

法医DNA

实验室实用手册

—— PRACTICAL MANUAL OF ——
FORENSIC DNA LABORATORY

周怀谷 陈荣华 吴丹 编著



科学出版社

法医 DNA 实验室实用手册

周怀谷 陈荣华 吴 丹 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书由上海市公安局物证鉴定中心周怀谷、陈荣华、吴丹三位法医根据日常检验鉴定和实验室运行管理经验编著而成,内容包括物证采集、物证检验、实验室建设、实验室规范四篇,全面系统地介绍了法医 DNA 实验室检验鉴定和运行管理方法,包括现场各类物证的采集、DNA 提取、PCR 扩增、电泳、DNA 检验结果的分析和应用,法医 DNA 实验室结构建设、设备配置要求、防污染措施,法医 DNA 实验室的规范化管理要求等,并辅以知识点、温馨提示和附录。

本书既是一本可供法医 DNA 实验室技术人员使用的实用手册,也可作为相关院校的教材,或者作为警官、法官、检察官和律师的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

法医 DNA 实验室实用手册 / 周怀谷, 陈荣华, 吴丹编
著. — 北京: 科学出版社, 2019.5
ISBN 978-7-03-061202-1

I. ①法… II. ①周… ②陈… ③吴… III. ①脱氧核
糖核酸—法医学鉴定—实验室管理—手册 IV.
①D919.2-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2019)第 089620 号

责任编辑: 谭宏宇 / 责任校对: 郑金红
责任印制: 黄晓鸣 / 封面设计: 殷 靓

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号
邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

南京展望文化发展有限公司排版

江苏句容市排印厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2019 年 5 月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2019 年 5 月第一次印刷 印张: 12 1/2

字数: 218 000

定价: 100.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

作者简介

周怀谷,男,医学博士,主任法医师。现任上海市公安局刑侦总队一级警长,法医物证学现场应用技术公安部重点实验室主任,公安部刑事技术特长专家,上海市法医物证司法鉴定专家委员会主任委员,复旦大学上海医学院硕士研究生导师。长期从事法医 DNA 分析技术的应用和研究,主持完成国家和省部级课题研究 16 项。近五年发表论文 35 篇,其中 SCI 收录 15 篇;参与编著图书 2 本,制修订行业标准 4 项。获省部级科学技术奖 7 项,获得发明专利 4 项。获国务院“政府特殊津贴”“上海市领军人才”“上海市优秀留学回国人才”和“全国公安机关优秀专业技术人员一等奖”。

陈荣华,男,理学学士,副主任法医师,现任生物物证室副主任。长期从事法医 DNA 分析技术的应用和研究,具有丰富的检案经验,完成多起疑难案件现场勘验和 DNA 检验鉴定工作,并指导和培养了十余名年轻法医物证检验人员。主持和参与完成省部级课题 7 项,发表论文 10 篇,获省部级科学技术奖 4 项。入选“全国公安机关刑事技术青年人才库”。

吴丹,女,遗传学硕士,主任法医师。长期从事法医 DNA 分析技术的应用和研究,独立完成近万起刑事案件中生物检材的 DNA 检验鉴定,具有丰富的检案经验。参与 DNA 实验室质量管理体系文件的编写,负责 DNA 实验室日常工作的质量控制和监督工作。检案工作之余积极参与 DNA 分析新技术的开发,主持和参与完成省部级课题 4 项,发表论文 8 篇,获省部级科学技术奖 3 项。

前言

Preface

我国从 1987 年开始将 DNA 分型技术应用于侦查破案和庭审证据,经过三十多年的发展,技术水平不断提高,应用范围不断扩大,法医 DNA 实验室不断增加,检验鉴定人员队伍不断壮大,法医 DNA 分型已经成为法庭科学技术中科技含量最高、实用性最强的方法之一,检验鉴定结果得到了普遍采信。

