·技术与应用·

基于 Ion Torrent PGM™ 测序平台的 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座分析

杨仪尊[1,2],平 原[2]
(1. 复旦大学生命科学学院,上海 200438; 2. 上海市公安局物证鉴定中心 法医物证学现场应用技术公安部重点实验室 上海市现场物证重点实验室,上海 200083)

摘 要: **目的** 应用二代测序(next generation sequencing,NGS)技术对 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座进行分析检测,研究 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的序列多态性。 **方法** 采集 165 例中国汉族无关个体外周血样,应用 QIAamp DNA Mini 试剂盒提取样本 DNA,Ion Plus Fragment Library 试剂盒构建文库,在 Ion Torrent PGM™ 测序平台上进行 DNA 序列测定,针对新发现的等位基因进行 Sanger 测序验证。应用 Torrent Suite™ v5.0.2 和 Integrative Genomics Viewer 软件分析数据,进行基因型鉴定和频率统计,运用 PowerState v12 软件对数据进行统计学处理。 **结果** 应用 NGS 技术同时获得了 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座长度多态性和序列多态性,在 *CSF1PO* 基因座中,发现了 1 个新的基因型,在 *D18S51* 基因座中,发现 2 个新的基因型。采用 Sanger 测序法对 NGS 技术检测新发现的等位基因进行验证,验证结果一致。 **结论** 应用二代测序技术可检测 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座核心重复序列的结构,提高基因座的识别效能。

关键词: 法医遗传学;序列分析,DNA;*CSF1PO*;*D18S51*;二代测序;Ion Torrent PGM™ 测序系统
中图分类号: DF795.2 **文献标志码**: A **doi**: 10.12116/j.issn.1004-5619.2018.05.017
文章编号: 1004-5619(2018)05-0520-06

Analysis of *CSF1PO* and *D18S51* Loci Based on Ion Torrent PGM™ Platform

YANG Yi-zun[1,2], PING Yuan[2]
(*1. School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China; 2. Shanghai Key Laboratory of Crime Scene Evidence, Key Laboratory of Forensic Evidence and Science Technology, Ministry of Public Security, Institute of Forensic Science, Shanghai Public Security Bureau, Shanghai 200083, China*)

Abstract: **Objective** To analyse and detect *CSF1PO* and *D18S51* loci by next generation sequencing (NGS) technology for the study on their sequence polymorphism. **Methods** The peripheral blood samples were collected from 165 unrelated individuals of Chinese Han population. DNA samples were obtained by QIAamp DNA Mini kit. The library was constructed by Ion Plus Fragment Library. DNA sequencing analysis was performed on Ion Torrent PGM™ Platform. The newfound alleles were verified by Sanger sequencing. Data were analysed by Torrent Suite™ v5.0.2 and Integrative Genomics Viewer for the genotype identification and frequency count. The data were analysed statistically by PowerState v12. **Results** The length and sequence polymorphisms of *CSF1PO* and *D18S51* loci were simultaneously obtained by NGS technology. A new genotype was found on *CSF1PO* locus, and two new genotypes on *D18S51* locus. Sanger sequencing was used to verify the newfound alleles found by NGS technology, and the results of verification showed consistency. **Conclusion** The structure of core repeats on *CSF1PO* and *D18S51* loci was detected by NGS in this study for the improvement of the identifying performance of locus.

Keywords: forensic genetics; sequence analysis, DNA; *CSF1PO*; *D18S51*; next generation sequencing; Ion Torrent PGM™ sequencing system

短串联重复(short tandem repeat,STR)序列在人类基因组中因多态信息含量高、数量丰富,适用于常见生物检材的分析检验。目前采用毛细管电泳(capillary electrophoresis,CE)方法获得 STR 分型被广泛应用于法医 DNA 实验室中[1-3],但 CE 方法仅能检测 STR 序列的长度多态性,无法获得基因座序列多态性信息。应用二代测序(next generation sequencing,NGS)技术对 STR 基因座进行分型是目前法医遗传学领域的研

作者简介:杨仪尊(1988—),女,硕士研究生,主要从事法医物证学检验;E-mail:shnuyyz@163.com

究热点，由于其可同时获得STR长度多态性及序列多态性的遗传信息，从而提高STR基因座的个体识别能力，具有良好的应用前景[4-11]。目前，二代测序技术的两大主流测序平台为美国Illumina公司的MiSeq系列测序平台和美国Thermo Fisher Scientific公司的Ion Torrent系列测序平台。本研究利用Ion Torrent个体化操作基因组测序平台(personal genome machine，PGM)，对中国汉族165名无关个体在*CSF1PO*和*D18S51*基因座的遗传多态性进行研究，为二代测序技术应用于法医遗传学相关研究提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 样本采集与DNA提取

