

法医物证学

李树编著

检验技术

FAYI
WUZHENGXUE
JIANYANJISHU

D3S1358	15, 17
TH01	6, 9
D21S11	29, 30
D18S51	13, 16
D16S539	9, 13
TPOX	8, 11
CSF1PO	10, 12
D5S818	9, 10
D13S317	11
vWA	17, 18
D8S1179	15
D7S820	11, 12
FGA	23.2, 24.2
Amel	X

辽宁大学出版社

◎季 梅 8003

目錄號：(GB) 雜誌

出 版 地 址：中 國 大 學 出 版 社

印 刷 地 址：中 國 大 學 出 版 社

法医物证学检验技术

李树江 编著

江苏工业学院图书馆

藏书章

总主编：李树江

执行主编：李树江 副主编：周新民

编委：李树江 周新民 张国华 王海英

设计：王海英 责任校对：周新民

出版：辽宁大学出版社

地址：沈阳市崇山峻岭路31号

邮编：110033 电话：(024) 2292-5100

印制：沈阳市新华印刷厂

开本：880×1230mm 1/16

印张：12.5

字数：250千字

版次：1995年1月第1版

印数：1—3000册

书名：法医物证学检验技术

作者：李树江

定价：25.00元

ISBN 7-5611-0262-5

ISSN 1008-2292

中图分类号：R439.7

中国科学院图书馆藏

©李树 2008

图书在版编目 (CIP) 数据

法医物证学检验技术 / 李树编著. — 沈阳：辽宁大学出版社，2008.6

ISBN 978-7-5610-5525-0

I. 法… II. 李… III. 物证—法医学鉴定 IV. D919.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 085406 号

责任编辑：王树岩

版式设计：佟 仁

封面设计：邹本忠

责任校对：齐 月

辽宁大学出版社

地址：沈阳市皇姑区崇山中路 66 号 邮政编码：110036

联系电话：024—86864613 <http://press.lnu.edu.cn>

Email:lnupress@vip.163.com

抚顺光辉彩色广告印刷有限公司印刷 辽宁大学出版社发行

幅面尺寸：148mm×210mm

印张：6.75

字数：175 千字

2008 年 6 月第 1 版

2008 年 6 月第 1 次印刷

书号：ISBN 978-7-5610-5525-0

定价：15.00 元

前 言

容内，本教材既强调的是本学科的实践性，又强调本学科的理论性。本教材将常量检验与微量检验结合起来，使检验对象主要集中在血液、体液、骨髓、毛发、指甲等，兼顾了血清学、免疫学、分子生物学等多方面的知识。本教材在编写过程中，力求做到科学性、实用性、先进性和系统性相结合，突出重点，深入浅出，简明扼要，便于学习和掌握。

法医物证学是法医学领域的重要学科，是以血清学方法和DNA分析技术为支撑的检验科学。近年来，法医物证学科有了长足发展，建立了许多新的检验方法，尤其是DNA分析技术以惊人的速度迅速发展并在法庭科学中广泛应用，实现了法医物证检验技术质的飞跃。为了适应学科发展的需要，本人结合自己多年从事法医物证学实践及教学的经验，融入教学、科研成果，并参考国内外的相关文献、著作编写了此书。

本书的宗旨是在适当保证法医物证学体系完整性的前提下，大胆删减在实践中已被淘汰的一些法医物证常规检验内容，加大DNA检验部分，以简单易懂的形式将法医物证学中经典的血型血清学技术以及新一代DNA分析技术传授给读者，力争成为公安系统法医物证学教学及实际检验的重要参考书。

本书的特点是：①可操作性。本书既注重进行法医物证学检验的基本知识和技能的训练，也强调分子生物学实验技能的掌握和提高，从基本的红细胞悬液的制备、标准血清效价测定到STR位点复合PCR技术、遗传分析仪自动分析技术等，都做了系统而详尽的实验介绍。②规范性。本书介绍的实验方法符合公安部颁布的GA/T382—2002、GA/T383—2002标准，并参考了经中国实验室国家认可委员会认可的、由公安部物证鉴定中心编写的DNA技术方法。③实用性。本书在吸纳本学科中新方法、新技术的同时，特别注重实用性，从检验对象的选择到检验方法的选择，都力求密切联系公安实践。

