

紫外照射对潜血指纹 DNA 检验的影响

施 健¹ 宋佳宾² 刘 敏¹ 彭长德¹

(¹徐州师范大学物理与电子工程学院, 江苏 徐州 221116)
²南通市公安局刑警支队, 江苏 南通 226007)

摘要 利用 3130XL 遗传分析仪研究了不同客体上的潜血指纹经过紫外照射后对于 DNA-短串联重复序列 (STR) 分型图谱的影响。结果表明, 渗透性客体上潜血指纹的 DNA 在紫外照射后损害程度高于非渗透性客体; 在等量时间的紫外照射下, 随着浓度的稀释, 能够检出的基因座数逐渐减少。

关键词 生物光学; DNA 基因型; 短串联重复序列分型; 潜血指纹; 紫外照射

中图分类号 O657.319 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/LOP48.031701

Effects of DNA Testing after Ultraviolet Irradiation on Latent Blood Fingerprints

Shi Jian¹ Song Jiabin² Liu Min¹ Peng Changde¹

(¹College of Physics and Electronic Engineering, Xuzhou Normal University,
Xuzhou, Jiangsu 221116, China
²Nantong Public Security Bureau, Nantong, Jiangsu 226007, China)

Abstract The effects of DNA-short tandem repeat (STR) profiling about latent blood fingerprints on different surfaces are studied by 3131XL genetic analyzer which are irradiated by ultraviolet light. Results show that the DNA of latent blood fingerprints on porous surfaces is damaged worse than that on non-porous surfaces after ultraviolet irradiation. In the same amount of time of ultraviolet irradiation, with the concentration of the dilution, the detected number of STRs is gradually reduced.

Key words bio-optics; DNA genotype; short tandem repeat typing; latent blood fingerprint; ultraviolet irradiation

OCIS codes 170.0170; 110.0110; 120.0120

1 引 言

短串联重复序列 (STR) 又称微卫星 DNA (micro satellite DNA), 是一类广泛存在于人类基因组中的 DNA 多态性基因座。STR 基因位点长度一般在 100~300 bp 之间, 因个体间 DNA 片段长度或 DNA 序列差异而成高度多态性, 且具有基因片段短、扩增效率高、判型准确等特点, 因此被广泛应用于法医学个体识别和亲子鉴定等领域^[1~4]。短波紫外用于现场潜血指纹的发现比较普遍, 尽管细胞中的 DNA 对于紫外辐射具有一定的修复功能^[5~8], 但短波紫外线对血细胞中 DNA 成分还会产生很大的破坏作用, 从而影响潜血指纹 DNA 的检测效果。短波紫外对 DNA 的破坏作用主要表现在相邻的嘧啶碱基之间形成环丁烷环, 从而抑制了聚合酶介导的链延伸反应^[9~11]。目前, 紫外辐射对 DNA 影响的研究引起了国内外众多学者的兴趣^[12~16]。但是目前国内研究的客体比较单一, 如刘开会等^[17]研究紫外线不同时间照射对滤纸上血斑 STR 位点检验的影响, 林靖龙等^[18]研究短波紫外线照射对血涂片 DNA 检验的影响等, 都未考虑血液浓度效应的影响。

收稿日期: 2010-09-29; 收到修改稿日期: 2010-11-24

基金项目: 徐州师范大学“国家自然科学基金预研项目”(09XL Y04)资助课题。

作者简介: 施 健(1984—), 男, 硕士研究生, 主要从事生物医学光子学方面的研究。E-mail: 15162257671@139.com

导师简介: 彭长德(1960—), 男, 博士, 教授, 主要从事生物医学光子学和激光理论等方面的研究。

E-mail: pengchangde@126.com

3130XL 遗传分析仪由于其具有微量检测,精确度高,操作方便等优点而被广泛应用于 DNA 检测与分析。利用 3130XL 基因分析仪研究了渗透性客体(白纸)和非渗透性客体(玻璃)上不同浓度的潜血指纹经过短波紫外辐射后对 DNA 的影响,得到了血液浓度与能检测的基因座数的关系。刑侦取证过程中提取潜血指纹时往往需要对其进行紫外照射,而该照射会对潜血指纹中的 DNA 产生破坏作用。

