

DNATyper X19 试剂盒在中国北方汉族人的遗传多态性

YU Zhengliang¹, CAI Huiju¹, MA Wenhua¹, MO Xiaoting¹, YAO Yiren¹, WANG Le¹, LIU Chao²,
ZHAO Xingchun¹, LI Wanshui^{1,*}

¹公安部法医学研究所, 北京 100038

²广州法医所, 广州 510000

【摘要】目的 评估 DNATyper X19 试剂盒在法医学应用中的价值。方法 在这项研究中, 我们对 374 名中国北方汉族个体的遗传多态性进行了调查。结果 在 374 名华北汉族人群的 18 个 X-STR 基因座中共检测到 140 个等位基因, 从 228 名男性中检测出 228 个单倍型, 多样性为 100%。在这项研究中, 应用 Bonferroni 校正进行多次测试后 ($p = 0.05 / 18$), 没有标记脱离 Hardy-Weinberg 平衡, GATA31E08-DXS6797, DXS8377-DXS10079 处于连锁不平衡 (LD) ($p = 0.05 / 153$)。多态信息含量 (PIC) 为 0.434-0.908, 判别力 (DP) 为 0.432-0.983。男性的综合分辨力为 0.99999993, 女性为 0.99999992。双重病例 (CMECduo) 的合并平均排除机会为 0.999993, 三重病例 (CMECtrio) 为 0.99999994。结论 DNATyper X19 试剂盒对复杂的父系案件具有潜在价值。

【关键词】法医遗传学, X 染色体, X-STR

Genetic polymorphism of DNATyper X19 kit in Northern Chinese Han people

YU Zhengliang¹, CAI Huiju¹, MA Wenhua¹, MO Xiaoting¹, YAO Yiren¹, WANG Le¹, LIU Chao²,
ZHAO Xingchun¹, LI Wanshui^{1,*}

¹Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing 100038, China.

²Guangzhou Forensic Institute, Guangzhou 510000, China.

【Abstract】 **Objective** To evaluate the value of DNATyper X19 kit in the forensic application. **Methods** In this study, we carried out a survey of genetic polymorphism from 374 Northern Chinese Han individuals. **Results** A total of 140 alleles were detected among the 18 X-STR loci from 374 Northern Chinese Han individuals, 228 haplotypes were detected from the 228 males, the diversity is 100%. No markers departed from Hardy-Weinberg equilibrium after applying Bonferroni's correction for multiple testing ($p=0.05/18$), GATA31E08-DXS6797, DXS8377-DXS10079 were in linkage disequilibrium (LD) in this study ($p=0.05/153$). The polymorphism information content (PIC) was 0.434-0.908 and the discrimination power (DP) was 0.432-0.983. The combined discrimination power was 0.99999993 for male and 0.99999992 for female. The combined mean exclusion chance was 0.999993 in duo cases (CMECduo) and 0.99999994 in trio case (CMECtrio). **Conclusions** DNATyper X19 kit showed potential value for complicated paternity cases.

【Keywords】 Forensic Genetics, X Chromosome, X-STR

*通讯作者: LI Wanshui

注: 本文首次发表于 International Journal of Clinical and Experimental Medicine Research (《国际临床和实验医学研究杂志》) 2020; 4(2), 28-33. 经 International Journal of Clinical and Experimental Medicine Research 杂志授权二次发表。

<http://dx.doi.org/10.26855/ijcemr.2020.04.005>

1 导言

与性别相关的遗传特征相关联, 使得 X-STR 标记成为解决常识性和 Y 染色体 STR 标记有效补充的好候选者, 这些个案涉及父女, 母子和姐妹半姐妹关系, 以及涉及隔离和乱伦的人^[1-3]。在 2018 年,

