

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

供法医学专业使用

# 法医物证学

## 实验指导

主 编 伍新尧

副主编 杨庆恩 刘 超

孙宏钰 陆惠玲



人民卫生出版社

Do10.2

普通高等教育“十一五”国家级规划教材  
供法医学专业使用

# 法医物证学实验指导

主 编 伍新尧  
副主编 杨庆恩 刘 超 孙宏钰 陆惠玲  
编 者 吕德坚 李建金 李 越 蔡贵庆 童大跃 徐振波

## 目 录

主 编 伍新尧  
副主编 杨庆恩 刘超 孙宏钰 陆惠玲  
编 者 吕德坚 李建金 李越 蔡贵庆 童大跃 徐振波  
ISBN 978-7-117-10844-3  
定价：28.00元

ISBN 978-7-117-10844-3  
定价：28.00元

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

法医学物证学实验指导/伍新尧主编. —北京:人民卫生出版社, 2008. 10

ISBN 978-7-117-10644-3

I. 法… II. 伍… III. 物证—法医学—实验  
IV. D919.2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 146165 号

本书本印次封底贴有防伪标。请注意识别。

法医学物证学实验指导

主 编: 伍新尧  
出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-67616688)  
地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼  
邮 编: 100078  
网 址: <http://www.pmph.com>  
E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)  
购书热线: 010-67605754 010-65264830  
印 刷: 北京智力达印刷有限公司  
经 销: 新华书店  
开 本: 787×1092 1/16 印张: 13.25  
字 数: 314 千字  
版 次: 2008 年 10 月第 1 版 2008 年 10 月第 1 版第 1 次印刷  
标准书号: ISBN 978-7-117-10644-3/R·10645  
定 价: 28.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

# 主编简介

伍新尧，1942年生，1966年毕业于中山医科大学医学系，1983年获医学硕士学位。现任中山大学中山医学院生物化学和法医学教授、博士研究生导师、国务院学位委员会第五届学科评议组成员、全国高等法医学教育研究会常务理事。曾任广东省生物化学学会常务理事兼秘书长(1996~1998)、中山大学(前中山医科大学)法医学系主任、法医鉴定中心主任、法医物证学教研室主任(1998~2002)。长期从事人类遗传多态性、基因诊断、基因治疗等研究工作，曾承担多项国家自然科学基金和重点攻关项目等科研课题，翻译出版《法医生涯四十年》(1983)，主编《法医物证学讲义》(1987)、《基因诊断原理与临床》(1995)、《分子遗传学与基因工程》(1997)、《高级法医学》(2002)等教材和专著。

## 内 容 简 介

法医学物证检验的主要任务是用医学、免疫学、分子生物学、遗传学等现代科学技术手段向侦察部门提供科学的侦察线索，向法庭或理赔机构提供案件定性的“科学证据”。《法医学物证学实验指导》是按照 21 世纪的发展要求，为学习法医学物证检验的基本思路和检验技能而编写的。本书的编者由具有多年法医学物证学教学经验的教师和具有丰富实践体会的公安局第一线法医学物证检验骨干等组成。全书分绪论(强调了法医学物证检验的质量控制)、法医学物证检材的发现和提取、确证试验、DNA 分析、(广义)血型检验、似然率计算、法庭 DNA 数据库、物证检验司法鉴定文书的编写、检验技术的拓展等共分九部分。

本书强调了法医学物证检材的提取原则(和相关的法律手续)，对法医学物证检验基本程序和技术逐一进行介绍，既阐明了原理又条理清晰地介绍了实验技术操作，特别突出了 DNA 分析技术和正确评价实验结果的思路、标准及依据。书末还附有群体遗传学中常用的哈-温氏平衡检验方法及实验室常用试剂的配制和实验室质量控制要点等。

在内容安排上，强调法医学物证检验的基本理论、基本操作和技能、结果观察和分析的思路，同时也介绍了已经成熟的新技术和国际法庭遗传学会 DNA 工作委员会(DNA commission of the International Society of Forensic Genetics)推荐的方法和原则，力求突出技术的实用性和思路的先进性。本书的重点在于夯实的基础理论和基础技术，训练基本技能，强调法医 DNA 实验技术的规范化和标准化，开阔视野，活跃思路，激发创新性思维。编写方式力求生动活泼，插入较多的示意图、程序图、电脑界面等，使叙述更加直观，利于理解和掌握。对不同情况下亲权指数的计算列出了简单易懂的公式，方便应用。全书约 30 万字。各个学校可以根据自己的需要选用相应的内容。读者也可以根据自己的情况作出较多的选择。

本书主要作为法医学专业本科生教材，也可作为非法医学本科毕业的法医学专业研究生的自学教材。同时，它也是在职法医学物证检验工作者很有价值的参考书，也是律师、法官和其他非法医学工作者有用的参考读物。

## 前 言

21 世纪将会是“生命科学世纪”。生命科学技术将更加“突飞猛进”地发展。许多生命现象将得以阐明,更多的健康理念、预防保健和治疗疾病的新方法会在全社会推广。人们的生活质量将得到更大程度的提高。