2 材料与方法

2.1 实验样本的制作

收集 10 个不同个体的新鲜血液各 5 mL(南通大学附属医院提供),取 10 块清洗干净的白瓷板,分别编号为 1~10 号,用移液器分别吸取 200 μL 新鲜血液于白瓷板第 1 孔内,用移液器分别吸取 180 μL ,180 μL ,180 μL ,20 μL ,30 μL 生理盐水置于白瓷板第 2,3,4,5,6 孔内,从第 1 孔内取出 20 μL 加入第 2 孔内,均匀混合,再从第 2 孔内取出 20 μL 加入第 3 孔内。依次类推,最终配成的血液浓度依次为原液,1/10,1/100,1/1000,1/2000,1/5000。

渗透性客体潜血指纹的制作:分别取 6 种浓度的血液 2 μL ,涂抹在干净的白纸上,所涂面积为 2 cm \times 1.5 cm,做成潜血指纹,共 60 枚。非渗透性客体潜血指纹的制作:分别取 6 种浓度的血液 2 μL ,涂抹在干净的玻璃板上,所涂面积为 2 cm \times 1.5 cm,做成潜血指纹,共 60 枚。

2.2 短波紫外线照射潜血指纹

光源为台式短波紫外灯(Sirchie Krimesite Scope),发射波长为 254 nm,功率为 6 W,电压为 13.2 V,电流为 5 A,紫外灯光管离台面垂直距离 12.5 cm,分别照射普通白纸上和玻璃上的潜血指纹,分两种情况进行讨论,无紫外照射和紫外照射 1 min。

2.3 DNA 提取

将白纸上的潜血指纹逐一完整剪下,剪碎后分别放入 1.5 mL 的离心管内;用两步擦拭法擦拭玻璃板上的潜血指纹,直至擦净为止,分别放入 1.5 mL 的离心管内。使用硅珠法提取试剂(ABI 公司),将上述所有检材按硅珠法^[19]提取 DNA,最后模板溶于 60 μL TC(1 mL1 mol/L Tris. Cl pH8.0 加水到 100 mL)中。

2.4 PCR 扩增

使用 Identifiler 试剂盒(ABI 公司),采用 10 μL 反应体系。其中包括:PCR 缓冲液 4.4 μL ,引物 2.2 μL ,Taq GoldTMDNA 聚合酶 0.2 μL ,模板 4 μL ,混匀瞬时离心后置于 ABI9700 扩增仪(ABI 公司)中进行扩增。

2.5 仪器与扩增产物分离与检测

扩增产物经 ABI3130XL 遗传分析仪(ABI 公司)检测,GeneMapperID3.2 软件分析得到分型结果。

3 结果与讨论

图 1 是 DNA-STR 分型原理图,从图中可以看到这一等位基因分型标准物(Allelic ladder)中包含 205 个等位基因,可对 15 个 STR 和性别分型 Amelogenin 基因座的复合扩增产物进行基因型分型,各个基因座位于不同的染色体上。

D8S1179,D21S11,D7S820,CSF1PO 这些基因座用 6-FAM 荧光染料进行染色,发出的荧光光谱在可见光的蓝色区域;D3S1358,TH01,D13S317,D16S539,D2S1338 这些基因座用 VIC 荧光染料进行染色,发出的荧光光谱在可见光的绿色区域;D19S433,VWA,TPOX,D18S51 这些基因座用 NED 荧光染料进行染色,发出的荧光光谱在可见光的黄色区域;AMEL,D5S818,FGA 这些基因座用 PET 荧光染料进行染色,发出的荧光光谱在可见光的红色区域;

分子量内标采用 LIZ 荧光染料进行染色,发出的荧光光谱在可见光的橙色区域。6-FAM,VIC,NED,PET,LIZ 这 5 种荧光染料都是 ABI 公司专利。采用 488 nm 和 514.5 nm 气态氩离子激光器(Ar^+)激发这些荧光染料而发出荧光。图 1 代表了人类存在的常见等位基因图,荧光光谱的峰高和峰面积表示 DNA 量的多少。横坐标表示经毛细管电泳后,各个基因座等位基因的长度,单位为 bp;纵坐标表示相对荧光强度,

