



法医物证

DNA检验技术的 探索性研究

李 民 主编



苏州大学出版社
Soochow University Press

法医物证 DNA 检验 技术的探索性研究

李 民 主编

苏州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

法医物证 DNA 检验技术的探索性研究 / 李民主编. —
苏州: 苏州大学出版社, 2017. 6
ISBN 978-7-5672-2123-9

I. ①法… II. ①李… III. ①脱氧核糖核酸-法医学
鉴定-研究 IV. ①D919.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 118833 号

法医物证 DNA 检验技术的探索性研究

李 民 主 编

责任编辑 倪 青

苏州大学出版社出版发行

(地址: 苏州市十梓街 1 号 邮编: 215006)

虎彩印艺股份有限公司印装

(地址: 东莞市虎门镇陈黄村工业区石鼓岗 邮编: 523925)

开本 700mm × 1000mm 1/16 印张 13 字数 234 千

2017 年 6 月第 1 版 2017 年 6 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5672-2123-9 定价: 68.00 元

苏州大学版图书若有印装错误, 本社负责调换
苏州大学出版社营销部 电话: 0512-65225020
苏州大学出版社网址 <http://www.sudapress.com>

《法医物证 DNA 检验技术的探索性研究》

编 委 会

主 编 李 民

副主编 周如华 石云杰 张 健

编 委 孟庆振 陈 剑 张 伟 孙元鹏

陈维忠 王 鑫 李景辉 李鹏飞

孙溢华 秦东梅

主编简介

李民, 硕士, 1992 年参加工作至今, 在苏州市公安局刑警支队先后从事和负责刑事技术、刑侦情报信息工作, 承担全市刑事技术的规划、指导和管理工作, 负责全市杀人等重特大案件现场勘查工作, 以及全市 DNA、指纹、掌纹、足迹、现场勘验信息等系统的建设、应用、管理和维护等工作, 在侦查破案、打击犯罪和维护群众合法权益的工作中充分发挥了应有的作用, 取得了良好的社会效益。曾荣立二等功 1 次、三等功 4 次、嘉奖 5 次, 并被评为苏州市政法先进个人; 2013 年当选为江苏省第十二届人大代表, 2013 年、2016 年先后两次被聘为公安部首批刑事技术特长专家, 入选江苏省第四期“333 高层次人才培养工程”, 被江苏省公安厅聘为“111 工程”刑侦行家, 2013 年被苏州市公安局评为首批领军人才, 2014 年获得苏州市公安局突出贡献奖, 2015 年获得公安部优秀专业技术人员二等奖, 2015 年当选为江苏省法官、检察官遴选委员会委员, 2016 年获得江苏省公安厅突出贡献奖。



序

自从1985年英国遗传与分子生物学家杰弗里斯(Jeff-reys)首次将DNA指纹图应用于一例移民案件的亲缘鉴定以来,经过20多年,DNA鉴定技术得到了长足的发展,已经逐渐发展成为一门独立的学科,为各国政府接受并采用。DNA双螺旋模型的发现是生命科学研究历程中的一个具有划时代意义的里程碑。这一模型对遗传学的发展具有深远影响,它不仅使遗传学研究从此深入到分子水平,而且奠定了现代遗传学的基础,进一步推动和影响着生命科学各个学科的飞速发展。在遗传学不断发展、取得各项研究成果的同时,法医遗传学也有了很大的发展。法医工作者们能够运用和依靠遗传学的这些新技术、原理来为有关的法律问题服务,例如,对个体中的组织、细胞、体液的同一认定及个体之间的血缘关系鉴定等。

中国的DNA证据检测技术也有了20多年的发展历史。近些年来,DNA鉴定技术已经成为司法鉴定领域的研究热点和发展前沿,一大批崭新的技术、方法得以开发并应用。对这些研究成果的及时总结、归纳与提炼有助于促进DNA鉴定行业的整体技术进步与统一。目前,我国的DNA鉴定技术和应用领域与发达国家基本上处于同等水平。主流检验技术建立在以PCR-STR为核心的检验平台上,解决了95%以上的刑事、民事案件的DNA分析工作;DNA数据库也经过了多年的建设和扩展,拥有了相当的规模,起到了打击犯罪、维护公共安全的作用。

该书的编写人员都是近年活跃在国内刑事案件司法鉴定前沿的年轻工作者。他们在各自的岗位上多有建树,并在国内外杂志上陆续刊登了系列研究论文。这一团队在DNA鉴定研究,特别是在微量生物检材提取、新型高通量自动化平台研发应用,以及新遗传标记的开发方面积累了较为丰富的实践经验。

