Chula Med J Vol. 58 No. 1 January-February 2014

A study of 17 short tandem repeat loci mutation in Thai population

Kornkiat Vongpaisarnsin* Nat Tansrisawad**
Udomsak Hoonwijit** Teerachote Jongsakul**

Vongpaisarnsin K, Tansrisawad N, Hoonwijit U, Jongsakul T. A study of 17 short tandem repeat loci mutation in Thai population. Chula Med J 2014 Jan – Feb:58(1): 19 - 26

Background : *In paternity testing, differences at genetic loci between the alleged parent and the child would lead to the exclusion of biological paternity. Although rare, transmission inconsistent in paternity testing or single mismatches in DNA profiles may occur, possibly due to either germline or somatic mutation. When single locus discrepancy is present, the mutant allele is hypothesized that mutation occurs possibly in either father or mother.*

Objective : *The objective of this paper is to report the mutation events related to many short tandem repeat (STR) loci that are frequently used and applied in various scenarios of forensic statistics.*

Design : *A descriptive study.*

Setting : *Forensic Serology and DNA, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.*

Materials and Methods : *In all, 11,280 meiosis transmissions from 630 paternity testing cases were investigated in Thai population from 2004 to 2010. Each locus was counted and analyzed as percentage of maternal or paternal mutation rate with 95% confidence interval. The mutation was described as the losses or gains of the repeat units.*

* Forensic Serology and DNA Unit, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

** Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

Results : *There were 24 mutations at 10 loci. The observed mutation rate was ranged as 1.3 - 6.6 × 10^{-3}(10 STR loci) per locus per gamete per generation. The mutation was more frequently presented in the paternal than the maternal germline.*

Conclusion : *This is the preliminary study of mutation rate of STR loci observed in Thai population. The overall mutation rate is 1.9 × 10^{-3} per locus per gamete per generation. This mutation information is useful for forensic statistics to provide more accuracy STR calculation results.*

Keywords : *Short tandem repeat, mutation, paternity testing.*

Reprint request: Vongpaisarnsin K. Forensic Serology and DNA Unit, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
E-mail: Kornkiat.V@chula.ac.th

Received for publication. July 5, 2013.

กรเกียรติ วงศ์ไพศาลสิน, ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์, อุดมศักดิ์ หุ่นวิจิตร, ธีรโชติ จองสกุล. การศึกษาอัตราการกลายของดีเอ็นเอชนิด Short tandem repeat 17 ตำแหน่ง ในประชากรไทย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร ม.ค. – ก.พ. ;58(1): 19 – 26

เหตุผลของการทำวิจัย : *ในการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างบิดามารดาบุตรด้วยดีเอ็นเอชนิด Short tandem repeat นั้น ผลการปฏิเสธความสัมพันธ์หมายถึง การที่ดีเอ็นเอของบิดาหรือมารดาที่แท้จริงไม่สอดคล้องกับบุตร แต่อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่ผลการตรวจเกิดการไม่สอดคล้องของดีเอ็นเอเพียงหนึ่งตำแหน่ง ซึ่งอาจเกิดจากผลที่เกิดจากการถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่ผิดพลาด ซึ่งหนึ่งในสมมติฐานที่อาจเกิดขึ้นได้คือ การเกิดการกลายของดีเอ็นเอชนิด Short tandem repeat*

วัตถุประสงค์ : *เพื่อศึกษาอัตราการกลายของดีเอ็นเอชนิด Short tandem repeat 17 ตำแหน่ง ในประชากรไทย ค่าอัตราการกลายในแต่ละตำแหน่งนั้น มีผลต่อการคำนวณค่าทางสถิติของนิติพันธุศาสตร์เพื่อให้ได้ผลการคำนวณที่แม่นยำยิ่งขึ้น*

รูปแบบการวิจัย : *การศึกษาวิจัยเชิงพรรณนา*

สถานที่ทำการศึกษา : *หน่วยนิติเซโรวิทยา และดีเอ็นเอ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

ตัวอย่างและวิธีการศึกษา : *ทำการคัดเลือกประชากรไทยที่มารับบริการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างบิดามารดาบุตร จำนวน 11,280 ความสัมพันธ์ จากจำนวนทั้งสิ้น 630 ครอบครัว ระหว่างปี ค.ศ.2004-2010 โดยแต่ละตำแหน่งจะทำการนับจำนวนการเกิดการกลายคิดเป็นร้อยละ บนค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ซึ่งการกลายนั้นจะถูกวิเคราะห์ และบรรยายในลักษณะของการเพิ่มขึ้น หรือขาดหายไปของจำนวนชุดดีเอ็นเอซ้ำ*

