



## 法医基因组学专用的 Illumina 新一代测序系统

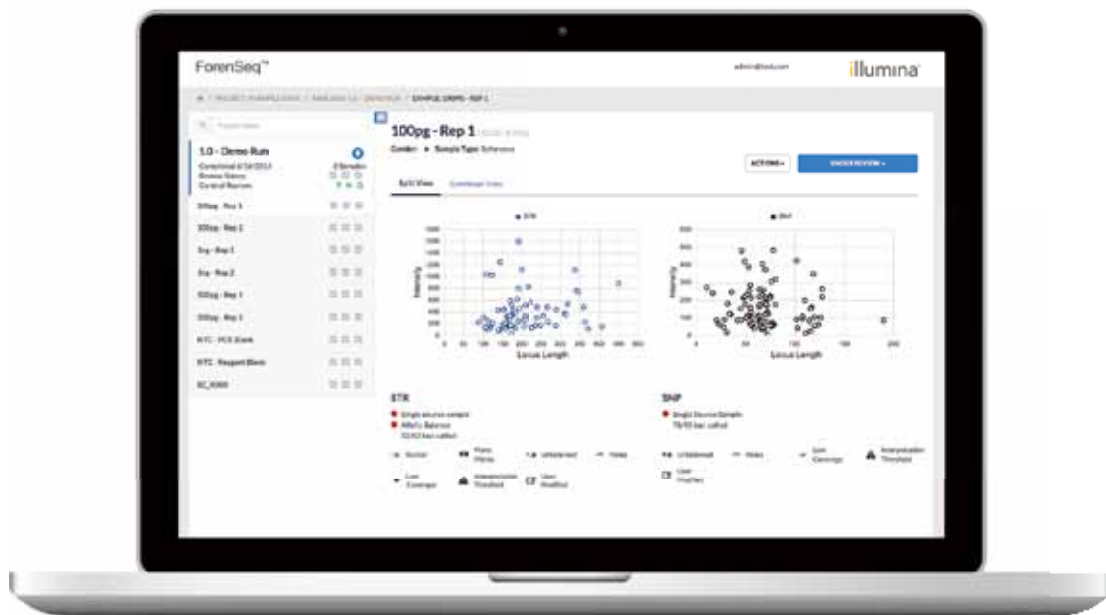
MiSeq FGx™ 法医专用测序仪

ForenSeq™ DNA Signature 样品制备扩增试剂盒

ForenSeq™ UAS 法医分析软件

illumina®

AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAAACGAAAGCTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
 AATCAACGTACCGTAAACGAAAGCTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
 AACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAAACGAAAGCTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
 TTAAGGTAACCTTAAGAGCTACCGTAAACGAAAGCTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
 AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAAACGAAAGCTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
 AAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAAACGAAAGCTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
 AACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAAACGAAAGCTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC



第一个也是唯一一个经过验证的包含 STR 和 SNP 试剂盒



总常染色体  
STR



总 Y 染色体  
STR



身份  
SNP



表型  
SNP



先祖  
SNP



X-STR

# 目录

I. 法医基因组学专用的 Illumina 新一代测序系统	5
II. Illumina NGS 扩增子测序的基本流程	5
III. 法医基因组学专用的 Illumina NGS 解决方案	5
a. 通过 STR 和 SNPs 进行人类身份鉴定	7
b. 线粒体 DNA 分析	8
IV. 法医基因组学应用 Illumina NGS 测序技术的优势	9
a. STR 内 SNPs 的检测	9
b. 多种 DNA 多态性的同时分析	9
c. 数字化数据带来更高的检测灵敏度	11
d. 多重文库制备带来更高的样品通量	11
V. 未来展望	12
VI. 词汇表	13
VII. 参考文献	14
VIII. 订购信息	14

[www.illumina.com/applications/forensics.ilmn](http://www.illumina.com/applications/forensics.ilmn)

AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGACTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AATCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGACTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AACGACGAAAGAAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGACT  
TTAAGGTACCATTAAAGACTACCGTACGAAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGACT  
AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGACTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTAAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGACTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGACTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGACTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA



## I. 法医基因组学专用的 Illumina 新一代测序系统

DNA 分析技术是当代法庭科学的基石。现今，绝大多数法庭科学 DNA 检测都是利用 PCR 技术和基于毛细管电泳 (CE) 技术的方法，来分析检测短串联重复序列 (STR) 标记中的片段长度变化。一小部分的法庭科学调查也使用基于 CE 技术的 Sanger 测序来分析线粒体 DNA (mtDNA) 的特定区域。

随着基因组学技术的发展进步，20 多年前首次应用于法庭科学实验室的 DNA 检测方法已经被超越。案件调查人员 -- 对样品信息量的需求显著增加，但 CE 检测的基本原理仍保持停滞。伴随着国家 DNA 数据库的出现，其在协助调查并认定嫌疑人方面发挥了巨大的威力，这些都促使更多国家去建立犯罪信息数据库。因此，需要 DNA 处理的案件样品数量也在不断增加。与此同时，DNA 检测在失踪人员鉴定、亲子鉴定、家系调查及其他人员身份鉴定应用中都发挥着关键作用，这些也激发了人们对更新的、更强大分析技术的兴趣。但是，这些不断增长的需求都受到 CE 现有技术能力的限制。

Illumina 的边合成边测序 (SBS) 技术<sup>1</sup> 为测序 PCR 扩增子提供了一种大规模并行测序的技术方法，让全世界的法庭科学家都能够受益于新一代测序 (NGS) 的全部功能。Illumina SBS 测序技术是整个测序行业中应用最广泛的技术<sup>2-6</sup>。该技术可以产出更高通量的高准确性序列的读取最长的片段长度，在重复序列区域同样能具备最佳的性能，并且可以使每个碱基的测序成本达到最低。研究人员使用最新的 NGS 系统，利用一步简单的靶向分析过程即可获得跨越整个基因组的数据，并解决更广泛的问题。更重要的是，NGS 检测的 STR 等位基因与目前的数据库格式完全兼容，提供了 CE 和 NGS 数据的无缝衔接。先前的研究结果显示，即使是最少、受损最严重，亦或是高度混合的疑难样品，NGS 都可能展现其令人鼓舞的优势信息。

## II. Illumina NGS 扩增子测序的基本流程

从原理上来说，NGS 技术的基本原理与 CE 测序相似 – 在 DNA 合成的连续循环过程中，DNA 聚合酶催化荧光标记的脱氧核糖核苷三磷酸 (dNTP) 与 DNA 模板链结合。在每个循环中，核苷酸结合后，标记的荧光基团被激发从而可识别核苷酸种类。两者关键的差异在于，与 CE 测序单个 DNA 片段不同，NGS 以大规模并行的方式将此过程扩展到数以百万计的 DNA 片段。

与许多 NGS 应用需要全基因组测序 (WGS) 不同，法医基因组学应用是检测扩增子测序的方法，通过扩增目的扩增子片段的方式锁定法医相关的目标序列并进行测序。Illumina NGS 扩增子测序流程包括四个基本步骤 (图 1)：

- 文库制备** – 对于扩增子测序，扩增子文库制备是通过两步 PCR 扩增完成的。第一个 PCR 步骤使用序列特异、带标记的引物对，它们扩增得到 DNA 样品中法医相关的目标序列。第二个 PCR 步骤中，扩增得到的目标序列中加入了测序所需的索引和接头。然后纯化扩增子文库，并将所有样品的文库合并在一管中，最后使其变性为单链。
- 簇生成** – 在簇生成的过程中，文库被注射到流动槽 (Flow Cell) 中，槽表面布满了寡核苷酸链，其与文库接头互补，两者在槽中特异结合。随后通过桥式扩增，每个片段被扩增成独立的克隆簇 (Cluster)。簇生成完成后，模板可即可用于测序。
- 测序** – Illumina SBS 技术是利用可逆终止子的方法来检测每个碱基与 DNA 模板链的结合<sup>1</sup>。由于每个测序循环都存在四种可逆终止子结合的 dNTP，与其他技术相比，这种天然竞争最大限度的减少了结合偏向，并大大降低了错误率<sup>3-5</sup>。即使对于重复序列区域和均聚物，同样可以进行高度准确的逐个碱基测序，并且几乎避免了序列背景特异的错误<sup>4,5</sup>。NGS 数据的质量和准确性对法医基因组学至关重要，特别是在分析混合 DNA 样品、mtDNA 异质性或 SNP 数据的结果时。

AAAGAAATGATAACAGTAAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCA  
AATCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCT  
AACGACGAAAGAATGATAACAGTAAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCT  
TTAAGGTACCATTAAGAGCTACCGTAAACAGTAAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCT  
AAAGAAATGATAACAGTAAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCA  
AAGATTACTTGTACCACTGATTCAACGTAAAGATTACTTGTACCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCA  
AACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGATTACTTGTACCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGTACCACTGATTCA

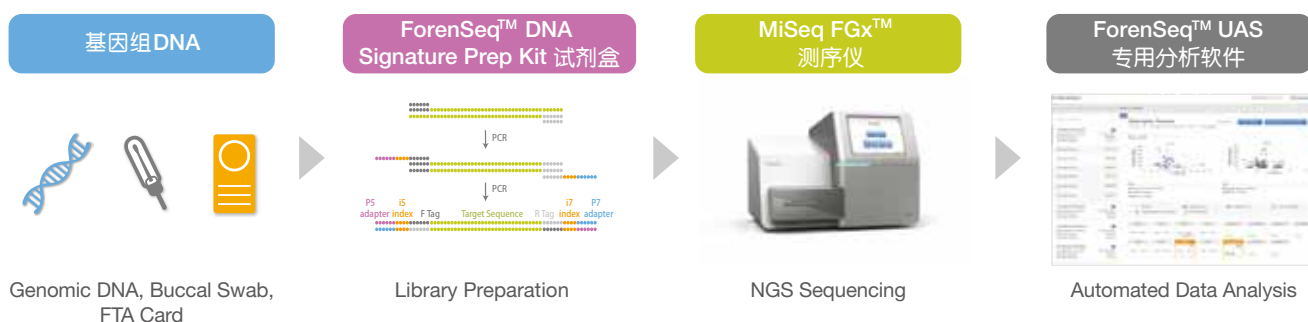




### III. 法医基因组学专用的 Illumina NGS 解决方案

#### a. 通过 STR 和 SNPs 进行人类身份鉴定

与法庭科学专家团合作开发，并充分利用 MiSeq® 系统的成熟技术，Illumina 创立了 MiSeq FGx™ Forensic Genomics System – 第一个经过全面验证<sup>7</sup>、专门为法医基因组学应用而设计的新一代测序系统。此系统为法庭科学 DNA 样品的分析提供了一个从 DNA 准备到数据分析的完整流程（图 2）。



**图 2: MiSeq FGx Forensic Genomics System 的检验流程。** MiSeq FGx™ Forensic Genomics System 是一套从 DNA 准备到数据分析的完整解决方案，其中包括文库制备试剂、DNA 测序平台，以及专门为法医基因组学设计的数据分析软件。MiSeq FGx System 提供了目前最完整的一体化检验流程。