该书系统地介绍了传统遗传标记与新型遗传标记的最新研究成果、各类血缘关系鉴定的最新技术、新型 DNA 鉴定技术以及苏州的经典案例。该书的实战性很强,可为本领域的 DNA 鉴定人员、科研工作者、相关教师和学生提供有价值的新知识和参考信息,希望能对大家的工作有所裨益,更希望它的出版能够进一步推动 DNA 鉴定技术在法庭科学中的应用。

李 民

2017 年 3 月 15 日



目 录

第一章 绪 论

- 第一节 概 述 / 1
- 第二节 扩增片段长度多态性 / 7
- 第三节 STR 分型技术 / 23

第二章 法医物证 DNA 的发现、提取与保存

- 第一节 概 述 / 38
- 第二节 法医物证检材的提取、保存及送检 / 38
- 第三节 人员 DNA 样本采集保存方案 / 45
- 第四节 接触性生物检材采集保存套装的研制 / 52

第三章 法医物证 DNA 检验技术

- 第一节 常用的 DNA 提取及检验方法 / 57
- 第二节 快速、简便、灵敏 STR 技术的研发 / 71
- 第三节 新型高效纳米磁珠试剂盒的研制 / 80
- 第四节 批量生物检材的自动化处理 / 90
- 第五节 单细胞捕获技术对疑难生物检材 DNA 的检验 / 99
- 第六节 六色 Mini 荧光复合扩增试剂的研发 / 107

第四章 DNA 数据库的建设与应用

- 第一节 概 述 / 119
- 第二节 国内外 DNA 数据库发展状况 / 122
- 第三节 苏州法庭科学 DNA 数据库的发展和现状 / 135
- 第四节 双机热备份和比对引擎 / 138

第五节 DNA 数据信息共享应用系统的研发与应用 / 143

第五章 法医物证 DNA 应用实例

第一节 应用 DNA 技术破获现行命案 / 150

第二节 通过数据库检索破获本、外地命案积案 / 158

第三节 应用 DNA 技术打击多发性侵财案 / 167

第六章 法医物证 DNA 新技术

第一节 高通量测序技术 / 177

第二节 快速法医 DNA 序列检测技术 / 185

第三节 纳米技术的法医学应用 / 191

第四节 基因芯片检验技术 / 192

参考文献 / 197



第一章 绪论

第一节 概述

法医物证学是以法医物证为研究对象,以提供科学证据为目的,研究应用生命科学技术解决案件中与人体有关的生物检材鉴定的一门学科。法医物证学是法医学的分支学科,其研究内容属法医学中的物证检验部分,是法医学研究的主要内容之一。法医物证学是因法律的需要和自然科学的发展而产生的一门交叉学科。随着本学科的不断发展与学科间的相互渗透,法医物证分析技术日臻完善,理论知识日趋丰富,解决检案问题的能力不断提高,已成为一门独立的学科。

这门学科的命名目前国内外尚未完全统一。国外称为法医血清学(forensic serology)、法医血型血清学(forensic blood group serology)、法医血液遗传学(forensic hematogenetics)、法医遗传学(forensic genetics)、法医生物学(forensic biology),我国法医学专业目录定名为法医物证学。

一、法医物证学发展概况

法医物证学的历史源远流长。三国时期,谢承著的《会稽先贤传》有“以弟血滴兄骨验亲”的记载,南宋宋慈编著的《洗冤集录》中亦有“判血入水辨认亲子、兄弟”的记述,这些都是我国古代有关判定血缘关系的最早记载。这些检验方法虽不科学,但有启蒙意义,是现代血清学和遗传学的萌芽和先声。在欧洲,1893年奥地利的汉斯·格劳斯所著《检验官手册》中有运用科学技术办案的记述。1900年, Landsteiner 发现 ABO 血型以后,人类红细胞血型应用于检案,法医物证检验步入了科学时代。1910年,法国刑事犯罪学家艾德蒙·洛卡德提出了接触与物质交换原理,表述为“任何接触都可以留下痕迹”,这一论

