

FAYI
DNA
FENXI

法医DNA分析

郑秀芬 编著



中国人民公安大学出版社

法医 DNA 分析

郑秀芬 编著

中国人民公安大学出版社

·北 京·

图书在版编目(CIP)数据

法医 DNA 分析/郑秀芬编著. —北京:中国人民公安大学出版社, 2002. 4

ISBN 7-81059-965-8

I. 法… II. 郑… III. 脱氧核糖核酸-法医学鉴定 IV. D919.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 016108 号

法医 DNA 分析

FAYI DNA FENXI

郑秀芬 编著

出版发行:中国人民公安大学出版社

地 址:北京市西城区木樨地南里

邮政编码:100038

经 销:新华书店

印 刷:北京市振兴印刷厂印刷

版 次:2002 年 5 月第 1 版

印 次:2002 年 5 月第 1 次

印 张:31.5

开 本:787mm × 1092mm 1/16

字 数:744 千字

印 数:0001 ~ 1000 册

ISBN 7-81059-965-8/D·818

定 价:63 元

本社图书出现印装质量问题,由发行部负责调换

联系电话:(010)83905728

版权所有 翻印必究

E-mail: cpep@public.bta.net.cn

前 言

法医 DNA 分析，通称 DNA 鉴定。因为它的极高的识别率和灵敏度，自建立以来的短短 17 年间得到了飞速的发展和广泛的应用，今天它已经成为各国刑事侦查和司法审判获取证据的重要的不可缺少的科学技术手段。

本人十多年一直从事法医 DNA 分析应用的研究、办案和新技术培训，一方面深感法医 DNA 分析技术发展非常之快，可谓“日新月异”；另一方面也深感法医 DNA 分析涉及遗传学、分子遗传学、群体遗传学、生物化学、分子生物学、生物统计学和计算机学等众多学科，是多科的交叉、综合，而目前既全面系统又以新技术为主，既有简单必要的基础理论又有详尽的实验操作的法医 DNA 分析的书却比较少。有鉴于此，结合自己多年的研究成果、实际检案和培训经验，参考国内外有关文献著作，编写了本书，希望为我国法医 DNA 分析发展作出一些绵薄之力。

本人在此书中力求对于法医 DNA 分析技术从理论基础、技术操作到结果应用有一个全面的总体的介绍，充分和概括地反映这一领域的研究应用成果，对于当前的主流应用技术给予详尽的叙述，对于其发展有一定的前瞻性展示。对涉及的基础理论和技术给予必要的笔墨。在章节内容安排上逐步展开，以便于阅读。力求做到内容实用、先进、简明易读。

在本书编写过程中得到了李伯龄主任法医师、倪锦堂主任法医师、杨庆恩教授、侯一平教授、叶健主任法医师等的帮助和鼓励，对书稿提出了许多宝贵意见，在此表示衷心的感谢。

法医 DNA 分析技术发展很快，编者水平有限，错漏之处在所难免，欢迎批评指正。

作者 郑秀芬

2002 年 1 月

序 一

很高兴应邀为本书作序。法医 DNA 技术一直是我多年以来在专业上所特别关注的领域。

20 世纪最后 2 个年代在刑事科学领域里最大的进展莫过于 DNA 鉴定技术的出现和应用。它为成千上万的各种案件的侦破和解决提供了强有力的科学证据。

DNA 鉴定技术由于是从生物分子—基因水平揭露生物的特性，它的极高鉴定能力和比较广泛应用的可能性以及在侦审中的独特作用，使其一直受到高度的重视，倍受关注，分子生物和基因等基础和相关领域的进展使其发展飞快。自 1985 年英国遗传学家 Alec Jeffreys 建立了 DNA 指纹技术以来，新技术新方法不断出现，可应用的各种遗传标记与日俱增，所探讨解决的问题也在逐步扩大。今天 DNA 技术已成为个人识别和血缘鉴定的最有效方法，并且正在朝着使这些鉴定向可以检验各种条件下的检材和更进一步准确、微量、快速、自动化及数据库的方向发展。与此同时，正在全方位的研究开发和利用 DNA 所具有可揭示生物各种特征信息的潜能，并从人扩大到动物，乃至其他生物，为刑侦和司法鉴定服务。可以说 DNA 鉴定技术的发展前途广阔，方兴未艾。