目前,我国法医 DNA 实验室主要分布于公安系统、司法机关、大学、医院和社会民营机构,由于获得教育培训的机会不均,机构和鉴定人员的水平参差不齐,而法医物证 DNA 检验鉴定类的专业书籍太少,实际操作类指导手册更是稀缺。为此,我们编写本书,希望提供给各法医 DNA 实验室特别是基层的、民营的实验室一个范本,更规范地建设实验室,更规范地检验鉴定,更规范地分析和应用。同时,本书也可作为相关院校的教材,或者作为警官、法官、检察官和律师的参考用书。

本书内容包括物证采集、物证检验、实验室建设、实验室规范四篇,全面系统地介绍了现场各类物证的采集、DNA 提取、PCR 扩增、电泳、DNA 检验结果的分析 and 应用,介绍了法医 DNA 实验室结构建设、设备配置要求、防污染措施,介绍了法医 DNA 实验室的规范化管理要求等,并辅以知识点、温馨提示和附录。

本书编写结合了作者所在实验室全体同仁的经验,并得到了中共上海市委组织部、上海市人力资源和社会保障局“上海领军人才”项目(编号 095),上海市科学技术委员会科研项目(14JG0500400),以及科学出版社的大力支持,在此表示衷心的感谢!限于我们的知识水平和经验,本书如有不足乃至错误之处,敬请批评指正。

周怀谷 陈荣华 吴丹

2018 年 12 月

目录

Contents

前言

物证采集篇

第一章 现场检材的采集	3
一、现场实地采集	3
二、送检检材采集	7
三、使用高效现场法医 DNA 物证采集仪(SEC100)采集	8
四、比对样本的采集	11
第二章 检材的保存与送检	12
一、检材的保存	12
二、检材的包装	12
三、不同检材的送检要求	13
【知识点】	14
【温馨提示】	14
【我的心得】	15

物证检验篇

第三章 前期检验	19
一、血斑前期检验	19
二、精斑前期检验	20

第四章 DNA 提取	22
一、聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法	22
二、磁珠法	25
三、硅胶膜吸附法	29
四、其他方法	31
第五章 DNA 纯化	36
一、乙醇沉淀纯化法	36
二、异丙醇沉淀纯化法	36
三、磁珠法	37
四、硅胶膜吸附法	38
第六章 DNA 定量	40
一、紫外分光光度计法	40
二、荧光定量 PCR 法(以 7500 型实时定量 PCR 仪为例)	41
第七章 PCR 扩增	44
一、常染色体 STR 试剂盒	44
二、Y 染色体 STR 试剂盒	55
三、常染色体 STR 和 Y 染色体 STR 联合检测试剂盒	59
四、X 染色体 STR 试剂盒	61
第八章 电泳	63
一、使用 3130XL 基因分析仪进行电泳	63
二、使用 3500XL 基因分析仪进行电泳	66
三、使用 G118 基因分析仪进行电泳	68
第九章 STR 遗传标记分型结果的分析及应用	73
一、等位基因峰的分析	73
二、非等位基因峰的分析	87
三、结果应用	89
四、遗传学计算	90
第十章 线粒体 DNA 分析	96
一、线粒体 DNA - SNP 检验方法	96

二、线粒体 DNA 测序方法	105
三、线粒体 DNA 分析结果的应用	111
【知识点】	112
【温馨提示】	117
【我的心得】	120

实验室建设篇

第十一章 法医 DNA 实验室结构建设	125
一、法医 DNA 实验室分区	125
二、法医 DNA 实验室环境要求	126
第十二章 法医 DNA 实验室仪器设备配置	130
一、根据区域进行配置	130
二、刑事技术机构配置要求	133
三、司法鉴定机构配置要求(司法鉴定/法庭科学机构认可仪器 配置要求基本相同)	139
第十三章 法医 DNA 实验室防污染措施	141
一、更衣	141
二、风淋室	142
三、传递窗	142
四、超净工作台	142
五、实验室内人员移动	143
六、分流分时检验	143
【知识点】	145
【温馨提示】	146
【我的心得】	147

