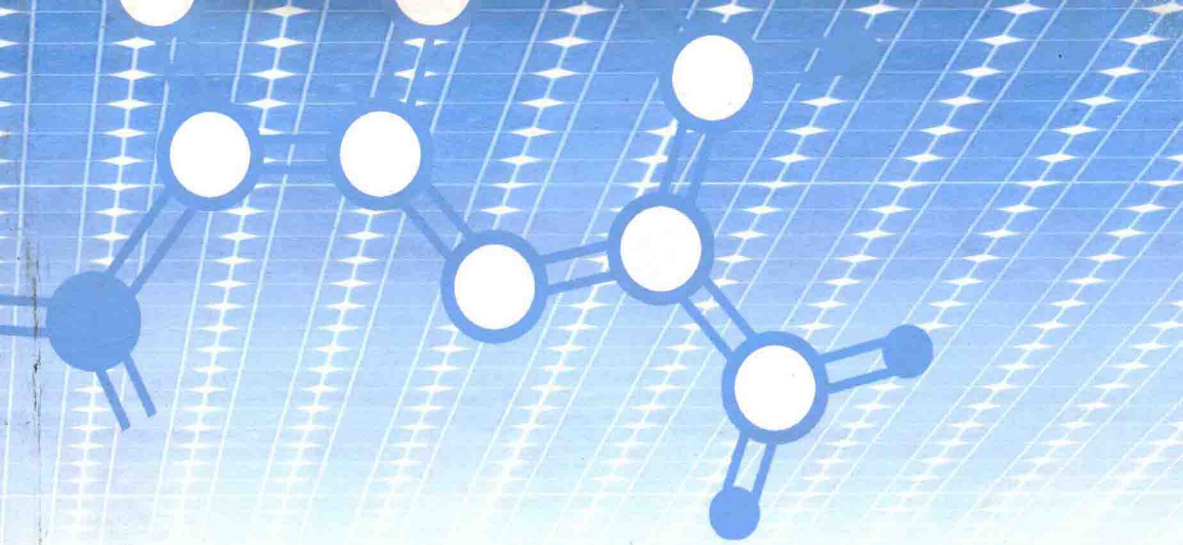




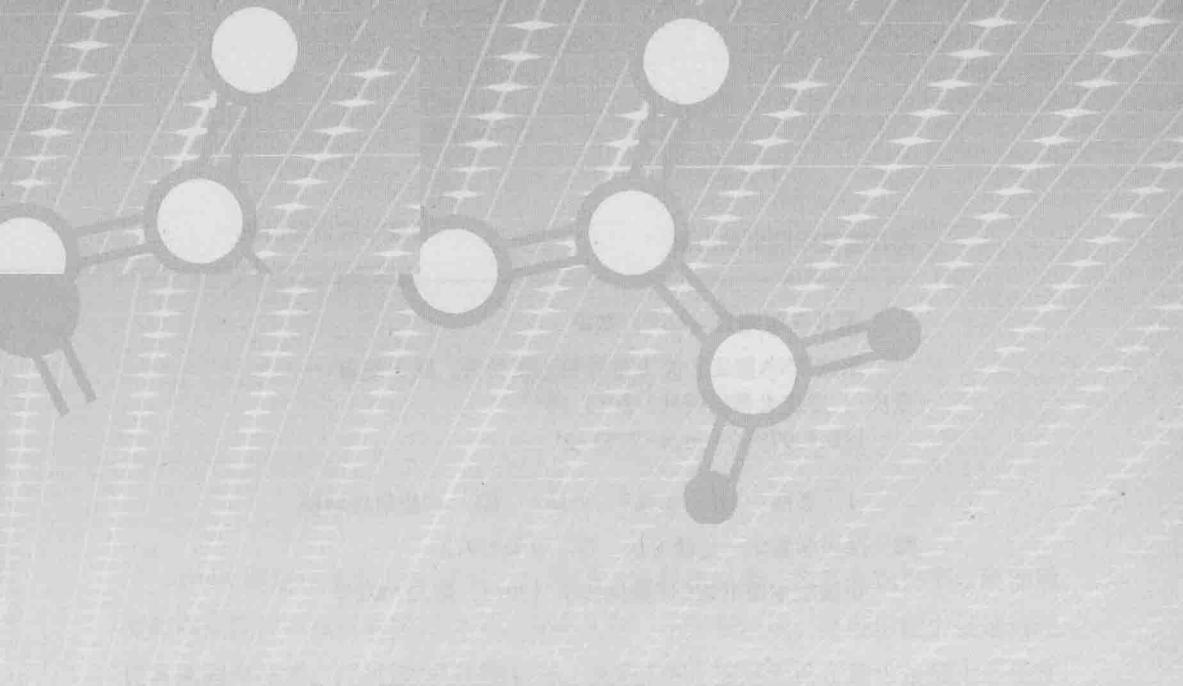
法庭DNA鉴定

—— 微卫星检验 ——

张幼芳 陈云地 著



重庆大学出版社
<http://www.cqup.com.cn>



法庭DNA鉴定

——微卫星检验——

张幼芳 陈云地 著

重庆大学出版社

浙江警察学院资助出版

图书在版编目(CIP)数据

法庭DNA鉴定:微卫星检验/张幼芳,陈云地著. —
重庆:重庆大学出版社,2013.10
ISBN 978-7-5624-7753-2

I. ①法… II. ①张… ②陈… III. ①脱氧核糖核
酸—法医学鉴定—检验方法 IV. ①D919.2

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第227002号

法庭DNA鉴定:微卫星检验

FATING DNA JIANDING: WEIWEIXING JIANYAN

张幼芳 陈云地 著

策 划:  重庆日报报业集团图书出版有限责任公司

责任编辑:张 蓓 版式设计:田莉娜

责任校对:谢 芳 责任印制:张 策

*

重庆大学出版社出版发行

出版人:邓晓益

社址:重庆市沙坪坝区大学城西路21号

邮编:401331

电话:(023) 88617190 88617185 (中小学)

传真:(023) 88617186 88617166

网址:<http://www.cqup.com.cn>