本书的作者是一位十多年来一直在从事法医 DNA 分析应用的研究、办案和新技术培训的年轻专业工作者。书中对于法医 DNA 分析这一涉及众多学科的新技术，做了比较全面的系统的既有简明的理论基础又有详尽的实验操作技术的介绍。广泛地吸收了国内外他人的学术成就，融入了作者自己的科研成果和办案经验。书中对于人以外的其他生物的 DNA 鉴定，对于 DNA 芯片和单核苷酸多态性等 DNA 分析应用的新内容和新技术，也有较多涉及。读后感到这是一本内容丰富、新信息多、实用性强、有前瞻性的好书。无论是对于从事法医 DNA 分析的工作者或者想要了解 DNA 鉴定技术的刑侦、司法审判、律师或其他读者都将会有很大裨益。

借为本书作序之机，希望能不断地有反映法医 DNA 分析发展的新书问世，以促进 DNA 技术的应用和发展。

李伯龄

2002 年 3 月

序 二

20 世纪 70 年代，法医物证个体识别鉴定靠血型。受蛋白质水平遗传标记的多态性和检测技术的限制，在个体识别鉴定，只能是“排除是肯定的，认定是相对的”。曾经梦想只用一种高多态性遗传标记系统能够区别世界上所有的个体，梦想只用一种简单的方法能够在最短的时间内作出鉴定结论。

划时代的技术突破出现在 1985 年，英国遗传学家 Jeffreys 建立 DNA 指纹技术。应用人肌红蛋白基因内含子小卫星探针 33.6 和 33.15 制作的 RFLP 图，具有惊人的个体特异性，能够区分世界上所有的个体。DNA 指纹实现了法医学的第一个梦想，DNA 指纹广泛应用在各类案件调查中。有关卫星 DNA - VNTR 分型的理论研究逐渐深入，法医学研究的目光开始集中在 DNA 片段长度遗传标记，认识到卫星 DNA - VNTR 序列分型将是法医物证鉴定的希望所在。

法医物证学第二个梦想的实现靠 Mullis 的 PCR 技术。PCR 近乎一种魔法，方法简单得令人不可思议：把模板 DNA、dNTP、DNA 聚合酶、引物同置一个反应管内，通过三个温度点的循环，数小时内，靶 DNA 片段被扩增近 100 万倍。直接采用 PCR 扩增 VNTR 基因座的片段长度等位基因，电泳检测基因型。利于高效、简单的 PCR 和高多态性特征的 VNTR 遗传标记，达到了准确、快速、认定同一性的目标，PCR - STR 分型已经成为目前个体识别鉴定的主流技术。近十年，法医物证鉴定技术连跨两大步，是进展最快的时期，尤以 PCR 衍生的各类新技术，新的 DNA 标记系统不断发现，法医物证鉴定技术研究突飞猛进。荧光标记 STR 复合扩增检测实现了自动化、标准化，实现了微机联网，异地查询的目标，CODIS 计划就是一个成功的范例。

2001 年，人类基因组计划（HGP）完成了第一张人类基因组工作草图，单核苷酸多态性（SNP）引起法医学界的注意，SNP 可能是最能反映群体和个体遗传特征的一种 DNA 标记。应用高通量的生物芯片技术检测多 SNP 座位成为目前法医学应用研究的前沿课题。这是一个新的期望，也是一种新的挑战。

在世纪交替的时刻，我国的 DNA 分析技术发展很快，法医学者投入了极大的热忱。早在 1987 年，我国的 DNA 指纹技术开始应用，在数以千计的物证鉴定中积累了可贵的实践经验，在侦破大、要案中起到了关键作用。进入 20 世纪 90 年代，PCR 检测技术开始在国内迅速推广，PCR - STR 分型技术普及到了基层。在打击犯罪的复杂斗争中，DNA 分析的作用越来越重要。各地司法机关投入大量的人力、物力，引进自动化多 STR 基因座分型检测仪器和技术，我国的 DNA 分析已基本与国际接轨。值得注意的是，在 DNA 分析技术普及的 10 余年中，培养出一批青年技术队伍，他们思想素质好，工作热情高，基础扎实，业务精通，活跃在与犯罪作斗争的第一线。他们是我国法医事业的希望。

