

- and surgical treatment of syringomyelia[J]. Zhongguo Yixue Gongcheng, 2013, 21(6): 23-24.
- [6] PILLAY P K, AWAD I A, LITTLE J R, et al. Symptomatic Chiari malformation in adults: A new classification based on magnetic resonance imaging with clinical and prognostic significance[J]. Neurosurgery, 1991, 28(5): 639-645.
- [7] 邓晓峰, 吴量, 杨辰龙, 等. Chiari 畸形研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2012, 39(5): 431-434.
- DENG X F, WU L, YANG C L, et al. Research progress of Chiari malformation[J]. Guoji Shenjingbingxue Shenjingwaikexue Zazhi, 2012, 39(5): 431-434.
- [8] EL-GHANDOUR N M. Long-term outcome of surgical management of adult Chiari I malformation[J]. Neurosurg Rev, 2012, 35(4): 537-547. doi: 10.1007/s10143-012-0387-0.
- [9] 鞠立峰. Chiari 畸形合并脊髓空洞症手术前后症状分析[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- JU L F. The analysis of Chiari malformation with syringomyelia symptoms between before and after surgery[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2014.
- (收稿日期: 2020-01-08)
(本文编辑: 夏晴)

· 案例报道 ·

亲子鉴定中 *Penta E* 基因座等位基因丢失 1 例

王礼萍¹, 陈曼², 刘莹^{1,3}

(1. 浙江迪安鉴定科学研究院 浙江迪安司法鉴定中心, 浙江 杭州 310007; 2. 中国科学院北京基因组研究所, 北京 100000; 3. 甘肃迪安同享医学检验中心司法鉴定所, 甘肃 兰州 730000)

关键词: 法医遗传学; 亲子鉴定; 等位基因丢失

中图分类号: DF795.2 文献标志码: B doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2020.04.034

文章编号: 1004-5619(2020)04-0592-03



1 案 例

1.1 简要案情

因需要办理孩子出生医学证明, 父亲要求与孩子进行亲子鉴定。本中心分别采取了父亲与孩子的指尖末梢血作为本次鉴定的检材。

1.2 检验方法

采用 Chelex-100 法^[1]提取检材 DNA, 先后采用 Microreader™ 21 (Direct) ID System 试剂盒(北京阅微基因技术有限公司, 以下简称“MR21 试剂盒”)、Goldeneye® DNA 身份鉴定系统 20A [基点认知技术(北京)有限公司, 以下简称“20A 试剂盒”] 及 AGCU Expressmarker 20 荧光检测试剂盒(无锡中德美联生物技术有限公司, 以下简称“EX20 试剂盒”)进行 PCR 复合扩增, 扩增产物用 3100 基因分析仪(美国 Applied Biosystems 公司)进行毛细管电泳, 用 GeneMapper® ID

v3.2 软件分析各基因座的基因型, 采用 QIAamp DNA Investigator 试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取纯化检材 DNA 并对 PCR 产物进行克隆测序分析, 实验过程参照相关操作手册进行。

1.3 检验结果

1.3.1 常染色体 STR 基因分型结果

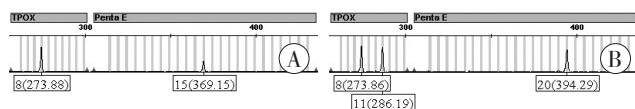
父亲和孩子的 DNA 经 MR21 试剂盒和 20A 试剂盒检测后发现, 在 *Penta E* 基因座, 父亲基因分型为“15”纯合子, 孩子基因分型为“20”纯合子, 不符合孟德尔遗传规律, 其余 19 个 STR 基因座均符合孟德尔遗传规律。经 EX20 试剂盒复核检测后发现, 在 *Penta E* 基因座, 父亲基因分型为“11, 15”杂合子, 孩子基因分型为“11, 20”杂合子, 符合孟德尔遗传规律。MR21、20A、EX20 试剂盒检测 *Penta E* 基因座相关数据见图 1~3。