采集165名无亲缘关系的中国汉族人群志愿者外周血样本，所有研究对象均根据知情同意原则签署知情同意书。应用QIAamp DNA Mini试剂盒(德国QIAGEN公司)在BioRobot EZ1工作站(德国QIAGEN公司)上提取基因组DNA，所有操作按说明书进行。用Qubit™ dsDNA HS Assay试剂盒和Qubit® 2.0荧光计(美国Thermo Fisher Scientific公司)进行DNA定量。

1.2 STR复合扩增

采用Primer3Plus工具设计*CSF1PO*和*D18S51*基因座的引物，使用美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information，NCBI)的BLAST®(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)进行引物特异性验证[12]，引物序列见表1。使用QIAGEN Multiplex PCR试剂盒(德国QIAGEN公司)进行PCR扩增，反应体系为20 μL，包括：复合引物(0.2 μmol/L)各0.5 μL，2×PCR反应混合物10 μL，DNA模板1 ng，加水补至20 μL。PCR反应条件：95 ℃ 10 min；94 ℃ 30 s，61 ℃ 90 s，72 ℃ 60 s，10个循环；94 ℃ 30 s，59 ℃ 90 s，72 ℃ 60 s，20个循环；60 ℃ 30 min；4 ℃保存。PCR产物用1%琼脂糖凝胶电泳进行检测。PCR产物采用Agemourt AMPure XP磁珠(美国Beckman Coulter公司)纯化后采用Qubit™ dsDNA HS Assay试剂盒和Qubit® 2.0荧光计进行定量检测。

表1 *CSF1PO*和*D18S51*基因座的引物序列

基因座	引物序列(5′→3′)	碱基位置	长度/bp
CSF1PO	F：GTGTTCCAACCTGAGTCTGCCAAG R：CATTTCCTGTGTCAGACCCTGTTC	Chr5：150076324-150076375	221
D18S51	F：CACTGCACTTCACTCTGAGTGAC R：GGACATGTTGGCTTCTCTCTGTTC	Chr18：124894865-124894916	240

注：扩增子大小参考的基因组版本号为GRCh38；F表示正向引物，R表示反向引物

1.3 文库构建

纯化后的PCR产物采用Ion Plus Fragment Library试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司)进行末端修复，磁珠纯化后使用Ion Xpress™ Barcode Adapters试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司)添加标签序列接头(Barcode)和公用接头(P1 adapter)构建文库。文库在磁珠纯化后使用High Sensitivity DNA Analysis试剂盒(美国Agilent公司)在2100 Bioanalyzer Instruments(美国Agilent公司)上对回收的文库质量进行检测。检测后的DNA片段加入通用测序扩增引物进行扩增富集，磁珠纯化后采用Qubit™ dsDNA HS Assay试剂盒和Qubit® 2.0荧光计进行定量检测，根据结果将样本的扩增产物等量混合。操作过程参照Thermo Fisher Scientific公司官方网站中提供的Ion Torrent操作手册。

1.4 乳液PCR与测序

采用Ion PGM™ Hi-Q™ OT2试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司)在Ion OneTouch™ 2系统上进行乳液PCR，将反应文库与测序微珠连接并扩增，反应完成后通过Ion OneTouch™富集系统进行微珠富集，同时去除未连接文库的空微珠[13]。根据测序通量选择相应的Ion Torrent™芯片——Ion 318 v2(美国Thermo Fisher Scientific公司)，采用Ion PGM™ Hi-Q™ Sequencing试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司)按照产品说明书配制测序体系，在Ion Torrent PGM™测序平台上进行测序反应。

1.5 数据分析

采用配套的Torrent Suite™ v5.0.2软件(美国Thermo Fisher Scientific公司)对电信号进行捕获和转换，按照以下步骤完成等位基因检验：(1)筛选出测序所得序列两端与引物序列能够完全匹配的数据；(2)序列核心重复区域中1 bp替换也一并纳入，以获得更多的遗传多态性信息；(3)根据核心重复区域序列进行聚类，以读取各STR基因座的等位基因，对核心区域序列相同但测序方向不同的序列进行合并，并统计各等位基因所得的序列数目，结合Torrent Suite™ v5.0.2和Integrative Genomics Viewer(IGV，加利福尼亚大学研究部)软件对测序结果进行初步分析，得到整体数据量、变异信息、平均测序深度等[14]。测序深度次数定义为一次实验中某等位基因被检出的次数；等