作者郑秀芬，十多年来，通过一线工作的锻炼，积累了丰富的实践经验。法医 DNA 分析涉及医学、遗传学、分子生物学、生物统计学、免疫学等多种学科理论。由于学科进展很快，新的理论、技术层出不穷，让人目不暇接。作者力求从 DNA 分析的基础理论入

手，概括了 DNA 指纹、PCR - STR 分型、DNA 序列测定和法医统计学等主要内容。全书由浅入深，突出理论与实践的结合的原则，结合国内 DNA 分析的现状和各类物证材料特点，总结出许多宝贵的实践经验。书中还介绍了近年来许多新的技术资料，对 DNA 分析的技术前景作了展望。从办案第一线工作的角度来审视这本《法医 DNA 分析》，将会有更深刻的体会，更具特殊的实用价值。

杨庆恩

2002 年 3 月



作者简介

郑秀芬，女，浙江余姚人，中国农业大学理科硕士。毕业后分配到公安部第二研究所工作至今，一直从事法医DNA分析的科研、办案和新技术培训工作。副主任法医师，兼中国人民公安大学硕士研究生导师。二次获国家科技进步二等奖，多次获公安部科技进步奖。发表学术论文50余篇，参加编书3部。1998年~1999年任日本秋田大学客座研究员。

目 录

第一章 绪论

1.1 法医 DNA 分析的研究内容	1
1.2 法医 DNA 分析的对象	2
1.3 法医 DNA 分析的任务	2
1.4 法医 DNA 分析在案件中的应用	3
1.5 法医 DNA 分析的特点	3
1.6 法医 DNA 分析的沿革与国内外进展	4
1.6.1 沿革	4
1.6.2 国内外进展	4

第二章 DNA 分型的科学基础

2.1 DNA 的分子生物学	6
2.1.1 一级结构	6
2.1.2 DNA 的双螺旋结构、碱基互补原则与理化性质	7
2.1.3 DNA 的半保留复制	9
2.2 人类遗传学基础	9
2.2.1 遗传的物质基础	9
2.2.2 染色体结构	10
2.2.3 染色体核型与物理定位	11
2.2.4 基因组	13
2.3 DNA 的二种多态性（差异性）	16
2.4 遗传标记分类	16
2.4.1 小卫星与微卫星	18
2.4.2 单核苷酸多态性	18
2.4.3 DNA 标记（marker）的命名	18
2.5 多态性产生的机理	19
2.5.1 多态性产生过程	19
2.5.2 多态性形成原因	19
2.6 群体遗传	21
2.7 法医 DNA 分析中常用的两种酶	23

第三章 物证的搜集和保存

3.1 生物物证中 DNA 的含量	24
3.2 外界环境对生物检材 DNA 的影响	26
3.2.1 DNA 降解	27

3.2.2 影响 DNA 降解的因素	27
3.2.3 DNA 降解对分型的影响	28
3.2.4 采集和保存过程中 DNA 降解的阻止	29
3.3 物证的污染	29
3.3.1 非生物物质的污染	29
3.3.2 其他生物物质的污染	29
3.3.3 人之间的 DNA 交叉污染	29
3.4 物证采集	30
3.4.1 对物证采集的要求	30
3.4.2 物证提取的基本方法	30
3.4.3 注意物证存在的多样性, 广泛提取各种 DNA 物证	31
3.5 物证的标记与登记	31
3.6 物证的保存	31
3.7 各类物证的采集与保存	31
3.7.1 血液和血斑	31
3.7.2 精液和精斑	33
3.7.3 组织、器官和骨骼	34
3.7.4 唾液、尿液和其他体液	34
3.7.5 毛发	34
3.7.6 强奸致孕案件的物证	35
3.8 物证的送检	35
3.9 物证 DNA 分析结果的预测	35
3.9.1 RFLP	35
3.9.2 PCR	36
第四章 DNA 的提取	
4.1 DNA 提取方法	37
4.1.1 有机提取法	37
4.1.2 Chelex - 100 提取法	38
4.1.3 无机提取法	39
4.1.4 差异裂解提取法	39
4.1.5 其他方法	40
4.1.6 DNA 提取方法的评估	44
4.2 各种检材 DNA 提取	45
4.2.1 试剂	45
4.2.2 有机提取法提取各类检材 DNA	46
4.2.3 微量检材 DNA 提取	50
4.2.4 提取注意事项	54
4.3 DNA 浓缩	55

