



5个 X-STR 基因座荧光复合扩增体系的建立及多态性

硕士生 刘秋玲

导师 陆惠玲教授

中山大学中山医学院法医物证教研室

广州 (510089)

摘要

随着法医学的发展和日常检案的复杂化，在亲权鉴定中遇到的某些特殊案例，仅靠常染色体 STR、Y-STR 及线粒体 DNA 往往难以解决。X 染色体属性染色体，男性个体的 X 染色体短串联重复系列 (X-chromosomal Short Tandem Repeat, X-STR) 呈单倍型形式存在，只能从其母亲中得到，且只能遗传给女儿，故孙女 X-STR 基因座的 1 个等位基因与其祖母相同。由于其遗传的特性，X-STR 在某些亲权鉴定 (如缺少双亲的姐妹认亲、同父异母的半姐妹认亲、隔代认亲等) 中潜在一些其他染色体无法比拟的优点。为了发掘更多 X-STR 基因座以解决法医实践中的特殊检案，本研究建立了二色荧光 5 个 X-STR 基因座复合扩增体系，调查中国汉族 827 个无关个体、252 例多个孩子的家系，研究该体系的多态性和突变、重组情况，为建立 X-STR 基因座群体遗传学资料和建立 X-STR 数据库奠定基础。

1. 荧光复合扩增体系的建立

根据扩增片段的大小，将 DXS6803、DXS981 和 DXS6809 3 个基因座用 FAM 标记 (蓝色)；DXS6789 和 DXS7132 2 个基因座用 HEX 标记 (绿色) 建立复合扩增体系。用 ABI prism 3100 遗传分析仪电泳和 GeneMapper 3.1 软件进行结果分析。GeneScan-500 LIZ™ 内标分析片段大小，用 K562、9948 和 9947A 标准 DNA 来校正等位基因梯阶 (Ladder)。每个基因座随机抽取 1~2 个等位基因测序进一步验证等位基因 Ladder。用自制等位基因 Ladder 进行等位基因分型。

本体系应用荧光复合扩增 5 个 X-STR 基因座, 结果清晰, 方法简单、快速, 灵敏度高、重现性好。在 25 μ l 扩增体系中模板 DNA 最低检出限为 0.25ng, 当模板量在 10~20ng 时, 将得到最佳结果。

2. 5 个 X-STR 基因座的多态性

用本研究所建立的复合扩增体系调查 827 名中国汉族无关个体。5 个 X-STR 基因座均得到清晰结果。DXS6803 基因座共检出 13 个等位基因, 包括不完全重复等位基因, 片段大小 97~128bp, 其中频率最高为等位基因 11.3。DXS981 有 13 个等位基因, 包括不完全重复等位基因, 片段大小为 178~202bp, 频率最高的等位基因为 14。DXS6809 有 12 个等位基因, 片段大小为 239~279bp, 等位基因 33 频率最高。DXS6789 有 12 个等位基因, 片段大小为 150~194bp, 等位基因 16 频率最高。DXS7132 检出 8 个等位基因 11~18, 片段大小为 276~304bp, 等位基因 14 频率最高。DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 多态信息含量 (PIC) 分别为 0.7163、0.8123、0.7992、0.7473、0.7004; 男性个体识别率 (PD_M) 分别为 0.7270、0.8405、0.8248、0.7901、0.7644; 女性个体识别率 (PD_F) 分别为 0.9125、0.9554、0.9460、0.9134、0.9009; 三联体非父排除率 (PE_T) 分别为 0.7153、0.8218、0.8018、0.7471、0.7210, 二联体非父排除率 (PE_D) 分别为 0.5795、0.7125、0.6850、0.6167、0.5854。这 5 个基因座具有高多态性和高个体识别率, 其中 DXS981 基因座多态性最高。

DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 5 个基因座等位基因分布在男女间无明显差异。在中国汉族 500 例无关男性样本共观察到 449 种单倍型, 有 411 种单倍型是唯一的 (占 82.2%), 单倍型个体识别率为 0.9994。检测女性样本, 5 个基因座均符合 Hardy-Weinberg 平衡。采用本体系检测 294 例三联体 (父-母-女) 和 271 例二联体 (母-子) 发现 8 例突变, 其中 DXS6803 2 例, DXS6809 2 例, DXS6789 1 例, DXS7132 3 例。检测 252 例多个孩子家系, 5 个 X-STR 基因座共发现 53 例重组。



3. 法医学应用

从3个特殊案例的应用中进一步验证了这5个 X-STR 基因座的高多态性和高个体识别率，以及 X-STR 基因座在特殊案例中的应用优势。

结论：本研究 1) 建立了 1 组二色荧光分析体系，同时检测 DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 5 个 X-STR 基因座，为进一步建立更多色荧光复合扩增奠定了基础。2) 获得中国汉族人群 5 个 X-STR 基因座的等位基因频率、单倍型频率、法医学应用参数及突变率。3) 本体系有较高的应用价值，能作为法医学亲权鉴定中某些特殊检案的必要补充。

关键词：X 染色体短串联重复 (X-STR)，荧光复合扩增，多态性

Development of a Pentaplex X-Chromosome STR Typing System and Their Polymorphism

MD Student Qiu-ling Liu

Supervisor Prof. Huiling Lu

Faculty of Forensic Medicine, Sun Yat-sen University

ABSTRACT

Autosomal STR (AS STR) and Y-STR polymorphisms have been used for evaluation in forensic medicine. They are widely applied in stain analysis and kinship determination. In forensic practice, X-chromosomal STR markers were used limited. As the development of forensic and the complication of cases, AS STR and Y-STR were not enough for forensic use and kinship determination, especially in complex cases of kinship test. However, Chr-X STRs are very useful in deficiency paternity cases, such as paternity determination of alleged half-sisters versus the father in the absence of mother. Chr-X STR is believed to be a potentially complementary maker to other genetic markers (AS-STR, Y-STR and mtDNA). We developed a convenient procedure to amplify a pentaplex systems with Chr-X STR loci (DXS6803, DXS981, DXS6809, DXS6789, DXS7132) for forensic casework and increased the pool of relevant data for allele distribution and frequency in Chr-X STR. 827 individuals (500 males and 327 females), as well as 252 families with multiple children were tested in Chinese population. And that provided an opportunity to create reference databases in the population.

1. Development of multiplex PCR system

The primers of three X-STR loci (DXS6803, DXS981, and DXS6809) were labeled with fluorochrome 6-FAM. DXS6789 and DXS7132 were labeled with HEX. A fluorescent multiplex PCR for amplifying five X-STR loci in the same PCR



reaction was set up. PCR products were analyzed using capillary electrophoresis and ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer, with GeneMapper Analysis Software. The K562, 9947A and 9948 (Promega, Madison, WI) cell line DNA were typed for calibrating allelic ladder. Some common alleles were also sequenced to help in allele typing. Allele typing was based on in-house allelic ladder.

We described a convenient procedure for amplifying five X-linked STRs (DXS6803, DXS981, DXS6809, DXS6789 and DXS7132) in a single reaction with satisfactory results. No stutter bands were detected. About 20 ng DNA was routinely used, although 0.25 ng DNA was sufficient for allele typing.

2. Polymorphism of the five X-STR loci

Samples from 500 male and 327 female individuals of Han population in China were tested, 13,13,12,12 and 8 alleles were detected for DXS6803, DXS981, DXS6809, DXS6789 and DXS7132 respectively. Thirteen alleles were identified at locus DXS6803, from allele 7 to 14, including incomplete repeats. The most common alleles are 11.3. DXS981 has thirteen alleles from allele 11 to 17 and including incomplete repeats. The most common alleles was 14. Twelve alleles, ranging from 28 to 38, were found in Chinese population at locus DXS6809. DXS6789 has also twelve alleles, from 13 to 24. Eight alleles were identified at DXS7132 locus, ranging from allele 11 to 18. Forensic efficiency statistical parameters were calculated for each locus. Polymorphism information content (PIC) was 0.7163, 0.8123, 0.7992, 0.7473 and 0.7004 for DXS6803, DXS981, DXS6809, DXS6789 and DXS7132, respectively. The results show the pentaplex X-STR system had high forensic efficiency. The DXS981 locus is highly polymorph, with the highest power of discrimination and probability of paternity exclusion among the five loci studied.

No significant differences were observed between males and females at five loci. Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was performed on female samples, and the genotype distributions did not deviate from HWE at the five loci. 500 male samples

were investigated by haplotype analysis and for linkage disequilibrium. 449 haplotypes were found, and more than 82.2% of haplotypes were unique. The haplotype diversity reached 0.9994. In our study, linkage disequilibrium among loci was not detected in all pair wise locus comparisons by the exact test.

Investigation in 294 family trios in which the child was female and 271 families with mother and son, eight case of mutations were found, 2 at the DXS6803 locus, 2 at DXS6809, 1 at DXS6789 and 3 at DXS7132. Mutations were not found at the DXS981. 53 cases of recombination were found in 252 families with multiple children in which families with mutations were excluded.

3. Forensic applications

Three examples of the practical application in complex kinship testing show that the five loci of the multiplex system provide high polymorphism information for forensic identification and paternity testing, particularly for difficult paternity deficient cases.

In Conclusion, the pentaplex ChrX-STR systems for simultaneous analysis of loci (DXS6803, DXS981, DXS6809, DXS6789, and DXS7132) have been developed and may be used to create database of population for forensic analysis. This might provide an opportunity to develop multiplex PCR by using more loci. We reviewed the population genetic properties and forensic utility of the five X-STR. ChrX genotyping can complement the analysis of AS-STR and Y-STR very efficiently, especially in complex cases of kinship testing.

KeyWords: X-STR, Fluorescent multiplex PCR, Polymorphism



第1章 引言

微卫星 DNA 发现于上世纪 90 年代初^[1]。重复单位 2~7 bp，等位基因片段长度多在 400 bp 以下，所以又称短片段串联重复序列(Short Tandem Repeat, STR)。其特征是等位基因靶片段短，PCR 扩增检测灵敏度高，适用于陈旧、腐败、微量材料的鉴定，分型能标准化，能复合扩增联合检测十几个以上的 STR 基因座，因此，很快就被广泛应用于法医上。尽管单核苷酸多态性(SNP)检测的 DNA 片段更短，但是其分型技术尚未得到标准化。因此，可以预测在很长的一段时期内 STR 仍是法医学上使用的主要 DNA 遗传标记。

亲权鉴定是法医物证鉴定的主要任务之一。在实践中，大多数亲权鉴定可以使用常染色体遗传标记解决。但是有一部分没有父母参与检验的缺失案，仅用常染色体检测难以排除亲权关系。因此，近年来法医工作者越来越关注研究性染色体和线粒体 DNA(mtDNA)遗传标记，Y 染色体 STR 和 mtDNA 已被用于排除父系关系和母系关系的隔代亲权鉴定^[2-6]，而 X-STR 在法医学中应用较少。

1.1 X 染色体的特性

X 染色体是性染色体，正常的女性有一对 X 染色体，而男性只有一条 X 染色体。女性的核型为 46XX，男性的核型为 46XY。因此，X 染色体特异性的 STR 在分型图谱上，男性只有一条带，而女性则可以有一或两条带。在遗传过程中，母亲的 X 染色体既可以遗传给女儿也可以遗传给儿子，而父亲的 X 染色体只能遗传给女儿。女性的二条 X 染色体是同源的，在减数分裂过程中与常染色体一样可发生重组。

男性的 X 染色体以单倍型形式存在只能从其母亲中得到，且只能遗传给女儿，因此同父所生的姐妹在 X 染色体 STR 基因座上有 1 个相同的等位基因，孙女 X 染色体基因座有 1 个等位基因与其祖母相同。X 染色体这种独特的遗传方式，使得 X 染色体遗传标记在亲权鉴定中具有特殊的应用价值。在一些双亲缺失的鉴定中，如姐妹鉴定、同父异母的亲姐妹认亲、隔代认亲等，更有着常染色

体遗传标记难以比拟的优点。

1.2 X 染色体 STR 研究简史

X染色体遗传标记早已被应用于亲权鉴定中,如红细胞血型Xg和红细胞酶型G6PD。X染色体上也有不少VNTR(variable number of tandem repeat)基因座^[7-12],但法医上采用的较少。常染色体STR被发现后不久,X染色体上也发现了STR^[13,14]。HumARA和HPRTB(hypoxanthine phosphoribosyl transferase)是最早用于法医学的X染色体特异性STR(X-chromosome specific STR, X-STR)基因座^[15-19]。1999年Edelmann和Szibor^[20]报道DXS6807的多态性之后,对X-STR的研究日渐增多。至今已有数十个可应用于法医学检案的X-STR基因座。在国内,自窦效伟等报道DXS6799、DXS6804、DXS7132和DXS1068^[21],吕德坚等^[22]报道DXS101的多态性以后,对X-STR的研究也在不断增多。

1.3 常用 X-STR 基因座

对X-STR的研究,近年来发展迅速。目前已报道了数十个X-STR基因座的法医学应用价值。常用的X-STR基因座引物序列、扩增片段长度、群体的等位基因数目和重复序列见表1-1和表1-2。其中,ARA是一个多态性很高的基因座,但Szibor等认为ARA基因座和肌肉萎缩症、精子发生障碍和肿瘤等多种疾病有关,基于伦理上考虑,防止人们对法医DNA检验的不信任,建议不要再作为法医遗传标记使用^[23]。

表 1-1 法医学上常用的 X-STR 基因座信息

Table 1-1 Information of X-STR loci used in forensic practise

基因座 Locus	引物序列 Primer sequence	片段长度 Size (bp)	等位基因数 Number	群体 Population	参考文献 Reference
ARA	TCCAGAATCTGTTCCAGAGCGTGC GCTGTGAAGGTTGCTGTTCCTCAT	255-327	27	Japanese	[24]
HPRTB	ATGCCACAGATAATACACATCCCC CTCTCCAGAATAGTTAGATGTAGG	259-303	14	Chinese	[25, 26]
HPRTB	ATGCCACAGATAATACACATCCCC CTGTCTCTATTTCCATCTCTGTCTCC	199-223	7	Korean	[27]



DXS6807	GAGCAATGATCTCATTGCA AAGTAAACATGTATAGGAAAAAGCT	251-275	7	Germans	[20]
DXS6807	GAGCAATGATCTCATTGCAATTTTAC GACTTTATCATAAGTAAACATGTATAG	258-286	8	Korean	[27]
DXS9898	CGAGCACACCTACAAAAGCT TCGATTAGGTTCAAGTTCCCA	189-214	7	Germans	[28]
DXS10011	GGAGTGAACCTGAAAAAAA TGAAATCATCTATCTTTCTTTC	137-257	36	Japanese	[29]
DXS101	ACTCTAAATCAGTCCAAATATCT AAATCACTCCATGGCACATGTAT	179-233	18	Germans	[30]
DXS6789	GTTGGTACTTAATAAACCCCTCTT AAGAAGTTATTTGATGTCCTATTGT	154-198	12	Germans	[31]
DXS7132	AGCCCATTTTCATAATAAATCC AATCAGTGCTTCTGTACTATTGG	272-304	9	Korean	[27]
DXS6800	GTGGGACCTTGATGTTGTGT CTGGCTGACACTTAGGGAAA	190-222	7	Korean	[27]
DXS8378	CACAGGAGGTTTGACCTGTT AACTGAGATGGTGCCACTGA	195-211	5	Korean	[27]
DXS8378	TTAGGCAACCCGGTGGTCC ACAAGAACGAAACTCCAATC	110-134	7	Germans	[32]
DXS9895	GGGAGTCCAATCAAGATGA CCTGGCTCAAGGAATTACAA	162-186	7	Korean	[27]
DXS9895	TTGGGTGGGGACACAGAG CCTGGCTCAAGGAATTACAA	139-161	9	Germans	[32]
DXS6810	GACTACCTAACAGAAAACCTTTTGGG GCCACCATACCCAGCCCTGAATATTA	219-243	7	Korean	[27]
DXS981	TCAGAGGAAAAGAAGTAGACATACT TTCTCTCCACTTTTCAGAGTCA	178-202	12	Korean	[27]
DXS6797	TTCCCTCTCTCCCTCTGTCT ACACACACCCAAAACAGAT	245-281	8	Korean	[27]
GATA172D05	TAGTGGTGATGGTTGCACAG ATAATTGAAAAGCCCGGATTC	108-136	8	Germans	[32]
GATA165B12	TATGTATCATCAATCATCTATCCG TTAAAATCATTTCCTGTGTATGC	117-141	6	Korean	[27]
GATA31E08	AGGGGAGAAGGCTAGAATGA CAGCTGACAGAGCACAGAGA	224-260	9	Korean	[27]
DXS8377	CACTTCATGGCTTACCACAG GACCTTTGGAAAAGCTAGTGT	210-264	20	Korean	[27]
DXS7423	GTCTTCTGTCTATCTCCCAAC TAGCTTAGCGCCTGGCACATA	175-195	5	Korean	[27]
DXS6803	GAAATGTGCTTTGACAGGAA CAAAAAGGGACATATGCTACTT	105-128	9	Germans	[33]
DXS7130	CTGCAAGCCATTTGGAATAT TCCTAGGACTGGGAAAAGGAC	168-203	10	Germans	[33]

DXS6809	CTAGATTATGTAGGAATTTGG GCAAAATTGGATTCTCCAGA	200-244	12	Germans [34]
DXS6809	TGAACCTTCTAGCTCAGGA TCTGGAGAATCCAATTTTGC	239-283	12	Chinese [35]
DXS7133	AGCTTCCTTAGATGGCATTCA CTTCCAGAATCAGAAGTCTCC	106-130	6	Germans [32]
DXS7424	CTG CTT GAGTCC AGG AAT TCA A GAACAC GCACAT TTG AGA ACA TA	147-180	8	Germans [36]
DXS6801	CATTTCTCTAACAAGTCTCC CAGAGAGTCAGAATCAGTAG	113-137	6	Germans [37]
DXS6804	CCGAGATATTTTGACCACCA GGCATGTGGTTGCTATAACC	177-201	6	Chinese [38]
DXS6854	AGCACTTCTCTACAACCCTC CAGCCTGGGCAGTAGAGACT	93-125	8	Chinese [39]
DXS6799	ATGAATTCAGAATTATCCTCATACC GAACCAACCTGCTTTTCTGA	236-260	7	Chinese [40]
DXS9902	TGGAGTCTCTGGGTGAAGAG CAGGAGTATGGGATCACCAG	152-176	7	Korean [27]

表 1-2 X-STR 基因座的重复序列结构

Table 1-2 Core sequence of X-STR locus

基因座 Locus	重复序列结构 Core sequence	参考文献 Reference
ARA	...(GCT) _n ...(GCT) _n ...	[41]
HPRTB	(AGAT) _n	[42]
DXS6807	(GATA) ₁ GTAATGA(GATA) ₂ GAC(GATA) _n	[31]
DXS9898	(TATC) ₂ (ATC)(TATC) _n (TATC) ₂ (ATC)(TATC)(ATC)(TATC) _n	[28]
DXS10011	(GAAA) _n GAAGGAAA(GGAA) _n (AGAA) ₃ GAAAGA(GAAA) _n GAGA(GAAA) _m GAAGGAAA(GGAA) _n (AGAA) ₃	[43]
DXS101	(CTT) _m (ATT) _n	[42]
DXS6789	(TATC)(TATG) _m (TATC) _n	[42]
DXS7132	(TCTA) _n	[32]
DXS6800	(TAGA) ₂ CA(GATA) ₁ GAT(GATA) ₇ GG(TAGA) ₃ TC(GATA) ₃	[32]
DXS8378	(CTAT) _n	[32]
DXS9895	(AGAT) _n A(AGAT) _m (AGAT) _n AT(AGAT) _m A(AGAT) ₃	[32]
DXS6810	(CTGT) ₁ (CTAT) ₂ (CTGT) ₂ (CTAT) _n CAT(CTAT) ₁	[27]
DXS981	TTN ₈₁ (TATC) _n Δ(TT) _{N₈₁} (TATC) _n (ATC)(TATC) ₁	[27]
DXS6797	(ATCT) _m N ₁₂₈ (ATCT) _n	[27]
GATA172D05	(TAGA) _n	[32]
GATA165B12	(AGAT) _n	[27]



GATA31E08	(AGAT) _n	[27]
DXS8377	(AGA) _x (GGAAGA) _y (AGA) _z (GGA)(AGA) ₆	[42]
DXS7423	(TCCA) ₃ TCTGTCTCT(TCCA) _n	[32]
DXS6803	(TCTA) ₁₁ (CTA)(TCTA) ₁	[33]
DXS7130	(TATC) _n (TATC) ₃ ATC(TATC) _m	[33]
DXS6809	(CTAT) _n (ATCT) ₃ N ₉ (TATC) _n (ATCT) _n N ₁₀ (ATCT) _n	[34]
DXS7133	(ATAG) _n	[32]
DXS7424	(TAA) _n	[36]
DXS6801	(ATCT) _n N ₇ (ATCT) ₂	[37]
DXS6804	(TATC) ₁₀₋₁₆	[40]
DXS6854	(TATC) ₉₋₁₅	[40]
DXS6799	(TATC) ₈₋₁₄	[40]
DXS9902	(GATA) _n	[44]

1.4 X 染色体 STR 作图

对位于同一染色体上的遗传标记，必须考虑到它们之间的连锁和连锁不平衡。遗传标记之间是否存在连锁，可以通过基因组作图(genome mapping)来了解。基因组作图的方法有：

(1) 遗传作图(Genetic mapping)，它采用杂交育种(cross-breeding)实验、分析家族史[系谱(pedigree)]等，基于遗传连锁(genetic linkage)的遗传学技术，构建能显示基因或序列特征在基因组上位置的图(map)。遗传作图能显示遗传标记之间的遗传距离(genetic distance)，其单位为厘摩(centi-Morgan, cM)，表示两个遗传标记之间在100次减数分裂中发生一次重组的距离。

(2) 物理作图(Physical Mapping)，它应用杂交分析、PCR等分子生物学技术直接分析DNA分子，对有显著特征的序列进行定位，构建能显示基因、序列特征在基因组上位置的图。物理作图可显示两个遗传标记之间的物理距离(physical distance)，其单位为bp(base pair)。

一般情况下，两个遗传标记之间小于25Mb时，1Mb物理距离相当于1cM遗传距离，但是物理距离和遗传距离之间的相关性并不严格，遗传标记连锁与否不能简单地按基因组作图来判定，需要通过其它方法，如家系分析、连锁平衡分析来验证。

遗传作图和物理作图也包括了将遗传标记定位于染色体上，即染色体作图

(chromosome mapping), 染色体作图是判断连锁的简便方法之一。

在染色体作图中, 常以距染色体短臂末端的距离来定位遗传标记在染色体上的位置^[33]。法医学上常用 X 染色体 STR 遗传标记的染色体定位可参考网站:

<http://www.chrx-str.org/>。

表 1-3 X-STR 的物理和遗传学定位

Table 1-3 Physical Localisation and Genetic Localisation of the X-STR loci

Locus	Physical Localisation		Physical Localisation		Genetic Localisation [cM]	Chromosome Location
	[bps] (Celera)		[bps] (NCBI)			
	start	stop	start	stop		
ARA			66549086	66549559		Xq11.2-q12
HPRTB			133340405	133340567		Xq26
DXS6807			4603118	4 603 384	4.39	Xp22.32
DXS9898			87592564	87612756		Xq21.31
DXS10011			150858594	150858986		Xq28
DXS101	100298583	100298776	101219161	101219387		Xq22.1
DXS6789	92323063	92323207	95255559	95255699	103.56	Xq21.33
DXS7132			64428357	64448643	83.3	Xq12
DXS6800			78486555	78486748	93.17	Xq21.1
DXS8378	101494531	10149660	9179962	9180165		Xp22.31-22.2
DXS9895	8208533	8208678	7236843	7 236 989	8.76	Xp22.2-22.3
DXS6810	43879009	43879225	42674944	42675164	63.59	Xp11.3-11.4
DXS981	68302370	68302558	67980380	67980566		Xq13.1
DXS6797	104945941	104946197	107287210	107287478	112.89	Xq22.3
GATA172D05			112970738	112 990 856	116.17	Xq23
GATA165B12	118547676	118547812	120603503	120603631	133.2	Xq25
GATA31E08	138803502	138803741	139959775	139960022	154.29	Xq27.1
DXS8377	147232725	147232985	149237039	149237284		Xq28
DXS7423	147375183	147375365	149237039	149237284		Xq28
DXS6803	87001142	87001258	86227315	86247427	94.26	Xq21.31
DXS7130	115947961	115948136	117982050	117982225		Xq23-24
DXS6809			94744298	94744556	102.28	Xq21.33
DXS7133	106532604	106532717	108837688	108857808		Xq23
DXS7424	99497185	99497352	100424961	100425128		Xq22.1
DXS6801	89419024	89419153	92307317	92327445	99.73	Xq21.32
DXS6804	109598134	109598326	111918852	111919036	116.17	Xq23
DXS6854			128414433	128414541		Xq25
DXS6799			97185059	97185318	107.42	Xq21.33
DXS9902	16084327	16084494	15083273	15083444	22.04	Xp22.2