21 世纪,也是我国国民经济继续高速发展,经济结构继续得到改善,社会主义法治进一步加强的新世纪。公民的法律意识、参政意识和“当家做主”的意识在迅速地提高。所有这些正促进社会主义和谐社会在中国大地以更快速度实现。

法医学是为我国法治社会服务的一门自然科学。它为侦察部门提供有价值的线索,为司法部门对案、事件的定性和审判提供“科学证据”,还为社保和保险理赔部门等提供合理补偿和赔偿的科学依据。法医学工作的重要性越来越为我国社会各界所认识;法医学工作者的从业条件也得到了很大的改善,尤其突出的是法医物证检验工作的条件和水平有了质的飞跃。

与此同时,我国社会对法医学工作者的素质、技术水平、解决问题等综合能力的要求也越来越高。如何培养综合素质高的法医学工作者,是我们法医学高等教育机构和教师的历史责任。

这些年来,在提高法医学本科生的综合素质方面,中山大学中山医学院法医学系作了许多有益的尝试,如组织法医本科学生早期接触社会、接触公安工作和法医工作实践,邀请在公检法部门作出较大贡献的法医工作者传授他们的从业体会和成功经验。为了使法医本科学生能尽早进入角色,在他们进入大学的第一学期就接受“法医学概论”课程的教学。2000 年开始,我们组织 3 年级法医本科生利用暑假到公安局巡回见习,组织学生旁听庭审。中山医科大学法医学系特别重视实践教学,从 1999 年开始,在包括北京市公安局在内的近 20 个法医学教学实习基地聘请一批理论深厚、实践经验丰富、有一定带教经验的法医作为我校的兼职教师;将法医本科毕业班的毕业实习时间延长至接近 6 个月;加强学生实习期间的管理和实习效果评估,使他们在进入社会以后,能很顺利地过渡成为“法医学工作者”。

在生命科学的新技术不断涌现、法医物证检验技术的水平迅速提高的形势下,中山大学法医物证教研室每年都在更新“法医物证学”的教学内容,同时“与时俱进”地革新《法医物证学实验指导》的要求,强化实际操作技能的培养,目的在于使法医学本科毕业生能跟上时代步伐,适应法医学检案实际,并对法医物证检验的发展有较深刻的认识。

现在出版的《法医物证学实验指导》是在这些年来我们更新的《法医物证学实验指南》的基础上,邀请一些在法医物证检验方面有丰富实践经验和深厚理论基础的公安工作第一线的专家参与修改充实而来的。

由于 DNA 的特性及其分析技术的发展,目前,无论是在国外还是国内,法庭科学实验室进行个体识别和亲权鉴定时,已大多使用 DNA 分析技术。只有少数的实验室还



部分使用 ABO 血型分析技术。因此,本书从检材提取,直至对分析结果的评价均贯穿一条主线——DNA 分析技术。

法医物证检材的获得虽然不属于检验技术本身,但却是进行法医物证检验的基础,而且是最后证明案件真实性的“证据链”的重要开始,因此本书将法医物证检材的提取独立成为第一部分进行详细的阐述,要求法医学本科生能够在勘察现场时注意法律程序、遵循正确的思路去发现法医物证并使之固定,同时采用正确的方法提取这些检材。法医物证检验成功率的高低主要决定于检材 DNA 提取的成功率,本书对各种检材 DNA 的提取方法及其注意事项作了详尽的叙述,希望读者能够从理论和实践方面牢固掌握这些基础技术。我们设想,按照本书的要求严格训练,在《法医物证学实验课》结束时,这些学生将能够独立完成条件较好的法医物证检材的 DNA 分析工作(从 DNA 提取至实验结果的评价分析,作出结论)。

随着 DNA 分析技术的自动化,在各国或地区相继建立了 DNA 数据库。我国 DNA 数据库的建设时间虽然不长,但在侦破串并案和解决重大案、事件中起的作用越来越明显。DNA 数据库越来越受到法医 DNA 实验室和相关领导的重视。它的加强和进一步完善,将会取得更好的社会效益。因此,我们也要求法医学本科生能掌握相关的知识。

犯罪分子的手段越来越狡猾,反侦察手段越来越多。但是,“魔高一尺,道高一丈”是个规律。尽管犯罪分子使用了许多手段来毁灭罪证,微量(甚至是痕迹量)的法医物证检验已经使这些犯罪分子得到了应有的惩罚。随着分析技术的进一步提高,必然会进一步提高打击犯罪分子的能力。

我国不同地区之间的经济发展水平差距较大,培养法医本科生的条件也不完全相同。这些学生毕业以后从事的工作和条件也会有很大差别。为此,本书在编写时,尽量考虑这些因素,力求语言流畅,深入浅出,容易理解。各个学校可以根据本校的实际情况选取其中的内容作为基本要求。当然,各个学生也可以按照自己的理解、吸收能力,在完成学校要求的前提下,了解书中的其他内容。本书还设有“拓展实验”部分,及部分用小号字表示的内容,为的是鼓励学生灵活安排,根据自身的条件,多学习一些创新性思维比较突出的知识。一些学生还可以根据某些实验后面列出的参考文献(或网址)进一步提高自己在相关方面的理论水平,拓宽知识面,活跃思路,为以后创造工作条件、进行科学研究和创新技术奠定扎实的基础。