Yu 等。^[4]使用 X-STR 解决了两种情况,证实了包含更多的 X-STR 可能有助于解决复杂的亲属情况,而这不能通过常染色体 STR 标记解决。基因座和连接基团的数目对于 X-STR 的应用很重要。目前在中国, Argus X-12 是使用最广泛的多重放大系统。但是,该系统仅包含位于 4 个连接基团中的 12 个 X-STR 位点,这是由于中国人群中某些基因座的多态性差强人意这一事实而加重的,从而限制了应用的效力。此外,某些 X-STR 位点表达强连锁不平衡(LD),并作为单倍型分离在一起^[5-8]。因此,开发一种更适合中国人口的多重扩增系统至关重要。DNATyper X19 扩增试剂盒是由公安部法医学研究所自行开发的,针对病例的需求,适合中国人。在这项研究中,我们调查了 374 名中国北方汉族无亲属的法医参

数,评估了 DNATyper X19 试剂盒在法医应用中的价值。

2 材料和方法

2.1 样本

从华北地区收集了 374 名无关个体(228 名男性和 146 名女性)的血液样本。使用磁珠提取血样,并按照制造商的建议使用 DNATyper X19 试剂盒扩增基因组 DNA。

2.2 DNATyper X19 试剂盒的基本信息

表 1 中显示了 DNATyper X19 试剂盒中所有基因座的基本信息。使用了四色荧光化学试剂盒,可以对 18 个 X-STR 和釉蛋白进行多路复用,扩增子的大小范围不超过 450bp,具有很高的效率和可重复性。

表 1. DNATyper X19 试剂盒中所有基因座的基本信息

| 基因座 | 重复序列 | 染色体位置 | 等位基因面积(bp) | 荧光标记 |
|------------|---|-------------|------------|-------|
| Amelogenin | NA | Xp22.1-22.3 | 100-110 | FAM |
| GATA31E08 | [AGAT] _n | Xq27.1 | 112-162 | FAM |
| DXS10079 | [AGAA]AGAG[AGAA] _n | Xq12 | 165-220 | FAM |
| DXS10103 | [TAGA]2CTGA[CAGA][TAGA] _n [CAGA][TAGA] | Xq26.2 | 260-299 | FAM |
| DXS7132 | [TCTA] _n | Xq12 | 304-351 | FAM |
| DXS9895 | [AGAT] _n A[AGAT] _m [AGAT] _n AT[AGAT] _m [AGAT] ₃ | Xp22.31 | 370-410 | FAM |
| DXS7133 | [ATAG] _n | Xq23 | 94-145 | HEX |
| DXS7424 | [TAA] _n | Xq22.1 | 171-210 | HEX |
| DXS7423 | [TCCA] _n | Xq28 | 218-280 | HEX |
| DXS6789 | [TATC][TATG] _m [TATC] _n | Xq21.33 | 310-383 | HEX |
| DXS9902 | [GATA] _n | Xp22.2 | 134-190 | TAMRA |
| DXS6810 | [CTGT] _i [CTAT] ₂ [CTGT] ₂ [CTAT] _n CAT[CTAT] ₁ | Xp11.3 | 220-260 | TAMRA |
| DXS8377 | [AGA] _x [GGAAGA] _y [AGA] ₂ [GGA][AGA] ₆ | Xq28 | 290-365 | TAMRA |
| DXS101 | [CTT] _m [ATT] _n | Xq22.1 | 375-430 | TAMRA |
| HPRTB | [AGAT] _n | Xq26.2 | 126-178 | ROX |
| DXS8378 | [CTAT] _n | Xp22.31 | 190-222 | ROX |
| DXS6797 | [ATCT] _n | Xq22.3 | 240-285 | ROX |
| DXS6804 | [TATC] _n | Xq23 | 293-340 | ROX |
| GATA165B12 | [AGAT] _n | Xq24 | 350-390 | ROX |

2.3 DNA 扩增

使用 Applied Biosystems ProFlex PCR 系统（美国加利福尼亚州 Life Technologies）进行 DNA 扩增。反应体积为 10μL，包含 5μL2x PCR Master Mix，2μL5x 引物组，1μLDNA 和 2μLddH2O。根据制造商的说明，扩增程序如下：95°C 持续 15 分钟，94°C 持续 30 s，59°C 持续 45 s，72°C 持续 1 分钟，28 个循环，72°C 持续 60 分钟

