

ICS 13.310
A 92

GA

中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T 1163—2014

人类 DNA 荧光标记 STR 分型结果的 分析及应用

Analysis and application of human DNA fluorescent STR typing results

2014-05-09 发布

2014-05-09 实施



中华人民共和国公安部 发布

中华人民共和国公共安全
行业标准
人类 DNA 荧光标记 STR 分型结果的
分析及应用
GA/T 1163—2014

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 18 千字
2014 年 7 月第一版 2014 年 7 月第一次印刷

*

书号: 155066·2-27208 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由全国刑事技术标准化技术委员会(SAC/TC 179)提出并归口。

本标准起草单位：上海市公安局、公安部物证鉴定中心、浙江省公安厅、江苏省公安厅、北京市公安局。

本标准主要起草人：周怀谷、叶健、吴微微、王林生、唐晖、平原。

人类 DNA 荧光标记 STR 分型结果的 分析及应用

1 范围

本标准规定了法庭科学领域使用的人类 DNA 荧光标记 STR 分型结果的基本要求。
本标准适用于所有使用人类 DNA 荧光标记 STR 分型结果的领域。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GA/T 965—2011 法庭科学 DNA 亲子鉴定规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

个人识别能力 discrimination power; DP

从群体中随机抽取两名个体,其遗传标记表型不相同的概率。

3.2

匹配概率 probability of matching; PM

人群中随机抽取两个无关个体在特定基因座两者的基因型纯粹由于机会一致的几率。

3.3

似然率 likelihood rate; LR

对于同一证据在不同假设条件下的两个概率的比值。

3.4

Y 染色体短串联重复序列 short tandem repeat of Y-chromosome; Y-STR

存在于人类 Y 染色体上的短串联重复序列。

3.5

遗传差异度 genetic diversity; GD

Y-STR 鉴别能力的指标。GD 值即 Y-STR 的个体识别能力 DP 值,也等于其非父排除概率(PE)。

3.6

非父排除概率 probability of exclusion; PE

不是孩子生父的男子能被遗传标记排除的概率。

3.7

父权指数 paternity index; PI

亲子关系鉴定中判断遗传证据强度的指标。

4 分型结果的分析

4.1 分型结果的基本要求

4.1.1 样本分型图谱清晰,峰高大于 100 相对荧光单位,等位基因的碱基数与 Ladder 相应等位基因的碱基数偏差介于 ± 0.5 bp 之间。

4.1.2 每一内标峰标定正确。

4.1.3 Ladder 每个基因座的等位基因峰均在规定的范围之内,等位基因命名正确无误。

4.1.4 已知阳性参照物的分型结果正确,阴性参照物无基因峰。

4.1.5 每个基因座都有一个基因峰(纯合子)或两个基因峰(杂合子)。纯合子时,一个基因座基因峰的峰面积约为相邻基因座杂合子基因峰的一倍;杂合子时,一个基因座的两个基因峰的峰面积比值大于 70%。

4.2 影子峰的分析

4.2.1 在 STR 分型图谱中,一个目标等位基因型峰前小一个重复单位的位置出现一个信号较弱的峰为影子峰(stutter peak)。绝大部分影子峰是由于 STR 扩增中出现复制滑脱,减少一个重复单位而产生,一般峰高不超过目的等位基因峰的 15%。在一个基因座内片段长度较长的等位基因的影子峰产物量更多。

4.2.2 当一个样本的分型图谱中,全部或大部分 STR 基因座的每个等位基因峰前小一个重复单位的位置出现一个小峰,峰面积与目的等位基因峰面积比值小于 15%,判断为影子峰。当分型图谱中将其显示为等位基因时,可通过人工修正删除该峰的命名。

