



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108517363 A

(43)申请公布日 2018.09.11

(21)申请号 201810189741.7

(22)申请日 2018.03.08

(71)申请人 深圳华大法医科技有限公司

地址 518083 广东省深圳市盐田区北山工业
业区11栋8楼

(72)发明人 李生斌 王泳钦 杨慧 龚雨晴

(74)专利代理机构 深圳鼎合诚知识产权代理有
限公司 44281

代理人 廖金晖 彭家恩

(51) Int. Cl.

C12Q 1/6888(2018.01)

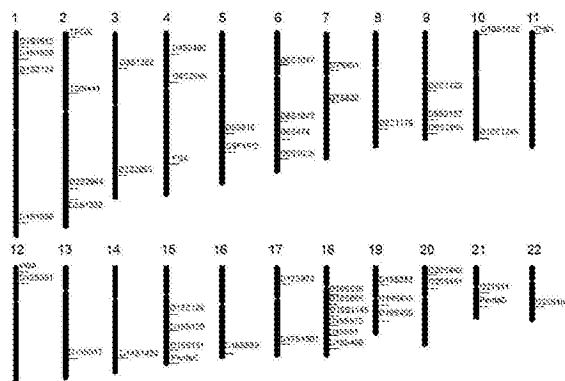
权利要求书1页 说明书28页 附图2页

(54)发明名称

一种基于二代测序的个体识别体系、试剂盒及其用途

(57)摘要

本发明公开了一种基于二代测序的个体识别体系、试剂盒及其用途,个体识别体系包括针对112个STR位点和318个SNP位点设计的引物序列,112个STR位点包括53个常染色体STR位点、23个X染色体STR位点及35个Y染色体STR位点和一个性别决定位点AMEL;318个SNP位点包括186个常染色体SNP位点、69个X染色体SNP位点、57个Y染色体SNP位点、及6个血型表型相关SNP位点。本个体识别体系只需要一次扩增就能同时获得常染色体、X染色体、Y染色体上的二代或三代遗传标记信息,减少操作步骤,缩短实验时间,适用于全球不同国家不同地区人群的DNA分型检测。



1. 一种基于二代测序的个体识别体系,其特征在于,包括针对112个STR位点和318个SNP位点同时扩增设计的引物序列,所述112个STR位点包括53个常染色体STR位点、23个X染色体STR位点及35个Y染色体STR位点和一个性别决定位点AMEL;所述318个SNP位点包括186个常染色体SNP位点、69个X染色体SNP位点、57个Y染色体SNP位点、及6个血型表型相关SNP位点。

2. 如权利要求1所述的基于二代测序的个体识别体系,其特征在于,
所述53个常染色体STR位点对应的引物序列如SEQ ID NO.1至SEQ ID NO.106所示;
所述性别决定位点AMEL和23个X染色体STR位点、35个Y染色体STR位点对应的引物序列如SEQ ID NO.107至SEQ ID NO.224所示;

所述186个常染色体SNP位点对应的引物序列如SEQ ID NO.225至SEQ ID NO.596所示;
所述69个X染色体SNP位点对应的引物序列如SEQ ID NO.597至SEQ ID NO.734所示;
所述57个Y染色体SNP位点对应的引物序列如SEQ ID NO.735至SEQ ID NO.848所示;
所述6个血型表型相关SNP位点对应的引物序列如SEQ ID NO.849至SEQ ID NO.860所示。

3. 如权利要求2所述的基于二代测序的个体识别体系,其特征在于,一个位点对应一对引物,采用3对引物分别扩增6个血型表型相关SNP位点。

4. 一种DNA分型检测的方法,其特征在于,采用权利要求1至3任一项所述的个体识别体系分型检测DNA。

5. 如权利要求4所述的方法,其特征在于,所述112个STR位点和318个SNP位点在同一个人PCR扩增反应体系中同时扩增或者分开扩增。

6. 如权利要求5所述的方法,其特征在于,所述PCR扩增反应体系包括15u1的DNA聚合酶、5u1的引物混合物、1u1的DNA模板和4u1的去离子水。

7. 如权利要求5所述的方法,其特征在于,所述PCR扩增反应体系的温度循环包括四次循环,其中第一循环为在温度为95℃时间为5min条件下的1个循环;第二循环包括三个阶段的30个循环,所述三个阶段包括在温度为94℃时间为30s条件下的第一阶段、在温度为56℃时间为90s条件下的第二阶段、以及在温度为72℃时间为30s条件下的第三阶段;第三循环为在温度为72℃时间为10min条件下的1个循环;第四循环为在温度为4℃时间不限条件下的1个循环。

8. 一种试剂盒,其特征在于,包括引物混合物,所述引物混合物包括权利要求1至3任一项所述的引物序列。

9. 如权利要求8所述的试剂盒,还包括缓冲液、DNA聚合酶、DNA模板和去离子水;
任选的,所述DNA模板来源包括血液、血斑、血浆、毛囊和口腔拭子。

10. 如权利要求9所述的试剂盒在个体身份识别、亲缘关系鉴定、母血分型、混合复杂样本分型、二代DNA档案建立、血型鉴定及芯片生产中的应用。

一种基于二代测序的个体识别体系、试剂盒及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及基因技术领域,具体涉及一种基于二代测序的个体识别体系、试剂盒及其用途。

背景技术

[0002] 短串联重复序列(Short Tandem Repeat,STR),又称微卫星DNA或简单序列重复(Simple Sequence Repeats,SSR),是一类广泛存在于人类基因组中的重复序列,它由2-6个碱基对构成核心序列,呈串联重复排列。STR在人类基因组中数量大、分布广泛、具有高度的遗传多态性、检测方法简单,因而被广泛应用于个体识别、亲权鉴定和群体遗传学研究。

[0003] SNP(Single Nucleotide Polymorphism,单核苷酸多态性)是指基因组内DNA中某一特定核苷酸位置上存在转换、颠换、插入、缺失等变化。SNP作为第三代遗传标记在法医学鉴定中具有一定的优势。第一,密度大、分布广,SNP的位点极其丰富,几乎遍及整个基因组,据估计基因组中大约平均每1000bp就会出现一个SNP;第二,相对稳定,SNP具有相对较低的自发突变率(10^{-8});第三,二等位基因,SNP标记在人群或生物群体中一般只有两种等位型(allele)故亦称为双等位标记(bi-allelic marker),也使其分型结果的分析简便易行;第四,片段短。单个的SNP位点扩增产物可以控制在150bp以下,容易实现多个位点的同时扩增,并有利于降解检材的分型。

[0004] 目前DNA分型检测主要采用的技术是毛细管电泳(capillary electrophoresis,CE)。其原理是通过检测带有不同荧光基团的扩增片段长度对DNA进行分型,这就容易导致STR位点的一些杂合基因由于等位基因序列不同但长度相同而被判别为纯合。并且毛细管电泳采用多色荧光复合扩增技术,为在各色荧光中安置更多的位点,设计引物时一些位点会保留较长的侧翼序列,导致其扩增片段长,不利于降解检材的分型。此外,毛细管电泳技术一次只能检测少量样本的数十个位点。因此,利用毛细管电泳的一代STR分型技术难以处理诸如复杂的亲缘关系鉴定、大规模灾难的遗骸身份鉴定或者混合复杂的样本等。

[0005] 二代测序技术又称为下一代测序技术(Next generation sequencing,NGS)。其高通量的特点可以实现在一次测序中同时对大量样本的STR、SNP、插入缺失多态性(Indel)等遗传标记进行检测,由于检测对象是核酸片段的序列多态性,测序可精确分析各位点的序列差异,适用于混合样本的分析。并且二代测序技术对各位点的长度没有限制,所以可以设计适当短的核酸片段,有利于降解检材的精确分型检测。

[0006] 现有技术中,一代的毛细管电泳技术DNA分型方法,采用多色荧光复合扩增技术,通常扩增片段长,难以对陈年旧案、腐败尸体或大规模灾难的遗骸等陈旧、高腐的样本进行分型;同时一代毛细管电泳技术一次只检测常染色体STR或者X染色体STR或者Y染色体STR的数十个位点,难以对复杂的亲缘关系鉴定;同时一代的毛细管电泳技术DNA分型方法对长度多态性而非序列多态性进行分型,所以难以处理混合复杂的样本等。利用一代毛细管电泳技术一次只能处理少数样本,通量较低。基于二代测序技术的Illumina MiSeq FGx价格昂贵,且有些识别位点在中国群体中的多态性较差,并不适合中国人群的DNA分型。同时

Illumina MiSeq FGx的平台兼容性不够且有些PCR产物长度长,难以处理陈旧、高度降解的样本。

发明内容

[0007] 本申请提供一种通量大、适合不同群体及灵敏度高的个体识别体系、试剂盒及其用途。

[0008] 根据第一方面,一种实施例中提供一种基于二代测序的个体识别体系,包括针对112个STR位点和318个SNP位点同时扩增设计的引物序列,112个STR位点包括53个常染色体STR位点、23个X染色体STR位点及35个Y染色体STR位点和一个性别决定位点AMEL;318个SNP位点包括186个常染色体SNP位点、69个X染色体SNP位点、57个Y染色体SNP位点、及6个血型表型相关SNP位点。

[0009] 进一步地,所述53个常染色体STR位点对应的引物序列如SEQ ID NO.1至SEQ ID NO.106所示;

[0010] 所述性别决定位点AMEL和23个X染色体STR位点、35个Y染色体STR位点对应的引物序列如SEQ ID NO.107至SEQ ID NO.224所示;

[0011] 所述186个常染色体SNP位点对应的引物序列如SEQ ID NO.225至SEQ ID NO.596所示;

[0012] 所述69个X染色体SNP位点对应的引物序列如SEQ ID NO.597至SEQ ID NO.734所示;

[0013] 所述57个Y染色体SNP位点对应的引物序列如SEQ ID NO.735至SEQ ID NO.848所示;

[0014] 所述6个血型表型相关SNP位点对应的引物序列如SEQ ID NO.849至SEQ ID NO.860所示。

[0015] 进一步地,一个位点对应一对引物,采用3对引物分别扩增6个血型表型相关SNP位点。

[0016] 根据第二方面,一种实施例中提供一种DNA分型检测的方法,其特征在于,采用权利要求1至3任一项的个体识别体系分型检测DNA。

[0017] 进一步地,112个STR位点和318个SNP位点在同一个PCR扩增反应体系中同时扩增或者分开扩增。

[0018] 进一步地,PCR扩增反应体系包括15u1的DNA聚合酶、5u1的引物混合物、1u1的DNA模板和4u1的去离子水。

[0019] 进一步地,PCR扩增反应体系的温度循环包括四次循环,其中第一循环为在温度为95℃时间为5min条件下的1个循环;第二循环包括三个阶段的30个循环,所述三个阶段包括在温度为94℃时间为30s条件下的第一阶段、在温度为56℃时间为90s条件下的第二阶段、以及在温度为72℃时间为30s条件下的第三阶段;第三循环为在温度为72℃时间为10min条件下的1个循环;第四循环为在温度为4℃时间不限条件下的1个循环。

[0020] 根据第三方面,一种实施例中提供一种试剂盒,包括引物混合物,引物混合物包括权利要求1至3的引物序列。

[0021] 进一步地,试剂盒还包括缓冲液、DNA聚合酶、DNA模板和去离子水;

[0022] 任选的,DNA模板来源于包括血液、血斑、血浆、毛囊和口腔拭子。

[0023] 根据第四方面,一种实施例中提供一种上述试剂盒在个体身份识别、亲缘关系鉴定、母血分型、混合复杂样本分型、二代DNA档案建立和血型鉴定中的应用。

[0024] 依据上述实施例的基于二代测序的个体识别体系、试剂盒及其用途,由于个体识别体系包括针对112个STR位点和318个SNP位点设计的引物序列,位点覆盖全基因组,只需要一次扩增就能同时获得常染色体、X染色体、Y染色体上的二代或三代遗传标记信息,减少操作步骤,缩短实验时间。具体的,其中位点包括新CODIS系统的20个STR位点,AmpFLSTR®Yfiler™试剂盒的16个STR位点以及公安部建库要求的20个STR位点,同时在二代遗传标记中还增加了在中国群体中多态性和稳定性较好的位点,适用于全球不同国家不同地区人群的DNA分型检测;并且本个体识别体系以尽可能短的扩增片段涵盖STR位点,其中包括15个核心序列为2bp和3bp重复的1obSTR位点,此外本体系还包括一个主要扩增产物小于100bp的SNP位点集合,加上二代测序系统固有的高灵敏度,有利于法医学微量、陈旧、降解检材分型。

附图说明

[0025] 图1为常染色体STR位点的在人类基因组中的定位示意图;

