

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.22.003

AZF 区微缺失检测方法分析 Y-STR 基因座分型缺失现象^{*}赖 力^{1,2}, 吴贻晨³, 陈 点¹, 王尧城^{1,2}, 刘尚龙^{1,2}1. 福建省立医院司法鉴定所/福建省心血管病重点实验室, 福建福州 350001; 2. 福建医科大学
省立临床医学院, 福建福州 350001; 3. 福建中医药大学第一临床医学院, 福建福州 350001

摘 要:目的 对个体识别和父源关系鉴定中的 Y 染色体短串联重复序列(Y-STR)基因座分型缺失现象采用无精症因子区域(AZF 区)微缺失检测的方式进行分析,探讨 AZF 区微缺失对 Y-STR 基因座分型结果的影响。**方法** 采用 3 种 Y-STR 基因座检测系统(AGCU Y24 检测系统、GFS 24Y 检测系统以及 Promega Y23 检测系统)检测样本的 43 个 Y-STR 基因座,对存在 Y-STR 基因座分型缺失的样本进一步采用 Y 染色体微缺失试剂进行检测,对 AZF 区微缺失情况进行判断。**结果** 发现 1 例 DYS459、DYS527ab 基因座分型缺失的样本,检出 sY255、sY1191、CDY1、sY254 和 DAZ 5 个序列标签(STS)位点缺失,判断其 Y 染色体微缺失类型为 AZFc 区缺失(b2/b4);2 例存在亲缘关系的样本均检出 DYS522、DYS570 和 DYS576 基因座分型缺失,但未发现 Y 染色体 AZF 区微缺失。**结论** 在个体识别和父源关系鉴定中发现 Y-STR 基因座缺失的个体有可能存在 AZF 区微缺失,部分 Y-STR 基因座如 DYS459、DYS527ab 等分型缺失与 Y 染色体 AZF 区 STS 位点微缺失同时存在,该部分 Y-STR 基因座在男性不育症基因检测方面具有一定应用价值,而在遗传关系鉴定方面应避免使用。

关键词:Y 染色体微缺失; 无精症因子区域; STR 基因座**中图法分类号:**R698+.2**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2021)22-3225-04**AZF region microdeletion detection method for analyzing typing deletion
phenomenon of Y chromosome STR loci^{*}**LAI Li^{1,2}, WU Yichen³, CHEN Dian¹, WANG Yaocheng^{1,2}, LIU Shanglong^{1,2}1. Forensic Science Institute of Fujian Provincial Hospital/Fujian Provincial Key Laboratory
of Cardiovascular Disease, Fuzhou, Fujian 350001, China; 2. Provincial Clinical College of Fujian
Medical University, Fuzhou, Fujian 350001, China; 3. First Clinical College, Fujian University
of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350001, China

Abstract: **Objective** To use the AZF region microdeletion detection method to analyze the loci typing deletion phenomenon of Y chromosome short tandem repeats (Y-STR) loci in personal identification and paternal relationship identification, and to discuss the effect of AZF region microdeletion on Y-STR locus typing results. **Methods** The three kinds of Y-STR loci detection systems (AGCU Y24 detection system, GFS 24Y detection system and Promega Y23 detection system) were adopted to detect 43 Y-STR loci in samples. The samples with the typing deletion of Y-STR loci were further detected by adopting the Y chromosome microdeletion kit. The situation of AZF region microdeletion was judged. **Results** The 5 sequence tag (STS) loci deletion of sY255, sY1191, CDY1, sY254 and DAZ were detected out in the sample from 1 case of DYS459 and DYS527ab loci typing deletion, and the Y chromosome microdeletion type was judged as the AZFc region deletion (b2/b4); in the samples from 2 cases of sibship, the loci typing deletions of DYS522, DYS570 and DYS576 were detected out. But no Y chromosome AZF region microdeletion was found. **Conclusion** The individuals with Y-STR loci deletion have the possibility of AZF region microdeletion in the individual recognition and the parent relationship identification, in partial Y-STR loci such as DYS459, DYS527ab, the typing deletion and Y chromosome AZE region microdeletion concurrently exist. These Y-STR loci have a certain application value in the gene detection of male infertility, but which should be avoid to be used in the genetic relationship identification.