点奠定了现代法庭科学的基础。1958 年发现的白细胞抗原系统和 20 世纪 60 年代应用的电泳检测血清型及酶型技术为法医物证检验与鉴定提供了更多的技术手段。20 世纪 70 年代,应用等电聚焦发现了多种血清型及酶型的亚型,进一步提高了个人识别概率。1985 年,英国科学家 Jeffreys 研究人类肌红蛋白基因结构时,在第一内含子中发现一段由 33 bp 串联重复的小卫星序列,以 33 bp 为核心序列(core sequence)串联重复的单链 DNA 作为限制性内切酶片段长度多态性(restriction fragment length morphism, RFLP)分析的探针。杂交结果表明,在 4~23 kb 范围内可检出 20~30 条多态片段,多态性信息量极大,个体的条带模式独一无二,类似经典的指纹,故称 DNA 指纹。DNA 指纹的高度个体特异性克服了传统法医遗传标记鉴别能力低的缺陷,使法医个人识别和亲子鉴定实现了从仅能排除到高概率认定的飞跃,被誉为法医物证分析的里程碑。1993 年,国际法医遗传学会推广了以短串联重复序列(short tandem repeats, STR)为核心的第二代 DNA 指纹或 DNA 纹印技术。该项技术不仅实现了法医物证检验高概率的认定,而且为法医 DNA 分型技术的标准化铺平了道路。法医物证学采用 DNA 遗传标记是因为它有足够的多态性,理论上可以通过 DNA 分型,而不必通过测定全基因组序列来进行个人识别。DNA 分型的优点还在于能从任何含有细胞的体液或组织中得到相同的结果,能够对陈旧斑痕和极微量的检材进行分型,其分析结果能够成为计算机可查询的数据库形式。快速分型还有助于尽快排除无辜的犯罪嫌疑人,不致延误案件调查。

至今,法医物证检测已由常量检测发展到微量检测,从蛋白质水平进入 DNA 水平,国内外法医物证实验室在同步发展,分析技术日臻完善,理论知识日趋丰富,解决检案问题的能力已经得到了极大的提高。

二、法医物证学的基本任务、理论与技术

法医物证学的基本任务是解决案件中与人体有关的生物检材鉴定问题。其解决问题的方法是自然科学公认的理论与技术。

(一) 基本任务

法医物证学主要解决司法实践中的个人识别(personal identification)及亲子鉴定(parentage testing)问题。许多民事或刑事案件须做法医物证鉴定,诸如下列情况:

(1) 斗殴、伤害、谋杀及碎尸案件中,通常在犯罪现场或可疑凶器上遗留有血痕或可疑血痕,须鉴定是否为人血,是否为被害人或作案人所遗留。



(2) 强奸或强奸杀人案中,通常在现场床上、地上、被害人衣裤或阴道中遗留有作案人的精液或者精液与阴道分泌液的混合斑,须鉴定可疑精液斑或混合斑中的精液是否为犯罪嫌疑人所遗留。

(3) 道路交通事故中,嫌疑车辆上的血痕、毛发与组织碎片须鉴定是否来自死者。

(4) 灾害事故、空难事件造成的尸体离断案中,须鉴定是否同属一人;纵火杀人、焚尸灭迹、火灾遇难或集体被屠杀案中须进行尸源鉴定。

(5) 可疑父母与子女之间有无血缘关系,诸如私生子、调错婴儿、拐骗儿童、财产继承、移民及强奸致孕等民事与刑事案件中,须进行亲子鉴定。

(二) 基本理论

1. 个人识别理论

鉴定法医物证用以揭示个体身份的任务,称为个人识别(personal identification)。个人识别是以同一认定理论为指导原则,通过对物证检材的遗传标记做出科学鉴定,依据个体特征来判断前后两次或多次出现的物证检材是否属同一个体的认识过程。第一次出现的个体往往是与案件事实有联系,并且在案发现场留下了该个体的生物检材,如血痕、精斑等。这第一次出现的个体对办案人员来说往往是未知个体,是要查找的对象,所以称为“被寻找个体”。个体第二次出现一般是侦查或调查活动的结果,如通过摸底排队发现了杀人案件的嫌疑人,需要认定这个嫌疑人是否是那个在现场留下血痕的人。第二次出现的个体通常是已知身份的个体,是要审查的对象,所以称为“受审查个体”。同一认定的实质是通过比较案发现场收集到的生物性检材与受审查个体的相应特征,判断前后两次或多次出现的个体是否为同一个体。显然,鉴定分析无非有两种结果:先后出现的个体可能是同一个体,也可能不是同一个体。因此,必须通过检验和比较来做出科学判断。