以网站(<http://www.chrx-str.org>)为基础, 参考 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview>、http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/index.html 和 http://research.marshfieldclinic.org/genetics/Map_Markers/maps/IndexMapFrames.html 以及文献^{[33] [34] [36]}整理所得。

但是, 不同研究组、不同研究方法、不同网站或不同文献的数据分析所得连锁关系并不完全一致。因此, X 染色体遗传标记的染色体作图也可能并不一致^{[33] [34] [36]}。如 DXS7130, Edelmann 和 Szibor^[33]将其定位于短臂, 而 NCBI 则定位于长臂。

1.5 X-STR 基因座的连锁与连锁不平衡

相距越远的遗传标记就越容易发生重组, 相距越近的遗传标记连锁的机会就越大, 紧密连锁在一起的遗传标记簇, 称为连锁群(linkage group)。Szibor 等^[45]根据 182 个母亲-后代家庭的数据, 以最大 LOD 值(maximum LOD score)的阈值为 2.0, 将法医上常用的 X-STR 基因座分为 4 个连锁群。

第一连锁群的基因座: DXS6807、DXS9895、DXS7130、DXS8378、DXS9902、DXS6795。

第二连锁群的基因座: DXS7132、ARA、DXS981、DXS6800、DXS6803、DXS9898、DXS9905、DXS6801、DXS6809、DXS6789、DXS7424、DXS101、DXS7133、GATA172D05。

第三连锁群的基因座: HPRT 单独成为一群, 但它和 GATA172D05 有连锁。

第四连锁群的基因座: DXS9908、DXS7433、DXS7423、DXS8377、DXS10011。

在法医学应用中, 常常还需要知道基因座之间的连锁不平衡状态。但是连锁的基因座之间并不一定存在连锁不平衡(linkage disequilibrium, LDE), 这在 X-STR 中表现最为典型。Szibor 等^[45]通过分析多个家系结果表明, 虽然 X 染色体 STR 均位于同一染色体上, 甚至在同一连锁群内, 但大多数 X-STR 基因座之间并没有连锁不平衡, 只有少数基因座之间有明显的连锁不平衡。

本次研究的 5 个 X-STR 基因座均位于第二连锁群内, 见图 1-1。

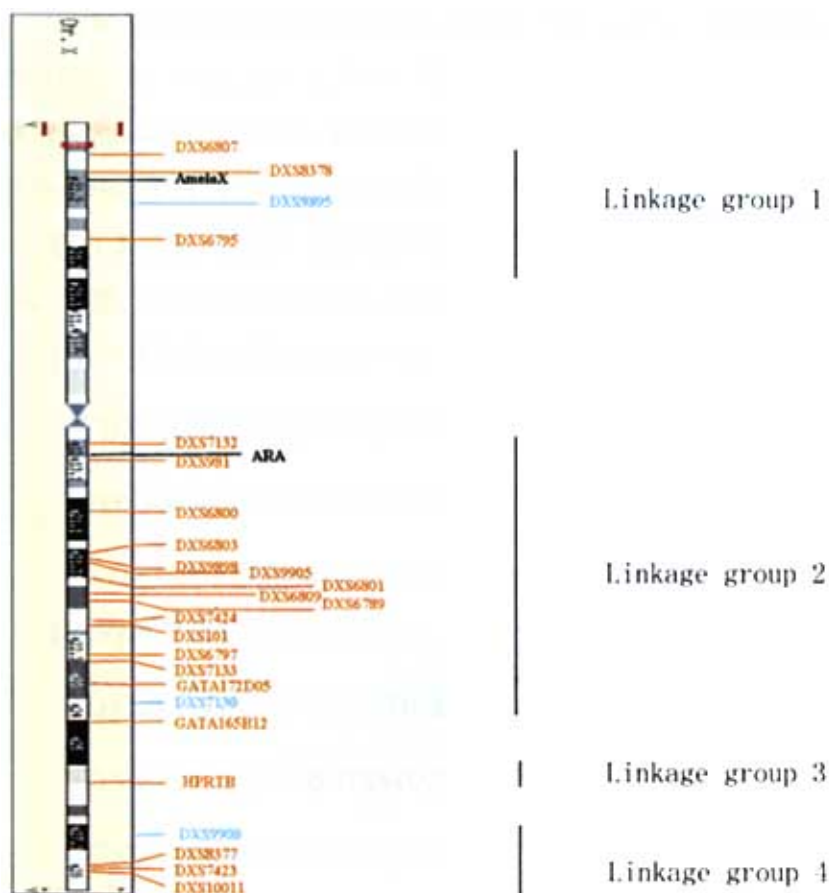


图 1-1 法医上常用的 X-STR 基因座的位置 (参照 <http://www.chrx-str.org/>)

Fig 1-1 Localization of X-STR loci used in forensic practise

1.6 X-STR 基因座复合扩增

STR 基因座的分型主要采用扩增片段长度多态性分析(amplified fragment lengthen polymorphism, Amp-FLP) 技术, 最初为单基因座扩增分析。因为 STR 是一类重复序列, 不同的等位基因表现为扩增片段长度的不同。因此, 根据 STR 基因座的扩增片段长度范围的差异, 可以将几个 STR 基因座同时复合扩增, 扩增产物在同一泳道上电泳分析, 提高 STR 分型效率。

STR 的复合扩增产物可以采用银染显带方法检测。X-STR 也可以用银染复合扩增体系, 如 DXS7132-DXS6804 复合扩增系统^[38]、DXS6799-DXS6804-DXS6854 复合扩增系统^[40]等。上世纪 90 年代, 为了提高检测效率, 同时检测更多的基因



座, STR 复合扩增逐渐采用荧光标记引物, DNA 遗传分析仪电泳、自动化分型的方法。对于 X-STR, 已有不少复合扩增体系, 从二重至七重扩增都有。与一些常染色体或 Y 染色体的复合扩增体系相比, 虽然 X-STR 复合扩增的基因座数目少一些, 但是由于部分 X-STR 的多态性较高, 其累积亲权排除率仍相当高。

国外大多数 X-STR 的复合扩增采用荧光标记引物的技术, 但在国内报道甚少。目前, 所报道的荧光标记引物 X-STR 复合扩增体系大致有:

(1) 三重复合扩增(triplex PCR)

DXS6800-DXS101-DXS8377^[46]

DXS6809-DXS6789-DXS6801^[47]

DXS6803-DXS981-DXS6809^[35]

(2) 四重复合扩增(quadruplex)

DXS101- DXS8377-HPRTB-STRX-1^[48]

DXS9898-DXS6809-DXS10011^[49]

GATA172D05- HPRTB- DXS8377- DXS101^[50]

DXS101-DXS8377-HPRTB-DXS981^[42]

(3) 五重复合扩增(pentaplex)

HPRTB-DXS101-ARA-DXS7423-DXS8377^[41]

DXS101- DXS8377- HPRTB- DXS981- DXS6789^[42]

DXS9898-DXS6807- HPRTB-DXS101-ARA^[51]

DXS7133-DXS10011-DXS7424-DXS8377-DXS8378^[51]

(4) 七重复合扩增(heptaplex)

DXS6789- HUMARA-DXS10011-DXS7423-HPRTB-DXS6807-DXS101^[52]

1.7 研究 X-STR 的必要性

X-STR 最大应用价值在于能解决一些特殊的双亲缺失的亲权鉴定案。对于双亲缺失的亲权鉴定案来说,往往需要检测比三联体或二联体案件更多的遗传标记才能达到认定水平。因此,不仅要发现更多新的 X-STR 基因座,而且要在以下几个方面作深入研究:

(1) 探讨不同群体遗传多态性。各基因座在不同的群体可能等位基因频率并不相同,为了对 X-STR 的分型证据做出准确的评估,需要调查相应群体的多态性情况。

(2) 建立更多的复合扩增系统。X-STR 复合扩增基因座的组合,除了考虑能否成功建立复合扩增体系之外,还应考虑到连锁关系。在不同的案件中可能需要使用不同的基因座,有时可能需要连锁的基因座,有时可能需要使用不连锁的基因座。因此,建立不同的复合扩增体系,在检案实践中可以有针对地对不同的案件采用不同的检测方案。

(3) 深入了解突变率。STR 突变属于一种罕见现象,需要积累很多的实验资料,才能取得一定的突变数据获得准确的突变率。目前,虽然已有一些资料反映 X-STR 与常染色体 STR 的突变规律相同,但数据比较有限,需要作更多的调查。

(4) 统计重组率。X-STR 位于同一染色体上,有连锁遗传的倾向,也存在重组的可能性。对于亲权鉴定来说,遗传中的重组对于判断亲权关系有很大的影响。但目前的文献显示,不同资料分析各 X-STR 基因座之间的连锁紧密程度所得的数据并不一致。调查各 X-STR 之间的重组率对于评估亲权关系极其重要。

以上所述表明, X-STR 的应用在日趋增加,但中国人群的群体资料尚少。为了发掘更多稳定性好、多态性高的 X-STR 基因座,使之能在法医实践中发挥更好的作用,本研究构建了 5 个 X-STR 基因座荧光复合扩增体系,调查了这些基因座在中国人群中的群体遗传学数据;并通过家系分析研究其突变和重组。



第 2 章 5 个 X-STR 基因座荧光复合扩增体系的建立

建立 STR 的复合扩增体系有利于提高检测效率。DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 5 个 X-STR 基因座位于 X 染色体第二个连锁群^[45]，它们呈连锁关系。这 5 个 X-STR 的单基因座扩增，或其中一个 STR 基因座与其它基因座一起复合扩增的方案已有报道^[33, 34, 38, 47]。但是未见有这 5 个基因座复合扩增的报告。本章旨在建立这 5 个 X-STR 基因座的荧光标记复合扩增体系。

2.1 材料和方法

2.1.1 DNA 样本

血痕或新鲜血样来自本教研室日常检案标本；三个阳性标准 DNA：9947A, 9948 来自 Powerplex[®] 16 Kit (Promega, Madison, USA); K562 来自 FFFL kit (Promega, Madison, WI)

2.1.2 主要仪器及试剂

仪器

- | | | |
|---|----------------|---------------|
| (1) 高速台式离心机 | 5417c | (Eppendorf) |
| (2) PCR 扩增仪 | Primus 96 Plus | (MWGAG, 德国) |
| (3) ABI PRISM 3100 遗传分析仪 | | (ABI, 美国) |
| (4) 超纯水机 | | (Milipore) |
| (5) Vortex-Genie 2 型旋涡混合型 | | |
| (6) 10 μ l, 100 μ l, 1000 μ l 微量加样器 | | (Eppendorf) |
| (7) 电泳仪 | | (Bio-Rad, 美国) |

试剂

- | | | |
|----------------|--|---------------|
| (1) Chelex-100 | | (Bio-Rad, 美国) |
|----------------|--|---------------|

- | | |
|---|------------------|
| (2) Tirs | (Sigma, USA) |
| (3) BorisAcid | (Sigma, USA) |
| (4) EDTA | (Sigma, USA) |
| (5) Acrylamide | (Promega, USA) |
| (6) Bis-arcylamide | (Promega, USA) |
| (7) Aps | (Sigma, USA) |
| (8) TEMED | (Sigma, USA) |
| (9) 乙醇 | (广州化学试剂厂) |
| (10) 硝酸 | (广州化学试剂厂) |
| (11) AgNO ₃ | (广州化学试剂厂) |
| (12) Na ₂ CO ₃ | (广州化学试剂厂) |
| (13) 冰醋酸 | (广州化学试剂厂) |
| (14) dNTP | (Promega, 美国) |
| (15) 10×Buffer | (ABI, 美国) |
| (16) MgCl ₂ | (ABI, 美国) |
| (17) Taq Plus DNA 聚合酶 | (鼎国科技有限公司, 中国北京) |
| (18) HS-Taq DNA 聚合酶 | (科登生物有限公司, 中国珠海) |
| (19) Taq Gold [®] DNA Polymerase | (PE, USA) |
| (20) GS500 LIZ [™] | (ABI, 美国) |
| (21) 去离子甲酰胺 | (ABI, 美国) |
| (22) HIDFragmentAnalysis36_POP4_1 | (ABI, 美国) |
| (23) Buffer(10×) with EDTA | (ABI, 美国) |

2.1.3 DNA 提取

血痕和血液均用 Chelex-100 法提取 DNA。

血痕 DNA 提取:

- (1) 取 2 mm×2mm 血纱置于 0.5 ml Ep 管中;
- (2) 加 500μl 灭菌超纯水浸泡 10min, 9000rpm 离心 6min, 弃去上清;
- (3) 重复步骤 (2);



- (4) 加入悬浮好的 5% Chelex-100 溶液 200 μ l;
- (5) 56 $^{\circ}$ C 孵化过夜 ;
- (6) 100 $^{\circ}$ C 10min, 振荡 5~10sec;
- (7) 12000rpm 离心 2min, 上清液即为 DNA 提取液, 4 $^{\circ}$ C 保存, 备用。

新鲜抗凝血 DNA 提取:

取 20 μ l 抗凝血置于 0.5ml EP 管中。其余步骤同血痕提取 (2)~(7)。

2.1.4 DNA 定量

DNA 定量采用核酸蛋白分析仪: 测定 A₂₆₀ 值和 A₂₈₀ 值; 计算 A₂₆₀/A₂₈₀ 值估计 DNA 纯度和计算出样品 DNA 浓度 (μ g/ μ l) 。

2.1.5 引物

DXS6803、DXS981、DXS6809 和 DXS7132 4 个基因座引物来自 GDB (<http://www.gdb.org>); DXS6789 基因座引物参照 Hering S 报道^[31], 均由上海英俊生物工程有限公司合成, 各基因座信息见表 2-1 和表 2-2。

表 2-1 引物序列、荧光标记及染色体定位

Table 2-1 Sequence and lable of primer and chromosome localization

基因座	染色体定位	标记染料	引物序列
Locus	Localization	Lable	Primer sequence
DXS6803	Xq21	FAM	F: 5'- GAAATG TGC TTT GAC AGG AA-3'-3' R: 5'- CAAAAA GGG ACA TAT GCT ACT T -3'
DXS981	Xq13	FAM	F: 5'- TCA GAG GAA AAG AAG TAG ACA TAC T -3' R: 5'- TTC TCT CCA CTT TTC AGA GTC A -3'
DXS6809	Xq21.33	FAM	F: 5'- TGA ACC TTC CTA GCT CAG GA -3' R: 5'- TCT GGA GAA TCC AAT TTT GC -3'
DXS6789	Xq22.3	HEX	F: 5'-GTTGTTACTTAATAAACCCCTCTTT-3' R: 5'-AAGAAGTTATTTGATGTCCTATTGT-3'
DXS7132	Xq12	HEX	F: 5'- AGC CCA TTT TCA TAA TAA ATC C-3' R: 5'-AAT CAG TGC TTT CTG TAC TAT TGC-3'

表 2-2 5 个 X-STR 基因座信息及细胞株 DNA 分型结果

Table 2-2 Information of five X-STR loci and results of allele typing of standard cell line DNA

基因座 Locus	等位基因数 Allele number	片段长度(bp) Size (bp)	等位基因范围 Allele rang	细胞株 DNA 分型 (Typing of cell line DNA)		
				K562	9947A	9948
DXS6803	13	97~125	7~14	9	11,11	12
DXS981	13	178~202	11~17	13.3	13.3, 14.3	14.3
DXS6809	12	239~279	28~38	34	31, 34	31
DXS6789	12	150~194	13~24	21	21, 22	20
DXS7132	8	276~304	11~18	13	12, 12	13

2.1.6 扩增体系及条件

总体积 25 μ l，内含 10~20 ng 模板 DNA，200 μ mol/L dNTP，1.5mmol/L MgCl₂(ABI, USA)，1 \times Buffer(ABI, USA)，1.5U Taq DNA 聚合酶（①Gold Taq DNA 聚合酶；② Taq-plus DNA 聚合酶；③ HS-Taq DNA 聚合酶），DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 引物分别为 0.47 μ mol/L、0.40 μ mol/L、0.43 μ mol/L、0.49 μ mol/L、0.54 μ mol/L。

在 Primus 96 plus PCR 扩增仪上扩增，条件如下：

用 Taq-plus DNA 聚合酶或 HS-Taq DNA 聚合酶时：

94°C	5min	}	30 个循环
94°C	45sec		
60 °C	45sec		
72 °C	45sec		
72 °C	5min		

使用 Gold Taq DNA 聚合酶时：

95°C	11min	}	30 个循环
94°C	45sec		
60 °C	45sec		
72 °C	45sec		
72 °C	5min		



2.1.7 PCR产物检测与分型

非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分型

(1) 配胶：6%非变性胶

30% Arc: Bis (29: 1)	8ml
5×TBE	8ml
TEMED	20μl
10%APS	200μl
DDH ₂ O	24 ml

(2) 灌胶

(3) 上样：取 2μl PCR 产物与上样缓冲液混合后上样。

(4) 电泳：恒压 450V，恒温 20℃，电泳 3h。

(5) 显色：10%乙醇固定 10min→蒸馏水洗 1 次→1%HNO₃ 浸泡 1~2min→蒸馏水洗 1 次→0.012mol/L AgNO₃ 染色 15min→蒸馏水洗 2 次→30%Na₂CO₃ 显色至出现 DNA 条带→10%冰醋酸停显→将凝胶转移至白色滤纸上，放置 56℃温箱烤干。

ABI PRISM 3100 遗传分析仪分型

(1) 开机：开启稳压电源→打开电脑（进入 Win2000 系统）→开启 3100 主机电源（仪器进入自检状态）→启动 3100 DATA Collection 数据采集软件。

(2) 装置准备：定期清洗和安装(把注射器、毛细管、Buffer 槽等拆下，用纯水清洗，晾干，灌胶：注射器里注入相当体积的 POP-4 胶，排出空气。Buffer 槽里盛 1×Buffer 溶液。双击 Run 3100 Data CollectionVersion2.0 软件→点击菜单栏中的 Wizards→点击 Fill Capillary wizards，对毛细管注胶→毛细管定位和样品编辑)。

(3) 样品准备：

GeneScan™-500LIZ™ size standard	0.3μl	} ×样品数
去离子甲酰胺	9.7μl	

混匀后瞬时离心，每管加 10.0μl 混合物，再加 PCR 产物 1.0μl，瞬时离

心。95°C变性4min, 放置冰盒中冷却3 min, 取10.0μl变性后的样品转移至96孔样品板, 装载入3100遗传分析仪进行电泳。

(4) 电泳条件: 14.7kV, 130μA, 14.8mW。

(5) 结果分析: GeneMapperIDv3.1 软件。

2.1.8 等位基因梯阶(Ladder)的制备

将各个基因座不同等位基因用非荧光标记的引物扩增, 并在6%非变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 回收, 分别置于200μl EP管中, 加100μl消毒超纯水浸泡过夜, 取1.0μl上清液作模板DNA, 再次作单位点扩增, 混合各等位基因产物, 即为各基因座的Ladder。(1)以各基因座Ladder为模板用单基因座荧光引物扩增, 混合扩增产物即为5个基因座复合扩增用的Ladder;(2)根据各基因座Ladder在非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳条带的强弱, 按比例将各基因座Ladder混合, 取2.0μl作模板DNA按2.1.6条件扩增, 产物即为5个基因座的Ladder。-20°C贮存备用。

2.1.9 序列分析

由上海英俊生物技术有限公司测序。

2.2 结果

2.2.1 单基因座扩增

单基因座扩增用Taq-plus DNA聚合酶, PCR产物用银染法检测, 5个X-STR基因座均获得清晰的条带, 在等位基因的扩增片段长度范围内没有非特异性条带出现。单基因座不同等位基因及Ladder结果见图2-1、2-2、2-3、2-4和2-5。

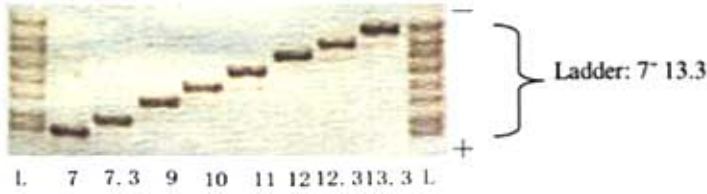


图 2-1. DXS6803 基因座各等位基因及 Ladder(L: Ladder)

Fig 2-1. Figure of allele and ladder at the locus DXS6803, (L: Ladder)



图 2-2. DXS981 基因座各等位基因及 Ladder (L: Ladder)

Fig 2-2. Figure of allele and ladder for the locus DXS981 (L: Ladder)

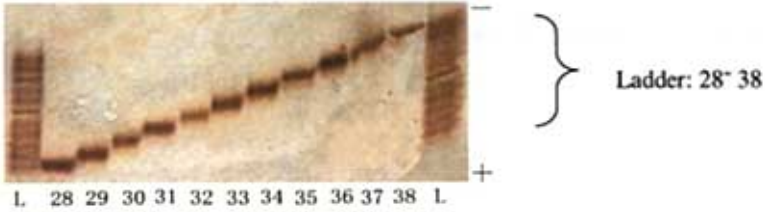


图 2-3. DXS6809 基因座各等位基因及 Ladder (L: Ladder)

Fig2-3. Figure of allele and ladder for the locus DXS6809 (L: Ladder)

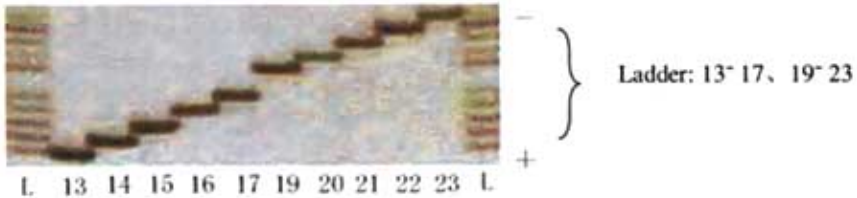


图 2-4. DXS6789 基因座各等位基因及 Ladder (L: Ladder)

Fig2-4. Figure of allele and ladder for the locus DXS6789 (L: Ladder)

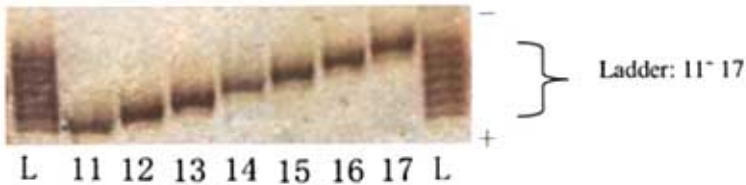


图 2-5. DXS7132 基因座各等位基因及 Ladder (L: Ladder)

Fig 2-5. Figure of allele and ladder of the locus DXS7132 (L: Ladder)

2.2.2 荧光标记引物复合扩增

(1) 荧光标记引物 Ladder 结果

各基因座 Ladder 用荧光复合扩增体系扩增，产物用 ABI 3100 遗传分析仪电泳，结果见图 2-6。

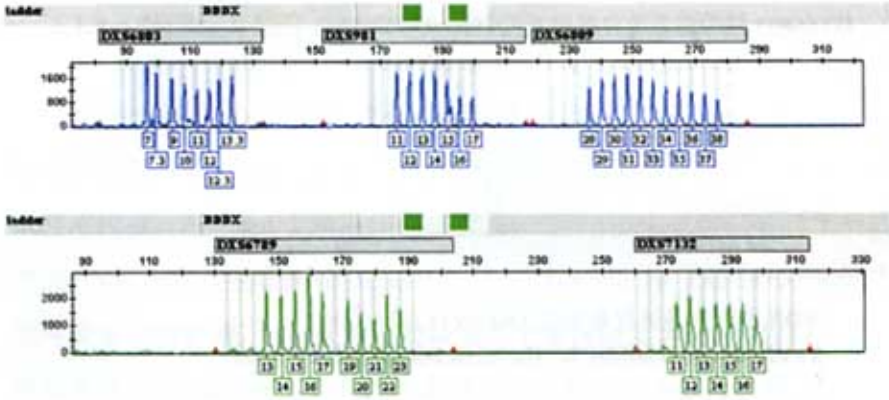


图 2-6. 5 个 X-STR 基因座 Ladder (ABI 3100 电泳)