本书的编写工作在 2007 年暑假前已经完成,2007 年 9 月给中山大学法医学系 2003 级本科生试用,反应良好,同时也发现了一些错漏,我们又组织部分作者作了修正完善。总之,我们试图以最好的质量展现在读者面前。由于以前没有编写过这种形式的《实验指导》,尚缺乏经验,错漏、不足之处在所难免,敬请广大读者提出宝贵意见,以便改进。

伍新尧

中山大学法医学系

2008 年 4 月 5 日

# 目 录

绪论	1
一、概述	1
二、法医物证检验的策略及发展方向	3
三、法医物证检验前的实验室准备	7
四、法医物证学实验室的生物安全保障和管理规则	8
第一部分 法医物证检材的发现、提取和送验	13
一、法医物证检材的发现和提取	13
二、法医物证检材的保存与送验	16
三、相关的法律程序和“证据链”	18
第二部分 法医物证检材的确证	20
实验一 血痕检验	20
实验二 精斑检验	26
实验三 唾液斑检验	31
实验四 精液、阴道液混合斑检验	33
实验五 毛发检验	34
实验六 人组织碎片的检验	36
实验七 骨骼及骨碎片检验	37
第三部分 法医物证检材的 DNA 分析	39
实验八 各种法医物证检材的 DNA 提取	39
实验九 DNA 质量和浓度的检测	54
实验十 DNA 分析作检材的种属鉴定	62
实验十一 分析 Amelogenin 基因作性别检验	68
实验十二 银染色法作单个 STR 基因座分型	71
实验十三 银染色法作复合 STR 基因座分型	73
实验十四 荧光标记复合 STR 基因座分型	76
实验十五 混合检材的 DNA 分型	83
实验十六 线粒体 DNA 非编码区序列分析	92
实验十七 ABO 血型基因分型——PCR-RFLP 技术	97
实验十八 PM+HLA-DQA1 基因分型——反向斑点印迹杂交技术	100
第四部分 血型检验	106



实验十九 ABO 血型抗体的效价测定及标化 .....	106
实验二十 新鲜血液 ABO 血型检测 .....	107
实验二十一 中和试验 .....	109
实验二十二 解离试验 .....	110
实验二十三 HLA-A、-B 抗原分型——微量淋巴细胞毒试验 .....	114
实验二十四 血清结合珠蛋白分型——聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳法 .....	118
实验二十五 葡萄糖磷酸变位酶 1 分型——等电聚焦电泳法 .....	121
<b>第五部分 似然率的计算</b> .....	124
实验二十六 父权指数和父权概率的计算 .....	124
实验二十七 个人识别似然率的计算和意义 .....	129
<b>第六部分 法庭科学 DNA 数据库</b> .....	134
实验二十八 法庭科学 DNA 数据库 .....	134
<b>第七部分 法医物证检验鉴定文书的编写</b> .....	142
实验二十九 法医物证检验司法鉴定文书的编写 .....	142
<b>第八部分 法医物证检验的拓展实验</b> .....	153
拓展实验 1 荧光标记复合 X、Y-STR 基因分型 .....	153
拓展实验 2 PGM1 同工酶基因分型 .....	159
拓展实验 3 引物单碱基延伸法作 SNP 分型 .....	162
拓展实验 4 DNA 检验小结和思考-基因芯片的产生 .....	167
拓展实验 5 亲权鉴定的策略和判断标准 .....	171
拓展实验 6 计算亲权指数的简便公式 .....	176
<b>附录一 等位基因频率计算和 Hardy-Weinberg 平衡检验</b> .....	183
<b>附录二 DNA 分析常用试剂及配制方法</b> .....	192
<b>附录三 聚丙烯酰胺凝胶的制备和银染显色法</b> .....	196
<b>附录四 法医物证实验室的质量控制</b> .....	199
<b>附录五 STR 基因座等位基因分型标准物的制备方法</b> .....	202
<b>附录六 DNA 分析实验常用参数</b> .....	204

# 绪 论

## 一、概 述

### 1. 《法医物证学实验课》的目的

《法医物证学实验课》是以实验课的形式,让学生通过实践来学习法医物证检验的基本技术和相关理论,并模拟法医物证检验的实际条件进行学习,希望能进一步理解《法医物证学》中的关键理论,掌握法医物证检验的各项基本技能和学会法医检案的基本思路;同时,通过实践,能够尽量深入地了解标准化和质量控制在法医物证实验室中的重要地位;通过实践,能进一步激发学生的学习热情、探索解决问题的正确思路并活跃科学思维,为将来完成好法医物证检验的各项任务和创新技术奠定良好基础。