^{*} **基金项目:**福建省教育厅本科高校教育教学改革研究项目(FBJG20190034);福建省卫生健康委员会中青年骨干人才培养项目(2020GGA004)。

作者简介:赖力,男,副主任技师,主要从事分子遗传学、法医学物证学的研究。

本文引用格式:赖力,吴贻晨,陈点,等. AZF 区微缺失检测方法分析 Y-STR 基因座分型缺失现象[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(22):

Key words: Y chromosome microdeletions; AZF regions; short tandem repeats

Y 染色体短串联重复序列(Y-STR)作为一种特殊的遗传标记,在法医学个体识别和亲缘鉴定方面具有不可或缺的作用,尤其是在父源关系鉴定方面,Y-STR 基因座分型是判断不同男性个体是否来自同一父系的主要依据。作为人类唯一的单倍体遗传染色体,Y 染色体易发生染色体非等位性重组,因此 Y-STR 基因座比常染色体短串联重复序列(STR)基因座具有较高的变异率。实践中发现,部分 Y-STR 基因座存在分型缺失(又称为无效扩增)现象,与 Y 染色体长臂或短臂上部分基因片段的缺失有密切关系,因此男性不育症患者的 Y 染色体无精症因子区域(AZF 区)微缺失也可能是导致部分 Y-STR 基因座分型缺失的原因。

本研究对实验室日常 DNA-STR 基因座检测过程中发现的 Y-STR 基因座分型缺失的样本进行 Y 染色体 AZF 区微缺失检测,旨在探讨由 Y 染色体 AZF 区微缺失造成的 Y-STR 基因座分型缺失对个体识别和父源关系鉴定的影响以及 Y-STR 基因座作为男性不育症基因检测方法的可行性,并且选择合适的 Y-STR 基因座进行个体识别和父源关系鉴定。

1 资料与方法

1.1 样本来源 收集本实验室日常进行个体识别以及亲缘鉴定 DNA-STR 基因座检测的个体,每人份采集 EDTA 抗凝血 2 mL,−20 ℃ 保存。

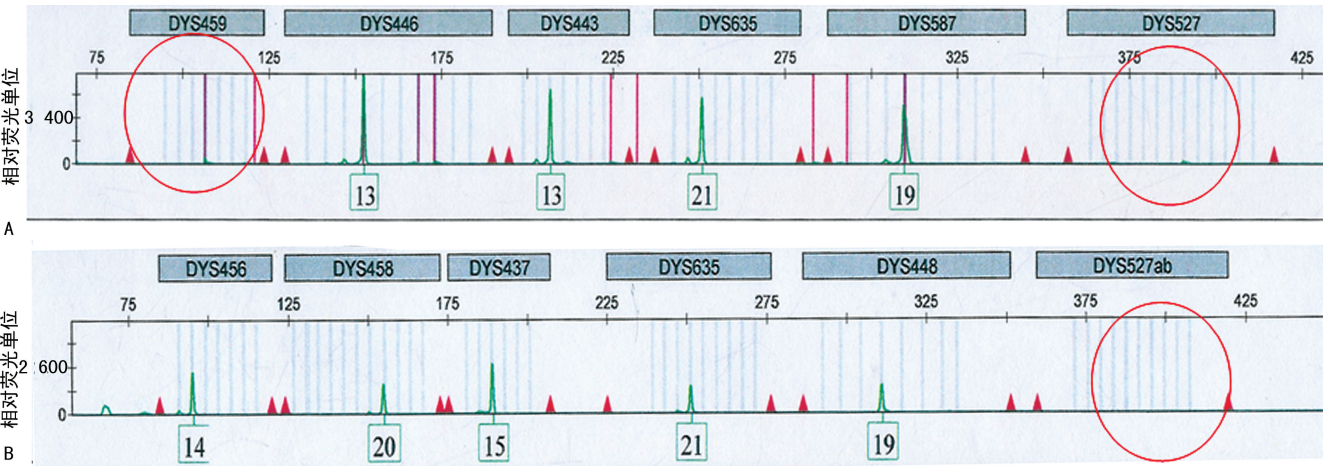
1.2 仪器与试剂 Y-STR 基因座分型采用 AGCU Y24、GFS 24Y 检测系统(无锡中德美联公司)以及 Promega Y23 检测系统(美国 Promega 公司),主要仪器为 Veriti 扩增仪(美国 AB 公司)和 3130 型遗传分析仪(美国 AB 公司)。Y 染色体 AZF 区序列标签(STS)位点检测使用 Y 染色体微缺失检测试剂盒(荧

