

实用法医 DNA 检验学

刘开会 李宗亮 编著



西安出版社

实用法医 DNA 检验学

刘开会 李宗亮 编著
常彩琴 主审

西安出版社

实用法医 DNA 检验学

编 著 者:刘开会 李宗亮

出版发行:西安出版社

社 址:西安市长安北路 34 号

电 话:5234426

邮政编码:710061

印 刷:204 研究所印刷厂

开 本:850 × 1168 1/32

印 张:10.125

字 数:300 千

版 次:2000 年 7 月第 1 版

2000 年 7 月第 1 次印刷

印 数:1—2000

ISBN 7 - 80594 - 653 - 1/R·19

定 价:28.00 元

△本书如有缺页、误装,请寄回另换。

内 容 提 要

本书全面系统地介绍了法医 DNA 检验原理及方法,包括普通生物学基础知识,DNA 多态性原理,PCR 技术,电泳技术,DNA 染色及标记技术,各种生物检材 DNA 提取,DNA 定量及种属检验,DNA 指纹检验,单位点图谱及 VNTR 检验,MVR 检验,STR 检验,性染色体 STR 检验,线粒体 DNA 测序,HLA 及 PM 检验,ABO、MN 及多态性酶基因型检验,性别检验以及 Ladder 制备等,深入浅出,通俗易懂,对于初学者不愧为一本入门教材。本书还详细介绍了法医 DNA 检验常用基础数据计算,HWE 检验,同一认定计算,亲子鉴定计算以及人群比较检验等,并且具有丰富 DNA 数据资料,对于政法干警、律师、基层法医以及研究者都有很大帮助。系统阅读本书,相信会全面了解法医 DNA 检验,在学习、应用及研究中受益匪浅。

目 录

引 言	(1)
1 普通生物学基础知识	(2)
1.1 细胞结构	(2)
1.2 细胞的遗传物质	(2)
1.2.1 染色质	(2)
1.2.2 染色体	(3)
1.2.3 线粒体	(3)
1.3 DNA 分子结构	(4)
1.4 DNA 复制	(6)
1.5 DNA 变性与复性	(6)
1.6 基因 等位基因与基因突变	(7)
1.7 基因库 基因文库 cDNA 文库	(8)
1.8 遗传学三定律	(9)
1.8.1 孟德尔第一定律——分离律	(9)
1.8.2 孟德尔第二定律——自由组合律	(11)
1.8.3 连锁和交换定律	(11)
主要参考文献	(12)
2 DNA 多态性检验	
2.1 DNA 多态性分类	(13)
2.1.1 DNA 长度多态性	(13)
2.1.2 DNA 序列多态性	(14)

2.2	DNA 多态性原理	(14)
2.2.1	DNA 指纹及单位点图谱	(16)
2.2.2	VNTR STR	(16)
2.3	几个重要概念	(17)
2.3.1	核心序列	(17)
2.3.2	重复单位 重复次数	(17)
2.3.3	DNA 探针	(18)
2.3.4	限制性内切酶	(18)
2.3.5	基因组	(20)
2.3.6	表现型 基因型	(21)
2.3.7	有丝分裂 减数分裂	(21)
2.3.8	斑点印迹 Southern 印迹 真空转移 分子杂交	(22)
2.4	PCR 技术	(22)
2.4.1	PCR 反应基本原理	(23)
2.4.2	PCR 反应体系	(24)
2.4.2.1	寡核苷酸引物	(24)
2.4.2.2	PCR 缓冲液	(26)
2.4.2.3	脱氧核苷三磷酸	(27)
2.4.2.4	靶序列	(27)
2.4.2.5	DNA 聚合酶	(27)
2.4.2.6	其它成份	(28)
2.4.3	PCR 扩增条件	(29)
2.4.4	PCR 抑制剂	(29)
2.4.5	减少 PCR 污染的因素	(29)
2.5	DNA 多态性的电泳检测	(30)
2.5.1	琼脂糖凝胶电泳	(31)
2.5.2	聚丙烯酰胺凝胶电泳	(31)