Fig 2-6. Figure of ladder of the five X-STR loci on ABI 3100

(2) 不同 Taq DNA 聚合酶扩增比较

本实验试用了 3 种 Taq DNA 聚合酶(①Gold Taq DNA 聚合酶;② Taq-plus DNA 聚合酶;③ HS-Taq DNA 聚合酶),均可以得清楚的图谱。见图 2-7、图 2-8。由于 Taq-plus DNA 聚合酶价格便宜,灵敏度高,故被选为以下实验的聚合酶。

(3) 灵敏度检测

以 K562 为模板,结果能成功扩增的模板最低量为 0.25ng,见图 2-9。

(4) 样品及阳性对照 DNA 结果

血痕样品或血液样品用本体系扩增结果清晰,见图 2-10、图 2-11;阳性对照 DNA K562、9947A、9948 样品结果见图 2-12,分型正确,说明本实验中 Ladder 分型是准确的。

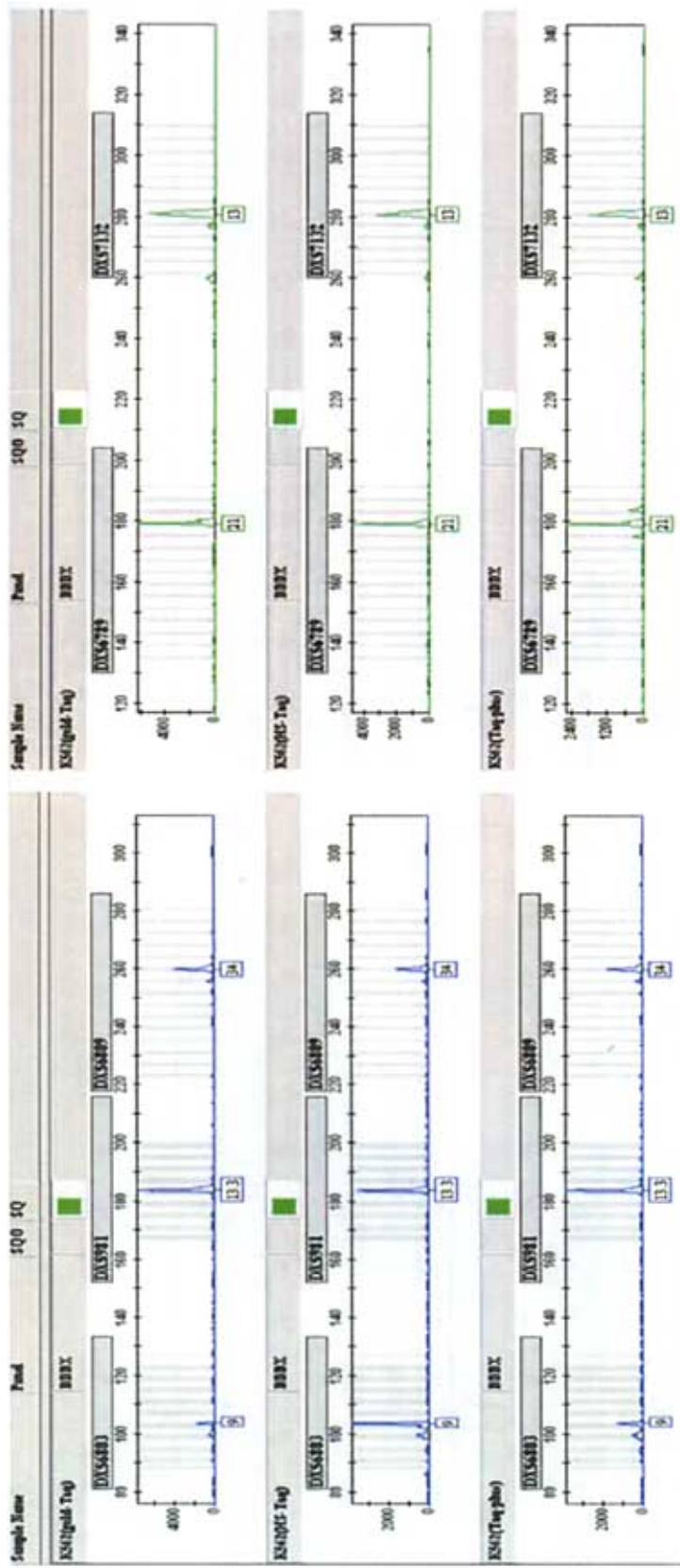


图 2-7 3 种 DNA 聚合酶复合扩增 K562 图谱

Fig. 2-7 The electrophoretogram of K562 cell line DNA by using three Taq DNA polymerase

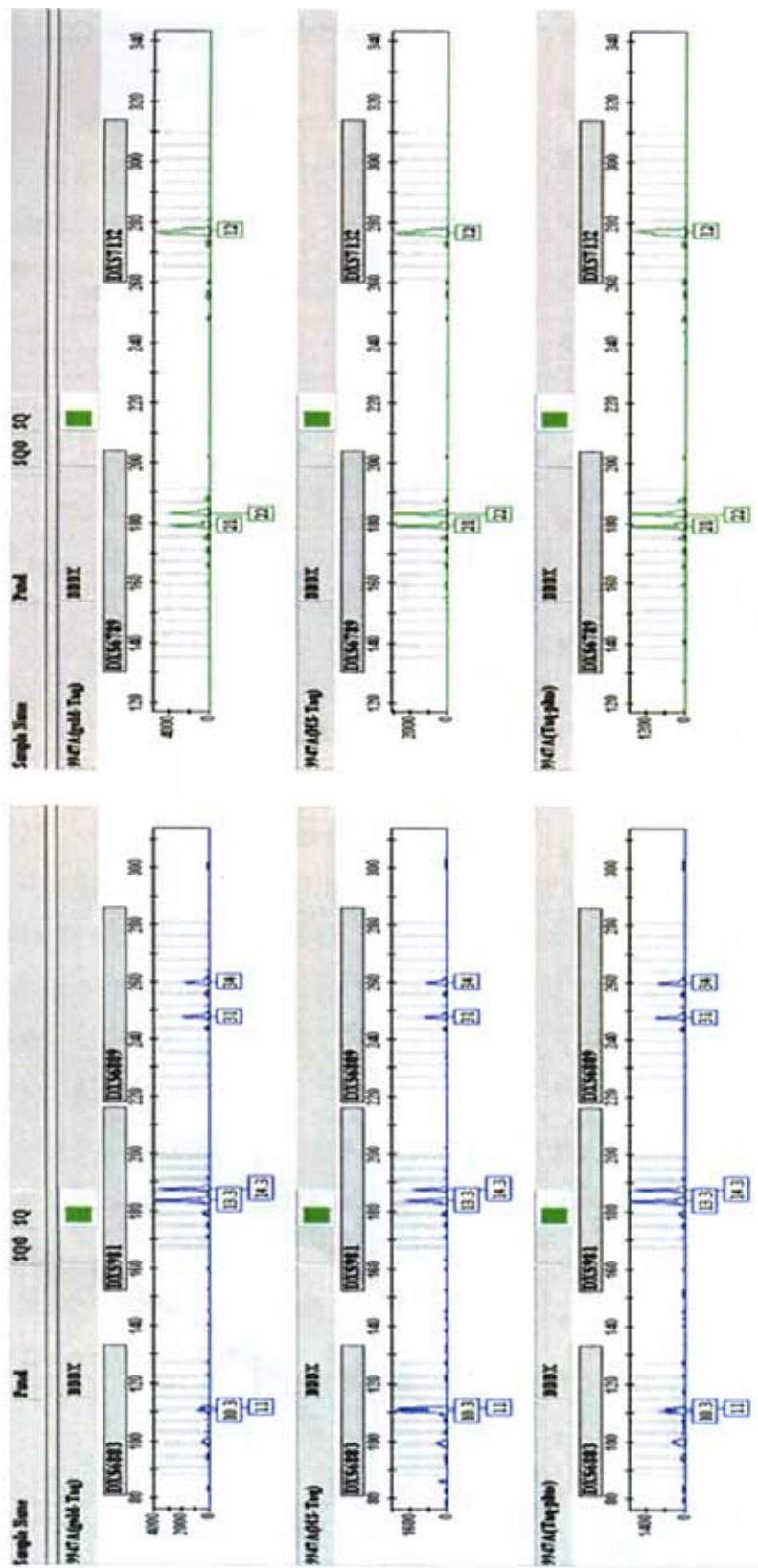


图 2-8 3 种 DNA 聚合酶复合扩增 9947A 图谱

Fig. 2-8 The electrophoretogram of 9947A cell line DNA by using three Taq DNA polymerase

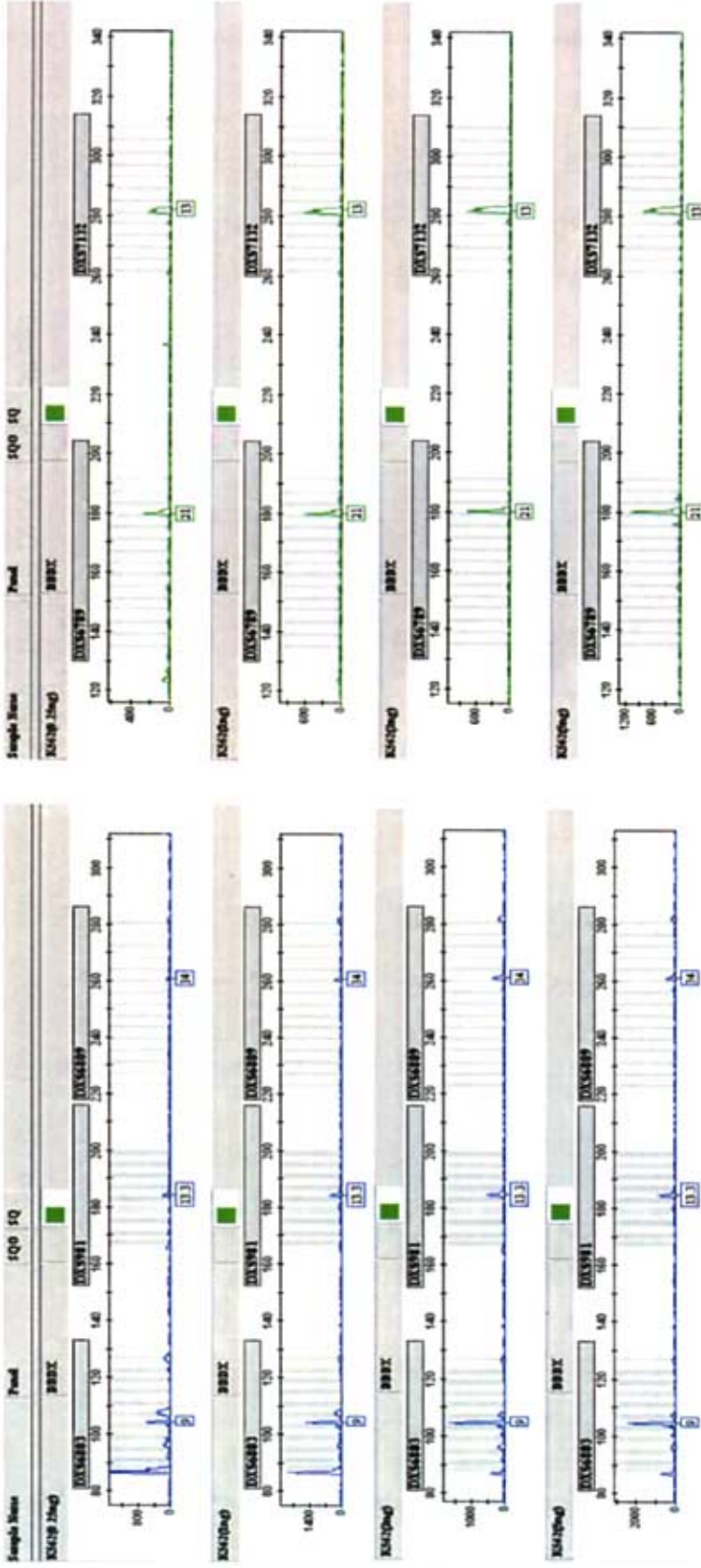


图 2-9(A) 灵敏度检测 (模板 DNA: 0.25ng~5 ng)
 Fig.2-9 (A) The electrophoretogram of sensitivity (Template DNA: 0.25ng~5 ng)

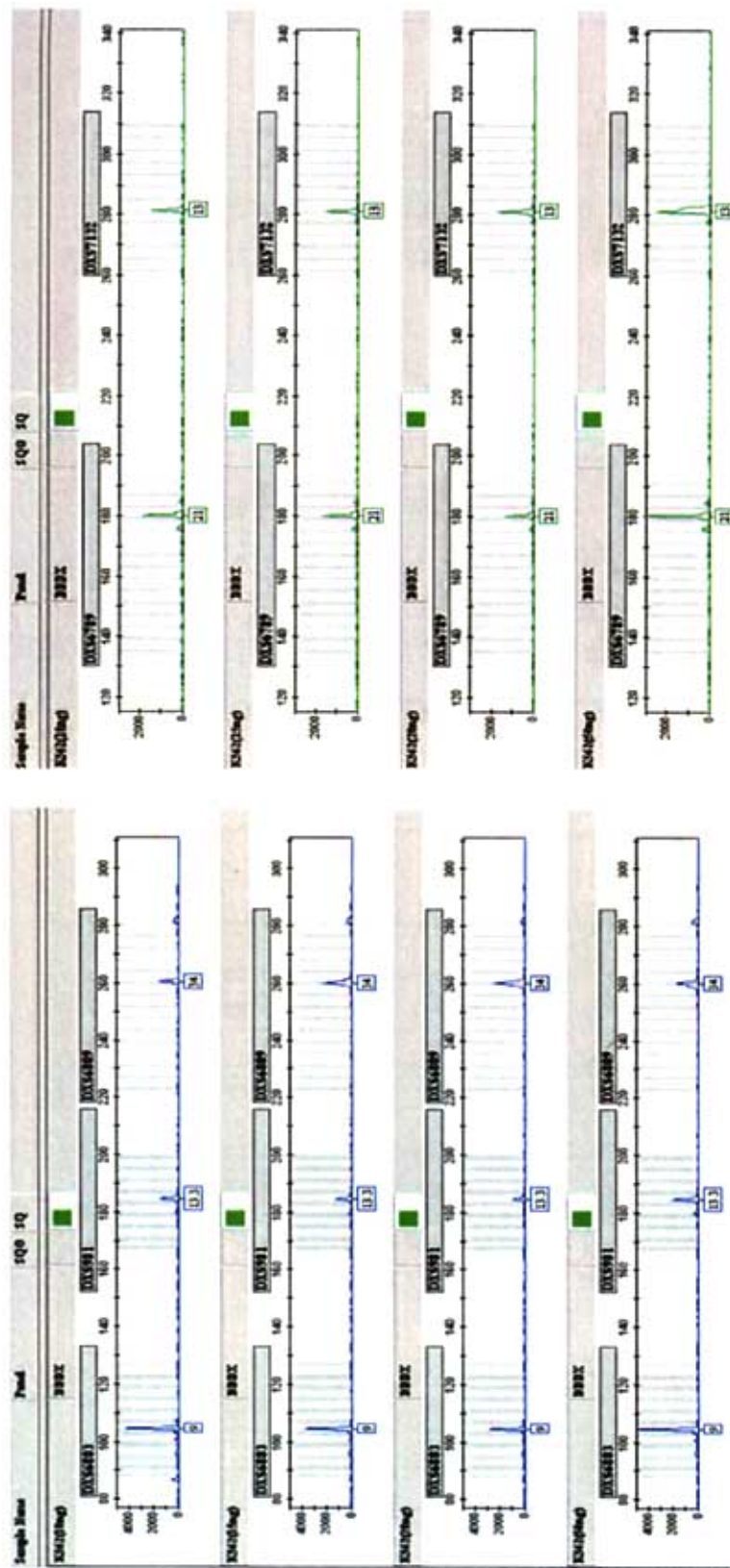


图 2-9 (B) 灵敏度检测 (模板 DNA: 10ng~50 ng)
 Fig. 2-9 (B) The electropherogram of sensitivity (Template DNA: 10ng~50 ng)

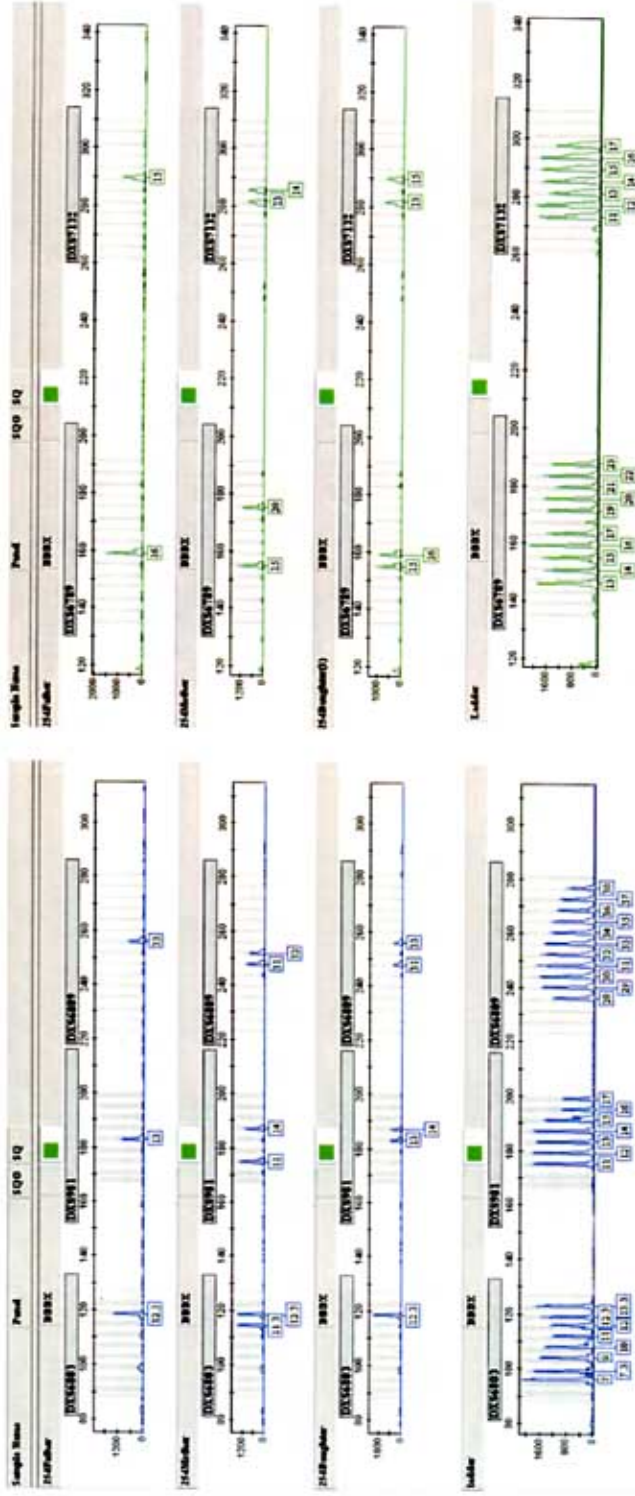


图 2-10 1 例三联体血痕样本复合扩增图
Fig. 2-10 The electrophoretogram of pentaplex ChrX-STR system in trio family

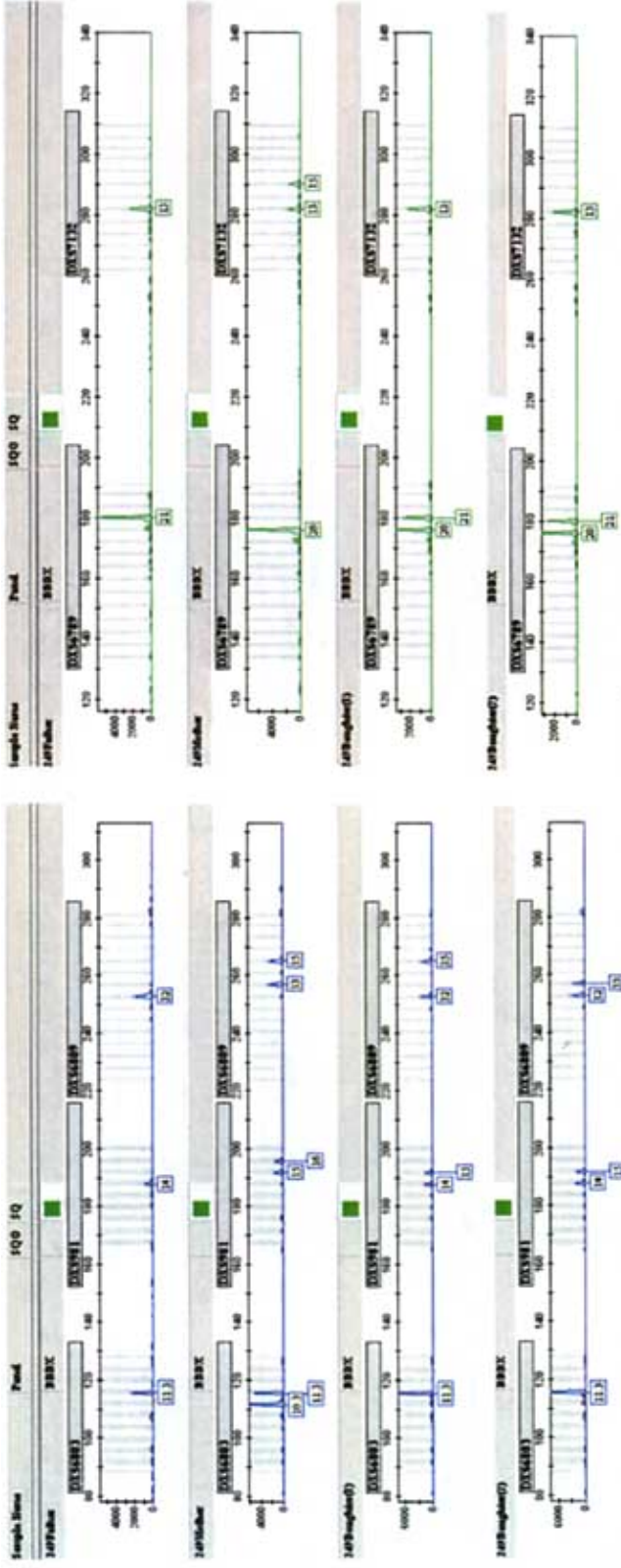


图 2-11 (A) 7 个孩子家系新鲜血样本复合扩增图

Fig. 2-11 (A) The electrophoretogram of pentaplex ChrX-STR system in the stemma with seven children

