



中华人民共和国国家标准

GB/T 27642—2011

牛个体及亲子鉴定微卫星 DNA 法

Bovine individual and parental identification using microsatellite DNA

2011-12-30 发布

2012-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

目 次

前言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语、定义和缩略语..... 1

4 原理 2

5 防污染措施 2

6 个体鉴定和亲子鉴定试验步骤 2

附录 A（资料性附录） 试剂配制及仪器 4

附录 B（资料性附录） DNA 样品的制备 6

附录 C（资料性附录） 光谱校正和 PCR 反应、测定及分析 8

附录 D（资料性附录） FAO-ISAG 推荐的牛微卫星 DNA 标记 10

附录 E（资料性附录） 个体及亲子鉴定计算方法 12

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 的规则进行起草。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位:全国畜牧总站。

本标准主要起草人:刘丑生、王志刚、孙飞舟、邱小田、韩旭、于福清、张桂香。

牛个体及亲子鉴定微卫星 DNA 法

1 范围

本标准规定了利用微卫星 DNA 标记进行牛个体及亲子鉴定的技术规程。
本标准适用于普通牛(*Bos taurus*)个体和亲子鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 383 法庭科学 DNA 实验室检验规范

SN/T 1193 基因检验实验室技术要求

3 术语、定义和缩略语

下列术语、定义和缩略语适用于本文件。

3.1

聚合酶链式反应 polymerase chain reaction, PCR

以一对寡核苷酸引物、四种脱氧核糖核苷酸(dNTPs)为原料,在合适的温度、离子条件和耐热 DNA 聚合酶催化下,在体外人工合成特异的 DNA 片段的过程。

3.2

微卫星 DNA microsatellite DNA

亦称短串联重复序列或简单重复序列(short tandem repeats, STRs; simple sequence repeats, SSRs),以 1 bp~6 bp 的短核苷酸序列为基本单位,呈串联重复状散在分布于生物体基因组中。

3.3

非父排除概率 probability of paternity exclusion, PE

通过检测某一个遗传标记,能将不是生父的争议父亲排除的概率。

3.4

累积非父排除概率 cumulative probability of paternity exclusion, CPE

通过检测某一遗传标记系统的多个遗传标记,将不是生父的个体否定掉的累计概率。

3.5

亲权指数 paternity index, PI

争议父亲提供生父等位基因成为子代生父的概率与随机公畜提供生父基因成为子代生父概率的比值。

3.6

累积亲权指数 cumulative paternity index, CPI

根据某一遗传标记系统中的多个标记,计算多个亲权指数的累积。

3.7

父子关系相对概率 relative chance of paternity, RCP

争议父亲是亲生父亲的相对概率。

4 原理

4.1 个体鉴定原理

某一被检样品与真样品微卫星标记的基因型不同,则判定被检样品与真样品来自不同个体,如果相同不排除它们来自同一个体,通过对某一遗传标记系统的多个标记所检测,可在一定概率水平上判定被测样品与真样品是否来自同一个体。

4.2 亲子鉴定原理

根据孟德尔遗传分离定律,在配子细胞形成时,成对的等位基因彼此分离,随机进入配子细胞。双亲的配子细胞结合形成合子,其发育出来的子代的成对等位基因分别来自父亲和母亲。根据多个标记计算的鉴定结果在一定概率水平上可以判定争议父亲(母亲)是否为亲生父亲(母亲)(变异情况除外)。

5 防污染措施

按 SN/T 1193 和 GA/T 383 规定的方法执行。

6 个体鉴定和亲子鉴定试验步骤

6.1 样品制备

收集血液、组织(耳、肌肉、尾、皮肤等)、毛囊或精液等材料。

6.2 样品 DNA 的制备

各样品试剂配方、所需的仪器设备参见附录 A,具体步骤参见附录 B。

6.3 光谱校正

在实验前进行一次四色荧光素的光谱校正,目的是为了校准信号重叠。具体步骤参见 C.1。

6.4 微卫星 DNA 标记

参见附录 D。

6.5 PCR 反应

6.5.1 PCR 反应体系

参见表 C.1。

6.5.2 PCR 反应程序

参见表 C.2。

6.5.3 PCR 产物电泳检测

取适量 PCR 产物,上样于 1%~3%的琼脂糖凝胶中进行电泳,检测本次扩增反应是否成功。

6.6 测定及分析

通过分析得到微卫星标记的基因型频率。参见 C.3。

6.7 利用微卫星 DNA 法进行个体鉴定的概率计算和结果表述

被检样品的基因型与真样品不同,可排除两份样品来源于同一个体(变异情况除外)。如果两份样品的基因型相同时,则按式(1)计算偶合概率,当其值小于该个体所在群体数量的倒数时(5×10^{-9}),认定两份样品来源于同一个体。偶合概率是一组微卫星标记基因型频率的乘积。