实验室规范篇

第十四章 资源要求	151
一、人员	151

二、设施和环境条件	154
三、设备	156
四、外部提供的产品和服务	157
第十五章 过程要求	159
一、委托受理	159
二、方法的选择、验证	160
三、取样	161
四、检材/样本的处置	161
五、记录/档案	163
六、确保结果的有效性	164
七、鉴定文书	165
八、投诉	168
九、不符合工作	168
十、数据控制和信息管理	169
【知识点】	170
【温馨提示】	171
【我的心得】	173

附 录

附录一 中国人群 59 个 STR 基因座等位基因频率分布表	176
附录二 59 个 STR 基因座各遗传学参数统计结果	183
附录三 似然率对原告假设支持程度的度量	186
附录四 安德森参考序列	187
参考文献	189

物证采集篇

1920年,法国刑事犯罪学家艾德蒙·洛卡德(Edmond Locard)提出了接触与物质交换原理,即“每次接触都会留下痕迹”。

| 第一章 |

现场检材的采集

凡在案事件现场可获取的,与案事件有关的,可进行 DNA 分析并能为侦查提供线索、为法庭提供证据的生物样品,或含有、承载可进行 DNA 分析的生物样品的物品,都称为现场检材。一般包括血液(斑)、精液(斑)、唾液(斑)、阴道内容物(斑)、毛发、骨骼、器官、肌肉、分泌物、排泄物等生物样品,以及含有或承载上述生物样品的各种物品,如烟蒂、果核、床单等。

现场检材的采集可分为现场实地采集和在实验室从送检检材上提取两种。

一、现场实地采集

(一) 现场检材采集目标

现场检材采集主要关注三个方面:一是来源于人体的排泄物、分泌物、脱落物,如血液、精液、汗液、尿液、毛发、牙齿、组织碎块等;二是来源于作案工具和器械上的人体生物性物质,如刀具、锤子、棍棒、勒绳等;三是来源于遗留在现场的物品上的人体生物性物质,如饮料瓶、烟蒂、衣物、鞋子、包、手机、眼镜等。

(二) 现场检材采集一般规则

现场检材采集一般遵循以下规则:

(1) 先固定、后采集:在采集现场检材之前要先拍照、绘图、测量和记录,以便能显示物证的原始状态。

(2) 直接提取:对于现场发现的各种检材均应直接提取,能够携带的物品应整体提取,不易携带的物品直接提取相应附着检材的部位。

(3) 分别提取:现场不同部位的各种检材应分别提取,按检材的性质和特

点单独包装,使用标准的物证袋或物证标签贴封,要注明物品名称、来源、数量、采集日期、编号等。

(4) 详细记录:提取的检材必须详细登记:案件名称、提取地点及时间、提取部位、附着物体、提取方法、检材名称、数量、形状、颜色、大小、提取人、保存方法等,并进行唯一性标识。

(5) 避免污染:必须戴手套持洁净器具进行采集,不可直接裸手采集。

(6) 采集对照样本:在采集检材的同时,应根据案件的不同情况采集必要的对照样本,如被害人和嫌疑人的血液、唾液斑、毛发以及检材附近的空白材料等。

(7) 尽快送检:采集的检材应尽快送检,如不能尽快送检,应冷冻保存或制成斑迹保存。

(8) 避免损毁:提取的检材在包装和携带运送过程中应避免毁损、丢失。

(三) 防止污染

采集检材时,应穿着工作服、戴手套、持洁净器具。对于严重犯罪现场,应穿戴一次性隔离衣、手套、口罩、帽子、鞋套。一次性手套必须戴过袖口。使用过的器械、一次性物品应妥善处理。

提取检材时使用的提取试剂,封装用瓶、盒、试管等容器,转移用载体必须经过无菌处理,无菌水或生理盐水应适时更换。

提取时一次只能提取一件检材。一次性提取用器械每提取一份检材后必须更换,非一次性器械每提取一份检材后必须重新清洗消毒。对于严重的犯罪现场,每提取一份检材后提取检材时所使用器械必须更换,禁止重复使用。禁止裸手触摸检材。