法医物证检验的任务,是根据解决案(事)件的需要,①用科学的方法揭示与案(事)件相关的检材的个体遗传特征;②根据人群的遗传学资料,对检验结果作进一步的分析,得出检材之间内在的相互关系的鉴定意见,为解决民事和/或刑事案件提供证据。显然,要完成这样重要的任务,从事法医物证检验的技术人员必须具有扎实的理论基础、高水平的实验操作技能和活跃的科学思路。

### 2. 法医物证检验的特殊性

#### 2.1 法医物证检材大部分是从案件现场取得的与人体相关的生物物证。

案发过程的多样性、犯罪现场的复杂性、犯罪分子复杂的心理变化、环境条件不同的物理化学因素和其他预想不到的各种干扰等,都会对法医物证检材的不确定性、可获得性和稳定性影响极大。从案件发生到侦察现场提取物证,已经过相当一段时间,法医物证检材往往会发生变性、腐败、或受到污染,甚至人为故意破坏。这些情况大大增加了法医物证检验的难度。因而,能否从可疑的、有限的法医物证检材中提取出相关的蛋白质、DNA等遗传标记,往往是法医物证检验成功与否的关键。

#### 2.2 在司法实践中,法医物证鉴定意见属于“科学证据”。

它通过对人类遗传标记的检测,揭示生物检材的个体遗传特征,进而分析检材之间的内在关系。因而,法医物证检验对科学技术有很强的依赖性,鉴定水平也会随科学技术的进步不断提高。但人类个体的遗传特征是终生不变的,一个实验室的检验结果,应该可以在其他实验室得以重复。

#### 2.3 法医物证检验具有以下特殊性。

##### 2.3.1 检材的不确定性和数量的有限性

法医物证检验的检材大多数都是从现场获得,受到许多未知因素的影响。这些检材是否属于人的尚未确定,其数量往往非常有限,有时只有痕迹量。毫无疑问,要想从这些微量检材中获得能帮助解决案件的个体特征,其难度的确很大。

法医物证检验过程中需要消耗一定量的检材,检验以后的检材无法“恢复原样”,从这个意义上讲,检验对作为“证据”的检材具有破坏性。如果能够得到的检材量很少时,就可能无法重复实验。作为实施检验的技术人员,必须充分意识到这一特殊性可能引起的后果;技术人员在受理案件的时候,就应该将由此可能导致的后果(无法重复检验的可能性)告知送检材料的单位和个人相关负责人(称为“风险告知”),由他们来确定是否进行检验。

同样的道理,对于指纹中的 DNA 提取,事前必须与负责痕迹侦察的技术人员充分交流或沟通,在他们的密切配合下进行,免得破坏指纹本身的个体识别作用。

### 2.3.2 检材中个体特征可检出的时间局限性

案件现场往往有许多干扰检材的因素,在现场找到的法医物证检材中所具有的遗传标记(包括蛋白质和 DNA 遗传标记)均会受到外界因素(有时候甚至是很恶劣的因素)的影响甚至破坏。随着时间的推移,检材中的蛋白质会变性、DNA 会降解、遗传标记会逐渐被破坏。很多时候,法医物证检材在发现时就已是很陈旧的。对于这些遭受严重干扰或十分陈旧的检材,目前的技术水平往往难于分析其中的遗传标记,实验结果可能是阴性的。因此,法医物证检验应尽早进行,或在获得检材时及时采用有效手段防止或减缓检材中遗传标记可能受破坏的进程。法医物证检验技术人员在受理此类案件时,必须如实地将困难和可能的结果告知送验检材的委托单位或委托人(“风险告知”),征得他们的同意以后再进行检验。

正是这个原因,寻找分析陈旧检材个体特征的有效方法一直是法医物证工作者在努力解决的难题之一。

### 2.3.3 实验室要实现标准化

法医物证检验的结果作为“科学证据”往往要送给不同地区、甚至是不同国家的相关部门采用。因而,要求法医物证检验的项目、操作程序、结果判断的评价指标等在同一个国家甚至是在不同的国家之间都要有可比性。目前,这一工作的重要性已得到国际、国内司法系统的认同,并正在采取相应的措施,正在进行法医物证检验的标准化;此外,法医物证检验的标准化也便于实现群体遗传资源在国内、国际范围共享。

### 2.3.4 法医物证检验的法理性

法医物证检验的鉴定意见是为法律服务的,因此法医物证检验技术人员必须具备强烈的法律意识,注重法律程序。

法医物证检验技术人员必须充分意识到,法医物证检验属于“证据链”的组成部分,要完备各个程序的规范操作和程序间交接的法律手续。物证检验的操作过程,包含了多次的检材转移和“数据”转移的环节。实施操作的技术人员必须严格办好相关的程序转移手续并有完整的记录,可供追溯,经得起法庭的质证。

### 2.3.5 检验结论需要经过质证

法医物证检验的鉴定意见常以“司法鉴定书”的形式提供给法庭、相关行政机关或保险公司等,作为“证据”或“依据”来处理案、事件。要求法医物证检验的程序要合法,操作要遵守规程,记录完整,分析有科学依据,用词要十分严谨,鉴定意见要十分可靠,最后要经得起法庭和相关机构的质证。