4.2.3 检验中可通过减少扩增时的样本 DNA 量、减少电泳上样量等来降低影子峰对分型的影响。

4.3 双尖峰和平头峰的分析

4.3.1 在 STR 分型图谱中,一个目标等位基因型峰的尖端部分分叉形成两个峰尖,或形成平头,分别称为双尖峰(split peak)和平头峰(off-scale)。在 PCR 反应中,DNA 聚合酶在扩增产物的 3' 末端非特异性地连接一个腺苷酸。为保证扩增产物的碱基数完全相同,通过引物设计和扩增结束后的保温,使每个扩增产物的 3' 末端都被添加一个碱基 A。如果加碱基 A 只完成一部分,会使同一个等位基因片段含有加碱基 A 和未加碱基 A 的两种 DNA 片段,两者相差一个碱基,形成双尖峰或平头峰。

4.3.2 双尖峰现象在小片段等位基因比大片段等位基因更常见。分析软件会将加碱基 A 产物峰片段以 Ladder 中相应等位基因的大小命名,而未加碱基 A 的产物则以 OL 命名。当一个样本的分型图谱中,如果小片段等位基因没有双尖峰,而在大片段某个等位基因出现单一的双尖峰时,应该考虑样本在该基因座出现等位基因微变异。在排除等位基因微变异的前提下,可通过人工修正删除 OL 命名。

4.3.3 检验中可通过纯化样本 DNA、减少扩增时的样本 DNA 量及延长扩增循环后的延伸时间来消除双尖峰或平头峰。

4.4 微变异峰的分析

4.4.1 与完全重复的等位基因峰仅有细微差别的等位基因峰称为微变异峰(microvariants),一般位于与 ladder 上相应等位基因 0.5 bp 范围之外,分析软件自动命名为 OL,又称 off-ladder 峰(OL 峰)。OL 峰大部分是由于电泳过程中漂移偏离所致,少部分是出现了等位基因微变异。

4.4.2 因电泳过程中漂移偏离产生的 OL 峰,可分析其前后已自动化正确命名的片段相对与 Ladder 等位基因的漂移偏离情况,对 OL 峰进行漂移校正,人工修正命名。

4.4.3 因等位基因微变异而产生的 OL 峰,可根据该 OL 峰比 Ladder 对应峰大 1 bp、2 bp、3 bp……,进

行人工修正命名为.1、.2、.3。OL 峰的计算方法见附录 D。

4.4.4 多泳道毛细管电泳时,ladder 同时电泳可消除因电泳条件(缓冲液、胶、室温)的细微差异导致漂移偏离产生的 OL 峰。也可以通过更换缓冲液、胶和提高室温来减少因电泳过程中漂移偏离产生的 OL 峰。

4.5 拔起峰的分析

4.5.1 带有一种荧光的扩增产物峰在另一种荧光检测结果中能够表现出来的峰称为拔起峰或渗透峰(pull-up 峰)。拔起峰是由于检测仪器无法正确识别标记 STR 扩增产物的染料颜色,光谱相互叠加形成的干扰峰。

4.5.2 当一个样本的分型图谱中,主峰所在等位基因的另一纵轴线其他所有颜色上均有相应的吸收峰时,判断为拔起峰。

4.5.3 拔起峰可通过减少扩增时的样本 DNA 量来消除。

4.6 等位基因丢失的分析

4.6.1 在 STR 分型图谱中,一个基因座检出一个等位基因,与纯合子的检测结果相似,但峰面积值与信号强度与相邻杂合子的单峰面积值相当,考虑为等位基因丢失(dropout)。当扩增包含 STR 重复区域的 DNA 片段时,因重复区域内部或侧翼序列或引物结合区发生单碱基突变,阻碍引物的结合,导致扩增失败,无法检测到模板 DNA 中本身存在的一个等位基因。