禁止多件检材混合包装,禁止重复使用封装材料。所有用于运送检材的容器,如冷藏用的箱子和盒子,在使用前后都应该清理干净。

(四) 检材采集方法

1. 血液(斑)的采集

(1) 血液,可直接用棉签采集,也可用一次性吸管采集。

(2) 血斑,用纯水浸润的棉签采集。

(3) 可剪切的大件物品(如地毯、被褥、床单等织物)上的血斑,剪取血斑连同周边空白部分,记录剪取位置。

(4) 质地致密、不可剪切的大件载体(如水泥墙壁、水泥地面、家具)表面上

的血斑,用无菌水浸润的棉签采集。木质类载体上的血斑,根据载体的情况,还可采用削取表面的方法采集。

(5) 质地松软的载体(如砂灰墙、泥土)上的血斑,尽可能用纯水浸润的棉签采集,也可采用刮下的方法采集,注意应将血斑尽量全部提取且少混杂载体物质。采集泥土上的血斑时可以挖出带血的完整的土块,注意避免土块破碎,包装勿受挤压冲撞。

(6) 皮肤表面、指甲缝内的血斑,可用纯水浸润的棉签/纱线采集;指甲上的血斑,可将血斑连同周边空白部分指甲剪下,也可用纯水浸润的棉签/纱线采集;附着在头发上的血斑,可连同头发一同剪下。

(7) 采集尸体心腔血时,可制成纱布/滤纸血斑,或直接置于消毒抗凝试管内。

(8) 冰雪上的血斑,可用棉签直接采集,也可采集带血的冰雪块,置于医用纱布上待其融化。

(9) 对于现场吸吮过人血的昆虫(如蚊子),可将昆虫整体提取,或将血液从昆虫体内分离,制成纱布/滤纸血斑。

2. 精液(斑)的采集

(1) 精液,可直接用棉签采集,也可用一次性吸管采集。

(2) 精斑,可用纯水浸润的棉签采集。

(3) 避孕套内的精液,可直接提取避孕套,注意打结扎住开口。

(4) 可剪切的大件物品(如被褥、床单等织物)上的精斑,应先用记号笔标出精斑部位,剪取精斑连同周边空白部分,记录剪取位置。

(5) 被害人阴道内外的精斑的采集按照由外到内的顺序,分段采集。一般用三个棉签,分别采集外阴部、阴道内、后穹隆三个部分的样本。

(6) 可疑口交案件,应用棉签采集口腔样本;可疑鸡奸案件,应用棉签由浅而深分段采集肛门和直肠的样本。

3. 阴道分泌物的采集

(1) 避孕套外表面可能留有不同量的阴道分泌物,需要时,可用纯水浸润的棉签采集。

(2) 涉嫌强奸的嫌疑人其外生殖器可能留有被害人的阴道分泌物,可用纯水浸润的棉签采集。

4. 唾液(斑)的采集

(1) 现场与案事件有关的烟蒂,应用镊子提取,并去掉烟灰。同时提取多个

烟蒂时,必须单个、分别包装。

(2) 可能遗留有唾液斑的小件物品(如饮料罐、信封口、邮票背面、口香糖、啤酒瓶、果核、茶杯、唇膏、烟嘴、吸管等),应整件提取。当容器内残存有液体时,禁止将液体倾倒出来,应将容器口向上、固定存放,避免液体流出。