$$P_M = P_1 \times P_2 \times P_3 \times \cdots \times P_n \quad \cdots \cdots (1)$$

式中:

P_M ——偶合概率;

P ——第 i 个微卫星标记的基因型频率。

6.8 利用微卫星 DNA 法进行亲子鉴定认定和排除依据

累积非父排除率 $\geq 99.73\%$ 、父子关系相对概率 $\geq 99.95\%$ 或累积亲权指数 $\geq 2\,000$,判定争议父亲为生父;累积非父排除率低于 99.73% 并且有 3 个以上标记不符合孟德尔遗传分离规律时,排除亲缘关系;如果累积非父排除率低于 99.73% 并且有 3 个以下的作为不符合孟德尔遗传分离规律时,应适当增加检测的标记数量。具体计算公式参见附录 E。

附 录 A
(资料性附录)
试剂配制及仪器

A.1 试剂配制**A.1.1 血液裂解液见表 A.1。****表 A.1 血液裂解液**

贮存液浓度	体积 mL	使用浓度
1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	1	10 mmol/L
0.5 mol/L EDTA(pH8.0)	20	100 mmol/L
10% SDS	20	2%
灭菌双蒸水加至	100	—

A.1.2 组织 DNA 及毛囊提取液见表 A.2。**表 A.2 组织 DNA 提取液**

贮存液浓度	体积 mL	使用浓度
1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	5	50 mmol/L
0.5 mol/L EDTA(pH8.0)	20	100 mmol/L
0.5 mol/L NaCl	20	100 mmol/L
10% SDS	20	2%
灭菌双蒸水加至	100	—

A.1.3 精子裂解液见表 A.3。**表 A.3 精子裂解液**

贮存液浓度	体积 mL	使用浓度
1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	1	10 mmol/L
0.5 mol/L EDTA(pH8.0)	2	10 mmol/L
0.5 mol/L NaCl	20	100 mmol/L
10% SDS	20	2%
1 mol/L DTT(现用现加)	0.003 9	39 μ mol/L
灭菌双蒸水加至	100	—

A. 1.4 精子洗涤液

取 1 mol/L 的 NaCl 37.5 mL, 0.5 mol/L 的 EDTA 5 mL, 加双蒸水至 250 mL。高压灭菌备用。

A. 1.5 蛋白酶 K 贮存液(20 mg/mL)

200 mg 蛋白酶 K 溶于 10 mL 灭菌双蒸水中, 分装, 每管 1 mL, -20°C 冻存。

A. 1.6 TE 缓冲液(pH8.0)

10 mmol/L Tris-HCl(pH8.0), 1 mmol/L EDTA(pH8.0)。

A. 1.7 电泳缓冲液

1×Tris-乙酸(TAE): 0.04 mol/L Tris-乙酸, 0.01 mol/L EDTA。

0.5×Tris-硼酸(TBE): 0.045 mol/L Tris-硼酸, 0.01 mol/L EDTA。

A. 1.8 溴化乙锭溶液(EB, 10 mg/mL)

用少量双蒸水溶解 1 g 溴化乙锭, 磁力搅拌数小时以确保其完全溶解, 定容至 100 mL, 然后转移到棕色瓶或铝箔包裹容器中, 室温保存。

A. 1.9 6×上样缓冲液

0.05% 溴酚蓝, 0.12% 二甲苯青 FF, 40% (质量浓度) 蔗糖水溶液;

或 0.05% 溴酚蓝, 0.12% 二甲苯青 FF, 30% (体积分数) 甘油水溶液。

A. 1.10 1 mol/L 二硫苏糖醇(DTT)

用 20 mL 0.01 mol/L 乙酸钠溶液(pH5.2)溶解 3.09 g DTT, 过滤除菌后分装成 1 mL 贮存于 -20°C 。注意: DTT 或含有 DTT 的溶液不能进行高压处理。