邮箱:fxk@cqup.com.cn (营销中心)

全国新华书店经销

重庆市蜀之星包装彩印有限责任公司印刷

*

开本:787×1092 1/16 印张:18 字数:320千

2013年10月第1版 2013年10月第1次印刷

ISBN 978-7-5624-7753-2 定价:42.00元

本书如有印刷、装订等质量问题,本社负责调换

版权所有,请勿擅自翻印和用本书
制作各类出版物及配套用书,违者必究

前 言

DNA 鉴定技术自 1985 年首次应用于法庭科学以来,因其高识别率、高准确度和高重现性而赢得各国司法界的普遍认同。不夸张地说,其鉴定能力要远远超过其他同类技术。经过近 30 年的发展,法庭 DNA 鉴定无论在理论上还是在技术方法上,都已经建立起了完善的科学体系,基本解决了生物物证个体识别这一重要任务。当今时代,不论是在国际上还是在中国,法庭 DNA 鉴定技术都被广泛应用于司法实践中,成为获取证据的常规手段。由 DNA 鉴定得来的证据由于建立在牢固的理论基础之上,客观严谨,常常成为关键环节,有“铁证如山、无可辩驳”之效,有时候还能起到一锤定音的作用。因此,法庭 DNA 鉴定技术值得我们加以研究和重视。

与法庭 DNA 鉴定相关的著作屡有出版,内容涉及法庭 DNA 鉴定的方方面面,而且各有侧重,为广大读者提供了丰富的学习资料。不过,针对当前司法鉴定实践中应用的主流技术——微卫星 (STR) 检验尚缺乏比较系统的实践性参考书。本书的作者不揣谫陋,试图在这方面作出自己的努力,爬罗剔抉,为法庭 DNA 鉴定事业贡献绵薄之力。