(3) 可能留有唾液斑的织物(如面罩、毛巾、手帕、衣物等),小件的应整件提取,大件的剪下可疑部分。提取时如有湿润部分应用记号笔标出部位。

(4) 活体、尸体皮肤表面留有的咬痕或可疑的被舔吻部位,如乳头、口唇处可能遗留的唾液斑,用纯水湿润的棉签采集。

5. 汗液斑的采集

(1) 怀疑带有汗液斑的小件物品(如帽子、袜子、手套等),应整件提取。

(2) 大件织物(如衬衣、背心)上的汗液斑,可剪取衣领、袖口、腋下部位。

6. 毛发的采集

(1) 需采集现场地面毛发时,进入现场的全体人员必须做好自身防护,穿戴一次性帽子、鞋子、隔离衣等,防止自身毛发脱落干扰。现场发现的毛发应分别提取、包装并记录下提取部位。禁止多处毛发混装。提取时注意须动作轻柔,防止拉断毛发。

(2) 在强奸案中,注意提取被害人阴部的脱落毛发。

(3) 在凶杀命案中,注意提取被害人手中的毛发。

(4) 提取腐败尸体的毛发时,如果毛发潮湿,应在阴凉通风、可防止污染处自然晾干。

7. 组织的采集

(1) 离体的小块人体脏器、肌肉、指(趾)甲等应整块提取。脏器、肌肉用聚乙烯塑料物证袋包装,低温保存送检。

(2) 新鲜尸体可提取肌肉组织,引产时可提取胎儿的脑组织,刮宫时可提取确认的胎儿组织,腐败尸体可提取深层肌肉组织、肋软骨、指(趾)甲。

(3) 附着在小骨片上的软组织可连同骨片一同提取。

(4) 附着在大块骨骼、长骨上的软组织可将软组织剥离后提取。

(5) 发现的牙齿要全部提取。

8. 脱落细胞的采集

(1) 对于较大件织物如衬衣、汗衫上的脱落细胞,可剪取衣领、袖口、腋下部位。

(2) 涉案人员使用过的牙刷、剃须刀、剃毛器可以整体提取。

(3) 涉案人员贴身佩戴过的物品如戒指、手镯、手表等,可以整体提取。

(4) 现场遗留的指纹、掌纹等,可能遗留有上皮细胞的检材,可用纯水浸润的棉签采集。

二、送检检材采集

(一) 血液(斑)的采集

(1) 血液,用一次性吸管吸取,滴入 1.5 mL 离心管 1~2 滴。

(2) 可剪切的载体上的血斑,根据血色深浅判断血斑浓度,剪取适量加入 1.5 mL 离心管。

(3) 质地致密、不可剪切的载体表面上的血斑,用纯水浸润的棉签涂取后,剪入 1.5 mL 离心管。小块的可连同载体一起直接加入 1.5 mL 离心管。

(4) 质地松软的载体(如砂灰墙、泥土)上的血斑,可用纯水浸润的棉签涂取后,剪入 1.5 mL 离心管。也可连同载体一起直接加入 1.5 mL 离心管,尽量少混杂载体物质。

