reconstruction: average 5.5-year results[J]. J Bone Joint Surg Br, 2010, 92(Suppl): 113.
[3] Van-Haaren E H, Heyligers I C, Alexander F G, *et al*. High rate of failure of impaction grafting in large acetabular defects[J]. J Bone Joint Surg Br, 2007, 89(3): 296-300.
[4] Sakai T, Ohzono K, Nishii T, *et al*. Grafting with hydroxyapatite granules for defects of acetabular bone at revision total hip replacement: a minimum ten-year follow-up[J]. J Bone Joint Surg Br, 2010, 92(9): 1215-1221.
[5] Buttaro M A, Comba F, Pusso R, *et al*. Acetabular revision with metal mesh, impaction bone grafting and a cemented cup[J]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466(10): 2482-2490.
[6] Ramappa M, Bajwa A, Kulkarni A, *et al*. Porous tantalum coated modular acetabular cups (tritanium) in revision arthroplasty: early experience[J]. J Bone Joint Surg Br, 2010, 92(10): 528-529.
[7] 刘新江. 脱钙骨治疗骨缺损93例疗效观察[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2003, 38(6): 993.

(收稿: 2010-10-22 修回: 2010-11-22)
(编辑 张 维)

文章编号: 1000-5404(2011)07-0759-02

经验交流

# 亲子鉴定中 Amelogenin 基因荧光定量分析检出克氏综合征1例

胡锡阶,刘祖林,章 涛,祁 莹 (563003 贵州 遵义,遵义医学院附属医院贵州省细胞工程重点实验室,法医学鉴定中心)

【关键词】 克氏综合征; Amelogenin 基因; 亲子鉴定
【中图法分类号】 D919; R596.1 【文献标志码】 B

我鉴定中心在对一亲子鉴定案例进行鉴定分析时发现,其中一份检材的短串连重复序列(short tandem repeat,STR)分型图上性别基因座分型异常,经 Amelogenin 等位基因 XY 荧光定量分析,疑为克氏综合征(Klinefelter syndrome),后经染色体核型分析证实为克氏综合征,现报告如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

亲子鉴定受检者争议父37岁(实验室编号: 2009-0097-1),女孩9岁(实验室编号: 2009-0097-2)。

### 1.2 方法

DNA 的提取采用固相法,检材为 EDTA-$K_2$ 抗凝静脉血;试剂为 Qiagen 公司的 Generation Capture Column;用美国 ABI 公司的产品 AmpFlSTR® Identifiler™ 试剂分别对 15 个 STR 基因座(D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、TH01、D13S317、D16S539D、2S1338、D19S433、vWA、TPOX、D18S51、D5S818、FGA)和1个性别基因座 Amelogenin 按技术手册所给条件进行 PCR 复合扩增,3100 Avant 遗传分析仪进行电泳分离,并通过 GeneScan Software V3.7 软件、Genotyper Software V3.7 软件进行 DNA 的 STR 基因分型;细胞染色体核型分析为 G 显带。

## 2 结果

### 2.1 亲子关系鉴定结果

本案例常染色体上的15个基因座在 STR 分型时,有5个基因座不符合孟德尔遗传规律,故可排除亲生血缘关系,其等位基因分型结果见表1。

【通信作者】 胡锡阶,E-mail: xijiehu@foxmail.com

### 2.2 争议父性别基因座 Amelogenin 异常表现

Amelogenin 基因座上的 STR 分型及荧光信号强度如图1所示,等位基因 XY 峰严重不均衡,其峰高比值(较低峰的相对荧光单位除以较高峰的相对荧光单位)和峰面积比值约为50%;而在 Ladder(等位基因分型标准物)和性染色体正常男性(2009-0090-1)的 STR 分型图谱上,Amelogenin 基因座上这对等位基因荧光信号强度较为均衡,计算 XY 的峰高比值和峰面积比值,都在90%以上(表2)。