ผลการศึกษา : *พบว่ามีการกลายเกิดขึ้น 24 ครั้งจากตำแหน่งดีเอ็นเอ 10 ตำแหน่ง อัตราการกลายอยู่ในช่วง 1.3 - 6.6 $\times 10^{-3}$ ต่อตำแหน่งต่อเซลล์สืบพันธุ์ต่อรุ่น โดยที่อัตราการกลายส่วนมากมักพบในความสัมพันธ์สายบิดา มากกว่าความสัมพันธ์สายมารดา*

สรุป : *การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นที่ติดตามอัตราการกลายของดีเอ็นเอชนิด Short tandem repeat 17 ตำแหน่ง ที่เกิดขึ้นในประชากรไทย โดยมีอัตราการกลายรวมเท่ากับ 1.9×10^{-3} ต่อตำแหน่งต่อเซลล์สืบพันธุ์ต่อรุ่น ซึ่งค่าอัตราการกลายในแต่ละตำแหน่งนั้นสามารถนำไปใช้ประกอบการคำนวณค่าทาง สถิติของนิติพันธุศาสตร์เพื่อให้ได้ผลการคำนวณที่แม่นยำยิ่งขึ้น*

คำสำคัญ : *Short tandem repeat, อัตราการกลายของดีเอ็นเอ, การตรวจพิสูจน์, ความสัมพันธ์ระหว่างบิดามารดาบุตร.*

Short tandem repeats (STR) is a potential DNA marker used in paternity test as well as forensic identification. There have been astonishing development and major contributions in STR markers since 13 CODIS STR loci were announced by the FBI. National STR databases have rapidly been emerging. There have been many publications regarding allele frequencies of each STR locus in different ethnic groups that were used to calculate in many forensic statistics' parameters.[1] In conclusive paternity test, the observed alleles from the alleged father, mother, and the child should be calculated for a likelihood ratio. However, in case of single discrepancy locus is presented, the mutation event of such must be concerned. The objective of this paper is to report the mutation events related to many STR loci that are frequently applied in various scenarios of forensic statistics.

Materials and Methods

Sample collection and DNA extraction

In total, 630 families with Thai nationality were included in this study that performed paternity test in Forensic Serology and DNA Unit, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University from 2004 to 2010. We collected 2,402 EDTA blood samples then extracted with one of these available kits, e.g. Chelex 100, QIAamp® DNA micro kit and DNA IQ™ system.

Amplification and typing

Two multiplex commercial kits, PowerPlex ® 16 loci (Penta E, D18S51, D21S11, TH01, D3S1358, FGA, TPOX, D8S1179, vWA, D5S818, Penta D, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317 and Amelogenin) and AmpF/STR Identifiler 16 loci (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA and Amelogenin), were carried on GeneAmp® PCR System 9700 according to the manufacturer's instructions. The capillary electrophoresis was performed by Applied Biosystems 3130*xl* Genetic Analyzer. The DNA amplicon sizes were analyzed and identified using GeneMapper®ID version 3.1 software.

Analysis of data

The suspected allele was described in case of single locus discrepancies between parent and child while the other STR loci were consistent with paternity. The shortest mutational step was firstly considered as a mutant allele.[1] In case of the mutational step could possibly originated by both parents, the uncertain of mutation origin was marked. The mutation was counted in terms of losses or gains of the repeat units. Each locus was calculated for the percentage of mutation rates with 95% confidence interval separately in the part of paternal and maternal germlines using SPSS statistic software. [4] The observed mutation rates were compared to that of the Chinese and North American populations. [5,6]

Results

There were 24 mutations disseminated in 10 different loci (Table 1) from 11,280 meiosis transmission data. The mutation was more frequently presented in the paternal than the maternal germline, the observed mutation ratio for paternal/maternal was 2:1. The observed mutation rate was ranged as 1.3 - 6.6 $\times 10^{-3}$ and the overall mutation rate was

2.1×10^{-3} per locus per gamete per generation (Table 2). The relatively high of total mutation rate when compared to the Chinese and North American population data, was presented in vWA (0.66%), D13S317 (0.53%), D7S820 (0.40%) and D19S433 (0.31%) (Figure 1).