本书前两章介绍了法庭 DNA 鉴定的发展历史、技术方法和相关的分子生物学、遗传学基础知识,并对法庭 DNA 鉴定的未来进行了展望。从第三章开始系统地介绍 STR 检验实用技术,包括实验室建设、样本采集、DNA 提取、DNA 质检、PCR 扩增及电泳样本制备、毛细管电泳检测、毛细管电泳仪的校正和维护、STR 鉴定的数据分析以及 STR 鉴定的常见故障排除等,在章节内容的安排上按照 STR 检验的工作流程逐步展开,力求对 STR 检验的各个环节进行全方位的归纳和论述,间有评论。本书既有简括的基础理论,又有系统、详尽的实验操作,希望在以下两方面能对读者有所助益:一是在短时间内获得对于法庭 DNA 检验理论基础的纲要性认识,而不必去读大部头的著作;二是在实验操作过程中能够随心所欲地

找到想要的、详尽准确的操作指南，而不必去啃英文原著。另外，若是本书在读者进行DNA鉴定实验遇到困难、百思不得其解的时候，能够提供有关线索和思路，帮助他们缩短解决疑难问题所需要的时间、节省解决问题所化费的精力和经费，从而使其觉得这本书多少也有一点用处的话，则足堪告慰作者，不枉多少个日夜的辛劳。

法庭DNA鉴定技术的发展日新月异，不断有新思路、新应用、新产品、新软件问世，靠图书编撰和出版的速度，实难跟上技术革新的前进脚步。加之作者水平有限，书中难免有错讹不当之处，敬请读者批评指正。

作者

2013年7月1日

目 录

第一章 绪论.....	001
第一节 法庭 DNA 鉴定的一般知识	002
第二节 法庭 DNA 鉴定的技术方法	004
第三节 法庭 DNA 鉴定的未来	013
第二章 法庭 DNA 鉴定的分子生物学与遗传学基础	015
第一节 基本概念.....	016
第二节 遗传标记.....	020
第三节 多态性检测.....	022
第四节 遗传规律.....	024
第三章 法庭 DNA 鉴定实验室建设	026
第一节 实验室规划.....	026
第二节 实验室装备.....	029
第三节 操作规范.....	034
第四节 DNA 污染的预防	038
第五节 实验室安全和个人防护.....	039

第四章 法庭 DNA 鉴定的样本采集 043

第一节 常见样本类型..... 043

第二节 样本的采集..... 044

第三节 样本的递交..... 047

第五章 法庭 DNA 鉴定的 DNA 提取 048

第一节 法庭 DNA 提取试剂盒 048

第二节 Chelex 法..... 049

第三节 磁珠法——PrepFiler 标准流程 051

第四节 磁珠法——PrepFiler 补充流程 058

第五节 困难样本的 DNA 提取 067

第六节 再纯化流程..... 073

第六章 DNA 质检 075

第一节 DNA 质量鉴定 075

第二节 DNA 浓度测定 078

第三节 定量 PCR 080

第七章 PCR 扩增及电泳样本制备 088

第一节 STR 位点系统及试剂盒..... 089

第二节 PCR 仪 093

第三节	微卫星鉴定试剂盒的操作	98
第四节	毛细管电泳样品的制备	122

第八章 毛细管电泳 130

第一节	毛细管电泳仪	131
第二节	3500 系列基因分析仪的操作	137
第三节	3100 系列基因分析仪的操作	151
第四节	Sinofiler PCR 扩增产物的电泳	161

第九章 毛细管电泳仪的校准与维护 164

第一节	空间校准	164
第二节	光谱校准	167
第三节	仪器性能检查	176
第四节	日常维护	178

第十章 微卫星检验的数据分析 184

第一节	GeneMapper ID 软件概况	186
第二节	GeneMapper ID 软件工作流程	187
第三节	GeneMapper ID 软件的操作	190
第四节	GeneScan 软件的操作	195

