

Y 染色体微缺失人群中 Y-STR 等位基因缺失模式分析

王燕超, 马晓燕, 孙筱放, 冼嘉嘉, 李少英, 何文智, 王晓蔓, 黎青

广州医科大学附属第三医院妇产科研究所实验部, 广东省普通高校生殖与遗传重点实验室, 广州 510150

摘要: Y 染色体短串联重复序列(Y-short tandem repeats, Y-STRs)已被广泛应用到 DNA 检验领域。然而, 由于 Y 染色体存在较高的结构突变率, 可能会导致部分 Y-STR 等位基因丢失甚至产生特殊的缺失模式, 从而影响了其在法医学中的应用。位于 Y 染色体长臂的无精子症因子(azoospermia factor, AZF)与精子发生有关, 该区域微缺失可导致不育症。然而 Y 染色体微缺失人群是否存在特殊的 Y-STR 缺失模式仍有待研究。本文利用法医学上常用 17 个 Y-STR 探讨了 85 例 Y 染色体微缺失患者的 Y-STR 缺失模式。结果显示, 单纯 AZF a 区缺失样本, 均存在 *DYS439-DYS389I-DYS389II* 基因座无效扩增情况; 单纯 AZF b 区或单纯 AZF c 区缺失样本存在 *DYS448* 基因座无效扩增; 复合 AZF b+c+d 区缺失样本存在 *DYS385-DYS392-DYS448* 基因座无效扩增; 复合 AZF a+b+c+d 区缺失样本存在 *DYS390-Y-GATA-H4-DYS385-DYS392-DYS448* 基因座无效扩增。因此, 本研究结果提示 Y-STR 缺失模式与 Y 染色体微缺失有对应关系。

关键词: Y 染色体微缺失; AZF 缺失; Y-STR 等位基因缺失; 不育症

Alleles dropout patterns of Y-short tandem repeats in infertile males with Y chromosome microdeletions

Yanchao Wang, Xiaoyan Ma, Xiaofang Sun, Jiajia Xian, Shaoying Li, Wenzhi He, Xiaoman Wang, Qing Li

Institute of Obstetrics and Gynecology, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Key Laboratory of Reproduction and Genetics of Guangdong Higher Education Guangzhou, Guangdong 510150, China

Abstract: Y chromosomal short tandem repeat (Y-STR) typing is the most commonly used genetic technique in forensic studies. However, there may be a limit to the application of Y-STR in forensic science as Y-STR loci are subject to loss or variation caused by the higher chromosomal structures' spontaneous mutation rate. Located in the long arm of the Y chromosome, azoospermia factor (AZF) have been shown to participate in spermatogenesis and its deletion could cause infertility. However, little is known about the Y-STR dropout pattern in individuals with Y chromosome microdeletions. In this study, 85 infertile males with Y chromosome interstitial deletion were identified and special Y-STR allele dropout

收稿日期: 2018-10-09; 修回日期: 2018-12-25

基金项目: 广东省科技计划项目(编号: 2016A20214011)资助[Supported by Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (No. 2016A20214011)]

作者简介: 王燕超, 硕士研究生, 技师, 研究方向: 分子遗传学。E-mail: wycsusan12@163.com

通讯作者: 黎青, 博士, 主任医师, 主管技师, 研究方向: 分子遗传学, 生殖遗传学, 法医遗传学。E-mail: 81292522@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.18-235

网络出版时间: 2019/1/14 13:15:29

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20190114.1315.009.html>

patterns were analyzed by employing a Y-STR Commercial Kit and a Y chromosome Deletion Kit. Results demonstrate that *AZF a* region deletion are related to *DYS439-DYS389I-DYS389II* alleles dropout, while *AZF b* region or *c* region deletions correlate to *DYS448* allele dropout. Null *DYS385-DYS392-DYS448* alleles were observed in *AZF b+c+d* region deletion individuals. While null *DYS390-Y-GATA-H4-DYS385-DYS392-DYS448* alleles were observed in *AZF a+b+c+d* large region deletion individuals. Our data suggest that Y chromosome microdeletions may indicate specific Y-STR locus dropout patterns.

Keywords: Y chromosomal microdeletions; *AZF* deletion; Y chromosomal short tandem repeats alleles dropout; infertility

人类 Y 染色体第二代遗传标记——Y 染色体短串联重复序列(Y chromosomal short tandem repeats, Y-STRs)在 DNA 检验中已被广泛应用^[1,2]。特别是对于男女混合检材, Y-STR 可以帮助研究者区分样本中的男性个体, 因而成为个体识别的有效手段。2003 年, 美国 ABI 公司推出的 AmpFISTR®Yfiler™ 荧光标记复合扩增系统, 可实现同步扩增检测 17 个 Y-STR 基因座, 该技术已得到广泛认可和应用^[3]。无精子症因子(azoospermia factor, *AZF*)编码基因位于 Yq11, 且与精子发生相关^[4,5]。该基因序列被分为 4 个(*AZF a*、*AZF b*、*AZF c* 和 *AZF d*)亚区^[6-8], 包含与精子发生有关的一系列基因^[9-11]。且视缺失区域的不同, 可引起不同程度的精液质量下降^[12-15]。基于 STR 技术的性别判断基因 *AMEL* (amelogenin Y) 含有 2 个等位基因座(*AMELX* 和 *AMELY*), *AMELX* 位于 Xp22.1-22.3, *AMELY* 位于 Yp11.2^[16,17], 目前均已被广泛应用到人类商业化试剂盒中。研究发现, 部分 Y-STR 和 *AMELY* 基因表现出等位基因“丢失”(无效扩增)现象, 这种等位基因“丢失”现象与 Y 染色体部分缺失有密切关系^[18-21]。同时, *AMELY* 基因“丢失”现象, 与某些特定的 Y-STR 无效扩增同时发生^[20,22]。然而由于样本的多样性、取材过程的不确定性和实验过程的复杂性(如样本 DNA 降解、含量极低和扩增技术等), 实验本身可能得到“不完整”的 Y-STR 分型结果。因此, 这些特殊的基因型将会限制 Y-STR 的应用和干扰实验室的数据解读, 同时影响了法庭科学 DNA 检验在此类遗传缺陷人群中的应用。本研究分析 85 例 *AZF* 基因缺失患者的 Y-STR 基因座缺失类型, 为此类遗传缺陷人群的遗传标记缺失提供科学解释, 以期帮助 DNA 检验实