4.6.2 考虑有等位基因丢失可能时,更换不同引物序列的检测试剂盒重新检测。

4.7 三等位基因型的分析

4.7.1 在 STR 分型图谱中,单一样本的某一基因座检出三个等位基因峰,并具有重复性。三等位基因型形成的原因是出现额外的染色体或者引物结合区点突变。

4.7.2 在多个基因座分析检测体系中,仅极个别样本在一个基因座出现三个等位基因,不符合混合样本特征,并具有重复性,判断为三等位基因型。

4.8 非特异峰的分析

4.8.1 非特异峰可包括染料峰、荧光污染峰和伪峰。

4.8.2 染料峰是由于荧光染料脱离相应引物,单独通过毛细管时产生的;荧光污染峰是由于抗菌素、维生素、多环芳香族化合物、荧光助色物质、各种纺织染料等在 500 nm~600 nm 有荧光而产生的;伪峰主要由气泡、尿素结晶或电压波动引起。

4.8.3 染料峰通常相当宽,并占有分型所用染料的光谱,可通过对 PCR 产物的纯化去除;荧光污染峰通常比较宽,拥有较宽的荧光光谱范围,可通过有机提取法去除;伪峰通常尖锐且出现在四种颜色的相同位置,没有重复性。

4.9 混合样本的分析

4.9.1 混合样本是指被测样本来自两个或两个以上的个体,图谱上在多个基因座观察到三个或三个以上等位基因峰。

4.9.2 两组分的混合样本较为常见,在一个基因座上有四个等位基因时,可有 3 对等位基因组合;有三个等位基因时,可有 6 对等位基因组合;有两个等位基因时,可有 4 种等位基因组合;有一个等位基因时,只有一种可能,即两个个体均为纯合子且等位基因相同。

4.9.3 当混合样本只来源于两个个体,且有对照样本时,可根据对照样本筛选出另一样本的等位基因型。当两个样本混合比例大于 10:1,且均为杂合子时,较少成分样本的等位基因峰高与较多成分样本的等位基因峰高有明显的差异,故可简单根据峰高推断两个样本的等位基因型。

4.9.4 当混合样本来源于两个个体,峰高相差不大,且无对照样本;或混合样本来源于两个个体以上;图谱中多个基因座出现 5 个及 5 个以上等位基因峰时,不主观判读等位基因型。

5 分型结果的应用和评估

5.1 个体识别

5.1.1 分型结果的应用

人类荧光标记 STR-DNA 分型结果可应用于个体识别,即通过比较案发现场收集到的法医物证检材与比对样本的遗传标记,判断前后两次或多次出现的个体是否为同一个体。若两份检材的遗传标记表型不同,可明确得出结论两份检材不是来自同一个体;若遗传标记表型相同,则称为两份检材的遗传标记表型匹配,即不能排除两份检材来自同一个体。

5.1.2 分型结果的评估

5.1.2.1 匹配。两个检材在所检测的多个遗传标记表型一致时判断为匹配,检测出的遗传标记不少于 13 个 STR 基因座。匹配概率按附录 A 计算,似然率按附录 B 计算。

5.1.2.2 不匹配。在排除拔起峰、等位基因丢失、非特异峰等前提下,两个检材在所检测的遗传标记表型一个及以上不同判断为不匹配。

5.2 亲子鉴定

由于子代的基因一半来自于父亲,一半来自于母亲,故人类常染色体 STR-DNA 分型结果可应用于亲子鉴定,即夫妻和孩子三份样本所检测的多个遗传标记的分型结果,孩子的一半等位基因来自父亲,另一半等位基因来自母亲时,不排除该夫妻为孩子的生身父母。见 GA/T 965—2011。

5.3 父系推测

5.3.1 由于 Y-STR 呈父系遗传特征,只能由父亲传递给儿子,故人类 Y 染色体 STR-DNA 分型结果可应用于父系推测,即两份样本所检测的多个遗传标记的分型结果完全一致时,不排除该两份样本所属个体为同一父系。