第十一章 微卫星检验常见故障排除..... 200

第一节 重要的软件页面.....	201
第二节 消耗品.....	206
第三节 DNA 质量	208
第四节 PCR 扩增	215
第五节 电泳.....	220
第六节 污染.....	224
第七节 软件设置.....	226
第八节 常用技巧.....	235

附 录

附录一 法庭 DNA 鉴定试剂盒 Identifiler 操作提纲	236
附录二 法庭 DNA 鉴定试剂盒 Yfiler 操作提纲	244
附录三 法庭 DNA 鉴定试剂盒 Profiler Plus 和 COfiler 操作提纲	251
附录四 法庭 DNA 鉴定数据分析软件 GeneMapper ID 操作提纲	256
附录五 法庭 DNA 鉴定常见问题解答	263
附录六 常见 AmpFISTR 试剂盒.....	269
附录七 IUPAC/IUB 碱基符号表	270

参考文献..... 272

第一章 绪 论

本章提要

1. 法庭 DNA 鉴定的一般知识

法庭 DNA 鉴定的概念

法庭 DNA 鉴定的历史

法庭 DNA 鉴定的应用

2. 法庭 DNA 鉴定的技术方法

DNA 指纹技术

小卫星分析

微卫星分析

Y 染色体检验

线粒体 DNA 检验

SNP 检验

3. 法庭 DNA 鉴定的未来

1985 年,英国莱斯特大学的遗传学家 Jeffreys 博士首次将 DNA 指纹技术应用于一宗移民案件,自此,一项全新的法庭科学技术——DNA 鉴定技术诞生了。DNA 鉴定技术因其高识别率、高准确度和高重现性而得到各国司法界的普遍认同。不夸张地说,其鉴定能力要远远超过其他同类技术。经过近 30 年的发展,法庭 DNA 鉴定无论在理论上还是在技术方法上,都已经建立起了完善的体系,基本解决了生物物证个体识别这一重要任务。当今时代,不论是在国外还是在国内,法庭 DNA 鉴定技术都被广泛应用于司法实践中,成为获取证据的常规手段。

第一节 法庭 DNA 鉴定的一般知识

一、法庭 DNA 鉴定的概念

法庭 DNA 鉴定是指应用 DNA 分析技术检测生物性检材的 DNA 遗传标记,运用群体遗传学、生物统计学等理论,分析确定检测样品的来源个体和遗传关系,为司法实践提供证据的一门科学。其主要任务为个体识别和亲缘关系鉴定。

DNA 即脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid),是一切生物的遗传物质,担负着生命信息的储存与传递。DNA 的基本组成单位为核苷酸,每个核苷酸由脱氧核糖、磷酸和碱基组成,组成 DNA 的碱基主要为 A (腺嘌呤)、T (胸腺嘧啶)、G (鸟嘌呤)、C (胞嘧啶) 4 种,这 4 种碱基以不同方式组合决定了所有生物体的生物学特性。人类基因组 DNA 含有约 30 亿个核苷酸,不同个体的 DNA 大约 99.9% 是相同的,只有约 0.1% 的 DNA 有差异,正是这些差异使我们成为独一无二的个体。法庭 DNA 鉴定即是用特殊技术检测 DNA 水平上的这些差异。

DNA 鉴定技术之所以可以用于生物性检材的个体识别和亲缘关系鉴定,主要是基于以下几个方面:

一是 DNA 的遗传性。每一个个体的 DNA 一半来自母亲,一半来自父亲,符合孟德尔遗传定律。所谓种瓜得瓜,种豆得豆,子代不可能拥有亲代不具备的 DNA,因此可以通过检测 DNA 来进行亲子鉴定。