2.4 电泳与分析

电泳由 Applied Biosystems 3500xl 遗传分析仪（Life Technologies）进行，GeneMapper ID-X v1.3（Life Technologies）用于分析 DNA 产物。通过提供的内部泳道标准（Typer-500）计算等位基因梯和等位基因的大小，该标准用橙色修改。将 100 个相

对荧光单位（RFU）的等位基因峰设置为峰检测的阈值。

2.5 统计分析与质量控制

经过对所有基因分型的统计分析，我们获得了 18 个 X-STR 位点的杂合度（H），匹配概率（MP），多态性信息含量（PIC），判别力（DP）和排斥力（PE），通过上述方法计算得出的结果^[11]，还计算了组合判别力（CDP）和组合平均排除几率（CMEC）^[12-15]。如 Schneider 等人所述，所有 DNA 多态性分析均根据 ISFG 建议进行^[16]。

3 结果与讨论

人口分析

从 374 个样品中获得了完整的剖面图，9947A 和梯形的剖面图如图 1 和图 2 所示。

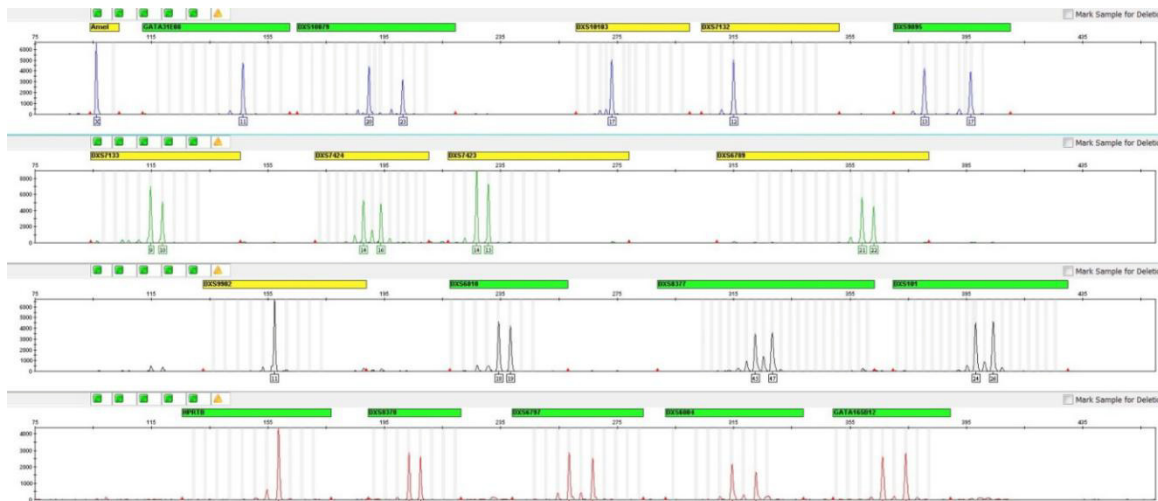


图 1 对照 9947A 和 1 ng 的基因型分布

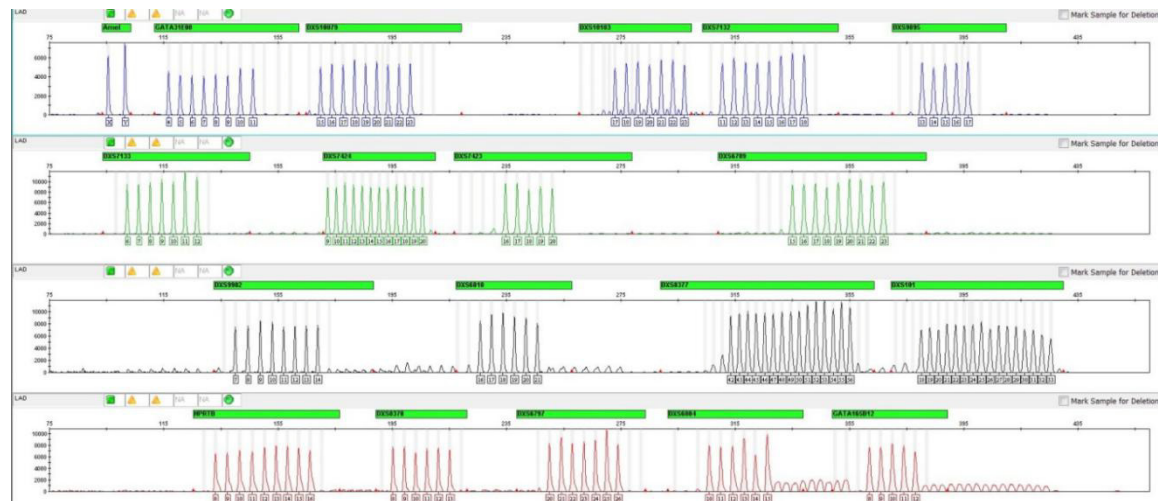


图 2 等位基因阶梯通过 3500xl 遗传分析仪显示其轮廓

18 个 X-STR 基因座的频率是从 374 名北方汉族个体（男性 228 名，女性 146 名）的基因分型中获得的。通过基于 228 个类型的男性样本的简单计数来计算 18 个 X-STR 的单倍型，共检测到 228 个单倍型，多样性为 100%。使用 Powerstats 软件（基于表 2）计算基于 146 个女性样品的 Hardy-Weinberg 平衡的 p 值（如表 2 所示），使用 Arlequin Ver3.5 软件计算基于 228 个男性样品的 18 个 X-STR 位点之间的连锁不平衡。表 3）。在这项研究中，应用 Bonferroni 校正进行多次测试后 ($p = 0.05 / 18$)，没有标记脱离 Hardy-Weinberg 平衡，GATA31E08-DXS6797, DXS8377-DXS10079 处于连锁不平衡 (LD) ($p = 0.05 / 153$)。