[0026] 图2为性染色体STR位点的在人类基因组中的定位示意图。

具体实施方式

[0027] 下面通过具体实施方式结合附图对本发明作进一步详细说明。

[0028] 在本发明实施例中提供了一种基于二代测序的个体识别体系,本个体识别体系包括针对112个STR位点和318个SNP位点设计的引物序列,引物序列用于对不同基因位点进行分型扩增,从而本个体识别体系能同时检测112个STR和318个SNP位点,位点覆盖全基因组。本个体识别体系也将STR位点和SNP位点分开单独扩增,可根据实际需求选择扩增的位点。

[0029] 112个STR位点包括53个常染色体STR位点、23个X染色体STR位点及35个Y染色体STR位点和一个性别决定位点AMEL。其中,常染色体STR位点的在人类基因组中的定位图如图1所示,性染色体STR位点在人类基因组中的定位图如图2所示。

[0030] 318个SNP位点包括186个常染色体SNP位点、69个X染色体SNP位点、57个Y染色体SNP位点、及6个血型表型相关SNP位点。

[0031] 每一个位点对应设计一对引物,一对引物用于从两端同时扩增位点的DNA片段。

[0032] 具体的,53个常染色体STR位点及对应的引物序列如表1所示。其中53个STR位点分别分布在22对常染色体上,53个常染色体STR位点对应的引物序列如SEQ ID NO.1至SEQ ID NO.106所示。

[0033] 所述的一个性别决定位点AMEL和23个X染色体STR位点、35个Y染色体STR位点对应的引物序列如SEQ ID NO.107至SEQ ID NO.224如表2所示;

[0034] 186个常染色体SNP位点及对应的引物序列如表3所示。

[0035] 69个X染色体SNP位点及对应的引物序列如表4所示。

[0036] 57个Y染色体SNP位点及对应的引物序列如表5所示。

[0037] 6个血型表型相关SNP位点及对应的引物序列如表6所示。

[0038] 表1.常染色体STR位点序列信息

[0039]

序号	位点名称	chr	正向引物序列 (SEQ ID NO.)	反向引物序列 (SEQ ID NO.)
1	DIS1612	1	CCAAAATTCTTAGGCTGTTT (1)	AAAGAAAAGAGAAAGAAAGGAA (2)
2	DIS1628	1	CTGCATAGCAATTGAGCATTGA (3)	TTAAGCTCCATGATCCAGTGT (4)

[0040]

3	DIS1656	1	GAAAATGAATCCATAGGGAA (5)	TGCTCAACCCTCAAGTGT (6)
4	DIS2134	1	AGAGGTAGAGATGGTGACA (7)	TCCTGACTCTATTTCTATCTA (8)
5	D2S1338	2	AAGGAGTTTGCAGGAGGGAA (9)	GGGCAGCCAGTGGATTTGGCAA (10)
6	D2S2944	2	GATGGCAAAAAGATTCAAGTTA (11)	GTGTTACATGGATGAATGGAGAG (12)
7	D2S441	2	TCATGACGCCAGGAAGTGTG (13)	GAGCTAAGTCGGGCTGTGG (14)
8	TPOX	2	AGAAGCAGGCACTTACGGAA (15)	CTCCC GCGCTAGGCCGTTT (16)
9	D3S1358	3	GCTTGCCATGTATCTATCTCGT (17)	GAGTCAGAGCAAGACCCTGTCT (18)
10	D3S3053	3	TGAGTGCGGTTTGTGATATGAT (19)	TCTTTGCTCTCATGAATAGATCA (20)
11	D4S2408	4	ATAAGCAGTTCAATAGAAACCT (21)	GACTCGAAAAATAGTAACCGTT (22)
12	D4S2995	4	GGCTCGCGTAATTTGTGTGTCGA (23)	TCCTGATCTGAGAAGTAGCAA (24)
13	FGA	4	GGCAAGGAGAAAAGAAACAAA (25)	TAAAATTAAGGCATATTTACAA (26)
14	CSF1PO	5	AGCACCTGTTCTAAGTAGTTC (27)	ATTAACACGTAAGTGCCTTCAT (28)
15	D5S818	5	TAGGGACAGTTTACAACATTC (29)	TGTATTTCTCTTTGGTATCC (30)
16	D6S1017	6	GATGCGTGGATGCATGAAAAA (31)	GTCACCCCGTCCATTTGAGC (32)
17	D6S1025	6	CCACCAAGGAAAAGACAGAGT (33)	CTCGTCTTCTGCACAAGTAC (34)
18	D6S1043	6	ATTGTCTATGAGCCACTTGCCAT (35)	AGGATGGGTGGATCAATAGATT (36)
19	D6S474	6	GGTTTTCCAAGAGATAGACC (37)	TCATAAATCCCTACTCATATCTAT (38)
20	D7S801	7	GACAGGATTTGTGAGGATCAT (39)	CCACTGTCCCATCCCCCA (40)
21	D7S820	7	ATAAAAAAAAAACTATCAATCTG (41)	CATAGTTTAGAACGAACATAA (42)
22	D8S1179	8	GGCAACTTATATGTATTTTGTATTTT (43)	GCCTTAATTAATTTACCTATCCTGTA (44)
23	D9S1122	9	GGGGTATTTCAAGATAACTG (45)	CTGCAAAGCTCTAGTTTAGTGCT (46)
24	D9S2157	9	GGCAAAGCGAGACTCTGT (47)	GAGGCAAAATGCTATCCTCGTTT (48)
25	D9S2168	9	TGGCTTCTACCCCATGATTC (49)	GAACACACCTGTACAGGCAC (50)
26	D10S1248	10	AATTCTGAACAAATGAGTGAGTGGA (51)	CAACTCTGGTTCGTATTCTCTT (52)
27	D10S1435	10	TTATAATGCGTCATTGAGTTTATT (53)	CTGTCTCGAAAAATAAACAGA (54)
28	TH01	11	GTGCAGGTCAGACCAGGGAACA (55)	GCCTGCTTCTCCCTTAGTTTCC (56)
29	D12S391	12	ATCAACAGGATCAATGGATGC (57)	AGCTAATGCCCTCTAATAAATCC (58)
30	vWA	12	ACAGATGATAAATACATAGGAT (59)	AGTGGATGACTGTAAGAATAATCA (60)
31	DI3S317	13	TCTAACGCGTCTATCTGTATTTA (61)	CAGCCCAAAAAGCGACAGAC (62)
32	DI4S1434	14	CAATTCCTTGCTTAATAACTCTA (63)	AACCAATAGGAGCGTAGTGGA (64)
33	DI5S128	15	GCTGATGATGGAACGAAGGA (65)	GCTACAGGCTACTGATAAAAACA (66)
34	DI5S129	15	TCTTTGCGGACCGTGTTC (67)	TTAATAAGCTGGAGTGCACCAC (68)

[0041]

35	D15S131	15	GAAAGCAACTCACTACTCT (69)	CCAGTTAATTCCTTCTAAC (70)
36	PentaE	15	TATTAATTGAGAAAACCTCC (71)	CTGAGCAAGACTCAGTCTC (72)
37	D16S539	16	TCCTGTGCTCCCTAGATCCTAATA (73)	TCTCTGTTCAATTGTCTTTCAATGAT (74)
38	D17S1301	17	AGAACTGATGAAATTCGCCA (75)	TAAAAAGAATGAAGGTAAAAAT (76)
39	D17S974	17	GATAGATCTGGGATAGGTAGGCA (77)	ACCCAAAACGTTGAATGTCATA (78)
40	D18S1145	18	CTAGTGGGTCGAGGCCACTTCA (79)	GCCACTCAGTTTGTTGGTATAATT (80)
41	D18S466	18	GCATAATGTTGATGGTTTGGAAATG (81)	GCACTCGAGGATGGCTCTCTATT (82)
42	D18S51	18	GTGACAAGIATTGAGACCTTGICT (83)	GAGAIGCTCTTACAATAACAGTTG (84)
43	D18S535	18	AGCCACACCCATAACT (85)	ATGAGAATGCAGAGAAAAGAGAATC (86)
44	D18S865	18	TTTTATGAGCCAAATTCCTTGTA (87)	GCATTTCTTTGGATAAACTGAACCA (88)
45	D18S872	18	TAAATTTTCATGCTTTCTGATGCTTA (89)	TGCATCACTCGCAGCGTTTGGC (90)
46	D19S253	19	GGGAAATGCTATCATGTTATTCTC (91)	TAGACAGACAGATGCGGACTGA (92)
47	D19S400	19	GTICTTATCTGTTCTGTCTATCT (93)	ATAAATAAATAAAGCGTACAGACGG (94)
48	D19S433	19	CCCGAATAGTGAAAATCTTCTC (95)	CCTGGGCGTCAACAGAATAAGAT (96)
49	D20S161	20	TTAAGTGACTGTTTGTCCACCA (97)	TTGCCCTATACTGATCATTATTC (98)
50	D20S482	20	TCTGTTTCAGAGAATGCACCGA (99)	CCATAACCAGTGCATGAATCAATTCC (100)
51	D21S11	21	ACTTTTGCTGCTCAGTCTCC (101)	CAGAGAATCAGACTGCTAATAGGA (102)
52	PentaD	21	GCAAGTGTGTGCCACCATCTCAA (103)	GTTTATAGTGATTCTCTTTTGGCC (104)
53	D22S1045	22	GCGTATCGGGCTAGTTAATCC (105)	TATGATTGGCATGCATATTTTATAA (106)

[0042] 表2. 性染色体STR位点序列信息

[0043]

序号	位点名称	chr	正向引物序列 (SEQ ID NO.)	反向引物序列 (SEQ ID NO.)
54	AMEL	XY	GGGCGTCGCTCTGTTTAGAATA (107)	TCAGACGTTAAAGCTGGCAAG (108)
55	HPRTB	X	TTTGTGCTCTCTATCTCTATCTGT (109)	AGCACAACGGCATCATGTATTG (110)
56	DXS6795	X	CTTCAGTGTGTTGACATGGCTT (111)	CCATCCCCIAAACCTCTCAT (112)
57	DXS6801	X	CAGAATCAGTAGGATATCTCTCT (113)	CTCTAACAAGTCTCCTTTCACAT (114)
58	DXS6803	X	AGTATGATGCTAGAATATTCACCT (115)	GGAACATATGCTACTTTATCTCG (116)

[0044]

59	DXS6807	X	AGATATATAGTAAAAATACTCC (117)	TAAACATGTACTTAGCGAAAAA (118)
60	DXS6810	X	CCCAAAATATATGTGGTCA (119)	AATGTTATCTACATGATAGGGAG (120)
61	DXS7130	X	GAATATAGAGGAAGGGGAAATCA (121)	GGACCTCAGTTCAAAAGAAAT (122)
62	DXS7132	X	CCAAACTCTATTAGTCAACG (123)	GACCCGATTTTCATAATAAAAT (124)
63	DXS7133	X	GCTTGGCTTAGATGCGATTCA (125)	CTIACCAGAATCAGAAGTCT (126)
64	DXS7423	X	TCAGTGCACAATAATAAATGA (127)	TGCCCTTATCACCCAGATT (128)
65	DXS7424	X	GCCTGCGTGA CTGGGATC (129)	GAACATATACATTCAGCAT (130)
66	DXS8378	X	ATTTCCATCTCTGTCTCCATCTTG (131)	GGAGAAGGGCATGAATFIG (132)
67	DXS981	X	AAGCTAGGAACTGATAATACA (133)	GAGTCCTGTGCTTAGGTCTG (134)
68	DXS9895	X	CACGTGGGAACTTATGGGAGT (135)	GACTTGTCTGACGAAATATTCA (136)
69	DXS9898	X	CGAGCCACAGCCTACAAAAG (137)	ATCCAGATAGACAGATCAATAG (138)
70	DXS9902	X	CAGGCAGTATGGGATCATCCA (139)	GTAAGCTTTTCTGTGGCTGAA (140)
71	DXS10074	X	TTGTGTGCTGTGCATGCATAC (141)	GAATATAAGCTGATTTGTTCTA (142)
72	DXS10075	X	GCACGTGCTATAAAACTAAGA (143)	AAGATATTGCAGAGAAGAAT (144)
73	DXS10103	X	AACTAGATCTAAGACTGACAG (145)	AGAACCAGGGGAATGAATAT (146)
74	DXS10135	X	CAAATGGGGCATCTACAAGAA (147)	GTGAACCAACGTTGTGTTTCT (148)
75	GATA165B12	X	TATCATCAGCAATCATCTATCCG (149)	GTTGACTGTCGTGATTCCTG (150)
76	GATA172D05	X	GAACGATGGGATATGTGGTG (151)	GGATTCGAAAAAGATCTATAT (152)
77	GATA31E08	X	AGCTGGTGACATGCTGATAGAT (153)	TTATGTGTGATGTGATCTCC (154)
78	DYS19	Y	AAGGAGTGACCCATCTGGGTT (155)	TACTGAGTTTCTCAIGTATAGTG (156)
79	DYS385a-b	Y	TACATAGTCTCCTTCTTTTTT (157)	CAACAAAGAAAAGAAATGAAAT (158)
80	DYS387S1	Y	AAAAAAGAAGAAGAAGAAAG (159)	GTGTGAGAAGTGCTACCACAG (160)
81	DYS389I	Y	AGATAGATGATGGACTGCT (161)	CCAAGCTCTCATCTGTATTATC (162)
82	DYS389II'	Y	CTCATCTGGCTATPATCTATG (163)	GATAATACAGCATGAGAGTTGG (164)
83	DYS390	Y	CAACGTAAGTATGATACAT (165)	GCTATTTGGTACCCGATAAT (166)
84	DYS391	Y	ATCATAACCCATACTGTCTGTC (167)	ATAGGTAGGCAGGCAGATAGG (168)
85	DYS392	Y	GGGCTATCATTAACGCTIACC (169)	TTIAAACCCAAAGAACGAA (170)
86	DYS393	Y	CITCTATACTTGTCGTCAATAC (171)	AACTCAAGTCCAAAAAATGA (172)
87	DYS437	Y	GCGAGTATGGTAGCGTGA (173)	CACTTATATATCAITGATACAT (174)
88	DYS438	Y	ATAGGCGTTGAACGGTAAACAG (175)	GGCAACAAGAGTGAAACTCCATT (176)
89	DYS439	Y	GAGACAGATAGATGAATAT (177)	CTTAATCCCATCATCTGTTT (178)
90	DYS444	Y	CAACACATGAATTATA (179)	CTCACGTTGTTCAAGGGT (180)

[0045]

91	DYS447	Y	CCTTTCTGGACAGAACTAAT (181)	TTTAGGGAGACATAAAGGCAT (182)
92	DYS448	Y	AGGGAGATAGAGACATGGA (183)	CATATTTCTGGCCGGTGTCTGA (184)
93	DYS449	Y	TTTGTTTAAAGATCGGTTC (185)	GATCGACAGACAAGACTAA (186)
94	DYS456	Y	TGTGCAGTTGTCCGAGGTT (187)	CAI'CAACTCAGTTGGCCAAC (188)
95	DYS458	Y	TCACGAACACCAATACGTG (189)	GCGTCGTAGCCTGTATG (190)
96	DYS460	Y	TCTGTATATAATTGTATT (191)	CATCAATAGGACAGGTAA (192)
97	DYS481	Y	GCTATGTACTCACGCTGTT (193)	CACCAGAAGGTTGACTC (194)
98	DYS505	Y	CCTIATTTCTTTCTTTCTTCGTT (195)	GGTAAAGAGAAACAACCACCCAA (196)
99	DYS518	Y	AACTGCCGCTGTTCTCGAA (197)	ACATCTTCAGCTCTATGTGAC (198)
100	DYS522	Y	AIAGCGTGATACAAITGATAG (199)	TGAGAGCCGGAAAATGGCA (200)
101	DYS527a/b	Y	AAGGAAGGAAATGAAAC (201)	TTTCTTTTCACTTTCCTTTT (202)
102	DYS533	Y	CCTCTGTGCATCTAGTCATGC (203)	CATCGAAACATCAGGAAGACG (204)
103	DYS549	Y	AGCAGTGTATAGATGAAGAG (205)	TCTCGTATGCCACTTATG (206)
104	DYS557	Y	TTTTCTGTGCCAAGCCTAC (207)	TCTAATGCACCTTGAGGG (208)
105	DYS570	Y	ATGTACCGTTCCTATCTAC (209)	GGCTCTACGGCTATAGCC (210)
106	DYS576	Y	CCCGTCATCTATCTGACTATA (211)	TGAAGGAGGAGATGCGTATG (212)
107	DYS596	Y	TTIACTGCATAAAATGACAIG (213)	TICTTCCCTCTCCTTTCCAG (214)
108	DYS612	Y	AGGTCCCGTGTCCGAGAGGT (215)	GGCAAAAAGAATAACTGTCTGG (216)
109	DYS627	Y	AGCGCAGGATTCACATCAAAA (217)	GCCTTTCATTCTCTCCTTCGT (218)
110	DYS635	Y	CAATCGCATGACTAATGA (219)	TGGCGTGTACAAAACATG (220)
111	DYS643	Y	CTGTGGCAIAAICTACGTT (221)	CTGAAGCTACTGGCGTAAAGTT (222)
112	Y-GATA-H4	Y	CTAATCTATCCGCTAACTAACG (223)	CGATGCAGTAGAATTTGGAA (224)

[0046] 表3.常染色体SNP位点序列信息

[0047]

序号	位点名称	chr	正向引物序列 (SEQ ID NO.)	反向引物序列 (SEQ ID NO.)
113	rs10495407	1	TTGCCACTGAAATGAGTCTGGG (225)	CTTCCTCTTGTTGCAATTGG (226)
114	rs10888744	1	CTAGCACAGCTAGGCACAC (227)	GAAATGACATTTGCAAGAGC (228)
115	rs10911979	1	CAGAGACATGCGTGTGATGATG (229)	CAGAAGTGTGATGGTATCAG (230)
116	rs1294331	1	GAAGGTAGCATAAAACATTCAAAA (231)	TACATCATCATTCATAATTGTGATTGAG (232)
117	rs1413212	1	AAACACTGACAGTGGTGGAG (233)	CAACATTCATTATCCAGGAGACAT (234)
118	rs1490413	1	GACACTTCTCACTAGTGTCC (235)	ACTGGGCTGATGTGGGTTT (236)
119	rs2096147	1	CATGATGCACTGTGTAGCATG (237)	GTGACTAGGATAGTACTGTAG (238)
120	rs531423	1	TGAGTCTGCTATGCTCTG (239)	GATGACACAGACTGGTGCG (240)
121	rs560681	1	CTGAGGATGCAAACCTTGG (241)	CATTGTTTCAAGTTTCTCTCC (242)

[0048]

122	rs600933	1	GCAGCAAGGAGAAATCCTTC (243)	TTCAAGGTGCTGCAGGTTTG (244)
123	rs7525374	1	GTCTACCCTCCTTTGCTCAC (245)	TGCAGTGCCGGGAAAAGTGA (246)
124	rs891700	1	GCTATGACTCCTTAGAAC (247)	GCAGTAAAACATTTTCATC (248)
125	rs1109037	2	GGTGGAGATTTTACTCCCT (249)	TGCCAGTGCGAGATGAAAGT (250)
126	rs12622534	2	TGTCTCCTCATCTACATG (251)	TACAGCACGCTATAGTCTCAG (252)
127	rs12997453	2	TGATGTGCAAGCAGGTAGG (253)	GTGTCAGAATGTATGCTAG (254)
128	rs348971	2	TCTATCTTGCCAATTACCCC (255)	ATGCACACTTACACACGCAC (256)
129	rs62184397	2	AAAAAAAACFCGGCTAAACTTTT(257)	CTTCFAGCTTTCTCCCTGAG (258)
130	rs876724	2	GCAGGCTCCATTTTATAACC (259)	GCAGTTAGCAGAGTGTGAC (260)
131	rs907100	2	AAAAGAAGCCCAGTTGGAGC (261)	GGAGGCAATTCATGATGCC (262)
132	rs993934	2	ACGTCTCAGAGTGATATTAGC (263)	CCCAIGATGAAACAGTTTGC (264)
133	rs12638598	3	TACGCTAGATGCACACTCTC (265)	ACGACTCGTGCCTATAG (266)
134	rs1355366	3	ACTGTGCTTAGGCCACAAC (267)	GTCTCTGTGGTGAGAATCAAGC (268)
135	rs1357617	3	TGAAAAGCCCAATTAGAGATTAGAA (269)	ATTTGACTTCCCAAGCTGAATTT (270)
136	rs2399332	3	GAGAAGTATCTGTTTCATGTATTTTGCTG (271)	CTGGACACCAGACCAAAAAC (272)
137	rs4364205	3	CCTAGATATCCACCCATGAG (273)	GGGCAACTATGAATACAGC (274)
138	rs6444724	3	ACTCCGTAGTAAATGAGAGC (275)	GGGAAAGGACTAAATTTGTTG (276)
139	rs66770124	3	ATAGTAAGACCCCCCGTTC (277)	GTGTGTACCACCACACTG (278)
140	rs870429	3	CTGCTCGCCATGAGTG (279)	TTAGCAGATGCAGAGCGAT (280)
141	rs9681907	3	GGGATGTGAGTGTGTGTG (281)	GCTGTGAGCATCTACTGAG (282)
142	rs9825721	3	GACCAAGGAATCCTCCATAG (283)	AAGACTGAGCTGCAAGATAG (284)
143	rs11724048	4	GGAGCCAGACATTCAAAGC (285)	CTCTGCTTTTCCCTGGGCAT (286)
144	rs1564896	4	TTTCTCAGCCTCCGTCTTTC (287)	ACACAACATATGTATGAATT (288)
145	rs1979255	4	TTCCACGAAAGTTCTTCTCC (289)	ATAGCTTGTGTTGGTCAGGG (290)
146	rs2046361	4	GTATGTATCTATTGTCTATGAAC (291)	GTATCTATTGTCTATGAACG (292)
147	rs2178603	4	CCCATGAAATATCAGGTCAGA (293)	ATGGTTCTTCATATGTCCGC (294)
148	rs279844	4	CAGTAGTATATCAGAGTATGAG (295)	ATAGTCAGTGTTCATGAC (296)
149	rs517914	4	GTAAGAGCTCCCTTGGTTGA (297)	GCTCATACAGTCTCTCGC (298)
150	rs62332600	4	TCTGTGCACTGAGAGTGACG (299)	GAGGTCGTGATGATGGACG (300)
151	rs6811238	4	GTGTTTTAAAGCCAGGTTTG (301)	AGCCAAATGAAGTACTTCTA (302)
152	rs10051395	5	TCGGGATCCACTTGCCCTCT (303)	AAAAAAAAGGCCAGGCCG (304)
153	rs13155942	5	TGGGTTGAGGGTACCTTCT (305)	GCTCAGTGTCTGACAAAAGC (306)
154	rs13182883	5	GGCTCTCCGTTACTTTCTTC (307)	GGCCTGCAGTGAACATTCAA (308)
155	rs159606	5	GCACATTATAACATTGGAG (309)	CGATTGACTGTCTCTCATGC (310)
156	rs251344	5	CACAGCTGTAATTCTAGTAC (311)	GATCGACACTCGTCTCATGC (312)
157	rs338882	5	CGATGCATCCAGCGCATGTC (313)	TCTCACGTACATGCGAGTGC (314)
158	rs696889	5	TGCGAGAGAAAAGTGCCACC (315)	ATGACTGAAGGGCCAGAAC (316)
159	rs717302	5	AATAAGCTTTAGAAAGGCATAT (317)	TGGGGGAGCTAAACCTAATG (318)

[0049]

160	rs13218440	6	CCTGAGATTCACCTCTAGTC (319)	CATCCCAGCTGAGTATTCCA (320)
161	rs1336071	6	AATATGATAGACGAATGAATTG (321)	CCTTTCTGTTTTGTCCATCTG (322)
162	rs214955	6	CTTTATCGCTTTTTCCCTGCC (323)	GCCCTTGGATGCTTGCAAAC (324)
163	rs6457751	6	GCACACATATATGCCTGCTC (325)	ATATATGCAGGTGTACAGGG (326)
164	rs6905055	6	CTGGTTATAAAGCTGTCCCG (327)	ACTGCACAGCACTGCTAGAC (328)
165	rs6941942	6	CTTGTTTTGCAGGCTGATTG (329)	TCTCTCAAATCATCCCCATCC (330)
166	rs727811	6	CATGAGATTTGCTGGGAGATG (331)	TCTCTTACCGGAACCTCAAC (332)
167	rs9391217	6	AGTTAGCACGGTCTAATACG (333)	AGATACATACGGATCATCACTG (334)
168	rs9455722	6	TAAGCACTCACCATGCACTG (335)	GTTGGTTTTGCTGTTGCATC (336)
169	rs10949838	7	TGGGAGATCAGCTAGGAATG (337)	TCTGCTGTTTIGATGGATGTG (338)
170	rs11971741	7	ACCTACGCATGGTGACAATC (339)	GGCCTTAAACATGCATGCTC (340)
171	rs1529590	7	TTCAGTGCAGCCATCTGTAG (341)	GCTCATTTATGTTTTGCATATCAG (342)
172	rs1560950	7	TCTCCACTGCCCTCCAGATG (343)	AAAGCTGGTCTGACTGTGC (344)
173	rs321198	7	ACACACAGGCTTCAGGTTAC (345)	CTGATTAACAAGCAAGCACTG (346)
174	rs4732451	7	ACTGGCACTGCTAGCATGAG (347)	TCTGTAGTACGTGATCATGCGT (348)
175	rs6955448	7	GGCTAACTAGTTGCGTTTAC (349)	CTATGCGGATACTACGATAG (350)
176	rs737681	7	GCAAGCTCTGCACAAGCC (351)	GACAGACTGCAITGTGCGC (352)
177	rs917118	7	CAGAGCACAAGTGGTAAGAG (353)	TCCTCCATGAAGATGGAGTC (354)
178	rs10092491	8	AGAGTGGCATTAGAAATCC (355)	ATCCCCGCAAACCTAACTAGG (356)
179	rs10441668	8	GTGACTTCATGGACAGCGAT (357)	GAAGGTGCTACGTGTCTTTC (358)
180	rs13282211	8	TGGAGTTTCAAGTTACCAGTC (359)	GGACGGAAGCAAGGTCTTAA (360)
181	rs2056277	8	AAACTGGGTGTTAGGGAGAC (361)	CATTATCTCGTCATACTTCCCTGTC (362)
182	rs3927165	8	CATGTATAGCTCATGTGC (363)	TGCACTGTAGATGCAGTGTGTC (364)
183	rs4606077	8	TGCACTGTGCGATCTGACTC (365)	AGAGCGCAGTGAGGAGCCC (366)
184	rs4841168	8	GACAACTCAAAGCAGGGGTG (367)	CCAATTGTCCACCAGAAAATG (368)
185	rs537330	8	TCATTCTAAAAGGGCTGCCG (369)	AAATAGCAGGAGGCGAGGAG (370)
186	rs763869	8	CAAGTATATGAGGATGTTTG (371)	TCAAGTATATGAFGGATGTTTGT (372)
187	rs1015250	9	GGAAAAGAACCCAGGTGT (373)	GACATTAGGTGGATTCATAGCTG (374)
188	rs1053878	9	CGGTCCCCAGCGTCAC (375)	GTCCACTACTATGTCTTCACCGA (376)
189	rs10759835	9	TGCCCTCCCAAGGTTTAAAG (377)	CTTAGTTGACCCCTAAGAAG (378)
190	rs10776839	9	CACTGGGCTCTGATCTG (379)	CAGGAGTGTTCCAGCAAG (380)
191	rs1360288	9	CGTGGATCTCAGGTCTCCAG (381)	CTTGCCGAGTAGGTAGGAC (382)
192	rs1463729	9	TTCTGGCTTTGGCAGCATAAC (383)	ATGTGCATGCTTTTGGGTGG (384)
193	rs204202	9	GTGTCAATTAGTGAGCATGAG (385)	ACCAATCAAGTCAGAGCCAC (386)
194	rs2519770	9	CTGAGGGTGGCGTGAGTG (387)	AGGTGCTCAGCAAGCAGA (388)
195	rs7041158	9	TCCAGTGAGAAAGTGTCTTGG (389)	TCTGATGGACTGGAACCTGAG (390)
196	rs7045684	9	CATCACAAGTTAAGAGGAGC (391)	TAACATGGCTTCCCCAGTAG (392)
197	rs1615127	10	TGGGTGCATGGTGACACTAC (393)	ATCTAGCTCACGCACAGC (394)

[0050]

198	rs3780962	10	GGTAGCGCTTGAGGACA (395)	AACATGGATGACAGCAGTC (396)
199	rs500399	10	TACCTAGCGTTTCTGTAGCC (397)	AGTTTATTGATGAACTGGTGC (398)
200	rs6560748	10	TCGCTTCTGTGCACATTGTC (399)	CAGGGTTGTGTGCTGTTATC (400)
201	rs740598	10	TAGCAATGGCTCGTCTATGG (401)	AGGGTTTGAGCAGTTCTGAG (402)
202	rs826472	10	TGATGCTGAATTTTGTCTCTGT (403)	TAATTGAAATTTGTAGGCAATAGA (404)
203	rs964681	10	GCTGATCTGTGAGACGCAT (405)	AGACAGAGTGCTGTCTGT (406)
204	rs985462	10	ACTTGCAAAAGCTCTCTGGG (407)	TCCAGACGCCTAAGCATCAG (408)
205	rs10488710	11	AAGACTCAATATGTCAGCAT (409)	TATAGAGCATGCACTGTCT (410)
206	rs1498553	11	TTCCATAGATCTCATAGCCATCCTT (411)	AGACCAGGATGAAAGTTCAC (412)
207	rs2076848	11	CTTTTCAACTCTCCTACCGC (413)	ACAGGTATCCTGGCCTCAC (414)
208	rs4453265	11	GGAGAGCATACTTTCAAGC (415)	TGGATGGAACGTTTGCAGTC (416)
209	rs567681	11	ACCAACCACTAGCTTTTCCC (417)	GAGAAGATCCTACACTCAGC (418)
210	rs619208	11	CTGTAAGCTTGAGCTAGC (419)	CATATCGATCGCATAGTCAC (420)
211	rs7947409	11	GCTGACAGAGTTCGACGCAG (421)	TAGAGGTCAGCGCGCTGCAT (422)
212	rs901398	11	TCTGGGTGCAAAC TAGCTGA (423)	GCATCTGGAATGTACTAGGC (424)
213	rs10773760	12	CGAGTGTCTTGACATTCCC (425)	CTTCTGTCTGGAAGTTCGTC (426)
214	rs2107612	12	TAAAATTGCCACTAATTATGTG (427)	ATGAAAATGAGTACATTATT (428)
215	rs2111980	12	TTACGGTCAAAGCATCTTGG (429)	ATCTTTGCCAGTGAGTCACG (430)
216	rs2269355	12	TACTGCTGTAGGAAGCTCTC (431)	TGGAATCCCCTTACTAAGG (432)
217	rs28520541	12	TGGCACGGTGATAGCAACAG (433)	AGTCTCTTCACTCTCTGG (434)
218	rs2920816	12	CTAATATTCTATCATTATGC (435)	TCATACTACGCACAGTCTGAGT (436)
219	rs432586	12	CCGTCTCGTCTCACATGTGC (437)	ATTCGTGATGCACGCATAGC (438)
220	rs4981030	12	GAATTGTTCAAGAACTAGCC (439)	CTAGATCAGCCAACTGAGAGG (440)
221	rs7295810	12	TAAGAAATAGAGTCTCGGGC (441)	ATCAGCCCACCTTGGCCTC (442)
222	rs1058083	13	TCTCCATCCCATTTCACCC (443)	AGTTCTCCATGAAACTTGGG (444)
223	rs1335873	13	GTACCAGGTACCTAGCTATG (445)	CAGGGTGCAGGTATGTATTG (446)
224	rs1886510	13	GCCTTATGACGCCTGGATT (447)	CTACCAGAGGGTAAATTTTAGTA (448)
225	rs3011445	13	CTGCAGTCTCGCTGGCTAGC (449)	CTAGAAACGTCGTACTACTGC (450)
226	rs354439	13	ACCGATGCGTAAAGTACAGTG (451)	TTATCTGAGTCACTGACTC (452)
227	rs484312	13	AGTCTGCAGACCTAACATGG (453)	TCCAAGTCAGAAAGCTATGGG (454)
228	rs773325	13	CAACAGGAGGTACAACATTG (455)	TCGTCAGAAGGGCTTTTCAG (456)
229	rs9526153	13	CACCAGAAAGGCCAGCTTGA (457)	CTTTGCACCTATTACCTAGC (458)
230	rs9563831	13	GGATGCAAGATGAAAGGAGC (459)	GCTAGATGCTGATAACAGCC (460)
231	rs1454361	14	AGCTGTCCATCATCAGTAAG (461)	GAGGAGGGAAATACACCCTG (462)
232	rs390316	14	AGCGTAACTCTGACAAGCGG (463)	GCTCTATGTGTCTGACTACG (464)
233	rs4530059	14	AGCTACCGCTAGCTCACTAG (465)	GAGAGCTCGAGATGCAGCAC (466)
234	rs6574692	14	CATCTGCAGTGCGAATTAGC (467)	TAGTACGACATGCTGTAAGTAG (468)
235	rs7148442	14	AAACAAGCTTTCAATCACC (469)	AAACAAGCTTTCAATCACCA (470)

[0051]

236	rs722290	14	TAAACTTGGATACCATCCCC (471)	CCAGAAGTGTTTCAGATTTTCAG (472)
237	rs873196	14	AACAGAAAGTCTGTAGACTTC (473)	GGAGTCAATCAGGCATGTTTACA (474)
238	rs1528460	15	TCCTGGAGATCAATATTTAGCC (475)	TTGGCAAATGCAGGATTAACAA (476)
239	rs16965813	15	TGGGGACCAAGGCCAAAG (477)	TGACATTTCCACCCCGACTG (478)
240	rs1821380	15	ACAATGGAGCCACTGAACTG (479)	TCCTGACATTCTCCTTCTTC (480)
241	rs57794352	15	ATGCCAGGAGTTCAGACCA (481)	TGCCACCACACCTGGTTAATT (482)
242	rs6598531	15	TAGATACTCACGCACTTACG (483)	ATCTACAAGCGACGCCATGG (484)
243	rs7171047	15	ATACACTGTGTCGCGACTGC (485)	ACGTGAGAGAACTCTGCTCG (486)
244	rs7176924	15	TCACAGGATGCACTGGTCGC (487)	TAGCAGTCGATCGCTACTGC (488)
245	rs8037429	15	ACTTTGCTACACCTCCATAG (489)	GATGCGTACAGAACTAGCTCTG (490)
246	rs1382387	16	AATAAGACGCTGCATCTGCC (491)	AAACGGCACGAAGGAGAAAC (492)
247	rs196008	16	GTGCCTCATCAAAATGCAAC (493)	ACACAGATGACTTCAGCTGG (494)
248	rs2342747	16	ACCAGCAACACTCCTAATC (495)	GAGGAAGAAAACAGAGAGTCTT (496)
249	rs2408108	16	CTTGCTGACATCACTCATT (497)	CAAAAAAGAGTAGCAGGGAG (498)
250	rs430046	16	CCATTAAACCCAGCACCTA (499)	CAAGGTCATACAATGAATGGTGT (500)
251	rs66972272	16	TATTCGTCTGTCATCGCTGC (501)	TGATGGACGCTGCGTAGCTG (502)
252	rs938900	16	TGCGCTACCTGACGAGTTAC (503)	TTACAATACAGCGCTCGTCT (504)
253	rs1881143	17	TCCCCTTTTCGCTTCCCCTA (505)	CAGGTATGTTTCAGGGAAGCTC (506)
254	rs2323659	17	ATGAGAACAGAGCTGAGTCG (507)	TTAAAACAGCCCTGCAACCG (508)
255	rs6598847	17	GGTTATTTCTGTCTCTGATTCTAT (509)	CAGGGTCTGAACTGAACTGT (510)
256	rs740910	17	AACAGTTTGCTAAGTAAGGTGAG (511)	AGATAGGTTTCGAGTTTGGCTTT (512)
257	rs8078417	17	GCCCCCGTGAAGCTTCAG (513)	AGTGTGAGAAGAGCCTCA (514)
258	rs9905977	17	AGAGGGGAAAGACGAAAGGA (515)	ATGAGCTGGTGTCCAAGGAG (516)
259	rs9913860	17	TGAGCTAGCAATAACAACGG (517)	AGGGAGATGAGATGGCTAAG (518)
260	rs1024116	18	AGCATGTAATAACATAGCCAT (519)	ATCATCTGAGTCTGATATGCT (520)
261	rs1493232	18	ACTGTTTATCGTGAGGCGTG (521)	CTACTCTCTCGAATGCGAGC (522)
262	rs1736442	18	TGGGACAGTTAAGAGAAGGC (523)	CACAGAAACATCAAGCTGAG (524)
263	rs489025	18	CAGGCCTCTCTCCACGAC (525)	CAGTGGAAAGAGGAAATGCCG (526)
264	rs949312	18	TTTCTGCTGTTGTGTCCACC (527)	AAAGCTGAGAGTTAAGTGGC (528)
265	rs9807731	18	CTGACTTGTTTTCTGTGCC (529)	GTAGACGCTGGGAACATAG (530)
266	rs9951171	18	CTTGGGATGCAACATGAGAG (531)	TGCTGGGACCTGTTCACTTG (532)
267	rs10413687	19	GACCACTCTGAGCTGCGGA (533)	TAGCGCACGCAGTATCTAG (534)
268	rs11670999	19	GTTGCGATCACGTCTCAGTG (535)	CTGTGTGCAGTCTGATATGC (536)
269	rs17773922	19	GACGTTATAGCTGGCATTGCG (537)	AGCCATGGCTCAGCGTACAG (538)
270	rs3844450	19	GGTACATGCATTACAGAGC (539)	TCTCTCTCTATCCAGCTC (540)
271	rs539344	19	CTGATGCTCTGAGACAATCC (541)	GAAAGGTATTCAGGGTGGTG (542)
272	rs576261	19	CCATCAACCTCTTTTGTGCC (543)	CAAAGGAGAGAGTTGTGAGG (544)
273	rs719366	19	TTCTGCTTTTCTCCTCCTCC (545)	AGTGAGTAAAGGACAGGCC (546)

[0052]

274	rs7250287	19	GATCGCCTGGIACGIAGCTCT (547)	GCAICAGAGTGACACGCTAT (548)
275	rs1005533	20	TCCTTATGCCTCCCCTGAAC (549)	TTAACATCGCCAACCAGGAG (550)
276	rs1031825	20	ATCGCTGCAITTCATGTAGTC (551)	CACCATATAGGCTCTATAGCT (552)
277	rs1523537	20	GTGATCACCTAATAGCCAGC (553)	GGGTTTCAGTCTGCAACAAG (554)
278	rs2427099	20	AGGTTGGGTGTGTCAGGTG (555)	CTGAAGCTATGTCCTGTAG (556)
279	rs445251	20	TGCACCTGGCCTACAATCA (557)	GTCTACATGTGCATTGGAGT (558)
280	rs453573	20	GCTACGIACATGCGIACGTG (559)	ATGCTGCATCACITGTCICGC (560)
281	rs6038771	20	GGACAGTFAACTGACCTGTG (561)	GACTGCAACTTCGCACGATG (562)
282	rs6099733	20	AGCTGGCAGCTATAGTATGC (563)	AAAAGGAAAGACACTCCCC (564)
283	rs6105182	20	AACAAATAAAACAAACTCCC (565)	GTCCATGACGCTTTGCTGAAT (566)
284	rs1115649	21	CTTTTACATCTCTCAAGGGC (567)	TCTGGCTGAGGAATGCTACA (568)
285	rs221956	21	TCCTCTCCCCTTTCTGAGC (569)	AGCTGAGATAGCTGTGAAGG (570)
286	rs2827530	21	CGATCCTCATAGCCTAAGTC (571)	AGATGCAGGAACGTGTGTAG (572)
287	rs2830795	21	TCTATGATACAGGACACACGA (573)	TAGAGCATGAGCTGCATGTG (574)
288	rs2831700	21	CAATTATCTGTCTTTGGCCT (575)	GACCTATGCTGTGCAGTATC (576)
289	rs722098	21	AGAAATATTCAGCACATCCA (577)	GGAAGGGAAGTACACATCTG (578)
290	rs914165	21	ACCTGTTTTGCACTGGGTGG (579)	GGATGCTGATGGGCACCAA (580)
291	rs9981337	21	CTAIGTGGGCTTTCTCTCC (581)	TGAGCTAAGTGTCTAGAG (582)
292	rs1028528	22	ATAGCATGCTAGAGCGACTC (583)	GCAAGCGATCGCTCGTGAGAG (584)
293	rs2040411	22	TCAGTACTGCTATGCGACAC (585)	GTGTGTCTGAGTGCCTCTG (586)
294	rs34255233	22	TGTCTCGAACGGGCTACAG (587)	ACAGCGAACGACGCTAG (588)
295	rs4820932	22	AATCACTGAACCATGTACTC (589)	CTGTTTCACTGAGGCATCAT (590)
296	rs733164	22	ACCAACAGGCCATCCCAC (591)	GGCAAGGCGGCCCGGCTC (592)
297	rs9613449	22	ACTCTGTACCCAAACAGGA (593)	GATCAATGAGCCCTGGTGT (594)
298	rs987640	22	GCCATCGTCTGTATTAAGTC (595)	CATTCACTAACAGGCTCTC (596)

[0053] 表4.X染色体SNP位点序列信息

[0054]

序号	位点名称	chr	正向引物序列 (SEQ ID NO.)	反向引物序列 (SEQ ID NO.)
299	rs112533039	X	GGTCACATGAATAAGATATAACTGC (597)	TCCATCTGAGGACTTTTATGC (598)
300	rs11797207	X	GATGTTACGACATCATAACT (599)	TAGCTGTTGTCTATACTAGT (600)
301	rs11797504	X	GAATTGTAGACTCAGGCAC (601)	CATGTCCATATGATCGAGC (602)
302	rs12216979	X	TTGAAAAGTGCTGCAGTAGG (603)	TCCGATTATTTCACTGACATCT (604)
303	rs12387878	X	AGTAAGGCAGATAAGTTATTGGT (605)	GGGGCAAATCTAACCATCC (606)
304	rs12391494	X	CGCTTGAGAGGAGAAAATTAGAC (607)	TGGAGTCGTGATATGCTGTTG (608)
305	rs12560164	X	CTGAATCTATGTTTCTGTCTCTATC (609)	CAGATACAAATATAGAGAGAG (610)
306	rs12687217	X	TCACGATGCAGTATCTTAGCT (611)	GGATGGAGACAAAGGGAAGA (612)
307	rs12689741	X	TCAGAAAACCTGCATTCAGGA (613)	AGAGGATAAATCACTTGGCTA (614)
308	rs12710579	X	GACATATCTAGCAATGAAAGTA (615)	CGAATGCCATGTCACAATATG (616)
309	rs144050797	X	AAGAATGTTAATCCAGAATTC (617)	ACAAAATCTGTGACATGT (618)

[0055]

310	rs1502824	X	TATTCAGTCCCCTTTGTTACT (619)	CTAAGAGCTGGAAGCACAGAT (620)
311	rs1578594	X	AAGTCTCCCTGGGATATAGGTC (621)	CAAAGGCTGGAATGGCTA (622)
312	rs1768334	X	GTGACACATAGACGAGTAG (623)	CTGTATGTACATATTCCGTCT (624)
313	rs1969688	X	AGCTCAACTGGGTGCACCT (625)	CGCTGACGCACTCGCTACT (626)
314	rs2024801	X	GGTGAAAGGAGAAGAATGCTAC (627)	GATGGGAAATCGAGATCTCTT (628)
315	rs205845	X	TTAGTGGCATTCTATTGGTCAAA (629)	AAGGTAGTTCTTTATAGCAATGAG (630)
316	rs2092891	X	TCGTAGTTCAAATATTACCAACCT (631)	CACAGCTCCTCACCAGTAATG (632)
317	rs2360134	X	CGGTAGCTACTATACTGCT (633)	ACGACTATGCTCATGCTAGTA (634)
318	rs2375624	X	TGTTTGCTCAGAACTACTCTTT (635)	GGCTTTAGGAAACTTATAATCAITGG (636)
319	rs2539948	X	GACCAAAACAATCCCCACA (637)	TTGGGGCAGACTGAGTGTATA (638)
320	rs2682987	X	AACAGGCTCCTTAATTTCTG (639)	CCCAAATCTATTCTTATACACTCAG (640)
321	rs2704865	X	GGACTTGTAGCTGACTGAG (641)	TATGCACCTAGACAGCCGTGA (642)
322	rs2802918	X	TGATCGCTAGTAGCAGACAT (643)	CAGTGAGCTACAGTGCTTT (644)
323	rs2811707	X	AAATGTAAAACAGGAGCATCG (645)	CCACTCTTCCATCTTAAATTCAGG (646)
324	rs28605423	X	CAGCCCTCATATTCTAGGACA (647)	GACAGAGTCGAGCAGTTGC (648)
325	rs4086429	X	CCATCGAGTACACCATGAT (649)	CGGAAACTAGTGACACAGTAC (650)
326	rs442159	X	ATCAGGCTAAGCCTAACAA (651)	GCAAGTTTAATTTCTGGTAATGT (652)
327	rs4824450	X	TGTCCGTAGCTTGCAAGTG (653)	ATTTGGACACACAGAGAGACA (654)
328	rs4824927	X	GTAAGAACATTTGACTGCCTT (655)	ACCTCAGGAAGAAATAACACA (656)
329	rs4827639	X	TGTCTCAGTAATTAGGAACCATA (657)	GCTACATAGATCAACCTCCGA (658)
330	rs55934463	X	CCGGCAAACGTAATATACCT (659)	TGTCAAACGTAACCTTTCAATTCAGC (660)
331	rs56110934	X	GCTAAGATCTTTAAGTCCTAGGT (661)	ATGGCATACTTAGTCTCAA (662)
332	rs5905597	X	AAAAGTGTGAGTCGCACA (663)	CCCCTGGTGGCTATTATAAAG (664)
333	rs5907517	X	GAATGCAGTACAACCTCGGAG (665)	GAATATTAATGATTAGACCAGTACTTTC (666)
334	rs5911141	X	GTGTAACATATAAACGGGGT (667)	TACAGGGCCTCTATACTTCT (668)
335	rs5913334	X	GTGAGCTCAAGTAATCGAGC (669)	GTGTGCAACGTAGTATAGGCC (670)
336	rs5921452	X	AAAAGTGCCTTGCTAAAAAGAAA (671)	GTTTTCTAAAAGCGAGAGCTG (672)
337	rs5941483	X	TGTAATATCGGAGGTAGGGC (673)	AAAGCTCCAAGGAGAATGG (674)
338	rs5953805	X	AACAAATTCAGACATGCATAAA (675)	GATTACATTTACCTTTAATTTTGG (676)
339	rs5954323	X	ATGTTAAGGCTAAAAGAAAAA (677)	GGCAAACCCATAGAAGTGG (678)
340	rs5959164	X	ATGATGAAATTTTGGGTGGT (679)	AGTTATACACATGTGCACTT (680)
341	rs5975688	X	ATCTTACGGTCATGAGGCCG (681)	CTCTGGCATTACTACTACTA (682)
342	rs5983070	X	CCTGGATAACAAAGAGCCGA (683)	GCAGGACGCTCATTGATT (684)
343	rs62617187	X	TCCGAAGAACATATACAAATAGTCA (685)	GCTTACATTTTCTTATGGCC (686)
344	rs6521070	X	TCACGCCTGTAATCCGAGCA (687)	TTACACCGTGTAGCCAAGAT (688)
345	rs6526555	X	ATTTTCTGAACTGTTATGCTCT (689)	AGGTGACTGGGTGCTATAAA (690)

[0056]

346	rs6528896	X	GGAGTGAGGGACATTCATGA (691)	CTCCCTCTAGTGCCTTTAAAAAC (692)
347	rs6528897	X	CCATTAGTCTAAGAGATCGCGCT (693)	CGTATGGGTGTCACCACAAT (694)
348	rs6529795	X	ACTGCACAAATATAGAAGCTTT (695)	CTTTAGGAAATGATTAGCAAAATTA (696)
349	rs6567566	X	GGGATTTTAAAAGCTGAGTATGC (697)	GGACATCACGGAGAATAGATT (698)
350	rs6627484	X	CTGTAGAAGAGCTGGAGG (699)	GCCAGGAGTTAGGGACTTC (700)
351	rs6636442	X	ATATATTGGGTACATGTGCAG (701)	GTACTATCCTCACTACCTGGG (702)
352	rs6636876	X	CACCTTGATAAGAGCTAGTT (703)	CTCAATTTCCCACTTACCAAC (704)
353	rs6638024	X	AGTCTAGACATAGGTTACAAATAT (705)	CTAGTACCTCAGGTTGTTACAC (706)
354	rs6640328	X	CTGGAAGTGCCTTGAATCA (707)	CGCGTATGCCACACAAGCTA (708)
355	rs6642061	X	TAGGATAGAGTCGGCAGAGAG (709)	ACTCTACGCAACCTCCTAAAAG (710)
356	rs667002	X	TCCAAGCGACTAAAATCCTAA (711)	GTGCTGAGACTGAGAAACT (712)
357	rs66921877	X	TGCCTACTGCTTGTTCAGATT (713)	TGTAGCTGATGTAGTAATATTGTT (714)
358	rs722647	X	GCCAACTGCAACCAATATTA (715)	CCCAAACTAGGAATGTCAGG (716)
359	rs72611414	X	CTGACTGTCTTTCTTCTCTGTT (717)	CCCTCTCTCTGTCATTATCA (718)
360	rs72612739	X	CCTGTATTAGTGTTCCTACCTT (719)	AGACAGAGATAAAGGTAGCAAT (720)
361	rs73636012	X	TGAACAGAAAATGTGTCCTTCA (721)	CAGCTAGGTTCTCTGCTGTAG (722)
362	rs76709416	X	CAGCCAGACTGCTGAGGGA (723)	CAACTCTATCAGAATAGTTCAGAT (724)
363	rs77638089	X	AATCTGTGGGTTGCAAAGTT (725)	GAGAAGGAAGAGCAGTGTGG (726)
364	rs7883951	X	ACACTAATAAAGGAAAATGGGT (727)	CCTACTCATCCTTCAGATCAC (728)
365	rs79758682	X	AGTGAAGTCTGGGGACTCG (729)	ACTGAACCCAATGTGTATTT (730)
366	rs964180	X	CAATGAGGGTCGGCATGATC (731)	CAGAGAGCAAATTAACCTTCC (732)
367	rs9782761	X	CCACTTCATTCTGCGCCTG (733)	AGGATGGGTGCAAAACATTC (734)