Table 1. The mutation lists demonstrate mismatch loci and categorize pattern of possible maternal or paternal mutation

No.	Loci	Paternal	Child	Maternal	Possible mutation	
1	D2S1338	19/25	20/23	16/23	+1	Paternal
2	D5S818	10/11	10/12	11/13	-1/+1	Maternal
3	D7S820	12/12	11/11	8/11	-1	Paternal
4	D7S820	10/13	10/12	10/11	?	?
5	D7S820	12/12	11/13	11/11	+1	Paternal
6	D13S317	8/10	8/12	11/11	+1	Maternal
7	D13S317	11/12	12/13	8/12	+1	?
8	D13S317	8/13	9/10	10/12	+1	Paternal
9	D13S317	11/11	8/8	8/11	-3	Paternal
10	D18S51	20/22	16/23	16/16	+1	Paternal
11	D18S51	16/24	15/23	15/15	-1	Paternal
12	D16S539	10/13	10/11	12/12	-1	Maternal
13	D16S539	10/14	12/13	12/12	-1	Paternal
14	D19S433	14.2/15.2	13.2/14	14/15.2	-1	Paternal
15	D19S433	13/14	13/13.2	13/14.2	-1	Maternal
16	D21S11	32.2/34.2	29/32.2	30/32.2	-1	Maternal
17	D21S11	28/30	30/32.2	29/33.2	-1	Maternal
18	FGA	24/27	25/26	24/25	-1	Paternal
19	FGA	24/26	24/25	22/24	-1/+1	Paternal
20	vWA	15/16	17/17	-	+1	Paternal
21	vWA	18/19	17/20	14/17	+1	Paternal
22	vWA	18/19	16/20	15/16	+1	Paternal
23	vWA	18/18	15/19	14/15	+1	Paternal
24	vWA	14/17	17/18	16/19	-1	Maternal

? = uncertain mutation origin.

Table 2. Mutation results from 17 loci STR (two commercial kits commonly share the same 13 CODIS loci with their difference in Penta D, Penta E, D2S1338 and D19S433)

Loci	Paternal	Maternal	Paternal mutation	Maternal mutation	Unassigned	Paternal mutation (%)	95% Confidence intervals	Maternal mutation (%)	95% Confidence intervals	Total Mutation (%)	95% Confidence intervals
D8S1179	261	491	0	0	0	0.00	0.00-1.40	0.00	0.00-0.75	0.00	0.00-0.49
D21S11	261	491	0	2	0	0.00	0.00-1.40	0.41	0.05-1.46	0.27	0.03-0.96
D7S820	261	491	2	0	1	0.77	0.09-2.74	0.00	0.00-0.75	0.40	0.08-1.16
CSF1PO	261	491	0	0	0	0.00	0.00-1.40	0.00	0.00-0.75	0.00	0.00-0.49
D3S1358	261	491	0	0	0	0.00	0.00-1.40	0.00	0.00-0.75	0.00	0.00-0.49
TH01	261	491	0	0	0	0.00	0.00-1.40	0.00	0.00-0.75	0.00	0.00-0.49
D13S317	261	491	2	1	1	0.77	0.09-2.74	0.20	0.01-1.13	0.53	0.15-1.36
D16S539	261	491	1	1	0	0.38	0.01-2.12	0.20	0.01-1.13	0.27	0.03-0.96
vWA	261	491	4	1	0	1.53	0.42-3.88	0.20	0.01-1.13	0.66	0.22-1.54
TPOX	261	491	0	0	0	0.00	0.00-1.40	0.00	0.00-0.75	0.00	0.00-0.49
D18S51	261	491	2	0	0	0.77	0.09-2.74	0.00	0.00-0.75	0.27	0.03-0.96
D5S818	261	491	0	1	0	0.00	0.00-1.40	0.20	0.01-1.13	0.13	0.00-0.74
FGA	261	491	2	0	0	0.77	0.01-2.12	0.00	0.00-0.75	0.27	0.03-0.96
D2S1338	219	432	1	0	0	0.46	0.01-2.52	0.00	0.00-0.85	0.15	0.00-0.85
D19S433	219	432	1	1	0	0.46	0.01-2.52	0.23	0.01-1.28	0.31	0.04-1.11
Penta D	42	59	0	0	0	0.00	0.00-8.41	0.00	0.00-6.06	0.00	0.00-3.59
Penta E	42	59	0	0	0	0.00	0.00-8.41	0.00	0.00-6.06	0.00	0.00-3.59
Total	3,915	7,365	15	7	2						