验室对异常数据做出正确的解读和判断。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集 2016 年 3 月~2018 年 3 月于本院就诊的男性不育症患者抗凝血 85 例。纳入标准: (1)经 Y 染色体微缺失试剂盒检测存在 *AZF* 区域缺失的男性不育患者。排除标准: (1)感染性梗阻性无精子症; (2)特发性低促性腺激素性性腺功能减退症。所有参与者均签署知情同意。

1.2 基因组 DNA 提取

采用 Qiagen 微量 DNA 提取试剂盒(Qiagen 公司, 德国), 按照说明书提取基因组 DNA。

1.3 *AZF* 微缺失 STS 检测

采用 Y 染色体微缺失试剂盒(Y chromosome deletion detection system kit version 2.0, Promega 公司, 美国)检测 20 个序列标签位点(sequence-tagged sites, STS)。本试剂盒包含 5 组引物复合物(共 20 对), 通过 5 组多重 PCR 扩增技术(Multiplex PCR)对样本全基因组进行扩增。其中包含了《欧洲 Y 染色体微缺失分子诊断指南 2014 版本》^[23]推荐的 6 个序列标签位点。A 组扩增片段包含: SY254、SY157、SY81、SY130 和 SY182; B 组扩增片段包含: SYPR3、SY127、SY242 和 SY208; C 组扩增片段包含: SY128、SY121、SY145 和 SY255; D 组扩增片段包含: SY133、SY152 和 SY124; E 组扩增片段包含: SY14、SY134、SY86 和 SY84。A~D 组选取 X 连锁的区域 SMCX

作为内对照, E 组选取男性和女性共有的特异性区域 ZFX/ZFY(zinc-finger-Y gene, *ZFY*)作为内对照。正常男性 DNA 为阳性对照, 去离子水为空白对照。

取 10 μ L PCR 扩增产物, GoldViewTM 染色, 经 4% 琼脂糖凝胶电泳, 根据以下标准, 进行 *AZF* 基因缺失类型判断。*AZF a* 区: SY81、SY86、SY84 和 SY182 ;*AZF b* 区: SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY133 和 SY134 ;*AZF d* 区: SY145 和 SY152 ;*AZF c* 区: SY145、SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157。

1.4 Y-STR 和 AMEL 基因分型检测

采用 AmpFISTR[®]YfilerTM 荧光标记复合扩增系统(Applied Biosystems 公司, 美国)对 Y 染色体上 17 个 STR 基因座(*DYS456*、*DYS389I*、*DYS390*、*DYS389II*、*DYS458*、*DYS19*、*DYS385*、*DYS393*、*DYS391*、*DYS439*、*DYS635*、*DYS392*、*GATA-H4*、*DYS437*、*DYS438* 和 *DYS448*)进行基因分型。采用 PowerPlex 21 荧光标记复合扩增检测试剂(Promega 公司, 美国)检测 *AMEL* 基因分型。使用 9700 型基因扩增仪(Applied

Biosystems 公司, 美国)和 3500 xl Dx 型号遗传分析仪(Applied Biosystems 公司, 美国)进行扩增和毛细管电泳。PCR 扩增反应体系总体积为 10 μ L, 扩增体系和扩增条件参照试剂盒说明书。每批样本均采用 C2800 男性 DNA (Promega 公司, 美国)和超纯水分别作阳性对照和阴性对照。采用 Gene Mapper ID-X 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 Y 染色体微缺失

通过 20 个 STS 检测, 发现单纯 *AZF a* 区缺失 7 例(8.235%), 其中 2 例 a 区(SY86)部分缺失, 另 5 例 a 区(SY86+SY84)连续缺失; 单纯 *AZF b* 区缺失 2 例(2.353%), 其中 1 例 b 区(SY134)部分缺失, 1 例 b 区(SY121+SYPR3+SY124+SY127+SY128+SY130+SY134)连续缺失; 单纯 *AZF c* 区缺失 60 例(70.588%); *AZF b+c+d* 区复合缺失 10 例(11.765%) ;*AZF a+b+c+d* 区复合缺失 6 例(7.059%) (表 1, 图 1)。

表 1 *AZF* 缺失类型和缺失的序列标签位点
Table 1 *AZF* deletion region and the sequence-tagged sites

组别	比例	亚组	缺失的序列标签位点
a	7/85 (8.235%)	a1	SY86
		a2	SY84 和 SY86
b	2/85 (2.353%)	b1	SY134
		b2	SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130 和 SY134
c	60/85 (70.588%)	c1	SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157
		c2	SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157
bcd	10/85 (11.765%)	bcd1	SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY133、SY134、SY145、SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157
		bcd2	SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY134、SY152、SY242、SY208、SY254 和 SY255
		bcd3	SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY134、SY145、SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157
abcd	6/85 (7.059%)	abcd1	SY182、SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY134、SY145、SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157
		abcd2	SY86、SY84、SY182、SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY133、SY134、SY145、SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157
		abcd3	SY81、SY86、SY84、SY182、SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY134、SY145、SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157
		abcd4	SY81、SY86、SY84、SY182、SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY133、SY134、SY145、SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157