从 374 个个体中的 18 个 X-STR 位点检测到总共 140 个等位基因。男性和女性人群之间的等位基因频率无显著差异（见表 4）， $p = 0.05$ 。通过 18 个 X-STR 位点的频率计算每个基因座的遗传参数（表 5 中所示）。男性的综合分辨力为 0.99999993，女性为 0.99999992。二重奏组 (CMECduo) 的组合平均排除机率是 0.999993，三重奏组 (CMECtrio) 的组合平均排除机率是 0.99999994。

表 2 在 18 个 X-STR 位点 (n = 146) 的 Hardy-Weinberg 平衡的 p 值

| 基因座 | P 值 |
|------------|---------|
| DXS101 | 0.04804 |
| DXS6789 | 0.96299 |
| DXS6797 | 0.49029 |
| DXS6804 | 0.90946 |
| DXS6810 | 0.51453 |
| DXS7132 | 0.64454 |
| DXS7133 | 0.24846 |
| DXS7423 | 0.42443 |
| DXS7424 | 0.42875 |
| DXS8377 | 0.13061 |
| DXS8378 | 0.85857 |
| DXS9895 | 0.67473 |
| DXS9902 | 0.90895 |
| DXS10079 | 0.13744 |
| DXS10103 | 0.19116 |
| GATA31E08 | 0.15229 |
| GATA165B12 | 0.83427 |
| HPRTB | 0.68289 |

表 3. 18 个 X-STR 基因座配对连锁不平衡的 p 值 (n = 228)