此流程从 ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit 开始，盒内包含利用简单的平板形式和常规的试验设备制备 DNA 文库所需的全部试剂。ForenSeq DNA Signature Prep Kit 利用简化的流程一次检测即可获得 200 多个法医相关的遗传标记，而无需多个 STR 试剂盒<sup>8</sup>。此试剂盒不仅囊括了目前全世界在案件和罪犯 DNA 建库中常规使用的常染色体 STR 标记，还包含了传统 CE 方法不常使用的 Y- 和 X-STR 及 SNP 标记。这些标记包括：一组身份识别的 SNP 标记 (iiSNP)<sup>9,10</sup>，它们提供个体认定的信息，特别适合降解、混合或混有 PCR 抑制物的样品。另外还包括表型 SNP 标记 (piSNP)<sup>11</sup>，它们预测眼睛颜色（蓝色、中间色、棕色）和头发颜色（棕色、红色、黑色、金色），以及先祖 SNP 标记 (aiSNP)<sup>12,13</sup>。

**表 1. ForenSeq DNA Signature Prep Kit 中包含的法医应用位点**

位点	位点数目 <sup>a</sup>	片段长度 (bp)
常染色体 STR	27	61-467
Y-STRs	24	119-390
X-STRs	7	157-462
身份识别 SNPs	94	63-231
表型 SNPs <sup>b</sup>	22	73-227
先祖 SNPs	56	67-200

a. SNP 和 STR 在染色体上的位置可查阅 ForenSeq DNA Signature Prep Kit 使用指南。 (<http://support.illumina.com/downloads/forenseq-dna-signature-prep-guide-15049528.html>)

b. 2 个用于预测头发 / 眼睛颜色的表型 SNPs 标记，同时也用于先祖 SNPs 标记预测。

AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCTTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
AATCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCTTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
AACGACGAAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCTTAAGAGCTACCGT  
TTAAGGTACCATTAAGAGCTACCGTGAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCTTAAGAGCTACCGT  
AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCTTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
AAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCTTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC  
AACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCTTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTC AACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCTTAAGAGCTACCGT  
GCAACGAAAAGAATGATAAC





Nextera XT 试剂盒目的在于以最高效率从少量样本中分离出特定的基因组区域。例如，Nextera 试剂盒能够从低至 1ng 的 gDNA 快速制备 mtDNA 目标区域。利用单个酶学“片段化”反应来片段化并给扩增子加上测序接头，整个 Nextera XT 方案所需的时间不到 90 分钟（其中包括手工操作时间约为 15 分钟）。在单次测序运行中，Nextera XT DNA Library Prep Kit 最多可以进行 384 个文库的多重样本制备，将复杂的 Sanger 测序过程转变成简单的流程。

文库制备完成后，mtDNA 文库可在 MiSeq FGx 系统（RUO 模式）上进行测序。虽然 MiSeq FGx 系统是专为法医分析而设计，但它的 RUO 模式同样支持其他更广泛的测序应用，从 RNA 测序到人类外显子组测序，MiSeq 可实现各种 NGS 应用。

## IV. 法医基因组学应用 Illumina NGS 测序技术的优势

全基因组测序（WGS）展示了个体之间在整个基因组上的所有等位基因差异，包括存在于编码区、调控区和内含子区域的所有变异。尽管 WGS 对人类生物学和疾病的研究是极其珍贵的，也带来了最全面的基因组数据，但它同时需要强大的数据管理和数据分析能力。法庭科学家通常只需开展法医相关位点的靶向测序，而不需获得如此庞大的基因组数据。通过对特定区域基因组的测序，案件和数据库分析工作可直接针对那些最能解决法医问题的基因组区域。这种方法既避免了隐私方面的顾虑，又产生了易于管理的数据量，并简化了数据分析 – 而这些都是目前法庭科学 DNA 检验流程中常见的瓶颈问题。同时这种靶向测序也减少了由于 CE 检测分型是基于片段长度检测所带来的诸多限制。

### a. STR 内 SNPs 的检测

NGS 应用于法医基因组学的一个明显优势是，能够分辨长度相同、但碱基序列不同的等位基因。STR 内的 SNP 序列、mtDNA 的 SNP 序列，以及意外信号或数据假象的完整序列都能在核苷酸水平上评估，这些为案件和人员身份鉴定应用提供了一种强大而精确的方法。ForenSeq Universal Analysis Software 的用户界面可以方便的查看 STR 内 SNP 的数据，位点详情界面显示了测序强度信息、目标 DNA 碱基片段序列，以及更多详细信息（图 5）。