4.3.1 沉淀浓缩法	55
4.3.2 仲丁醇浓缩法	57
4.3.3 Microcon 100 法	58
4.4 DNA 的贮存	58
4.5 DNA 纯化	58
4.5.1 低熔点琼脂糖凝胶电泳回收 DNA 法	58
4.5.2 Centricon 30 或 Microcon 100 法	59
4.5.3 纯化试剂盒	59
4.5.4 Sephadex G50 过柱法	59
第五章 DNA 定量、DNA 片段电泳分离与检测	
5.1 DNA 的定性、定量分析	60
5.1.1 DNA 定性定量方法	60
5.1.2 DNA 定性、定量方法的选择	64
5.2 DNA 片段平板凝胶电泳分离与检测	64
5.2.1 DNA 电泳分离机制	64
5.2.2 影响 DNA 迁移率的因素	65
5.2.3 DNA 电泳的指示剂与上样缓冲液	67
5.2.4 分子量标准	68
5.2.5 琼脂糖凝胶电泳	69
5.2.6 聚丙烯酰胺凝胶电泳	71
5.2.7 DNA 片段的检测 (显现)	73
5.3 毛细管电泳	75
5.3.1 原理与基本特点	75
5.3.2 毛细管电泳的主要设备及功能	76
5.3.3 毛细管的填充物	77
5.3.4 毛细管电泳仪	78
5.4 斑点杂交	78
第六章 限制性酶切和分子杂交	
6.1 限制性内切酶酶切	79
6.1.1 概念	79
6.1.2 命名	79
6.1.3 限制性内切酶的分类	79
6.1.4 II 型限制性内切酶	80
6.1.5 酶活性单位定义	82
6.1.6 酶反应条件	82
6.1.7 双酶解反应条件	82
6.1.8 酶解反应终止方法	83
6.1.9 影响限制性内切酶活性的因素	83

6.1.10 限制性内切酶的星号活性	85
6.1.11 限制性内切酶消化反应操作注意事项	85
6.1.12 内切酶消化产物酶切程度检测	86
6.2 分子杂交	86
6.2.1 DNA 转移	86
6.2.2 DNA 探针与标记	90
6.2.3 固相液相分子杂交	96
6.2.4 杂交信号的检测	99
6.2.5 原位杂交	100
第七章 聚合酶链式反应	
7.1 PCR 技术的原理	102
7.2 PCR 反应	102
7.3 PCR 反应的优化	104
7.3.1 模板 DNA	104
7.3.2 引物	104
7.3.3 缓冲液	106
7.3.4 Mg^{2+}	106
7.3.5 三磷酸脱氧核苷酸 (dNTP)	107
7.3.6 耐热 DNA 聚合酶	107
7.3.7 温度循环参数	109
7.3.8 PCR 促进剂	111
7.3.9 PCR 仪	112
7.3.10 平台效应	112
7.3.11 忠实性	112
7.4 PCR 相关技术	113
7.4.1 PCR - SSO 技术	113
7.4.2 SSP - PCR 技术	115
7.4.3 PCR - RFLP 技术	115
7.4.4 PCR - SSCP 技术	116
7.4.5 MVR - PCR 技术	119
7.4.6 RAPD 技术	119
7.4.7 巢式 PCR 技术	120
7.4.8 RT - PCR 技术	121
7.5 防止 PCR 污染的对策	122
7.5.1 污染的预防	122
7.5.2 污染源的追踪	123
7.5.3 污染的处理	123
7.6 PCR 常见问题及处置	124