| | DXS101 | DXS6789 | DXS6797 | DXS6804 | DXS6810 | DXS7132 | DXS7133 | DXS7423 | DXS7424 | DXS8377 | DXS8378 | DXS9895 | DXS9902 | DXS10079 | DXS10103 | GATA31E08 | GATA165B12 | HPRTB |
|------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|-----------|------------|-------|
| DXS101 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DXS6789 | 0.9998 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DXS6797 | 0.9377 | 0.7254 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DXS6804 | 0.2594 | 0.5507 | 0.9386 | | | | | | | | | | | | | | | |
| DXS6810 | 0.8498 | 0.8289 | 0.5212 | 0.4417 | | | | | | | | | | | | | | |
| DXS7132 | 0.8124 | 0.3224 | 0.0393 | 0.4267 | 0.6431 | | | | | | | | | | | | | |
| DXS7133 | 0.2347 | 0.2755 | 0.4081 | 0.9279 | 0.7466 | 0.3564 | | | | | | | | | | | | |
| DXS7423 | 0.1701 | 0.1876 | 0.4627 | 0.1196 | 0.8981 | 0.8225 | 0.2412 | | | | | | | | | | | |
| DXS7424 | 0.8721 | 0.1664 | 0.9246 | 0.8583 | 0.4799 | 0.9702 | 0.8365 | 0.6100 | | | | | | | | | | |
| DXS8377 | 0.1035 | 0.3967 | 0.8950 | 0.3325 | 0.5884 | 0.1519 | 0.9035 | 0.9754 | 0.6149 | | | | | | | | | |
| DXS8378 | 1.0000 | 0.0608 | 0.9096 | 0.0100 | 0.7058 | 0.4910 | 0.0331 | 0.9739 | 0.5611 | 0.6527 | | | | | | | | |
| DXS9895 | 0.3619 | 0.2747 | 0.2634 | 0.7863 | 0.3454 | 0.4823 | 0.5247 | 0.4235 | 0.2064 | 0.3999 | 0.8779 | | | | | | | |
| DXS9902 | 0.9487 | 0.0914 | 0.3254 | 0.8829 | 0.7920 | 0.7760 | 0.4098 | 0.1479 | 0.8825 | 0.5665 | 0.5857 | 0.7097 | | | | | | |
| DXS10079 | 0.3385 | 0.6204 | 0.8223 | 0.6169 | 0.8345 | 0.5341 | 0.6104 | 0.0654 | 0.2902 | 0.0000 | 0.9470 | 0.1076 | 0.8083 | | | | | |
| DXS10103 | 0.0606 | 0.8862 | 0.0874 | 0.4245 | 0.1449 | 0.8203 | 0.6396 | 0.9854 | 0.9753 | 0.6449 | 0.0380 | 0.6596 | 0.1663 | 0.0986 | | | | |
| GATA31E08 | 0.3257 | 0.8908 | 0.0000 | 0.1844 | 0.8604 | 0.7470 | 0.5989 | 0.8326 | 0.7970 | 0.4248 | 0.9480 | 0.5993 | 0.1958 | 0.6734 | 0.0231 | | | |
| GATA165B12 | 0.5171 | 0.6296 | 0.0821 | 0.7543 | 0.4312 | 0.2701 | 0.9251 | 0.6589 | 0.1526 | 0.3029 | 0.7605 | 0.5742 | 0.8949 | 0.0199 | 0.3544 | 0.5614 | | |
| HPRTB | 0.6659 | 0.8606 | 0.9338 | 0.1062 | 0.9130 | 0.5561 | 0.5292 | 0.4444 | 0.8922 | 0.9412 | 0.1248 | 0.8383 | 0.8602 | 0.3833 | 0.3673 | 0.8206 | 0.1281 | |

表 4 男性和女性人群之间等位基因频率的 p 值

| 基因座 | P 值 |
|------------|---------|
| GATA31E08 | 0.18086 |
| DXS10079 | 0.68984 |
| DXS10103 | 0.88359 |
| DXS7132 | 0.90314 |
| DXS9895 | 0.8784 |
| DXS7133 | 0.61254 |
| DXS7424 | 0.82461 |
| DXS7423 | 0.7241 |
| DXS6789 | 0.5983 |
| DXS9902 | 0.92753 |
| DXS6810 | 0.12524 |
| DXS8377 | 0.40135 |
| DXS101 | 0.25558 |
| HPRTB | 0.24508 |
| DXS8378 | 0.71064 |
| DXS6797 | 0.71715 |
| DXS6804 | 0.85937 |
| GATA165B12 | 0.97006 |