(5) 指甲上的血斑,可连同指甲直接加入 1.5 mL 离心管。

(6) 头发上的血斑,可连同头发直接加入 1.5 mL 离心管。

(二) 精液(斑)的采集

(1) 精液,用一次性吸管吸取,滴入 1.5 mL 离心管 1 滴。

(2) 可剪切的载体上的精斑,根据后篇精子检出法镜检确认的精子量,剪取适量加入 1.5 mL 离心管。

(三) 唾液斑的采集

(1) 烟蒂,剪取外层纸,加入 1.5 mL 离心管。

(2) 瓶、杯、罐、吸管等,可用纯水浸润的棉签涂取后,剪入 1.5 mL 离心管。

(3) 信封口、邮票、口香糖、面罩、手帕等,剪取适量加入 1.5 mL 离心管。

(四) 汗液斑的采集

可用高效现场法医 DNA 物证采集仪、脱落细胞粘取器等在帽沿、衣领、袖口、腋下部位吸/粘取,取下配置的膜加入 1.5 mL 离心管。

(五) 毛发的采集

直接将毛囊剪入 1.5 mL 离心管。

(六) 组织的采集

(1) 脑、肌肉等：剪取绿豆大小，加入 1.5 mL 离心管里。

(2) 软骨：切去外层污染的软骨组织，切取中心适量软骨组织，加入 1.5 mL 离心管里。

(3) 指(趾)甲：剪碎，加入 1.5 mL 离心管里。

三、使用高效现场法医 DNA 物证采集仪 (SEC100) 采集

高效现场法医 DNA 物证采集仪主要适用于从多孔粗糙表面采集检材。譬如建筑砖，由于具有渗透性，涂取采集方法不易获取，且会粘取大量的灰土，而 SEC100 将表面冲洗液喷到建筑砖表面，让其吸收溶解如血斑等，再负压真空回吸冲洗液，过滤去除灰土杂质，获得目标检材。

(一) 系统设置

(1) 打开 SEC100 电源开关 (SEC100 上标识 Power)。

(2) 打开表面冲洗液袋 (SRS) 的包装，将表面冲洗液袋挂在 SEC100 的压力室。

(3) 无菌分离器及采样头准备：

1) 打开无菌分离器及采样头的包装，取出无菌分离器及采样头，旋紧无菌分离器盖子 (旋紧—松开—再旋紧)。

2) 将采样头上的表面冲洗液开关向后扳，使其处于关闭状态。

3) 将无菌分离器及采样头固定在支持臂上 (注意!! 不要污染接溶液的阳螺纹管接头)。

(4) 打开 SEC100 伸长管的包装，取出粗细两根伸长管，将粗的伸长管一端连接无菌分离器上侧端的斜向管钩，另一端连接快速接头后，连接 SEC100 上的真空连接口 (SEC100 上标识 to MVAC)。

(5) 将细的伸长管一端连接表面冲洗液袋上的塑料头，另一端连接采样头细管的接头，连接时，挤压两边的头并旋转直到完全固定 (注意!! 不要接触

表面冲洗液袋接头上的橡胶隔膜)。

(6) 关上 SEC100 压力室的门并确定已锁上,打开液体加压开关(SEC100 上标识 Solution Pressure)。加压后,低压显示灯(SEC100 上标识 Low)就会熄灭。

(二) 采样

(1) 打开 SEC100 上的真空开关(SEC100 上标识 Vacuum),当真空泵打开后,重新旋紧无菌分离器的盖子。

(2) 将采样头贴近认为有检材附着的载体表面,尽量将所有采样头上有弹性的突起轻微接触到载体表面。

(3) 开始采样时,打开采样头上的表面冲洗液开关,将采样头从载体表面的上方往下拉,同时施加一点压力,移动速率在 6~12 cm/s。到下方位置后,关闭采样头上的表面冲洗液开关,回到上方,重复上述步骤,一般采集相同的区域一次到两次。也可以由上而下,再由下而上地来回采集,中间不关闭采样头上的表面冲洗液开关。

(4) 移到紧贴刚采集区域旁的上方,重复上述采集过程,直到需要采集的区域全都被采样,与上述采集区域可以有 30% 的重叠面积。

(5) 在采集过程中需要更换样本收集瓶时,关闭 SEC100 上的真空开关,移去已满的样本收集瓶,并替换上无菌的空样本收集瓶。

(6) 如果还需要用现有的无菌分离器及采样头采集更多的样品(该无菌分离器及采样头被认为已被污染了),放置一个新的样本收集瓶在无菌分离器上,重复上述采样步骤。

(7) 当对载体表面一个较小面积进行采集时,要确保采样头对整个区域进行了采集,并至少要收集 30 mL 的表面冲洗液。

(三) 采集时无菌分离器的朝向

确保在采集过程中,无菌分离器一直保持向上的位置。否则会减少采样头的气流,从而降低采集系统的效率。采样时将无菌分离器放在 SEC100 的夹子上,或者采集者穿着的专用马甲的夹子上,可确保无菌分离器保持向上的位置。

(四) 移除/更换无菌分离器及采样头

(1) 关掉真空开关。

(2) 关掉液体加压开关。