光 PCR-毛细管电泳法,北京阅微基因技术公司),主要仪器为 Gen Reader 基因分析仪(北京阅微基因技术公司)。

1.3 方法 采用 Chelex 法提取 DNA。Y-STR 基因座复合扩增的体系配置和扩增循环参数参照各自试剂盒说明书,扩增产物的电泳分离和荧光检测在 3130 型遗传分析仪上进行,采用 Data Collection 3.0 软件收集 DNA 片段的荧光信号,GeneMapper ID v3.2 分析软件进行数据分析,获得 43 个 Y-STR 基因座分型结果。对存在 Y-STR 基因座分型缺失的个体进行 AZF 区 STS 位点检测,检测位点为 SRY、ZFY、sY86、sY84、CDY2、SMCY、sY127、sY134、sY1161、sY1191、sY254、sY255、DAZ、sY157、CDY1、ZFX、SMCX、DAZL,反应体系 20 μL,包含 2.5×PCR Mix 8 μL;5×Y-Primer Mix 4 μL;模板 DNA 1 μL(8.6 ng/μL);无核酸酶纯水 7 μL。PCR 扩增程序:(1)变性 95 ℃,5 min;(2)扩增 94 ℃,1 min;60 ℃,1 min;72 ℃,1 min 30 s;30 个循环;(3)延伸 60 ℃,60 min;(4)4 ℃或 15 ℃低温保存。PCR 扩增产物经毛细管电泳检测,根据产物峰面积比例以及缺失情况确定 Y 染色体微缺失位点。

2 结果

本研究共发现 3 例样本存在 Y-STR 基因座分型缺失现象,其中 1 例样本(编号 1)采用 GFS 24Y 检测系统发现 DYS459 和 DYS527ab 基因座分型缺失,用 AGCU Y24 检测系统发现 DYS527ab 基因座同样存在分型缺失(图 1)。进一步进行 Y 染色体微缺失检测,结果显示该样本丢失 sY255、sY1191、CDY1、sY254 和 DAZ 等 STS 位点,经分析发现该样本为 AZFc 区缺失(b2/b4),见图 2。



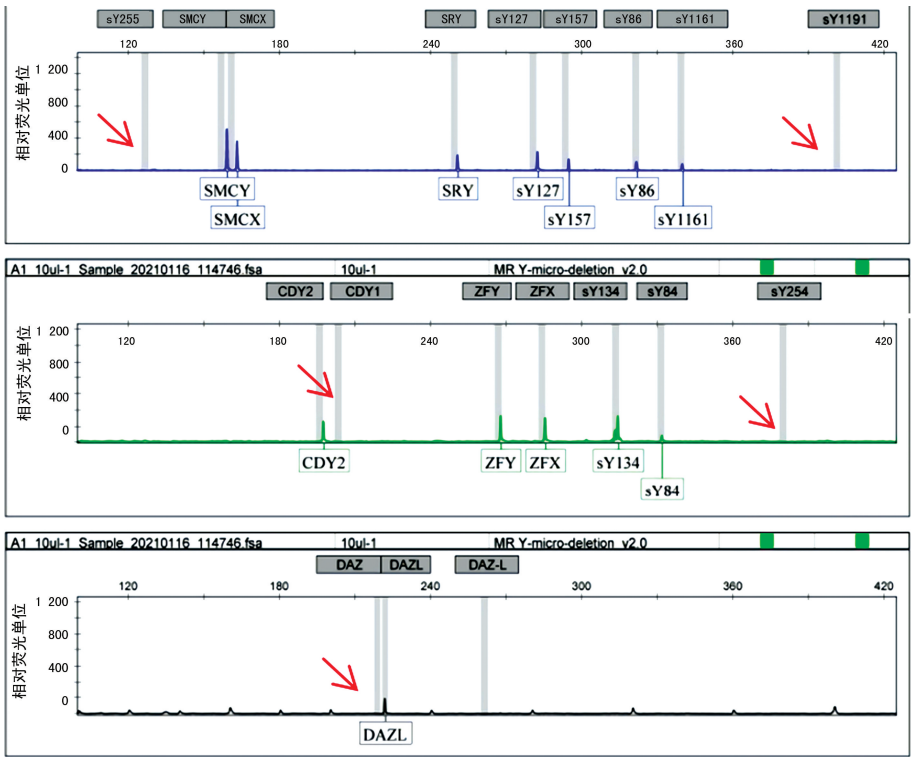
注:A 为 GFS 24Y 检测系统;B 为 AGCU Y24 检测系统;画圈处为分型缺失的基因座;横轴处方框内数字表示基因座基因型,如 DYS446 基因座基因型为 13,DYS443 基因座基因型为 13。