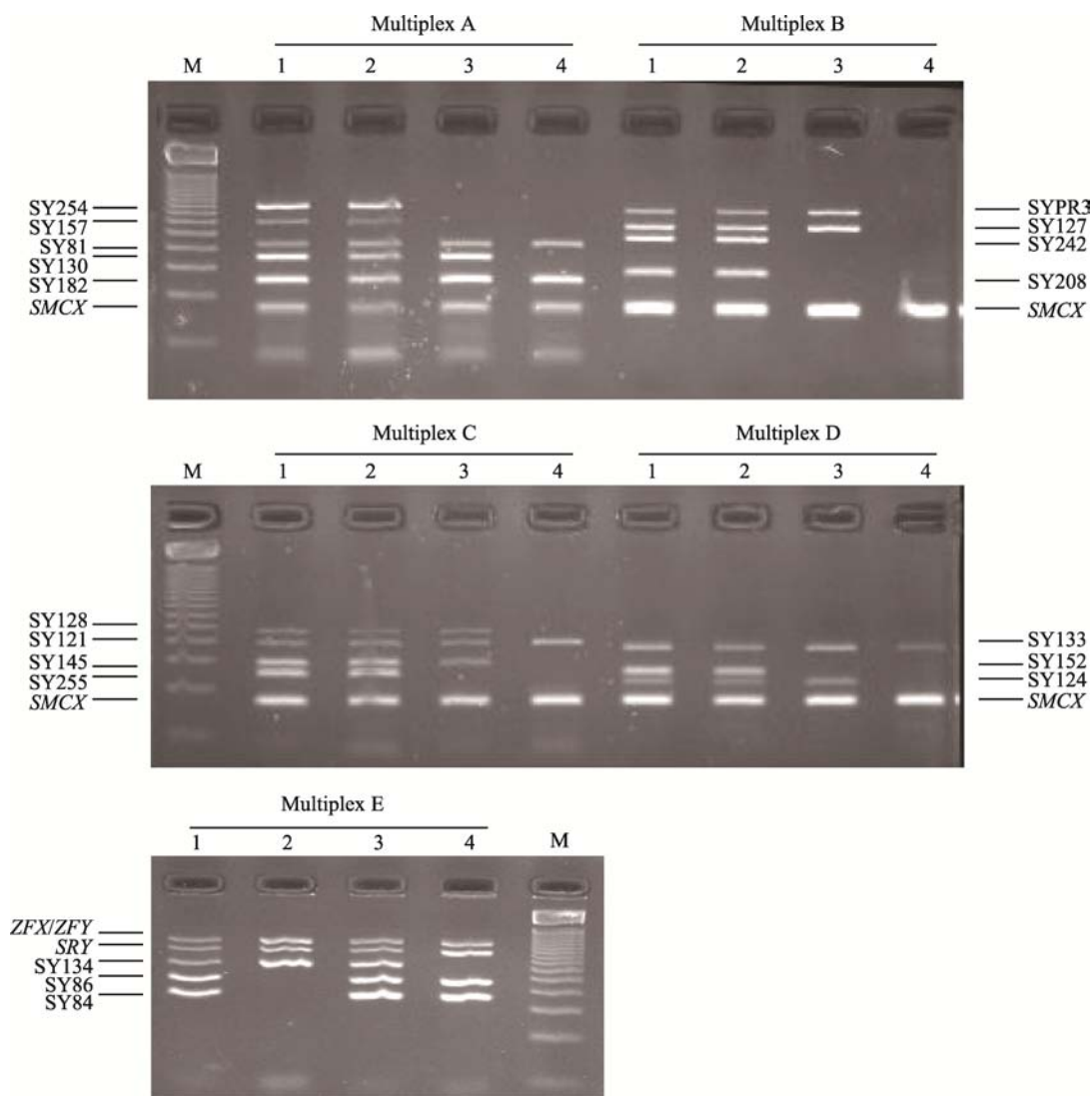


图 1 Multiplex PCR 结合琼脂糖凝胶电泳结果示意图

Fig. 1 Schematic result of multiplex PCR combined with agarose gel electrophoresis

M: Marker; 1: 正常人样本; 2: a2 亚组样本; 3: c1 亚组样本; 4: bcd3 亚组样本。

2.2 Y-STR 和 AMEL 基因无效扩增

通过检测 17 个 Y-STR 基因座, 发现 27 例 (31.765%) Y 染色体微缺失患者存在 Y-STR 基因座无效扩增, 且与 STS 缺失位点相关(图 2, 图 3)。

2.2.1 *DYS439-DYS389I-DYS389II*-(*DYS437-DYS438*) 基因座无效扩增

在共检出的 7 例 *AZF a* 区缺失中, 本研究按照缺失类型将其分为 a1 (SY86 缺失) 和 a2 (SY86+SY84 缺失) 两组, 其中 2 例 a1 亚组样本 Y-STR 结果均显

示 *DYS439-DYS389I-DYS389II* 基因座无效扩增; 5 例 a2 亚组样本 Y-STR 结果均显示 *DYS437-DYS439-DYS389I-DYS389II-DYS438* 基因座无效扩增(表 2; 图 2, A 和 B)。

2.2.2 (*DYS385-DYS392*)-*DYS448* 基因座无效扩增

在检出的 60 例 *AZF c* 区缺失中, 按照缺失类型将其分为 c1 和 c2 两个组, 其中 2 例 c1 组样本 (No. E6 和 No. I3) Y-STR 结果显示 *DYS392-DYS448* 基因座无效扩增。另外 58 例样本 17 个 Y-STR 结果均正常。