5.3.2 人类 Y 染色体的每个遗传标记,一般对一个个体来说只有单一等位基因,从每个遗传标记获得的遗传信息往往用单倍型来表述。

5.3.3 两个检材在所检测的多个遗传标记表型一致时,不排除为同一父系。遗传差异度按附录 C 计算。

5.3.4 为了避免潜在突变的影响,任何情况下都不能仅根据一个遗传标记不一致就排除为同一父系。

6 分型结果的表示

6.1 常染色体 STR 多态性检验结果的描述,根据 ISFH(国际法医血液遗传学会)标准列出所检验检材或样本的各个基因座的基因型。检验结果以表格的形式列出,标明检材或样本的编号、基因座名称及分型。基因型以数字表示,数字间以“,”(半格)分隔;纯合子只标出 1 个数字;未得到分型或无法明确判定分型的标为“-”;Amelogenin 基因座可缩写为“Amel.”,标为 X 或 X,Y。

6.2 进行 Y 染色体 STR 多态性检验结果的描述时,根据 ISFH(国际法医血液遗传学会)标准,报告各个 Y 染色体基因座的基因型。检验结果以表格的形式列出,标明检材或样本编号、基因座名称及分型。基因型以数字表示,数字间以“,”(半格)分隔;未得到分型或无法明确判定分型的标为“-”。

附 录 A
(规范性附录)
随机匹配概率计算

在法医物证学范畴内,随机匹配概率 PR 是指一名无关个体纯粹由于机会与检材分型结果一致的概率。计算公式为:

$$PR(E | HD) = 1 \times P(X)。$$

式中随机匹配概率(E|HD),竖线右边为条件,左边为事件; $P(X)$ 为人群中这种 DNA 分型的频率,以频率估计概率,即为发现这种 DNA 分型的理论概率。随机匹配概率越小,遇到这种个体的可能性越小,支持现场检材是嫌疑人留下的假设。

附 录 B
(规范性附录)
似然率计算

似然率基于两个假设,一个现场检材是嫌疑人所留(原告假设)和现场检材是一个与案件无关的随机个体所留(被告假设),计算公式为: $LR=PR(E/HP)/PR(E/HD)$ 。

(HP)现场检材是嫌疑人所留(原告假设),(HD)现场检材是一个与案件无关的随机个体所留(被告假设), $PR(E|HP)$ 为原告假设 HP 条件下获得证据 DNA 图谱的概率, $PR(E|HD)$ 为被告假设 HD 条件下获得证据 DNA 图谱的概率。似然率在数值上超过 1,证据支持原告假设(HP);反之,如果小于 1,则支持被告假设(HD)。

附 录 C
(规范性附录)
遗传差异度(GD)计算

遗传差异度值即 Y-STR 的个体识别能力 DP 值,也等于其非父排除概率(PE)。计算公式为:

$$GD = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

p_i 是指第 i 个等位基因或单倍型的频率。

附录 D
(资料性附录)
OL 峰的计算方法

一样本电泳图谱示 D7S820 基因座中紧邻等位基因 10 有一个形状相同的 OL 峰,该 OL 峰命名的计算方法为:

- a) 显示同时电泳 Ladder 该基因座等位基因 10、11 的 bp 值:分别为 229.68 和 233.59;
 - b) 显示样本等位基因 10 和 OL 峰的 bp 值:分别为 229.76 和 230.67;
 - c) 样本等位基因 10 的 bp 值减去 Ladder 等位基因 10 的 bp 值:
 $229.76 - 229.68 = 0.08$
 表明样本等位基因 10 相对于 Ladder 漂移了 0.08 bp;
 - d) OL 峰的 bp 值扣除漂移,减去 Ladder 等位基因 10 的 bp 值:
 $230.67 - 0.08 - 229.68 = 0.91$
 表明 OL 峰比 Ladder 等位基因 10 大了 0.91 bp;
 - e) OL 峰的 bp 值扣除漂移,被 Ladder 等位基因 11 的 bp 值减:
 $233.59 - (230.67 - 0.08) = 3$
 表明 OL 峰比 Ladder 等位基因 11 小了 3 bp。
- 为此,可以将 OL 峰命名为 10.1。
-



GA/T 1163—2014

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·2-27208

定价: 16.00 元