2.5.2.1 单链构象多态性	(33)
2.5.3 毛细管电泳	(33)
2.5.4 电泳加样液及槽缓冲液 胶缓冲液	(34)
2.5.5 玻璃制品硅化处理	(35)
2.6 DNA 多态性检验策略	(35)
主要参考文献	(37)
3 法医 DNA 检验常用数据计算	(38)
3.1 单位点基础数据计算	(38)
3.1.1 基因频率	(38)
3.1.2 基因型频率	(39)
3.1.3 P_m	(40)
3.1.4 D_p	(41)
3.1.5 P_c	(41)
3.1.6 H	(42)
3.1.7 PIC	(43)
3.1.8 PE	(44)
3.1.9 突变率	(44)
3.2 DNA 指纹数据计算	(45)
3.2.1 DNA 指纹基础数据计算	(45)
3.2.2 DNA 指纹同一性概率计算	(47)
3.3 亲子鉴定计算	(49)
3.3.1 PI	(49)
3.3.1.1 三联体 PI 计算	(50)
3.3.1.2 无父时 PI 计算	(52)
3.3.1.3 二联体(单亲亲子鉴定)PI 计算	(52)
3.3.1.4 父母均不确定时 PI 计算	(53)
3.3.2 RCP	(54)

3.3.2.1	DNA 指纹 RCP 计算	(54)
3.3.3	亲子鉴定结论分析	(54)
3.4	HWE 检验	(55)
3.4.1	HWE 内容	(55)
3.4.2	HWE 法医应用	(56)
3.4.3	HWE 显著性差异原因	(57)
3.5	人群比较检验	(58)
3.6	位点间独立性检验	(61)
	主要参考文献	(62)
4	DNA 染色及标记技术	(65)
4.1	溴化乙锭染色	(65)
4.2	银染色	(65)
4.3	同位素标记探针	(66)
4.4	非同位素标记探针	(67)
4.4.1	辣根过氧化物酶标记探针	(67)
4.4.2	地高辛 荧光物质及生物素标记探针或核苷酸	(68)
	主要参考文献	(69)
5	生物检材 DNA 提取	(70)
5.1	有机法提取 DNA	(70)
5.2	Chelex100 法提取 DNA	(72)
5.3	盐析法提取 DNA	(73)
5.4	DNA 提取中蛋白水解酶 K 及 SDS EDTA 作用	(73)
5.5	不同生物检材 DNA 提取	(74)
5.5.1	血液(斑)DNA 提取	(74)
5.5.1.1	有机法	(74)

5.5.1.2	Chelex100 法	(75)
5.5.1.3	盐析法	(75)
5.5.1.4	血斑 DNA 提取方法比较	(76)
5.5.2	二步法提取混合斑中精子 DNA	(77)
5.5.2.1	精子的特性	(77)
5.5.2.2	二步法	(77)
5.5.2.3	几种不同二步法	(77)
5.5.3	软组织 DNA 提取	(80)
5.5.4	甲醛固定组织 DNA 提取	(81)
5.5.5	石蜡包埋组织 DNA 提取	(82)
5.5.6	烟头及口腔上皮细胞 DNA 提取	(83)
5.5.7	骨骼 DNA 提取	(84)
5.5.7.1	骨骼 DNA 含量	(84)
5.5.7.2	不脱钙法提取骨骼 DNA	(84)
5.5.7.3	脱钙法提取骨骼 DNA	(85)
5.5.7.4	骨髓 DNA 提取	(86)
5.5.8	牙齿 DNA 提取	(86)
5.5.9	毛发 DNA 提取	(87)
5.5.9.1	毛根 DNA 提取	(87)
5.5.9.2	毛干 DNA 提取	(88)
5.5.10	指甲 DNA 提取	(90)
5.5.11	尿液 DNA 提取	(90)
5.5.12	生物检材 DNA 提取注意事项	(91)
5.6	DNA 浓缩纯化	(92)
5.7	已扩增 DNA 的再利用	(92)
5.8	生物检材提取 送检及保存	(93)
主要参考文献	(94)

6	人 DNA 定量及种属检验	(97)
6.1	常规 DNA 定量方法	(97)
6.1.1	溴化乙锭——标准 DNA 浓度比较法	(97)
6.1.2	琼脂糖电泳	(98)
6.1.3	紫外分光光度计及毛细管电泳	(98)
6.2	D17Z1 位点 DNA 定量及种属检验	(99)
6.2.1	D17Z1 结构	(99)
6.2.2	D17Z1 检验方法	(99)
6.2.2.1	Waye 法	(99)
6.2.2.2	Walsh 法	(100)
6.2.2.3	Gaensslen PCR 法	(102)
6.3	Alu 位点人 DNA 种属检验	(103)
6.3.1	Tyler 法	(103)
6.3.2	Tamaki 法	(104)
6.4	pH12 及 pH21 探针检验人及灵长目 DNA 种属	(105)
6.5	28SrRNA 基因人 DNA 种属检验	(106)
6.6	SON 基因 3'UTR 检验人 DNA 种属	(108)
6.7	扩增 ABO 基因酶解法检验人及动物 DNA 种属	(109)
6.8	apoB 人及灵长目 DNA 种属检验	(110)
6.9	线粒体 DNA 种属检验	(110)
6.9.1	复合扩增线粒体细胞色素 b(cytb)及 D 环区序列 检验人 DNA	(111)
6.9.2	线粒体 120bp 扩增片段检验人 DNA 种属	(111)
6.10	STR 位点人 DNA 种属检验	(112)
	主要参考文献	(115)
7	DNA 指纹检验	(117)