单位为 AFU。

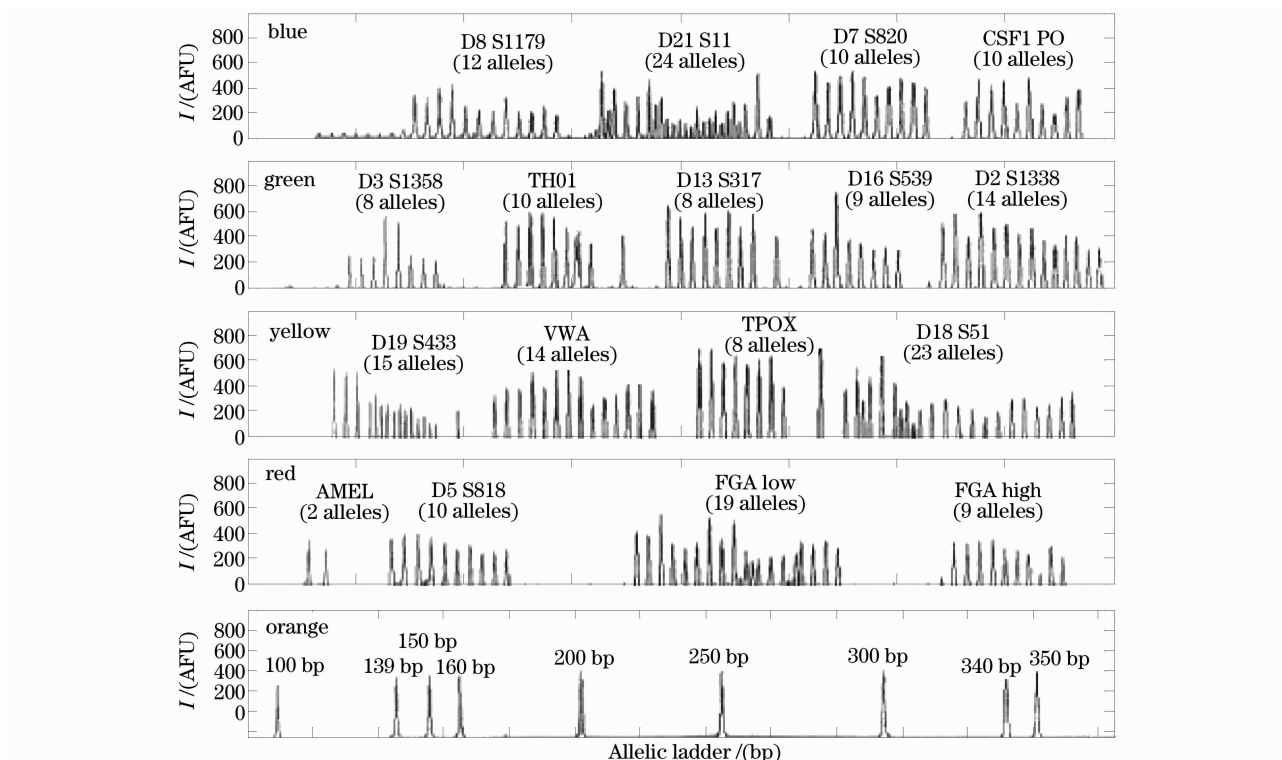


图 1 AmpFlSTR identifer™ 试剂盒中的等位基因 ladder

Fig. 1 AmpFlSTR identifer™ allelic ladders

图 2 是 1 号血样未稀释也未经紫外照射的潜血指纹 DNA-STR 分型图,从图中可以看到荧光光谱的峰位很高,这是由于潜血指纹未经稀释和未用短波紫外照射,DNA 浓度未降低和 DNA 未受到破坏。16 个 STR 都被检测到,分别为:D8S1179 13 15,D21S11 29 30,D7S820 10 12,CSF1P0 12,D3S1358 15 16,TH01 9,D13S317 8 10,D16S539 10 11,D2S1338 19,D19S433 13 14,VWA 14 17,TPOX 8 12,D18S51 13 14,AMEL X Y,D5S818 10 11,FGA 22 26。