本书介绍了法医物证检验常用技术方法的原理及操作，内容主要分为两部分、42个检验技术：第一部分是常规法医物证检验，主要内容有血痕、唾液斑、精液斑、毛发4种常见法医物证的种类、种属、ABO血型检验等13项；第二部分为DNA分析检验，主要内容有常用DNA提取方法、STR位点的复合扩增、PCR产物的分析、mtDNA序列分析、ABO基因分型检验等29项。本书附录部分包括常规法医物证检验常用仪器的使用方法、DNA分析技术常用实验试剂配制方法、法医物证检验鉴定书实例、DNA实验室防污染措施等，便于读者参考。

在本书编写过程中，主要参考了郭景元主编的《法医物证学》、公安部物证鉴定中心李万水、刘冰等制作的DNA技术作业指导书和中国刑警学院法医物证教研室教师编写的《法医物证学实验指导》，在此对上述作者表示真诚的敬意和由衷的感谢。由于法医DNA分析技术发展非常迅速，加之本人水平有限，书中难免存在不足和错误之处，敬请同行专家和读者不吝指正。

李树山

2008年1月

序言
本书主要介绍法医物证学中常用的DNA检验技术，包括DNA提取、STR扩增、PCR扩增、mtDNA测序、ABO血型检测等。全书共分12章，每章由理论知识、实验操作、注意事项三部分组成。各章均配有典型病例分析，以帮助读者更好地理解所学知识。本书适用于法医物证学专业的学生、研究人员以及相关领域的工作者。希望本书能为我国法医物证学的发展做出贡献。

第二部分 DNA 鉴定技术

第三部分 DNA 鉴定学录

第一章 现场法医物证的发现与提取	1
第二章 血(液)痕检验技术	7
技术一 血痕预试验	7
技术二 抗人血红蛋白(anti-Hb)金标试剂条检验 人血液(斑)	11
技术三 标准血清效价测定	15
技术四 血痕ABO血型检验凝集素检出法	18
技术五 血痕ABO血型检验凝集原检出法	21
第三章 唾液斑检验技术	25
技术六 唾液斑确证试验	25
技术七 唾液斑ABO血型检验及型物质含量测定	28
第四章 精(液)斑检验技术	31
技术八 精斑预试验	31
技术九 精斑确证试验	36
技术十 抗人前列腺特异抗原(PSA)金标试剂条 检验人精液(斑)	38
技术十一 精斑ABO血型检验	42
第五章 毛发检验技术	46
技术十二 毛发形态学检验	46
技术十三 毛发ABO血型检验	51

第二部分 法医 DNA 分析技术

第一章 DNA 检验鉴定生物检材的提取与保存	58
第二章 DNA 提取技术	62
技术一 有机法提取血液 DNA	63
技术二 Chelex 法提取血液（斑）DNA	66
技术三 Chelex 法提取唾液（斑）DNA	69
技术四 有机法提取混合斑中精子 DNA	71
技术五 Chelex 法提取混合斑中精子 DNA	74
技术六 有机法提取组织 DNA	77
技术七 Chelex 法提取组织 DNA	79
技术八 毛干 DNA 的提取	81
技术九 硅珠法提取骨骼、牙齿 DNA	83
技术十 指（趾）甲 DNA 的提取	87
技术十一 石蜡包埋、固定组织的 DNA 提取	90
技术十二 FTA 卡收集、保存和提取 DNA	94
第三章 DNA 浓缩与纯化技术	97
技术十三 DNA 浓缩法	97
技术十四 DNA IQ 系统纯化 DNA	99
技术十五 Micro 系统提取、纯化 DNA	102
第四章 DNA 定量分析技术	107
技术十六 分光光度法	107
技术十七 琼脂糖凝胶电泳结合 EB 荧光测定法	109
技术十八 实时荧光定量 PCR 法	111
第五章 限制性片段长度多态性分析技术	114
技术十九 多基因座 VNTR—DNA 指纹	115
技术二十 单基因座 VNTR—DNA 纹印	124