## 二、法医物证检验的策略及发展方向

### 1. 法医物证检验的策略

鉴于法医物证检验的特殊性,制定物证检验的策略时,必须从实际出发,结合案情,依据检材的类型和特点,以及委托单位的送检要求来确定。

#### 1.1 法医物证检验的基本思路

法医物证检验所受理的检材多是来自现场勘察时收集到的,检验人员对这些检材的本来面目并不知道。因此:①首先检测判定提取的检材是否生物学检材。例如查明“红色”斑痕是否血痕,卫生纸上灰白色浆糊状斑迹是否精斑,需要作相应的预试验和确证试验;②查清这些检材是否来自人体;如果不是来自人体的,又可能来自那种动物?此时,需要进行动物种属鉴定试验;③确定其为来自人体的检材以后,接着要做的就是揭示究竟是谁的,男性或女性?这需要对检材进行性别和个体遗传特征的分析,包括对具有多态性的蛋白质和 DNA 分析;④在查清这些检材的个体遗传特征以后,要进一步作遗传标记的比对分析(往往是两份或两份以上检材的比对,有时要与 DNA 数据库中的资料进行比对),以便确定这些检材是否来自同一个体,或检材之间是否存在亲缘关系?即进行同一性认定(individual identification)或亲缘关系鉴定(parentage testing)。

#### 1.2 法医物证检验的基本程序

按照上述基本思路,可将法医物证检验的基本程序(以斑痕检材为例)概括,示如图 F1-1。

有许多情况下,可以省去种属试验的步骤,将检材 DNA 提取出来后,可直接分析其中的多态性基因座(如 TH01, vWA 基因座等)。因为 PCR 引物的特异性,只有人类的检材才会有相应的 PCR 产物(有时也可以根据多态性序列的长度差异来确定人的种属特异性)。若分析结果出现了相应的等位基因,则一次实验操作可以解决人的“种属特异性”和得出该检材的“个体遗传特征”。

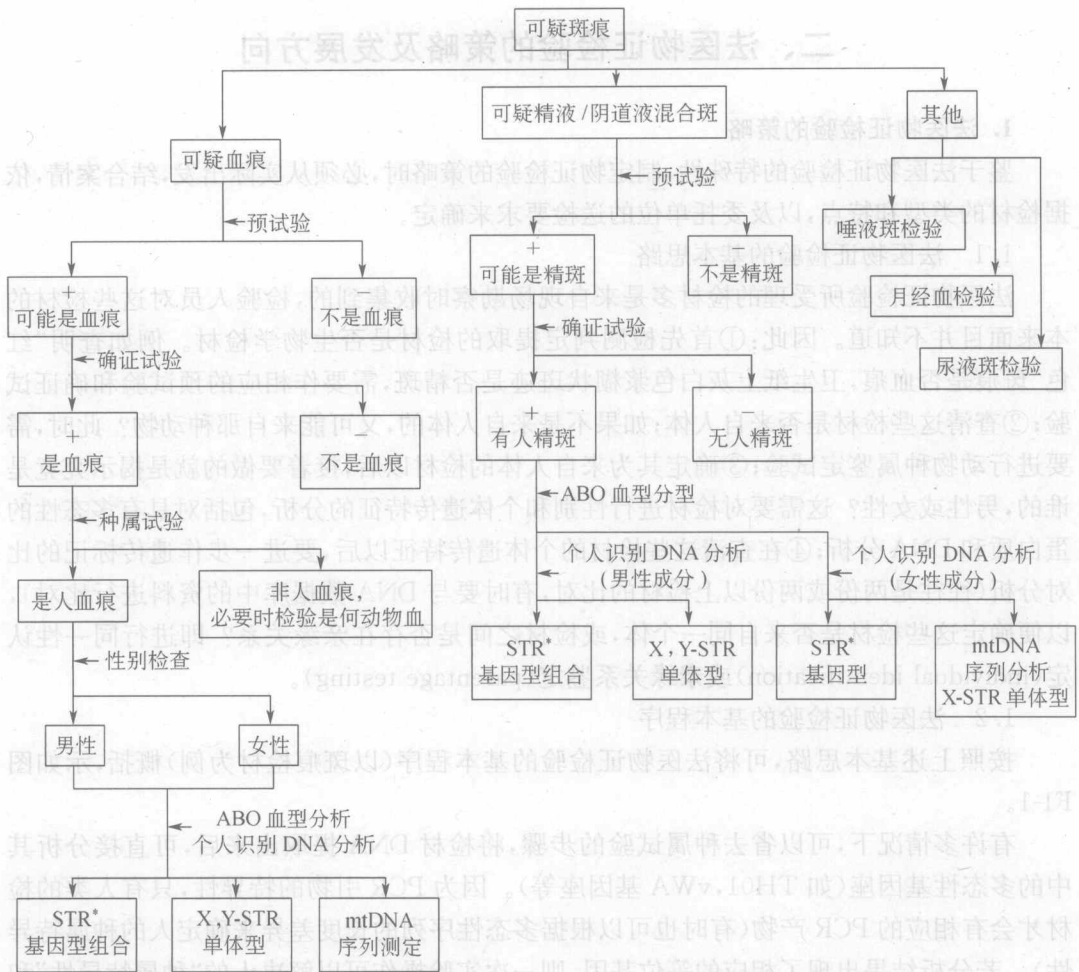
在获得检材的个体遗传特征以后,还有一个很重要的步骤,就是分析检材之间的关系。这时非常重要的一项工作是,预先获得相关人群的群体遗传学资料。这些资料必须预先进行检验,证明是符合哈-温(Hardy-Weinberg's equilibrium)平衡的。