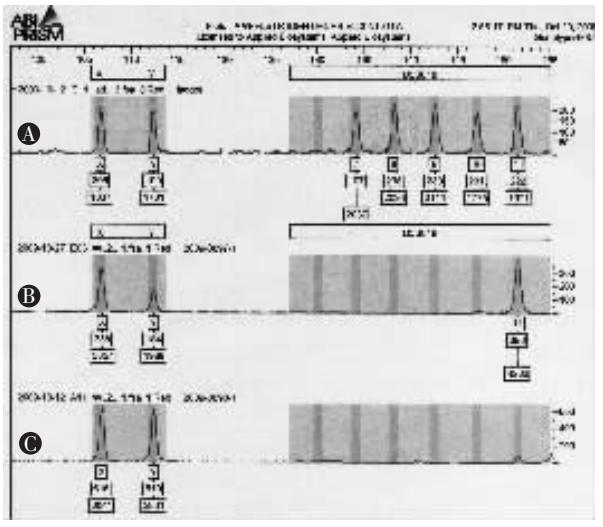
### 2.3 争议父染色体核型分析结果

为验证 STR 分型图谱荧光信号定量分析疑是克氏综合征的准确性,对争议父加做细胞染色体遗传学分析,证实其 G 显带核型为47,XXY(图2),也即克氏综合征患者。

**表1 STR 基因分型结果**

| 基因座 | 争议父(WJ2009-0097-1) | | 女孩(WJ2009-0097-2) | |
|---|---|---|---|---|
| | 等位基因1 | 等位基因2 | 等位基因1 | 等位基因2 |
| D8S1179 | 10 | 13 | 10 | 13 |
| D21S11 | 30 | 31 | 30 | 30 |
| D7S820 | 8 | 11 | 9 | 10 |
| CSF1PO | 12 | 12 | 12 | 12 |
| D19S433 | 13 | 15.2 | 14 | 16 |
| VWA | 14 | 17 | 14 | 15 |
| TPOX | 8 | 8 | 8 | 9 |
| D18S51 | 14 | 18 | 14 | 14 |
| D3S1358 | 15 | 16 | 15 | 15 |
| TH01 | 7 | 9 | 9 | 9 |
| D13S317 | 8 | 11 | 11 | 12 |
| D16S539 | 12 | 13 | 9 | 9 |
| D2S1338 | 20 | 20 | 18 | 23 |
| D5S818 | 11 | 11 | 11 | 13 |
| FGA | 21 | 24 | 18 | 23 |
| Amelogenin* | X | Y | X | X |

*:争议父检样 Amelogenin 基因座上 XY 峰的荧光强度严重不均衡



A:Ladder(等位基因分型标准物)Amelogenin基因座上XY的峰高和峰面积;B:争议父(2009-0097-1)Amelogenin基因座上XY的峰高和峰面积;C:正常男性对照(2009-0090-1)Amelogenin基因座上XY的峰高和峰面积

**图1 Amelogenin基因座STR分型及荧光标记峰高和峰面积图谱**

**表2 Amelogenin等位基因X和Y荧光定量分析结果**

| 样本编号 | 峰高比值(%,Y峰高/X峰高) | 峰面积比值(%,Y峰面积/X峰面积) |
|---|---|---|
| Ladder(等位基因分型标准物) | 97.07(199/205) | 94.23(1 731/1 837) |
| WJ2009-0097-1(争议父) | 50.44(184/338) | 51.54(1 988/3 857) |
| WJ2009-0090-1(正常男性) | 99.03(610/616) | 96.03(5 861/6 041) |

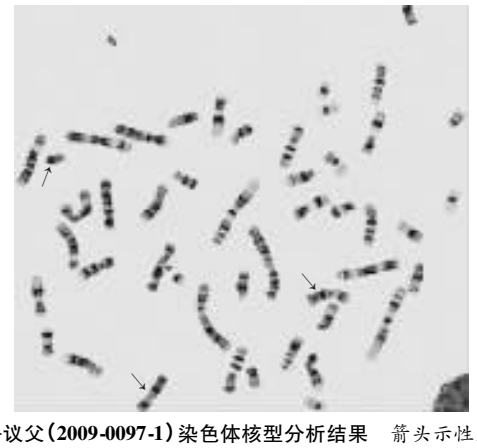


**图2 争议父(2009-0097-1)染色体核型分析结果** 箭头示性别染色体

## 3 讨论

随着分子生物学技术的快速发展,法医物证鉴定技术得到了极大的提高,DNA的STR分型不仅可用于亲权鉴定和个体识别,也蕴涵着由此可解读出的一些其他遗传信息。本文所报告的通过亲子鉴定性别位点Amelogenin基因荧光强度异常而发现的这例克氏综合征患者,便是DNA的STR分型技术所具特色和价值的生动体现。克氏综合征在临床上对生育能力的影响表现为无精、少精和不孕,从表1的分析也可得出:两被鉴定人之间不存在生物学父女关系,这也表明了克氏综合征患者难以通过自然方式拥有父系血统的后代。