### b. 多种 DNA 多态性的同时分析

在法庭科学实验室，CE 分型技术的最大限制就是，不能同时分析不同种类的多态性，这使得实验室需要同时验证和维护多个 PCR 系统。CE 分型通常需要多轮检测，这对于含量有限或质量不佳的检材而言是不可能的，或是无法产生足够的信息量来得出结论（图 6）。这些所有的程序都需要单独的 QA/QC 和培训流程，都给实验室的维护工作增添很多负担。而 NGS 技术就克服了这些限制。

NGS 系统可以在单个检测中同时分析大量相关的 STR 标记和密集的 SNP 标记，从而简化了检测流程。此外，由于 ForenSeq DNA Signature Prep Kit 中的 SNP 标记扩增片段长度很短，也增强了对降解样本的分析能力。同时，NGS 系统也实现了可见性状的表型分析，如头发颜色、眼睛颜色，和先祖信息。NGS 系统带来了更大的数据量，而基于 NGS 技术的 STR 分型保留了标准的等位基因命名并与与现有数据库兼容 – 这些都使全球共用的遗传标记组合发挥更大的作用。

AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AATCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCT  
AACGACGAAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCT  
TTAAGGTACCATTAAGAGCTACCGTACGAAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCT  
AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTAAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCCATTAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA

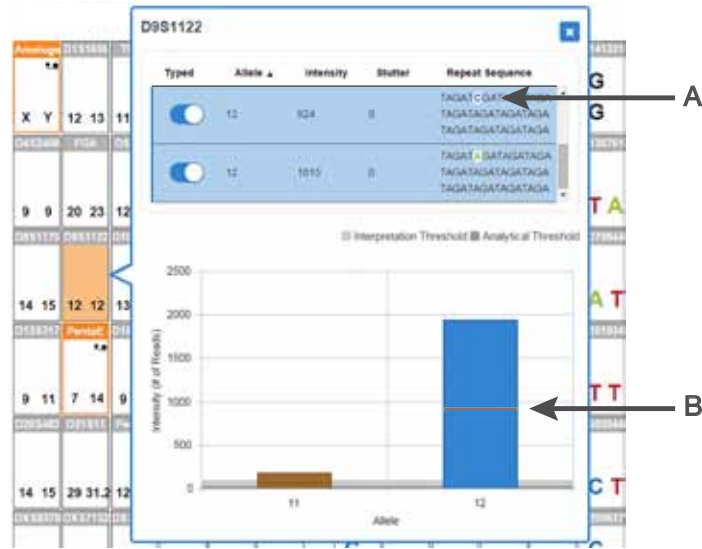
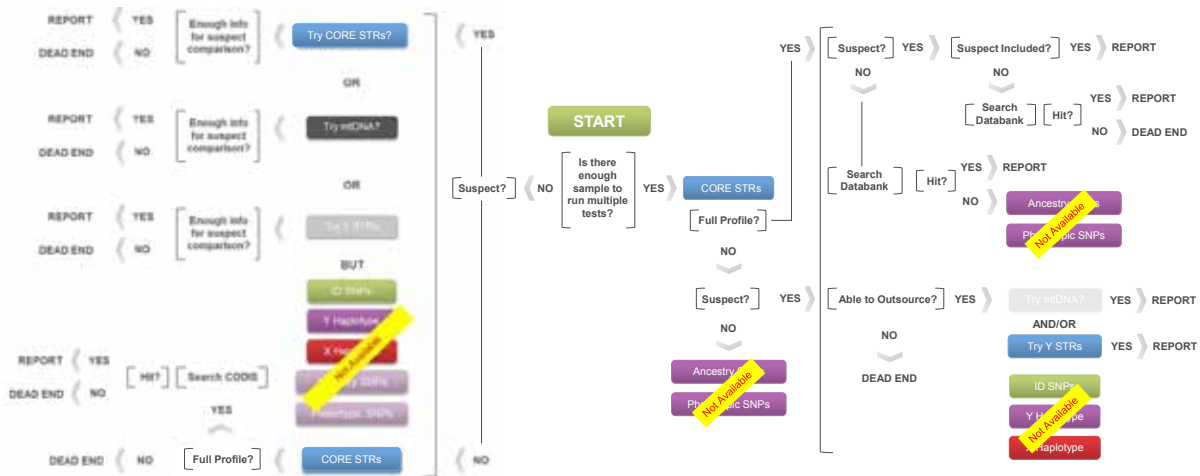