第八章 DNA 序列测定

8.1 概述	125
8.2 测序策略	125
8.3 双脱氧链终止法测序	127
8.3.1 双脱氧链终止法测序的酶学原理	127
8.3.2 双脱氧链终止测序方法	128
8.4 直接 PCR 测序——循环测序	130
8.4.1 循环测序原理	130
8.4.2 循环测序优点	130
8.4.3 测序反应重要试剂	131
8.4.4 测序反应基本操作步骤	133
8.4.5 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离片段与读序	134
8.4.6 序列分析	134
8.4.7 双脱氧测序法中出现的问题	135
8.5 非同位素标记测序及银染测序	137
8.5.1 非同位素标记测序	137
8.5.2 银染测序	137
8.6 DNA 自动测序技术	138
8.6.1 DNA 自动测序技术原理	138
8.6.2 测序方法	141
8.6.3 核苷酸顺序的阅读	142
8.7 化学降解测序法	142
8.8 固相微型测序	142

第九章 DNA 芯片技术

9.1 DNA 芯片的分类与制作	146
9.1.1 DNA 芯片的分类	146
9.1.2 DNA 芯片的载体材料	146
9.1.3 DNA 芯片制备的基本途径	148
9.2 DNA 芯片检验的基本原理与程序	151
9.3 杂交芯片信号检测	151
9.3.1 扫描仪的分类	151
9.3.2 芯片扫描仪原理与特性	151
9.4 DNA 芯片举例	153
9.4.1 玻璃为载体的芯片技术	153
9.4.2 微电子芯片技术	154
9.5 DNA 芯片的优缺点	157
9.6 DNA 芯片的应用	157

第十章 DNA 指纹和 DNA 纹印

10.1 概述	159
10.2 DNA 指纹图—多基因座 VNTR	159
10.2.1 DNA 指纹——多基因座探针	159
10.2.2 DNA 指纹图谱特征	159
10.2.3 DNA 指纹图匹配率的计算	161
10.2.4 几种 DNA 指纹图介绍	162
10.2.5 DNA 指纹的应用	166
10.2.6 DNA 指纹的局限性与潜在的问题	168
10.3 DNA 纹印图——单基因座 VNTR	169
10.3.1 单基因座探针	169
10.3.2 DNA 纹印图谱的基本特征	170
10.3.3 DNA 纹印图的基因频率	172
10.3.4 几种 DNA 纹印图介绍	175
10.3.5 DNA 纹印图的法医学应用	175
10.3.6 应用注意问题	177
10.3.7 单基因座 VNTR - DNA 纹印的优点及局限性	178
10.4 DNA 指纹和 DNA 纹印操作技术	178

第十一章 小卫星 VNTR

11.1 VNTR 概述	183
11.2 小卫星 VNTR 基因座分型基本技术	184
11.2.1 试剂	184
11.2.2 模板 DNA 制备与浓度测定	185
11.2.3 PCR 扩增反应	185
11.2.4 PCR 扩增产物的电泳分离与检测	185
11.3 常用小卫星 VNTR 基因座	186
11.3.1 D1S80 基因座	186
11.3.2 APOB 基因座	193
11.3.3 D1S118 基因座	194
11.3.4 D17S30 基因座	195
11.3.5 D1S111 基因座	196
11.3.6 COL2A1 基因座	196
11.3.7 IL - 6 基因座	197
11.3.8 D4S95 基因座	197
11.3.9 DXS52 基因座	197
11.4 小卫星 VNTR 扩增分析应用中注意事项	198
11.4.1 污染问题	198
11.4.2 模板 DNA	198

11.4.3 较小等位基因优先扩增	199
11.4.4 降解 DNA 样品大等位基因的丢失	199
11.4.5 试剂和仪器质量及性能	199
第十二章 微卫星 (STR) 基因座概述及检验方法	
12.1 STR 基因座概述	200
12.1.1 STR 基因座特征	200
12.1.2 STR 基因座的分类与等位基因命名	201
12.1.3 微变异体和等位基因分型标准物以外的等位基因	203
12.1.4 长度相同但序列不同的等位基因	206
12.1.5 三条带模式	206
12.1.6 等位基因的丢失和无效等位基因	207
12.1.7 突变	209
12.1.8 用于法医 DNA 分型的理想 STR 基因座特点	213
12.1.9 阴影带或峰	214
12.1.10 3'端的额外 A 核苷酸添加	215
12.2 STR 基因座检验	217
12.2.1 多 STR 基因座复合扩增	217
12.2.2 扩增参数对 STR 复合扩增的影响	218
12.2.3 复合扩增 STR 基因座的要求与标准	223
12.2.4 复合扩增类型	223
12.2.5 常用的 STR 复合扩增基本技术	225
12.3 PCR 扩增产物的分离与检测	226
12.3.1 DNA 片段的分离	226
12.3.2 垂直聚丙烯酰胺凝胶银染法	227
12.4 荧光标记 STR 基因座自动分析	231
12.4.1 概述	231
12.4.2 自动分析方法	235
12.4.3 操作注意事项	248
12.4.4 基因分型注意问题	249
12.5 STR 检测新技术	252
12.5.1 微芯片	252
12.5.2 杂交排列分析 STR (STR 芯片)	254
12.5.3 MALDI - TOF 质谱	257
第十三章 常染色体 STR 基因座	
13.1 D1S549 基因座	259
13.2 D3S1358 基因座	259
13.3 D3S1359 基因座	260
13.4 D3S1744 基因座	261

