

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00381

# 西北汉族人群 *D10S1248*、*D2S441*、*D1S1677*、*D9S1122*、*D10S1435* 等 5 个 miniSTR 基因座的遗传多态性及其法医学应用

白雪, 丛斌, 李淑瑾, 郭霞, 李霞

河北医科大学法医学系, 河北省法医学重点实验室, 石家庄 050017

**摘要:** 为了调查 *D10S1248*、*D2S441*、*D1S1677*、*D9S1122*、*D10S1435* 等 5 个 miniSTR(mini short tandem repeats) 基因座在西北汉族人群中的遗传多态性、遗传稳定性及其在陈旧降解检材中的法医学应用价值, 文章采用荧光 PCR 和基因分型技术对西北汉族 154 份无关个体血样、10 个家系血液样本及 10 份陈旧降解检材进行片段长度分析。在西北汉族人群中, 5 个 miniSTR 基因座分别检测出了 8、7、7、6、7 个等位基因, 等位基因频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律, 杂合度(Heterozygosity, *H*)为 0.662~0.792, 个人识别率(Power of discrimination, *PD*)为 0.869~0.915, 非父排除率(Power of exclusion, *PE*)为 0.382~0.585, 多态信息含量(Polymorphism information content, *PIC*)为 0.650~0.750。家系和陈旧降解检材的研究表明, 5 个 miniSTR 基因座具有高度的遗传稳定性, 可对陈旧降解检材 DNA 进行有效的分型。5 个 miniSTR 基因座适合作为西北汉族人群的遗传标记, 用于陈旧降解检材的法医学个人识别和亲权鉴定案件中。

**关键词:** miniSTR; 基因频率; 遗传多态性; 西北汉族

## Polymorphism and forensic applications of miniSTR loci *D10S1248*, *D2S441*, *D1S1677*, *D9S1122*, and *D10S1435* in Northwestern Han population

BAI Xue, CONG Bin, LI Shu-Jin, GUO Xia, LI Xia

Department of Forensic Biology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

**Abstract:** To investigate the polymorphism, genetic stability and the value for analysis degraded samples of *D10S1248*/*D2S441*/*D1S1677*/*D9S1122*/*D10S1435* five loci in northwestern Han population. The lengths of fragments were analyzed by fluorescence PCR and ABI310 Genetic Analyzer. Samples from 154 unrelated northwestern Han individuals, 10 genealogies and 10 highly degraded specimens were genotyped. Among the 154 unrelated northwestern Han individuals, we discovered 8, 7, 7, 6, and 7 alleles in the five miniSTR loci, respectively. The frequency distributions in the loci showed no deviations from Hardy-Weinberg equilibrium expectations. The *H* is at 0.662~0.792, *PD* is at 0.869~0.915, *PE* is at

收稿日期: 2008-09-09; 修回日期: 2008-11-11

基金项目: 河北省科技支撑计划项目(编号: 072461479D)资助

作者简介: 白雪(1980-), 女, 博士研究生, 研究方向: 法医血液遗传学。Tel: 0311-66066516; E-mail: snowhome2004@126.com。

通讯作者: 丛斌(1957-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 法医血液遗传学。Tel: 0311-86266406; E-mail: bincong@263.net

0.382–0.585, and *PIC* is at 0.650–0.750. The research of genetic stability and the value for analysis degraded sample indicated that the five miniSTR loci had high genetic stability and could analysis the degraded samples effectively. Therefore, these 5 miniSTR loci can be used as genetic markers of Northwestern Han populations in forensic practice involving individual identification and paternity testing from degraded DNA samples.

**Keywords:** miniSTR; gene frequency; genetic polymorphism; Northwestern Han population

检测STR遗传标记已经成为法医学亲权鉴定与个人识别的重要手段。但对于法医检验中一些微量以及降解的检材,商品化STR复合扩增试剂盒中片段较大的STR基因座往往无法进行有效的扩增,常常会出现“优势扩增”或者“无效扩增”,从而不能成功地得出结论<sup>[1]</sup>,这使高度降解的DNA检材在一定程度上成为现阶段法医DNA检验的难点。miniSTR(mini short tandem repeats)技术可通过重新设计引物,减小扩增产物片段长度(<125 bp)来解决DNA高度降解检材的检验问题<sup>[2]</sup>。将其应用于高度降解DNA样本检测可提高个人识别和亲子鉴定的检测成功率。但对于解决严重降解检材DNA的分型问题,还需要更多的miniSTR基因座来增加系统效能,并进行群体遗传学调查。