白纸和玻璃板上的潜血指纹,不同浓度下检出完整 STR 基因型的情况见表 2。实验中每个检材中潜血面积和厚度大小一致,则随着血液浓度的逐渐下降,血液中血细胞的总量也随之下落,所以检测到的基因座的数目也在减少。由表 2 可知:对于 9 个以上的基因座才明显具有个体识别能力,实验结果发现白纸上未照射的对照组,当血液浓度达到 1/2000 时,检出基因座数少于 9 个;当血液浓度达到 1/5000 时,完全检不出基因型。白纸上紫外照射 1 min,浓度在 1/100 时,检出基因座数少于 9 个;浓度 1/1000 时,完全检不出基因型。玻璃上未照射的对照组,当血液浓度达到 1/2000 时;检出基因座数少于 9 个,当血液浓度达到 1/5000 时,完全检不出基因型。玻璃上紫外照射 1 min,浓度在 1/1000 时,检出基因座数少于 9 个;当血液浓度为 1/2000 时,完全检不出基因型。

根据表 1 中的数据,以 1 号血样为例,当潜血指纹经紫外照射 1 min 后,得到白纸和玻璃上潜血指纹 DNA 的基因座数 n 与浓度 c 的关系曲线,如图 3。从图 3 发现玻璃上的潜血指纹 DNA 比白纸上的潜血指纹 DNA 经紫外照射后损害程度小一些,其他血样类似。

在相同浓度和相同照射时间下玻璃上潜血指纹检出 DNA 基因型的效率明显优于白纸上潜血指纹。考虑白纸是渗透性客体,当血液接触到白纸后很快渗透入白纸内,在白纸的表面留下了一层较薄的血细胞,当紫外照射时,直接照射薄层血细胞,随着照射时间的延长,破坏 DNA 的范围越来越广,数量越来越多,最终导致检不出基因型;而玻璃是非渗透性客体,当血液接触到玻璃后,血液成分完整地保留在玻璃的表面,血细胞呈叠加状。当紫外照射时,直接照射表层血细胞,破坏表层血细胞 DNA 的结构,由于短波紫外的穿透能力很弱,无法穿透整个血细胞层,所以随着照射时间的延长,潜血指纹表面的血细胞受到不同程度的破坏,而