表 5. 18 个 X-STR 基因座的法医学参数 (n = 374)

| 基因座 | (H) | (MP) | (DP) | | (PIC) | (PE) | |
|------------|-------|-------|------------|-------------|-------|-----------|------------|
| | | | male | female | | trio case | duo case |
| GATA31E08 | 0.76 | 0.185 | 0.757161 | 0.905909655 | 0.76 | 0.72204 | 0.58695457 |
| DXS10079 | 0.783 | 0.162 | 0.77980302 | 0.921728769 | 0.783 | 0.75002 | 0.62082276 |
| DXS10103 | 0.764 | 0.177 | 0.76089258 | 0.90496499 | 0.764 | 0.72303 | 0.58799948 |
| DXS7132 | 0.754 | 0.187 | 0.7514365 | 0.897400963 | 0.754 | 0.71062 | 0.57309016 |
| DXS9895 | 0.749 | 0.189 | 0.74643626 | 0.89078334 | 0.749 | 0.70151 | 0.56195359 |
| DXS7133 | 0.434 | 0.508 | 0.43264341 | 0.63232965 | 0.434 | 0.38687 | 0.25287645 |
| DXS7424 | 0.728 | 0.212 | 0.7252005 | 0.882285889 | 0.728 | 0.683 | 0.54324801 |
| DXS7423 | 0.534 | 0.384 | 0.53262384 | 0.702922892 | 0.534 | 0.45399 | 0.31401303 |
| DXS6789 | 0.83 | 0.121 | 0.82710646 | 0.947427424 | 0.83 | 0.80443 | 0.68848312 |
| DXS9902 | 0.636 | 0.28 | 0.63368013 | 0.792919793 | 0.636 | 0.56079 | 0.41478505 |
| DXS6810 | 0.604 | 0.315 | 0.60186317 | 0.774084505 | 0.604 | 0.53446 | 0.38752445 |
| DXS8377 | 0.908 | 0.063 | 0.90448188 | 0.983060916 | 0.908 | 0.89667 | 0.81972967 |
| DXS101 | 0.818 | 0.139 | 0.81482591 | 0.94118208 | 0.818 | 0.7903 | 0.67065759 |
| HPRTB | 0.727 | 0.202 | 0.7249132 | 0.877935092 | 0.727 | 0.67852 | 0.53678585 |
| DXS8378 | 0.586 | 0.335 | 0.58414226 | 0.76318956 | 0.586 | 0.52027 | 0.37440053 |
| DXS6797 | 0.722 | 0.209 | 0.719265 | 0.874585879 | 0.722 | 0.67266 | 0.53051556 |
| DXS6804 | 0.753 | 0.18 | 0.7499022 | 0.896046161 | 0.753 | 0.7085 | 0.57000007 |
| GATA165B12 | 0.589 | 0.334 | 0.58652012 | 0.775672078 | 0.589 | 0.53316 | 0.38458674 |

3. 结论

这项研究表明, DNATyper X19 试剂盒的综合平均排除几率足够用于复杂的父系案件, 与其他系统相比没有显著差异^[17-21]。因此, 本研究中 18 个 X-STR 基因座的频率和参数可用于案例研究。