基于本实验室既往研究,利用荧光PCR和毛细管电泳分析技术,本实验对西北汉族154名无关个体进行了*D10S1248*、*D2S441*、*DIS1677*、*D9S1122*、*D10S1435*等5个miniSTR基因座的遗传多态性、遗传稳定性及对陈旧降解检材检测能力的调查研究,获得了这5个miniSTR基因座在中国西北汉族人群的群体遗传学数据,并证明了其在家系遗传中的稳定性及在陈旧降解检材中的应用价值,以期国产试剂盒的研制与开发提供更多适合中国汉族人群有价值的基因座。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

154份西北汉族健康无关个体血液样本由甘肃省中心血站提供,10个家系样本来自河北医科大学法医鉴定中心日常检案积累(样本提供者的籍贯为西北各省),10份陈旧降解检材取自河北省公安厅日常检案(样本提供者的籍贯为西北各省)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 DNA的提取

154份西北汉族健康无关个体FTA卡血痕样本及10个家系血液样本均采用Chelex-100法提取DNA<sup>[3]</sup>。10份陈旧降解检材样本(其中高度腐败尸体血5例,陈旧血痕3例,微量检材2份)用二次Chelex-100法提取DNA。

#### 1.2.2 引物序列

*D10S1248*、*D2S441*、*DIS1677*、*D9S1122*、*D10S1435*基因座的引物序列参照文献<sup>[4–5]</sup>,引物5'端分别用FAM(羧基荧光素)、HEX(六氯荧光素)、TAMRA(四甲基-6-羧基罗丹明)荧光标记物进行标记。引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。引物序列见表1。

表1 5个miniSTR基因座相关信息

基因座	引物序列(5'–3')	片段长度(bp)	核心序列
<i>D10S1248</i>	F: [FAM] TTAATGAATTGAACAAATGAGTGAG R: GCAACTCTGGTTGTATTGTCTTCAT	82~114	GGAA
<i>D2S441</i>	F: [HEX] CTGTGGCTCATCTATGAAAACTT R: GAAGTGGCTGTGGTGTATGAT	80~104	CTAT
<i>DIS1677</i>	F: [TAMRA] TTCTGTTGGTATAGAGCAGTGTTT R: GTGACAGGAAGGACGGAATG	83~111	CCTT
<i>D9S1122</i>	F: [HEX]GGGTATTTCAAGATAACTGTAGATAGG R: GCTTCTGAAAGCTTCTAGTTTACC	98~118	GATA
<i>D10S1435</i>	F: [TAMRA]TGTTATAATGCATTGAGTTTTATTCTG R: GCCTGTCTCAAAAATAAAGAGATAGACA	96~124	TATC

### 1.2.3 PCR 扩增

对每个基因座进行单独扩增。荧光 PCR 扩增体系(总体积为 10  $\mu$ L)分别含 50  $\mu$ mol/L 荧光标记引物各 0.6  $\mu$ L, 模板 1 ng, *Taq* DNA 聚合酶 0.5 U, 10 $\times$ buffer 1.0  $\mu$ L, 25 mmol/L  $MgCl_2$  0.5  $\mu$ L, 10 mmol/L dNTP 0.2  $\mu$ L。扩增程序: 94 预变性 3 min; 94 变性 30 s, 55 复性 30 s, 72 延伸 45 s; 28 个循环后, 60 再延伸 30 min。

### 1.2.4 等位基因标准品的制备

从西北汉族群体样本中筛选出 5 个基因座不同大小片段长度的等位基因, 经纯化后分别连接到 pGEM-T 载体上(Promega, 美国)。

将重组后的质粒转染到感受态细菌中, 经选择培养后, 以质粒公用的正反引物为测序引物, 对重组质粒的插入片段进行测序, 确定插入片段的大小和组成, 根据国际法医血液遗传学会命名原则对各等位基因进行命名。

对经测序证实的含有正确等位基因插入片段的质粒进行大量培养, 经质粒纯化试剂盒(天根生化科技有限公司)纯化后, 以纯化后的质粒 DNA 为模板进行 PCR 再扩增, 将各等位基因扩增产物稀释后各取 1.0  $\mu$ L 混匀制备成等位基因标准品。