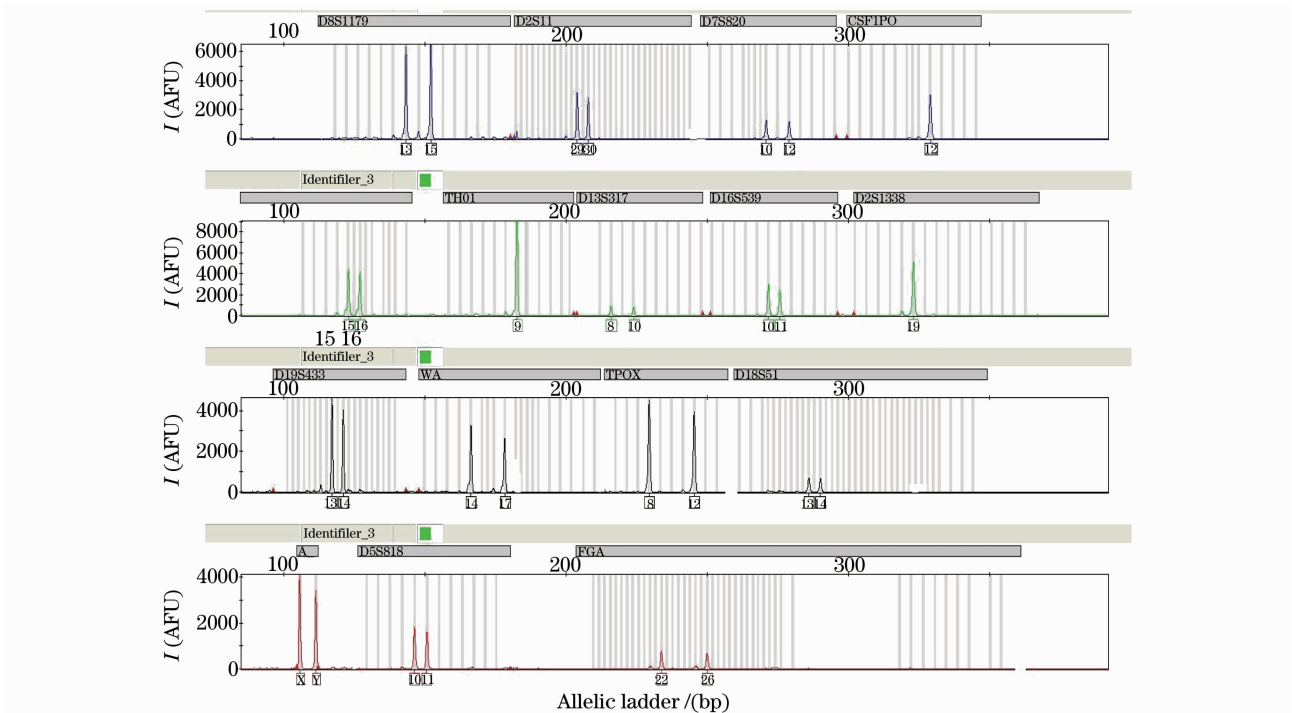


图 2 白纸上未照射原液潜血指纹 STR 分型图

Fig. 2 STR profiling of the latent blood fingerprint which is not diluted on the paper

表 1 不同客体不同浓度不同照射时间下检出的完整 STR 基因座的个数

Table 1 Number of STRs detected on different surfaces, and in different concentration and in different time of ultraviolet irradiation

Concentration		Number of STRs on the paper						Number of STRs on the glass					
		1	1/10	1/100	1/1000	1/2000	1/5000	1	1/10	1/100	1/1000	1/2000	1/5000
No. 1	not irradiated	16	16	16	14	4	/	16	16	16	13	2	/
	1 min	16	10	5	/	/	/	16	16	10	5	/	/
No. 2	not irradiated	16	16	16	13	2	/	16	16	16	10	2	/
	1 min	16	10	5	/	/	/	16	16	9	5	/	/
No. 3	not irradiated	16	16	16	14	3	/	16	16	16	11	4	/
	1 min	16	12	4	/	/	/	16	16	13	5	/	/
No. 4	not irradiated	16	16	16	12	4	/	16	16	16	14	2	/
	1 min	16	10	3	/	/	/	16	16	9	5	/	/
No. 5	not irradiated	16	16	16	14	4	/	16	16	16	10	2	/
	1 min	16	10	5	/	/	/	16	16	10	5	/	/
No. 6	not irradiated	16	16	16	13	4	/	16	16	16	10	2	/
	1 min	16	10	5	/	/	/	16	16	10	5	/	/
No. 7	not irradiated	16	16	16	14	4	/	16	16	16	12	4	/
	1 min	16	10	6	/	/	/	16	16	10	5	/	/
No. 8	not irradiated	16	16	16	14	2	/	16	16	16	12	2	/
	1 min	16	12	5	/	/	/	16	16	12	5	/	/
No. 9	not irradiated	16	16	16	12	4	/	16	16	16	10	2	/
	1 min	16	13	5	/	/	/	16	16	10	5	/	/
No. 10	not irradiated	16	16	16	14	4	/	16	16	16	11	2	/
	1 min	16	10	5	/	/	/	16	16	10	4	/	/

内层的血细胞不容易受到破坏。从而得出在渗透性客体上的潜血指纹在短波紫外照射后对血细胞的破坏程度明显强于非渗透性客体上。

短波紫外照射潜血指纹时,单位面积内破坏血细胞的总量应该是一致的。随着血液浓度的下降,紫外线和血细胞接触的比例逐渐增加,紫外线对血细胞破坏的比例也会增加。故随着潜血指纹浓度的不断下降,紫外照射后潜血指纹中有效血细胞的量越来越少,检出的基因型也越来越少。