[0057] 表5.Y染色体SNP位点序列信息

[0058]

序号	位点名称	chr	正向引物序列	反向引物序列
368	rs199740959	Y	AGTATTCACGGACACCGCA (735)	CCGCAGGTATATCCAGCGCAA (736)
369	rs200357450	Y	ATGGATCAGAGATGGCGATAT (737)	AGAATAACAGTAGTGCAAGATCT (738)
370	rs200419056	Y	GACCACGAGCCGTAAGTC (739)	TGTGACATGCAGTATGAGGCGAG (740)
371	rs200772017	Y	ATATGTCAGCTGTCTCATGG (741)	CTCATGCCTATCTCAGTCATT (742)
372	rs200830945	Y	ACTAGAAAGATAACGAGTGGC (743)	GTATATGGGTGTTCCGGTATCC (744)
373	rs201036347	Y	AATCACACCGTCAGAAAATCC (745)	GTCAAAATCTCACACGGATGAA (746)
374	rs201334828	Y	CAGAAGAGCTCCAGATTATAAAG (747)	CAAAATGCAATGTAAAGGGGATT (748)
375	rs201604165	Y	CGGTATTGTGTATAAGTTAAACTTG (749)	TGTCCAGATGCCAGCGAAAC (750)
376	rs201697025	Y	CGATGGGCGAGGGATAGCG (751)	CTACCCAATGCACCTCTGC (752)
377	rs201739053	Y	CACATGGATAGAGAATACACTAGTT (753)	GACAATACTAGCACATCATTATTA (754)

[0059]

378	rs202102398	Y	AACTGAACAGTTTAGGTATAGATGG (755)	TAAGTAGAAGGCTTTCATCTTTTA (756)
379	rs202219263	Y	GGTACTACACATGCACATACA (757)	GCAATGTCTTCACTAAATAATATCGT (758)
380	rs367597291	Y	AGCAATGAGCCTAATGTTAAT (759)	TGTCATGAAGGCCTCTGATAT (760)
381	rs368139391	Y	TGAGGGATGAAGCCAAGTT (761)	TACTAGCAAACCAAGTCCAG (762)
382	rs368224092	Y	CATCTGCCCAATAGTCACATG (763)	TGCAATACAATATCTCCTAGCTAG (764)
383	rs368336992	Y	TATTCATCAAAGCTATTTGAGAAAG (765)	GTTTCCTAACTCTCTTGACAGTGTC (766)
384	rs368894102	Y	GAACTCCAAAAGGAACCTGT (767)	GGCTGGTAACTTCCCTGGATT (768)
385	rs369332424	Y	TAACTCATCATGATCGIATCTGCTC (769)	CTCAAAGATCCGGAAGGTAATAIA (770)
386	rs369354016	Y	GAGTATTGGGTCACCTTACATGT (771)	GCTGTTGCAGATCCGATTGCG (772)
387	rs369687318	Y	CTGCTAGAACTCTGAAAATT (773)	TGTTGGTTTCTCGCATTGGT (774)
388	rs370067093	Y	GTTACAAGTGAAACCATCTTGGTAT (775)	CTTCAGGTCCATTTAAAGACATAC (776)
389	rs370453270	Y	ACCCTAAAATTTIAGATTTGGIATC (777)	GTCTTGAAAGTATTCCTTCTGICTC (778)
390	rs371190240	Y	AAGAGATAGCAGATGCTGGTTT (779)	TGCATAACTTGCAGTATTTTTACA (780)
391	rs373264370	Y	GCAGACACAGGAATTACAGATGA (781)	CTTATACATCCCACAAAATCTCTT (782)
392	rs373609354	Y	TACCTATTCGATAATTGTCTGCAT (783)	TACCACATGCTTGTCTCTGCT (784)
393	rs373970801	Y	GGAGGCATTGACCCAATAATGGACT (785)	TAGGCTGGGCGGATCATTGAA (786)
394	rs374930379	Y	CTCTATCCAGCTTAGTTTCATTG (787)	GTAAAATCAAAGCATCTCTCCC (788)
395	rs375176877	Y	TCTTTTGACTCAGCCGTIAC (789)	CTTCTACCCAAACCAAGATAC (790)
396	rs375507746	Y	TCACCCCGCACTAAGAAGAA (791)	GTAGTTAGGTAGTTAGAAGGTGAC (792)
397	rs375829627	Y	GTTGTCATTGCATCTACCAAATAT (793)	CTCTATGTCAAAGGAACCTTCG (794)
398	rs376025900	Y	CTGACGATTCCCGCTTAAGCA (795)	AATCCACTCAAGTCCCAGCTAA (796)
399	rs376675439	Y	GCTCAAGTTATGGTATGAAGCAATA (797)	AGTGAATGAAGGAGTTGAAGGTAA (798)
400	rs377374239	Y	CCAACACACCGAAAGAAGATCG (799)	AACACATTCCTTAGGGACGT (800)
401	rs377657377	Y	GGAGCAACACAGGCAATTA (801)	AGGCTTGTGGACAATACTCCT (802)
402	rs75082758	Y	ATTGAAATAGTTGTTGCGTCAGCT (803)	TCGCTACGGGAGTTATTGGGATG (804)
403	rs75191861	Y	CATCATGGCTAGGTAGTGTTT (805)	TTAGTGCTAGGTTTTCACTTA (806)
404	rs75304156	Y	TACACACACCTTCCCTAGAC (807)	TGAGTGGTAGGCTGTTTAT (808)
405	rs75437785	Y	TCATTGAATTGGGAGACAGG (809)	CTCCCAATCAACCTCTAACGC (810)
406	rs75616430	Y	GIACAATTAATGGCTATGTTGGCT (811)	ATTATAACTGCCGGTACCTGAAG (812)
407	rs75803914	Y	CTGTCCATTAGTCTGCCAATAAA (813)	ATTAAACCTTACCTTGCCAAA (814)

[0060]

408	rs76047574	Y	AACTGTTCCCTACCCTGCTTA (815)	CTGTGATCATGTAGCCAGTAAA(816)
409	rs76156764	Y	CTGGACGTCCCTCACTTGG (817)	GGCAGCTGCAAGGATATG (818)
410	rs76347127	Y	ACATGTTGACATTTCCACTGC (819)	TGAAGAATGGGAAGTGTGAAAT (820)
411	rs77063702	Y	TCCCAGTGAAAACCTTTAGAATA (821)	TTGGTCTGTTCTTTCTAGCCC (822)
412	rs77184801	Y	CTAATCTTTGGCGAGAAATTTGT (823)	TGAAATGGGGTATGTTCCCTGG (824)
413	rs77223550	Y	TCAGAGAGCGGAGATTCCTG (825)	AAGTATCATTTAGAGTATCGACTGT (826)
414	rs77421203	Y	ACCAGGACTTTGACCAGTATC (827)	ACTGCTAATTGGATCCTGCC (828)
415	rs77461301	Y	CACATTAGTCTACAGATTAGGCAC (829)	AGTTAAGTGTATGCTCCATGG (830)
416	rs77980474	Y	TTGTGAGAGATCGGTCTAGTTAG (831)	GTTTACAGACGGACGAGCATCA (832)
417	rs78680964	Y	TTGTCCTAGTCTGCTATGACTGC (833)	TTGAACATGCTACTGATCATACTG (834)
418	rs79214009	Y	GAGGTAGAGGACGCCAGCA (835)	TCAGTGCTAGTGCGACTGATG (836)
419	rs79382119	Y	CATCTCATGCTGCTCCTGA (837)	GTCACGATACGTCTATGTGAT (838)
420	rs79712416	Y	AATCTCTGGGCTAGTGTGTC (839)	CCGCGACCCTATTCCGCATCT (840)
421	rs79964649	Y	CATGTGGAGTGGGGGGAA (841)	GACTGAGGCTTAGGACGCTGC (842)
422	rs80192679	Y	AGCCACATTAATCTCACTAT (843)	CTCTATCAGGGTTGCAACTTGGT (844)
423	rs80262406	Y	TCGTCCACATGGGGAGAGTTGG (845)	AGCTTAGAGAACCTGCATCCAC (846)
424	rs891234	Y	GCGTGTTTGATCCCTATGATT (847)	CCAAGACCCTCCCTTAGCATAACAG (848)

[0061] 表6. 血型表型相关的位点序列信息

[0062]

Allele	正向引物序列 (SEQ ID NO.)	反向引物序列 (SEQ ID NO.)
261	TGCAGCTCGAATAGGAAGG (849)	TGAACTGCTCGTTGAGGAT (850)
297	TGCAGCTCGAATAGGAAGG (851)	TGAACTGCTCGTTGAGGAT (852)
681	CATGACCATTACCGAGGA (853)	TAGGCCTGGGACTGGGGC (854)
703	CATGACCATTACCGAGGA (855)	TAGGCCTGGGACTGGGGC (856)
802	CACCTCTTGACCCGACCC (857)	ACGACCCCGAGGGCTACTAC (858)
803	CACCTCTTGACCCGACCC (859)	ACGACCCCGAGGGCTACTAC (860)

[0063] 如表6所示,6个血型表型相关SNP位点为261、297、681、703、802、803,用于ABO血型的鉴别。并且,采用3对引物分别扩增血型表型相关的261、297、681、703、802、803位点,具体的261和297、681和703、802和803分别采用相同的引物扩增,得到长度不等的特征性片段,通过读取突变位点的碱基可以判断血型。而判断血型依据如下表7。

[0064] 表7. 血型表型相关SNP位点及血型判断

	261	297	681	703	802	803
A 型	G/G	A/G	C/C	C/C	G/G	C/C

[0065]

	G/G	A/G	C/C	T/C	G/G	C/C
	G/G	A/A	C/C	C/C	G/G	C/C
	G/G	G/G	C/C	C/C	G/G	C/C
	G/G	G/G	C/C	T/T	G/G	C/C
	G/G	G/G	C/C	T/C	G/G	C/C
	G/-	A/A	C/C	C/C	G/G	C/G
	G/-	A/G	T/C	C/C	G/G	C/C
	G/G	A/G	C/C	C/C	A/G	C/C
	G/-	A/G	C/C	C/C	G/G	C/C
	G/-	G/G	T/C	C/C	G/G	C/C
	G/G	G/G	C/C	C/C	A/G	C/C
	G/-	A/G	C/C	T/C	G/G	C/C
	G/-	G/G	T/C	T/C	G/G	C/C
	G/G	G/G	C/C	T/C	A/G	C/C
[0066] B 型	G/G	G/G	C/C	T/T	G/G	G/G
	G/-	A/G	C/C	T/C	G/G	C/G
	G/-	G/G	T/C	T/C	G/G	C/G
	G/G	G/G	C/C	T/C	A/G	C/G
AB 型	G/G	A/G	C/C	T/C	G/G	C/G
	G/G	A/A	C/C	C/C	G/G	C/G
	G/G	G/G	C/C	T/C	G/G	C/G
	G/G	G/G	C/C	T/T	G/G	C/G
	G/G	A/G	C/C	C/C	G/G	C/G
	G/G	G/G	C/C	T/C	G/G	C/G
	G/G	A/G	C/C	T/C	G/G	G/G
O 型	-/-	A/A	C/C	C/C	G/G	C/C
	-/-	G/G	T/T	C/C	G/G	C/C
	G/G	G/G	C/C	C/C	A/A	G/G
	-/-	A/G	T/C	C/C	G/G	C/C
	G/-	A/G	C/C	C/C	A/G	C/G
	G/-	G/G	T/C	C/C	A/G	C/G

