

法医学中脱氧核糖核酸片段长度多态性的毛细管电泳分析

张海军, 沈月华

(四川省公安厅刑侦局物证鉴定中心, 四川 成都 610041)

关键词: 毛细管电泳; 脱氧核糖核酸; 长度多态性; 法庭科学

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2003)06-0625-01

在法医学中,常利用脱氧核糖核酸(DNA)片段的长度多态性进行个人识别和亲缘关系鉴定,主要分析以4个核苷酸为重复单位的短串联重复序列(short tandem repeats, STR)位点。其片段长度集中在100~400 bp。目前在法医学中主要使用无胶筛分+光栅+CCD(charge coupled device)成像进行DNA片段长度多态性的分析。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

ABI 310 基因分析仪、Profiler Plus PCR Amplification Kit (PCR 扩增试剂盒)去离子甲酰胺、Rox-500 内标(包含 100, 139, 150, 160, 200, 250, 300, 340, 350, 400 bp 等片段)、POP-4 型高分子化合物溶液及相应电泳缓冲液、47 cm×50 μm(有效长度 37 cm)毛细管(未涂层)(ABI 公司, 美国)、Chelex-100 (Bio-Rad 公司, 美国)、Biometra PCR 扩增仪(Biometra 公司, 德国)。

1.2 检测的样本

检测的样本全部取自刑事案件现场遗留下的各类血痕、精斑、毛发、唾液斑及一些人体组织,按 Chelex-100 法提取样本中的 DNA。

1.3 PCR(聚合酶链式反应)

采用 PCR 扩增试剂盒作 PCR。操作步骤和相应 PCR 程序遵循试剂盒手册。

1.4 电泳样品

取 1.5 μL PCR 产物、24 μL 去离子甲酰胺、1 μL ROX-500 内标,混匀后于 95 °C 下变性 3 min,然后立即置入冰浴中冷却 3 min,再放入到 310 基因分析仪的样品槽中,准备进行电泳分析。

1.5 电泳条件及数据处理

采用含尿素的 POP-4 型高分子化合物溶液和相应的电泳缓冲液进行实验,每运行一个样本,仪器自动给灌胶装置中的注射器柄加压一次,更换毛细管内的溶液。毛细管温度 60 °C,运行电压 15 kV,进样电压 15 kV,进样时间 5 s,电泳时间 24 min。使用 GeneScan v3.1 软件对原始数据进行峰高、峰面积和片段长度计算。

2 样品的分析结果

采用 PCR 扩增试剂盒,同步扩增的 9 个 STR 基因座及 1 个性别识别基因(牙釉基因,amelogenin)染料标记和扩增片段长度如表 1。一刑事案件犯罪嫌疑人的 9 个 STR 基因座及牙釉基因电泳分析如图 1。由此可以发现:即使片段大小相同,也可以通过标记不同种的荧光来加以识别。

表 1 4 种荧光染料激发光和发射光的波长及 9 个 STR 标记情况

荧光染料名称	化学名称	最大激发波长/nm	最大发射波长/nm	颜色	第一 STR 位点 (片段长度)	第二 STR 位点 (片段长度)	第三 STR 位点 (片段长度)
5-FAM	5-羧基荧光素	493	522	蓝色	D3S1358 (114~142 bp)	VWA (157~197bp)	FGA (219~267bp)
JOE	6-羧基-2,7-二甲氧基-4,5-二氧荧光素	528	554	绿色	D8S1179 (28~168 bp)	D21S11 (189~243 bp)	D18S51 (273~341 bp)
NED	*	553	575	黄色	D5S818 (135~171 bp)	D13S317 (206~234 bp)	D7S820 (258~294 bp)
CXR**	6-羧基-x-若丹明	587	607	红色			

* NED 为 ABI 公司专利产品,化学名称不详; ** 用于标记 ROX-500 内标。

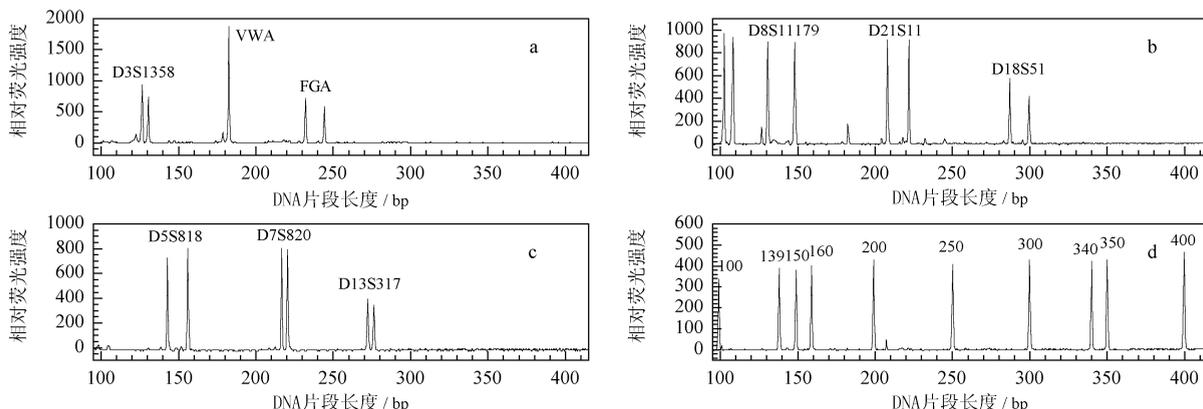


图 1 某犯罪嫌疑人 9 个 STR 基因座位点及性别基因电泳图

a. 5-FAM 标记(蓝色); b. JOE 标记(绿色); c. NED 标记(黄色); d. CXR 标记(红色)。

收稿日期: 2002-12-26

作者简介: 张海军,男,1973 年生,硕士研究生, Tel (028) 88096971, E-mail: zhhajun@sohu.com.