图 5: ForenSeq Universal Analysis Software – 位点详情界面和高分辨率基因分型。点击任何位点的基因型方框, 即可弹出的位点详情界面进行查看。在这个例子中, 位点详情界面显示 D9S1122 上检测到两个相同长度的 12 等位基因, 但 DNA 片段内碱基序列不同。STR 序列内有 SNP 变异 (等距杂合子) 有两个提示指标: A) “重复序列” 一列显示了每个 12 等位基因的碱基序列, 并强调了 STR 片段内的 SNP 变异; B) 12 等位柱状图表示测序强度, 柱状条上的水平线表明了这两个 12 等位基因在基因型图上的大致定量分布。但是, CE 技术是无法识别这些 STR 等位基因内部的差异的, 因为它只能根据 STR 扩增片段的长度进行基因分型。

### 基于CE技术的分析流程系统



### 基于Illumina NGS 技术的法医基因组学分析流程系统

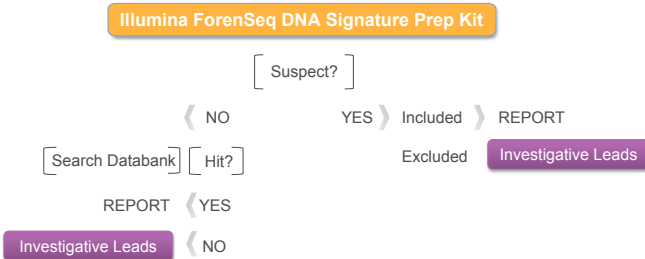


图 6: 单次流程即可检测多于 200 个遗传标记, Illumina 的 ForenSeq DNA Signature Prep Kit 为人类身份鉴定提供了最简单、也是最直接的途径。



## V. 未来展望

目前的法庭科学检验流程仍使用早期“人类基因组计划”之前的技术，那项技术人为的删减了基因组学的强大功能，并且必需多轮的分析才能产生完整的遗传图谱。使用 NGS 技术，法庭科学家就能获得更大信息量的更多位点，就能实现降解样本的出色分析，就能完成更精确分辨的测序流程，并且能够通过多重文库制备实现更高的检测通量。这些优势都将有助于在更短的时间内解决更多的案件，并将为那些陷入僵局的案件提供调查线索。以 Illumina 的 SBS 技术为核心，MiSeq FGx 系统成为第一套专为法医基因组学应用而设计的 NGS 系统。

DNA 数据库组织正在扩展现有的标记组合，以便与全球和各地的执法部门完成更加高效、更多合作的工作。全世界的科研团队正在利用 NGS 技术继续开发法庭科学案件和人类身份检测的新系统。目前的研究工作在评估 piSNPs 标记，这些标记提供了与鼻子、嘴唇、耳朵的形状、整体面部外形以及身高、卷发等特征关联的信息<sup>16,17</sup>。随着法医基因组学方法不断进步，Illumina 将更加致力于支持和推进这些工作。

AATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTAA  
ACGTACCGTAACGAACGTATCAATTAAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTAA  
ACGAAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGT  
GTACCATTAAGAGCTACCGTGAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTGAACAGAAAGAATGATAACA  
AATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTAA  
TACTTGATCCACTGATTCAACGTAAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTGAACAGAAAGAATGATAACAGTAA  
TATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTGAACAGAAAGAATGATAACAGTAA