[0067] 表7中“-”代表缺失。

[0068] 本发明还提供了一种DNA分型检测的方法,本方法采用上述的基于二代测序的个体识别体系分型检测DNA,将DNA中112个STR位点和318个SNP位点在同一个PCR扩增反应体系中同时扩增。SNP和STR也可分开扩增,用户可根据需要自行选择。

[0069] PCR扩增反应体系如下表8所示包括15ul的DNA聚合酶、5ul的引物混合物(Primer Mix)、1ul的DNA模板和4ul的去离子水,在DNA聚合酶的作用下引物混合物中的引物序列对

模板DNA中的112个STR位点和318个SNP位点同时进行扩增,扩增体系在各种反应热循环仪上(如ABI 9700、ABI Veriti、Bio-Rad myCycler等)采用表9所示的温度循环条件可以得到较好的结果,其中,温度循环包括四次循环,其中第一循环为在温度为95℃时间为5min条件下的1个循环;第二循环包括三个阶段的30个循环,三个阶段包括在温度为94℃时间为30s条件下的第一阶段、在温度为56℃时间为90s条件下的第二阶段,在温度为72℃时间为30s条件下的第三阶段;第三循环为在温度为72℃时间为10min条件下的1个循环;第四循环为在温度为4℃时间不限的条件下的1个循环。DNA可由血液、血斑、带毛囊的毛发、口腔拭子等制备。DNA模板量达到2ng就能够得到较好的扩增结果。

[0070] 在上述PCR扩增反应体系按照指定的反应程序扩增模板DNA,可以得到各位点混合的扩增产物。扩增产物可通过市面上主流测序平台(如Illumina HiSeq4000、BGISEQ-500等)进行测序分析。对测序后的数据进行生物信息学分析,得到DNA分型数据。

[0071] 表8. 反应扩增体系

[0072]

组分	体积(25ul)
DNA聚合酶Mix	15ul
Primer Mix(100μM)	5ul
DNA模板	1ul(约2ng)
去离子水	补充至25ul

[0073] 表9. 扩增体系温度循环条件

温度	时间	备注
95℃	5min	1个循环
94℃	30s	30个循环
56℃	90s	
72℃	30s	
72℃	10min	1个循环
4℃	∞	1个循环

[0075] 本发明提供了一种试剂盒,试剂盒即为一个PCR扩增反应体系,试剂盒包括引物混合物、DNA聚合酶、DNA模板和去离子水,其体积比如表8所示。

[0076] 其中,引物混合物包括基于二代测序的个体识别体系中针对112个STR位点和318个SNP位点设计的引物序列。SNP和STR可分开或一起扩增,用户可根据需要自行选择。

[0077] 基于上述位点的选择及引物的设计,本试剂盒在DNA分型检测方面的应用,包括但不限于:(1)个体身份识别;(2)二联体或三联体亲子鉴定;(3)在双亲缺失姐妹关系认定、父女关系认定、祖母与孙女关系认定及隔代认亲等复杂亲缘关系鉴定;(4)母血分型;(5)混合复杂样本分型;(6)高度降解样本如大规模灾难的遗骸身份鉴定;(7)父系亲缘关系的鉴定;(8)二代DNA档案建立;(9)血型鉴定等。

[0078] 在上述的应用中,DNA模板来源于但不限于血液、血斑、血浆、毛囊、口腔拭子中的至少一种。

[0079] 本发明提供的基于二代测序的个体识别体系、试剂盒及其用途具有如下优点:

[0080] (1) 在一些复杂的亲缘关系鉴定中,如双亲缺失姐妹关系认定、父女关系认定、祖母与孙女关系认定及隔代认亲等,往往需要使用常染色体的STR分型试剂盒、Y-STR分型试剂盒、X-STR分型试剂盒等扩增几次以达到亲缘关系鉴定的目的,耗时又繁琐。因此,本发明将常染色体STR、具有伴性遗传的X-STR、具有父系遗传的Y-STR等遗传标记相结合,可以在缩短检测时间的同时提高检验效能,既能满足一般的个体识别、亲子鉴定,也能满足复杂亲缘关系鉴定、家系排查及家谱构建等,具有很好的市场前景;

[0081] (2) 上世纪90年代美国FBI选择13个常染色体STR基因座用于建立DNA数据索引系统CODIS (Combined DNA Index System):CSF1P0、D3S1358、D5S818、D7S820、D8S1179、D13S317、D16S539、D18S51、D21S11、FGA、TH01、TPOX、vWA,目前该系统已被多个国家的DNA数据库在其基础上借鉴和发展,现有技术的很多试剂盒都是在这个基础上增加的,目前最新的CODIS系统有20个位点,本发明的试剂盒既包括新CODIS系统的20个STR位点,还包括市面上用于鉴别父系(爷爷-父亲-儿子)的AmpFLSTR®Yfiler™试剂盒的16个STR位点以及中国公安部建DNA数据库要求的20个STR位点等,同时在二代遗传标记中还增加了在中国群体中多态性和稳定性较好的STR位点,既适用于国外也适用于中国人群的DNA分型检测;

[0082] (3) 陈旧、高腐的样本,DNA降解,片段短,一代STR分型试剂盒受限于自身的荧光标记的方法论,扩增片段长,所以难以处理诸如大规模灾难的遗骸等陈旧、高腐、降解的样本,而二代分型试剂盒采用的是测序的方法,在设计引物时没有荧光标记的局限性,可以得到适当短的产物,本发明的个体识别体系设计引物以得到尽量短的STR和SNP扩增片段,因此在处理陈旧、高腐、降解的样本时比较有优势;

[0083] (4) 一代的DNA分型技术一次性只能处理几十个样本,而本发明的个体识别体系采用二代测序技术,高通量,根据平台不同,最多一次性可以检测几百个样本;

[0084] (5) 本个体识别体系用户可以自主选择市面的主流测序平台测序,适用于市面上大部分主流测序平台,解决了Illumina MiSeq FGx平台兼容性不够的问题;

[0085] (6) 本个体识别体系在DNA分型时还可以通过读取ABO血型表型有关位点的突变碱基来检测血型,在案件中起到辅助鉴定的作用。例如检测出受害者是B型血,而嫌疑人是A型血,可以排除嫌疑人等,故可以在案件中起辅助鉴定的作用。

[0086] 实施例一:

[0087] 本实施例提供了一种基于二代测序的个体识别体系,本个体识别体系对一男性样品进行基因分型并检测血型。

[0088] 血液由男性志愿者捐献,血清学检测为B型血。DNA模板用chelex-100方法提取,引物由一公司合成,按照一定比例混合成引物混合物。取引物混合物、DNA聚合酶Mix等,按照表8配置反应体系。按照表9的反应条件设置热循环仪(ABI VeritiPCR仪),将PCR反应管放入仪器中进行PCR扩增。扩增反应结束后,取出反应管,用NEBNext®Ultra™ DNA Library Prep Kit forIllumina®文库制备试剂盒制备DNA文库。取PCR纯化产物,按照NEBNext®Ultra™ DNA Library Prep Kit forIllumina®文库制备试剂盒的说明书操作步骤依次进行末端修复、接头连接、连接产物纯化、PCR、PCR产物纯化等步骤完成文库制

备。

[0089] 取制备好的文库,按照说明书使用Illumina Hiseq 4000进行上机测序。

[0090] 为了检验个体识别体系分型结果的准确性,使用MiSeq FGx系统和Promega PowerPlex21试剂盒分别对相同的DNA模板进行检测。对这3次的分型结果进行比较,结果如表10、表11所示。

[0091] 表10. 本个体识别体系与两种试剂盒对同一DNA模板的STR分型结果

[0092]	位点名称	本识别	MiSeq FGx	Promega PowerPlex21	位点名称	本识别	MiSeq FGx	Promega PowerPlex21

[0093]

	体系				体系		
D1S1612	9,11	-	-	DXS6801	12	-	-
D1S1628	12,12	-	-	DXS6803	13	-	-
D1S1656	13,14	13,14	13,14	DXS6807	13	-	-
D1S2134	9,9	-	-	DXS6810	18	-	-
D2S1338	22,25	-	22,25	DXS7130	14	-	-
D2S2944	10,11	-	-	DXS7132	13	13	-
D2S441	10,14	-	-	DXS7133	11	-	-
TPOX	8,11	8,11	8,11	DXS7423	15	15	-
D3S1358	17,18	17,18	17,18	DXS7424	12	-	-
D3S3053	9,11	-	-	DXS8378	12	12	-
D4S2408	9,10	9,10	-	DXS981	14	-	-
D4S2995	14,14	-	-	DXS9895	15	-	-
FGA	23,25	23,25	23,25	DXS9898	12	-	-
CSF1PO	9,12	9,12	9,12	DXS9902	11	-	-
D5S818	11,12	11,12	11,12	DXS10074	21	21	-
D6S1017	11,12	-	-	DXS10075	17	-	-
D6S1025	14,14	-	-	DXS10103	18	18	-
D6S1043	10,11	10,11	10,11	DXS10135	28	28	-
D6S474	18,19	-	-	GATA165B12	10	-	-
D7S801	23,23	-	-	GATA172D05	11	-	-
D7S820	7,10	7,10	7,10	GATA31E08	11	-	-
D8S1179	13,14	13,14	13,14	DYS19	15	15	-
D9S1122	11,12	11,12	-	DYS385a-b	11,13	11,13	-
D9S2157	11,13	-	-	DYS387S1	37,38	37,38	-
D9S2168	13,13	-	-	DYS389I	11	11	-
D10S1248	13,14	13,14	-	DYS389II	30	30	-
D10S1435	9,10	-	-	DYS390	22	22	-
TH01	8,9	8,9	8,9	DYS391	9	9	-
D12S391	18,19	18,19	18,19	DYS392	12	12	-
vWA	16,19	16,19	16,19	DYS393	13	-	-
D13S317	9,11	9,11	9,11	DYS437	13	13	-
D14S1434	14,15	-	-	DYS438	8	8	-
D15S128	18,18	-	-	DYS439	13	13	-
D15S129	20,20			DYS444	16	-	-
D15S131	26,26	-	-	DYS447	23	-	-
PentaE	9,14	9,14	9,14	DYS448	18	18	-
D16S539	9,13	9,13	9,13	DYS449	34	-	-
D17S974	9,9	-	-	DYS456	15	-	-

[0094]	D17S1301	11,12	11,12	-	DYS458	17	-	-
	D18S1145	18,18	-	-	DYS460	11	11	-
	D18S466	18,18	-	-	DYS481	22	22	-
	D18S51	13,15	13,15	13,15	DYS505	11	11	-
	D18S535	9,12	-	-	DYS518	36	-	-
	D18S865	10,12	-	-	DYS522	12	12	-
	D18S872	12,13	-	-	DYS527a/b	19	-	-
	D19S253	8,9	-	-	DYS533	12	12	-
	D19S400	16,17	-	-	DYS549	13	13	-
	D19S433	12,14	12,14	12,14	DYS557	14	-	-
	D20S161	16,18	-	-	DYS570	17	17	-
	D20S482	12,15	12,15	-	DYS576	18	18	-
	D21S11	29,30	29,30	29,30	DYS596	10	-	-
	PentaD	11,13	11,13	11,13	DYS612	29	29	-
	D22S1045	15,16	15,16	-	DYS627	22	-	-
	AMEL	X,Y	-	X,Y	DYS635	19	-	-
	HPRTB	12	12	-	DYS643	10	-	-
	DXS6795	12	-	-	Y-GATA-H4	11	-	-

[0095] 表10中“-”代表对应试剂盒中不包括该位点。

[0096] 表11. 血型相关位点检测结果

[0097]

Allele	261	297	681	703	802	803
	GG	GG	CC	TT	GG	GG

[0098] 从表10可知,本个体识别体系的分型结果与现有的两种试剂盒的结果基本相同,验证了本个体识别体系检测的正确性。

[0099] 将表11检测的结果对比表7可知,检测的男性血液为B血型,与血清学检测结果一致。

[0100] 实施例二:

[0101] 本实施例提供了一种基于二代测序的个体识别体系,本个体识别体系对一女性样品进行基因分型并检测血型。

[0102] 血液由女性志愿者捐献,经血清学检测为A型血。模板DNA用chelex-100方法提取。扩增反应在ABI 9700热循环仪上进行,用NEBNext®Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina®文库制备试剂盒进行建库,用Illumina Hiseq 4000上机测序。

[0103] 其中,女性样本常染色体分型结果如表12所示,女性样本血型相关位点检测结果如表13所示。

[0104] 表12. 女性样本常染色体的实验数据和分型结果

[0105]

