

SF

中华人民共和国司法行政行业标准

SF/T 0135—2023

法医微单倍型遗传标记分型与应用技术
规范

Technical specification for microhaplotype genotyping and forensic application

2023 - 10 - 07 发布

2023 - 12 - 01 实施

中华人民共和国司法部 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 缩略语	2
5 总体要求	2
6 检验程序	2
7 结果应用	3
附录 A（资料性） 可用于族源推断的微单倍型遗传标记信息	4
参考文献	8

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由司法鉴定科学研究院提出。

本文件由司法部信息中心归口。

本文件起草单位：司法鉴定科学研究院、复旦大学、南京医科大学、四川大学。

本文件主要起草人：李成涛、张素华、陈峰、梁伟波、陶瑞昉。

法医微单倍型遗传标记分型与应用技术规范

1 范围

本文件规定了法医微单倍型遗传标记分型与应用的总体要求、检验程序和结果应用。
本文件适用于实验室采用微单倍型遗传标记开展族源推断、混合物分析、个体识别或亲缘关系鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 1162 法医生物检材的提取、保存、送检规范

SF/T 0069 法医物证鉴定实验室管理规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

微单倍型 microhaplotype; MH

在300 bp DNA区域内包含2个或2个以上连锁SNP位点，可检测到3种或3种以上单倍型（等位基因）的多态性遗传标记。

注1：微单倍型突变率与SNP相当，杂合度高于单个SNP基因座，可用于族源推断、混合物分析、个体识别与亲缘关系鉴定等法医学研究与应用。

注2：微单倍型的命名规则可参考：mh或MH+染色体编号（两位数，如04）+由2个或3个大写字母表示的团队名称+团队赋予该微单倍型标记的唯一性编号，如mh11KK180代表Kenneth. Kidd团队发现的位于11号染色体上的180号微单倍型。

3.2

有效等位基因数 effective number of allele

A_e

理想群体中（所有等位基因的频率相等），一个基因座上产生与实际群体中相同的纯合度所需的等位基因数。

$$A_e = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

式中：

p_i —— i 个单倍型（等位基因）的频率。

注： A_e 等于实际群体的纯合度的倒数，能反映群体遗传变异的大小。

3.3

信息量 informativeness

I_n

遗传标记在不同群体中观察到的单倍型（等位基因）频率的变化情况。

$$I_n = \sum_{j=1}^N (-p_j \log p_j) + \sum_{i=1}^K \frac{p_{ij}}{K} \log p_{ij}$$

式中：

i ——人群数（ $i=1, 2, \dots, K$ ）；

- j ——遗传标记的等位基因数目 ($j=1, 2, \dots, N$) ;
 p_j ——遗传标记上第 j 个等位基因在人群中的平均分布频率;
 p_{ij} ——遗传标记上等位基因 j 在人群 i 中的分布频率。

注：用于评价多等位基因遗传标记提供的先祖信息。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DNA：脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid)

PCA：主成分分析 (Principal Component Analysis)

SNP：单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphisms)

5 总体要求

5.1 鉴定机构应具有从事法医物证的执业范围，且应满足以下要求：

- 对所有影响鉴定结果的人员岗位规定相应的能力要求，包括教育、资质、培训、专业知识和技能等，并保留相关记录，制定适宜的培训计划并组织实施；
- 依据第 6 章和第 7 章的规定，对鉴定人以及参与鉴定工作的人员进行监督，以评价其鉴定工作的符合性和满意程度，监督的结果作为培训需求评价的依据之一；
- 具有能识别样本的标识系统，并确保样本在鉴定过程期间能得到持续的识别；
- 建立样本的运输、接收、处置、保护、存储、保留和/或清理的规定，能对接收、内部传递、处置、保留、返还和清理等过程进行记录，确保记录的完整性和可追溯性。

5.2 鉴定人应具有法医物证鉴定执业资格，熟悉并掌握法医微单倍型遗传标记分型的原理和方法，并能正确使用分析软件、统计软件对分型结果进行分析、评价与应用。

5.3 鉴定活动应包括检验（采样、DNA 提取、DNA 定量、微单倍型分型）和结果应用等环节。鉴定活动结束后，应将各个环节的记录进行归档。

5.4 实验室的基本要求以及样本管理、设备管理和质量管理等应符合 SF/T 0069 的规定。

6 检验程序

6.1 采样

样本的采集、包装和保存要求如下：

- 样本一般为血液（斑）、唾液（斑）、口腔拭子、带毛囊毛发、精液（斑）、羊水或组织块等；
- 对于接受了外周血干细胞移植的被鉴定人，应避免采集其血样作为检验样本，宜取其口腔拭子、唾液、毛发或指甲等；
- 样本应分别包装，进行唯一性标识并注明样本类型、采样日期和采集人等；
- 样本的提取、保存与送检按照 GA/T 1162 执行。