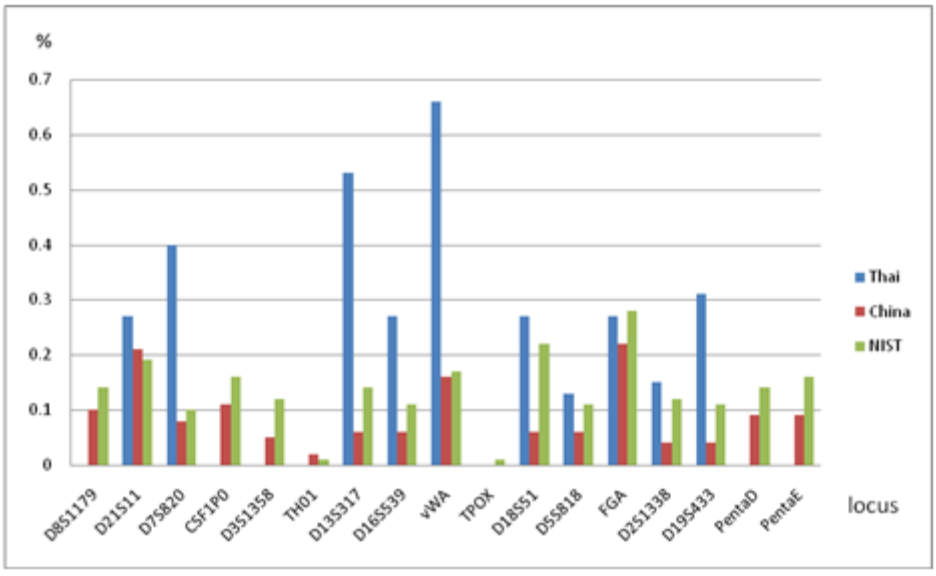

Figure 1. The total mutation rates from 3 populations were compared which the significant difference was presented in some loci (D7S820, D13S317, vWA and D19S433)

Discussion

The STR mutation was described in its mutation event with approximately 10^{-3} per locus per gamete per generation.[2] The single repeat mutation has been more frequently found with 90% than double and rarely observed in multiple repeat mutations. [3,5] The repeat lengths and structures of microsatellites have indicated that either the shorter or interrupted allele is fewer than the often observed mutation. [5,8]

According to our study, 24 mutations present at 10 loci. The observed mutation rate was 1.3×10^{-3} to 6.6×10^{-3} (10 STR loci) and the overall mutation rate was 1.9×10^{-3} per locus per gamete per generation. The mutation was more frequently presented in paternal than maternal germline, the observed mutation ratio for paternal/maternal is 2:1. Interestingly, the D13S317 locus in the 4th family (Table 1) shows three steps of paternal mutation. Two hypotheses were considered whether the dropout of allele 11 in the questioned child by primer binding mutation or the existence of allele caused by sequence deletion. The previous study has reported the D13S317 multistep microsatellite mutation occurred by maternal meiosis event. [9] However, the D13S317 mutation observed by NIST [7], the paternal meiosis (0.14%) is 3.5 more predominate than the maternal (0.04%) in accordance with this paper is 3.85 (0.77/0.2, paternal/maternal). Finally, this is the preliminary mutation rate studied in Thai population with its limitation of the small sample size. The larger STR data sets should be studied and compared for more accurate mutation rate.

Conflict of interest

We hereby declare no conflict of interest in our study.

References

1. Budowle B, Shea B, Niezgoda S, Chakraborty R. CODIS STR loci data from 41 sample populations. J Forensic Sci 2001 May;46(3): 453-89
2. Weber JL, Wong C. Mutation of human short tandem repeats. Hum Mol Genet 1993 Aug;2(8): 1123-8
3. Valdes AM, Slatkin M, Freimer NB. Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited. Genetics 1993 Mar; 133(3):737-49
4. SPSS Inc. SPSS Base 10.0 for Windows User's Guide. Chicago, IL: SPSS Inc., 1999
5. Brinkmann B, Klintschar M, Neuhuber F, Huhne J, Rolf B. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. Am J Hum Genet 1998 Jun; 62(6):1408-15
6. Yan J, Liu Y, Tang H, Zhang Q, Huo Z, Hu S, Yu J. Mutations at 17 STR loci in Chinese population. Forensic Sci Int 2006 Oct; 162(1-3):53-4
7. NIST Standard Reference Database [online]. 2003 [cited 2013 May 3]. Available from: http://www.cstl.nist.gov/strbase/mutation.htm
8. Xu X, Peng M, Fang Z. The direction of microsatellite mutations is dependent upon allele length. Nat Genet 2000 Apr;24(4):396-9
9. Singh ND, Alam M, Bhavani SA, Nagaraju J. Multistep microsatellite mutation in the maternally transmitted locus D13S317: a case of maternal allele mismatch in the child. Int J Legal Med 2006 Sep;120(5):286-92