13.5 D5S818 基因座	261
13.6 D6S366 基因座	262
13.7 D7S809 基因座	263
13.8 D7S817 基因座	263
13.9 D7S820 基因座	263
13.10 D8S384 基因座	264
13.11 D8S1132 基因座	265
13.12 D8S1179 基因座	266
13.13 D10S1213 基因座	267
13.14 D10S1432 基因座	267
13.15 D10S2325 基因座	268
13.16 D12S375 基因座	268
13.17 D12S391 基因座	269
13.18 D13S317 基因座	270
13.19 D13S325 基因座	271
13.20 D16S539 基因座	271
13.21 D17S976 基因座	272
13.22 D18S51 基因座	273
13.23 D18S535 基因座	275
13.24 D18S849 基因座	275
13.25 D19S253 基因座	275
13.26 D19S400 基因座	276
13.27 D20S161 基因座	276
13.28 D20S470 基因座	277
13.29 D21S11 基因座	277
13.30 D22S444 基因座	279
13.31 D22S445 基因座	279
13.32 D22S533 基因座	280
13.33 D22S683 基因座	280
13.34 D22S685 基因座	280
13.35 D22S686 基因座	280
13.36 ACTBP2 基因座	280
13.37 HUMCD4 基因座	283
13.38 HUMCSF1PO 基因座	283
13.39 HUMCYAR04 (CYP19) 基因座	284
13.40 DHFRP2 基因座	285
13.41 GABRB15 基因座	286
13.42 HUMFABP 基因座	286

13.43 HUMFES/FPS 基因座	287
13.44 Hum FGA 基因座	288
13.45 HumFOLP23 基因座	290
13.46 HUMF13A01 基因座	291
13.47 HUMF13B 基因座 (FX III B)	292
13.48 HUMLPL 基因座	293
13.49 HUMMBP 基因座	293
13.50 HUMPLA2A 基因座	295
13.51 HUMTH01 基因座	295
13.52 HUMTPOX 基因座	296
13.53 HUMVWA 基因座	297
13.54 vWF III 基因座	298
第十四章 性染色体 STR 基因座	
14.1 Y 染色体 STR 基因座	300
14.1.1 Y 染色体 STR 基因座特性	300
14.1.2 Y 染色体 STR 等位基因的命名	300
14.2 常用的 Y 染色体 STR 基因座	300
14.2.1 DYS19 基因座	300
14.2.2 DYS385 基因座	301
14.2.3 DYS389 基因座	302
14.2.4 DYS390 基因座	304
14.2.5 DYS391 基因座	305
14.2.6 DYS392 基因座	305
14.2.7 DYS393 基因座	306
14.2.8 DXYS156Y 基因座	306
14.2.9 A10 基因座	307
14.2.10 C4 基因座	307
14.2.11 A7.1 基因座	308
14.2.12 A7.2 基因座	309
14.2.13 A4 (G42670) 基因座	309
14.2.14 H4 (G42676) 基因座	309
14.2.15 DYS434 基因座	309
14.2.16 DYS435 基因座	310
14.2.17 DYS436 基因座	310
14.2.18 DYS437 基因座	310
14.2.19 DYS438 基因座	310
14.2.20 DYS439 基因座	310
14.3 常用 Y-STR 基因座单倍型 (组) 群体数据	311