二是 DNA 的特异性。除了同卵双生子,每一个个体间的 DNA 均不相同,因此可以通过检测 DNA 进行个体识别。

三是 DNA 的恒定性。每一个个体的 DNA 自受精卵形成开始,其 DNA 序列即已确定,且终生不变。个体一生中任何时候检测的 DNA,均能比对。

四是 DNA 的同一性。同一个个体不同部位虽然生长发育成不同的器官、组织,但其 DNA 序列都是相同的,只要检测某一个体的任何组织或体液,就能得到该个体的 DNA 信息,用于比对和鉴定。

对于 DNA 的上述通性,肿瘤组织是一个例外。肿瘤组织的特殊性在于肿瘤细胞里存在高频率的体细胞突变,其核苷酸序列有可能与其他部位不同。慎重起见,法庭 DNA 鉴定应该避免选取任何肿瘤组织样本作为检材。



二、法庭 DNA 鉴定的历史

1985 年,英国遗传学家莱斯特大学的 Alec Jeffreys 博士建立了 DNA 指纹技术,并将其首次成功应用于—宗移民案件,标志着法庭 DNA 鉴定技术的诞生。

1986 年, DNA 指纹技术首次应用于刑事案件中,成功比对嫌疑人,在英国侦破了两起串并的强奸杀人案件。

1990 年, PCR 技术应用于 DNA 鉴定,第一个用 PCR 分型的遗传标记为 HLA DQ。

1991 年, 荧光标记复合扩增 STR 开始报道, Chelex-100 用于提取 DNA。

1992 年, 首次报道用毛细管电泳技术分析 STR。

1993 年, 第一个 STR 试剂盒通过, 可以同步检测性别基因座进行性别鉴定; 植物 DNA 证据首次应用于刑事案件, 利用嫌疑人车上遗留的假紫荆豆荚将嫌疑人与案件现场联系起来, 侦破了美国亚利桑那州的一宗谋杀案。

1994 年, 动物 DNA 证据首次应用于刑事案件, 利用遗留在现场的一件皮夹克上粘附的猫毛破获了发生在加拿大爱德华王子岛的一宗谋杀案。

1995 年, 号称世纪大审判的美国辛普森案件使法庭 DNA 鉴定家喻户晓, 同时也使广大司法人员认识到 DNA 证据收集、保存、送检合法、规范的重要性。

1996 年, 第一个荧光标记复合 STR 试剂盒面世; 开始报道线粒体 DNA 检测。

1997 年, 美国定义 13 个 STR 基因座为 CODIS 位点; Y 染色体 STR 开始大量报道。

1998 年, 美国已故前总统托马斯·杰斐逊和在任的总统比尔·克林顿成为 DNA 检测的对象; 2000 个 SNP 位点的杂交芯片发布。

2000 年, 人类基因组序列草图公布。

2001 年, 5 色荧光 Identifiler STR 试剂盒推出; 首个 Y-STR 试剂盒面世。

进入 21 世纪, 各国 DNA 数据库建设快速发展, DNA 数据库成为侦破案件的重要途径, 同时, 由于低拷贝 DNA 检测技术的发展, 提高了现场微量生物检材的利用效率, 使 DNA 证据在各类案件侦破中发挥的作用越来越明显。另外, DNA 鉴定在一些著名的灾难性事件中也取得了引人瞩目的成绩, 如 2001 年“9·11”事件中的遗骸个体识别, 2004 年泰国海啸遇难者的个体识别等。

三、法庭 DNA 鉴定的应用

理论上所有含有细胞的生物检材都可以进行 DNA 检测。在案件中,大多数情况下为来自于人体的各类生物物质,如血液(痕)、精液(斑)、唾液(斑)、毛发、骨骼、指甲、组织碎片、鼻涕、尿斑、粪便、体表脱落上皮细胞等;在某些案件中,可能涉及非人类 DNA 证据,如植物、动物、昆虫以及微生物等生物性检材。