### 1.2.5 PCR 产物的检测

将扩增产物 1  $\mu$ L、甲酰胺 12  $\mu$ L 和内标 LIZ500 0.3  $\mu$ L(美国 ABI 公司)混合变性后, 应用 ABI310 遗传分析仪进行自动检测, 来确定样本的长度及基因型。

### 1.2.6 统计学方法

用 PowerStats V12<sup>[6]</sup> 和 GeneALEX 6.0<sup>[7]</sup> 统计软件计算 5 个基因座的基因频率和各种法医学参数并判断调查结果是否符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。运用  $\chi^2$  检验将中国西北汉族与文献报道的日本人<sup>[8]</sup>、西班牙人<sup>[9]</sup>和中国东北汉族<sup>[10]</sup> 3 个 miniSTR 基因座的等位基因频率进行比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 5 个基因座的电泳及测序结果

5 个基因座的测序结果表明, *D10S1248*、*D2S441*、*DIS1677*、*D9S1122*、*D10S1435* 等 5 个基因座的核心序列均为 4 个核苷酸, 分别为 [GGAA]、[CTAT]、

[CCTT]、[GATA]、[TATC]。其中 *D10S1248* 基因座电泳及测序结果见图 1。

### 2.2 5 个基因座相关遗传学参数

对西北汉族人群 154 份无关个体血样进行 *D10S1248*、*D2S441*、*DIS1677*、*D9S1122*、*D10S1435* 等 5 个基因座的遗传多态性调查, 分别检出了 8、7、7、6 和 7 个等位基因, 各等位基因频率见表 2。经  $\chi^2$  检验, 5 个基因座的等位基因频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律( $P>0.05$ ), 结果见表 3。5 个基因座的杂合度(Heterozygosity,  $H$ )在 0.662~0.792 之间, 个人识别率(Power of discrimination,  $PD$ )在 0.869~0.915 之间, 非父排除率(Power of exclusion,  $PE$ )在 0.382~0.585 之间, 多态信息含量(Polymorphism information content,  $PIC$ )在 0.650~0.750 之间, 具体法医学参数见表 4。结果表明这些基因座具有较高的多态性, 遗传学指标达到了一定标准, 可以用于法医学的个体识别、亲权鉴定和群体遗传学等研究。

### 2.3 5 个基因座遗传稳定性的研究

利用 5 个基因座对 10 个家系样本进行检测, 其中 9 个肯定父权关系的家系样本, 所有 5 个基因座均未得出否定父权的结论。1 个排除父权关系的家系样本, 5 个基因座均得出否定父权的结论。表明 5 个基因座具有较高的遗传稳定性。

### 2.4 5 个基因座对高度降解 DNA 样本的检测

对于既往案例中使用 Ampf/STR Identifier 商品化试剂盒未能正确分型的 10 份高度降解 DNA 样本, 利用 5 个 miniSTR 基因座进行检测。结果显示, 2 份样本在 5 个基因座中均获得正确分型, 另外 8 份样本分别获得了 3 个以上基因座的明确分型, 检出率明显提高。具体结果见图 2 及表 5。

### 2.5 西北汉族人群基因座等位基因频率分布与日本、西班牙及中国东北汉族人群等位基因频率分布的比较

由于本实验研究的 *D9S1122*、*D10S1435* 两个基因座的等位基因频率分布在其他人群中未见详细报道, 因此文章只将 *D10S1248*、*D2S441* 和 *DIS1677* 3 个基因座在西北汉族人群中的等位基因频率分布与 3 个基因座在日本<sup>[8]</sup>、西班牙<sup>[9]</sup>和中国东北汉族<sup>[10]</sup> 人群的等位基因频率分布应用  $\chi^2$  检验进行比较。



表 2 西北汉族人群 5 个 miniSTR 基因座等位基因频率的分布

<i>D10S1248</i>		<i>D2S441</i>		<i>DIS1677</i>		<i>D9S1122</i>		<i>D10S1435</i>	
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
8	0.003	9	0.003	10	0.013	9	0.045	8	0.052
10	0.058	10	0.276	12	0.036	10	0.175	10	0.068
11	0.328	11	0.344	13	0.169	11	0.344	11	0.276
12	0.276	12	0.205	14	0.461	12	0.344	12	0.302
13	0.247	13	0.004	15	0.240	13	0.084	13	0.179
14	0.062	14	0.120	16	0.071	14	0.006	14	0.107
15	0.019	15	0.006	17	0.010			15	0.016
16	0.006								

