因座遗传多态性[J]. 中国法医学杂志,2006,21(5):303-304.
- [5] Soták M, Petrejčiková E, Bernasovská J, et al. Genetic variation analysis of 15 autosomal STR loci in Eastern Slovak Caucasian and Romany (Gypsy) population [J]. Forensic Sci Int Genet, 2008,3(1):e21-25.
- [6] Alves C, Gusmão L, López-Parra AM, et al. STR allelic frequencies for an African population sample (Equatorial Guinea) using AmpFlSTR Identifiler and Powerplex 16 kits[J]. Forensic Sci Int, 2005,148(2/3):239-242.
- [7] 潘猛,陈子庆,丁小健,等. 江苏汉族群体 15 个 STR 基因座遗传多态性分析[J]. 江苏医药,2012,38(5):561-564.
- [8] Deng YJ, Zhu BF, Shen CM, et al. Genetic polymorphism analysis of 15 STR loci in Chinese Hui ethnic group residing in Qinghai province of China[J]. Mol Biol Rep,2011,38(4):2315-2322.
- [9] Khodjet-el-Khil H, Fadhlaoui-Zid K, Gusmão L, et al. Allele frequencies for 15 autosomal STR markers in the Libyan population [J]. Ann Hum Biol,2012,39(1):80-83.
- [10] Gaibar M, Esteban E, Moral P, et al. STR genetic diversity in a Mediterranean population from the south of the Iberian Peninsula [J]. Ann Hum Biol,2010,37(2):253-266.
- [11] Munoz A, Albeza MV, Acreche N, et al. Allele frequencies of 15 STRs in the Calchaqui Valleys population (North-Western Argentina)[J]. Forensic Sci Int Genet,2012,6(1):e58-60.
- [12] Yoo SY, Cho NS, Park MJ, et al. A large population genetic study of 15 autosomal short tandem repeat loci for establishment of Korean DNA profile database[J]. Mol Cells,2011,32(1):15-19.
- [13] Parys-Proszek A, Kupiec T, Wolańska-Nowak P, et al. Genetic

variation of 15 autosomal STR loci in a population sample from Poland[J]. Leg Med (Tokyo), 2010, 12(5): 246-248.

[14] Stepanov VA, Melnikov AV, Lash-Zavada AY, et al. Genetic variability of 15 autosomal STR loci in Russian populations[J]. Leg Med (Tokyo), 2010, 12(5): 256-258.

[15] Mardini AC, Rodenbusch R, Schumacher S, et al. Mutation rate estimates for 13 STR loci in a large population from Rio Grande do Sul, Southern Brazil[J]. Int J Legal Med, 2013, 127(1): 45-47.

[16] 林敏, 车敏, 黄以兰, 等. 2 318 例亲子鉴定中的基因突变观察和分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(7): 20-21.

[17] 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(1): 13-16.

[18] Lu D, Liu Q, Wu W, et al. Mutation analysis of 24 short tandem repeats in Chinese Han population[J]. Int J Legal Med, 2012, 126(2): 331-235.

[19] Zhang S, Zhang Z, Zhao S, et al. Genetic polymorphisms in 12 au-

tosomal STRs in a Shanghai Han population from China[J]. Electrophoresis, 2013, 34(4): 613-617.

[20] 蔡颖, 周广彪, 赵书民, 等. 中国人群亲权鉴定常用 STR 基因座平均突变率的估计[J]. 中国司法鉴定, 2010(5): 56-59.

[21] 李成涛, 郭宏, 赵珍敏, 等. 亲权鉴定中常用 STR 基因座的基因组学和遗传学分析[J]. 中国法医学杂志, 2008, 24(3): 214-218.

[22] 曾艳红, 孙宏钰, 童大跃, 等. PowerPlexTM16 体系在中国人群中罕见等位基因及其类型[J]. 中国法医学杂志, 2005, 19(2): 78-79.

[23] 陆惠玲, 台运春, 刘超, 等. PowerplexTM16 体系 OL 等位基因遗传序列分析及命名探讨[J]. 中国法医学杂志, 2006, 22(3): 186-189.

[24] 徐志成, 陈新星, 刘炜彬. 11250 个无关个体中罕见等位基因及其频率[J]. 刑事技术, 2011(3): 52-53.