位基因覆盖率定义为当样本在同一基因座上检测得到的两个等位基因不相同时，这两个等位基因的序列数目之比[15]；等位基因比例定义为样本等位基因的序列数目与总的序列数目之比[16]；stutter 比例定义为比样本目标等位基因少一个重复单位或多一个重复单位的等位基因序列数目与总的序列数目之比[17]。运用 PowerState v12 软件（美国 Promega 公司）对数据进行统计学处理，获得 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的个体识别率（discrimination power，DP）、多态信息含量（polymorphic information content，PIC）、二联体非父排除率（probability of paternity exclusion in duos，PE_{duo}）、三联体非父排除率（probability of paternity exclusion in trios，PE_{trio}）等群体遗传学参数。

1.6 基于 CE 方法的常染色体 STR 检验

应用 GlobalFiler™ Express PCR 扩增试剂盒（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）在 9700 型 PCR 仪（美国 AB 公司）上进行扩增，反应体系及反应条件按照试剂盒说明书进行。用 3500xL 基因分析仪（美国 AB 公司）进行 CE，由 Data Collection 软件收集数据，使用 GeneMapper™ v3.0 软件进行 STR 分析获取分型结果，该 STR 分型结果用于和 Ion Torrent PGM™ 测序平台的检测结果进行比较。

1.7 Sanger 测序验证

针对 Ion Torrent PGM™ 测序平台检测中发现的新的等位基因，采用 Sanger 测序法进行验证。测序反应体系及反应条件遵照 BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing 试剂盒（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）的说明书进行，PCR 产物使用 3500xL 基因分析仪进行电泳检测。

2 结 果

本研究应用二代测序技术对 165 名中国汉族无关个体的样本进行了测序，所有样本在 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座都扩增成功，测序结果中大于 50×以上测序深度的基因型位点均纳入分析[18]。*CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的测序深度、等位基因覆盖率、等位基因比例、stutter 比例分别通过计算得到，结果见表 2。

表 2 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的测序结果

（n=165，$\bar{x}\pm s$）

基因座	测序深度次数	等位基因覆盖率/%	等位基因比例/%	stutter 比例/%
CSF1PO	981±446	60.3±21.6	73.8±5.3	5.4±2.7
D18S51	1 205±526	62.7±15.7	69.3±4.1	6.5±2.9

实验结果中 STR 等位基因的命名按照国际法医遗传学会（International Society of Forensic Genetics，ISFG）推荐的命名法[19]及 STRBase（SRD-130，https://strbase.nist.gov/index.htm）数据库现有的命名原则进行。本研究应用 Ion Torrent PGM™ 测序平台得到的 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因型与 PCR-CE 方法得到的基因型一致，其中 4 例样本的等位基因具有相同的序列长度但核心重复序列结构有差异。Ion Torrent PGM™ 测序平台获得的 165 名中国汉族无关个体 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的等位基因序列信息和频率见表 3。

表 3 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的等位基因序列信息和频率

（n=165）

基因座	等位基因序列信息	个数	频率
CSF1PO	*CSF1PO*[CE7]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_7$	1	0.003
	CSF1PO[CE9]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_9$	16	0.048
	CSF1PO[CE10]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_{10}$	80	0.242
	CSF1PO[CE11]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_{11}$	74	0.224
	CSF1PO[CE12]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_{12}$	122	0.370
	CSF1PO[CE12]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_5$**G**TCT$[ATCT]_6$	2	0.006
	CSF1PO[CE13]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_{13}$	28	0.085
	CSF1PO[CE14]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_{14}$	4	0.012
	CSF1PO[CE15]-Chr5-GRCh38 150076324-150076375$[ATCT]_{15}$	3	0.009
D18S51	*D18S51*[CE11]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{11}$	1	0.003
	D18S51[CE12]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{12}$	8	0.024
	D18S51[CE13]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{13}$	64	0.194
	D18S51[CE13]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_9$AG**G**A$[AGAA]_3$	1	0.003
	D18S51[CE14]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{14}$	74	0.224
	D18S51[CE15]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{15}$	61	0.185
	D18S51[CE16]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{16}$	49	0.148
	D18S51[CE17]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{17}$	22	0.067
	D18S51[CE18]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{18}$	17	0.052
	D18S51[CE19]-Chr18-GRCh38 124894865-124894916$[AGAA]_{19}$	8	0.024