目 录

第六章 扩增片段长度多态性分析技术	126
技术二十一 荧光 STR 复合扩增检验 (Identifier 系统的扩增)	127
技术二十二 荧光 STR 复合扩增检验 (PowerPlex16 系统的扩增)	135
技术二十三 荧光 STR 复合扩增检验 (PowerPlexY 系统的扩增)	140
技术二十四 PAGE—银染色法分析 STR 位点 PCR 产物的多态性.....	147
第七章 DNA 序列多态性分析技术	153
技术二十五 PCR—DNA 序列分析技术 (线粒体 DNA 的测序检验)	153
技术二十六 PCR—ASO 分析技术 (HLA —DQA1、 PM 分型)	165
技术二十七 PCR—RFLP 技术 (ABO 基因分型) ..	169
技术二十八 PCR—SSP 技术 (ABO 基因分型)	173
技术二十九 SNP 位点多重 PCR 扩增和芯片分型 技术.....	178
 附 录	
附录 1 DNA 分析检验常用仪器使用方法	186
附录 2 常用实验试剂配制	196
附录 3 DNA 分析实验室防污染措施	200
附录 4 法医物证个体识别鉴定书模式	203
附录 5 法医遗传关系鉴定书模式	206

第一部分 常规法医物证检验

在法医学实践中，通过对生物检材，如血痕、唾液斑、精液斑、毛发等常见法医物证进行检验、分析，可以解决检材是否来自于人体、来自哪个个体的鉴定问题，从而揭示这些现场的检材与案件和犯罪嫌疑人之间的内在联系，为案件侦查提供线索，为审判提供科学依据。物证检验的基本过程，包括从发现检材到检验、鉴定的全过程，主要包括两个阶段：第一阶段主要是对案发现场发现的检材进行有效的采集和保存；第二阶段为实验室鉴定，这一阶段是对现场收集的检材进行种类、种属、个体识别检验。

第一章 现场法医物证的发现与提取

生物检材的恰当提取是检验的基础。即使很有价值的物证，如果提取不当，也会影响检验，甚至失去检验条件，起不到物证的作用。提取法医物证没有固定的方法，应当根据具体情况酌情对待。提取的基本原则是：保证质量不变和必要的数量。

一、适用范围

该技术适用于现场可疑血痕、精斑、唾液斑、毛发的发现与提取。

二、法医物证检材的提取、保存、送检要求

1. 现场勘查中提取法医物证，应有现场勘查见证人在场，

提取前应进行拍照和记录。

2. 疑为生物遗留检材均应提取；疑为多人混合斑痕应分别擦拭、分别提取、分别包装；斑痕擦拭物应越浓越集中越好；应标记清楚检材来源、名称、数量、提取时间、地点等。

3. 斑迹检材应分别密封于透气检材袋内，室温阴干；液体检材或软组织应冷藏保存，及时送检。

中興大學圖書館
來否是林劍山陳以更，荷合，鍾鑑評板亞德國各員常李岱洋，張
林劍山陳以更，荷合，應研室鑑印封個個聯自來，朴人于自

1. 器材：查勦書案式，案類審內相同，人頭證罪匪跡書案已
鑑印(1)工作服；荷合，鑑證本基頭鑑錄面附。鑑證學降辨鑑印審
案(2)手套；耳側一袋，耳側個兩部份要主，鑑證全頭鑑證，鍾鑑連(3)口罩；荷二袋，荷半頭鑑來由鑑證管振林鑑頭鑑袋連取。鑑(4)物證包裝袋；鑑管齊振林鑑頭鑑來由鑑頭袋基鑑得一女，宜

- (5) 1.5ml 离心管；
- (6) 眼科镊；
- (7) 眼科剪；
- (8) 手术刀片；
- (9) 无菌脱脂纱布；
- (10) 无菌棉签。

2. 试剂：齊昇勢明，鑑基頭鑑錄呈列鑑當鑑頭鑑頭鑑頭
鑑頭(1)纯水；荷柔鑑鑑夫夫至甚，鑑鑑頭鑑會出，荷不鑑鑑果吸
鑑頭(2)抗凝剂；(如0.5M EDTA或pH8.0)四志源鑑。銀半頭
鑑頭(3)生理盐水。鑑頭變不鑑頭果，鑑頭頭本基頭鑑頭。荷故