Identifiler体系所包含的Amelogenin基因是编码牙釉蛋白非常有效的性别遗传标记,为X、Y染色体同源基因,特异引物PCR扩增X和Y染色体可同时分别得到106 bp和112 bp拷贝数相同的特异性产物,正常男性的Amelogenin基因座检测结果为"XY",STR分型图表现为荧光强度较均衡的双峰;正常女性的Amelogenin基因座检测结果为"XX",STR分型图表现为单一荧光峰。Amelogenin基因除了能判定生物的性别,其XY峰高比值如果在15%~70%之间也提示存在两个以上的混合样本[1],法医物证鉴定时也常结合STR的荧光定量指标来分析和判断DNA混合样本中男性和女性的比例,这对一些性侵犯案有着重要的意义[2];在性染色体数目异常的判定上,有资料将XY较高峰面积与较低峰面积比值超过1.65判定为异常(染色体非整倍体)[3]。本DNA检材为现场独立采集的单一样本,不存在混合样本,争议父Amelogenin基因座分型图的XY峰高比值和峰面积比值只有50%左右,X荧光峰表现为2个相同X基因峰的叠加,荧光强度约为Y基因峰的2倍,峰面积比值按臧春霞等[3]的方法计算可达到1.94(3 857/1 988),已大大超过其1.65的标准,通过染色体核型分析证实,该被鉴定人为典型的克氏综合征核型47,XXY。此外,在用荧光定量分析来判断克氏综合征时应注意Amelogenin基因座X或Y等位基因缺失[4],否则易造成染色体数目判断错误。

我们的研究表明,STR分型技术除了可用于法医物证鉴定、组织器官移植的监测等[5],其Amelogenin基因在胎儿性别鉴定、伴性遗传病的研究等领域同样有着不可忽视的应用价值。对于克氏综合征患者,虽可用睾丸精子细胞进行单精子卵胞浆内注射(ICSI)技术来拥有父系血统的后代[6],但却存在着遗传学上的巨大风险,只有通过胚胎植入前遗传学诊断(PGD)技术,才能安全孕育非克氏综合征的胚胎,而传统的染色体核型分析及荧光原位杂交(FISH)技术,检测时间都远远大于DNA的STR分型,STR分型仅需少量样品,从DNA提取到STR荧光数据的自动化分析只需要几个小时,大大降低了产前诊断时间和胚胎着床前检测时在体外等待的时间。可以预言,随着单细胞PCR技术的发展,DNA的STR分型技术在快速分析诊断上必将展现出传统方法所无法比拟的优势。

## 参考文献:


[1] 布尔特尔.法医DNA分型——STR遗传标记的生物学、方法学及遗传学[M].侯一平,刘雅诚,译.北京:科学出版社,2007:116-125.

[2] 吕德坚,陆惠玲,陈玉川.混合斑的DNA分型解析[J].法医学杂志,2002,18(3):185-188.

[3] 臧春霞,李玉华,王仁礼.多重定量荧光PCR在常见染色体非整倍体疾病快速产前诊断中的应用研究[J].生殖与避孕,2004,24(6):333-338.

[4] 陈爱萍,陈勇,王会品,等.中国人群Amelogenin基因的突变频率和突变类型[J].中华医学遗传学杂志,2007,24(6):615-619.

[5] 杨颖,吴文,王玲玲,等.适合移植后嵌合物定量分析的信息STR位点谱的建立及其应用[J].中国实验血液学杂志,2009,17(3):706-712.

[6] 邓晓惠.生殖医学技术及其彩色图谱[M].济南:山东科学技术出版社,2004:122-123.


(收稿:2010-10-22 修回:2010-11-22)

(编辑 邓强庭)