7.1	33.15	33.5 及 33.6 探针 DNA 指纹图	(118)
7.1.1		探针结构	(118)
7.1.2		试剂配制	(118)
7.1.3		检验方法	(119)
7.2		HRP 标记 α -珠蛋白-3'HVR 探针 DNA 指纹图	(121)
7.2.1		试剂配制	(121)
7.2.2		检验方法	(122)
7.3		常用多位点探针 DNA 指纹图基础数据	(123)
7.4		DNA 指纹检验优缺点	(124)
主要参考文献			(125)
8		单位点图谱及 VNTR 位点检验	(126)
8.1		SLP 与 PCR 检验 VNTR 位点比较	(126)
8.2		单位点图谱检验	(127)
8.2.1		试剂配制	(128)
8.2.2		检验方法	(128)
8.3		PCR-VNTR 位点检验	(130)
8.3.1		DIS80	(130)
8.3.1.1		DIS80 Budowle 经典检验法	(130)
8.3.1.2		DIS80 其它检验方法	(131)
8.3.1.3		DIS80 序列多态性	(133)
8.3.2		apoB	(133)
8.3.2.1		琼脂糖电泳检验	(133)
8.3.2.2		PAGE 检测	(134)
8.3.3		DI7S30	(134)
8.3.4		p33.6	(135)
8.3.5		p33.4	(136)

主要参考文献	(137)
9 MVR 检验	(140)
9.1 MVR 检验原理	(140)
9.2 MVR 检验优缺点	(141)
9.3 MS32 及 MS31A MVR 检验	(143)
9.3.1 探针杂交法	(143)
9.3.2 琼脂糖电泳 EB 染色法	(146)
9.3.3 PAGE 法	(146)
9.4 MS32 及 MS31A 同步检验	(146)
主要参考文献	(147)
10 STR 检验	(148)
10.1 概述	(148)
10.1.1 STR 等位基因构成	(148)
10.1.2 STR 等位基因命名原则	(149)
10.1.3 STR 分类	(149)
10.1.4 理想 STR 条件	(150)
10.1.5 新建 STR 位点的评估内容	(151)
10.1.6 实际办案 STR 位点选择	(151)
10.1.7 STR 优点	(152)
10.1.8 STR 缺点	(152)
10.1.9 STR 检验检材基质对照的必要性	(153)
10.1.10 Stutter 谱带假设	(153)
10.1.11 $n + 1$ 谱带	(154)
10.2 不同 STR 位点检验	(155)
10.2.1 ACTBP2	(155)
10.2.2 CD4	(159)

10.2.3	CSF1PO	(161)
10.2.4	CYAR04	(163)
10.2.5	DHFRP2	(164)
10.2.6	F13A	(165)
10.2.7	FA31(C)	(167)
10.2.8	FABP	(168)
10.2.9	F13B	(169)
10.2.10	FES	(171)
10.2.11	FGA	(173)
10.2.12	FOLP23	(176)
10.2.13	GAB	(177)
10.2.14	LPL	(178)
10.2.15	PLA2A	(179)
10.2.16	TH01	(180)
10.2.17	TPOX	(181)
10.2.18	VWA	(182)
10.2.19	VWF III	(183)
10.2.20	D6S366	(184)
10.2.21	D7S820	(185)
10.2.22	D8S384	(187)
10.2.23	D8S1179	(187)
10.2.24	D12S375	(189)
10.2.25	D12S391	(190)
10.2.26	D13S317	(193)
10.2.27	D16S539	(193)
10.2.28	D19S253	(194)
10.2.29	D19S400	(195)
10.2.30	D20S161	(197)

10.2.31	D21S11	(197)
10.2.32	23 个 STR 位点基础数据	(199)
10.3	复合扩增	(202)
10.3.1	复合扩增优点	(203)
10.3.2	复合扩增缺点	(203)
主要参考文献	(204)
11	性染色体 STR 检验	(207)
11.1	Y STR 检验	(207)
11.1.1	Y 染色体结构	(207)
11.1.2	Y STR 特点	(207)
11.1.3	DYS19	(209)
11.1.4	DYS288	(210)
11.1.5	DYS385	(210)
11.1.6	DYS388	(211)
11.1.7	DYS389	(212)
11.1.8	DYS390	(213)
11.1.9	DYS391 DYS392 DYS393	(213)
11.1.10	YCA I YCA II YCA III	(214)
11.1.11	DXYS156Y	(215)
11.1.12	法医实用的 Y STR 位点	(216)
11.2	X STR 检验	(221)
11.2.1	ARA	(221)
11.2.2	HPRTB	(222)
主要参考文献	(224)
12	线粒体 DNA 序列多态性	(225)
12.1	线粒体 DNA 结构	(225)