Julia Andersen 等^[20]发现短波紫外线照射 30 s 后样本 DNA 大片段明显减少,甚至无法检测到 DNA 片段。实验表明潜血指纹经过 1 min 的紫外照射,对血细胞的破坏程度很明显,DNA 的检出效率会明显降低,尤其在渗透性客体上的潜血指纹表现得更为明显。

在实际案例的现场勘查中,对潜血指纹进行短波紫外照射时,血指纹的厚薄程度^[20],浓度大小,不同客体以及对血指纹照射时间的长短,都是影响 STR 基因型检验效果的不同因素,在工作中要加以注意,尤其注意在渗透性客体上的潜血指纹,紫外照射时间尽量控制在 30 s 以内,以减少对 DNA 的破坏作用。

4 结 论

利用 3130XL 遗传分析仪研究了不同客体上的潜血指纹经过紫外照射后对于 DNA-STR 分型图谱的影响。结果表明,对潜血指纹进行短波紫外照射时,血指纹的厚薄程度,浓度大小,不同客体以及对潜血指纹照射时间的长短,都是影响 STR 基因型检验效果的不同因素。渗透性客体上潜血指纹的 DNA 在紫外照射后损害程度高于非渗透性客体;在等量时间的紫外照射下,随着浓度的稀释,能够检出的基因座数逐渐减少。本文对案件现场的证据提取具有一定的参考价值。

参 考 文 献

- Christian M. Ruitberg, Dennis J. Reeder, John M. Butler. STRBase: a short tandem repeat DNA database for the human identity testing community[J]. *Nucleic Acids Res.*, 2001, **29**(1): 320~322
- C. Thiede, M. Bornhauser, G. Ehninger. Evaluation of STR informativity for chimerism testing comparative analysis of 27 STR systems in 203 matched related donor recipient pairs[J]. *Leukemia*, 2004, **18**(1): 248~254
- John M. Butler, Yin Shen, Bruce R. McCord *et al.*. The development of reduced Size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA[J]. *J. Forensic Sci.*, 2003, **48**(5): 1054~1064
- David R. Young, Zaw Tun, Katsuya Honda. Identifying sex chromosome abnormalities in forensic DNA testing using amelogenin and sex chromosome short tandem repeats[J]. *J. Forensic Sci.*, 2001, **46**(2): 346~348
- A. R. Lehmann, S. Kirk-Bell, C. F. Arlett *et al.*. Xeroderma pigmentosum cells with normal levels of excision repair have a defect in DNA synthesis after UV-irradiation[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1975, **72**(1): 219~223
- Martin L. Smith, James M. Ford, M. Christine *et al.*. p53-mediated DNA repair responses to UV radiation: studies of mouse cells lacking p53, p21, and/or gadd45 genes[J]. *Mol. Cell. Biol.*, 2000, **20**(10): 3705~3714
- J. Venema, L. H. F. Muttenders, A. T. Natarajan *et al.*. The genetic defect in Cockayne syndrome is associated with a defect in repair of UV-induced DNA damage in transcriptionally active DNA[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1990, **87**(12): 4707~4711
- Wang Rui, Gou Zhouyi, Zeng Changchun. Repair of DNA lesions induced by ultraviolet irradiation[J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2008, **12**(2): 348~352
- 王 睿, 郭周义, 曾常春. 紫外辐射引起 DNA 损伤的修复[J]. *中国组织工程研究和临床康复*, 2008, **12**(2): 348~352
- Zhou Dianfeng, Ke Weizhong, Ji Kang *et al.*. Protective effect of vitamin C on ultraviolet radiation-induced DNA damage [J]. *Acta Optica Sinica*, 2005, **25**(5): 643~646
- 周殿凤, 柯惟种, 籍 康 等. 维生素 C 对紫外线诱发 DNA 损伤的保护作用[J]. *光学学报*, 2005, **25**(5): 643~646
- Lederer T., Seidl S., Graham B. *et al.*. A new pentaplex PCR system for forensic casework analysis[J]. *Int. J. Legal. Med.*, 2000, **114**(1-2): 87~92