图 1 1 号样本在 DYS459 和 DYS527ab 基因座的分型缺失情况

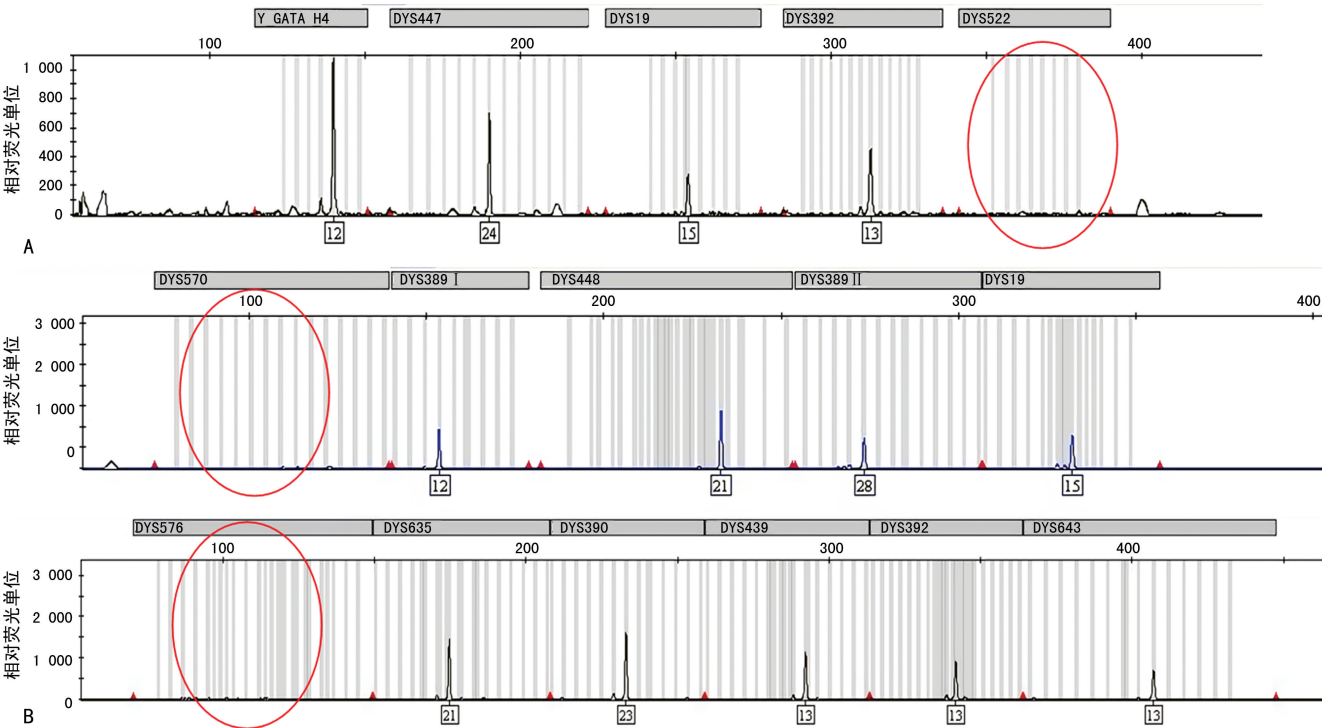
本研究还发现 2 例存在父子亲缘关系样本(编号 2、3)的 Y-STR 基因座分型结果一致,均存在