12.2	线粒体 DNA 特点	(225)
12.3	线粒体 DNA 序列多态性及基因型	(226)
12.4	线粒体 DNA 异质性	(227)
12.5	线粒体 DNA 测序原理	(227)
12.6	线粒体 DNA 测序方法	(228)
12.6.1	线粒体 DNA 测序引物序列	(230)
12.6.2	线粒体 DNA 两次 PCR 扩增测序	(231)
12.6.3	线粒体 DNA 一次 PCR 扩增测序	(237)
12.7	防止线粒体 DNA 测序污染方法	(241)
12.8	线粒体 DNA 测序的缺点	(242)
12.9	线粒体 DNA 序列多态性其它检验方法	(242)
12.10	线粒体 DNA 长度多态性	(244)
主要参考文献		(245)
13	HLA 及 PM 检验	(246)
13.1	HLA 检验	(246)
13.1.1	HLA DQ α 检验	(247)
13.1.1.1	反向斑点印迹法	(248)
13.1.1.2	斑点印迹法	(251)
13.1.1.3	PCR - RFLP 检验	(252)
13.1.2	HLA - A 检验	(252)
13.1.3	HLA DRB 检验	(253)
13.1.3.1	PCR - SSCP 法	(253)
13.1.3.2	SSP 法	(254)
13.1.3.3	PCR - SSO 法	(254)
13.2	PM 检验	(255)
主要参考文献		(258)

14	ABO MN 基因型检验	(260)
14.1	ABO 基因型检验	(260)
14.1.1	Kpn I 及 Alu I 内切酶分型	(261)
14.1.1.1	综合分析二个泳道结果判定 ABO 基因型	(261)
14.1.1.2	一个泳道内判定 ABO 基因型	(262)
14.1.2	Kpn I 及 Msp I 内切酶分型	(264)
14.1.3	ABO 基因型其它检验方法	(265)
14.1.4	ABO 基因型检验优点	(266)
14.2	MN 基因型检验	(266)
	主要参考文献	(268)
15	多态性酶基因型检验	(269)
15.1	GPT 基因型	(269)
15.2	ADA 基因型	(271)
15.2.1	PCR + RFLP	(271)
15.2.2	ADA - STR 位点检验	(272)
15.3	PGM ₁ 基因型	(273)
15.3.1	PCR + RFLP	(274)
15.3.2	SSCP	(275)
15.4	EsD 基因型	(276)
15.5	DNase I 基因型	(277)
	主要参考文献	(279)
16	性别检验	(280)
16.1	DNA 性别检验分类	(280)
16.2	Amelogenin 基因检验	(281)
	主要参考文献	(283)

17	Ladder 制备	(284)
17.1	Ladder 一般制备方法	(284)
17.2	从琼脂糖凝胶电泳中回收 DNA 片段	(285)
17.2.1	DEAE - 纤维素膜琼脂糖电泳回收 DNA 片段	(285)
17.2.2	低熔点琼脂糖电泳回收 DNA 片段	(285)
17.2.3	从琼脂糖凝胶中回收 DNA 的纯化	(286)
17.2.3.1	DEAE - Sephacel 柱层析法	(286)
17.2.3.2	有机溶剂抽提法	(286)
17.3	从 PAGE 中回收 DNA 片段	(287)
17.3.1	压碎浸泡法回收 DNA 片段	(287)
17.3.2	高盐溶液回收 DNA 片段	(289)
17.4	几种 VNTR 及 STR 位点 Ladder 制备方法	(289)
17.4.1	D1S80 Ladder 制备	(289)
17.4.2	SE33 Ladder 制备	(291)
17.4.3	VWA TH01 D21S11 HPRTB Ladder 制备	(291)
	主要参考文献	(293)
18	法医 DNA 检验发展趋势	(294)
18.1	建立 DNA 数据库	(294)
18.2	混合样品检验	(295)
18.3	DNA 芯片技术在法医检验中的开发应用	(295)
18.4	人类基因组计划对法医 DNA 检验的影响	(296)
18.5	酶型血清型检验	(296)
	主要参考文献	(297)