在进行亲权关系鉴定时,还要针对不同类型的案件制定相应的鉴定策略。鉴定策略要根据委托人的要求和能提供的样本作出相应的调整,如检测的项目(例如,是否检测 Y-STR、X-STR 基因座及作线粒体 DNA 非编码区序列分析等)和采用的分析方法,以便使用较少的实验操作达到最理想的效果。

### 2. 法医物证检验的发展方向

法医物证检验的核心问题是揭示各类生物检材中具有个体遗传特征,在检测过程中有两个关键步骤,一是生物检材的 DNA 提取,其次是对检测结果的分析,作出判断和结论。法医物证检验常遇到的难题是:①检材微量;②检材陈旧或已经变性、腐败;③受外界理化因素的严重影响;④来自两个人或多个人的混合检材;⑤要在短时间内完成数量很大的检材筛查任务,等。很显然,这些难题依靠常规方法来解决是十分困难的。寻找解决这些难题的手段或技术,就是法医物证检验的发展方向。





注: \*STR 基因型组合是指常染色体 STR 基因型组合

图 F1-1 法医物证检验基本流程图

## 2.1 实验技术的可靠性和标准化

### 2.1.1 实验技术的可靠性

法医物证检验的特殊性决定了其所采用的实验技术要十分可靠。这里的可靠性应包括下列含义:①各种法医物证检材,只要是来自同一个体的(包括同一时间和不同时间获得的检材),其遗传特征的检验结果具有同一性;②来自同一个体的完整的和降解 DNA 的检验结果的同一性;③不同实验技术人员和不同实验室之间对同一份检材的检验结果应相同且具有可重复性;④对同一个民族人群的遗传资料调查的结果应该有可比性;⑤实验技术灵敏度具有可重复性。

### 2.1.2 防止污染,设立正确的实验对照

要实现实验结果的可靠,每次或每一批实验都应设置以下对照:①阳性对照(a positive control from a known DNA sample):用已知基因型的 DNA 模板进行分型,分析结果应该正确;②空白检材对照(a negative extraction control without DNA):指在携带有人 DNA 的载体旁边取与之大小相似的空白载体作为检材,同步进行 DNA 提取以及后续的

实验步骤,一同观察结果,没有相应的信号为“空白对照正确”;③PCR 试剂污染对照(a PCR reagent contamination control with water instead of DNA):在 PCR 实验时,只加入 PCR 的其他试剂,用水代替 DNA 模板,同步进行后续的实验步骤,没有相应的 DNA 扩增产物为“对照正确”;④空白对照(a blank control with water):用水替代 PCR 试剂和 DNA 模板,同步进行后续的实验步骤,没有相应的 DNA 扩增产物为“对照正确”;⑤上述对照使每一次实验如果受到污染或失败时,都可以追踪到相应的原因。

各个对照的意义如表 F1-1 所示。

表 F1-1 对照管设置及其实验结果的含义

对照管	结 果			
阳性对照	+	+	+	+
空白检材对照	-	+	+	+
PCR 试剂污染对照	-	-	+	+
空白对照	-	-	-	+
说明的意义	对照正确	检材可能污染或抽提 DNA 过程污染	PCR 试剂污染	水污染或试剂污染

### 2.1.3 实验室工作标准化

中国合格评定国家认可委员会于 2006 年 6 月已颁发了《CNAS—CL01 检测和校准实验室能力认可准则(ISO/IEC 17025)》(以下简称《准则》),其中包括了管理要求、技术要求。获得国家认可委员会的认可是法医 DNA 分析实验室的必然趋势。目前我国已经有少数法医 DNA 实验室获得国家认可委员会的认可。从事法医 DNA 分析技术人员在实验室工作中应该严格遵守《准则》的相关规定。

获得国家认可委员会认可的法医物证检验实验室最好采用相同或尽可能相同的检测项目。这些项目必须是经证实其技术可靠,实验操作程序、试剂和实验仪器的校正、对照设置、判断标准等实行规范化管理,并得到国家或国际质量监督机构核准,即已经标准化。相关的实验工作还要定期进行复查或考核。这些措施能使不同的法医物证实验室之间的结果可以进行比较,互相验证。