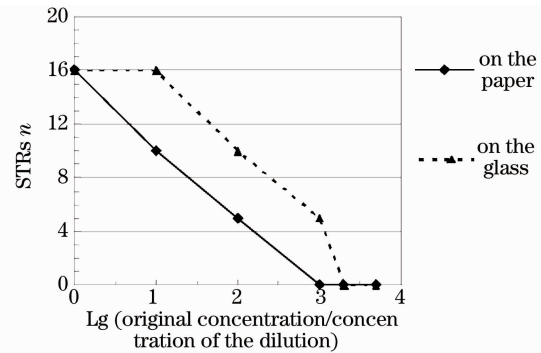


图 3 潜血指纹基因座数 n 与浓度 c 的对数关系
Fig. 3 Relationship between STRs and the concentration of the latent blood fingerprints

- 11 Xu Yiming, Zhang Zhiyi. Raman spectroscopic study of structural photodamage of biomembrane and DNA sensitized by hypocrellin and its derivatives[J]. *Chinese Journal of Light Scattering*, 1998, **10**(2): 68~75
许以明, 张志义. 竹红菌素及其衍生物敏化的生物膜和 DNA 结构光损伤的 Raman 光谱研究[J]. 光散射学报, 1998, **10**(2): 68~75
- 12 Andraw Braun, Lawrance Grossman. An endonuclease from escherichia coli that acts preferentially on UV-irradiated DNA and is absent from the uvrA and uvrB mutants[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1974, **71**(5): 1838~1842
- 13 Irwin Tessman, Shi-Kau, Matthew A. Kennedy. Mechanism of SOS mutagenesis of UV-irradiated DNA: Mostly error-free processing of deaminated cytosine[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1992, **89**(4): 1159~1163
- 14 B. Stein, H. J. Rahmsdorf, A. Steffen *et al.*. UV-induced DNA damage is an intermediate step in UV-induced expression of human immunodeficiency virus type 1, collagenase, c-fos, and metallothionein[J]. *Mol. Cell. Biol.*, 1989, **9**(11): 5169~5181
- 15 Margaret L. Kripke, Patricia A. Cox, Lori G. Alas *et al.*. Pyrimidine dimers in DNA initiate systemic immunosuppression in UV-irradiated mice[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1992, **89**(16): 7516~7520
- 16 Kimiko Ito, Sumiko Inoue, Koji Yamamoto *et al.*. 8-Hydroxydeoxyguanosine formation at the 5' site of 5'-GG-3' sequences in double-stranded DNA by UV radiation with riboflavin[J]. *J. Biol. Chem.*, 1993, **268**(18): 13221
- 17 Liu Kaihui, Li Lin, Wang Chuanhai *et al.*. The effects of STR loci about blood stains after different time of UV C irradiation[J]. *Journal of Forensic Medicine*, 2002, **18**(1): 33~34
刘开会, 李琳, 王传海等. 紫外线不同时间照射对血斑 STR 位点检验的影响[J]. 法医学杂志, 2002, **18**(1): 33~34
- 18 Lin Jinglong, Wang Xiaoli. The effects of the test of DNA about blood smears irradiated by UV C[J]. *Chinese Journal of Forensic Medicine*, 2004, **19**(s1): 21~22
林靖龙, 王孝力. 短波紫外线照射对血涂片 DNA 检验的影响[J]. 中国法医学杂志, 2004, **19**(s1): 21~22
- 19 Wang Linsheng, Su Yong, Gu Lingang. The extraction of PCR template DNA by silica pearls method[J]. *Chinese Journal of Forensic Medicine*, 2000, **15**(1): 36~37
王林生, 苏勇, 顾林岗. 硅珠法提取 PCR 模板 DNA[J]. 中国法医学杂志, 2000, **15**(1): 36~37
- 20 Julia Andersen, Simon Bramble. The effect of fingerprint enhancement light sources on subsequent PCR-STR DNA analysis of fresh bloodstains[J]. *J. Forensic Sci.*, 1997, **42**(2): 303