DYS522、DYS570 和 DYS576 3 个基因座分型缺失,其余基因座分型为单倍型(图 3)。对两份样本进行 Y

染色体微缺失分析,结果显示两份样本检测结果一致,AZF 区均未发现缺失,SRY 基因均正常。



注:箭头处为缺失的 Y 染色体 AZF 区的 STS 位点,其余 STS 位点均未存在缺失;横轴处方框表示基因座基因型。
图 2 1 号样本丢失 sY255、sY1191、CDY1、sY254 和 DAZ 等 STS 位点



注:A 为 AGCU Y24 检测系统;B 为 Promega Y23 检测系统;画圈处为分型缺失的基因座;横轴处方框表示基因座基因型,如 Y GATA H4 基因座基因型为 12,DYS447 基因座基因型为 24。
图 3 2 号和 3 号样本在 DYS522、DYS570 和 DYS576 3 个基因座分型缺失情况

3 讨 论

Y 染色体作为男性独有的性染色体,具有单倍体父系遗传的特点。除突变和缺失外,同一家族中所有男性个体的 Y-STR 基因座分型结果理论上应完全一

致,这也是个体识别以及父源关系鉴定中判断男性个体是否来自同一父系的主要手段。Y 染色体的非重组区含有大量高度同源的重复序列,导致该区域结构高度不稳定,较容易发生染色体内非等位的同源性重

组,从而导致 Y 染色体出现缺失、倒置和重复等结构异常现象。多项研究报道了 Y 染色体上的遗传标记 Y-STR 基因座分型缺失现象^[1-5]。Y-STR 基因座数据库的建立,选择的检测位点数增多,更有助于发现分型异常及缺失^[6]。

临床研究表明,位于 Y 染色体的 AZF 区的缺失可能会导致无精症或严重少精症等男性不育症的发生。Y 染色体 AZF 区被划分为 AZFa、AZFb、AZFc 3 个互相间隔的亚区,不同区域的 AZF 区缺失可对应导致无精症或严重少精症等男性不育症的发生^[7-9]。AZFa 区缺失的患者主要临床表现为唯支持细胞综合征(SCOS);AZFb 区缺失的患者主要临床表现为精子成熟过程停滞在精母细胞,出现成熟障碍;AZFc 区缺失表现为不同程度的精子数量减少。叶峻杰等^[10]研究报道,在中国汉族男性不育人群中,AZFa、AZFb、AZFbc、AZFc 区缺失的比例分别为 5%、5%、15%和 75%。本研究发现 1 号样本也存在 AZFc 区缺失,由于样本来源为未成年人,故无法对其生育能力进行鉴定。

AZF 基因位于 Y 染色体 Yq11 区域,目前用于个体识别和父源关系鉴定的部分 Y-STR 基因座也位于该区域。现有研究表明,AZFa 区缺失的患者存在 DYS437、DYS389 I、DYS389 II、DYS438、DYS439 等位点的缺失,AZFb 区缺失的患者存在 DYS392、DYS385a/b、DYS549 等位点的缺失,AZFc 区缺失的患者存在 DYS448、DYS527、DYS459 等位点的缺失^[11-12]。本研究发现 3 例 Y-STR 基因座分型缺失的个体,其中 1 号样本发现 DYS459 和 DYS527ab 位点缺失,经 AZF 区 STS 位点检测发现存在 AZFc 区的缺失,与王跃力等^[12]的研究结果一致,表明上述 Y-STR 基因座可能位于 Y 染色体 AZF 区,故当 AZF 区 STS 位点存在微缺失时,与 STS 位点相关的 Y-STR 基因座也可能发生分型缺失。2 号和 3 号这 2 例具有亲缘关系的个体均发现 DYS522、DYS570 和 DYS576 3 个 Y-STR 基因座分型缺失,但 AZF 区 STS 位点检测未发现缺失和异常,表明上述 Y-STR 基因座的分型缺失不是由 AZF 区 STS 位点微缺失所造成,可能是由 Y 染色体上其他区域的染色体片段缺失或者基因座引物结合区的碱基序列发生变异所导致。