6.2 DNA 提取

DNA 提取主要包括裂解和纯化两个步骤。裂解是使生物样本中的 DNA 游离到裂解体系中，纯化是使 DNA 与其他成分（如蛋白质、多糖和脂类等）彻底分离。

DNA 提取应满足以下要求：

- 根据样本种类、数量和保存条件等进行综合分析，有针对性地选择提取方法；
- 提取过程中避免物理因素（如剪切力、高温等）、化学因素（如强酸、强碱等）和生物因素（如核酸酶等）的破坏，保证一级结构的完整性；
- 提取过程中避免外界环境（如灰尘、气溶胶等）对 DNA 提取的污染；排除其他分子（如蛋白质、多糖、脂类和有机溶剂等）的污染；以及防止试验过程中的废弃物和废弃液等对环境的污染。

6.3 DNA 定量

6.3.1 紫外分光光度法

利用DNA在260 nm附近有最大吸收值的特性，采用紫外分光光度计和超微量分光光度计等对DNA进行定量。检测试剂和方法可参照说明书。

6.3.2 荧光定量法

利用荧光染料标记DNA的荧光强度与DNA含量成正比的特点，采用荧光定量仪对DNA进行定量。检测试剂和方法可参照说明书。

6.4 微单倍型分型

6.4.1 微单倍型遗传标记的选择

法医物证实验室选择常染色体微单倍型遗传标记开展族源推断、混合物分析、个体识别或亲缘关系鉴定时，宜参考 ALFRED 网站 (<https://alfred.med.yale.edu/alfred/index.asp>)、MicroHapDB 数据库 (<https://osf.io/gr7h6/>) 和文献中已发表的、位于非重组热点区域的遗传标记。宜采用 $I_n > 0.185$ 的微单倍型用于族源推断，采用 $A_e > 3$ 的微单倍型用于混合物分析，采用 $A_e > 3$ 且杂合度 > 0.4 的微单倍型用于个体识别或亲缘关系研究。

在千人基因组的 26 个研究群体中 $I_n > 0.185$ ，可用于族源推断的微单倍型遗传标记信息见附录 A。在中国汉族人群中 $A_e > 3$ 且杂合度 > 0.4 的微单倍型遗传标记推荐如下：

mh01CP008、mh01CP012、mh01CP016、mh01KK117、mh01KK205、mh01KK211、mh02KK134、mh02KK136、mh04CP002、mh04CP003、mh04CP007、mh04KK030、mh05CP004、mh05CP006、mh05KK020、mh05KK170、mh06CP003、mh06CP007、mh09KK153、mh10CP003、mh10KK163、mh11CP003、mh11CP005、mh11KK180、mh12KK046、mh12KK202、mh13CP008、mh13KK213、mh13KK217、mh13KK218、mh13KK225、mh14CP003、mh14CP004、mh15CP001、mh15KK066、mh16KK255、mh16KK302、mh17CP001、mh17CP006、mh17KK272、mh18CP003、mh18CP005、mh19CP007、mh19KK299、mh20KK058、mh20KK307、mh21KK315、mh21KK324、mh01SHY001、mh02SHY001、mh06SHY005、mh07SHY001、mh02zha013。

6.4.2 微单倍型遗传标记的检测

应根据需检测的微单倍型标记数目和实验室条件等选择合适的单链测序方法。宜采用高通量测序 (high-throughput sequencing)。具体操作应按照相应的试剂盒和仪器操作说明书执行。

每批检测均应设置阳性对照样本（已知浓度和基因型的对照品DNA或已检验过的、已知基因型的样本）以及不含人类基因组DNA的阴性对照样本。

6.4.3 微单倍型遗传标记的结果判读

根据所选用的检测方法采用合适的序列分析软件判读微单倍型遗传标记的单倍型基因分型。单倍型等位基因应包含目标SNP位点的碱基分型结果并顺序标识，其中未得到分型或无法明确判定分型的标为“-”。

示例：mh11KK180 包含 4 个 SNP 位点 (rs12802112/rs28631755/rs4752777/rs7112918)，在中国汉族人群中共检测到 9 种单倍型等位基因，包括 AATC、AACC、AATG、ACCC、ACCG、ACTC、ACTG、GCCG、GCTC。