DNA 鉴定的应用范围很广,如杀人、强奸、伤害、抢劫、盗窃等刑事案件,为案件的审判提供证据;对碎尸和未知名尸体可以确定尸源;在打击拐卖儿童、确定案犯人数、推断作案过程、排摸案犯、推定案犯、串并案件等方面都有独到的作用。在处理民事纠纷中,DNA 鉴定也有重要的证据作用,如男方怀疑孩子非亲生、移民、财产继承、上户口、怀疑产房或育婴室调错婴儿、计划生育确认孩子是否为该对夫妇所超生或领养、失散家庭成员的确认等。在医学上有时也要应用到 DNA 鉴定,如骨髓移植是否成功,鉴别双胞胎是同卵还是异卵双生。在群体性灾难事件中,如对火灾、空难、恐怖袭击、海啸、地震等遇难者,以及在对不完整的尸体残骸进行个体识别时,DNA 鉴定都是一种最有效的方法。

非人类 DNA 鉴定目前虽未常规进行,但该类证据已成功应用于许多案件,如猫、狗等动物脱落的毛发可以证明嫌疑人是否到过现场;虐待、盗窃动物案可以用 DNA 鉴定来侦破;当动物攻击人时可以用 DNA 鉴定来确定“动物凶手”。植物 DNA 证据可以将嫌疑人与犯罪现场联系起来,有时可以帮助判断有无死后移尸;DNA 鉴定还可以用于确定大麻的产地。近年来,微生物 DNA 鉴定已应用于案件调查,如恶意传播 HIV 病毒、炭疽杆菌邮件恐怖事件等。相信随着非人类 DNA 的应用开发,它们必将成为 DNA 鉴定的常规检验对象。

第二节 法庭 DNA 鉴定的技术方法

法庭 DNA 鉴定的技术手段丰富多样,其中最重要的概念是微卫星技术,简称 STR。有关 STR 检验各个环节的全方位论述将从本书第三章开始,本节对 DNA 鉴定史上几种常用的 DNA 鉴定技术进行概要介绍。



一、DNA 指纹技术

DNA 指纹技术是最早应用于法庭科学的 DNA 检测技术，由英国遗传学家 Jeffreys 在 1985 年建立。在实验中用限制性内切酶切割基因组 DNA，由于 DNA 多态性改变了某一限制性内切酶的切割位点，导致用该限制酶切割基因组 DNA 时，有些人的 DNA 可以被切开，有些人的却不能，在人群中不同个体所得的 DNA 片段长度和数目不同，因而被称为限制性片段长度多态性（restriction fragment length polymorphism, RFLP）技术。这一技术最初应用于一起英国的移民案件，随后认定了一起串并强奸杀人案件的嫌疑人，由此，DNA 鉴定技术得到了广泛的推广。

DNA 指纹技术的操作程序分为以下几个步骤：

①提取基因组 DNA。用于 DNA 指纹技术的 DNA 要求量大质好，至少需要 1 μg DNA，一般用酚 - 氯仿有机法提取 DNA。

②DNA 定量。为使 DNA 指纹检测成功，首先要保证有足够量的 DNA，在检测之前需测定 DNA 的浓度。

③限制性内切酶酶切。根据所选用探针选择合适的限制性内切酶，将限制性内切酶与 DNA、反应缓冲液等混匀，置于一定的温度下进行酶切消化。

④电泳分离酶切 DNA 片段。基因组 DNA 经过限制性内切酶酶切后，产生许多条长短不一的 DNA 片段，这些片段通过琼脂糖凝胶电泳分离开来，DNA 片段按片段长短排列在凝胶中，根据片段的迁移距离确定片段的大小。

⑤印迹转移。琼脂糖凝胶脆性大，易破碎，为进一步操作，需将琼脂糖凝胶中的 DNA 片段转移到其他韧性好的固相载体上。一般采用真空转移法将凝胶中的 DNA 片段转移到尼龙膜上。