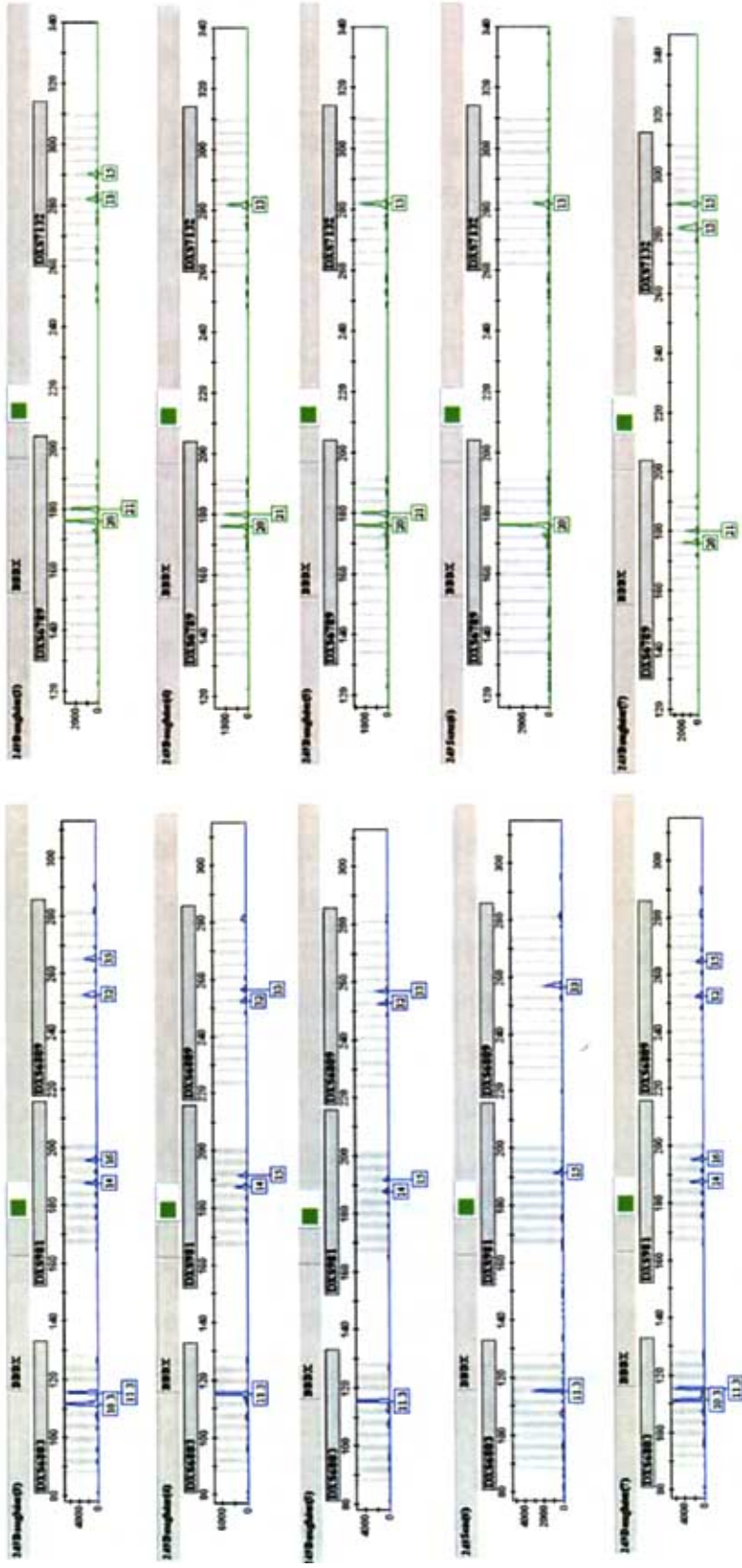


图 2-11 (B) 7 个孩子家系新鲜血样本复合扩增图
Fig. 2-11 (B) The electropherogram of pentaplex ChrX-STR system in the stemma with seven children

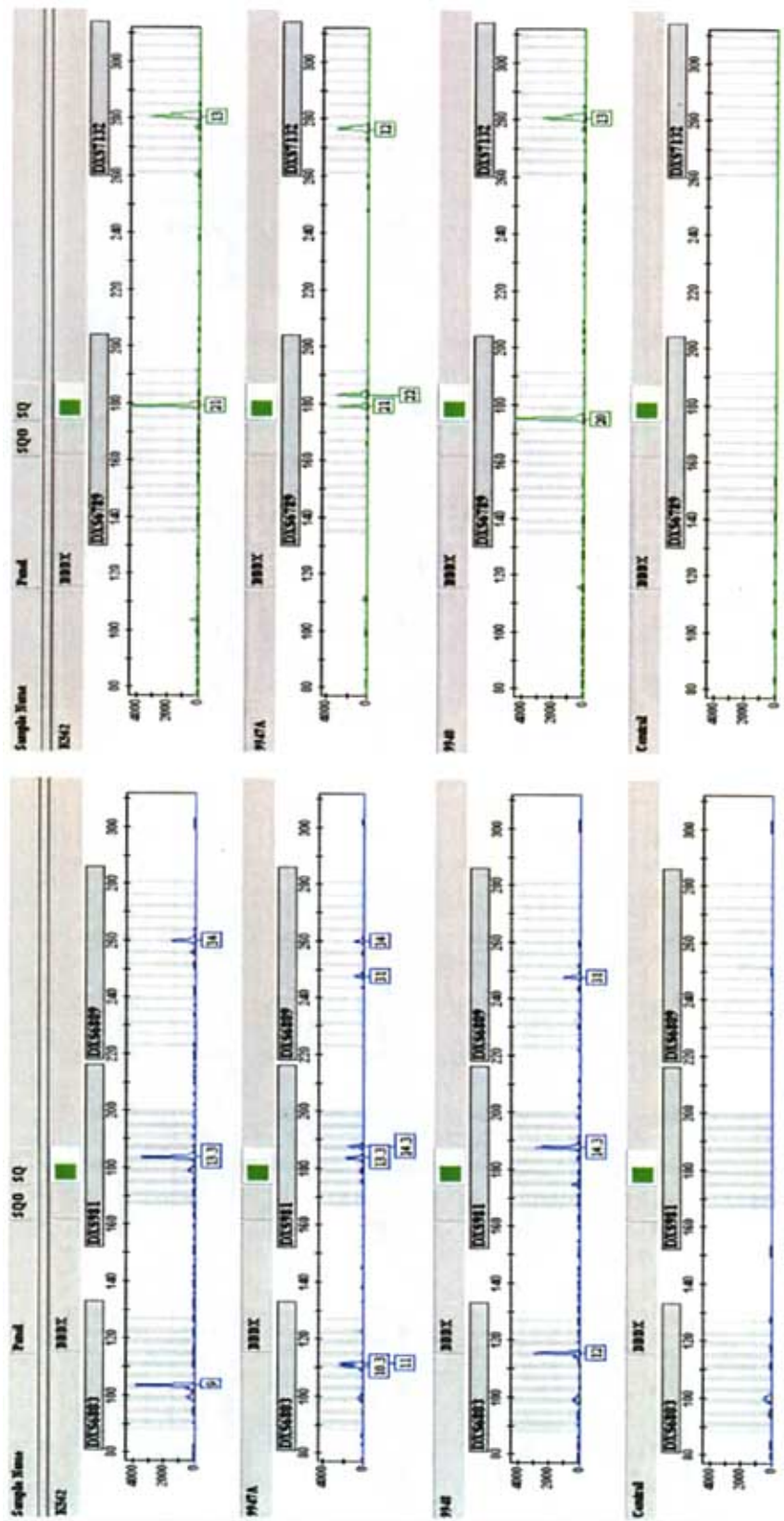


图 2-12 阳性对照及空白对照复合扩增图
 Fig. 2-12 The electrophoretogram of control DNA by analysed with pentaplex ChrX-STR system



2.2.3 等位基因测序结果

在每个基因座中随机抽取若干个等位基因进行序列分析，测序图谱分别见图2-13~图2-19。5个X-STR基因座的部分等位基因结构如下：

DXS6803 12.3 结构为 $P_{F20}-N_{19}-[TCTA]_{11}-[TCA]-[TCTA]-N_8-P_{R22}$

DXS981 14 结构为 $P_{F25}-N_4-TT-N_{81}-[TATC]_{14}-P_{R22}$

DXS981 14.3 结构为 $P_{F25}-N_4-\Delta TT-N_{81}-[TATC]_{13}-[ATC]-[TATC]-P_{R22}$

DXS6809 32 为 $P_{F20}-N_{37}-[CTAT]_9-[ATCT]_3-N_9-[TATC]_3-[ATCT]_5-N_{10}-[ATCT]_{12}-N_{31}-P_{R20}$

DXS6809 32.1 为 $P_{F20}-N_{37}-[CTAT]_9-[ATCT]_3-N_9-[TATC]_3-[ATCT]_6-N_{10}-T-[ATCT]_{11}-N_{31}-P_{R20}$

DXS6789 20 结构为 $P_{F24}-TATC-[TATG]_{10}-[TATC]_9-N_{49}-P_{R25}$

DXS7132 15 结构为 $P_{F22}-N_{19}-[TCTA]_{15}-N_{167}-P_{R24}$

2.3 讨论

2.3.1 复合扩增基因座的选择

本研究在选择荧光复合扩增的基因座时，是基于以下几个方面考虑的：

- (1) 位于同一连锁群内：作为位于同一染色体的基因座，必须考虑到连锁遗传的问题。各基因座如位于同一个连锁群之内，呈连锁遗传，便于以单倍型观察多态性。根据 Szibor 等的作图，DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS7132 和 DXS6789 均位于第二连锁群内，应呈连锁遗传。
- (2) 易于扩增：除这 5 个基因座外，实验初期我们还选择了另外一些位于 X 染色体第二连锁群内的基因座，如 ARA、DXS6800、DXS7424、DXS101、GATA172D05 等。但单基因座扩增结果发现，这些基因座的扩增存在着一些问题，有的扩增的产物量少，显带过浅，甚至有时很难得到扩增产物，如 DXS101；有的很容易出现非特异带（如影子带），如 DXS7424；有的要使用较高的 DNA 模板量；有的对模板的纯度和完整性要求很高，Chelex-100 法提取的模板放置 2~3 天之后即难于扩增成功。而 DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS7132 和 DXS6789 这 5 个基因座易于扩增、任意选其中两个或三个基因座进行两重或三重复合扩增时，均易成功，稳定

性好,结果清晰,非特异性带很少。故最后选择了这些易于扩增,分型较好的基因座进行复合扩增。

- (3) 扩增产物片段长度不重叠:复合扩增各基因座片段大小的差距应大于 30 bp,各基因座的等位基因之间才不会发生重叠,干扰分型。DXS6803 基因座扩增产物片段长度为 97~125 bp,DXS981 为 178~202bp,DXS6809 为 239~279bp。DXS6803 与 DXS981 相差 53 bp,DXS981 与 DXS6809 相差 37 bp,故这 3 个基因座引物均用同一荧光素 6-FAM 标记。DXS6789 基因座扩增产物片段长度为 150~194bp,DXS7132 为 276~304bp,两者相差 82 bp,这 2 个基因座引物用另一荧光素 HEX 标记。
- (4) 引物浓度易调配:增加基因座时,很难调整引物的浓度,各基因座之间的扩增易出现不平衡现象。如增加 GATA172D05 基因座时,DXS6803 扩增特异峰很低,而 DXS6809 发生优势扩增,难于平衡各引物的浓度。未加 GATA172D05 基因座时,各引物的浓度易于调整,大约均等浓度就能扩增出理想的结果,故放弃 GATA172D05。

2.3.2 复合扩增条件的选择

为了使扩增结果理想,本实验主要探索了以下几个与扩增有关的因素:

- (1) 引物的浓度和比例:实验发现引物的浓度与模板浓度有一定的关系,当模板浓度较低时,引物浓度要高。当模板浓度适中(10~30ng),各引物浓度均等时,结果清晰;但当模板浓度很高时,DXS6803 出现优势扩增。故本实验选择 25 μ l 体系,模板 DNA 为 10~20 ng,按 2.1.6 条件扩增能得到理想的结果。
- (2) Taq DNA 聚合酶:不同的 Taq DNA 聚合酶,其扩增效率和特异性是有差异的。本研究试用过多种 DNA 聚合酶,包括 Taq-plus DNA 聚合酶、HS-Taq DNA 聚合酶和 Gold Taq DNA 聚合酶。当 DNA 浓度达到 10~30ng 时,这 3 种 DNA 聚合酶均可达到理想的结果。Taq-plus DNA 聚合酶最低检出限为 0.25ng;HS-Taq DNA 聚合酶最低检出限为 0.5ng。由于 Gold Taq DNA 聚合酶的特异性高,当使用 Gold Taq DNA 聚合酶时,结果清晰,荧光染料峰干扰较少。但是 Gold Taq DNA 聚合酶的扩增效率并不是最高,当用



此酶扩增时，要加大模板量，否则等位基因的峰很低或不出现。本实验主要采用 Taq-plus DNA 聚合酶，因此酶还具有纠正功能，且价格低廉。

- (3) Buffer: 比较多种 PCR 扩增 Buffer，结果发现 ABI 公司 10×Buffer 缓冲液与 MgCl₂ 溶液进行复合扩增能得到最佳效果。Mg²⁺ 最佳浓度为 1.5mmol/L。
- (4) 模板 DNA: 扩增成功的主要因素是模板 DNA 的浓度和纯度，根据本实验的经验，1 至 5 年的血痕样本用 Chelex-100 法提取 DNA 能得到清晰的结果。大于 5 年的样本用酚氯仿法提取 DNA 结果较好，Chelex-100 法得到的结果有较多的杂带。新鲜抗凝血、羊水、肌肉和毛发用 Chelex-100 法提取 DNA，均能得到清晰的结果。说明本复合扩增体系能适用于常见检材的检验。

2.3.3 非特异峰分析

分型图中出现的非特异峰主要是荧光染料峰和双峰：

- (1) 荧光染料峰：标记在引物上的荧光染料在 PCR 的变性和退火过程中，染料可能从引物上脱落下来；另外在标记引物过程中也可能有过剩的荧光染料，这些荧光染料在毛细管电泳进样时被电离成为染料分子(charged dye molecules)，可随 PCR 产物进入毛细管而出现荧光染料峰(dye blobs)^[53]。本研究荧光染料峰发生在蓝色的荧光染料中，出现在约 100bp 左右的 DXS6803 基因座范围内。此峰型矮而宽，容易辨认。当模板浓度低时，可能会干扰其分型，从图 2-9 可看出随着模板浓度的增高多余引物的荧光染料峰逐渐减弱，当模板浓度与引物浓度恰好匹配时，没有非特异峰出现。
- (2) 双峰：引物浓度过高或模板 DNA 浓度过低时，DXS7132 易出现双峰（肩峰），此时应增加模板量，优化 PCR 循环条件，即可避免。

2.3.4 等位基因的分型

本实验依据等位基因测序结果及标准 DNA K562、9947A 和 9948 为对照物来命名等位基因 Ladder，用 GeneMapper 软件分型等位基因。

- (1) 5 个 X-STR 基因座重复序列的结构

DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 均为四核苷酸重复

序列。DXS6803 和 DXS981 基因座存在碱基缺失,造成有不完全重复等位基因。DXS6803 是简单四核苷酸重复基因座,结构为 $P_{F20}-N_{19}-[TCTA]_n-N_8-P_{R22}$, 不完全重复等位基因结构为 $P_{F20}-N_{19}-[TCTA]_n-[TCA]-[TCTA]-N_8-P_{R22}$ 。DXS6809 是复杂四核苷酸重复基因座,有4个可变区,结构为 $P_{F20}-N_{37}-[CTAT]_m-[ATCT]_3-N_9-[TATC]_n-[ATCT]_x-N_{10}-[ATCT]_y-N_{31}-P_{R20}$, 它不仅具有长度多态性还存在序列多态性^[34]。本研究发现 DXS6809 有1个稀有等位基因 32.1, 测序结果显示在最后一个可变区 $[ATCT]_{11}$ 前插入1个碱基 T, 结构为 $P_{F20}-N_{37}-[CTAT]_9-[ATCT]_3-N_9-[TATC]_3-[ATCT]_6-N_{10}-T-[ATCT]_{11}-N_{31}-P_{R20}$ 。DXS6789 结构为 $P_{F24}-TATC-[TATG]_m-[TATC]_n-N_{49}-P_{R25}$, 或 $P_{F24}-[TATG]_m-[TATC]_n-N_{49}-P_{R25}$ 。DXS7132 是简单四核苷酸重复基因座,核心序列为 $[TCTA]$, 结构为 $P_{F22}-N_{19}-[TCTA]_n-N_{167}-P_{R24}$ 。

DXS981 基因座不仅有长度多态性还存在碱基 TT 的插入或缺失多态性^[54], 在重复区上游的 83bp 处有两个碱基 TT 缺失且同时在倒数第二个重复序列中有一个碱基 T 缺失^[54], 即其重复单位 TATC 常缺失碱基 T 变成 ATC。重复单位不完整的等位基因, 结构为 $(TATC)_n-(ATC)-(TATC)_1$ 。有这种结构的等位基因, 在距离正向引物末端的第 5~6 位置有两个 T 缺失 (ΔTT) 的多态性, 和 $(TATC)_n-(ATC)-(TATC)_1$ 呈紧密的连锁关系。故在其完全重复与不完全重复之间仅差 1 bp, 如 14 和 14.3 的序列分别为 $P_{F25}-N_4-TT-N_{81}-[TATC]_{14}-P_{R22}$; $P_{F25}-N_4-\Delta TT-N_{81}-[TATC]_{13}-[ATC]-[TATC]-P_{R22}$, 这与 Tabbada 等^[42]报道的一致(见表 2-3)。为弥补这一点 Tabbada 等^[42]重新设计了引物正链 P_F : 5'-GTT TCC TCC TGC AAA ATA CAG C-3', 反链与原引物反链相同。新的引物 PCR 产物大小比原引物小 86 bp, 且等位基因 13.1 即为原来的 13.3^[42], 其他类推, 多态性只限于重复序列区长度的变化, 不反映侧翼序列的缺失/插入多态性。



表 2-3 DXS981 的等位基因和重复序列结构

Table 2-3 Allele and repeat sequence of DXS981 locus

等位基因 Allele	重复序列 Repeat Sequence	片段长度 Size (bp)
11	P _{F25} -TCTC-TT-N ₈₁ -(TATC) ₁₁ -P _{R22}	178
11.3	P _{F25} -TCTC-Δ(TT)-N ₈₁ -(TATC) ₁₀ -(ATC)-(TATC) ₁ -P _{R22}	179
12	P _{F25} -TCTC-TT-N ₈₁ -(TATC) ₁₂ -P _{R22}	182
12.3	P _{F25} -TCTC-Δ(TT)-N ₈₁ -(TATC) ₁₁ -(ATC)-(TATC) ₁ -P _{R22}	183
13	P _{F25} -TCTC-TT-N ₈₁ -(TATC) ₁₃ -P _{R22}	186
13.3	P _{F25} -TCTC-Δ(TT)-N ₈₁ -(TATC) ₁₂ -(ATC)-(TATC) ₁ -P _{R22}	187
14	P _{F25} -TCTC-TT-N ₈₁ -(TATC) ₁₄ -P _{R22}	190
14.3	P _{F25} -TCTC-Δ(TT)-N ₈₁ -(TATC) ₁₃ -(ATC)-(TATC) ₁ -P _{R22}	191
15	P _{F25} -TCTC-TT-N ₈₁ -(TATC) ₁₅ -P _{R22}	194
15.3	P _{F25} -TCTC-Δ(TT)-N ₈₁ -(TATC) ₁₄ -(ATC)-(TATC) ₁ -P _{R22}	195
16	P _{F25} -TCTC-TT-N ₈₁ -(TATC) ₁₆ -P _{R22}	198
16.3	P _{F25} -TCTC-Δ(TT)-N ₈₁ -(TATC) ₁₅ -(ATC)-(TATC) ₁ -P _{R22}	199
17	P _{F25} -TCTC-TT-N ₈₁ -(TATC) ₁₇ -P _{R22}	202

Δ(TT): 在重复序列前面的核苷酸位置82~83处有二核苷酸‘TT’缺失。

(2) 等位基因的命名

等位基因命名，由于正反链的定义不同，或者确定重复单位的方式不同，等位基因命名在不同的报道中可能有一个重复单位的差异^[52]。DXS981 基因座，当所用的引物扩增范围包含了重复区域侧翼序列的二核苷酸 TT 缺失时，重复单位完整与相关的重复单位不完整的等位基因仅相差 1bp，当引物扩增范围不包括侧翼序列的缺失时，重复单位完整与相关的重复单位不完整的等位基因相差 3bp，容易引起误解^[42]。鉴于此原因，Szibor 等^[55]建议在分型中使用已知分型的标准 DNA 作为参照，以校正 Ladder 中等位基因的命名，才能使不同报导中的资料具有可比性。本体系用标准 DNA K562、9947A 和 9948 校正等位基因 Ladder，以保证各群体资料比较的正确性。

以 K562、9947A 和 9948 细胞株 DNA 为对照物，K562 和 9948 分型结果与 Szibor 报道^[55]的一致。9947 A 样本 4 个基因座分型与 Szibor 一致：DXS981 (13.3/14.3)、DXS6809(31/34)、DXS6789(21/22)、DXS7132(12/12)。但 9947A 样品 DXS6803 分型与 Szibor 的分型不一致。本实验用三种酶(包括热起动的金牌酶)扩增 9947A 样品 DXS6803 分型均为 10.3/11，DXS6803 单基因座扩增 9947A

分型结果仍为 10.3/11，而 Szibor 报道的为 11/11。9947A 样品 DXS6803 分型与 Szibor 的分型不一致原因尚未清楚，Szibor 的回答是可能是他们结果的错误。由于 9947A 样品 DXS6803 分型为 10.3/11，无法通过聚丙烯酰胺凝胶电泳将两个等位基因条带分离开来，因此，无法通过测序分析其序列结构。

2.4 小结

- (1) 本研究所选择的 5 个 X-STR 基因座均位于 X 染色体第二连锁群内，易于扩增、多态性好。
- (2) 本研究通过在引物浓度，缓冲液成分和 PCR 循环参数等方面进行优化后所建立的方法灵敏度高、适用性广，可推广使用。
- (3) 本研究所建立的复合扩增体系仅用了 2 种荧光素，为建立更多基因座复合扩增奠定了基础。

第3章 5个X-STR基因座的多态性

近年来X染色体STR已得到法医工作者的青睐，似Y-STR和mtDNA一样与常染色体STR联合应用于法医学实践^[56]。X-STR与常染色体STR相比有其独特的特征^[57]：在遗传过程中母亲的X染色体可以遗传给女儿和儿子，而父亲的X染色体只能遗传给女儿；由于X-STR仅在女性个体中发生重组，故群体差异和遗传漂移多见；一般X-STR的多态性较低，单个X-STR提供的信息有限。因此寻找更多多态性高的X-STR基因座和建立群体遗传学资料就显得更为必要^[58-60]。本研究的目的是用荧光复合扩增方法检测DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789和DXS7132 5个X-STR基因座，建立中国汉族群体等位基因频率和单倍型频率资料；比较其在不同人群中差异，通过家系样本分析突变率和重组；获得中国汉族群体的遗传学数据。

3.1 材料和方法

3.1.1 样品来源及DNA提取

中国汉族无关个体827名（男性500名、女性327名），多个孩子家系252例（2个孩子207例；3个孩子35例；4个孩子6例；5个孩子3例；7个孩子1例），家系中的父母样本包括在无关个体中。以上样本均来自本实验室2001年至2006年日常检案。用Chelex-100法提取DNA。

3.1.2 PCR扩增体系及条件

按2.1.6所述，但反应体系总体积为12.5 μ l，用Taq-plus DNA聚合酶。

3.1.3 PCR产物检测

PCR产物用ABI PRISM 3100遗传分析仪电泳及GeneMapper 3.1软件进行

分型。用 GeneScan-500 LIZ™ 内标校正片段大小，用自制等位基因 Ladder 进行基因分型。

3.1.4 统计学分析

用软件 Arlequin 1.1 (<http://lgb.unige.ch/arlequin>)分析等位基因频率、单倍型频率、男性样本的连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LDE) 及用软件 GDA (<http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>)作正合检验(exact test)进行女性样本的 Hardy-Weinberg 平衡分析。参照 Desmarais 等^[61]报道：用公式 (3-1) 计算男性个体识别率 (Power of Discrimination in males, PD_M)；公式 (3-2) 计算女性个体识别率 (Power of Discrimination in females, PD_F)；公式 (3-3) 计算男性单倍型多样性 (Haplotype Diversity, HD)；公式 (3-4) 计算三联体 (父-母-女) 非父排除率 (PE_T)；计算二联体 (父-女) 非父排除率 (PE_D) 用公式 (3-5)

^[61]； $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$ 计算多态信息含量 (Polymorphism