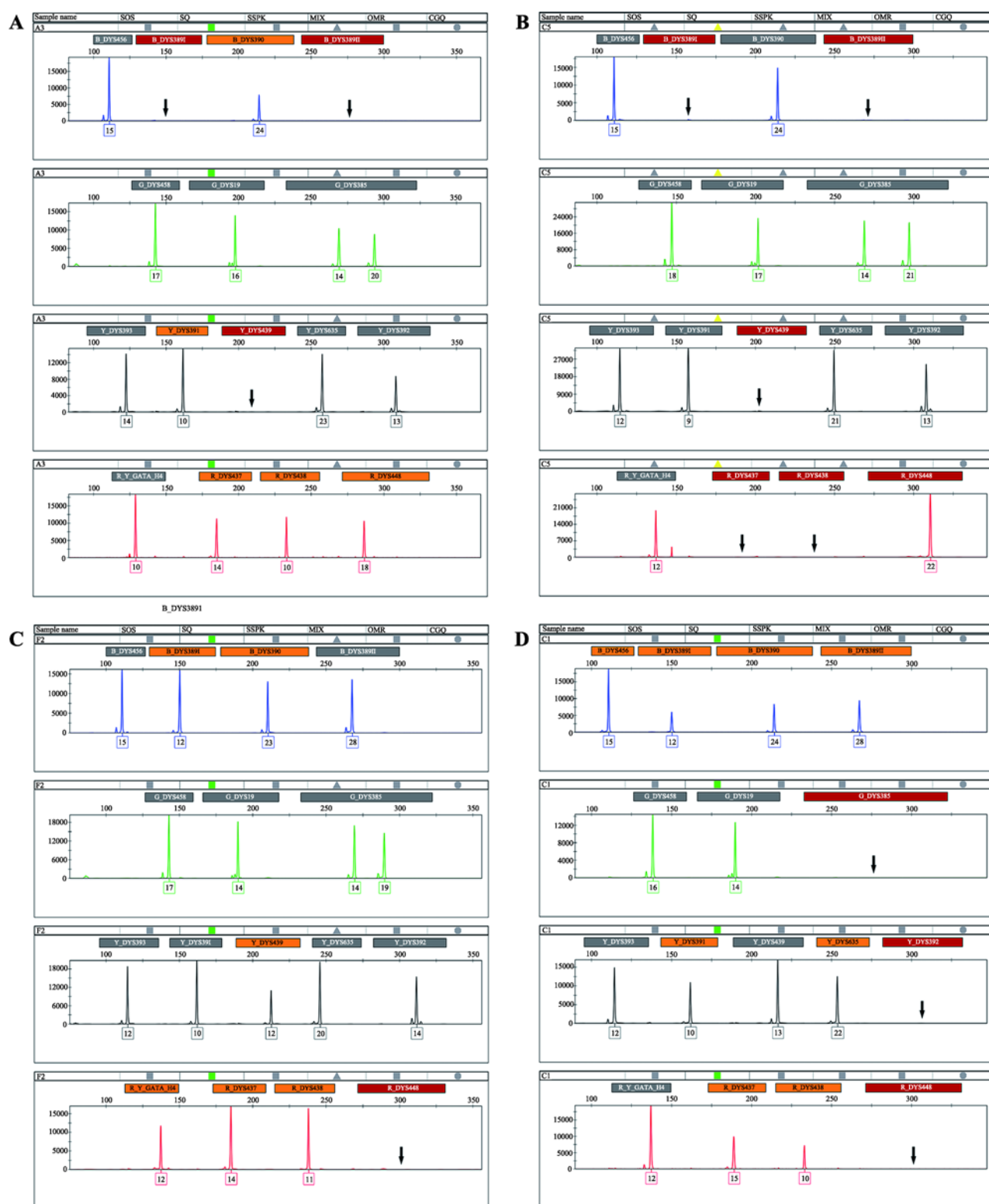


图 2 样本部分 Y-STR 无效扩增示意图

Fig. 2 Schematic of specific Y-STR allele dropout

A: a1 亚组(样本: A3); B: a2 亚组(样本: C5); C: b1 亚组(样本: F2); D: bcd2 亚组(样本: C1)。A: *DYS439-DYS389I-DYS389II* 基因座无效扩增; B: *DYS437-DYS439-DYS389I-DYS389II-DYS438* 基因座无效扩增; C: *DYS448* 基因座无效扩增; D: *DYS385-DYS392-DYS448* 基因座无效扩增(黑色箭头标记出无效扩增位点)。

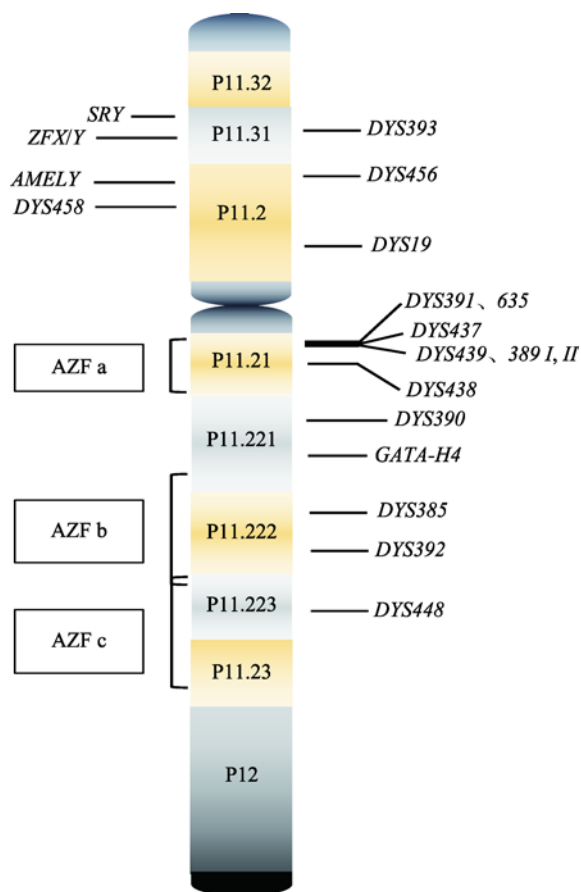


图 3 Y 染色体结构示意图

Fig. 3 Schematic of human Y chromosome and the location of Y-STR

在检出的 2 例 *AZF b* 区缺失中,按照缺失类型将其分为 b1 (SY134 缺失)和 b2 (SY121+SYPR3+SY124+SY127+SY128+SY130+SY134 缺失)两组,其中 b1 组样本 *DYS448* 基因座无效扩增(图 2C); b2 组样本结果 *DYS385-DYS392-DYS448* 基因座无效扩增,且无效扩增位点与 *AZF b+c+d* 区复合缺失样本相同(表 2)。

2.2.3 (*DYS390-GATA-H4*)-*DYS385-DYS392-DYS448* 基因座无效扩增

在检出的 10 例 *AZF b+c+d* 区复合缺失中,按照缺失类型将其分为 3 组: bcd1、bcd2 和 bcd3,其中 10 例样本均显示 *DYS385-DYS392-DYS448* 基因座无效扩增,另 1 例 bcd2 组样本显示 *DYS390-GATA-H4-DYS385-DYS392-DYS448* 基因座无效扩增(表 2, 图 2D)。

2.2.4 *DYS390-GATA-H4-DYS385-DYS392-DYS448* 基因座无效扩增

在共检出的 6 例 *AZF a+b+c+d* 区复合缺失中,我们按照缺失类型将其分为 4 组: abcd1、abcd2、abcd3 和 abcd4,所有样本 *DYS393-DYS456* 基因座均扩增成功,而 *DYS390-GATA-H4-DYS385-DYS392-DYS448* 基因座均无效扩增(表 3)。

2.2.5 *AMELY* 基因座无效扩增和异常扩增

考虑到 *AZF* 大片段缺失可能影响其位置邻近的性别相关基因 *AMEL*,于是研究者将 6 例 *AZF a+b+c+d* 区复合缺失组样本进行常染色体 STR 检测,观察其 *AMELX* 和 *AMELY* 基因座。结果表明 3 例男性 abcd4 组样本 *AMELY* 基因扩增“丢失”,常染色体 STR 性别基因 *AMEL* 显示为(XX),1 例 abcd3 组样本 *AMELY* 基因扩增异常,显示为(XYY)。另 2 例样本常染色体性别相关基因 *AMEL* 显示为(XY)(图 4)。