7 结果应用

7.1 族源推断

宜根据微单倍型遗传标记上检测到的单倍型等位基因数据，采用PCA、STRUCTURE分析和系统发育树绘制等手段，推断样本的族源信息。

7.2 混合物分析

宜根据微单倍型遗传标记上检测到的单倍型等位基因数目、单倍型等位基因测序深度等综合判断混合物中贡献者数目及贡献者单倍型。

7.3 个体识别或亲缘关系鉴定

微单倍型遗传标记可作为辅助遗传标记应用于个体识别或亲缘关系鉴定，宜按照相关标准和科学文献等所描述的方法进行。

附录 A

(资料性)

可用于族源推断的微单倍型遗传标记信息

表A.1给出了在千人基因组的26个研究群体中 $I_n > 0.185$, 可用于族源推断的微单倍型遗传标记信息。

表A.1 可用于族源推断的微单倍型遗传标记信息

序号	微单倍型	包含的 SNP 位点
1	mh01CP007	rs74887893/rs80137938/rs861907
2	mh01CP008	rs10803282/rs10803283/rs10927447
3	mh01CP012	rs12026749/rs1283256/rs8179472
4	mh01CP016	rs11206620/rs4927251/rs6684891
5	mh01KK001	rs4648344/rs58111155/rs6663840/rs6688969
6	mh01KK070	rs1801131/rs4846051
7	mh01KK072	rs1251078/rs1251079
8	mh01KK106	rs12123330/rs16840876/rs4468133/rs56212601
9	mh01KK117	rs1610400/rs1610401/rs17413714/rs2772234
10	mh01KK172	rs1887284/rs3128342/rs3766176
11	mh01KK205	rs11810587/rs1336130/rs1533622/rs1533623
12	mh01KK210	rs2165332/rs7536195
13	mh01KK211	rs16835127/rs2341465/rs2490423
14	mh02CP004	rs4668522/rs4669133/rs55990245
15	mh02KK003	rs11123719/rs11691107/rs260694
16	mh02KK004	rs13424991/rs3731611/rs3731612
17	mh02KK073	rs1374748/rs7583554
18	mh02KK102	rs2169812/rs2378217/rs6542783
19	mh02KK105	rs2280355/rs2280356
20	mh02KK131	rs1466020/rs17488897
21	mh02KK134	rs12469721/rs3101043/rs3111398/rs72623112
22	mh02KK136	rs12617010/rs6714835/rs6756898
23	mh02KK138	rs2595202/rs2595203/rs4953292/rs59298278/rs6715568/rs6759301
24	mh02KK139	rs12623957/rs3827760
25	mh02KK201	rs1371048/rs786247
26	mh02KK202	rs12464185/rs13422174
27	mh02KK213	rs1519654/rs7568519/rs7577785
28	mh02KK215	rs16832624/rs2011946
29	mh03KK006	rs1919550/rs9873644
30	mh03KK007	rs4513489/rs6441961
31	mh03KK008	rs17030627/rs6808142
32	mh03KK009	rs3732783/rs6280
33	mh03KK216	rs1046953/rs2072053
34	mh04CP002	rs34017818/rs35619595/rs6814654
35	mh04CP003	rs10006433/rs2980189/rs58595616
36	mh04CP007	rs4697751/rs4698039/rs4698040
37	mh04KK010	rs3135123/rs495367
38	mh04KK011	rs6531591/rs6855439
39	mh04KK013	rs11725922/rs13131164/rs17088476/rs3775866/rs3775867
40	mh04KK015	rs12648443/rs2584457
41	mh04KK016	rs2032350/rs2851017
42	mh04KK017	rs1442492/rs2584461/rs4699748
43	mh04KK019	rs17731793/rs2122136
44	mh04KK028	rs283413/rs3762896
45	mh04KK029	rs59534319/rs971074

表 A.1 可用于族源推断的微单倍型遗传标记信息 (续)