作者简介: 王礼萍(1989—), 女, 主要从事法医物证学及法医毒物学鉴定; E-mail: 1562060637@qq.com

通信作者: 刘莹, 女, 硕士, 副主任法医师, 主要从事法医物证学及法医临床学研究; E-mail: snow.ly@163.com

1.3.2 测序结果

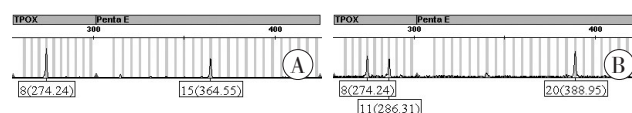
为了明确 *Penta E* 基因座的分型结果,对父亲和孩子的等位基因片段进行克隆测序分析,结果如表 1 所示,父亲和孩子在 *Penta E* 基因座均检出了 11 个 AAAGA 核心重复单位。



A: 父亲; B: 孩子。

图1 MR21试剂盒检测分型图谱(*Penta E*基因座)

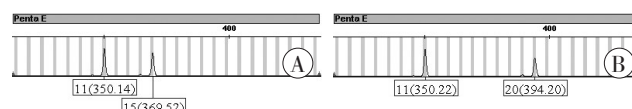
Fig. 1 Detection and typing map of MR21 kit (*Penta E* locus)



A: 父亲; B: 孩子。

图2 20A试剂盒检测分型图谱(*Penta E*基因座)

Fig. 2 Detection and typing map of 20A kit (*Penta E* locus)



A·父亲：B·孩子。

图3 EX20试剂盒检测分型图谱(*Penta E*基因座)

Fig. 3 Detection and typing map of EX20 kit (*Penta E* locus)

表1 父亲和孩子 *Penta E* 基因座测序所得重复序列

Tab. 1 Repeat sequence of *Penta E* locus from father and child

对象	等位基因	核心重复序列
父亲	15	CAGGAGGTGGAGATTGAAGTGAGCCGAGATCACGCCATTGCACTCCAGCCTGGGCGACTGAGC AAGACTCAGTCTCAAAGAAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGA AAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAATTTGTAAGGAGTTTTCTCAATTAATAAC CCAAATAA G AGAATTCTTTCCATGTATCAATCATGATACTA
	11 ¹⁾	GCCGAGATCACGCCATTGCACTCCAGCCTGGGCGACTGAGCAAGACTCAGTCTCAAAGAAAA GAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAATTGTAAG GAGTTTTCTCAATTAATAACC CAAATAA A A GAATTCTTTCCATGTATCAATCATGATACTA
孩子	11 ¹⁾	AGATCACGCCATTGCACTCCAGCCTGGGCGACTGAGCAAGACTCAGTCTCAAAGAAAAGAAA AG AAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAATTGTAAGGAGTT TTCTCAATTAATAACCCAAATAA A GAATTCTTTCCATGTATCAATCATGATACTA
	20	GAGATCACGCCATTGCACTCCAGCCTGGGCGACTGAGCAAGACTCAGTCTCAAAGAAAAGAA AAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAA AGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAAGAAAATTGTAAGGAGTTTTCTCAATTAAT AACCCAAATAA G AGAATTCTTTCCATGTATCAATCATGATACTA

注:1)MR21与20A试剂盒未检出;粗体部分为核心重复序列;下划线部分为下游引物结合区;红色部分为疑似引物结合区单核苷酸多态性位置。

1.4 鉴定意见

结合常染色体STR基因分型结果及测序结果,支持父亲与孩子之间存在亲生血缘关系。

2 讨 论

在法医物证学亲子鉴定中,短串联重复(short tandem repeat, STR)基因座分型结果不符合孟德尔遗传规律的现象时有发生。一般认为是滑动链错配(slippped-strand mispairing, SSM),即染色体 DNA 复制滑动形成的一种遗传变异形式。据统计^[2-3],大多数 STR 基因座的突变只涉及单个重复单位的增加或减少,即一步突变(one step mutation),约占突变等位基因的 90%,两个或更多个重复单位的改变少见。有学者^[4]提出了 STR 的逐步突变模式(stepwise mutation model, SMM),即多步突变是通过逐步突变形成的。