Information Content, PIC)。n 为共显性等位基因数， p_i, p_j 为等位基因频率。

$$PD_M = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 \quad (3-1)$$

$$PD_F = 1 - 2\left(\sum_{i=1}^n p_i^2\right)^2 + \sum_{i=1}^n p_i^4 \quad (3-2)$$

$$HD = 1 \times \frac{n}{n-1} - \sum_{i=1}^n p_i^2 \quad (3-3)$$

$$PE = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 + \sum_{i=1}^n p_i^4 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2\right)^2 \quad (3-4)$$

$$PE = 1 - 2\left(\sum_{i=1}^n p_i^2\right) + \sum_{i=1}^n p_i^3 \quad (3-5)$$

3.2 结果



3.2.1 5个X-STR基因座的多态性

检测 827 例中国汉族无关个体(500 例男性和 327 例女性)，DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 基因座分别检出 13、13、12、12、8 个等位基因，等位基因及片段大小见表 3-1。

表 3-1 5 个 X-STR 基因座等位基因及片段大小

Table 3-1 Allele and size of the five X-STR loci

DXS6803		DXS981		DXS6809		DXS6789		DXS7132	
Allele	Size(bp)	Allele	Size(bp)	Allele	Size(bp)	Allele	Size(bp)	Allele	Size(bp)
7	97	11	178	28	239	13	150	11	276
7.3	100	11.3	179	29	243	14	154	12	280
9	105	12	182	30	247	15	158	13	284
9.3	108	12.3	183	31	251	16	162	14	288
10	109	13	186	32	255	17	166	15	292
10.3	112	13.3	187	32.1	256	18	170	16	296
11	113	14	190	33	259	19	174	17	300
11.3	116	14.3	191	34	263	20	178	18	304
12	117	15	194	35	267	21	182		
12.3	120	15.3	195	36	271	22	186		
13	121	16	198	37	275	23	190		
13.3	124	16.3	199	38	279	24	194		
14	125	17	202						

对女性的基因分型数据用软件 GDA(Lewis, P. O., and Zaykin, D. 2001. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c). <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>)作正合检验，进行 Hardy-Weinberg 平衡分析，结果见表 3-2。

表 3-2 5 个 X-STR 基因座 Hardy-Weinberg 平衡检验结果

Table 3-2 Results of *p* values for the Hardy-Weinberg equilibrium at the five X-STR loci

基因座	DXS6803	DXS981	DXS6809	DXS6789	DXS7132
<i>p</i> 值	0.0001	0.0053	0.6688	0.7944	0.3541

分别计算男、女个体 5 个 X-STR 基因座等位基因频率，用 X^2 检验，在中国

汉族群体男性个体与女性个体中等位基因分布差异没有统计学意义(P 值 >0.05), 可以合并男女的数据进行总群体等位基因频率的统计。5个X-STR基因座等位基因频率及统计学参数见表3-3。

分别以男性和女性的数据, 用软件GDA进行连锁平衡分析, 结果见表3-4。

表3-4 连锁平衡分析 p 值

Table 3-4 Results of p values for test of linkage disequilibrium

基因座组合	男性	女性
DXS6803/DXS981/DXS6809/DXS6789/DXS7132	0.0038	0.0047

由于5个STR基因座位于同一连锁群之内, 在遗传过程中往往以连锁的方式遗传。因此, 有必要计算这5个X-STR基因座的单倍型频率。在500名男性个体中共检出449种单倍型, 有411种单倍型是唯一的(占82.2%), 出现最多的单倍型为11.3/13/33/16/15, 在500个个体中出现5次(占1%), 其次为11.3/14/33/15/14和11.3/13.3/31/16/15均出现4次(占0.8%), 有6种单倍型出现3次, 有29种单倍型出现2次。单倍型个体识别率为0.9994, 单倍型频率见表3-5。

表 3-3 中国汉族人群 5 个 X-STR 基因座等位基因频率及法医学应用参数 (N_{男性}=500; N_{女性}=327)

等位基因	DXS6803 频率				DXS981 频率				DXS6809 频率				DXS6789 频率				DXS7132 频率				
	男性		女性		男性		女性		男性		女性		男性		女性		男性		女性		
	等位基因	总平均	等位基因	总平均	等位基因	总平均	等位基因	总平均	等位基因	总平均	等位基因	总平均	等位基因	总平均	等位基因	总平均	等位基因	总平均	等位基因	总平均	
7	0.0060	0.0061	0.0061	0.0095	28	0.0020	0.0031	0.0026	13	0.0000	0.0015	0.0009	11	0.0080	0.0061	0.0069					
7.3	0.0020	0.0031	0.0026	0.0017	29	0.0120	0.0092	0.0104	14	0.0020	0.0015	0.0017	12	0.1020	0.0948	0.0979					
9	0.0100	0.0138	0.0121	0.0485	30	0.0220	0.0291	0.0260	15	0.1580	0.1621	0.1603	13	0.1940	0.1606	0.1750					
9.3	0.0160	0.0107	0.0130	0.0815	31	0.1440	0.1544	0.1499	16	0.3460	0.3792	0.3648	14	0.3360	0.3593	0.3492					
10	0.1300	0.1407	0.1360	0.1508	32	0.1760	0.1789	0.1776	17	0.0660	0.0443	0.0537	15	0.2600	0.2752	0.2686					
10.3	0.0600	0.0581	0.0589	0.1872	32.1	0.1680	0.2018	0.1872	18	0.0020	0.0000	0.0009	16	0.0820	0.0856	0.0841					
11	0.1400	0.1315	0.1352	0.2721	33	0.2280	0.2661	0.2721	19	0.0120	0.0122	0.0121	17	0.0180	0.0168	0.0173					
11.3	0.4720	0.4434	0.4558	0.0797	34	0.2280	0.2018	0.2132	20	0.1940	0.2034	0.1993	18	0.0000	0.0015	0.0009					
12	0.0540	0.0658	0.0607	0.1057	35	0.1140	0.0994	0.1057	21	0.1300	0.1346	0.1326									
12.3	0.0800	0.0994	0.0910	0.0295	36	0.0440	0.0474	0.0459	22	0.0780	0.0535	0.0641									
13	0.0140	0.0168	0.0156	0.0260	37	0.0280	0.0245	0.0260	23	0.0100	0.0061	0.0078									
13.3	0.0120	0.0077	0.0095	0.0009	38	0.0020	0.0000	0.0009	24	0.0020	0.0015	0.0017									
14	0.0040	0.0031	0.0035	0.0069	17	0.0080	0.0061	0.0069													
PIC		0.7163		0.8123				0.7992				0.7473								0.7004	
PD _M		0.7270		0.8405				0.8248				0.7901								0.7644	
PD _F		0.9125		0.9554				0.9460				0.9134								0.9009	
PE _F		0.7153		0.8218				0.8018				0.7471								0.7210	
PE ₀		0.5795		0.7125				0.6850				0.6167								0.5854	

PIC: 多态信息含量; PD_M: 男性个体识别率; PD_F: 女性个体识别率; PE_F: 三联体(父-母-女)非父排除率; PE₀: 三联体(父-女)非父排除率

表3-5 5个X-STR基因座(DXS6803/DXS981/DXS6809/DXS6789/DXS7132)
在中国男性个体中的单倍型频率(N=500)

Table3-5 Haplotype frequencies of DXS6803, DXS981, DXS6809, DXS6789 and
DXS7132 in male of Han Population in China (N=500)

编号单倍型	频 率	编号单倍型	频 率	编号单倍型	频 率
No. Haplotype	Frequency	No. Haplotype	Frequency	No. Haplotype	Frequency
1 11.3/13/33/16/15	0.010	151 13.3/12.3/35/17/14	0.002	301 10/13.3/37/20/14	0.002
2 11.3/14/33/15/14	0.008	152 11/13.3/31/16/16	0.002	302 11.3/15/36/16/13	0.002
3 11.3/13.3/31/16/15	0.008	153 10/14.3/33/16/13	0.002	303 11/14/29/15/14	0.002
4 11.3/14/34/20/14	0.006	154 11/13.3/32/20/15	0.002	304 12.3/14/32/21/14	0.002
5 11.3/13/32/16/15	0.006	155 11.3/14/35/20/12	0.002	305 11.3/17/30/21/13	0.002
6 11.3/14/35/20/14	0.006	156 11.3/14/30/15/15	0.002	306 12.3/14/33/20/16	0.002
7 11.3/13/33/21/14	0.006	157 10.3/14/35/15/14	0.002	307 11.3/15/36/22/13	0.002
8 10/14/34/16/14	0.006	158 11.3/13.3/32/16/14	0.002	308 13/15/33/23/15	0.002
9 11.3/12.3/34/16/14	0.006	159 11.3/16/34/21/13	0.002	309 11/12/32/20/12	0.002
10 11.3/13.3/31/21/14	0.004	160 11.3/14/33/17/13	0.002	310 11.3/12/32/20/12	0.002
11 11.3/14/31/16/15	0.004	161 11.3/15/32/16/15	0.002	311 10/14/35/20/14	0.002
12 11.3/14/34/16/15	0.004	162 9.3/15/32/20/15	0.002	312 11/14/33/16/16	0.002
13 11/13.3/32/17/15	0.004	163 11/14/32/22/12	0.002	313 11.3/11/33/15/12	0.002
14 10/13.3/32/15/13	0.004	164 11.3/13/36/15/14	0.002	314 11.3/12.3/33/20/13	0.002
15 11.3/15/31/20/15	0.004	165 10/13/33/19/15	0.002	315 10.3/14/32/15/16	0.002
16 11.3/13.3/34/16/16	0.004	166 11.3/12.3/36/16/13	0.002	316 11.3/15/32/21/15	0.002
17 11.3/13.3/31/17/13	0.004	167 10/14.3/30/16/14	0.002	317 11.3/15/32/15/12	0.002
18 11.3/14/32/16/15	0.004	168 10/15/31/16/14	0.002	318 11.3/14.3/31/15/15	0.002
19 10/14.3/31/21/15	0.004	169 12.3/14/34/16/13	0.002	319 11.3/16/34/15/15	0.002
20 11.3/13.3/34/16/12	0.004	170 11.3/12.3/34/22/12	0.002	320 11.3/13/31/16/14	0.002
21 11.3/14/33/21/15	0.004	171 12/14.3/33/16/14	0.002	321 11.3/12/32/16/13	0.002
22 11.3/14/34/16/13	0.004	172 11.3/13/31/16/15	0.002	322 11/15/31/16/14	0.002
23 11.3/14/35/16/14	0.004	173 9.3/16.3/32/22/14	0.002	323 12.3/13.3/31/21/16	0.002
24 11.3/13.3/33/20/14	0.004	174 11.3/13/33/20/15	0.002	324 11/14/35/16/13	0.002
25 11.3/13.3/34/16/15	0.004	175 11.3/14.3/34/16/15	0.002	325 10.3/15/33/16/15	0.002
26 11.3/12.3/33/15/16	0.004	176 12.3/13/33/21/14	0.002	326 11.3/13/31/15/12	0.002
27 11.3/14/33/20/14	0.004	177 11.3/12.3/34/23/13	0.002	327 10.3/13/33/20/13	0.002
28 11/14/33/15/14	0.004	178 11.3/14/29/16/12	0.002	328 13/14/35/20/14	0.002
29 11.3/14/33/21/14	0.004	179 11/15/31/21/14	0.002	329 11.3/15/34/21/15	0.002
30 11.3/14/33/16/14	0.004	180 12.3/12.3/29/16/16	0.002	330 11.3/11/34/15/14	0.002
31 11/13.3/32/21/13	0.004	181 11.3/14/34/21/15	0.002	331 9/13.3/34/15/14	0.002
32 11.3/13.3/34/20/15	0.004	182 12.3/15.3/34/16/12	0.002	332 9/13.3/36/16/14	0.002
33 10/13/33/22/14	0.004	183 12.3/13/33/16/15	0.002	333 10.3/12.3/32/22/15	0.002
34 11.3/15/35/20/14	0.004	184 10/14/32/16/13	0.002	334 11.3/13/36/17/15	0.002



35	11.3/14/34/16/17	0.004	185	11/14/34/21/15	0.002	335	11.3/14/34/15/12	0.002
36	11.3/13.3/33/20/13	0.004	186	12.3/14/31/15/15	0.002	336	14/14.3/34/16/14	0.002
37	11.3/14/34/15/15	0.004	187	11.3/15/31/16/14	0.002	337	11/14.3/35/16/14	0.002
38	11/14.3/32/20/15	0.004	188	11.3/14/36/17/15	0.002	338	14/14/32/16/14	0.002
39	11.3/15.3/36/20/15	0.002	189	12/14/33/16/16	0.002	339	12/13/33/19/16	0.002
40	11.3/15/31/22/13	0.002	190	11.3/13/35/16/12	0.002	340	12/13.3/32/16/13	0.002
41	12/13.3/32/21/15	0.002	191	12/14/32/21/13	0.002	341	10/14.3/34/16/16	0.002
42	11.3/13/32/15/13	0.002	192	12/14/35/20/13	0.002	342	12/12.3/33/16/14	0.002
43	11/14/34/21/13	0.002	193	11/14/34/16/13	0.002	343	12/15.3/35/21/15	0.002
44	12.3/14/34/15/16	0.002	194	12.3/15/34/16/11	0.002	344	13/14/32/16/15	0.002
45	10.3/13.3/33/21/15	0.002	195	13.3/14.3/31/17/16	0.002	345	10/12.3/33/20/12	0.002
46	7.3/13/34/20/15	0.002	196	11.3/14/31/20/14	0.002	346	9/12.3/32/16/14	0.002
47	11/13/31/21/14	0.002	197	11.3/14/31/16/13	0.002	347	10.3/12/32/21/15	0.002
48	12/15/32/19/13	0.002	198	11/13/32/16/14	0.002	348	10.3/14/36/23/15	0.002
49	11.3/13.3/33/15/15	0.002	199	11/12/34/16/15	0.002	349	11/13.3/34/16/13	0.002
50	10/14/29/22/17	0.002	200	11.3/11/34/16/13	0.002	350	11.3/13/34/16/14	0.002
51	12/14.3/33/17/13	0.002	201	12.3/14.3/35/16/12	0.002	351	12.3/13/33/21/15	0.002
52	10/15/37/20/14	0.002	202	10/13.3/35/15/12	0.002	352	11.3/12/31/16/15	0.002
53	10/13/32/15/13	0.002	203	10/14.3/30/20/14	0.002	353	11.3/13/33/16/13	0.002
54	11.3/14/32/22/13	0.002	204	9.3/12.3/34/20/14	0.002	354	12.3/13/33/19/14	0.002
55	11/12.3/33/20/15	0.002	205	11/12/36/16/14	0.002	355	11.3/12.3/34/20/14	0.002
56	10/14.3/31/21/13	0.002	206	11.3/12.3/35/22/13	0.002	356	10.3/16/32/20/15	0.002
57	7/16/34/20/12	0.002	207	10.3/15/31/16/13	0.002	357	11.3/14/34/16/12	0.002
58	11.3/15/33/15/14	0.002	208	11/13.3/35/17/15	0.002	358	12.3/13.3/33/16/16	0.002
59	13/14/33/22/13	0.002	209	10.3/12.3/33/20/15	0.002	359	12/16/32/21/16	0.002
60	11.3/14.3/34/21/17	0.002	210	10/14/32/20/14	0.002	360	11.3/13.3/31/20/17	0.002
61	11.3/14/38/15/14	0.002	211	11.3/15.3/36/17/16	0.002	361	11.3/15.3/33/20/14	0.002
62	11.3/15/34/15/15	0.002	212	11/14/32/21/15	0.002	362	9.3/12.3/33/15/15	0.002
63	11.3/12.3/35/20/14	0.002	213	11.3/13.3/32/21/14	0.002	363	12.3/14/31/15/14	0.002
64	10.3/13.3/31/20/16	0.002	214	10.3/12.3/34/15/13	0.002	364	10.3/14/33/22/13	0.002
65	11.3/13/33/15/12	0.002	215	9/15/34/16/14	0.002	365	11.3/13.3/35/22/14	0.002
66	11.3/13/34/21/12	0.002	216	11/15/33/17/12	0.002	366	11/12.3/35/22/14	0.002
67	12/14.3/32/20/14	0.002	217	10/12/33/15/14	0.002	367	11.3/15.3/33/21/15	0.002
68	11/14/35/20/14	0.002	218	10/13/34/16/14	0.002	368	11.3/15.3/31/16/15	0.002
69	10.3/13.3/33/16/14	0.002	219	11/15/35/17/14	0.002	369	11/14/35/20/15	0.002
70	11/13/34/16/12	0.002	220	11.3/15/30/15/14	0.002	370	12.3/13/36/19/13	0.002
71	11/14/31/16/14	0.002	221	11.3/12.3/33/16/15	0.002	371	11.3/14/30/16/14	0.002
72	11.3/13/38/20/14	0.002	222	11/14/32/21/13	0.002	372	10/14/33/20/15	0.002
73	10.3/14/31/20/15	0.002	223	10/15/34/16/14	0.002	373	11.3/14/33/16/13	0.002
74	10/12/35/22/13	0.002	224	13/13.3/33/15/12	0.002	374	12.3/14/32/16/14	0.002
75	10.3/12/33/15/14	0.002	225	11.3/13.3/34/16/14	0.002	375	11.3/13/34/15/15	0.002
76	10.3/14/32/21/15	0.002	226	10.3/13.3/34/15/13	0.002	376	11.3/15.3/36/16/15	0.002

77	11/13.3/35/16/13	0.002	227	10/13/34/15/14	0.002	377	11.3/12.3/31/21/12	0.002
78	11/13/35/20/13	0.002	228	10.3/13/36/14/14	0.002	378	10.3/14/31/15/13	0.002
79	11/11/34/16/14	0.002	229	11.3/15/34/20/17	0.002	379	12.3/13/35/20/15	0.002
80	11/12/35/15/14	0.002	230	11.3/13/34/22/12	0.002	380	11.3/14/31/15/15	0.002
81	11/14/31/21/14	0.002	231	11.3/14/34/17/12	0.002	381	11.3/14/31/17/15	0.002
82	10/14.3/33/15/14	0.002	232	11.3/15.3/32/21/13	0.002	382	12.3/14/34/20/12	0.002
83	11/14.3/35/20/15	0.002	233	12.3/13/34/20/15	0.002	383	9/14/32/20/14	0.002
84	11.3/13.3/33/17/14	0.002	234	11.3/14/32/21/12	0.002	384	12.3/14/34/16/16	0.002
85	11/13.3/32/16/12	0.002	235	12/12.3/34/17/15	0.002	385	10/13/34/16/15	0.002
86	11.3/13.3/36/22/14	0.002	236	11.3/15/34/16/16	0.002	386	11/14.3/33/16/15	0.002
87	11.3/13/32/16/16	0.002	237	11/13/34/15/15	0.002	387	11.3/12.3/33/17/15	0.002
88	11.3/12.3/33/16/14	0.002	238	11/15/32/20/14	0.002	388	11.3/13/33/20/14	0.002
89	11.3/13/33/16/16	0.002	239	12/16/36/16/15	0.002	389	12.3/14/33/20/14	0.002
90	11.3/13.3/33/22/13	0.002	240	10/13/32/17/14	0.002	390	7/13.3/34/16/13	0.002
91	11.3/14/33/22/16	0.002	241	10/16/34/22/15	0.002	391	12.3/13.3/31/22/14	0.002
92	11.3/13/35/19/13	0.002	242	11.3/14/32/21/15	0.002	392	7/12.3/31/15/14	0.002
93	10.3/13/34/20/13	0.002	243	11.3/13/35/15/15	0.002	393	11.3/15/35/20/13	0.002
94	10.3/14.3/35/20/15	0.002	244	11.3/13.3/30/16/12	0.002	394	10/13/31/16/13	0.002
95	11.3/13/33/20/12	0.002	245	10/16/33/15/13	0.002	395	10/13.3/35/20/14	0.002
96	11.3/13.3/34/20/12	0.002	246	10/13.3/29/16/15	0.002	396	13.3/14.3/35/16/13	0.002
97	11/14/33/22/15	0.002	247	13/15/30/17/14	0.002	397	11.3/13.3/31/21/16	0.002
98	11.3/13/31/15/14	0.002	248	11.3/14.3/35/20/13	0.002	398	12/12.3/31/21/15	0.002
99	10/14/32/23/13	0.002	249	10/13.3/35/16/13	0.002	399	11.3/13/31/16/13	0.002
100	11.3/13/35/16/13	0.002	250	12/14.3/34/16/17	0.002	400	11.3/12/34/16/14	0.002
101	10/17/32/16/14	0.002	251	11.3/15/31/20/14	0.002	401	11/12/30/16/12	0.002
102	10/14.3/35/20/14	0.002	252	11.3/14/34/22/12	0.002	402	11/12/31/16/14	0.002
103	11.3/13/31/21/11	0.002	253	11.3/13.3/34/21/15	0.002	403	11.3/14.3/32/15/12	0.002
104	11.3/12/32/20/16	0.002	254	10.3/14/35/20/15	0.002	404	10/15.3/32/16/14	0.002
105	12/15/35/15/16	0.002	255	11/14.3/32/20/14	0.002	405	11.3/13.3/33/22/15	0.002
106	10/13/33/16/12	0.002	256	10.3/14/35/20/12	0.002	406	11.3/14.3/34/20/15	0.002
107	11.3/14/36/21/16	0.002	257	12.3/15.3/33/16/12	0.002	407	11.3/14/37/16/13	0.002
108	11.3/13/33/22/14	0.002	258	11.3/15/32/21/16	0.002	408	12.3/13/32/21/14	0.002
109	11.3/15.3/34/16/16	0.002	259	11.3/14/35/21/15	0.002	409	9.3/15/33/15/17	0.002
110	11/15/34/21/13	0.002	260	11.3/15/34/16/15	0.002	410	9.3/13/32/20/16	0.002
111	11.3/16/31/15/12	0.002	261	11.3/14.3/33/22/13	0.002	411	12.3/15/35/16/16	0.002
112	11.3/15/33/17/15	0.002	262	11.3/14/32/22/14	0.002	412	11.3/15/34/22/14	0.002
113	12.3/14.3/31/16/14	0.002	263	12.3/16/36/20/13	0.002	413	12.3/13/34/22/15	0.002
114	11.3/14/34/16/14	0.002	264	11.3/14.3/35/15/15	0.002	414	9.3/12/34/15/14	0.002
115	12.3/16/31/16/13	0.002	265	11.3/14.3/34/15/13	0.002	415	11.3/15/34/15/13	0.002
116	11/13/32/17/14	0.002	266	12/14/31/20/12	0.002	416	10/13/33/17/15	0.002
117	11.3/14.3/33/16/16	0.002	267	11.3/13.3/35/16/14	0.002	417	10/13/34/22/14	0.002
118	10/16/34/20/14	0.002	268	10/13.3/35/15/13	0.002	418	11.3/16/35/21/15	0.002