铁展畅等^[13]研究报道,DYS449、DYS458、DYS481、DYS522、DYS570、DYS596、DYS627、DYS576 等基因座缺失与位于 Yp11.2 区域的 Amel-Y 片段缺失具有一定相关性。本研究结果提示,Y 染色体 AZF 区各类型 STS 位点的微缺失会引起 DYS522、DYS570、DYS576、DYS549、DYS527ab 等部分 Y-STR 基因座的分型缺失,说明该部分 Y-STR 基因座位于 Y 染色体 AZF 区内,与男性无精症或严重少精症等不育症具有一定联系。因此,在日常鉴定工作中发现上述 Y-STR 基因座分型存在部分或全部缺失的个体可以高度怀疑其 AZF 区存在微缺失,可增加 Y 染色体 AZF

区 STS 位点的检测,以发挥 Y-STR 基因座作为分子遗传标记物在遗传疾病检测方面的作用。目前该方面的研究较少,有待后续进一步扩大样本量进行验证。鉴于部分 Y-STR 基因座分型会受到 AZF 区微缺失等染色体疾病的影响,故在进行个体识别和父源关系鉴定时,应尽可能避免使用易发生缺失的 Y-STR 基因座进行分型检测,实验室应配备多套检测试剂以备复核。

参考文献

- [1] 刘薇,彭诚,尚雷鹏,等. 家系性 AMELY、DYS456、DYS576、DYS570 同时缺失 1 例[J]. 中国司法鉴定, 2016,4(5):99-100.
- [2] 王伟妮,杨雅冉,任贺,等. 男性 Y 染色体 amelogenin、DYS456 及 DYS458 缺失 1 例分析[J]. 中国计划生育学杂志,2012,20(6):424-425.
- [3] MA Y,KUANG J Z,ZHANG J,et al. Y chromosome interstitial deletion induced Y-STR allele dropout in AMELY-negative individuals[J]. Int J Legal Med, 2012, 126(5):713-724.
- [4] 黄仁武,胡利平,张茵,等. Y 染色体 Amelogenin、DYS456、DYS570 及 DYS576 缺失 2 例[J]. 生物化工, 2019,5(2):63-65.
- [5] 孙华明,吴雅兰. 男性 Y 染色体 Amelogenin Y 片段及 4 个基因座同时缺失 1 例[J]. 中国法医学杂志,2020,35(2):218-219.
- [6] 任子林,刘海,王升启,等. Y-STR 位点数和允许错配数对 Y-STR 数据库排查的影响[J]. 中国法医学杂志,2018,33(5):43-46.
- [7] BALARESQUE P,BOWDEN G R,PARKIN E J,et al. Dynamic nature of the proximal AZFc region of the human Y chromosome: solutiple independent deletion and duplication events revealed by microsatellite analysis[J]. Hum Mutat,2008,29(10):1171-1180.
- [8] REPPING S,SKALETSKY H,LANGE J,et al. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes masalve deletions and spermatogenic failure[J]. Am J Hum Genet,2002,71(4):906-922.
- [9] 罗振国,扈清云. Y 染色体微缺失与男性不育[J]. 黑龙江医药科学,2007,30(1):92-93.
- [10] 叶峻杰,李宗芳,陈燕祥,等. 男性不育人群 17 个 Y 染色体短串联重复基因座无效等位基因分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2013,30(3):330-334.
- [11] 王燕超,马晓燕,孙筱放,等. Y 染色体微缺失人群中 Y-STR 等位基因缺失模式分析[J]. 遗传,2019,41(3):243-253.
- [12] 王跃力,叶峻杰,李宗芳,等. 对法医学相关的 DYS549、DYS527 和 DYS459 基因座在男性不育症人群中的缺失、重复调查[J]. 遗传,2014,36(8):786-792.
- [13] 铁展畅,任博,濮礼雯,等. 27 例 Amelogenin 基因等位基因 Y 丢失分析[J]. 中国法医学杂志,2021,36(1):94-96.