四、血痕的发现与提取

1. 血痕的发现：现场上的大量血痕人人可见，但对伪装现场就必须采用各种光线和手段仔细勘查寻找。需特别注意被洗刷的地面、墙角、缝隙处、水池周围、下水道和厕所，天棚、墙壁上有时也溅有少量血点，床（炕）上面，家具上面、底面，床及桌椅腿下面，悬挂的衣物、灯管都是经常留有血迹的地方。犯罪

嫌疑人出入通道，如门窗把手常留有血手印。室外现场如草丛中、石块下需仔细观察。依法搜查时，还应注意逐件观察洗过和未洗过的衣服、鞋、帽以及可疑凶器。

检查重大嫌疑人时，需特别注意衣缝、扣眼、衣襟、袖口、鞋底以及头发间、指甲缝内有无残存血迹。

2. 血痕的提取：

(1) 尸体血的提取：用注射器吸取心脏血适量(1~2ml)，置于已加入适量抗凝剂(如0.5M EDTA pH8.0)试管内，立即混匀；也可用脱脂纱布蘸取心血或创口处血，晾干制成血痕。尽量避免将现场上远距尸体部位的血迹当作尸体血提取，以免发生差错。

(2) 血痕附着在较小、便于携带的物体上，如刀、斧、砖石、木棍、衣帽鞋袜等，应连同载体一同提取。

(3) 血痕附着在较重、不便或不能携带的物体上，可采取擦、刮、削、剪等方法提取。擦是用少许纱布，以生理盐水润湿，用镊子夹住将血痕擦取下来，适用于各种表面光滑、不吸水载体上的血痕，如木、竹、金属、玻璃、瓷器制品及水泥墙、地面等；刮是用小刀将载体表面血痕刮取下来，适用于土墙、砖瓦、白灰墙上的血痕；削是用小刀将载体表面的血痕连同薄层载体切削下来，适用于粗糙树皮、朽木上的血痕；剪是用剪刀将有血痕处的载体剪下，适用于被褥等较大纺织品上的血痕。

(4) 血痕附着于沙滩细小沙粒上，可用镊子将附有血痕的沙粒一个个地拣取。

(5) 血痕附着在冰、雪上，可用纱布擦取或将血痕处冰雪置于纱布上，待溶化后制成血痕，晾干提取。

五、精斑的发现与提取

1. 精斑的发现。强奸或强奸杀人案件，精斑常附着在被害人衣裤、被褥上，现场地面上，手纸、手帕上，被害人阴毛或大

腿上以及阴道中。附着在有色布类上的精斑呈灰白色不规则形斑痕，附在白色布类上的精斑呈浅黄色。必要时，可用紫外线灯观察，精斑呈银白色带紫晕的荧光。

2. 精斑的提取：

- (1) 被害人阴道内的精液，用脱脂纱布或棉球在阴道前庭部、穹窿部分别擦拭，取出晾干。
- (2) 被害人会阴部、大腿上的精斑，可用生理盐水浸湿的棉签擦拭提取。
- (3) 被褥上的精斑可以剪取。
- (4) 手帕、手纸、衣裤等较小物体上的精斑，应连同载体整个提取。
- (5) 沙滩沙粒、土块上的精斑，可以拣取。

六、唾液斑的发现与提取

1. 唾液斑的发现。唾液斑主要附着在吸过的烟蒂上，也可存在于吃过的瓜子皮、水果核上。咬痕和饮过水的水杯上缘也能附着唾液斑。唾液斑无色，用肉眼观察很难发现。因此，在现场上除痰迹外要注意寻找可能附有唾液斑的载体。

2. 唾液斑的提取：

- (1) 现场地面上的唾液斑、痰迹用纱布擦拭，晾干后保存。
- (2) 现场上附有唾液斑痕的烟头、果核等，应用镊子直接挟取保存。
- (3) 水杯上口边缘、吸管上的唾液斑可用两步擦拭法提取：先用生理盐水浸湿棉签或纱线擦拭，再用干纱线擦拭。
- (4) 唾液对照检材的采取，应根据具体情况采用不同的方法。如需做ABO血型检验用，应先让其用洁净水漱口，然后将干净纱布放其口中，口中唾液将纱布浸湿后取出晾干；如需做DNA分析检验用，应在其漱口后，用棉签擦拭两侧口腔粘膜采取口腔上皮细胞。