表 3 西北汉族人群 5 个 miniSTR 基因座的 Hardy-Weinberg 平衡检测结果

基因座	$\chi^2$ 值	df	<i>P</i> 值
<i>D10S1248</i>	29.972	28	0.365*
<i>D2S441</i>	19.993	21	0.522*
<i>DIS1677</i>	15.291	21	0.808*
<i>D9S1122</i>	11.829	15	0.692*
<i>D10S1435</i>	19.879	21	0.529*

\*代表  $P>0.05$ , 表示无显著性差异。

表 4 西北汉族人群五个 miniSTR 基因座的法医学参数

基因座	杂合度 ( <i>H</i> )	多态信息含量 ( <i>PIC</i> )	个人识别率 ( <i>PD</i> )	非父排除率 ( <i>PE</i> )
<i>D10S1248</i>	0.760	0.710	0.883	0.527
<i>D2S441</i>	0.734	0.700	0.894	0.482
<i>DIS1677</i>	0.669	0.650	0.869	0.382
<i>D9S1122</i>	0.662	0.680	0.881	0.372
<i>D10S1435</i>	0.792	0.750	0.915	0.585

表 5 高度降解 DNA 样本利用 miniSTR 技术及 Ampf/STR Identifiler 试剂盒结果比较

样本编号	miniSTR					Ampf/STR Identifiler*
	<i>D10S1248</i>	<i>D2S441</i>	<i>DIS1677</i>	<i>D9S1122</i>	<i>D10S1435</i>	
1	+	+	+	+	+	1
2	+	+	+	—	+	0
3	+	+	+	+	—	0
4	+	+	—	+	+	2
5	—	—	+	+	—	0
6	+	+	—	+	+	2
7	+	+	+	+	+	5
8	+	+	+	—	—	1
9	+	+	+	+	—	2
10	+	—	+	—	+	2

+: 分型成功; —: 分型不成功; \*检测到基因座数。

表 6 西北汉族人群 3 个 miniSTR 基因座等位基因频率与其他人群的比较

位点	西北汉族与日本人	西北汉族与西班牙人	西北汉族与东北汉族
<i>D10S1248</i>	$\chi^2=84.36$ , $P=0.000$	$\chi^2=115.71$ , $P=0.000$	$\chi^2=90.96$ , $P=0.000$
<i>D2S441</i>	$\chi^2=21.17$ , $P=0.000$	$\chi^2=25.27$ , $P=0.000$	$\chi^2=1.72$ , $P=0.000$
<i>DIS1677</i>	$\chi^2=2.35$ , $P=0.000$	$\chi^2=28.47$ , $P=0.000$	$\chi^2=14.67$ , $P=0.000$

注:  $P$  值为用 SPSS 软件计算后保留小数点后三位的结果。

西北汉族人群 *D10S1248*、*D2S441* 和 *DIS1677* 等 3 个 miniSTR 基因座等位基因频率分布与日本、西班牙、东北汉族人群相比均具有显著性差异( $P<0.05$ )。具体结果见表 6。

### 3 讨论

2003 年至今, 越来越多的法医学工作者开始了 miniSTR 的研究工作, 其中美国、日本、西班牙等



国<sup>[8,9,11]</sup>对miniSTR基因座进行的群体遗传学研究较多,而miniSTR基因座在中国人群中的数据却极为缺乏。本研究对D10S1248、D2S441、DIS1677、D9S1122、D10S1435等5个miniSTR在西北汉族群体进行多态性调查的同时,又对其家系的遗传稳定性和对陈旧降解检材的检测能力进行了研究,为开发以中国人的遗传资料为背景的miniSTR分析技术及建立我国民族群体的数据库提供了群体遗传学资料。