## VI. 词汇表

**接头 (Adapters)** : 与测序文库中每个 DNA 片段的 5' 和 3' 端结合的寡核苷酸。这些接头与 Illumina 测序流动槽 (Flow Cell) 表面存在的寡核苷酸互补。

**杂峰 (Artifact)** : 扩增过程的非等位基因产物 (如 stutter 或 minus A) , 或 CE 检测过程中的异常信号 (如光谱渗透或荧光尖刺峰) 。

**桥式扩增 (Bridge Amplification)** : 发生在 Illumina 流动槽 (Flow Cell) 表面的扩增反应。在流动槽 (Flow Cell) 制造过程中, 表面密集的包被了两种不同的寡核苷酸, 被称为 “p5” 和 “p7” 。在桥式扩增的第一步, 单链测序文库被注射到流动槽 (Flow Cell) 中。当文库 “流过” 寡核苷酸时, 文库中的单个分子与互补寡核苷酸结合。当连接片段的自由端弯曲, 并与表面上的另一互补寡核苷酸 “搭成桥” 时, 启动就开始了。重复的变性和延伸循环 (与 PCR 相似) 使得单个分子在局部扩增成数百万个独特的克隆簇。这个过程, 也称为 “簇生成 (clustering) ” , 发生在 MiSeq FGx 仪器上。

**口腔拭子 (Buccal Swab)** : Q-tip、棉签或类似刷子的采集工具, 以非侵入性的方式从嘴巴 / 脸颊内采集细胞, 用于 DNA 分型。

**毛细管电泳 (Capillary Electrophoresis, CE)** : 目前根据片段大小分布来分离 STR 的首选方法。

**簇 (Clusters)** : 与流动槽表面结合的模板 DNA 的克隆分组。每条与流动槽 (Flow Cell) 结合的 DNA 模板链作为种子, 通过桥式扩增而进行克隆扩增, 直至每个簇大约达到 1000 个拷贝。流动槽 (Flow Cell) 上的每个簇产生单条测序序列。例如, 流动槽 (Flow Cell) 上 10,000 个簇将产生 10,000 条序列。

**覆盖度水平 (Coverage Level)** : 与 ForenSeq 目标位点的每个碱基比对的测序碱基的平均数量。例如, 某法医 DNA 文库以 30 倍覆盖度测序, 则意味着 ForenSeq 目标位点中的每个碱基平均被测序检测 30 次。

**流动槽 (Flow Cell)** : 表面密集包被能与接头互补结合的寡核苷酸的玻片。可同时进行 8-384 个多重文库测序检测, 这取决于应用参数。

**索引 / 条形码 / 标签 (Indexes/Barcodes/Tags)** : 一段独特的 DNA 序列, 与测序文库中的目标片段相连接, 用于下游的计算机分选和鉴定。带有不同索引的文库可合并在一起, 上样到测序流动槽 (Flow Cell) 的一个通道中, 在同一运行中测序。随后各自的序列可通过软件来鉴定和分类。

**序列 (Read)** : 新一代 DNA 测序的过程使用仪器来确定样品的 DNA 序列。一般说来, “序列” 指的是对应于样品 DNA 的 “A、T、C 和 G” 碱基的数据串。有了 Illumina 技术, 数百万条序列在单个测序运行中生成。具体说来, 流动槽上的每个簇产生了单条测序序列。例如, 流动槽上 10,000 个簇将产生 10,000 条序列。

**短串联重复序列 (Short Tandem Repeat, STR)** : 它们也被称为微卫星, 大约是 2-6 bp 的重复序列 (如 AATG-AATG-AATG), 在整个人类基因组中每隔 6-10 kb 就会出现。它们在人类群体中具有高度可变性, 可作为个体的独特识别信号。