(收稿日期: 2013-04-08)

• 综 述 •

## 新型 H7N9 禽流感病毒的研究进展

吕晓丽<sup>1</sup>, 白重阳<sup>1</sup>, 张晓晓<sup>2</sup>, 邹菊贤<sup>1</sup>综述; 张惠中<sup>1△</sup>审校

(1. 唐都医院临床实验与检验输血科, 陕西西安 710038; 2. 第四军医大学病原生物学与微生物学教研室, 陕西西安 710032)

**关键词:** H7N9; 禽流感病毒; 治疗

**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 21. 038

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2013)21-2873-03

关于新型甲型重组禽流感病毒 H7N9 的最新研究结果于 2013-04-11 在《新英格兰医学杂志》(The New England Journal of Medicine)上在线出版<sup>[1]</sup>。研究人员从 3 例患者的呼吸道标本中分离到一种起源于鸟类的新型甲型重组流感病毒, 并分析了相关临床、流行病学及病毒学数据, 经实时逆转录聚合酶链反应检验、病毒培养及序列分析, 对上述呼吸道标本中的流感病毒及其他呼吸系统病毒进行了检测, 最终认为, 新型重组 H7N9 病毒与患者所出现的致病性呼吸系统疾病有关<sup>[2]</sup>。H7 亚型流感病毒感染禽类非常常见, 但感染人的报道相对较少, 除 2003 年 H7N7 在荷兰致 1 人死亡外<sup>[3]</sup>, 感染多为散发或致病程度较轻<sup>[4-6]</sup>。H7N9 似乎比以前观察到的甲型流感 H7 亚型具有更强的致病性, 截至 2013-04-23, 全国 108 例患者被证实感染 H7N9, 其中死亡 22 人<sup>[7]</sup>, 随即, H7N9 成为众多研究者关注的焦点<sup>[8-11]</sup>。H7N9 禽流感病毒是甲型流感病毒研究的新发现。现将该病毒的最新情况报道如下。

### 1 病原学

禽流感病毒属于正黏病毒科甲型流感病毒属。依据其外膜 2 型糖蛋白抗原性的不同, 目前可分为 16 个 H 亚型和 9 个 N 亚型(H 指血凝素蛋白 HA, N 为神经氨酸酶蛋白 NA)。HA 不同亚型可与 NA 不同亚型相互组合形成不同的流感病毒。此次报道的 H7N9 亚型禽流感病毒是其中一种<sup>[2]</sup>。该重组病毒内部基因来自 H9N2 禽流感病毒, 既往仅在禽间发现, 感染人的情况为首次报道<sup>[12]</sup>。流感病毒对热敏感, 56℃ 加热 30 min、60℃ 加热 10 min 或 65℃~70℃ 加热数分钟可使其丧失活性; 用紫外线直接照射, 可迅速破坏其感染性<sup>[13]</sup>; 对低温、酸性环境有一定抵抗力, 在较低温的粪便中可存活 1 周, 在 4℃ 水中可存活 1 个月; 在自然条件下, 存在于鼻腔分泌物和

粪便中的病毒, 由于受到有机物的保护, 具有极大的抵抗力<sup>[14]</sup>。

### 2 流行病学

**2.1 传染源** 传染源可能为携带 H7N9 禽流感病毒的禽类及其分泌物或排泄物<sup>[15]</sup>。目前已在禽类及其分泌物或排泄物中分离出 H7N9 禽流感病毒, 与人感染的 H7N9 禽流感病毒高度同源。

**2.2 传播途径** 人通过密切接触携带病毒的禽类或其分泌物或排泄物感染<sup>[15]</sup>。国家卫生和计划生育委员会(卫计委)专家表示, 少量家庭聚集性病例的出现不代表病毒有了大的改变。H7N9 仍是一个禽流感病毒, 它与人体上呼吸道上皮细胞结合的能力还很差。

**2.3 易感人群** 人与禽类密切接触者易感人群, 如从事禽类养殖、贩运、销售、宰杀、加工者。

### 3 临床表现<sup>[16]</sup>

根据流感病毒潜伏期及现有 H7N9 感染病例的调查结果, H7N9 禽流感病毒潜伏期一般在 1 周以内。

**3.1 症状、体征** 患者主要表现为畏寒、发热、咳嗽、咳痰等类流感样症状, 可伴头疼、乏力、咽痛、全身酸痛等。重症患者病情发展迅速, 体温大多持续在 39℃ 以上, 多在 5~7 d 出现重症肺炎, 患者呼吸困难, 伴咯血痰, 可迅速进展为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)、脓毒症、感染性休克, 甚至多器官功能障碍, 部分患者可出现纵膈气肿、胸腔积液等。

### 3.2 实验室检查

**3.2.1 血常规** 白细胞总数一般不高或降低。重症患者白细胞总数及淋巴细胞多为减少, 可有血小板降低。

作者简介: 吕晓丽(1985~), 女, 临床医学检验技师, 主要从事临床检验工作、分子生物学诊断及病原生物学研究。△ 通讯作者, E-mail: zhz328@ffmmu.edu.cn.