需要正确理解同一认定的概念。首先,同一认定是一种认识活动,这种认识活动的目的是判断案件中多次出现的法医物证检材是否同一。应该明确“同一”的内涵,“同一”与“相同”“相似”有严格的区别。法医物证学中所说的“同一”是指一个人自身与自身的同一关系,而“相同”“相似”是指两个人相同或相似的关系。其次,要认识到同一认定所使用的方法是比较的方法,是具有专门知识、经验的专业人员对案件中多次出现的物证检材分别进行检验,通过比较分析其异同,从而得出结论。

同一认定是对案件中多次出现的法医物证检材进行比较、检验,这里的

“多次出现”是概括的提法。实际上,多次出现的物证检材,其出现方式、获取途径以及称谓等有所不同。通常将在案件现场发现的可疑痕迹称为检材,即需要检验的材料,是办案人员在现场勘查时发现并提取的。鉴定人通过对检材进行检验分析,得出鉴定结论,为侦查提供线索,但此时并不能对检材进行同一认定。要进行同一认定,必须具有可供与检材比较的材料,通常将这类材料称为样本。样本是办案人员通过多种渠道获取的,如通过查询 DNA 数据库获得,通过调查、搜查等方式获得等。同一认定是鉴定人对案件中的检材与样本进行比较检验后而得出检材与样本是否来源于同一个体的过程。在某些情况下,同一认定可能是针对多起案件中的检材进行的。如果认定两起案件中出现的检材同一,那么就说明两起案件存在一定的联系,为串并案提供了有力的支持。

同一认定检验和比较的依据是人类遗传标记(genetic marker)。人类遗传标记众多,ABO 血型就是其中的一种。任何同一认定都不可能使用人体的全部遗传标记,而只是一定数量遗传标记的组合。因此,在研究同一认定问题时,必须具体考查某遗传标记组合是否具备同一认定所要求的条件,包括遗传标记的特定性、稳定性和反映性。

(1) 遗传标记的特定性。

要对某一个体进行个人识别,需要把他与人群中其他个体区分开来,理想的和理论上的考虑是所检测的多个遗传标记组合的概率极其低,以致该遗传标记组合在群体中只能出现一次。换言之,同一认定所依据的遗传标记组合必须具有个体特定性。遗传标记组合的特定性主要由以下因素决定:

① 遗传标记的数量。分析的遗传标记数量越多,遗传标记组合的特定性就越强,该遗传标记组合在群体中出现重复的概率也就越小。分析的遗传标记达到一定数量时,该遗传标记组合在群体中就不可能重复出现,理论上该遗传标记组合就具备了同一认定所要求的个体特定性。显然,遗传标记的数量与该遗传标记组合的特定性成正比,与该遗传标记组合重复出现的可能性成反比。

② 群体中个体的数量。遗传标记组合在群体中重复出现的可能性与群体中个体的数量有关。因此,同一认定要求的特定性与群体中个体的数量有密切关系。群体中个体数量越多,同一认定对个体特定性的要求就越高,要求遗传标记的数量也就越多。

(2) 遗传标记的稳定性。

同一认定所采用的遗传标记要求具有稳定性。所谓稳定性,是指个体的



遗传标记能够保持不变属性的时间长短,即遗传标记可检测时限的长短。从案件发生、检材提取到实验室检测的时间有长有短,其间,伴随着遗传标记的变质过程。时间越长,检测结果的阳性率越低。例如,从罪犯在现场留下血痕到发现嫌疑人并提取其血样作为比对样本这一段时间内,现场血痕遗传标记特征保持了基本不变,它就具备了同一认定所要求的稳定性。鉴于遗传标记自身的大分子特征,这种可检测时限具有明显的差异。遗传标记的稳定性还包含另一层意思,即生物检材中遗传标记对外界各种物理、化学和生物性因素的抵抗或耐受的能力。紫外线、高温、潮湿、腐败以及环境中各类化学物质都具有破坏遗传标记大分子的作用。如果检材中遗传标记的特征因自然因素或人为因素发生了质的变化,那它就不具备进行同一认定的条件了。由此可见,无论是在刑事案件还是在民事案件中,办案人员应该尽量保存好法医物证检材,尽量缩短送检时间。