3 讨论

Y 染色体作为男性独有的性染色体,可分为两端的拟常染色质区((pseudoautosomal region, PAR)和男性特异性区域 (male-specific region of Y chromosome, MSY)。在减数分裂中,两端的拟常染区 (PAR1 和 PAR2)常与 X 染色体发生重组,而 MSY 区域不发生重组,呈父系单倍体遗传。而 Y-STR 正位于其非重组区^[3,24,25]。除突变外,同一家族中所有男性个体的 Y-STR 分型结果理论上应完全一致。鉴于其在同一父系家族的特异性,研究者可直接获得男女混合检材样本中的男性 Y 染色体遗传信息而不受女性样本的影响。其特殊的遗传模式,在法庭科学应用中有其独特的优势^[26,27]。同时, Y 染色体的非重组区(non-recombining region of Y, NPY)含有大量高度同源的重叠序列,导致该区域具备了高度的结构不稳定性,较容易发生染色体非等位的同源性重组(non-allelic homologous recombination, NAHR),导致 Y 染色体出现结构重排,如缺失、倒置和重复等^[28-31],从而可能对 Y-STR 基因的稳定性产生影响。

研究表明,精子的发生调控与 Y 染色体无精子

表 2 AZF 部分缺失样本和 Y-STR 等位基因分型

Table 2 AZF interstitial deletion and Y-STR typing

样本	亚组	等位基因															
		DYS393	DYS456	DYS458	DYS19	DYS391	DYS635	DYS437	DYS439	DYS389I	DYS389II	DYS438	DYS390	GATA-H4	DYS385	DYS392	SYS448
A3	a1	14	15	17	16	10	23	14	/	/	/	10	24	10	14,20	13	18
G8	a1	14	15	18	16	10	23	14	/	/	/	10	24	10	14,20	13	18
C5	a2	12	15	18	17	9	21	/	/	/	/	/	24	12	14,21	13	22
D4	a2	12	15	17	16	10	20	/	/	/	/	/	25	13	14,18	13	20
F1	a2	12	15	17	15	11	23	/	/	/	/	/	26	11	13,20	15	19
I7	a2	13	15	16	15	10	21	/	/	/	/	/	23	12	13	14	18
K8	a2	12	15	18	14	10	20	/	/	/	/	/	25	11	13,18	14	20
F2	b1	12	15	17	14	10	20	14	12	12	28	11	23	12	14,19	14	/
H1	b2	13	14	19	15	11	22	14	12	14	30	10	25	10	/	/	/
E6	c1	13	15	18	14	10	21	14	12	12	26	11	24	12	13,18	14	/
I3	c1	12	15	17	15	10	20	14	12	12	28	12	24	12	14,17	/	/
C1	bcd2	12	15	16	14	10	22	15	13	12	28	10	24	12	/	/	/
C8	bcd2	12	16	17	15	10	23	14	13	12	28	10	25	11	/	/	/
G3	bcd2	12	15	21	14	10	20	14	12	12	28	11	24	12	/	/	/
L1	bcd2	13	15	18	14	10	21	15	12	12	26	11	24	12	/	/	/
L2	bcd2	13	15	16	15	10	20	14	11	12	28	10	23	12	/	/	/
D7	bcd2	12	14	16	15	10	21	14	11	13	30	10	23	11	/	/	/
J3	bcd2	14	16	16	13	6	22	14	11	14	30	12	23	10	/	/	/
K1	bcd3	12	15	16	14	10	20	15	13	12	26	11	24	11	/	/	/
D2	bcd1	14	16	18	15	10	23	14	14	13	29	10	23	11	/	/	/
A7	bcd2	15	15	16	17	10	21	14	11	13	29	10	/	/	/	/	/

“/”代表该位点等位基因扩增失败。

表 3 AZF a+b+c+d 区缺失样本的 Y-STR 等位基因分型

Table 3 AZF large region deletion and Y-STR typing

样本	亚组	等位基因															
		DYS393	DYS456	DYS458	DYS19	DYS391	DYS635	DYS437	DYS439	DYS389I	DYS389II	DYS438	DYS390	GATA-H4	DYS385	DYS392	SYS448
F4	abcd 1	12	13	17	15	10	21	14	12	12	28	10	/	/	/	/	/
F7	abcd 2	13	15	19	15	11	19	15	/	/	/	/	/	/	/	/	/
H4	abcd 3	13	18	15	16	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
A1	abcd 4	12	15	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
H6	abcd 4	12	16	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
L3	abcd 4	12	15	17	16	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

“/”代表该位点等位基因扩增失败。

因子 AZF 密切相关,且该区也位于 Y 染色体的非重组区^[32~35]。AZF 基因缺失引起的生精障碍是导致男性不育的重要原因,表现为原发性无精子症和少精

症^[36]。国内有研究表明了男性不育人群部分 Y-STR 无效等位基因情况,然而由于样本数量有限,部分缺失型别未能全面涉及^[18]。本研究采用美国 Promega