A. 1.11 1 mol/L Tris(pH8.0)

将 121.1 g Tris 溶于 800 mL 水中, 加浓盐酸调 pH 值至 8.0, 定容至 1 000 mL 后高压灭菌。

A. 1.12 0.5 mol/L EDTA(pH8.0)

将 186.1 g $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 加入 800 mL 水中, 再加入 NaOH (约 20 g) 调 pH 值至 8.0, 定容后高压灭菌。

A. 1.13 10% SDS (500 mL)

将 50 g SDS 加入 400 mL 水中, 60°C 加热溶解, 定容后过滤灭菌。

A. 1.14 Tris 饱和酚。**A. 1.15 酚: 三氯甲烷: 异戊醇(25: 24: 1)混合液。****A. 1.16 三氯甲烷: 异戊醇(24: 1)混合液。****A. 2 仪器****A. 2.1 遗传分析仪。****A. 2.2 PCR 仪。****A. 2.3 低温高速离心机。****A. 2.4 生物分光光度计。****A. 2.5 稳压稳流电泳仪。****A. 2.6 八道电子可调移液器(量程 $5\ \mu\text{L}$ ~ $100\ \mu\text{L}$)。****A. 2.7 八道电子可调移液器(量程 $0.2\ \mu\text{L}$ ~ $10\ \mu\text{L}$)。****A. 2.8 单道可调移液器($2\ \mu\text{L}$, $10\ \mu\text{L}$, $200\ \mu\text{L}$, $1\ 000\ \mu\text{L}$)。****A. 2.9 电子天平(量程 $0.01\ \text{mg}$ ~ $300\ \text{mg}$)。****A. 2.10 水浴恒温振荡器。****A. 2.11 普通离心机。****A. 2.12 紫外光检测仪。****A. 2.13 超声波清洗器。****A. 2.14 超纯水器。****A. 2.15 高压灭菌器。**

附 录 B
(资料性附录)
DNA 样品的制备

B.1 样品预处理

B.1.1 从血液中提取基因组 DNA

B.1.1.1 取适量血液加入等体积血样裂解液,加入 RNA 酶至终浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$,充分混匀,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴消化 1 h~2 h。

B.1.1.2 加入蛋白酶 K 贮存液至终浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,充分混匀,55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴消化 12 h 以上至不见粘稠的团块。

B.1.2 从组织中提取基因组 DNA

B.1.2.1 取 0.3 g 的组织置于 1.5 mL 离心管中,将其破碎。

B.1.2.2 晾干后加入 500 μL 组织 DNA 提取液,然后加入 RNA 酶至终浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$,充分混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴消化 1 h。

B.1.2.3 加蛋白酶 K 贮存液至终浓度为 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,充分混匀,55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴消化 12 h 以上至不见有组织块。

B.1.3 从毛囊中提取基因组 DNA

B.1.3.1 用灭菌双蒸水洗涤毛囊,剪碎,置于小离心管中。

B.1.3.2 晾干后加入 30 μL ~50 μL 组织 DNA 提取液,然后加入蛋白酶 K 至终浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,充分混匀,55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴消化 12 h 以上至毛囊完全溶解。

B.1.4 从精液中提取基因组 DNA

B.1.4.1 每一个体取冻精三粒或鲜精 0.4 mL,置于 1.5 mL 离心管中。

B.1.4.2 加等量精子洗涤液,4 500 r/min 离心 6 min,弃上清液。

B.1.4.3 重复洗涤精子沉淀两次,去掉其中的卵黄甘油等物质。

B.1.4.4 用 0.4 mL 精子裂解液重悬沉淀。

B.1.4.5 加入蛋白酶 K 贮存液至终浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,充分混匀,55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴消化过夜至少 12 h。

B.2 样品抽提

B.2.1 加入等体积 Tris 饱和酚,反复颠倒离心管,使两相溶液充分混合形成乳浊液,4 $^{\circ}\text{C}$ 4 500 r/min 离心 15 min;小心吸取上清液转移至另一洁净的离心管中;重复该操作一次。