(3) 遗传标记的反映性。

遗传标记的特定性与稳定性是进行同一认定的基础,但遗传标记分析的前提是遗传标记的特定性能够反映出来,并能被人们所认识。刑事犯罪的发生涉及物质接触和交换,罪犯或者在现场留下痕迹,或者把现场的痕迹带走,留下或带走的痕迹中常存有大量的法医物证。涉及人体的物证检材多种多样,各具特征,并非总是可以检验鉴定的。有些检材容易检验,如血痕;有些则不容易检验,如毛发。这就涉及遗传标记的反映性问题。理想的案件调查要求最大限度地从检材中获取同一认定的信息,足以反映出个体的特征。

个体遗传标记的反映性与人类的认识能力有着密切的关系。一般来说,个体遗传标记的反映性是客观存在的,但是这种反映性能否在同一认定中加以利用则取决于我们的认识能力和技术水平。随着科学技术的发展,对遗传标记的认识能力不断提高,法医物证鉴定的遗传标记从血型发展到 DNA 遗传标记。在这一发展过程中,个体遗传标记本身并没有发生变化,而是随着人类认识能力与科学技术水平的提高,原来无法识别的遗传标记转化成为可以识别的遗传标记。

2. 亲子鉴定理论

在法医物证学中,分析个体的遗传标记,并根据遗传规律对被控父母与子女血缘关系的鉴定,称为亲子鉴定(parentage testing)。与个人识别不同,亲子鉴定研究的是两个以上个体之间是否有血缘关系的问题。遗传规律与统计学原理是亲子鉴定的理论基础。亲子鉴定必须通过检测个体遗传标记、分析遗传关系才能实现。用于鉴定亲子关系的遗传标记应该是一种简单的遗传性

状,遗传方式已被确定具有遗传多态性。

(三) 基本技术

法医物证学利用遗传标记进行个人识别和亲权鉴定。分析人类多态性遗传标记是法医物证学技术的核心,而检材的处理策略和实验结果的科学解释是法医物证学技术的两个关键环节,其具体方法涉及多个学科。由于法医物证学应用了许多相关学科的新方法与新技术,近年来发展迅速。

1. 化学方法

在鉴别斑痕的类别时,多采用传统的化学方法,如血痕检验的联苯胺、血色原结晶及氯化血红素结晶试验,精斑检验的碘化钾结晶试验,唾液斑检验的碘-淀粉试验等。这些方法尽管不特异,但操作简单有效,有的非常灵敏,故一直沿用至今。

2. 物理学方法

相对其他方法而言,以往采用物理学方法解决法医物证检验问题较少,常用的有作为预试验在紫外光下检测精斑、用分光光度法测血红蛋白及其衍生物确证血痕等。近年来,应用物理学技术解决法医物证检验问题逐渐增多。例如,用磁共振法测定血痕的陈旧度,有些酶型测定及 DNA 分析须在紫外光下阅读酶谱及 DNA 扩增产物片段。近年来,荧光染料标记引物复合扩增 STR 基因座,应用激光诱导获得分型信息等技术已经成为物证检测的常规手段。

3. 电子计算机技术

用电子计算机进行图像分析、处理数据及建立数据库等。

4. 形态学方法

形态学方法是法医物证学的基本方法之一,有的形态学检验结果可作为证据保存。主要的形态学检验方法是显微技术及扫描电镜技术。例如,用显微镜技术区别人类与鸟类红细胞,即区别人血与鸟血;根据血痕中发现的不同形态细胞推断出血部位,确定该血痕为鼻血或月经血;根据毛发的形态结构区别人毛与兽毛,以及兽毛的种属;根据哈佛管的形态及数量区别人骨与兽骨等。

5. 免疫血清学方法

物证检验广泛采用了免疫学技术,包括传统经典的沉淀反应和凝集反应等,并将其用于血痕种属鉴定、精斑确证试验、血痕血型测定的解离试验等。法医血清学曾经是法医物证检验的核心。高灵敏度的免疫学方法(如:酶联免疫吸附试验、免疫固定蛋白分析技术、免疫层析技术等)至今仍是学科研究和



物证鉴定的重要手段。

6. 生物化学方法

通常运用各种电泳技术测定人类血清型与红细胞酶型及进行 DNA 分析。常用的电泳支持介质有淀粉凝胶、琼脂糖凝胶、混合凝胶及聚丙烯酰胺凝胶等,常用的电泳方法包括圆盘电泳、垂直板电泳、水平电泳、等电聚焦、梯度凝胶电泳、变性凝胶电泳及 DNA 序列分析等。