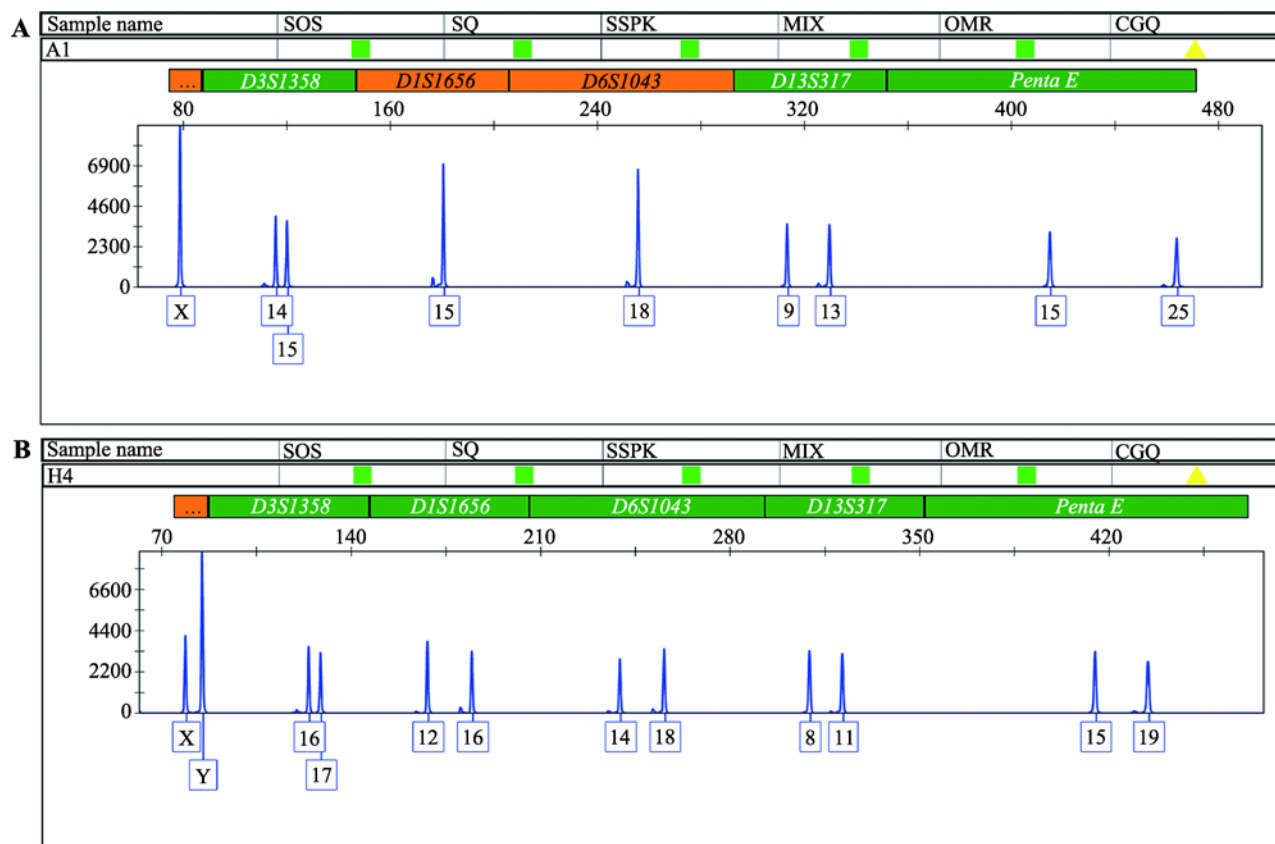


图 4 样本 *AMELY* 等位基因无效扩增和异常扩增结果

Fig. 4 *AMELY* allele dropout and abnormal amplification

A: 男性样本无 Y 峰(样本: A1、H6、L3); B: Y 峰峰高异常(样本: H4)。

公司的 20 个 STS 位点(SY81、SY86、SY84、SY182、SY121、SYPR3、SY124、SY127、SY128、SY130、SY133、SY134、SY145、SY152、SY242、SY208、SY254、SY255 和 SY157)的 Y 染色体缺失检测商业试剂盒, 将 *AZF* 基因缺失类型分为 5 组。同时根据缺失位点将每组细分为 1~4 个亚组, 以保证分析结果的准确性。结果显示单纯 *AZF a* 区缺失 7 例(8.235%), 包括 *a* 区部分缺失和连续缺失两个亚组; 单纯 *AZF b* 区单纯缺失 2 例(2.353%), 包括 *b* 区部分缺失和连续缺失两个亚组; 单纯 *AZF c* 区连续缺失 60 例(70.588%); *AZF b+c+d* 区复合缺失 10 例(11.765%), 包括连续缺失和不连续缺失 3 个亚组; *AZF a+b+c+d* 区复合缺失 6 例(7.059%), 依据缺失复杂程度分为 4 个亚组。

本研究结果显示, 在 Y-STR 等位基因缺失模式上面, 不同 *AZF* 缺失亚组表现出独特的缺失特点(图 2, 图 3): (1) 在 *AZF a1* 亚组(SY86 缺失)中, Y-STR

等位基因表现为 *DYS439-DYS389I-DYS389II* 基因座无效扩增(图 2A); 在 *AZF a2* 亚组(SY86+SY84 缺失)中 Y-STR 等位基因表现为 *DYS439-DYS389I-DYS389II-DYS437-DYS438* 基因座无效扩增(图 2B)。因此推测 *DYS439-DYS389I-DYS389II* 基因座无效扩增可能与 SY86 缺失有关; *DYS437-DYS438* 基因座无效扩增可能与 SY84 缺失有关, 但由于此缺失类型在人群中的发生率较低, 该组的样本量较少, 该结论普适性有待进一步扩大样本量验证。(2) 在 *AZF b* 组和 *AZF c* 组中, 所有样本均表现为 *DYS448* 基因座无效扩增。其中 *AZF b* 区缺失的 Y-STR 等位基因无效扩增与之前研究结果不完全一致, 原因可能是由于样本选择不同而造成的差异^[18]。本研究的 *AZF b1* 亚组仅为 SY134 缺失, 因此仅表现为 *DYS448* 基因座无效扩增(图 2C)。目前研究结果显示, 大部分的男性 Y 染色体微缺失表现为 *AZF c* 区缺失^[36,37], 有研究报道了 *AZF c* 区缺失与 *DYS448* 基因

座无效扩增有关,但实验样本量较少,可能产生倚倚^[18,38,39]。而在本研究的60例c区缺失样本中仅有2例表现为DYS448基因座无效扩增(3.333%),结果偏低。DYS448基因座无效扩增是否与AZF c区缺失有关,亦或为引物结合区基因突变而导致的等位基因无效扩增,尚有待进一步研究。(3) AZF b+c+d区复合缺失全部样本均表现为DYS385-DYS392-DYS448基因座无效扩增,与AZF b2组缺失的Y-STR基因座相同,因此推测:DYS385-DYS392-DYS448基因座无效扩增可能与(SYPR3+SY124+SY127+SY128+SY130+SY134)缺失有关。(4) AZF a+b+c+d区复合缺失全部样本均表现为DYS390-GATA-H4-DYS385-DYS392-DYS448基因座无效扩增,根据以上结果推测DYS390-GATA-H4基因座无效扩增与SY182缺失有关。(5) 3例样本AZF abcd4亚组AMELY等位基因“丢失”,DNA检测表现为XX。与之前报道的Y染色体长臂大片段缺失导致DYS458-DYS19-AMELY丢失结果一致^[20,40,41]。其机制可能为:此类大片段缺失始于Yp11.2并涵盖了整个Y染色体长臂,以致AMELY和DYS458-DYS19及整条长臂遗传标记物丢失,与此同时,靠近拟常染色质区的Y染色体短臂标记物如SRY-DYS393-DYS456与X染色体发生重组,导致Y染色体短臂部分标记物如SRY基因(性别决定基因)重新定位到X染色体短臂,而造成个体发育成男性特征^[22,40]。然而此种缺失-重定位理论无法合理解释样本L3的分型结果(AMELY阴性,DYS458-DYS19阳性),有待后续对其机制进行更深入的研究。综上所述,本研究阐明了DYS437、DYS439、DYS389I、DYS389II、DYS438、DYS390、GATA-H4、DYS385、DYS392和DYS448在AZF基因缺失人群的遗传异质性,为此类遗传缺陷人群的遗传标记缺失提供了科学解释和理论依据,提高实验室对异常Y-STR数据解读能力。