### 2.2 实验检材微量化

法医物证检验的检材大部分来自案发现场,可以用来分析的检材往往只有“痕迹量”,如微量唾液斑,精斑,指印,茶杯上或烟蒂上残留物,高度腐败的尸块,埋在地下多年的骨碎块等。这些检材中或是含有核细胞数量很少,或是其中的细胞已经破裂、DNA 已经降解,也有部分是因受到环境的污染严重、含有许多干扰 DNA 检验的物质。因此,如何有效地提取并纯化其中的 DNA,仍然是个难题。

对这些微量检材,希望对其中的遗传信息进行放大。例如,将微量精斑中的少数精子用显微镜检查后取出,再通过“全基因组扩增技术”(whole genome amplification)可以达到这个目的。PCR 技术的高特异性、高灵敏度使对微量 DNA 的分型有了可能性。理论上,只要检材中含有一个有核细胞,通过 PCR 技术就能毫不失真地将其中的 DNA 数量放大,使我们有充分的条件来揭示其中尽可能多的个体特征,最后达到“个人认定”的目的。



“多基因座复合扩增分析技术”一次实验能揭示多个基因座的个体特征,突破了“一次实验只检测一个基因座”的局面。目前使用的多色荧光标记复合 STR 基因座分析试剂盒,多位点 SNP 分析试剂盒等,都是希望一次实验能分析检材的多个基因座,获得更多的个体遗传特征信息。“DNA 芯片技术”(DNA chip)也是适应这方面思路而产生的。

针对 X、Y 性染色体,希望获得个体识别力更高的“单体型分析技术”。这种技术在分析混合检材中男性或女性各自的个体遗传特征时很有帮助,在协助鉴定母-女、父-子、母子-祖母-孙女、外祖母-孙子等关系时也很有帮助。

针对腐败检材分析的难题,目前,一方面继续完善 mtDNA 分析技术,努力在 mtDNA 编码区序列中寻找更多的多态性位点,提高 mtDNA 分析的个体识别力。另一方面希望在原来 STR 分型技术的基础上尽可能减少 DNA 降解对 PCR-基因分型结果的影响,例如“mini STR 技术”,通过在尽可能靠近重复核心序列的区域寻找特异性序列,以此来设计引物,最大限度地减少扩增片段的长度,使腐败等因素造成的 DNA 降解对分析效果的影响程度降到最低。

### 2.3 实验操作自动化

需要法医学物证检验的案件千变万化。复杂的刑事案件、一些群体性灾害,都需要在短时间内完成数量颇大的样本检验并发出报告。显然,依靠手工操作满足不了这样的要求。因此,相关的科学工作者一直在探索实验操作的机械化、自动化。现在广泛使用的 ABI 3100 遗传分析仪(ABI 公司,美国)能自动对 PCR 产物进行 STR 分型,是一个很好的例子。目前已有 Biomek 2000-ORCA 全自动核酸工作站(Backman 公司,美国),能自动进行检材 DNA 提取。使用 FTA 卡后,将来能自动加入适当的 DNA 模板进行荧光标记复合 PCR 扩增,再作 STR 基因分型,自动审查结果以后,将其输入 DNA 数据库。将这些操作连在一起后,就可形成一套自动化操作链。

实验操作机械化、自动化不但可减轻实验技术人员的劳动强度,更重要的是提高实验结果的可重复性,减少人工操作产生的误差。用计算机程序和处理软件将几个部分连在一起,可以在较短时间内建立数据量较大的 DNA 数据库。

### 2.4 检验现场化

刑事案件的侦破要求迅速得到有用的线索,快速确定并及时控制犯罪嫌疑人。法医学物证检验如果在现场就能分析并得到结果,向侦察人员提供可靠的有关犯罪嫌疑人或受害人个体特征的线索,将对迅速破案起到十分积极的作用。

### 2.5 DNA 遗传标记和人群 DNA 数据库

人类 DNA 遗传标记系统具有极高的个体鉴别能力,是目前法医学物证鉴定的常规检测项目。它具有蛋白质遗传标记不可比拟的优势。经过 20 多年的努力,法医 DNA 分析技术已经逐渐达到标准化和分析仪器自动化。在个体识别和亲权鉴定等方面发挥了重要的作用。

法医 DNA 分析技术标准化、自动化与大型计算机技术和网络技术结合以后,实现了 DNA 分析结果的数字化及大规模的储存,并能在大范围(如省及全国范围)进行群体遗传学统计分析、自动查询、比对。这一套体系就称为 DNA 数据库(DNA database)。

有许多资料显示,犯罪的人群中,相当部分是重犯或者有前科的。因此,准确、详细地记录有过犯罪记录人的个体遗传特征,对许多疑难案件或串案的侦破具有十分重要意义。

建立犯罪人群的 DNA 数据库,会使办案效率大大提高,加强法律的威慑作用,对打击犯罪活动具有十分积极的意义。

在建立人群 DNA 数据库时,采用自动化的、智能化的机器人操作,其速度会更快。因此,要求法医物证检验技术人员及早学习相关方面的知识很有意义。

人类 DNA 数据库不仅对法医学具有重要意义,它同时还是进行人类学研究和对遗传性或遗传易感性疾病发病机理研究的一个重要工具。

【参考文献】

1. Ballantyne, K N, van Oorschot, R A H, Mitchell, R J. Comparison of two genome amplification methods for STR genotyping of LCN and degraded DNA samples. *Forensic Sci. Int.* 2007, 166: 35-41.