序号	微单倍型	包含的 SNP 位点
46	mh04KK030	rs16844737/rs1884411/rs1884412/rs4916615
47	mh04KK074	rs11932595/rs17085763
48	mh05CP004	rs150628/rs16883189/rs61243436
49	mh05CP006	rs12653673/rs6555064/rs6555065
50	mh05CP010	rs62349578/rs62349579/rs62349580/rs62349581
51	mh05KK020	rs2278324/rs2278325/rs525735/rs617938
52	mh05KK022	rs41461/rs41462
53	mh05KK062	rs870347/rs870348
54	mh05KK078	rs2234233/rs2234234
55	mh05KK079	rs2234232/rs41469
56	mh05KK122	rs1010872/rs28777
57	mh05KK123	rs1423676/rs28117
58	mh05KK124	rs35414/rs3756464
59	mh05KK170	rs370672/rs438055/rs6555108/rs74865590
60	mh06CP003	rs12202010/rs4960100/rs4960101
61	mh06CP007	rs4142082/rs558006/rs6906397
62	mh06KK026	rs179939/rs4431439/rs4565296
63	mh06KK030	rs10949381/rs607341/rs675934
64	mh06KK031	rs10455681/rs10455682
65	mh06KK080	rs2056941/rs2056942
66	mh06KK101	rs2180052/rs9356632
67	mh07KK030	rs10226425/rs2330425/rs967066
68	mh07KK031	rs10246622/rs17168174
69	mh07KK081	rs28365094/rs41303343
70	mh07KK082	rs150209521/rs713598
71	mh08KK032	rs1390950/rs2898295
72	mh09KK020	rs10810635/rs10962598/rs10962599/rs73649032
73	mh09KK033	rs10815466/rs17431629/rs9408671
74	mh09KK034	rs1408800/rs1408801
75	mh09KK152	rs10780576/rs10867949/rs4282648/rs7046769
76	mh09KK153	rs10125791/rs2987741/rs7047561
77	mh09KK157	rs2073578/rs56256724/rs606141/rs633153/rs8193001
78	mh09KK161	rs16932430/rs4741823
79	mh10CP003	rs10764460/rs220365/rs727269
80	mh10KK083	rs11568732/rs12248560
81	mh10KK084	rs1058930/rs11572103
82	mh10KK085	rs11572076/rs2275622
83	mh10KK086	rs17110453/rs7909236
84	mh10KK087	rs10884095/rs1452267
85	mh10KK088	rs2515641/rs55897648
86	mh10KK101	rs915907/rs915908
87	mh10KK163	rs3814588/rs3814589/rs3814590/rs6602026/rs9423466
88	mh10KK170	rs12359688/rs2250840/rs2250841
89	mh11CP003	rs12289831/rs2045045/rs2045046
90	mh11CP004	rs35728001/rs76882177/rs77516091
91	mh11CP005	rs7118419/rs72865222/rs7926642
92	mh11KK036	rs10500616/rs2499936
93	mh11KK037	rs10898849/rs341065/rs395447
94	mh11KK038	rs2303377/rs2303378
95	mh11KK039	rs10891537/rs2288159
96	mh11KK040	rs11214596/rs4938013
97	mh11KK041	rs6275/rs6277

表 A.1 可用于族源推断的微单倍型遗传标记信息 (续)

序号	微单倍型	包含的 SNP 位点
98	mh11KK089	rs1124492/rs1124493
99	mh11KK090	rs1079597/rs1079598
100	mh11KK091	rs1799732/rs1799978
101	mh11KK180	rs12802112/rs28631755/rs4752777/rs7112918
102	mh11KK187	rs17137917/rs17137926/rs493442/rs551850
103	mh11KK191	rs12289401/rs12420819/rs12421109/rs770566
104	mh12KK042	rs593226/rs7969300
105	mh12KK043	rs11062734/rs11613749/rs17780102
106	mh12KK045	rs2133298/rs3817446
107	mh12KK046	rs11068953/rs1503767
108	mh12KK092	rs2707209/rs2857234
109	mh12KK093	rs11111391/rs7970874
110	mh12KK202	rs10506052/rs10506053/rs4931233/rs4931234
111	mh13CP008	rs9507311/rs9553248/rs9553249
112	mh13KK047	rs2066700/rs806301
113	mh13KK213	rs679482/rs8181845/rs9510616
114	mh13KK217	rs2765614/rs7320507/rs9562648/rs9562649
115	mh13KK218	rs1927847/rs7492234/rs9536429/rs9536430
116	mh13KK225	rs4884651/rs7329287/rs9529023
117	mh13KK226	rs2892698/rs721367
118	mh14CP003	rs12436504/rs66481544/rs7155003
119	mh14CP004	rs11157032/rs11157033/rs11157034
120	mh14KK048	rs12717560/rs12878166
121	mh14KK101	rs10134526/rs28529526
122	mh15CP001	rs12899727/rs34090207/rs369577479
123	mh15CP003	rs12440416/rs578662/rs58022506
124	mh15CP004	rs28628574/rs34306395/rs506120
125	mh15KK066	rs1063902/rs4219
126	mh15KK067	rs701463/rs701464
127	mh15KK069	rs1800410/rs1900758
128	mh15KK095	rs2433354/rs2459391
129	mh16KK053	rs11150606/rs201075024
130	mh16KK062	rs28485311/rs28503604/rs8055777
131	mh16KK096	rs1805007/rs885479
132	mh16KK255	rs16956011/rs3934955/rs3934956/rs4073828
133	mh16KK302	rs1395579/rs1395580/rs1395582/rs9939248
134	mh17CP001	rs36040276/rs4792125/rs62063465
135	mh17CP006	rs2215237/rs62069897/rs9897281
136	mh17KK014	rs11657785/rs333113/rs8074965
137	mh17KK052	rs1059504/rs8327
138	mh17KK053	rs3760370/rs3760371
139	mh17KK054	rs2233362/rs634370
140	mh17KK055	rs11868709/rs9907137
141	mh17KK077	rs4074461/rs4074462
142	mh17KK105	rs1052553/rs11568305/rs17652121
143	mh17KK110	rs8075367/rs9908046
144	mh17KK272	rs16955257/rs2934897/rs7207239/rs7212184
145	mh18CP003	rs12970683/rs58533252/rs78549053
146	mh18CP005	rs595107/rs62085085/rs690302/rs77849214
147	mh18KK285	rs16940823/rs17187688/rs17187695/rs1945150
148	mh18KK293	rs621320/rs621340/rs621766/rs678179
149	mh19CP007	rs10417429/rs10417450/rs34190726