参考文献(References):

- [1] Kayser M. Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. *Hum Genet*, 2017, 136(5): 621–635. [DOI]
- [2] Willems T, Gymrek M, Poznik GD, Tyler-Smith C, The 1000 Genomes Project Chromosome Y Group, Erlich Y. Population-Scale sequencing data enable precise estimates of Y-STR mutation rates. *Am J Hum Genet*, 2016, 98(5): 919–933. [DOI]
- [3] Liu H. Establishment of fluorescence labeled 24 Y-STRs loci multiplex PCR system and its application in forensic medicine (thesis)[D]. Southern Medical University, 2012. 刘宏. 24个Y-STR基因座荧光标记复合检测体系的建立及其法医学应用[学位论文]. 南方医科大学, 2012. [DOI]
- [4] Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet*, 1976, 34(2): 119–124. [DOI]
- [5] Liu XG, Hu HY, Guo YH, Sun YP. Correlation between Y chromosome microdeletion and male infertility. *Genet Mol Res*, 2016, 15(2). [DOI]
- [6] Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, Köhn FM, Schill WB, Farah S, Ramos C, Hartmann M, Hartschuh W, Meschede D, Behre HM, Castel A, Nieschlag E, Weidner W, Gröne HJ, Jung A, Engel W, Haidl G. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*, 1996, 5(7): 933–943. [DOI]
- [7] Kent-First M, Muallem A, Shultz J, Pryor J, Roberts K, Noltén W, Meisner L, Chandley A, Gouchy G, Jorgensen L, Havighurst T, Grosch J. Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol Reprod Dev*, 1999, 53(1): 27–41. [DOI]
- [8] Ataei M, Akbarian F, Talebi MA, Dolati P, Mobaraki M, Faraji A, Houshmand M. Analysis of partial AZFc (gr/gr, b1/b3, and b2/b3) deletions in Iranian oligozoospermia candidates for intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Turk J Med Sci*, 2018, 48(2): 251–256. [DOI]
- [9] Sen S, Pasi AR, Dada R, Shamsi MB, Modi D. Y chromosome microdeletions in infertile men: Prevalence, phenotypes and screening markers for the Indian population. *J Assist Reprod Gen*, 2013, 30(3): 413–422. [DOI]
- [10] Foresta C, Moro E, Rossi A, Rossato M, Garolla A, Ferlin A. Role of the AZFa candidate genes in male infertility. *J Endocrinol Invest*, 2000, 23(10): 646–651. [DOI]
- [11] Sen S, Ambulkar P, Hinduja I, Zaveri K, Gokral J, Pal A, Modi D. Susceptibility of gr/gr rearrangements to azoospermia or oligozoospermia is dependent on DAZ and CDY1 gene copy deletions. *J Assist Reprod Gen*, 2015, 32(9): 1333–1341. [DOI]
- [12] Liu XY, Wang RX, Fu Y, Luo LL, Guo W, Liu RZ.

- Outcomes of intracytoplasmic sperm injection in oligozoospermic men with Y chromosome AZFb or AZFc microdeletions. *Andrologia*, 2017, 49(1): e12602. [DOI]
- [13] Zhang YS, Li LL, Xue LT, Zhang H, Zhu YY, Liu RZ. Complete azoospermia factor b deletion of Y chromosome in an infertile male with severe oligoasthenozoospermia: Case report and literature review. *Urology*, 2017, 102: 111–115. [DOI]
- [14] Liu XH, Qiao J, Li R, Yan LY, Chen LX. Y chromosome AZFc microdeletion may not affect the outcomes of ICSI for infertile males with fresh ejaculated sperm. *J Assist Reprod Gen*, 2013, 30(6): 813–819. [DOI]
- [15] Fu L, Xiong DK, Ding XP, Li C, Zhang LY, Ding M, Nie SS, Quan Q. Genetic screening for chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in Chinese infertile men. *J Assist Reprod Gen*, 2012, 29(6): 521–527. [DOI]
- [16] Nakahori Y, Takenaka O, Nakagome Y. A human X-Y homologous region encodes "amelogenin". *Genomics*, 1991, 9(2): 264–269. [DOI]
- [17] Sullivan KM, Mannucci A, Kimpton CP, Gill P. A rapid and quantitative DNA sex test: fluorescence-based PCR analysis of X-Y homologous gene amelogenin. *Biotechniques*, 1993, 15(4): 636–638, 640–641. [DOI]
- [18] Ye JJ, Li ZF, Chen YX, Ma L, Li M, Wang YL, Yang LJ, Chen BW. Analysis of null alleles for 17 Y chromosome-short tandem repeat loci in infertile males. *Chin J Med Gene*, 2013, 30(3): 330–334.
叶峻杰, 李宗芳, 陈燕祥, 马丽, 李貌, 郭海, 王跃力, 杨丽娟, 程宝文. 男性不育人群 17 个 Y 染色体短串联重复基因座无效等位基因分析. 中华医学遗传学杂志, 2013, 30(3): 330–334. [DOI]
- [19] Wang YL, Ye JJ, Li ZF, Zheng S, Ma L, Guo H, Yang LJ, Chen BW. Identification of null and duplicated alleles for forensic DYS549, DYS527 and DYS459 in male infertility population. *Hereditas (Beijing)*, 2014, 36(8): 786–792.
王跃力, 叶峻杰, 李宗芳, 郑水, 马丽, 郭海, 杨丽娟, 程宝文. 对法医学相关的 DYS549, DYS527, DYS459 基因座在男性不育症人群中的缺失、重复调查. 遗传, 2014, 36(8): 786–792. [DOI]
- [20] Ma Y, Kuang JZ, Zhang J, Wang GM, Wang YJ, Jin WM, Hou YP. Y chromosome interstitial deletion induced Y-STR allele dropout in AMELY-negative individuals. *Int J Legal Med*, 2012, 126(5): 713–724. [DOI]
- [21] Takayama T, Takada N, Suzuki R, Nagaoka S, Watanabe Y, Kumagai R, Aoki Y, Butler JM. Determination of deleted regions from Yp11.2 of an amelogenin negative male. *Legal Med-Tokyo*, 2009, 11(Suppl.1): S578–S580. [DOI]
- [22] Davis C, Illescas M, Tirado C, Lopez R, Budowle B, Cruz TD. A case of amelogenin Y-null: a simple primer binding site mutation or unusual genetic anomaly? *Leg Med*, 2012, 146): 320–323. [DOI]
- [23] Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. European Academy of Andrology, European Molecular Genetics Quality Network. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*, 2014, 2(1): 05–19. [DOI]
- [24] Shang L, Mo XT, Yang F, Zhang J, Yu ZL, Ma X, Zhao XC, Li WS. Progress towards forensic research and application of Multi-copied Y-STR loci. *Foren Sci Technol*, 2018, 43(2): 97–103.
尚蕾, 莫晓婷, 杨帆, 张建, 余政梁, 马新, 赵兴春, 李万水. 多拷贝 Y-STR 基因座在法庭科学领域的研究. 刑事技术. 2018, 43(2): 97–103. [DOI]
- [25] Yannic G, Basset P, Hausser J. A new perspective on the evolutionary history of western European *Sorex araneus* group revealed by paternal and maternal molecular markers. *Mol Phylogenet Evol*, 2008, 47(1): 237–250. [DOI]
- [26] Zhang WQ, Liu YX, Huang DX. Y-STR mutation and forensic application of rapidly mutating Y-STRs. *Chin J Fore Med*, 2015, 30(4): 380–383.
张文琼, 刘宇轩, 黄代新. Y-STR 突变及快速突变 Y-STR 的法医学应用价值. 中国法医学杂志, 2015, 30(4): 380–383. [DOI]
- [27] Ballantyne KN, Keerl V, Wollstein A, Choi Y, Zuniga SB, Ralf A, Vermeulen M, de Knijff P, Kayser M. A new future of forensic Y-chromosome analysis: Rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages. *Forensic Sci Int-Gen*, 2012, 6(2): 208–218. [DOI]
- [28] Repping S, Skaletsky H, Lange J, Silber S, Van Der Veen F, Oates RD, Page DC, Rozen S. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am J Hum Genet*, 2002, 71(4): 906–922. [DOI]
- [29] Yang Y, Zhang SZ. Y chromosome variations and male infertility. *Chin J Med Genet*, 2010, 27(3): 276–281.
杨元, 张思仲. Y 染色体变异与男性不育. 中华医学遗传学杂志, 2010, 27(3): 276–281. [DOI]
- [30] Ballantyne KN, Goedbloed M, Fang R, Schaap O, Lao O, Wollstein A, Choi Y, van Duijn K, Vermeulen M, Brauer S, Decorte R, Poetsch M, von Wurmb-Schwark N, de Knijff P, Labuda D, Vézina H, Knoblauch H, Lessig R, Roewer L, Ploski R, Dobosz T, Henke L, Henke J, Furtado MR,