七、毛发的发现与提取

1. 毛发的发现。毛发包括头发、阴毛、腋毛等，在凶杀现场上常因搏斗而被拔下或自然脱落遗留在现场。毛发比较细小，需认真观察寻找才能发现。

容易遗留毛发的部位有：现场地面上、被害人手中、躺卧人的被褥上、强奸案件被害人衣裤上、会阴部、成年女性阴毛处、大腿内侧等，有时也粘附于凶器上。寻找毛发应在强光线下进行，必要时用照明设备和放大镜搜查。

2. 毛发的提取：

(1) 现场上发现的毛发，应用镊子全部提取，分别包装。

(2) 被害人阴毛处，应以梳子轻轻梳理，若梳理下不属于被害人的阴毛，应当全部提取。

(3) 对某些可能遗留毛发的场所，可用真空吸尘器吸取。

八、对照检材的提取

检验鉴定时，为防止假象干扰判定结果而采取的与检材进行比较对照的实验材料，称对照检材。提取各种检材的同时，都必须提取相应的对照检材。对照检材主要有两种：载体无斑痕处对照检材和以排除嫌疑或澄清事实为目的有关人的对照检材。

1. 载体无斑痕处对照检材。如提取衣服、被褥上的血痕或精斑，必须将斑痕周围无斑痕处载体同时剪取一部分；从白灰墙、土墙上提取血痕时，应以同样方法在血痕附近提取适量白灰或泥土做对照检材等。

2. 以排除嫌疑或澄清事实为目的提取的对照检材。如检验从被害人阴道内提取的精斑时，应提取被害人唾液或胆汁及犯罪嫌疑人血液、唾液斑。被害人若为已婚女性，还应提取其丈夫的血液、唾液斑做对照检材。

检验从现场上提取的毛发时，应当提取被害人的阴毛和头发做对照检材。现场如在室内床上，必要时还应提取用过此床的其

他人的头发和阴毛。

九、法医物证保全

物证保全包括物证的固定和保管，是指用适当的方式和手段将已经发现或提取的物证固定下来，妥善保管，以便司法人员在诉讼活动中认定案件事实时使用。物证保全是取证活动的重要环节，是收集证据工作中不可分割的组成部分。但是，无论在时间上还是在空间上，提取证据与使用证据之间都有一定的距离。如果因保全措施不当而使提取到的证据受到损坏甚至丢失，那么收集证据的任务等于没有完成，而且很可能再也无法完成。

为规范物证保全工作，确保物证的合法性，增加刑事诉讼的透明度，提高司法机关的公信度，应采取以下措施：

1. 制作物证标签。标签上应当写明：案件的名称、提取的日期和场所、物证名称、物证的编号、提取人的姓名、物证的主要特征。物证标签由现场勘查人员在提取物证时制作。
2. 使用物证袋。为不损坏物证的证明价值，应当使用物证袋保管物证，同时便于粘贴物证标签。
3. 筹建专人管理的物证间。物证保管应一案一档，一档一柜，分开保存。勘查人员将所提取的物证存入物证袋并贴上标签后，应毫不迟延地递交至由专人管理的物证间。
4. 完备移交手续。物证每次移交都应当有完备的手续。每个经手人都应当把自己的姓名和接收该物证的日期写在物证标签上，并且在相关移交文书上签名。其中，易变质的物证，其交接时间应精确到分。每个物证的所有保管环节应当构成一个完整的链条，没有间断。

本章共分为三部分，即第一章为法医物证学概论，第二章为法医物证的提取、固定与保管，第三章为法医物证的检验。第一章主要介绍法医物证学的基本概念、研究对象、任务、方法和技术等；第二章主要介绍法医物证的提取、固定与保管的方法和技术；第三章主要介绍法医物证的检验方法和技术。通过学习本章，可以使读者对法医物证学有一个全面的了解，掌握法医物证的提取、固定与保管的方法和技术，从而能够更好地进行法医物证的检验工作。

林出基基，键知趣苯靠留食只墨本，遂卦去衣健知弱乘血
。键知光炎学卦留米曾叶键对

第二章 血（液）痕检验技术

血液在人体外干燥后所形成的斑迹称为血痕（bloodstain）。血痕是法庭生物物证检验中最常遇到的检材，一般占80%以上。血痕的存在，多数情况下表示有人受伤。在伤害或凶杀案件的现场以及相关的物品上大多数都会遗留下血痕。凡在凶杀、斗殴、抢劫、盗窃、碎尸、灾害事故等现场，致伤物、受害人与嫌疑人衣服上发现的可疑血痕均要进行检验。