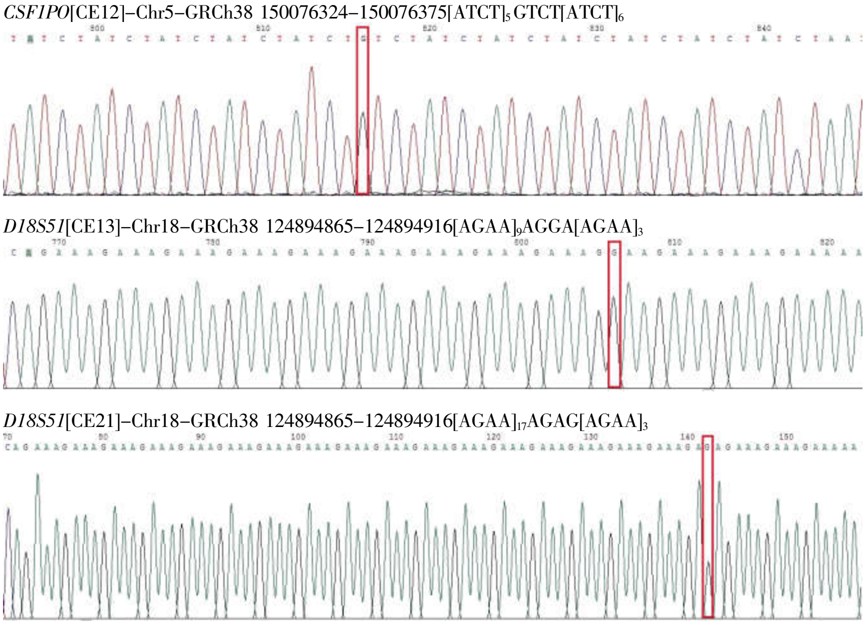
续表 3

基因座	等位基因序列信息	个数	频率
D18S51	*D18S51*[CE20]–Chr18–GRCh38 124894865–124894916[AGAA]$_{20}$	10	0.030
	D18S51[CE21]–Chr18–GRCh38 124894865–124894916[AGAA]$_{21}$	7	0.021
	D18S51[CE21]–Chr18–GRCh38 124894865–124894916[AGAA]$_{17}$AGA**G**[AGAA]$_{3}$	1	0.003
	D18S51[CE22]–Chr18–GRCh38 124894865–124894916[AGAA]$_{22}$	5	0.015
	D18S51[CE23]–Chr18–GRCh38 124894865–124894916[AGAA]$_{23}$	2	0.006

注:粗体表示等位基因核心重复结构中的单核苷酸差异

应用二代测序技术检测观察到 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座具有长度相同但核心重复序列不同的等位基因 3 种,采用 Sanger 测序法对其进行验证,验证结果均与采用 Ion Torrent PGM™ 测序平台检测得到的结果一致。该 3 种等位基因核心重复序列的 Sanger 测序验证图见图 1。

采用 PCR–CE 法和二代测序技术检测分别获得 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的等位基因,运用 PowerState v12 软件计算得到群体遗传学参数 DP、PIC、PE_{duo}、PE_{trio},详见表 4。结果显示:与 CE 方法相比较,运用二代测序技术进行检测,*CSF1PO* 的 DP 由 0.891 提高至 0.893,PIC 由 0.701 提高至 0.704,PE_{duo} 由 0.376 提高至 0.387,PE_{trio} 由 0.472 提高至 0.482;*D18S51* 的 DP 由 0.955 提高至 0.956,PIC 由 0.820 提高至 0.832,PE_{trio} 由 0.511 提高至 0.527,PE_{trio} 由 0.622 提高至 0.633。



红色框示 3 种等位基因核心重复序列的结构差异

图 1 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的 Sanger 测序验证图

表 4 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座采用两种技术得到的群体遗传学参数 (n=165)

基因座	CE				二代测序			
	DP	PIC	PE_{duo}	PE_{trio}	DP	PIC	PE_{duo}	PE_{trio}
CSF1PO	0.891	0.701	0.376	0.472	0.893	0.704	0.387	0.482
D18S51	0.955	0.820	0.511	0.622	0.956	0.832	0.527	0.633

3 讨 论

本研究基于 Ion Torrent PGM™ 测序平台进行高通量序列检测,仅使用一块 Ion 318 v2 芯片,可一次对几百万条 DNA 分子进行序列测定,实现了大规模并行测序。Ion Torrent PGM™ 测序结果显示:在 165 例样本的 *CSF1PO* 基因座中,有 2 例在第 6 个核心重复序列发生了碱基置换(A→G),产生新的等位基因($[ATCT]_5GTCT[ATCT]_6$),CHURCHILL 等[20]也报道了该种新的等位基因;在 165 例样本的 *D18S51* 基因座中,1 例在第 10 个核心重复序列发生了碱基置换(A→G),产生新的等位基因($[AGAA]_9AGGA[AGAA]_3$),另 1 例在第 18 个核心重复序列发生了碱基置换(A→G),产生新的等位基因($[AGAA]_{17}AGAG[AGAA]_3$)。应用二代测序技术既获得了 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的长度多态性信息以兼容传统的 PCR-CE 分型结果,同时又获得了 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的序列多态性信息,使具有相同长度的基因座通过核心重复序列的结构差异而得以区分。采用 PowerState v12 软件计算得到 PCR-CE 和二代测序技术两种检测方法的遗传学参数(DP、PIC、PE_{duo}、PE_{trio}),比较发现 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的 DP、PIC、PE_{duo}、PE_{trio} 均有所提高,表明 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的识别效能提高,为未来探索解决混合斑检验、复杂亲缘关系鉴定等法医学疑难问题提供了全新的思路。

本研究为使 Ion Torrent PGM™ 测序平台生成的基因座数据信息和 PCR-CE 法检测生成的基因座数据信息有效对接,采用了第 26 届 ISFG 会议提出的建议[19]:(1)导出 *CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座核心重复序列的 FASTA 格式信息并形成数据库,获取等位基因的频率信息;(2)*CSF1PO* 和 *D18S51* 基因座的等位基因命名全部按照最新参考序列 GRCh38 进行命名,命名次序为 STRBase 数据库使用的基因座名称和重复次数,染色体编号和使用的参考基因组版本号,核心序列的起始和终止位置,具体重复序列。

随着商业化试剂盒的开发,二代测序技术可应用于常染色体和性染色体 STR 多位点并行检测、单核苷酸多态性分析以及线粒体全序列测定等[13,21-25],在法医遗传学研究上具有广阔的空间和多样化的前景,为侦破刑事案件提供了更多方法上的选择。但就目前而言,将其应用到法庭科学常规检测中还有一定的限制:(1)应用二代测序技术较 PCR-CE 方法检测在原理和应用上有很大的更新,实验流程比较繁琐,实验耗时较长;(2)应用二代测序技术产生的数据信息量高达几千兆甚至更多,数据分析较为复杂,对技术人员的操作水平及分析能力要求较高;(3)法医 DNA 实验室现有的仪器设备投入使用时间不长,短期内不可能全部替换。未来,随着案件样本的复杂性、多样性及总数量增加,采用信息含量更多、数据准确性更高的新技术替代传统的 DNA 检验技术是学科发展的必然趋势,但仍需要大量的研究工作加以评估。

参考文献:

[1] BUTLER J M. Advanced topics in forensic DNA typing: methodology[M]. Amsterdam: Elsevier Academic Press,2012.

[2] HANSSEN E N, LYLE R, EGELAND T, et al. Degradation in forensic trace DNA samples explored by massively parallel sequencing[J]. Forensic Sci Int Genet,2017,27:160-166.

[3] PILLAI S, GOPALAN V, LAM A K. Review of sequencing platforms and their applications in phaeochromocytoma and paragangliomas[J]. Crit Rev Oncol Hematol,2017,116:58-67.

[4] REUTER J A, SPACEK D V, SNYDER M P. High-throughput sequencing technologies[J]. Mol Cell,2015,58(4):586-597.

[5] IOZZI S, CARBONI I, CONTINI E, et al. Forensic genetics in NGS era: new frontiers for massively parallel typing[J]. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser,2015,5:e418-e419.

[6] WANG J, YU H, ZHANG V W, et al. Capture-based high-coverage NGS: a powerful tool to uncover a wide spectrum of mutation types[J]. Genet Med,2016,18(5):513-521.

[7] CARBONI I, FATTORINI P, PREVIDER C, et al. Evaluation of the reliability of the data generated by next generation sequencing from artificially degraded DNA samples[J]. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser,2015,5:e83-e85.

[8] BØRSTING C, MORLING N. Next generation sequencing and its applications in forensic genetics[J]. Forensic Sci Int Genet,2015,18:78-89.

[9] 张素华,边英男,赵琪,等. 二代测序技术在法医学中的应用进展[J].法医学杂志,2016,32(4):282-289.

[10] BOTTINO C G, CHANG C W, WOOTTON S, et al. STR genotyping using ion torrent PGM and STR 24-plex system: performance and data interpretation[J]. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser,2015,5:e325-e326.

[11] GOODWIN S, MCPHERSON J D, MCCOMBIE W R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies[J]. Nat Rev Genet,2016,17(6):333-351.

[12] UNTERGASSER A, NIJVEEN H, RAO X, et al. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3[J]. Nucleic Acids Res,2007,35(Web Server issue):W71-W74.

[13] ZHAO X, MA K, LI H, et al. Multiplex Y-STRs

analysis using the ion torrent personal genome machine (PGM)[J]. Forensic Sci Int Genet, 2015, 19: 192-196.

[14] RUITBERG C M, REEDER D J, BUTLER J M. STRBase: a short tandem repeat DNA database for the human identity testing community[J]. Nucleic Acids Res, 2001, 29(1): 320-322.

[15] CHURCHILL J D, SCHMEDES S E, KING J L, et al. Evaluation of the Illumina® Beta Version ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit for use in genetic profiling[J]. Forensic Sci Int Genet, 2016, 20: 20-29.

[16] GELARDI C, ROCKENBAUER E, DALSGAARD S, et al. Second generation sequencing of three STRs *D3S1358*, *D12S391* and *D21S11* in Danes and a new nomenclature for sequenced STR alleles[J]. Forensic Sci Int Genet, 2014, 12: 38-41.

[17] FORDYCE S L, MOGENSEN H S, BØRSTING C, et al. Second-generation sequencing of forensic STRs using the Ion Torrent™ HID STR 10-plex and the Ion PGM™[J]. Forensic Sci Int Genet, 2015, 14: 132-140.

[18] GUO F, ZHOU Y, LIU F, et al. Evaluation of the Early Access STR Kit v1 on the Ion Torrent PGM™ platform[J]. Forensic Sci Int Genet, 2016, 23: 111-120.

[19] PARSON W, BALLARD D, BUDOWLE B, et al. Massively parallel sequencing of forensic STRs: Considerations of the DNA commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG) on minimal nomenclature requirements[J]. Forensic Sci Int Genet, 2016, 22: 54-63.

[20] CHURCHILL J D, NOVROSKI N M M, KING J L, et al. Population and performance analyses of four major populations with Illumina's FGx Forensic Genomics System[J]. Forensic Sci Int Genet, 2017, 30: 81-92.

[21] ZHAO X, LI H, WANG Z, et al. Massively parallel sequencing of 10 autosomal STRs in Chinese using the ion torrent personal genome machine (PGM)[J]. Forensic Sci Int Genet, 2016, 25: 34-38.

[22] CASALS F, ANGLADA R, BONET N, et al. Length and repeat-sequence variation in 58 STRs and 94 SNPs in two Spanish populations[J]. Forensic Sci Int Genet, 2017, 30: 66-70.

[23] STEPANOV V, VAGAITSEVA K, KHARKOV V, et al. Forensic and population genetic characteristics of 62 X chromosome SNPs revealed by multiplex PCR and MALDI-TOF mass spectrometry genotyping in 4 North Eurasian populations[J]. Leg Med (Tokyo), 2016, 18: 66-71.

[24] ZHANG S, BIAN Y, CHEN A, et al. Developmental validation of a custom panel including 273 SNPs for forensic application using Ion Torrent PGM[J]. Forensic Sci Int Genet, 2017, 27: 50-57.

[25] GOUVEIA N, BRITO P, BOGAS V, et al. Massively parallel sequencing of forensic samples using Precision ID mtDNA Whole Genome Panel on the Ion S5™ System[J]. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser, 2017, 6: e167-e168.

(收稿日期:2017-11-16)
(本文编辑:张素华)