B.2.2 加入等体积的酚:三氯甲烷:异戊醇(25:24:1)混合液,缓慢颠倒离心管,使两相溶液充分混合,4 $^{\circ}\text{C}$ 4 500 r/min 离心 15 min。

B.2.3 加入等体积三氯甲烷:异戊醇(24:1)混合液,缓慢颠倒离心管,使两相溶液充分混合,4 $^{\circ}\text{C}$ 4 500 r/min 离心 15 min;收集上清至另一离心管中。

B.2.4 将上清液吸至较大容量的试管中,加入 1/10 体积 3 mol/L NaAc 溶液(pH5.2)和 2.5 倍体积的

预冷无水乙醇,轻轻摇动试管至出现白色絮状 DNA 沉淀。

B.2.5 将 DNA 沉淀转移到 1.5 mL 离心管中,用 75%乙醇洗涤两次。

B.2.6 将 DNA 干燥后加入适量 TE 缓冲液或灭菌双蒸水室温溶解 24 h。

B.3 样品基因组 DNA 浓度检测

吸出适量提取的 DNA,稀释 50 倍,用生物分光光度仪检测 DNA 的浓度,根据测定结果再将 DNA 溶液稀释至预定值。较纯 DNA 样品的 A_{260}/A_{280} 比值为 1.8 左右;若该比值大大低于 1.8,说明样品中含有较多的蛋白质,应进一步纯化。

$$H = A_{260} \times N \times 50 \quad \dots\dots\dots (\text{B.1})$$

式中:

H ——DNA 浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

N ——稀释倍数。

对于双链 DNA 来说,1 OD=50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

B.4 样品基因组 DNA 纯度和质量检测

吸出适量提取的 DNA,在琼脂糖凝胶中进行电泳,然后在紫外透视仪下检测 DNA 质量,如果 DNA 条带比较整齐、亮度较高,DNA 样品的 A_{260}/A_{280} 比值为 1.8 左右,则说明提取的 DNA 样品可以用于牛个体及亲子鉴定。

附 录 C

(资料性附录)

光谱校正和 PCR 反应、测定及分析

C.1 光谱校正的具体步骤

C.1.1 将标准品中的 4 支离心管充分混合离心。

C.1.2 从 4 管中各取混合好的标准标记品(内含 5FAM, JOE, NED, ROX)1.25 μL , 再加 195 μL 的高纯度甲酰胺转移至另一 1.5 mL 的离心管中。

C.1.3 充分混匀离心。

C.1.4 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存 10 min。

C.1.5 取 10 μL 变性产物加到 96 孔上样板上, 把 96 孔上样板放到遗传分析仪中。

C.1.6 毛细管电泳参考条件:

——毛细管: 长度 36 cm, 内壁无涂层;

——推荐炉温: 60 $^{\circ}\text{C}$ 。

C.1.7 如果校正结果能够达到仪器所要求的参数范围, 则预实验通过。标准品测试结果要求 Q 值 > 0.95, C 值在 4~8.5 之间。

C.2 PCR 反应体系及反应程序

表 C.1 PCR 反应体系

组 分	单倍反应体系 μL
PCR Buffer	0.5
dNTPs(10 mmol/L)	1.2
AmpliTaq Gold DNA 聚合酶(2.5 U/ μL)	0.1
11 对引物的混合物	1.7
去离子水	0.5
样品基因组 DNA	1.0
总体积	5.0

表 C.2 PCR 反应程序

预变性	35 个~40 个循环			最后延伸	加 尾	保 存
	变性	退 火	延 伸			
95 $^{\circ}\text{C}$ 15 min	94 $^{\circ}\text{C}$ 45 s	55 $^{\circ}\text{C}$ ~63 $^{\circ}\text{C}$ 45 s	72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s	72 $^{\circ}\text{C}$ 60 min	25 $^{\circ}\text{C}$ 2 h	4 $^{\circ}\text{C}$

C.3 测定及分析

C.3.1 测定

将 PCR 产物稀释 15 倍,从中取 1 μL 与 11.5 μL 甲酰胺和 0.25 μL 分子量内标混合,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 2 min~5 min,立即放 4 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。

C.3.2 分析

以样品峰长度值和分子量内标的峰长度值比较定量。得到各标记的等位基因片段大小,计算基因型频率。

附录 D

(资料性附录)