- Kayser M. Mutability of Y-chromosomal microsatellites: rates, characteristics, molecular bases, and forensic implications. *Am J Hum Genet*, 2010, 87(3): 341–353. [\[DOI\]](#)
- [31] Goedbloed M, Vermeulen M, Fang RN, Lembring M, Wollstein A, Ballantyne K, Lao O, Brauer S, Krüger C, Roewer L, Lessig R, Ploski R, Dobosz T, Henke L, Henke J, Furtado MR, Kayser M. Comprehensive mutation analysis of 17 Y-chromosomal short tandem repeat polymorphisms included in the AmpFISTR Yfiler PCR amplification kit. *Int J Legal Med*, 2009, 123(6): 471–482. [\[DOI\]](#)
- [32] Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Reprod Biol Endocrin*, 2018, 16(1): 14. [\[DOI\]](#)
- [33] Sen S, Ambulkar P, Hinduja I, Zaveri K, Gokral J, Pal A, Modi D. Susceptibility of gr/gr rearrangements to azoospermia or oligozoospermia is dependent on DAZ and CDY1 gene copy deletions. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32(9): 1333–1341. [\[DOI\]](#)
- [34] Zhang YS, Li LL, Xue LT, Zhang H, Zhu YY, Liu RZ. Complete Azoospermia Factor b deletion of Y chromosome in an infertile male with severe oligoasthenozoospermia: case report and literature review. *Urology*, 2017, 102: 111–115. [\[DOI\]](#)
- [35] Yousefi-Razin E, Nasiri MJ, Omrani MD. Frequency of Y chromosome microdeletions among Iranian infertile men with azoospermia and severe oligozoospermia: a meta-analysis. *J Reprod Infertil*, 2016, 17(4): 208–212. [\[DOI\]](#)
- [36] Zhang YS, Dai RL, Wang RX, Zhang HG, Chen S, Liu RZ. Analysis of y chromosome microdeletion in 1738 infertile men from Northeastern China. *Urology*, 2013, 83(3): 584–588. [\[DOI\]](#)
- [37] Akınsal EC, Baydilli N, Dündar M, Ekmekçioğlu O. The frequencies of Y chromosome microdeletions in infertile males. *Turk J Urol*, 2018, 44(5): 389–392. [\[DOI\]](#)
- [38] Balaesque P, Bowden GR, Parkin EJ, Omran GA, Heyer E, Quintana-Murci L, Roewer L, Stoneking M, Nasidze I, Carvalho-Silva DR, Tyler-Smith C, de Knijff P, Jobling MA. Dynamic nature of the proximal AZFc region of the human Y chromosome: multiple independent deletion and duplication events revealed by microsatellite analysis. *Hum Mutat*, 2008, 29(10): 1171–1180. [\[DOI\]](#)
- [39] Turrina S, Caratti S, Ferrian M, De Leo D. Deletion and duplication at DYS448 and DYS626 loci: unexpected patterns within the AZFc region of the Y-chromosome. *Int J Legal Med*, 2015, 129(3): 449–455. [\[DOI\]](#)
- [40] Chang YM, Perumal R, Keat PY, Yong RY, Kuehn DL, Burgoyne L. A distinct Y-STR haplotype for Amelogenin negative males characterized by a large Y(p)11.2 (DYS458-MSY1-AMEL-Y) deletion. *Forensic Sci Int*, 2007, 166(2–3): 115–120. [\[DOI\]](#)
- [41] Ou X, Chen W, Chen H, Zhao F, Zheng J, Tong D, Chen Y, Chen A, Sun H. Null alleles of the X and Y chromosomal amelogenin gene in a Chinese population. *Int J Legal Med*, 2012, 126(4): 513–518. [\[DOI\]](#)

(责任编辑: 杨昭庆)