⑥探针标记。DNA 探针是一段已知序列的 DNA，为显示所要检测的 DNA 片段，探针在杂交前需要进行同位素或非同位素标记。

⑦分子杂交。分子杂交过程实际是 DNA 的复性过程，只要待测 DNA 片段与 DNA 探针存在互补序列，就可以在一定条件下相互结合形成双链 DNA（DNA 杂交体）。杂交后需要洗去尼龙膜上非特异结合的 DNA 探针，以降低背景信号，获得清晰 DNA 图谱。

⑧DNA 图谱显现。同位素标记的 DNA 探针杂交后，利用同位素的放射线

在 X 光片上成影显现杂交信号；非同位素标记的 DNA 探针杂交后，常用化学发光技术，使 X 光片感光成影，显示 DNA 谱带。

DNA 指纹图一次检测可获得大量遗传信息，具有高度的个体特异性，因此，这一技术自建立起便迅速应用到法庭个体识别与亲子鉴定。但该技术的应用中存在如下局限性：

①灵敏度低。DNA 指纹图技术需要 $1\text{ }\mu\text{g}$ 以上的 DNA，检材需要量大，一般案件的检材难以满足需要。

②对 DNA 质量要求高。指纹技术要求检材新鲜，无 DNA 降解，腐败变质检材不能进行指纹图检测。

③操作复杂，有多个实验环节，耗时长，一般需一周时间。

④结果判定存在问题。指纹图谱带数多，呈连续分布，测出的等位基因没有明确的基因定位，不是同一块凝胶的分析结果不能比对。

⑤检测不出两个以上个体的样本。

鉴于 DNA 指纹技术以上的局限性，随着新技术的出现，目前，DNA 指纹技术在法庭科学中的应用已经被逐渐淘汰。

二、小卫星分析

在真核细胞基因组 DNA 中存在着重复 DNA 序列，这些 DNA 重复序列长短不一，核苷酸片段重复数目存在个体差异。核心重复单位的长度长的可达数百到数千个碱基。中等长度的核心重复单位长度大约在 $6\sim 70\text{ bp}$ ，称为可变数目串联重复序列 (various number tandem repeat, VNTR, 又称小卫星 DNA)。

用 PCR 技术扩增 VNTR 重复序列，用凝胶电泳分离长度不同的扩增产物，根据片段长度差异确定基因型，这种用 PCR 技术检测 VNTR 基因座多态性叫扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphism, AMP-FLP)，这一技术实现了 DNA 分析快速、高效、微量的目标，是 20 世纪 90 年代法庭 DNA 鉴定的重大突破，被称为第二代 DNA 分型技术。

AMP-FLP 技术的操作简便易行，主要为以下步骤：

①制备模板 DNA。一般用酚-氯仿有机法提取检材 DNA，然后测定 DNA 浓度。

② PCR 扩增。在反应管中将 PCR 反应体系的各组分混匀，包括模板 DNA、dNTPs、引物、TaqDNA 聚合酶与缓冲液、灭菌超纯水等。然后设定热循环参数，



将反应管置于热循环仪上扩增。

③ PCR 扩增产物的电泳分离、检测。不同长度的 PCR 扩增片段通过电泳分离开来；然后与已知重复单位数的等位基因分型标准（allele ladder）比较确定等位基因，常用琼脂糖凝胶电泳。

与 DNA 指纹技术相比，VNTR 技术用于法庭 DNA 鉴定具有以下几个优势：

①灵敏度高。PCR 技术可以在体外呈几何级数扩增 DNA，因此微量的 DNA 通过 PCR 即可满足检测需要。

②可以检测陈旧、降解的检材。小卫星 DNA 一般小于 1kb，只要模板 DNA 包含引物结合序列和目的 VNTR 就可以得到扩增产物。

③操作简便易行，实验周期短。

④结果判定准确。等位基因分布呈不连续性，片段间按重复单位数成等差数列，电泳分离后通过与等位基因分型标准比对确定等位基因，分型明确。

⑤可以检测出两个以上个体的样本。对于单一个体，某一 VNTR 基因座的 PCR 扩增产物只有一条或两条谱带，如果出现三条以上谱带，应该为两个或两个以上个体的混合 DNA。