FAO-ISAG 推荐的牛微卫星 DNA 标记

表 D.1 FAO-ISAG 推荐的牛微卫星 DNA 标记

序号	标记名称	染色体	引物序列(上下游序列均为 5'→3')	退火温度 ℃	等位基因 范围 bp
1	INRA063 (D18S5)	18	ATTTGCACAAGCTAAATCTAACC AAACCACAGAAATGCTTGGAAG	55~58	167~189
2	INRA005 (D12S4)	12	CAATCTGCATGAAGTATAAATAT CTTCAGGCATACCCTACACC	55	135~149
3	ETH225 (D9S1)	9	GATCACCTTGCCACTATTTCTT ACATGACAGCCAGCTGCTACT	55~65	131~159
4	ILSTS005 (D10S25)	10	GGAAGCAATGAAATCTATAGCC TGTTCTGTGAGTTTGTAAAGC	54~58	176~194
5	HEL5 (D21S15)	21	GCAGGATCACTTGTTAGGGA AGACGTTAGTGATACATTAAC	52~57	145~171
6	HEL1 (D15S10)	15	CAACAGCTATTTAACAAGGA AGGCTACAGTCCATGGGATT	54~57	99~119
7	INRA035 (D16S11)	16	ATCCTTTGCAGCCTCCACATTG TTGTGCTTTATGACACTATCCG	55~60	100~124
8	ETH152 (D5S1)	5	TACTCGTAGGGCAGGCTGCCTG GAGACCTCAGGGTTGGTGATCAG	55~60	181~211
9	INRA023 (D3S10)	3	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC TAACTACAGGGTGTTAGATGAACTC	55	195~225
10	ETH10 (D5S3)	5	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA CCTCCAGCCCACCTTCTCTTCTC	55~65	207~231
11	HEL9 (D8S4)	8	CCCATTCAGTCTTCAGAGGT CACATCCATGTTCTCACCAC	52~57	141~173
12	CSSM66 (D14S31)	14	ACACAAATCCTTTCTGCCAGCTGA AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG	55~65	171~209
13	INRA032 (D11S9)	11	AAACTGTATTCTCTAATAGCTAC GCAAGACATATCTCCATTCCTTT	55~58	160~204
14	ETH3 (D19S2)	19	GAACCTGCCTCTCCTGCATTGG ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG	55~65	103~133
15	BM2113 (D2S26)	2	GCTGCCTTCTACCAAATACCC CTTCCTGAGAGAAGCAACACC	55~60	122~156
16	BM1824 (D1S34)	1	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC CATCTCCAACCTGCTTCCTTG	55~60	176~197

表 D.1 (续)

序号	标记名称	染色体	引物序列(上下游序列均为 5'→3')	退火温度 ℃	等位基因 范围 bp
17	HEL13 (D11S15)	11	TAAGGACTTGAGATAAGGAG CCATCTACCTCCATCTTAAC	52~57	178~200
18	INRA037 (D10S12)	10	GATCCTGCTTATATTTAACCAC AAAATTCCATGGAGAGAGAAAC	57~58	112~148
19	BM1818 (D23S21)	23	AGCTGGGAATATAACCAAAGG AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	56~60	248~278
20	ILSTS006 (D7S8)	7	TGTCTGTATTTCTGCTGTGG ACACGGAAGCGATCTAAACG	55	277~309
21	MM12 (D9S20)	9	CAAGACAGGTGTTTCAATCT ATCGACTCTGGGGATGATGT	50~55	101~145
22	CSRM60 (D10S5)	10	AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG	55~65	79~115
23	ETH185 (D17S1)	17	TGCATGGACAGAGCAGCCTGGC GCACCCAACGAAAGCTCCAG	58~67	214~246
24	HAUT24 (D22S26)	22	CTCTCTGCCTTTGTCCCTGT AATACACTTTAGGAGAAAAATA	52~55	104~158
25	HAUT27 (D26S21)	26	TTTTATGTTTCAATTTTTGACTGG AACTGCTGAAATCTCCATCTTA	57	120~158
26	TGLA227 (D18S1)	18	CGAATTCCAAATCTGTAAATTTGCT ACAGACAGAACTCAATGAAAGCA	55~56	75~105
27	TGLA126 (D20S1)	20	CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCT TTGGTCTCTATTCTCTGAATATTCC	55~58	115~131
28	TGLA122 (D21S6)	21	CCCTCCTCCAGGTAAATCAGC AATCACATGGCAAATAAGTACATAC	55~58	136~184
29	TGLA53 (D16S3)	16	GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA ATCTTCACATGATATTACAGCAGA	55	143~191
30	SPS115 (D15)	15	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG AACGAGTGTCTAGTTTGGCTGTG	55~60	234~258
31	MCM158	Y	TTCCTCTGAGTCTCTGACAC CCGAGATTGAAATGTAAATGAG	56~60	112~148
32	MAF45	Y	ATTGACACTTCAGTAAGTTA CAGACACAAGTGAAGCACTAGC	55~58	122~142
33	UMN0108	Y	GATCCATCCACATTGCTCCA CCAAGCGTCCATCAATTTAC	58~67	158~209
34	UMN0929	Y	ACCAGCTGATACACAAGTGC GGTCAGAGAATGAAACAGAG	55~58	174~196