本案例使用 MR21 和 20A 试剂盒检测发现,在 *Penta E* 基因座,父亲的基因型为“15”,孩子的基因

分型为“20”,父亲不能提供给孩子必需的等位基因20,不符合孟德尔遗传规律。两个等位基因间相差5个重复单位,参照《亲权鉴定技术规范》(GB/T 37223—2018)中不符合遗传规律发生率的计算方法,5步突变的发生率应为 2.0×10^{-7} ,发生可能性很低。观察父亲在该基因座等位基因“15”峰面积值与相邻纯合基因座等位基因峰面积值的一半相当,孩子在该基因座等位基因“20”峰面积值与相邻杂合基因座单个等位基因峰面积值相当。因此考虑该基因座存在等位基因丢失的可能。经EX20试剂盒复核检测,父亲的基因型为“11,15”,孩子的基因型为“11,20”,证实为等位基因丢失。

等位基因丢失,亦称杂合性丢失^[5]。在使用STR试剂盒检测时,由于模板DNA在引物结合处的3'端附近存在DNA多态性、碱基的插入/缺失,PCR扩增中相应引物无法退火^[6],可能会出现等位基因丢失现象。根据基点认知技术(北京)有限公司提供的相关

试剂盒引物序列,与本案例测序结果比较,发现DNA模板在20A试剂盒的下游引物结合区域出现了碱基转换(表1),即鸟嘌呤(G)转换成了腺嘌呤(A)。PCR扩增中等位基因11的丢失可能与此处引物无法退火有关。

STR检验中,当出现亲权鉴定两样本间个别基因座分型不相同或不符合孟德尔遗传规律时,特别是分型结果为纯合子时,可采用不同引物设计(扩增产物长度差别尽量大)的两种检测体系进行检测,以避免DNA多态性位点,避免等位基因丢失,必要时通过测序确定序列,得到准确分型,使结论更严谨、科学。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国公安部. 法庭科学DNA实验室检验规范:GA/T 383—2014[S]. 北京:中国标准出版社,2014. Ministry of Public Security of People's Republic of China. Specifications for examination of forensic DNA laboratory: GA/T 383—2014[S]. Beijing: China Standards Publishing Press,2014.
- [2] BRINKMANN B, KLINTSCHAR M, NEUHUBER F, et al. Mutation rate in human microsatellites: Influence of the structure and length of the tandem repeat[J]. Am J Hum Genet, 1998, 62(6): 1408-1415. doi:10.1086/301869.
- [3] 邱平明,陈玲,余嘉欣,等. 法医学常用15个STR基因座的突变分析[J]. 分子诊断与治疗杂志,2016,8(4): 222-226. doi:10.3969/j.issn.1674-6929.2016.04.002. QIU P M, CHEN L, YU J X, et al. Mutations of 15 short tandem repeat loci for forensic application[J]. Fenzi Zhenduan Yu Zhiliao Zazhi, 2016, 8(4): 222-226.
- [4] OHTA T, KIMURA M. A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population[J]. Genet Res, 1973, 22(8):201-204.
- [5] 侯一平. 法医物证学[M].4版.北京:人民卫生出版社, 2016:81-82. HOU Y P. Forensic genetics[M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House,2016:81-82.
- [6] BUTLER J M. 法医DNA分型:STR遗传标记的生物学、方法学及遗传学[M].侯一平,刘雅诚,译.北京:科学出版社,2007. BUTLER J M. Forensic DNA typing: Biology, technology, and genetics of STR markers[M]. HOU Y P, LIU Y C, transl. Beijing: Science Press,2007.

(收稿日期:2019-05-17)

(本文编辑:史格非)