表 A.1 可用于族源推断的微单倍型遗传标记信息（续）

序号	微单倍型	包含的 SNP 位点
150	mh19KK056	rs1055919/rs2271057
151	mh19KK057	rs12462026/rs17717333/rs7250849
152	mh19KK299	rs12985452/rs2361019/rs2860462/rs4932769/rs4932999
153	mh19KK301	rs10408037/rs10408594/rs11084040/rs8104441
154	mh20KK058	rs6012881/rs6095836/rs6122890
155	mh20KK059	rs10854214/rs10854215
156	mh20KK307	rs16997830/rs17674942/rs6044080/rs6044081
157	mh21KK313	rs6586324/rs6586325/rs6586326
158	mh21KK315	rs6517971/rs8126597/rs8131148
159	mh21KK316	rs17002090/rs2830208/rs961301/rs961302
160	mh21KK324	rs2838868/rs6518223/rs7279250/rs8133697
161	mh22KK060	rs4680/rs4818
162	mh22KK064	rs136177/rs60910145/rs71785313/rs73885319
163	mh22KK303	rs4633/rs6267/rs740602/rs76452330

参 考 文 献

- [1] Rosenberg NA, Li LM, Ward R, Pritchard JK. Informativeness of genetic markers for inference of ancestry. *Am J Hum Genet.* 2003,73(6):1402-22
- [2] Kidd KK, Speed WC. Criteria for selecting microhaplotypes: mixture detection and deconvolution. *Investig Genet.* 2015,6:1
- [3] Oldoni F, Kidd KK, Podini D. Microhaplotypes in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet.* 2019,38:54-69
- [4] Tao R, Yang Q, Xia R, Zhang X, Chen A, Li C and Zhang S. A sequence based 163plex microhaplotype assay for forensic DNA analysis. *Front. Genet.* 2022,13:988223
- [5] Chen P, Deng C, Li Z, Pu Y, Yang J, Yu Y, Li K, Li D, Liang W, Zhang L, Chen F. A microhaplotypes panel for massively parallel sequencing analysis of DNA mixtures. *Forensic Sci Int Genet.* 2019,40:140-149
- [6] Zhu J, Lv M, Zhou N, Chen D, Jiang Y, Wang L, He W, Peng D, Li Z, Qu S, Wang Y, Wang H, Luo H, An G, Liang W, Zhang L. Genotyping polymorphic microhaplotype markers through the Illumina[®] MiSeq platform for forensics. *Forensic Sci Int Genet.* 2019,39:1-7
- [7] Standage DS, Mitchell RN. MicroHapDB: A Portable and Extensible Database of All Published Microhaplotype Marker and Frequency Data. *Front Genet.* 2020,11:781
- [8] Zhang R, Tan Y, Jian H, Qu S, Liu Y, Zhu J, Wang L, Lv M, Liao M, Zhang L, Yang F, Liang W. A new approach to detect a set of SNP-SNP markers: Combining ARMS-PCR with SNaPshot technology. *Electrophoresis.* 2020,41(13-14):1189-1197
-