119	11.3/14/32/15/14	0.002	269	11.3/14/28/16/15	0.002	419	11/14/35/16/14	0.002
120	12/15.3/35/20/14	0.002	270	11.3/13.3/33/18/16	0.002	420	11/14/36/15/14	0.002
121	11.3/16/33/15/14	0.002	271	12.3/13.3/32/15/15	0.002	421	11.3/12.3/32/16/14	0.002
122	11/13/34/15/11	0.002	272	10/15/38/21/12	0.002	422	11/12.3/31/16/15	0.002
123	11.3/14/34/15/14	0.002	273	10/13.3/34/16/13	0.002	423	10.3/15.3/33/21/13	0.002
124	10/12.3/34/15/13	0.002	274	12/15/36/17/14	0.002	424	10/13.3/31/22/12	0.002
125	11.3/14/35/20/13	0.002	275	12/14.3/34/16/15	0.002	425	11.3/15/34/15/14	0.002
126	11.3/13.3/33/22/16	0.002	276	10/13/32/16/14	0.002	426	13.3/17/34/22/14	0.002
127	11/13.3/34/17/14	0.002	277	12/13.3/35/17/13	0.002	427	12.3/14/35/22/14	0.002
128	11/14/33/17/13	0.002	278	11.3/14/34/20/12	0.002	428	13.3/15/35/16/16	0.002
129	11.3/12.3/34/21/15	0.002	279	10.3/15/34/20/14	0.002	429	11.3/12/31/16/16	0.002
130	11/13.3/32/17/13	0.002	280	12.3/14/32/16/12	0.002	430	11.3/12/32/16/14	0.002
131	11.3/14/33/21/13	0.002	281	11.3/15/32/16/16	0.002	431	11.3/13/35/17/15	0.002
132	11.3/15/31/15/12	0.002	282	12.3/14/34/15/12	0.002	432	12.3/12/31/16/14	0.002
133	11.3/15/31/21/14	0.002	283	10/14/33/20/14	0.002	433	11/15/31/15/15	0.002
134	11/11/32/16/11	0.002	284	11/14/32/16/13	0.002	434	11/15/36/16/14	0.002
135	10/15/33/16/13	0.002	285	10/14/33/17/16	0.002	435	10.3/13.3/32/20/14	0.002
136	11.3/13.3/35/20/13	0.002	286	12/12.3/32/23/14	0.002	436	11.3/14/32.1/20/15	0.002
137	11/12.3/33/16/12	0.002	287	11/13.3/33/24/14	0.002	437	11.3/14/31/16/14	0.002
138	11/12.3/33/22/14	0.002	288	11/13.3/34/20/13	0.002	438	10/14/34/22/14	0.002
139	10/12/33/20/14	0.002	289	12/14/32/20/13	0.002	439	11.3/11/32/20/14	0.002
140	11.3/14/35/16/13	0.002	290	11.3/13.3/33/16/15	0.002	440	10/13/36/21/16	0.002
141	10.3/14/35/16/13	0.002	291	11.3/12.3/32/21/13	0.002	441	11.3/12.3/34/21/14	0.002
142	10/12/31/16/14	0.002	292	11.3/14.3/33/22/12	0.002	442	12.3/14.3/33/16/13	0.002
143	13.3/13/30/21/15	0.002	293	10.3/14/31/16/12	0.002	443	12/15/31/17/14	0.002
144	10/13.3/34/22/13	0.002	294	11.3/13/34/15/13	0.002	444	9.3/14/32/20/14	0.002
145	12.3/13.3/32/16/14	0.002	295	13/14/33/16/13	0.002	445	11.3/12/34/16/12	0.002
146	12/14/35/17/13	0.002	296	11.3/13.3/33/16/16	0.002	446	11.3/14/33/16/15	0.002
147	10/17/30/15/13	0.002	297	11.3/12.3/32/16/15	0.002	447	12.3/12/35/16/15	0.002
148	10/12.3/31/21/15	0.002	298	11.3/13.3/29/16/15	0.002	448	11/15/31/16/15	0.002
149	11.3/11/31/15/17	0.002	299	11/14/33/15/15	0.002	449	11.3/14/32/16/14	0.002
150	10/13.3/35/16/15	0.002	300	12.3/14/32/15/14	0.002			

单倍型个体识别率 (Haplotype diversity)

0.9994

3.2.2 5个基因座多态性在不同人群中的比较

(1) 广东汉族与广西汉族人群的比较

DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 5个基因座在 363 名广东汉族无关个体 (181 名男性、182 名女性) 中分别发现 13、13、12、9、7

个等位基因，在122名广西汉族无关个体（46名男性、76名女性）中分别发现11、11、9、8、8个等位基因，等位基因频率及其法医学应用参数见表3-6。根据 X^2 检验，在广东广西人群中本体系的5个X-STR基因座的等位基因分布差异没有统计学意义（ $P>0.05$ ）。

表3-6 广东广西汉族人群5个X-STR基因座等位基因频率及法医学应用参数

Table 3-6 Allele frequencies and forensic efficiency statistics of the five X-STR loci in the GuangDong and GuangXi Han population

DXS6803	频率	DXS981	频率	DXS6809	频率	DXS6789	频率	DXS7132	频率		
等位基因	广东	广西	等位基因	广东	广西	等位基因	广东	广西	等位基因	广东	广西
7	0.0018	0.0049	11	0.0092	0.0099	28	0.0037	0.0000	13	0.0018	0.0000
7.3	0.0018	0.0000	11.3	0.0037	0.0000	29	0.0092	0.0146	14	0.0000	0.0000
9	0.0110	0.0198	12	0.0551	0.0346	30	0.0294	0.0247	15	0.1360	0.1908
9.3	0.0129	0.0051	12.3	0.0717	0.0787	31	0.1471	0.1615	16	0.3695	0.3873
10	0.1415	0.1522	13	0.1673	0.1178	32	0.1838	0.1714	17	0.0533	0.0692
10.3	0.0625	0.0639	13.3	0.1728	0.2538	32.1	0.0018	0.0000	18	0.0000	0.0000
11	0.1434	0.1673	14	0.2757	0.2256	33	0.2390	0.2445	19	0.0147	0.0196
11.3	0.4485	0.4157	14.3	0.0790	0.1028	34	0.2187	0.1869	20	0.1985	0.1862
12	0.0607	0.0342	15	0.1048	0.1181	35	0.1085	0.1228	21	0.1526	0.1028
12.3	0.0846	0.1123	15.3	0.0294	0.0293	36	0.0423	0.0688	22	0.0643	0.0441
13	0.0202	0.0099	16	0.0257	0.0196	37	0.0110	0.0049	23	0.0092	0.0000
13.3	0.0073	0.0148	16.3	0.0018	0.0000	38	0.0055	0.0000			
14	0.0037	0.0000	17	0.0037	0.0097						
PD_M	0.7123	0.8043		0.8344	0.8535		0.8259	0.8289		0.8033	0.7665
PD_F	0.9171	0.9010		0.9562	0.9483		0.9445	0.9457		0.9094	0.9076
PE_T	0.7841	0.7888		0.8467	0.8447		0.8323	0.8358		0.7961	0.7864
PE_D	0.5825	0.5966		0.7112	0.7077		0.6848	0.6909		0.6148	0.5955

PD_M : 男性个体识别率; PD_F : 女性个体识别率; PE_T : 三联体(父-母-女)非父排除率; PE_D : 二联体(父-女)非父排除率; $N_{r*}=363$ (181男性、182女性); $N_{r\#}=122$ (46男性、76女性)

(2) 中国汉族人群与德国人和韩国人群的比较

DXS6803、DXS6809、DXS981 基因座的等位基因频率分布在中国汉族人群



与德国人和韩国人群的比较见表 3-7，这 3 个基因座等位基因分布在中国汉族人群与德国人和韩国人群中的分布差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 3-7 DXS6803、DXS981 和 DXS6809 的等位基因在中国汉族与德国人和韩国人分布的比较

Table 3-7 Allele frequencies of the three X-STR loci (DXS6803, DXS6809, DXS981) in Chinese Han, German and Korean population

DXS6803			DXS6809			DXS981		
频率			频率			频率		
等位基因	中国汉族	德国人 ^[33] 韩国人 ^[63]	等位基因	中国汉族	德国人 ^[34] 韩国人 ^[49]	等位基因	中国汉族	德国人 ^[42] 韩国人 ^[27]
Allele	Chinese Han	German Korean	Allele	Chinese Han	German Korean	Allele	Chinese Han	German Korean
7	0.0061	0 0	27	0	0.0193 0	9.3	0	0.0063 0
7.3	0.0026	0 0	28	0.0026	0.0400 0	11	0.0095	0 0.008
8	0	0 0	29	0.0104	0.0171 0.007	11.3	0.0017	0.0063 0.004
9	0.0121	0.0024 0	30	0.026	0.0400 0.020	12	0.0485	0.0250 0.035
9.3	0.0130	0 0	31	0.1499	0.1455 0.180	12.3	0.0815	0.0500 0.073
10	0.1360	0.0356 0	32	0.1776	0.1463 0.156	13	0.1508	0.1938 0.197
10.3	0.0589	0 0	32.1	0.0017	0 0	13.3	0.1872	0.225 0.125
11	0.1352	0.2331 0.1166	33	0.2426	0.2773 0.293	14	0.2721	0.2000 0.278
11.3	0.4558	0 0.1401	34	0.2132	0.1878 0.176	14.3	0.0797	0.1063 0.038
12	0.0607	0.2626 0.1000	35	0.1161	0.0766 0.176	15	0.1057	0.1375 0.172
12.1	0	0 0.0066	36	0.0459	0.0380 0.053	15.3	0.0295	0.0250 0.010
12.3	0.0910	0.1252 0.5600	37	0.0087	0.0082 0.004	16	0.0260	0.0188 0.052
13	0.0156	0.1939 0	38	0.0052	0.0040 0.004	16.3	0.0009	0 0
13.3	0.0095	0.0994 0.0766	39	0	0 0	17	0.0069	0.0063 0.008
14	0.0035	0.0294 0.0034	40	0	0 0.002			
14.3	0	0.0184 0						
染色体数	1154	815 534	染色体数	1154	1031 450	染色体数	1154	160 582
X ² 值		956.45 636.84	X ² 值		84.12 21.01	X ² 值		22.14 54.98
P值		<0.0001 <0.0001	P值		<0.005 <0.05	P值		<0.05 <0.005

(3) DXS6789 基因座在中国汉族人群与其他 7 个群体的比较

DXS6789 等位基因频率分布在中国汉族人群与其他 7 个群体的比较见表 3-8，经 X² 检验中国汉族人群 DXS6789 等位基因分布与宁夏回族、西藏藏族、

韩国人、德国人、西班牙人、葡萄牙人和日本人等7个群体的分布差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 3-8 DXS6789 基因座在中国汉族人群与其他 7 个群体的比较

Table 3-8 Allele frequencies in Chinese compare with that in other population at DXS6789

等位基因	中国汉族	宁夏回族 ^[64]	西藏藏族 ^[65]	韩国人 ^[27]	德国人 ^[42]	西班牙人 ^[66]	葡萄牙人 ^[67]	日本人 ^[68]
Allele	chinese Han	Chinese Hui	Chinese Tibetan	Korean	German	Spanish	Portugal	Japanese
11						0.001		
13	0.0009			0.0040	0.0000	0.001		
14	0.0017		0.0071	0.0010	0.0063	0.010		0.006
15	0.1603	0.0064	0.0213	0.1510	0.0563	0.041	0.0519	0.134
16	0.3648	0.2309	0.0568	0.2820	0.0375	0.013	0.0231	0.327
17	0.0537	0.2368	0.2128	0.0410	0.0000	0.003		0.047
18	0.0009	0.0321	0.1062	0.0000	0.0000	0.004		
19	0.0121	0.0000	0.0141	0.0380	0.0438	0.036	0.0202	0.021
20	0.1993	0.0512	0.1135	0.1850	0.4000	0.382	0.4352	0.13
21	0.1326	0.2055	0.2484	0.2000	0.2875	0.263	0.2305	0.234
22	0.0641	0.1795	0.1487	0.0750	0.0875	0.156	0.1354	0.068
23	0.0078	0.0641	0.0638	0.0160	0.0563	0.066	0.0536	0.025
24	0.0017			0.0050	0.0250	0.024	0.0144	0.008
25				0.0010			0.0029	
26							0.0029	
染色体数	1154	158	144	582	160	912	347	471
X ² 值		198.45	273.33	42.27	165.21	653.52	295.30	49.57
P值		<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.0001	<0.0001	<0.005

(4) DXS7132 基因座在中国汉族人群与其他 8 个群体的比较

DXS7132 等位基因分布在中国汉族人群与其他 8 个群体的比较见表 3-9, 经 X² 检验在中国汉族人群与西藏藏族和韩国人群 DXS7132 等位基因分布差异没有统计学意义 ($P > 0.05$); DXS7132 在中国汉族人群与中国回族、西班牙人、葡萄牙人、匈牙利人、日本人和美国人等 6 个群体等位基因分布差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 3-9 DXS7132 基因座在中国汉族人群与其他 8 个群体的比较

Table 3-9 Allele frequencies in Chinese compare with that in other population at DXS7132 locus

等位基因	中国汉族	中国回族 ^[64]	西藏藏族 ^[65]	韩国人	西班牙人 ^[66]	葡萄牙人 ^[67]	匈牙利人 ^[69]	日本人 ^[68]	美国人 ^[70]
Allele	Chinese Han	Chinese Hui	Tibetan	Korean	Spanish	Portugal	Hungarian	Japanese	American
6							0.002		
8									0.0027
9					0.001				
10				0.001					0.0028
11	0.0069	0.0256	0.0069	0.008	0.018	0.0202	0.002		0.0187
12	0.0979	0.1537	0.0977	0.114	0.114	0.1009	0.122		0.0769
13	0.1750	0.1731	0.2232	0.236	0.289	0.2911	0.262	0.199	0.2228
14	0.3492	0.2936	0.2661	0.328	0.326	0.3545	0.359	0.326	0.3530
15	0.2686	0.2888	0.3222	0.225	0.190	0.2017	0.193	0.300	0.2179
16	0.0841	0.0639	0.0769	0.070	0.005	0.0288	0.051	0.101	0.0849
17	0.0173	0.0000	0.0069	0.015	0.006	0.0029	0.007	0.011	0.0212
18	0.0009			0.001				0.002	
19					0.001		0.002		
染色体数	1154	158	144	582	912	347	549	573	377
X ² 值		14.20	6.54	13.78	122.17	42.94	39.77	65.71	18.66
P 值		<0.05	>0.05	>0.05	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.05

3.2.3 5 个 X-STR 基因座突变和重组情况

调查294个三联体（父-母-女）家系和271例二联体（母-子）家系，共发现8例突变，其中DXS6803、DXS6809各2例，DXS6789 1例，DXS7132 3例。多数突变来自父亲的等位基因，均为增加或减少1个重复单位的单步突变，各基因座分型及突变情况见表3-10。252例多个孩子的家系中发现53例重组，分型结果见表3-11。

表3-10 5个X-STR基因座突变情况

Table 3-10 Mutation information of five X-STR loci

基因座	基因型			传递方式	年龄	突变率 (%)
	父亲	母亲	小孩			
DXS6803	12	10.3-11.3	11.3-13	父-女	父(60)	0.23%
DXS6803	13.3	11.3-12.3	11.3-12.3	父-女	父(29)	
DXS981						0%
DXS6809	32	33-33	32-34	母-女	母(33)	0.23%
DXS6809		32-33	34	母-子	母(23)	
DXS6789	15	16-20	14-20	父-女	父(36)	0.12%
DXS7132	15	13-15	13-14	父-女	父(26)	0.35%
DXS7132	14	12-12	12-13	父-女	父(31)	
DXS7132	16	14-15	14-17	父-女	父(39)	

注：黑体表示突变等位基因；565个家系（294例父-母-女；271例母-子）

表3-11 53例重组的分型结果

Table3-11 Typing results of recombined loci for the fifty-three families

编号 No.	家系号 Family	基因座 (locus)					
		DXS6803	DXS981	DXS6809	DXS6789	DXS7132	
1	F2	F	11.3	15	31	22	13
		M	11.3-11.3	13-14	34-35	16-21	14-15
		C1(f)	11.3-11.3	14-15	31-34	16-22	13-15
		C2(f)	11.3-11.3	<u>13-15</u>	31-34	16-22	13-15
2	F4	F	11.3	13	32	15	13
		M	11.3-11.3	12.3-14	35-36	16-20	13-14
		C1(f)	11.3-11.3	12.3-13	32-36	15-20	13-13
		C2(f)	11.3-11.3	13- <u>14</u>	32-36	15-20	13- <u>14</u>
3	F6	F	10	12	33	15	14
		M	12-12	15-16	34-36	17-20	12-14
		C1(f)	10-12	12-15	33-34	15-20	14-14
		C2(f)	10-12	12-16	33- <u>34</u>	15-17	12-14
		C3(m)	12	15	<u>36</u>	<u>17</u>	14
4	F11	F	7.3	13	34	20	15
		M	10-10.3	13-15	34-35	20-21	14-14
		C1(m)	10.3	15	34	20	14



		C2(f)	7.3-10.3	13- <u>13</u>	34-34	20-20	14-15
		C3(f)	7.3-10	13-13	34-35	20-21	14-15
5	F17	F	10	14	29	22	17
		M	11-11.3	13-14	33-33	15-20	14-14
		C1(m)	11	14	33	15	14
		C2(f)	10- <u>11.3</u>	14-14	29-33	15-22	14-17
6	F19	F	12	14.3	33	17	13
		M	11-12	13.3-14	32-33	15-24	13-14
		C1(f)	12-12	14-14.3	33-33	17-24	13-13
		C2(m)	11	13.3	<u>33</u>	<u>24</u>	14
7	F20	F	10	15	37	20	14
		M	11.3-12.3	13.3-14	33-34	20-21	14-16
		C1(m)	11.3	14	33	21	14
		C2(f)	10-11.3	<u>13.3-15</u>	33-37	<u>20-20</u>	14-14
8	F26	F	7	16	34	20	12
		M	12-13	14-14.3	31-34	16-20	15-16
		C1(f)	7-12	14-16	34-34	16-20	12-15
		C2(f)	7- <u>12</u>	14.3-16	31-34	20-20	<u>12-15</u>
9	F33	F	11.3	14	38	15	14
		M	11-11.3	12.3-15.3	31-32	15-16	15-15
		C1(f)	11-11.3	14-15.3	32-38	15-16	14-15
		C2(m)	<u>11.3</u>	<u>12.3</u>	32	16	15
10	F43	F	10	15	38	21	12
		M	11.3-12.3	13.3-15	34-36	16-16	12-13
		C1(m)	11.3	15	36	16	13
		C2(m)	12.3	13.3	<u>36</u>	16	12
11	F47	F	11	13	34	16	12
		M	10.3-11.3	12.3-14	30-33	16-16	14-15
		C1(f)	11-11.3	12.3-13	30-34	16-16	12-14
		C2(f)	11-11.3	12.3-13	<u>33-34</u>	16-16	12-14
12	F48	F	11	14	31	16	14
		M	10-11.3	14-15	31-36	15-15	12-14
		C1(f)	10-11	14-14	31-36	15-16	12-14
		C2(f)	10-11	14-14	<u>31-31</u>	15-16	12-14
13	F50	F	10.3	14	31	20	15
		M	12.3-12.3	13.3-13.3	34-35	20-21	14-15
		C1(f)	10.3-12.3	13.3-14	31-35	20-20	14-15
		C2(f)	10.3-12.3	<u>13.3-14</u>	31-34	20-21	15-15
14	F58	F	11.3	15.3	32	21	13
		M	10-11.3	12-13	32-35	20-20	12-14
		C1(m)	11.3	12	32	20	12
		C2(m)	11.3	12	<u>35</u>	20	12

15	F63	F	11	13	35	20	13		
		M	11.3-11.3	11-13	33-34	15-15	12-13		
		C1(m)	11.3	11	33	15	12		
		C2(m)	11.3	<u>11</u>	34	15	13		
16	F65	F	10.3	13	36	14	14		
		M	11.3-11.3	12.3-16	33-36	20-20	13-15		
		C1(f)	10.3-11.3	13-16	36-36	14-20	13-14		
		C2(f)	10.3-11.3	13-16	<u>33-36</u>	14-20	13-14		
17	F67	F	11	12	35	15	14		
		M	11.3-11.3	13.3-15	32-33	15-21	15-15		
		C1(m)	11.3	15	32	21	15		
		C2(m)	11.3	15	32	21	15		
		C3(m)	11.3	<u>13.3</u>	32	21	15		
		C4(m)	11.3	<u>13.3</u>	32	21	15		
18	F68	F	11	14	31	21	14		
		M	11.3-11.3	13-15	32-33	14-15	12-14		
		C1(f)	11-11.3	13-14	31-32	15-21	14-14		
		C2(m)	11.3	<u>15</u>	32	15	<u>12</u>		
		19	F70	F	11	14.3	35	20	15
				M	9-11.3	13.3-15.3	34-36	16-21	14-15
C1(f)	11-11.3			13.3-14.3	34-35	20-21	15-15		
C2(f)	9-11			<u>13.3-14.3</u>	35-36	16-20	<u>15-15</u>		
20	F73	C3(f)	11-11.3	13.3-14.3	34-35	20-21	15-15		
		F	11.3	13.3	36	22	14		
		M	11.3-11.3	14-15	32-34	21-22	14-14		
		C1(f)	11.3-11.3	13.3-14	34-36	22-22	14-14		
21	F75	C2(f)	11.3-11.3	<u>13.3-14</u>	32-36	21-22	14-14		
		F	11.3	13	32	16	16		
		M	11.3-11.3	15.3-16	33-34	15-20	15-15		
		C1(f)	11.3-11.3	13-16	32-33	16-20	15-16		
		C2(f)	11.3-11.3	13-16	32-33	16-20	15-16		
		C3(m)	11.3	<u>16</u>	34	15	15		
22	F97	C4(m)	11.3	<u>16</u>	34	15	15		
		F	11.3	13.3	34	20	12		
		M	9-10	13.3-15	34-36	15-16	14-14		
		C1(f)	9-11.3	13.3-13.3	34-34	15-20	12-14		
		C2(m)	9	13.3	34	15	14		
23	F101	C3(m)	9	13.3	<u>36</u>	<u>16</u>	14		
		F	11.3	13	33	21	14		
		M	11-14	14.3-15	34-35	16-16	14-15		



		C1(m)	14	14.3	34	16	14
		C2(f)	<u>11</u> -11.3	13-14.3	<u>33-35</u>	16-21	14-14
		C3(m)	<u>11</u>	14.3	<u>35</u>	16	14
24	F103	F	11.3	13	35	16	13
		M	12-12	13.3-14	30-34	16-21	14-14
		C1(f)	11.3-12	13-13.3	34-35	16	13-14
		C2(f)	11.3-12	13- <u>14</u>	34-35	16	13-14
25	F112	F	10	13	33	16	12
		M	9-11.3	13.3-14	32-34	16-20	15-17
		C1(f)	9-10	13-14	32-33	16-16	12-15
		C2(f)	<u>9</u> -10	13-13.3	33-34	16-20	12-17
26	F143	F	11.3	14	34	15	14
		M	11-11.3	12.3-13.3	33-35	16-22	14-14
		C1(m)	11.3	13.3	35	22	14
		C2(m)	<u>11</u>	<u>12.3</u>	35	22	14
27	F149	F	11.3	13.3	33	22	16
		M	10-11	14-14.3	32-33	16-17	14-14
		C1(f)	10-11.3	13.3-14.3	32-33	16-22	14-16
		C2(f)	10-11.3	13.3- <u>14</u>	32-33	16-22	14-16
28	F156	F	11.3	12.3	34	21	15
		M	11-11.3	13-15	31-34	15-16	13-15
		C1(f)	11.3-11.3	12.3-15	31-34	16-21	13-14*
		C2(m)	<u>11.3</u>	13	34	15	15
29	F160	F	11.3	15	31	15	12
		M	10.3-10.3	13.3-14	31-32	15-16	13-16
		C1(f)	10.3-11.3	14-15	31-32	15-16	12-13
		C2(m)	10.3	14	<u>31</u>	<u>15</u>	13
30	F167	F	11	12.3	33	22	14
		M	11-11.3	13-14	31-35	15-17	15-16
		C1(f)	11-11.3	12.3-14	33-35	15-22	14-15
		C2(m)	11.3	14	<u>31</u>	<u>17</u>	15
31	F181	F	12	14	35	17	13
		M	7-10	13.3-14	33-34	16-16	13-15
		C1(f)	7-12	13.3-14	33-35	16-17	13-13
		C2(m)	7	13.3	<u>34</u>	16	13
32	F183	F	10	12.3	31	21	15
		M	7-12	12.3-13	31-35	15-21	14-14
		C1(f)	7-10	12.3-12.3	31-31	15-21	14-15
		C2(f)	7-10	12.3- <u>13</u>	31-31	15-21	14-15
33	F185	F	10	13.3	35	16	15
		M	11-12.3	13-13.3	31-31	20-21	13-13
		C1(f)	10-11	13.3-13.3	31-35	16-20	13-15