基金支持

公安部技术研究计划 (No. 2016JSYJC14); 公安部中国法医学研究所基础研究基金 (No. 2018JB024)。

参考文献

- [1] Becker D, Rodig H, Augustin C, et al. (2008). Population genetic evaluation of eight X-chromosomal short tandem repeat loci using Mentype Argus X-8 PCR amplification kit. *Forensic Science International: Genetics*, 2(1): 69-74.
- [2] Hatsch D, Keyser C, Hienne R, et al. (2007). Resolving paternity relationships using X-chromosome STRs and Bayesian networks. *Journal of Forensic Sciences*, 52(4): 895-897.
- [3] Szibor R, Krawczak M, Hering S, et al. (2003). Use of X linked markers for forensic purposes. *International Journal of Legal Medicine*, 117(2): 67-74.
- [4] Yu Z L, Sun J, Ding G S, et al. (2018). The application of X-STR: two case reports. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(9): 859-862.
- [5] Hundertmark T, Hering S, Edelmann J, et al. (2008). The STR cluster DXS10148–DXS8378–DXS10135 provides a powerful tool for X-chromosomal haplotyping at Xp22. *International Journal of Legal Medicine*, 122(6): 489-492.
- [6] Edelmann J, Hering S, Augustin C, et al. (2008). Haplotypes and haplotype stability within a 126.6 kb region at Xq28. *Forensic Science International: Genetics*, 1(1): 554-556.
- [7] Edelmann J, Hering S, Augustin C, et al. (2009). Chromosome X centromere region – haplotype frequencies for different populations. *Forensic Science International: Genetics*, 2(1): 398-399.
- [8] Ferreira Da Silva I H, Barbosa A G, Azavedo D A, et al. (2010). An X-chromosome penta-plex in two linkage groups: haplotype data in Alagoas and Rio de Janeiro populations from Brazil. *Forensic Science International: Genetics*, 4(4): 95-100.
- [9] DNA Advisory Board. Quality assurance standards DNA databasing laboratories. (2008). *Forensic Science Communications*, 10. https://www2.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/oct2008/standards/2008_10_standards01a.htm.
- [10] SWGDAM Executive Board. (2016) SWGDAM Validation Guidelines for DNA Analysis Methods, posting on www.swgdam.org [12-05]. https://docs.wixstatic.com/ugd/4344b0_813b241e8944497e99b9c45b163b76bd.pdf.
- [11] Tereba A. (1999). Tools for analysis of population statistics. *Profiles in DNA, USA: Gene-Press*, 2(3): 14-16.
- [12] Ge Jy, Eisenberg A, Budowle B. (2012). Developing criteria and data to determine best options for expanding the core CODIS loci. *Investigative Genetics*, 3(1): 1.
- [13] Weir B S. (2004). Matching and partially-matching DNA profiles. *Journal of Forensic Sciences*, 49(5): 1009-1014.
- [14] Ge Jy, Chakraborty R, Eisenberg A J, et al. (2011). Comparisons of familial DNA database searching strategies. *Journal of Forensic Sciences*, 56(6): 1448-1456.
- [15] Ge Jy, Budowle B, Chakraborty R. (2011). Choosing relatives for DNA identification of missing persons. *Journal of Forensic Sciences*, 56(s1): 23-28.
- [16] Schneider P M. (2007). Scientific standards for studies in forensic genetics. *Forensic Science International*, 165(2): 238-243.
- [17] Tomas C, Pereira V, Morling N. (2012). Analysis of 12 X-STRs in Greenlanders, Danes and Somalis using Argus X-12. *International Journal of Legal Medicine*, 126(1): 121-128.
- [18] Zhang S, Zhao S, Zhu R, et al. (2012). Genetic polymorphisms of 12 X-STR for forensic purposes in Shanghai Han population from China. *Molecular Biology Reports*, 39(5): 5705-5707.
- [19] Samejima M, Nakamura Y, Nambiar P, et al. (2012). Genetic study of 12 X-STRs in Malay population living in and around Kuala Lumpur using Investigator Argus X-12 kit. *International Journal of Legal Medicine*, 126(4): 677-683.
- [20] Tillmar A O. (2012). Population genetic analysis of 12

X-STRs in Swedish population. Forensic Science International: Genetics, 6(2): 80-81.

- [21] Shin S H, Yu J S, Park S W, et al. (2005). Genetic analysis of 18 X-linked short tandem repeat markers in Korean population. Forensic science international, 147(1): 35-41.

收稿日期: 2020 年 5 月 12 日

出刊日期: 2020 年 6 月 17 日

引用本文: YU Z.L., CAI H.J., MA W.H., MO X.T., YAO Y.R., WANG L., LIU C., ZHAO X.C., LI W.S., DNATyper X19 试剂盒在中国北方汉族人的遗传多态性[J]. 国际遗传前沿杂志, 2020, 1(1) : 5-11
DOI: 10.12208/j.ijgf.20200002

检索信息: 中国知网、万方数据、Google Scholar

版权声明: ©2020 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS