

SF

中华人民共和国司法行政行业标准

SF/T 0098—2021

大麻的法医学 STR 遗传标记分型检验要求

Requirements for genotyping of forensic STR markers for *Cannabis sativa L.*

2021 - 11 - 17 发布

2021 - 11 - 17 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	1
5 总体要求	1
6 检验程序	2
7 鉴定意见	3
8 鉴定文书	3
参考文献	4

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、中国农业科学院麻类所。

本文件主要起草人：张素华、李成涛、潘根、向平、施妍、刘希玲、林源、阙庭志、赵珍敏。

大麻的法医学 STR 遗传标记分型检验要求

1 范围

本文件规定了大麻样本进行STR遗传标记分型的总体要求以及检验程序、鉴定意见和鉴定文书的要求。

本文件适用于法医学实验室对大麻样本进行个体识别。

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。

SF/T 0069—2020 法医物证鉴定实验室管理规范

SF/Z JD0105012—2018 个体识别技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

短串联重复序列 short tandem repeat, STR

存在于基因组DNA中的一类具有长度多态性的DNA序列。

注：由2~6个碱基的重复单位串联构成。

3.2

基因座 locus

基因在染色体的特定位置。

3.3

等位基因 allele

同一基因座上存在DNA一级结构差异的基因。

3.4

似然率 likelihood ratio, LR

评估遗传标记分型提供证据强度的指标。

注：数值上似然率是两个条件概率的比值，LR数值越大，越支持原告假设。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DNA 脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid)

PCR 聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction)

RNA 核糖核酸 (Ribonucleic Acid)

5 总体要求

- 5.1 鉴定人应具有法医物证鉴定执业资格，熟悉并掌握基于毛细管电泳进行 STR 遗传标记分型检测的方法和原理，并能正确使用分析软件对分型结果进行分析与评价。
- 5.2 鉴定活动应包括检验、鉴定意见和鉴定文书撰写等环节。鉴定活动完毕后，应将各个环节的记录进行归档。其中：检验程序、鉴定意见和鉴定文书应符合第 6 章～第 8 章的规定。
- 5.3 实验室以及样本管理、设备管理和质量管理等应符合 SF/T 0069—2020 的规定。

6 检验程序

6.1 采样要求

样本的采集、包装和保存要求如下：

- a) 样本可为大麻的叶片、花和果实等组织，也可为大麻植物干品和大麻树脂等。有条件的情况下，宜选择新鲜的检材；
- b) 样本应分别包装，注明检材的编号、采样日期和采样人等；
- c) 样本采集后应干燥保存。

6.2 DNA 提取和纯化

6.2.1 样本前处理

在 DNA 提取前，宜根据样本的状态与形态采用适宜的方法（包括物理法、化学法和酶解法等）破坏细胞壁。例如：大麻新鲜组织宜经液氮速冻进行研磨粉碎；陈旧组织在研磨过程中，可加入石英砂进行共研，更充分地破坏细胞壁；若样本为大麻树脂，宜先采用无水乙醚进行脱脂处理。

6.2.2 DNA 提取

经 6.2.1 处理后的样本宜采用 CTAB 法、SDS 法、高盐低 PH 法和碱裂解法等方法进行大麻基因组 DNA 的提取。也可采用相关商业化植物 DNA 提取试剂盒进行基因组 DNA 的提取。

6.2.3 DNA 纯化

宜采用相关商业化试剂盒进行基因组 DNA 的纯化，以去除蛋白质、RNA、酚类物质及多糖等成分。

6.3 DNA 定量

宜采用分光光度计对 DNA 样品进行定量并检测其纯度，所测得的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应在 1.8~2.0 范围内。若 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值低于 1.8，表明提取的 DNA 中含有蛋白质或糖类杂质，应做进一步的分离纯化；若 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值高于 2.0，表明提取的 DNA 可能有 RNA 污染。

6.4 PCR 扩增与 PCR 产物分型

6.4.1 基因座

应选用多态性 STR 基因座进行 PCR 扩增，基因座选择应符合以下条件：

- a) 已有基因座定义和其特征的文献报道；
- b) 已实施种属特异性、灵敏性和稳定性研究；
- c) 已有可供使用并公开发表的遗传学数据，例如：等位基因频率；
- d) 基因座选用三核苷酸重复（例如：B05 CANN1、ANUCS 305、D02 CANN1、B01 CANN1、nH09、ANUCS 302、E07 CANN1、C11 CANN1、H06 CANN2、ANUCS 301、ANUCS 303、ANUCS 304、ANUCS 306 和 B02 CANN2 等）、四核苷酸重复（例如：1528、9043、3735、9269、4910 和 5159 等）、五核苷酸重复（例如：ANUCS 501）或六核苷酸重复（例如：CS1）等；
- e) 包含大麻性别判断的特异性片段（例如：DM016、DM029 和 DM011 等）。

6.4.2 PCR 扩增

对6.4.1中选用基因座进行PCR扩增要求如下:

- a) 应选用商品化试剂盒或自行构建并已完成法医学验证的检测体系进行 PCR 扩增。检测体系的累积个体识别能力不应小于 0.9999, 计算按照 SF/Z JD0105012—2018 中第 6 章的方法执行;
- b) 每批扩增均应设置阳性对照样本和不含大麻基因组 DNA 的阴性对照样本, 其中阳性对照样本是已知浓度和基因型的对照品 DNA 或以前检验过的、已知正确基因型的样本;
- c) PCR 扩增体系与 PCR 扩增参数应按相关操作说明进行。

6.4.3 PCR 产物分型与结果判读

应使用遗传分析仪对PCR扩增产物进行毛细管电泳。按照操作手册使用相关软件进行结果判读。

7 鉴定意见

7.1 应根据性别判断的特异性片段分型结果, 对大麻样本的性别作出判断。

7.2 应根据 DNA 分型结果, 对样本是否来自同一株大麻作出判断。具体如下:

- a) 若两份大麻样本的 DNA 分型结果不一致, 鉴定意见可表述为“排除两份样本来自同一株大麻”;
- b) 若两份大麻样本的 DNA 分型结果一致, 应按照 SF/Z JD0105012—2018 中第 7 章的方法计算 LR 值, 鉴定意见可表述为“LR 值为 XXX, 不排除两者来源于同一株大麻”。

8 鉴定文书

8.1 鉴定人应根据检验结果和鉴定意见撰写鉴定文书。

8.2 鉴定文书的格式应按照主管部门颁布的相关规定执行。

参 考 文 献

- [1] Michele Di Nunzio, Madeline Roman, Rachel Houston, et al. European validation of a Cannabis sativa 13-locus STR multiplex kit for genetic identification: A preliminary study [J]. Forensic Sci Int Genet, 2019, 7(1): 224-226.
- [2] de Oliveira Pereira Ribeiro L, Avila E, Mariot R F, et al. Evaluation of two 13-loci STR multiplex system regarding identification and origin discrimination of Brazilian Cannabis sativa samples [J]. Int J Legal Med, 2020, 134:1603-1612.
- [3] Valverde L, Lischka C, Erlemann S, et al. Nomenclature proposal and SNPSTR haplotypes for 7 new Cannabis sativa L. STR loci [J]. Forensic Sci Int Genet, 2014, 13:185-6.
- [4] Valverde L, Lischka C, Scheiper S, et al. Characterization of 15 STR cannabis loci: nomenclature proposal and SNPSTR haplotypes [J]. Forensic Sci Int Genet, 2014, 9:61-5.
- [5] Knight G, Hansen S, Connor M, et al. The results of an experimental indoor hydroponic Cannabis growing study, using the 'Screen of Green' (ScrOG) method—Yield, tetrahydrocannabinol (THC) and DNA analysis [J]. Forensic Sci Int, 2010, 202(1-3):36-44.
-