位点名称	分型结果	位点名称	分型结果	位点名称	分型结果
D1S1612	10,12	D6S474	12,12	D16S539	8,10

D1S1628	12,12	D7S801	23,23	D17S974	8,11
D1S2134	8,10	D7S820	7,8	D17S1301	12,13
D1S1656	11,12	D8S1179	10,11	D18S1145	18,18
D2S1338	14,20	D9S1122	12,10	D18S466	10,10
D2S2944	10,11	D9S2157	15,17	D18S51	13,18
D2S441	11,13	D9S2168	18,18	D18S535	13,14
TPOX	8,11	D10S1248	11,11	D18S865	10,11
D3S1358	15,17	D10S1435	8,9	D18S872	12,12
D3S3053	16,18	TH01	8,9	D19S253	8,9
D4S2408	8,9	D12S391	15,17	D19S400	15,16
D4S2995	14,14	vWA	20,20	D19S433	14,16
FGA	20,23	D13S317	8,11	D20S161	18,19
CSF1P0	8,9	D14S1434	12,13	D20S482	14,16
D5S818	9,11	D15S128	20,20	D21S11	26,30
D6S1017	11,13	D15S129	20,20	PentaD	8,12
D6S1025	14,14	D15S131	24,26	D22S1045	11,11
D6S1043	10,15	PentaE	10,11		

[0106] 表13. 血型相关位点检测结果

[0107]

Allele	261	297	681	703	802	803
	GG	AG	CC	CC	AG	CC

[0108] 根据表13的检查结果对比表7可知,检测的女性血液为A血型,与血清学检测结果一致。

[0109] 实施例三:

[0110] 本实施例提供了一种基于二代测序的个体识别体系,本个体识别体系对两个家系进行基因型分析。两个家系分别为肯定家系和否定家系。

[0111] 血液由志愿者捐献,DNA模板用chelex-100方法提取。扩增反应在ABI 9700热循环仪上进行,用NEBNext®Ultra™ DNA Library Prep Kit forIllumina®文库制备试剂盒进行建库,用Illumina Hiseq 4000上机测序。

[0112] 肯定家系常染色体分型结果如表14所示,否定家系常染色体分型结果如表15所示。

[0113] 表14. 肯定家系实验数据和分型结果

位点	Father	Mother	Child
D1S1612	8,9	11,14	8,11
D1S1628	12,12	11,12	12,12
D1S2134	8,12	7,8	8,12

[0114]

[0115]

D1S1656	10,14	13,16	14,16
D2S1338	11,20	13,18	18,20
D2S2944	10,11	10,12	11,12
D2S441	8,9	8,14	8,9
TPOX	8,8	9,11	8,11
D3S1358	13,16	14,18	13,14
D3S3053	18,19	14,16	16,18
D4S2408	7,13	11,12	11,13
D4S2995	12,14	14,14	12,14
FGA	18,20	18,20	18,18
CSF1PO	9,10	11,12	10,11
D5S818	9,11	10,10	10,11
D6S1017	10,14	16,18	14,16
D6S1025	14,14	13,14	14,14
D6S1043	12,13	13,14	13,14
D6S474	18,19	19,10	19,19
D7S801	23,23	22,23	22,23
D7S820	9,14	8,12	9,12
D8S1179	15,16	10,16	15,16
D9S1122	9,11	11,16	11,11
D9S2157	8,16	12,14	14,16
D9S2168	13,14	13,13	13,14
D10S1248	13,16	15,18	13,18
D10S1435	8,18	12,13	8,13
TH01	6,8	7,8	8,8
D12S391	15,18	18,18	15,18
vWA	14,18	14,16	14,16
D13S317	8,12	11,14	8,11
D14S1434	12,13	16,18	12,16
D15S128	16,18	16,16	16,16
D15S129	20,20	20,22	20,22
D15S131	20,24	22,26	20,22
PentaE	14,18	13,14	13,14
D16S539	8,13	7,12	12,13
D17S974	8,12	6,10	6,8
D17S1301	12,14	9,13	12,13
D18S1145	16,18	14,16	16,16
D18S466	16,18	16,16	16,16
D18S51	14,16	12,15	14,15
D18S535	10,15	13,14	10,14
D18S865	10,12	12,12	10,12
D18S872	10,13	10,14	10,13
D19S253	9,14	8,10	9,10
D19S400	14,16	10,14	14,14

[0116]	D19S433	12,16	13,14	12,14
	D20S161	16,19	16,18	18,19
	D20S482	10,12	11,12	10,11
	D21S11	24,30	28,36	30,36
	PentaD	6,15	8,9	6,9
	D22S1045	10,11	14,15	11,15

[0117] 表15. 否定家系实验数据和分型结果

[0118]

位点	Father	Mother	Child
D1S1612	11,12	9,13	9,11
D1S1628	12,12	12,12	12,12
D1S2134	5,6	6,10	5,6
D1S1656	13,14	12,13	13,15
D2S1338	18,19	20,22	18,20
D2S2944	10,12	11,13	11,12
D2S441	8,9	7,8	7,8
TPOX	9,11	10,11	9,10
D3S1358	15,16	13,14	13,15
D3S3053	12,12	11,11	11,12
D4S2408	12,13	11,11	11,12
D4S2995	13,14	14,14	14,15
FGA	18,18	18,19	18,18
CSF1PO	8,8	8,10	8,8
D5S818	9, 12	11,12	11,12
D6S1017	17,18	17,19	18,19
D6S1025	14,14	14,14	13,14
D6S1043	12,14	10,14	12,14
D6S474	13,14	14,14	13,14
D7S801	23,23	23,23	23,23
D7S820	13,16	12,13	12,13
D8S1179	14,15	14,15	14,15
D9S1122	10,11	12,12	10,12
D9S2157	14,15	13,14	12,14
D9S2168	17,18	18,18	18,18
D10S1248	12,12	11,12	11,12
D10S1435	18,17	18,19	17,18
TH01	7,8	8,9	8,8
D12S391	8,17	17,17	15,17
vWA	20,20	18,19	19,20
D13S317	10,11	12,13	12,13
D14S1434	18,19	18,18	18,18
D15S128	18,18	18,18	18,18
D15S129	20,20	20,20	20,20
D15S131	26,26	26,26	26,26
PentaE	9,10	11,12	10,11
D16S539	12,13	10,12	12,13
D17S974	9,10	11,12	10,11
D17S1301	13,15	11,15	11,13
D18S1145	18,18	18,18	18,19

[0119]	D18S466	18,18	18,18	18,18
	D18S51	16,20	14,15	15,16
	D18S535	14,16	13,14	14,14
	D18S865	12,12	12,12	12,12
	D18S872	10,11	10,10	10,10
	D19S253	12,13	12,15	12,13
	D19S400	16,17	15,16	15,16
	D19S433	14,15	14,16	14,17
	D20S161	17,18	18,19	18,18
	D20S482	11,12	12,12	12,12
	D21S11	30,31	30,30	31,30
	PentaD	10,11	11,12	11,12
	D22S1045	16,17	13,16	16,16

[0120] 以上应用了具体个例对本发明进行阐述,只是用于帮助理解本发明,并不用以限制本发明。对于本发明所属技术领域的技术人员,依据本发明的思想,还可以做出若干简单推演、变形或替换,变形或替换等情况也应在本发明的保护范围之内。

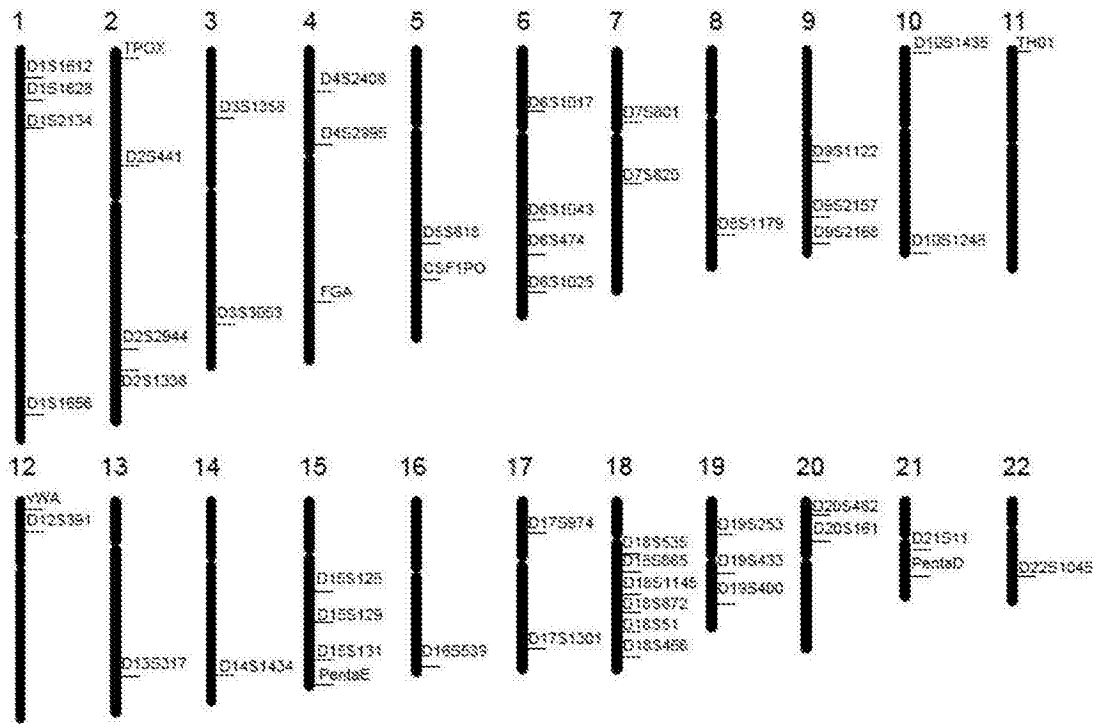


图1

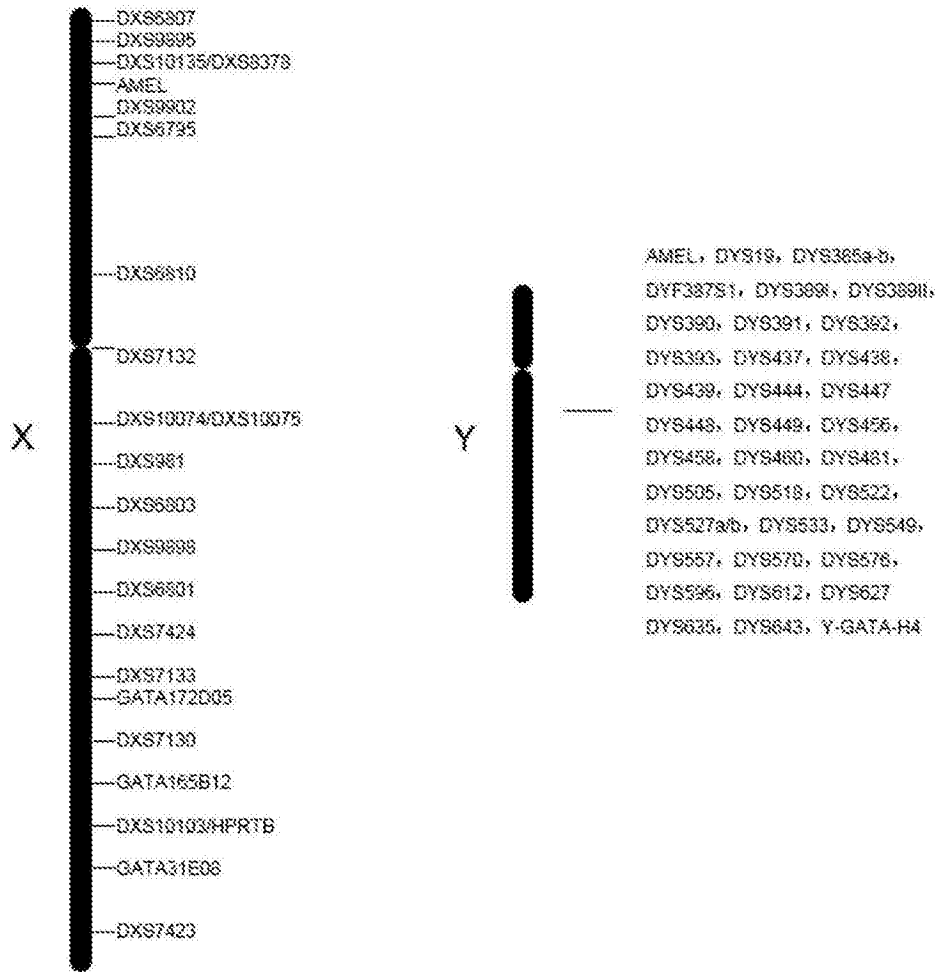


图2