2. DNA Advisory Board, FBI, U. S. Department of Justice. Quality Assurance Standards for Convicted Offender DNA Databasing Laboratories. (April 1999) <http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/july2000/codislb.htm>

(伍新尧,杨庆恩)

### 三、法医物证检验前的实验室准备

对于法医物证检验来说,实验结果的准确和可靠是第一重要的,即“质量第一”。为此,实验室的质量控制至关重要。实验室科学系统的规章制度、严格的管理、规范的操作程序以及操作人员细致、严谨的工作作风是鉴定工作质量的保障。

法医物证司法鉴定实验室均要按照中国合格评定国家认可委员会 2006 年 6 月颁布的《检测和校准实验室能力认可准则(ISO/IEC 17025:2005)》进行实验室管理。这里强调其中的几个主要部分。

#### 1. 实验用仪器的校准

实验室使用的仪器设备在实际检案之前均应进行校准。校准的项目应包括所有称量器具[如称量试剂用的各种类型的天平、移液管、微量移液器(pipette)]的准确性和使用仪器的灵敏度和可靠性。这些仪器在制造过程中、在运输中和/或在组装过程中均可能存在对仪器的灵敏度和准确性产生影响因素;另一方面,称量器具和仪器在使用一段时间以后,也会因操作或环境因素使其准确度、灵敏度和精确度产生影响。如果不进行校准和保证这些实验仪器设备的可靠性,则检验工作容易失败,或得到错误的结果。实验仪器使用后要复原,并须定期检查、保养,使之符合设计的要求,保证实验结果可靠。实验室的所有称量器具、仪器设备的校准和可靠性验证,都应由国家指定的有资质的质量监控单位进行,并有相应的书面证明,记录检测日期、实行校准的技术人员签名和相关单位的盖章。保证其完整的可溯源性。相关文件应该由实验室专人保管。

#### 2. 实验用试剂的有效性验证

试剂在生产、运输、保存过程中,受多种因素的影响,均有失效或部分失效的可能性。无效或低效的试剂必然影响实验结果的准确性。如在法医物证检验的许多实验中都需要制备聚丙烯酰胺凝胶,其相关试剂,特别是过硫酸铵的有效性检查显得十分重要。如果过

硫酸铵的保存方法不当或时间太长,会因受潮失效,是常见且典型的例子。实验人员在使用所有试剂前,要仔细检查试剂的生产日期、失效日期、品质,观察保存条件。在实验记录本中,应有相应的试剂来源的记录。

提供所有试剂的厂商均有质量合格的相关证明材料。这些资料要保存完整,以备检查。

### 3. 参照品或标准品的可靠性检验

在法医物证检验时,常常要使用参照品或标准品作为分型参照与依据。这些参照品或标准品也是试剂之一,同样可能受到外界因素的影响而改变。根据已经变化了的标准品进行判断,造成结论的误差是难于避免的。实验仪器的内在条件(特别是仪器的一些参数)变动也会使参照品或标准品的表现特征产生变化,可能导致结果判断的误差。因而,在进行法医物证检验前对这些参照品或标准品作可靠性检验十分必要。

要求提供试剂的厂商有质量合格的相关证明材料。其相关资料或复印件要保存完整,以备检查。

实验前,要求对每一批参照品或标准品都进行可靠性检验,并有相应的记录。

图 F1-2 显示等位基因阶梯(Allelic Ladder)质量不可靠(箭头所指的等位基因阶梯)的一个例子。

(伍新尧)

## 四、法医物证学实验室的生物安全保障和管理规则

### (一) 法医物证学实验室的生物安全保障

#### 1. 实施生物安全保障的意义

法医物证学实验室的生物安全保障具有十分重要的意义。

##### 1.1 保证实验结果的可靠性

进行法医物证检验的大多数实验都采用 PCR 技术,PCR 产物十分微细(远远小于病毒)。因此,其实验过程中防止污染是第一重要的。

##### 1.2 保护法医物证检验技术人员的安全

法医物证检验实验室经常使用含有对人体有害的化学物质和生物大分子试剂。因此,生物安全管理的规范和措施对实验技术人员的安全具有十分重要的意义。

##### 1.3 保护环境

法医物证检验使用过的废弃物和 PCR 产物中,部分是已经知道会污染环境,部分是具有潜在危害的物质,采取相应的严格管理措施可以大大减少对环境的污染。

#### 2. 生物安全保障措施

为了保护实验室技术人员人身安全和保护环境,要求法医物证学实验室应具备下列基本设备和相应措施。

##### 2.1 不同实验区域要按照单向流程安排

对进行不同实验操作的实验区域应分开安排。如将检材接收、DNA 提取、PCR 扩增、