		C2(f)	10-12.3	13-13.3	31-35	16- <u>20</u>	13-15
34	F186	F	13.3	12.3	35	17	14
		M	11.3-12.3	12.3-13.3	30-34	16-20	15-15
		C1(m)	11.3	13.3	30	20	15
		C2(f)	<u>11.3</u> -13.3	12.3-12.3	34-35	16-17	14-15
35	F190	F	11.3	14	35	20	14
		M	11.3-11.3	13-14.3	32-34	15-16	12-15
		C1(f)	11.3-11.3	14-14.3	34-35	16-20	14-15
		C2(f)	11.3-11.3	<u>13</u> -14	34-35	16-20	<u>12</u> -14
36	F191	F	10	14.3	33	16	13
		M	10.3-11.3	13-13.3	31-33	15-21	14-16
		C1(f)	10-11.3	13-14.3	33-33	15-16	13-14
		C2(m)	<u>11.3</u>	13.3	31	21	16
37	F193	F	11.3	14	35	20	12
		M	11.3-12.3	13-13	31-33	16-16	13-14
		C1(m)	11.3	13	31	16	13
		C2(f)	11.3- <u>12.3</u>	13-14	<u>31-34</u> *	16-20	12-13
38	F194	F	11.3	14	33	21	15
		M	11.3-11.3	12-14	33-34	15-16	14-15
		C1(m)	11.3	12	34	16	14
		C2(f)	11.3-11.3	12-14	<u>33-33</u>	<u>15</u> -21	14-15
39	F196	F	11.3	14	30	15	15
		M	11-11	12-14	31-32	16-20	14-15
		C1(f)	11-11.3	12-14	30-32	15-20	15-15
		C2(m)	11	<u>12</u>	31	16	14
40	F200	F	11.3	14	33	15	14
		M	10-10	13-15.3	32-32	16-21	14-14
		C1(m)	10	15.3	32	16	14
		C2(m)	10	<u>13</u>	32	16	14
41	F206	F	10	14	34	16	14
		M	10-11.3	13-15	32-36	16-16	14-15
		C1(f)	10-10	14-15	34-36	16-16	14-15
		C2(m)	11.3	13	32	16	<u>15</u>
42	F209	F	9.3	15	32	20	15
		M	9.3-10.3	13-15	32-33	15-20	16-17
		C1(m)	9.3	15	33	15	17
		C2(m)	<u>9.3</u>	13	32	20	16
43	F211	F	10.3	15	35	21	13
		M	11.3-12.3	13-15	34-34	15-22	14-15
		C1(m)	11.3	15	34	22	14
		C2(m)	12.3	13	34	<u>22</u>	15
44	F212	F	11.3	13	36	15	14



		M	9.3-11.3	12-15	32-34	15-20	13-14
		C1(m)	9.3	12	34	15	14
		C2(m)	11.3	15	<u>34</u>	<u>15</u>	13
45	F215	F	10	14.3	30	16	14
		M	10.3-11.3	13-16	35-35	20-21	13-15
		C1(m)	11.3	16	35	21	15
		C2(f)	10-11.3	14.3-16	30-35	16- <u>20</u>	14-15
46	F219	F	11.3	12.3	34	22	12
		M	11-11.3	14-14.3	33-35	15-16	14-15
		C1(m)	11.3	14	33	15	14
		C2(m)	11	<u>14</u>	35	16	<u>14</u>
47	F226	F	11.3	15	34	16	15
		M	11.3-11.3	14-15	30-31	15-20	14-15
		C1(f)	11.3-11.3	15-15	31-34	16-20	14-15
		C2(f)	11.3-11.3	<u>14-15</u>	31-34	16-20	14-15
48	F228	F	12.3	13	33	21	14
		M	10-11.3	13.3-14	31-37	15-22	12-14
		C1(f)	11.3-12.3	13-13.3	33-37	15-21	14-14
		C2(f)	10-12.3	13-14	31-33	21-22	<u>14-14</u>
49	F231	F	11.3	14.3	33	22	13
		M	11.3-11.3	12-13.3	31-33	15-16	15-16
		C1(f)	11.3-11.3	12-14.3	31-33	16-22	13-16
		C2(m)	11.3	12	31	16	16
		C3(m)	11.3	<u>13.3</u>	31	16	<u>15</u>
50	F242	F	10	14	32	16	13
		M	11.3-11.3	12.3-15	32-38	16-21	12-14
		C1(f)	10-11.3	12.3-14	32-38	16-16	12-13
		C2(f)	10-11.3	<u>14-15</u>	32-38	16-16	<u>13-14</u>
51	F243	F	11	14	34	21	15
		M	10-11.3	13-13	35-36	20-21	15-16
		C1(f)	11-11.3	13-14	34-35	20-21	15-15
		C2(f)	11-11.3	13-14	34-35	20-21	<u>15-16</u>
		C3(m)	10	13	36	<u>21</u>	16
52	F247	F	11.3	14	33	16	16
		M	10.3-12.3	12.3-13	32-36	20-20	12-13
		C1(m)	12.3	12.3	32	20	12
		C2(f)	11.3-12.3	12.3-14	<u>33-36</u>	16-20	12-16
53	F249	F	11.3	14	32	21	13
		M	10.3-11.3	15-16	33-35	20-20	13-15
		C1(f)	11.3-11.3	14-15	<u>32-35</u>	20-21	13-13
		C2(f)	11.3-11.3	14-15	32-33	20-21	13-13
		C3(f)	10.3-11.3	14-16	32-35	20-21	13-15

C4(f)	11.3-11.3	14-15	32-33	20-21	13-13
C5(f)	11.3-11.3	14-15	32-33	20-21	13-13
C6(m)	11.3	15	33	20	13
C7(f)	10.3-11.3	14-16	32-35	20-21	13-15

注：下划线的等位基因为重组基因；*：为突变等位基因

3.3 讨论

3.3.1 5个X-STR基因座的多态性分析

本实验共检测 827 例无关个体(男 500 例、女 327 例), 5 个基因座(DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132) 多态性息含量 (PIC) 为 0.7004~0.8123, 男性个体识别率 (PD_M) 为 0.7270~0.8405, 女性个体识别率 (PD_F) 为 0.9009~0.9554, 三联体非父排除率 (PE_T) 为 0.7153~0.8218, 二联体非父排除率 (PE_D) 为 0.5795~0.7125。

DXS6803 基因座检出 13 个等位基因 (7~14), 包括不完全重复等位基因, 等位基因 11.3 频率最高为 0.4558。等位基因片段大小为 97~125 bp, 其 PIC、 PD_M 、 PD_F 、 PE_T 和 PE_D 分别为 0.7163、0.7270、0.9125、0.7153、0.5795, 是个多态性较高的基因座。

DXS981 基因座检出 13 个等位基因 (11~17), 包括不完全重复等位基因, 等位基因 14 频率最高为 0.2721。等位基因片段大小为 178~202bp。在中国汉族人群中 PIC、 PD_M 、 PD_F 、 PE_T 和 PE_D 分别为 0.8123、0.8405、0.9554、0.8218 和 0.7125。是一个高个体识别率和高非父排除率的基因座, 在本体系中 DXS981 基因座多态性最好。

DXS6809 检出 12 个等位基因 (28~38), 等位基因 33 频率最高为 0.2426。片段大小为 239~279bp。其多态性仅次于 DXS981, PIC、 PD_M 、 PD_F 、 PE_T 和 PE_D 分别为 0.7992、0.8248、0.9460、0.8018 和 0.6850。

DXS6789 检出 12 个等位基因, 分别为 13~24, 频率分布为 0.0009~0.3648, 等位基因 16 频率最高为 0.3648。等位基因片段大小为 150~194bp, PIC、 PD_M 、 PD_F 、 PE_T 和 PE_D 分别为 0.7473、0.7901、0.9134、0.7471、0.6167。是个多态性较高的基因座。

DXS7132 发现 8 个等位基因 (11~18), 频率分布为 0.0009~0.3492。等位基



因片段大小为 276~304 bp。虽是本体系中多态性最低的基因座。但其 PIC 仍大于 0.7000，仍是个多态性较高的基因座。其 PD_M 、 PD_F 、 PE_T 和 PE_D 分别为 0.7644、0.9009、0.7210、0.5854。

女性样本，DXS6803 和 DXS981 两个基因座的 Hardy-Weinberg 平衡检验 p 值均小于 0.05。出现这种情况，可能是由于高频等位基因主要出现在少数等位基因，罕见等位基因较多的缘故。

遗传的连锁平衡，既受连锁遗传的影响，也受群体数据的影响。在连锁平衡分析中，5 个 X-STR 连锁平衡分析的 p 值，虽然男性和女性有所差异，但基本上符合染色体的作图位置。在两两配对中，虽然有的基因座之间的 p 值大于 0.05 的显著性水平，但随着组合的基因座数量增加，其 p 值在逐渐减小，反映出连锁遗传对连锁不平衡影响较大，与 5 个 X-STR 位于同一连锁群之内连锁遗传有密切的关系。

Hardy-Weinberg 平衡检验和连锁平衡检验表明，在实际案件中，以单倍型数据来计算 X-STR 分型的法医学效率评价参数，才是比较合适的。

3.3.2 5 个 X-STR 基因座等位基因频率分布在不同人群中的差异

本研究发现该 5 个 X-STR 基因座(DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789、DXS7132) 在中国广东、广西人群中等位基因分布没有差异，但与其他群体等位基因分布大都有差异。这可能是广东、广西为毗邻地带，有共同的群落分布。其它学者的研究也表明不同人群之间有的基因座的等位基因频率存在差异^[42]。这与常染色体遗传标记相似，不同基因座的等位基因频率，在不同的人群之间差异并不相同，这可提示群落的分布可以从遗传标记中反映出来^[36]。

3.3.3 突变和重组分析

本研究调查 294 个三联体家系和 271 例二联体家系，共发现 8 例突变，突变率在 0.0012~0.0036 之间，与 Szibor^[45] 和 Shin 等^[27] 报道的资料基本相似，比常染色体 STR 的平均突变率稍高^[45]，但远低于 Son 等^[63] 的报道。

在 252 例多个孩子的家系中有 53 例发生重组，DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 基因座重组率分别为 0.043、0.091、0.063、

0.048 和 0.040。说明这些基因座是连锁遗传的。

3.4 小结

本体系的5个X-STR基因座(DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789、DXS7132)等位基因较多,具有高信息量及低突变率,单倍型具有很高的多态性,单倍型个体识别率达到0.9994。5个X-STR基因座等位基因分布在不同人群中不同,表明这些基因座存在群体差异,因此建立当地人群资料为法医学应用提供基础资料显得更为重要。

第 4 章 X 染色体 STR 在法医学中的应用

常染色体 STR 和 Y-STR 已广泛应用于法医学和群体遗传研究^[2,5,71,72]。由于 X-STR 的遗传特性，X-STR 能作为常染色体 STR 和 Y-STR 的有效补充，特别是在孩子为女性时^[45]。在双亲缺失案例如姐妹认亲、同父异母的半姐妹认亲、隔代认亲等特殊检案；争议父有血缘关系的亲权鉴定（如 2 个争议父是父子关系），检测 X-STR 的意义更为显著。本章的目的是探讨 X-STR 在特殊检案中的应用。

4.1 案例介绍

4.1.1 案例 1（姐妹认亲案）

姐妹俩人（陈一和陈二）想找回失散多年的姐姐，于是经过多方努力打听到 1 位跟当年失散时情况相似的人（陈三）。为了验证陈三是否是姐妹俩的亲姐姐，要求作亲权鉴定。

4.1.2 案例 2（姐姐认弟尸案）

07 年 3 月在某市发生一起交通事故，死者为一男子。有一女子自称是死者的姐姐来认尸，但姓氏与死者不相同，又没有其他亲属证明，于是交警提取死者血纱 1 份，可疑姐姐血液 1 份，要求鉴定是否有同胞关系。

4.1.3 案例 3（申请办理收养手续）

1 对夫妇带着 1 个男孩，要求证实小孩不是他们的亲生儿子，申请办理收养手续。

4.2 检测遗传标记

3 个案例均用 Powerplex™ 16 system (Promega, USA) 和本研究 5 个 X-STR 基因座复合扩增体系检测；此外案例 2 还加测了 FFFL Kit (Promega, USA)，

以及 STRType-10 试剂盒 (科登, 中国) 和线粒体 HVI 区测序; 案例 3 加测了 FFFL Kit (Promega, USA)。

4.3 结果与讨论

4.3.1 案例 1

常染色体 STR 分型结果见表 4-1, X-STR 分型结果见表 4-2, 分型图见图 4-1。从表 4-2 可知姐妹俩 (陈一与陈二) DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 5 个基因座中每个基因座至少有 1 个相同等位基因。可疑姐姐 (陈三) 与陈一之间 5 个基因座中没有 1 个基因座有相同等位基因, 与陈二之间有 3 个基因座无相同等位基因, 以此否定陈三与陈一和陈二存在姐妹关系。

Powerplex™ 16 system 检测结果也证实了这一结论。

表 4-1 案例 1 常染色体 STR 分型结果

Table 4-1 Result of the case 1 at the fifteen AS-STRs

	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818	D13S317
陈一	18	7,9	29,30	13,15	11,12	10,11	9,10
陈二	18	7	30,31	15,19	11,12	10,11	9,11
陈三	15	7,9	28,32.2	14	14,16	9,11	11,13

续上表

	D7S820	D16S539	CSF1PO	Penta D	vWA	D8S1179	TPOX	FGA
陈一	12	10,12	12,13	9,14	14,17	12	8,11	18,19
陈二	12	10,11	10,12	14,15	14,17	12,15	8	19,21.2
陈三	11,13	10,13	9,10	10	14,19	13	8,11	19,23

表 4-2 案例 1 5 个 X-STR 基因座分型结果

Table 4-2 Result of the case 1 at the five X-STR loci

	DXS6803	DXS981	DXS6809	DXS6789	DXS7132
陈一	11.3,12.3	14.3,15.3	32,34	16,20	15,16
陈二	11.3,12.3	13.3,14.3	32,33	16	14,16
陈三	10,10.3	12.3,13.3	31,33	15,21	13

该案例, 检测 X-STR 的目的是作为姐妹 (陈一和陈二) 是否是同胞的辅助



工具，因为姐妹 2 人自称是同父同母所生，确定了这点检测常染色体 STR 才可以提供排除同胞的信息。但如果不能确定姐妹 2 人是否同胞时，或与单个人的姐妹认亲时，常染色体 STR 就难以解决，此时 X-STR 将发挥其独特的优势。由于 X 染色体独特的遗传方式：男性的 X 染色体只能从其母亲中得到，以单倍型形式存在，只能遗传给女儿，因此同父所生的姐妹在 X-STR 基因座上有一个相同的等位基因。

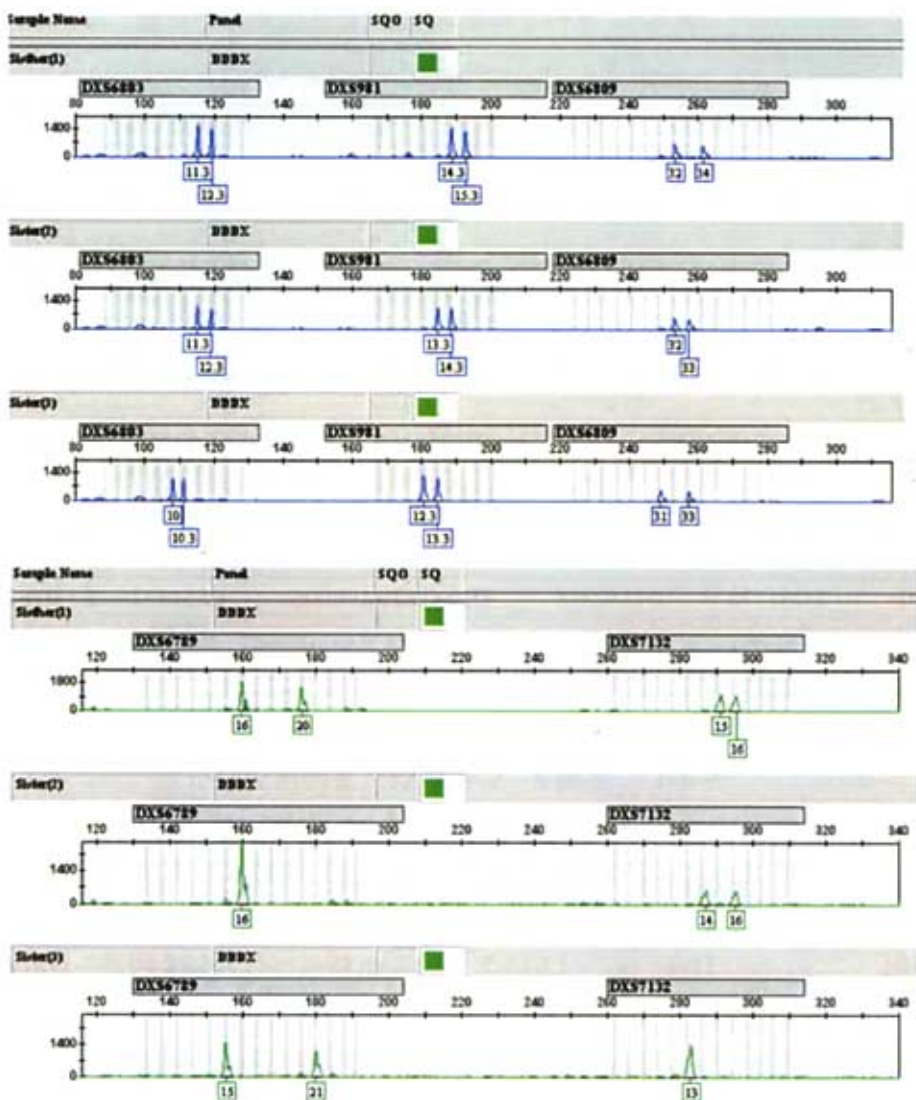


图 4-1 案例 1 5 个 X-STR 荧光复合扩增图

Fig. 4-1 The electrophoretogram of pentaplex ChrX-STR system case 1

4.3.2 案例2

案例2常染色体STR分型结果见表4-3, X-STR分型结果见表4-4, 分型图见图4-2。线粒体HVI区测序结果如下:

死者: 16223T, 16235G, 16269G, 16271C

姐姐: 16223T, 16235G, 16269G, 16271C

表4-3 案例2常染色体STR基因座分型结果

Table 4-3 Result of the case 2 at AS-STR loci

	D3S1358	D5S818	D7S820	D8S1179	D13S317	D16S539	D18S51	D21S11
死者	15, 16	11, 12	11, 12	10, 15	8, 12	11, 12	13, 14	31, 31
姐姐	15, 16	11, 12	11, 12	10, 15	8, 8	12, 12	13, 17	31, 31

续上表

	CSF1PO	FGA	TH01	TPOX	vWA	Penta_E	Penta_D	F13A01
死者	10, 10	23, 23	7, 10	8, 12	15, 16	13, 15	9, 11	6, 6
姐姐	10, 10	23, 23	7, 10	8, 12	15, 19	13, 15	9, 11	6, 6

续上表

	F13B	FESFPS	LPL	D18S1364	D12S391	D13S325	D6S1043
死者	9, 10	11, 13	10, 12	13, 14	19, 19	20, 21	19, 19
姐姐	9, 10	11, 13	10, 12	13, 14	19, 21	20, 21	13, 19

续上表

	D2S1772	D11S2368	D22-GATA198B05	D8S1132	D7S3048
死者	20, 21	18, 21	19, 22	19, 22	19, 22
姐姐	20, 21	18, 21	21, 22	19, 22	20, 22

表4-4 案例2 5个X-STR基因座分型结果

Table 4-4 Result of the case 2 at the five X-STR loci

	DXS6803	DXS981	DXS6809	DXS6789	DXS7132
死者	11.3	13	31	16	15
姐姐	11.3	13,13.3	31,35	16,22	13,15

本例28个常染色体STR的分型结果和mtDNA测序结果均支持死者和有争议的姐姐符合全同胞关系。用Familias软件(<http://www.nr.no/familias>), 计算28个常染色体STR的似然比(Likelihood ratio, LR)值达 2.4416×10^{19} 。

从表4-4可知男死者的5个X-STR基因座单倍型是11.3/13/31/16/15, 能从

姐姐的分型结果中找到，提示了他们的母亲具有此单倍型。由于在本实验检测的500个无关个体中尚未发现单倍型11.3/13/31/16/15，因此其频率 <0.002 。因 $LR=0.5/f$ (f 为单倍型频率)，故其 $LR>250$ ，进一步支持了常染色体STR和mtDNA分型的结论。可见这5个X-STR在父母缺失的亲权鉴定中应用价值较大。当然，由于姐弟之间只有一半的机会出现相同的单倍型，当姐弟之间没有相同的单倍型时，也不能排除姐弟关系。

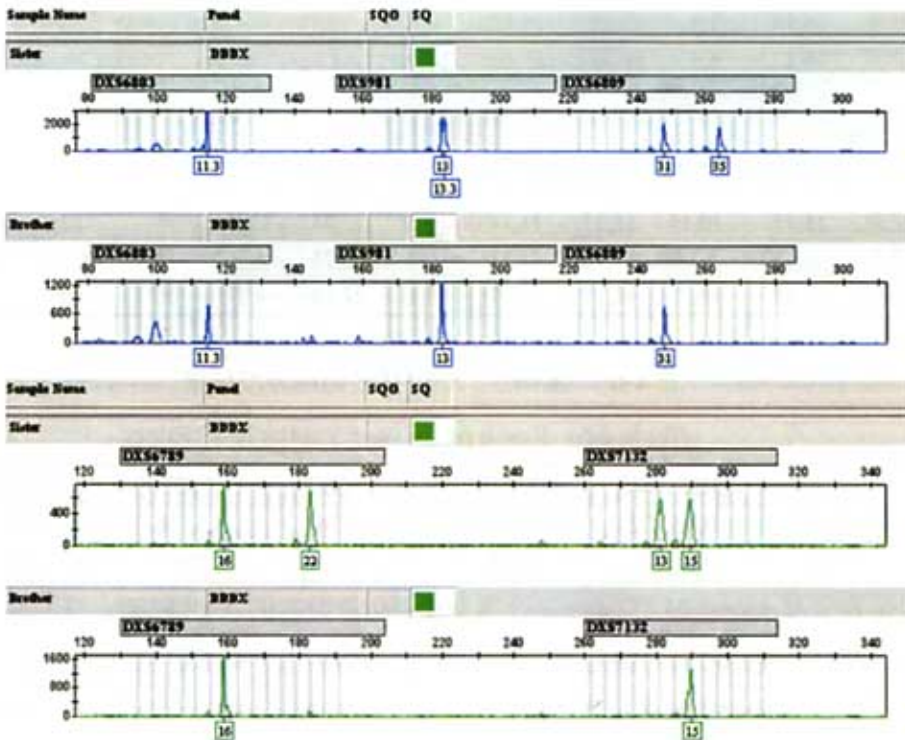


图 4-2 案例 2 5 个 X-STR 荧光复合扩增图

Fig. 4-2 The electrophoretogram of pentaplex ChrX-STR system of case 2

4.3.3 案例 3

案例 3 常染色体 STR 分型结果见表 4-5，X-STR 分型结果见表 4-6，分型图见图 4-3。从表 4-5 可知经 Powerplex™ 16 system 和 FFFL 两种试剂盒检测结果父亲与小孩之间有 6 个基因座违反孟德尔遗传规律，而母亲与小孩之间在 19 个常染色体 STR 基因座中仅有 1 个基因座 (PentaD) 违反孟德尔遗传规律。但从

表 4-6 可发现本研究体系中母亲与小孩有 DXS6803、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 4 个 X-STR 基因座违反孟德尔遗传规律。由此也进一步证实了本体系的 5 个基因座具有高多态性和高排除率。

表 4-5 Powerplex™ 16 system 和 FFFL 体系分型结果

Table 4-5 Results of the case 1 by using Powerplex™ 16 system and FFFL system

	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	Penta E	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539
父亲	16,17	7,9	31,32.2	13,16	5,15	10,11	8,9	10,12	9,11
母亲	16,17	7,9	29,32	15,17	17	10,11	8	11,12	9,12
小孩	16,17	6,9	29,30	15,16	17,20	11,12	8	11,12	9,11

续上表

	CSF1PO	Penta D	vWA	D8S1179	TPOX	FGA	F13A01	F13B	FES/FPS	LPL
父亲	11,12	10,15	16,17	11,14	8,9	23,24	3,2,6	9	12	12
母亲	8,12	8,14	17,18	11,14	11	22,25	4,5	10	10,12	10,12
小孩	10,12	10,11	14,17	11,13	8,11	22,23	4,8	10	10	10

表 4-6 案例 3 X-STR 基因座分型结果

Table 4-6 Result of the case 3 at the X-STR loci

	DXS6803	DXS981	DXS6809	DXS6789	DXS7132
母亲	10.3, 12	13.3, 14.3	33, 34	15, 16	14
小孩	11.3	14.3	35	20	15

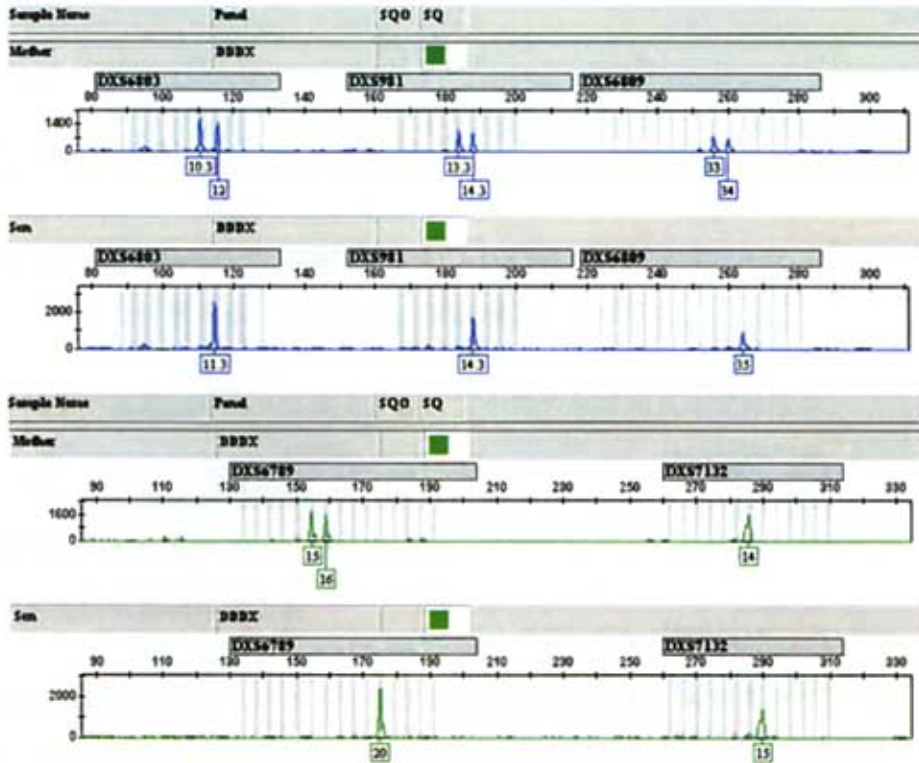


图 4-3 案例 3 5 个 X-STR 荧光复合扩增图

Fig. 4-3 The electropherogram of pentaplex ChrX-STR system in case 3

除了以上案例之外,用本体系检测 200 例 Powerplex™ 16 system 认定有亲生关系的姐妹血样,每 1 例 5 个 X-STR(DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132) 基因座中的每个基因座在姐妹间至少有 1 个相同等位基因。检测 20 例 Powerplex™ 16 system 否定父亲的三联体(父-母-女),每例均有 2 个以上基因座违反孟德尔遗传规律。

以上案例充分显示了 X-STR 在法医学中的应用价值。由于 X-STR 的遗传特性,在解决某些特殊检案时将发挥其独特的优势。



结语

本文研究获得以下结论：

1. 首次建立 DXS6803-DXS981-DXS6809-DXS6789-DXS7132 5 个 X-STR 基因座复合扩增体系，结果清晰，灵敏度高、重现性好。
2. 该体系中各基因座均具有高多态性、高个体识别率和高非父排除率。
3. 获得中国汉族人群 DXS6803、DXS981、DXS6809、DXS6789 和 DXS7132 基因座的等位基因频率及单倍型频率，为进一步群体遗传学研究及法医学应用研究提供基础资料。
4. 首次获得中国汉族人群 5 个 X-STR 基因座的突变率，利用多个孩子的二代家系分析各基因座的重组情况。
5. X 染色体 STR 在某些特殊检案中有比常染色体更高的应用价值。

存在问题和展望

1. 由于 DXS6803 基因座片段小，电泳时有多余的荧光染料，当模板 DNA 浓度低时可能会干扰其分型。
2. 体系中基因座较少，希望建立更多 X-STR 基因座的复合扩增体系。
3. 研究多代家系，进一步探讨连锁和重组规律。
4. 调查更多群体获取 X-STR 基因座数据库。



参考文献

- [1] Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Use of restriction fragment length polymorphisms to determine the clonal origin of human tumors. *Science* 1985;227(4687):642-645.
- [2] Aler M, Salas A, Murcia E, et al. Population study of eight novel Y-chromosome STRs (DYS460, DYS461, GATA-A10, GATA-C4, GATA-H4, DYS434, DYS437, DYS439) in a southeast Iberian population: looking for highly informative Y-chromosome haplotypes. *Int J Legal Med* 2003;117(2):127-131.
- [3] Alessandrini F, Turchi C, Onofri V, et al. Multiplex PCR development of Y-chromosomal biallelic polymorphisms for forensic application. *J Forensic Sci* 2005;50(3):519-525.
- [4] Anslinger K, Keil W, Weichhold G, et al. Y-chromosomal STR haplotypes in a population sample from Bavaria. *Int J Legal Med* 2000;113(3):189-192.
- [5] Barbaro A, Cormaci P, Falcone G, et al. Genetic study of 11 Y-STRs in the populations of Reggio Calabria, Catanzaro, Cosenza (Calabria--South of Italy). *Forensic Sci Int* 2004;146 Suppl.:S129-131.
- [6] Beer Z, Cséte K, Varga T. Y-chromosome STR haplotype in Szekely population. *Forensic Sci Int* 2004;139(2-3):155-158.
- [7] Nakamura Y, Ballard L, Leppert M, et al. Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence (pYNH3) on chromosome X [DXS287]. *Nucleic Acids Res* 1988;16(12):5705.
- [8] Fraser NJ, Boyd Y, Craig I. Isolation and characterization of a human variable copy number tandem repeat at Xcen-p11.22. *Genomics* 1989;5(1):144-148.
- [9] Mulligan L, Sood R, Poon R, et al. Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence, DXS312, to Xq27---Xq28. *Nucleic Acids Res* 1989;17(11):4421.
- [10] Feil R, Palmieri G, d'Urso M, et al. Physical and genetic mapping of polymorphic loci in Xq28 (DXS15, DXS52, and DXS134): analysis of a cosmid clone and a yeast artificial chromosome. *Am J Hum Genet* 1990;46(4):720-728.
- [11] Richards B, Heilig R, Oberle I, et al. Rapid PCR analysis of the St14 (DXS52) VNTR. *Nucleic Acids Res* 1991;19(8):1944.
- [12] Consalez GG, Stayton CL, Freimer NB, et al. Isolation and characterization of a highly polymorphic human locus (DXS455) in proximal Xq28. *Genomics* 1992;12(4):710-714.
- [13] Luty JA, Guo Z, Willard HF, et al. Five polymorphic microsatellite VNTRs on the human X chromosome. *Am J Hum Genet* 1990;46(4):776-783.
- [14] Weber JL, Kwitek AE, May PE, et al. Dinucleotide repeat polymorphisms at the DXS453, DXS454 and DXS458 loci. *Nucleic Acids Res* 1990;18(13):4037.
- [15] Sleddens HF, Oostra BA, Brinkmann AO, et al. Trinucleotide repeat polymorphism in the androgen receptor gene (AR). *Nucleic Acids Res* 1992;20(6):1427.
- [16] Edwards A, Hammond HA, Jin L, et al. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics* 1992;12(2):241-253.
- [17] Edwards A, Civitello A, Hammond HA, et al. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet* 1991;49(4):746-756.
- [18] Hearne CM, Todd JA. Tetranucleotide repeat polymorphism at the HPRT locus. *Nucleic Acids Res* 1991;19(19):5450.
- [19] Chan LC, Tse E, Pittaluga S. X-linked polymorphism of hypoxanthine phosphoribosyl

- transferase gene (HPRT) in Chinese females. *Cancer Genet Cytogenet* 1992;64(2):192.
- [20] Edelmann J, Szibor R. Validation of the HumDXS6807 short tandem repeat polymorphism for forensic application. *Electrophoresis* 1999;20(14):2844-2846.
- [21] 赛效伟, 郭辰虹, 陈丙玺, et al. 中国一个汉族人群 X 染色体四个位点的多态性分析. *中华医学遗传学杂志* 1998;15(2):92-94.
- [22] 吕德坚, 李建金, 刘秋玲, et al. 中国汉族群体 DXS101 位点的多态性. *中山医科大学学报* 2001;22(2):122-124.
- [23] Szibor R, Hering S, Edelmann J. The HumARA genotype is linked to spinal and bulbar muscular dystrophy and some further disease risks and should no longer be used as a DNA marker for forensic purposes. *Int J Legal Med* 2005;119(3):179-180.
- [24] Kishida T, Tamaki Y. Japanese population data on X-chromosomal STR locus AR. *Nippon Hoigaku Zasshi* 1997;51(5):376-379.
- [25] STRBase. <http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase>.
- [26] Yu B, Zhang H, Li S. X-chromosome STRs polymorphisms of Han ethnic group from Northwest China. *Forensic Sci Int* 2005;153(2-3):269-271.
- [27] Shin SH, Yu JS, Park SW, et al. Genetic analysis of 18 X-linked short tandem repeat markers in Korean population. *Forensic Sci Int* 2005;147(1):35-41.
- [28] Hering S, Szibor R. Development of the X-linked tetrameric microsatellite marker DXS9898 for forensic purposes. *J Forensic Sci* 2000;45(4):929-931.
- [29] Watanabe G, Umetsu K, Yuasa I, et al. DXS10011: a hypervariable tetranucleotide STR polymorphism on the X chromosome. *Int J Legal Med* 2000;113(4):249-250.
- [30] Edelmann J, Szibor R. DXS101: a highly polymorphic X-linked STR. *Int J Legal Med* 2001;114(4-5):301-304.
- [31] Hering S, Kuhlisch E, Szibor R. Development of the X-linked tetrameric microsatellite marker HumDXS6789 for forensic purposes. *Forensic Sci Int* 2001;119(1):42-46.
- [32] Edelmann J, Deichsel D, Hering S, et al. Sequence variation and allele nomenclature for the X-linked STRs DXS9895, DXS8378, DXS7132, DXS6800, DXS7133, GATA172D05, DXS7423 and DXS8377. *Forensic Sci Int* 2002;129(2):99-103.
- [33] Edelmann J, Szibor R. The X-linked STRs DXS7130 and DXS6803. *Forensic Sci Int* 2003;136(1-3):73-75.
- [34] Edelmann J, Deichsel D, Plate I, et al. Validation of the X-chromosomal STR DXS6809. *Int J Legal Med* 2003;117(4):241-244.
- [35] Liu QL LD, Zhu JZ, et al. Fluorescent Multiplex Amplification of Three X-STR Loci. *Acta Genetic Sinica* 2006;33(12):1053-1059.
- [36] Edelmann J, Hering S, Kuhlisch E, et al. Validation of the STR DXS7424 and the linkage situation on the X-chromosome. *Forensic Sci Int* 2002;125(2-3):217-222.
- [37] Edelmann J, Szibor R. Validation of the X-linked STR DXS6801. *Forensic Sci Int* 2005;148(2-3):219-220.
- [38] 吕德坚. 用复合 PCR 检测 DXS7132 和 DXS6804 的单倍型. *遗传学报* 2003;30(1):10-14.
- [39] 刘秋玲, 吕德坚, 陆惠玲. 广东汉族群体 DXS6854 基因座的多态性. *中国法医学杂志* 2002;17(S):22-23.
- [40] 刘秋玲, 吕德坚, 崔巍. 3 个 X 染色体短串联重复的复合扩增及其多态性. *中华医学遗传学杂志* 2004;21(3):233-235.
- [41] Zarrabeitia MT, Amigo T, Sanudo C, et al. A new pentaplex system to study short tandem repeat



- markers of forensic interest on X chromosome. *Forensic Sci Int* 2002;129(2):85-89.
- [42] Tabbada KA, De Ungria MC, Faustino LP, et al. Development of a pentaplex X-chromosomal short tandem repeat typing system and population genetic studies. *Forensic Sci Int* 2005;154(2-3):173-180.
- [43] Hering S, Brundirs N, Kuhlisch E, et al. DXS10011: studies on structure, allele distribution in three populations and genetic linkage to further q-telomeric chromosome X markers. *Int J Legal Med* 2004;118(6):313-319.
- [44] Edelman J, Hering S, Michael M, et al. 16 X-chromosome STR loci frequency data from a German population. *Forensic Sci Int* 2001;124(2-3):215-218.
- [45] Szibor R, Krawczak M, Hering S, et al. Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int J Legal Med* 2003;117(2):67-74.
- [46] Wiegand P, Berger B, Edelmann J, et al. Population genetic comparisons of three X-chromosomal STRs. *Int J Legal Med* 2003;117(1):62-65.
- [47] Szibor R, Hering S, Kuhlisch E, et al. Haplotyping of STR cluster DXS6801-DXS6809-DXS6789 on Xq21 provides a powerful tool for kinship testing. *Int J Legal Med* 2005;119(6):363-369.
- [48] Athanasiadou D, Stradmann-Bellinghausen B, Rittner C, et al. Development of a quadruplex PCR system for the genetic analysis of X-chromosomal STR loci. *International Congress Series* 2003;1239:311-314.
- [49] Lee HY, Park MJ, Jeong CK, et al. Genetic characteristics and population study of 4 X-chromosomal STRs in Koreans: evidence for a null allele at DXS9898. *Int J Legal Med* 2004;118(6):355-360.
- [50] Shin KJ, Kwon BK, Lee SS, et al. Five highly informative X-chromosomal STRs in Koreans. *Int J Legal Med* 2004;118(1):37-40.
- [51] Poetsch M, Petersmann H, Repenning A, et al. Development of two pentaplex systems with X-chromosomal STR loci and their allele frequencies in a northeast German population. *Forensic Sci Int* 2005;155(1):71-76.
- [52] Bini C, Ceccardi S, Ferri G, et al. Development of a heptaplex PCR system to analyse X-chromosome STR loci from five Italian population samples. A collaborative study. *Forensic Sci Int* 2005;153(2-3):231-236.
- [53] Coble MD, Butler JM. Characterization of new miniSTR loci to aid analysis of degraded DNA. *J Forensic Sci* 2005;50(1):43-53.
- [54] Mahtani MM, Willard HF. A polymorphic X-linked tetranucleotide repeat locus displaying a high rate of new mutation: implications for mechanisms of mutation at short tandem repeat loci. *Hum Mol Genet* 1993;2(4):431-437.
- [55] Szibor R, Edelmann J, Hering S, et al. Cell line DNA typing in forensic genetics—the necessity of reliable standards. *Forensic Sci Int* 2003;138(1-3):37-43.
- [56] Szibor R, Hering S, Edelmann J. A new Web site compiling forensic chromosome X research is now online. *Int J Legal Med* 2005:1-3.
- [57] Szibor R HS, Edelmann J. A new Web site compiling forensic chromosome X research is now online. *Int J Legal Med* 2006;120:252-254.
- [58] Lu DJ. Detecting haplotypes of DXS7132 and DXS6804 loci by multiplex PCR. *Yi Chuan Xue Bao* 2003;30(1):10-14.
- [59] Deng JQ, Ying BW, Shi MS, et al. Two X-chromosome STR loci DXS6804 and DXS9896

- frequency data in Chinese population. *J Forensic Sci* 2003;48(4):886.
- [60] Shi MS, Deng JQ, Ying BW, et al. Two X-chromosome STR loci DXS6807 and DXS7133 frequency data in Chinese population. *J Forensic Sci* 2003;48(3):689.
- [61] Desmarais D, Zhong Y, Chakraborty R, et al. Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA). *J Forensic Sci* 1998;43(5):1046-1049.
- [62] 吕德坚, 陆惠玲. DNA 亲权鉴定. 第一版 ed: 暨南大学出版社; 2005.
- [63] Son JY, Lee YS, Choung CM, et al. Polymorphism of nine X chromosomal STR loci in Koreans. *Int J Legal Med* 2002;116(6):317-321.
- [64] 冯雪, 徐平, 托娅, 等. . 宁夏回族人群 X 染色体 10 个短串联重复序列位点的遗传多态性调查. *中华医学遗传学杂志* 2006;23(3):346-348.
- [65] 高雅, 金天博, 余兵, 等. 藏族 X 染色体 10 个 STR 位点的遗传多态性. *中华医学遗传学杂志* 2006;23(1):97-99.
- [66] Zarrabeitia MT AA, Martin J, et al. Study of six X-linked tetranucleotide microsatellites population. *Int J Legal Med* 2006;120:147-150.
- [67] Pereira R GI, Amorim A, et al. Genetic diversity of 10 X chromosome STRs in northern Portugal. *Int J Legal Med* 2007.
- [68] Asamura H SH, Ota M, et al. Japanese population data for eight X-STR loci using two new quadruplex systems. *Int J Legal Med* 2006;120:303-309.
- [69] Zalan A VA, Jung M, et al. Hungarian population data of four X-linked markers:DXS8378,DXS7132, Hprt, and DXS7423. *Int J Legal Med* 2007;121:74-77.
- [70] Gomes I, Prinz M, Pereira R, et al. Genetic analysis of three US population groups using an X-chromosomal STR decaplex. *Int J Legal Med* 2007.
- [71] Konjhodzic R, Kubat M, Skavic J. Bosnian population data for the 15 STR loci in the Power Plex 16 kit. *Int J Legal Med* 2004;118(2):119-121.
- [72] Bhoopat T, Steger HF. STR loci Penta D and Penta E: data from a Northern Thai population sample. *Leg Med (Tokyo)* 2004;6(3):174-177.



附 录

附录 1：缩略词表

英文缩写	英文全称	中文全称
STR	Short tandem repeat	短串联重复
DP	Power of discrimination	个体识别率
PD _F	Power of discrimination in females	女性个体识别率
PD _M	Power of discrimination in males	男性个体识别率
GD	Gene Diversity	基因多样性
HD	Haplotype diversity	单倍型多样性
PE	Power of paternity exclusion	非父排除率
PE _T	Power of paternity exclusion for X-STR in trios involving daughters	三联体非父排除率
PE _D	Power of paternity exclusion for X-STR in duos cases (father/daughter)	二联体非父排除率
PIC	Polymorphism information contents	多态性息含量
HWE	Hardy-Weinberg equilibrium	Hardy-Weinberg 平衡
LDE	Linkage disequilibrium	连锁不平衡

附录 2: 5 个 X-STR 基因座部分等位基因全序列

DXS6803 (12.3) 120bp P_{F20}-N₁₉-(TCTA)₁₁-(TCA)-(TCTA)₁-N₈-P_{R22}

1 gaaatgtgct ttgacagga *aaacaatata cacagaatgt ctatctatct atctatctat ctatctatct*
 71 *atctatctat ctatctatct* tcgagataaa gtgacatag tcccttttg

DXS981 (14) 190bp P_{F25}-TCTC-TT-N₈₁-(TATC)₁₄-P_{R22}

1 tcagagggaaa agaagtagac atacttctct *tgtttctcc tgcaaaatac agctaaaaac ttggaatgat*
 71 *atacatctat atctgtatag agaactatct atttatcttt tatatctatc tatctatctc tctatctate*
 141 *tatctatctc tctatctate tatctatctg* actctgaaaa gtggagagaa

DXS981 (14.3) 191bp P_{F25}-TCTC- N₈₁-(TATC)₁₃-(ATC)-(TATC)₁-P_{R22}

1 tcagagggaaa agaagtagac atacttctcg *tttctctcg caaaatacag ctaaaaactt ggaatgat*
 71 *acatctatct ctgtatagag aactatctat ttatctttta tatctatctc tctatctate tatctatctc*
 141 *tctatctate tatctatctc tcatctatct* gactctgaaa agtggagagaa

DXS6809 (32) 255bp

P_{R20}-N₃₇-(CTAT)₉-(ATCT)₃-N₉-(TATC)₃-(ATCT)₅-N₁₀-(ATCT)₁₂-N₃₁-P_{R20}

1 tgaaccttc tagctcagga *atactgaggg catgactaga ttatgtagga atttgggcta tctatctate*
 71 *tatctatctc tctatctate tatatctate tatctatcat ctattatctc tctatcatct atctatctat*
 141 *ctatctatta tctatcatct atctatctat ctatctatct atctatctat ctatctatct atctatctc*
 211 *tatctcttcc tcacatcag ctaaagcaaa attgattct ccaga*

DXS6809 (32.1) 256bp

P_{R20}-N₃₇-(CTAT)₉-(ATCT)₃-N₉-(TATC)₃-(ATCT)₆-N₁₀-T-(ATCT)₁₁-N₃₁-P_{R20}

1 tgaaccttc tagctcagga *atactgaggg catgactaga ttatgtagga atttgggcta tctatctate*
 71 *tatctatctc tctatctate tatatctate tatctatcat ctattatctc tctatcatct atctatctat*
 141 *ctatctatct atcatctate tatctatctc tctatctate tatctatctc tctatctate tatctatctc*
 211 *ctatctctc ctcacatcag cctaaagcaa aattggaitc tccaga*

DXS6789 (20) 178bp P_{F24}-TATC-(TATG)₁₀-(TATC)₉-N₄₉-P_{R25}

1 gttggactt aataaacctt cttttatctc *tgatgtatg tatgtatgta tgatgtatg tatgtatgta*
 71 *tctatctate tatctatctc tctatctate tatctaccat ctatctccta ttggttctgt cctctaggg*
 141 *atcctgact aatacaatag gacatcaaat aactctt*

DXS7132 (15) 292bp P_{F22}-N₁₉-(TCTA)₁₅-N₁₆₇-P_{R24}

1 agcccaittt cataataaat cccctctcat *ctatctgact gctatctat ctatctatct atctatctat*
 71 *ctatctatct atctatctat ctatctatct atcctatgg ttctgttct ctggagaacg ttgactaata*
 141 *gtttgga ccaggagtgg ttctatagaa ataaaattt aagaatgagt ttgtaaatt ggttttgaa*
 211 *ttttaga actggctctc taatgtcgc acactaaaa atgctaagga cctatttcc aatagtagag*
 281 agcactga tt

注: 下划线为引物序列; 斜体为核心序列



附录3 硕士期间以第一作者发表的论文

1. 7个Y-STR基因座单倍型及其法医学应用. 法医学杂志, 2003, 19(4): 196~198
2. 5个Y-STR基因座复合扩增及其单倍型. 中国法医学杂志, 2003, 18(4): 225~227
3. 台湾汉族群体15个STR基因座的遗传多态性. 法律与医学杂志, 2003, 10(4): 245~247
4. 4个Y-STR基因座银染复合扩增. 遗传, 2003, 25(3): 279~282
5. 3个X染色体短串联重复的复合扩增及其多态性. 中华医学遗传学杂志 2004, 21(3): 233~235
6. 12个Y-STR基因座单倍型及其应用. 中国法医学杂志, 2004, 19(S): 28~29
7. 湖南汉族人群15个STR基因座的遗传多态性. 中国法医学杂志, 2004, 19(2): 98~99
8. 广东汉族人群D8S384、D18S535、D21S1411基因座的多态性. 中国医学月刊, 2004, 3(2): 103~105
9. 广东汉族群体15个STR基因座的遗传多态性. 中国医学月刊, 2004, 3(7): 630~632
10. 用二组复合扩增检测8个Y-STR基因座单倍型. 法医学科研与临案, 李冠宏主编, 2004, 70~76
11. 用复合扩增方法检测4个Y-STR基因座单倍型. 法医学杂志. 2005, 21(1): 9~10
12. 3个X-STR基因座复合扩增. 法医学杂志. 2006, 22(6): 431~434
13. Fluorescent Multiplex Amplification of Three X-STR Loci. *Acta Genetica Sinica*. 2006, 33(12): 1053~1059



致 谢

本论文的选题、实验设计、论文撰写过程中，承蒙导师陆惠玲教授的精心指导，在此致以衷心的感谢和崇高的敬意！

本课题得到了广州市公安局李越科长、刘超所长大力帮助和支持，在此表示衷心的感谢！

本课题的实验过程及论文写作中，得到了伍新尧教授、伍祥林教授、孙宏钰副教授、李建金老师等提供的各方面的支持和帮助，在此一并致以衷心的感谢！

感谢中山大学法医系全体老师和同事们多年来对我工作、学习的关心和帮助，是你们的默默支持和无私奉献才使我的实验得以按期完成，谢谢你们！

感谢陈勇、陈维红、王会品、章雅清、骆宏等在实验及生活中的帮助和照顾，谢谢你们！

感谢所有关心帮助我的老师、同学和朋友们！

最后特别感谢多年来默默支持我的家人！



原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者：刘秋玲

2007年3月3日