**单核苷酸多态性 (Single Nucleic Polymorphism, SNP)** : 当物种成员间或个体的同源染色体之间存在基因组单个核苷酸 (A、T、C 或 G) 差异时, DNA 序列变异产生。由于人类群体的变化, 在一个地区或种族群体中常见的 SNP 等位基因在其他群体中可能是稀有的。

AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AATCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AACGACGAAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
TTAAGGTACCATTAAGAGCTACCGTACGAAAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AAAGAATGATAACAGTAACACACTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA  
AACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAAGAGCTACCGTCTTCTGTTAAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCA



## VII. 参考文献

1. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*. 2008;456(7218):53–9.
2. Nakazato T, Ohta T, Bono H. Experimental design-based functional mining and characterization of high-throughput sequencing data in the sequence read archive. *PLoS One* (2013)22;8(10):e77910.
3. Sebastian J, Fritz JS, Karola P, et al. Updating benchtop sequencing performance comparison. *Nat Biotechnol*. 2013;31:294–296.
4. Loman NJ, Misra RV, Dallman TJ, et al. Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms. *Nat Biotechnol*. 2012;30:434–439.
5. Quail MA, Smith M, Coupland P, et al. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences, and Illumina MiSeq sequencers. *BMC Genomics*. 2012;13:341.
6. Liu L, Li Y, Li S, et al. Comparison of next-generation sequencing systems. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:251364.
7. The full MiSeq FGx System workflow is validated per the Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM) guidelines ([www.swgdam.org](http://www.swgdam.org)).
8. Illumina (2014) ForenSeq DNA signature prep kit data sheet ([www.illumina.com/products/forenseq-dna-signature-kit.ilmn](http://www.illumina.com/products/forenseq-dna-signature-kit.ilmn)).
9. Kidd KK, Pakstis AJ, Speed WC, et al. Developing a SNP panel for forensic identification of individuals. *Forensic Sci Int*. 2006;164(1):20–32.
10. Sanchez JJ, Phillips C, Børsting C, et al. A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for human identification. *Electrophoresis*. 2006;27(9):1713–1724.
11. Walsh S, Liu F, Wollstein A, et al. The HlrIsPlex system for simultaneous prediction of hair and eye colour from DNA. *Forensic Sci Int Genet*. 2013;7(1):98–115.
12. Kidd KK, Speed WC, Pakstis AJ, et al. Progress toward an efficient panel of SNPs for ancestry inference. *Forensic Sci Int Genet*. 2013;10:23–32.
13. Phillips C, Prieto L, Fondevila M, et al. Ancestry analysis in the 11-M Madrid bomb attack investigation. *PLoS One*. 2009;4(8):e6583.
14. Illumina. Human mtDNA genome protocol ([support.illumina.com/downloads/human\\_mtdna\\_genome\\_guide\\_15037958.ilmn](http://support.illumina.com/downloads/human_mtdna_genome_guide_15037958.ilmn)).
15. Illumina. Human mtDNA D-loop Hypervariable region protocol. ([support.illumina.com/downloads/human\\_mtdna\\_d\\_loop\\_hypervariable\\_region\\_guide\\_15034858.ilmn](http://support.illumina.com/downloads/human_mtdna_d_loop_hypervariable_region_guide_15034858.ilmn)).
16. Illumina (2012) By digging deeper into the genome, next-generation sequencing may yield more forensic clues. Interview. ([applications.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/other/interview\\_budowle.pdf](http://applications.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/other/interview_budowle.pdf)).
17. Claes P, Hill H, and Shriver MD. Toward DNA-based facial composites: preliminary results and validation. *Forensic Sci Int Genet*. 2014;13:208–16.

## VIII. 订购信息

Product	Catalog No.
MiSeq FGx Instrument	SY-411-1001
MiSeq ForenSeq Sequencing Kit	MS-201-1001
ForenSeq DNA Signature Prep Kit	FC-450-1001
ForenSeq Index Adapter Fixture	FC-451-1001
ForenSeq Universal Analysis Software	SE-550-1001