7. 分子生物学方法

DNA 指纹技术、聚合酶链式反应(PCR)及 DNA 序列测定法等分子生物学方法均已应用于法医物证学。DNA 探针所得高度个体特异的限制片段长度多态性图谱,已经使法医物证鉴定实现了从只能否定到高概率肯定的飞跃。用 PCR 法可检测可变数目串联重复序列(variable number of tandem repeats, VN-TR)、STR、mtDNA 及序列多态性。对于法医物证学,STR 多态性比限制片段长度多态性(RFLP)更具优势,是目前个人识别与亲子鉴定的主流技术。mtDNA 多态性测定可以解决缺少核 DNA 的毛发与指甲等角化组织的个人识别与母系单亲的亲子鉴定问题。

8. 遗传学方法

亲子鉴定技术应用遗传学原理对假设父母与子女的血缘关系进行分析。人类的遗传标记包括各种血型、红细胞酶型及 DNA 多态性,它们均按孟德尔遗传规律进行遗传。不同遗传标记的表型不同,遗传规律亦不完全相同,因此亲子鉴定技术人员必须具备基本的遗传学知识。凡计算各种遗传标记否定父权的概率、父权指数等量化指标均需要用到遗传标记的基因频率。后者从群体遗传学调查结果获得,其理论基础是群体遗传学。

第二节 扩增片段长度多态性

DNA 长度多态性(DNA length polymorphisms)是指同一基因座上各等位基因之间的 DNA 片段长度差异构成的多态性。DNA 长度多态性靶序列主要是指可变数目串联重复序列(variable number of tandem repeats, VNTR)。VNTR 既存在于小卫星 DNA 中,也存在于微卫星 DNA 中。由于命名习惯和为了便于区分,通常将小卫星 DNA 中的可变数目串联重复序列称为 VNTR,而把微卫星的可变数目串联重复序列称为短串联重复序列(short tandem repeats,

STR)。

采用 PCR 技术扩增 VNTR 或 STR 基因座等位基因进行 DNA 长度多态性分析的方法被称为扩增片段长度多态性分析 (amplified fragment length polymorphisms, Amp-FLP)。较早期主要应用 Amp-FLP 分析技术进行小卫星 VNTR 基因座的多态性分型;自 20 世纪 90 年代中期后,主要利用 PCR 技术分析微卫星 STR 座位的多态性,即 PCR-STR 分型技术。Amp-FLP 技术充分发挥了 PCR 技术的高灵敏度和 STR 基因座高多态性的优势,使法医 DNA 分析实现了高效、灵敏、实用的目标。

一、聚合酶链反应

聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 是一种体外扩增特异性 DNA 片段的技术,可在数小时内获得近百万个靶 DNA 片段的拷贝,改变了传统的重组克隆复制靶 DNA 片段的技术概念。PCR 技术操作简单,具有高灵敏度和高特异性,从而使法医 DNA 分析技术发生了深刻的变化。PCR 及其衍生出的各项技术已在法医学鉴定中得到了广泛的应用。

(一) PCR 基本原理

PCR 扩增靶 DNA 的过程类似于体内 DNA 的半保留复制。它是利用人工合成的一对寡核苷酸引物 (primer),分别与待扩增 DNA 片段的两侧翼序列互补,在 DNA 聚合酶催化下,以靶 DNA 序列为模板,4 种 dNTP (dATP、dTTP、dCTP 和 dGTP) 为原料,经过高温变性、低温退火和中温延伸三步的循环,使靶 DNA 片段经过约 30 个循环周期后达到百万倍的扩增 (图 1-1)。

变性 (denaturation):指通过加热 (通常加热至 90℃ 以上) 使模板 DNA 双链间的氢键断裂,双链解离形成两条单链 DNA 的过程。

退火 (annealing):又称复性 (renaturation),是指将反应体系降温 (通常降至 60℃ 以下),引物与单链模板 DNA 按碱基互补配对原则重新形成模板-引物杂化双链的过程。

延伸 (extension):指 DNA 聚合酶在适当温度 (如:72℃) 条件下催化 4 种 dNTP 原料,按碱基互补配对原则从引物的 3' 末端开始掺入,沿模板由 5' 至 3' 方向延伸,合成一条新的 DNA 链的过程。

每经过一次高温变性、低温退火和中温延伸的循环周期,靶 DNA 片段便被复制一次。在以后的循环中,新合成的 DNA 链又成为下一循环的模板。以一个双链 DNA 模板分子为例,在第 n 次循环时,获得的靶 DNA 短片段数量为