法庭 DNA 鉴定中常用的 VNTR 有 D1S80、D17S30、ApoB、D1S118 等。其中 D1S80 是应用较早的一个 VNTR 基因座，核心重复单位为 16 bp，序列为 GNNGACCACCGGNAAG，重复次数范围在 14 ~ 45 次，在中国汉族中已发现 29 个等位基因，杂合度大于 0.84，DP 值为 0.96，具有高度的多态性。

虽然 VNTR 在法庭科学中的应用大大优于 DNA 指纹技术，但是在应用中也存在一些问题，主要为：

①污染问题。污染问题是 PCR 技术的共性，因 PCR 呈几何级数扩增 DNA，即使极微量的 DNA 污染都会严重干扰 PCR 分析。

②容易发生判型错误。由于 VNTR 的重复单位相对较大，等位基因片段间长度相差较大，容易产生较小等位基因优先扩增的现象，两个等位基因扩增产量差异明显，易将杂合子误判为纯合子。

③不适用降解严重检材。如果 DNA 降解严重，较大的等位基因可能不被扩增，杂合子被误判为纯合子。

三、微卫星分析

在重复 DNA 序列中,核心重复单位为 2 ~ 6 个碱基的称为短串联重复序列(short tandem repeat, STR, 又称微卫星 DNA)。与 VNTR 相同,检测 STR 基因座的多态性也是应用扩增片段长度多态性。STR 的等位基因片段比较小,一般在 400 bp 以下,同时,由于 STR 基因座杂合子个体的两个等位基因大小比较接近,因此适合 PCR 扩增,而且没有优先扩增的问题。STR 遍布于基因组 DNA,占全部人类基因组的大约 3%,平均每 10 kb 有一个 STR,大多存在于非编码区,其核心序列的重复次数在个体间有很大差异,使 STR 能有效地进行个体识别。目前,STR 是法庭 DNA 鉴定中最常用的遗传标记。

与 VNTR 相比较,STR 更适合用于法庭 DNA 鉴定:

①灵敏度高。STR 检测的灵敏度比 VNTR 高 10 倍,所需的检材 DNA 量少,可检测微量、超微量的检材,能够满足案件检材检验的需要。

②可以检测陈旧、腐败、降解的检材。STR 的等位基因片段比较短,一般小于 400 bp,易于 PCR 扩增。只要模板 DNA 包含引物结合序列和目的 STR 就可以得到扩增产物,比较严重的 DNA 降解,仍可能包含目的 STR 片段。

③ STR 基因座的等位基因片段长度差异较小,较小的等位基因优先扩增的现象不明显,基因型误判的可能性小。

④ STR 基因座等位基因片段较小,各个基因座扩增条件相似,因此,可以复合扩增,将多个 STR 基因座扩增放在同一反应体系中进行,大大提高了检测效率,一次检测,得到多个 STR 基因座的检测结果。

STR 检验的方法与 VNTR 相似,分以下步骤:

① DNA 提取。STR 检测对模板 DNA 的质量要求不高,用于 STR 检测的模板 DNA 一般可用 Chelex-100 提取。

② PCR 扩增。STR 基因座扩增与 VNTR 基因座基本相同,因扩增片段小,STR 扩增模板 DNA 用量少,退火和延伸时间比 VNTR 短。STR 扩增常用多基因座复合扩增。

③ PCR 扩增产物的电泳分离、检测。电泳分离后,通过与已知重复单位数的等位基因分型标准比对确定等位基因。

目前,法庭 DNA 鉴定常用荧光标记 STR 基因座复合扩增商业试剂盒,用毛