血痕检验必须按一定程序进行。其检验程序是：①肉眼检查。主要目的是寻找可疑斑痕的部位、形状、颜色，以便进一步检验并分析案情。②预试验和确证试验。证实可疑斑痕是否为血痕。③种属试验。判定是否人血痕还是某种动物血痕。④遗传标记测定。包括红细胞血型、血清型、红细胞酶型等遗传标记及DNA遗传标记的检验，进行个人识别或亲子鉴定。⑤其他检验。如血痕的性别、出血量、出血时间及出血部位的推断等。

技术一 血痕预试验

血痕预试验是一种筛选试验或指向试验。其基本特点是：操作方法简便、反应结果快速、灵敏度高、检材用量少。检材如为血痕，一定出现阳性反应，若呈阴性反应则说明不是血痕或血痕已遭到破坏，不需再进行其他检验了。在实际办案中，血痕预试验的主要目的是从大量可疑斑痕中筛选出可能是血痕的斑痕，再做进一步检验，排除不是血痕或不再做其他试验的斑痕，起到指向作用。

血痕预试验方法很多，本试验只介绍联苯胺试验、氨基比林试验和鲁米诺化学发光试验。

一、适用范围

该方法适用于疑含有血痕的所有检材的筛选。

二、原理

1. 联苯胺试验。血痕中的血红蛋白或正铁血红素，具有过氧化物酶活性，能使过氧化氢分解放出新生态氧，将无色的联苯胺氧化成联苯胺蓝。

2. 氨基比林试验。同联苯胺试验。无色的氨基比林被氧化呈现紫灰色。

3. 鲁米诺发光试验。血痕中血红蛋白具有触媒作用，能使过氧化钠氧化鲁米诺而产生化学发光。

三、检材的提取、保存、送检要求

1. 疑为血痕的检材均应提取；疑为多人混合血痕应分别擦拭、分别提取；血斑擦拭物越浓越集中越好。应标记清楚检材来源、名称、数量、提取时间、地点等。

2. 斑迹检材应分别密封于透气检材袋内，室温阴干；液体检材应冷藏保存，及时送检。

四、器材、试剂

1. 器材：天平、眼科剪、眼科镊、量筒、刻度吸管、标签纸。

(1) 天平：量程500g，感量0.1g，精度±0.1g。

(2) 眼科剪：直剪，刃口锋利，剪切时勿损伤组织。

(3) 眼科镊：剥离镊，丁字形，其头部再需不小于1mm的夹持部。

(4) 量筒：量程50ml，容量误差不大于±1%。

(5) 刻度吸管：其端部再需不短于5mm，且不漏气。

(6) 标签纸：

- (7) 滴瓶；
出明 (8) 滤纸；
离 (9) 玻璃喷雾器。
2. 试剂：
(1) 联苯胺；
(2) 无水乙醇；
(3) 氨基比林；
(4) 冰醋酸；
(5) 过氧化氢；
(6) 鲁米诺；
(7) 过氧化钠；
(8) 蒸馏水。
- 五、试剂配制
1. 血痕联苯胺无水乙醇饱和溶液：取 5ml 无水乙醇置于棕色试剂瓶中，缓慢加入 2~5g 联苯胺，混匀，待大部分联苯胺溶解后，上清即为联苯胺无水乙醇饱和溶液。
 2. 氨基比林试剂：氨基比林 2g，溶于 90% 乙醇 9ml 及 10% 醋酸 1ml 中。
 3. 鲁米诺试剂：取鲁米诺 0.1g、过氧化钠 0.5g，溶于蒸馏水 100ml 中，此试剂临用时配制。

六、操作步骤

1. 联苯胺试验：
(1) 将滤纸折成角状，用角端在可疑斑痕处轻轻擦拭，然后将滤纸展开。
(2) 依次滴加冰醋酸、联苯胺无水乙醇饱和液各 1 滴，此时不应出现蓝色。再加 3% 过氧化氢 1 滴，立即出现翠蓝色为阳性反应。
2. 氨基比林试验：