遗传多态性研究结果显示,D10S1248、D2S441、DIS1677、D9S1122、D10S1435等5个miniSTR基因座在西北汉族群体中的分布符合Hardy-Weinberg平衡定律。5个基因座分别检出8、7、7、6和7个等位基因;DIS1677基因座的基因多态性最低(为0.650),D10S1435基因座的基因多态性最高(为0.750)。当PIC 0.6时,说明该基因座具有较高的多态性,因此,本研究所选取的5个基因座均具有较高的多态性;除DIS1677和D9S1122两个基因座的PE值较低外,5个基因座的其他法医学参数均达到法医学应用标准,可以作为miniSTR国产化试剂盒的备选基因座。

从本研究和文献报道的群体调查数据中还发现,不同基因座的等位基因在不同民族和种族间分布存在差异,如D10S1248基因座在西北汉族人群中检测到等位基因8,在日本、西班牙和中国东北汉族人群中均未检测到;而在其他人群中检测到的等位基因17、18和19,在西北汉族人群中未检测到。将D10S1248、D2S441和DIS1677等3个基因座等位基因频率与日本、西班牙和中国东北汉族人群数据进行 $\chi^2$ 检验,发现这些人群与西北汉族人群有显著性差异,表明在进行同一认定及亲权鉴定时应采用本地区的基因频率分布资料,也说明了建立各民族和种族遗传学数据库的重要性。

本实验对10个家系样本的研究表明5个miniSTR基因座遗传稳定,鉴定结果与商品化试剂盒一致,可以推荐为亲权鉴定的备选基因座。此外,对于既往案例中使用Ampf/STR Identifiler商品化试剂盒未能正确分型的10份高度降解DNA样本,利用5个miniSTR基因座进行分析获得了较好的分型,且检出率明显提高,表明miniSTR技术是检测陈旧降解检材DNA的一个非常有效的技术手段,可以为凶杀、强奸等刑事案件的侦破工作提供更为有力的物证。

综上所述,D10S1248、D2S441、DIS1677、D9S1122、D10S1435等5个miniSTR基因座在西北汉族群体中具有高度的遗传多态性及遗传稳定性,对陈旧降解检材DNA的检出率高,可以应用于法医学个人识别、亲权鉴定及国产化试剂盒的开发。

#### 参考文献(References):

- [1] Whitaker JP, Clayton TM, Urquhart AJ, Millican ES, Downes TJ, Kimpton CP. Short tandem repeat typing of bodies from a mass disaster: high success rate and characteristic amplification patterns in highly degraded samples. *Biotechniques*, 1995, 18(4): 670-677.
- [2] Chung DT, Drabek, Opel K, Butler JM, McCord B. A study on the effects of degradation and template concentration on the amplification efficiency of the STR mini-plex primer sets. *J Forensic Sci*, 2004, 49(4): 733-740.
- [3] Walsh BS, Petzger DA, Higuchi R. Chelex-100 as medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 1991, 10(4): 506-513.
- [4] Carolyn RH, Coble MD, Butler JM. Characterization of 26 new miniSTR loci. <http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/miniSTR.htm>.
- [5] Carolyn RH, Margaret C, Michael D, Coble MD, Butler JM. Characterization of 26 miniSTR loci for improved analysis of degraded DNA samples. *J Forensic Sci*, 2008, 53(1): 73-80. [\[DOI\]](#)
- [6] PowerStats. A computer program for the analysis of population statistics, free program distributed by the authors over the internet from <http://www.promega.com/geneticidtools/>. 1999.
- [7] Raymond M, Rousset F. GENEPOP (version 1.2), population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered*, 1995, 86(3): 248-283.
- [8] Asamura H, Uchida R, Takayanagi K, Ota M, Fukushima H. Allele frequencies of the six miniSTR loci in a population from Japan. *Int J Legal Med*, 2006, 120(3): 182-184. [\[DOI\]](#)
- [9] Martín P, Garela O, Albarrán C, García P, Yurrebaso I, Alonso A. Allele frequencies of six miniSTR loci (D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441 and DIS1677) in a Spanish population. *Forensic Sci Int*, 2007, 169(2-3): 252-254. [\[DOI\]](#)
- [10] Bai RF, Shi MS, Yu XJ, Lv JY, Tu YH. Allele frequencies for six miniSTR loci of two ethnic populations in China. *Forensic Sci Int*, 2007, 168(2-3): 25-28. [\[DOI\]](#)
- [11] Coble MD, Butler JM. Characterization of new miniSTR loci to aid analysis of degraded DNA. *J Forensic Sci*, 2005, 50(1): 43-53.