附 录 E
(资料性附录)
个体及亲子鉴定计算方法

E.1 个体、母亲和假定父亲的基因型均已知的情况

E.1.1 根据单个微卫星 DNA 标记计算的非父排除概率公式见式(E.1):

$$PE_k = 1 - 2 \sum_{i=1}^n p_i^2 + \sum_{i=1}^n p_i^3 + 2 \sum_{i=1}^n p_i^4 - 3 \sum_{i=1}^n p_i^5 - 2 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + 3 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) \left(\sum_{i=1}^n p_i^3 \right) \dots\dots\dots (E.1)$$

式中:

PE_k ——第 k 个微卫星 DNA 标记的非父排除概率;

p_i ——第 k 个微卫星 DNA 标记第 i 个等位基因的频率;

n ——标记数。

E.1.2 根据 k 个微卫星 DNA 标记计算的累积非父排除概率的公式见式(E.2):

$$CPE = 1 - (1 - PE_1)(1 - PE_2)(1 - PE_3)\dots\dots(1 - PE_k) \dots\dots\dots (E.2)$$

式中:

CPE ——累积非父排除概率;

PE_k ——第 k 个微卫星 DNA 标记的非父排除概率。

E.2 个体和一亲本的基因型已知,而另一亲本基因型未知的情况

$$PE_k = 1 - 4 \sum_{i=1}^n p_i^2 + 2 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + 4 \sum_{i=1}^n p_i^3 - 3 \sum_{i=1}^n p_i^4 \dots\dots\dots (E.3)$$

$$CPE = 1 - (1 - PE_1)(1 - PE_2)(1 - PE_3)\dots\dots(1 - PE_k) \dots\dots\dots (E.4)$$

PE_k 、 p_i 和 CPE 同 E.1。

E.3 两个亲本的基因型均未知的情况

$$PE_k = 1 + 4 \sum_{i=1}^n p_i^4 - 4 \sum_{i=1}^n p_i^5 - 3 \sum_{i=1}^n p_i^6 - 8 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + 8 \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) \left(\sum_{i=1}^n p_i^3 \right) + 2 \left(\sum_{i=1}^n p_i^3 \right)^2 \dots\dots\dots (E.5)$$

$$CPE = 1 - (1 - PE_1)(1 - PE_2)(1 - PE_3)\dots\dots(1 - PE_k) \dots\dots\dots (E.6)$$

PE_k 、 p_i 和 CPE 同 E.1。

E.4 亲权指数(PI)和累计亲权指数(CPI)

$$PI = P_i / P_j \dots\dots\dots (E.7)$$

$$CPI = PI_1 \times PI_2 \times \dots\dots PI_k \dots\dots\dots (E.8)$$

式中:

PI ——亲权指数;

P_i ——争议父亲提供生父基因的概率；
 P_j ——该基因在群体中的随机频率；
 CPI ——累计亲权指数；
 PI_k ——第 k 个标记的亲权指数。

E.5 父子关系相对机会

$$RCP = CPI / (CPI + 1) \times 100\% \quad \dots\dots\dots (E.9)$$

式中：

RCP ——父子关系相对概率；

CPI ——累计亲权指数。
