

浅谈接触性 DNA 的检测方法及影响因素

万志波*

(广东广安法医临床司法鉴定所, 广州 510000)

摘要: 人在接触物体后, 会在物体表面留下接触性 DNA, 其分型结论在案件的侦查中起到关键性的证据作用。随着案件量的增多, 接触性生物检材在实际检案中所占的比例显著增加, 但是从中成功检测出 DNA 是重难点。本文探讨了接触性 DNA 的检测方法及影响因素, 从接触性 DNA 的来源、现场发现、前期处理、DNA 的提取方法、扩增方法、电泳及结果分析、检出率的影响因素以及在实际中的应用等进行综述, 以为侦查实战工作在接触性检材的现场发现, 提取及成功检测分型方面提供思路与方法。

关键词: 法医遗传学; 接触性 DNA; 法医物证; 脱落细胞; STR 分型

0 引言

目前, 犯罪嫌疑人的反侦查意识及反侦查能力不断增强, 现场接触性检材容易被其忽视而遗留在现场, 因此此类接触性检材的 DNA 检测在案件侦破中发挥的作用也越来越大^[1]。接触性 DNA (Touch DNA) 是指人体与检材相接触后, 遗留在检材表面的脱落细胞内含有的遗传物质^[2]。其特点是: 载体大, 易污染, 易降解, DNA 含量少, 很难将载体上的 DNA 有效地进行富集等。另外, 接触性检材接触细胞量的多少受接触人皮肤的干湿程度、接触的力度、时间等多种因素影响, 不同类型甚至同一类型的接触性检材提取的 DNA 量差别也很悬殊^[3]。因此接触性 DNA 检测面临双重挑战: 一是微量样本难以满足高质量 DNA 图谱的生成需求; 二是检材稀缺性限制了复检的可能性。本文旨在阐述接触性 DNA 的检测方法及影响因素, 为成功检测其 DNA 分型方面提供思路与方法。

1 接触性 DNA 在法医物证中的应用

人体无时无刻不在进行新陈代谢, 皮肤是人体最大的器官, 凡两个物体相互接触, 就会产生转移现象^[4]。因此, 犯罪现场通常遗留有犯罪分子的脱落细胞, 成为接触性 DNA 的主要来源。通过对脱落细胞进行分离与鉴定, 并结合短串联重复序列 (STR) 或 Y 染色体特异性短串联重复序列 (Y-STR) 的基因分型技术, 可实现个体识别及亲缘关系推断。该方法不仅能在案件侦办过程中迅速确认或排除犯罪嫌疑人身份, 还能在缺乏明确嫌疑人信息的情况下, 通过构建家族遗传谱系进行关联分

析, 从而为案件调查提供重要线索。微量接触 DNA 技术在法医物证领域具有重要的应用价值, 尤其在系列犯罪案件的侦破工作中表现突出。对于那些作案时间跨度大、地理分布广的案件类型, 通过微量接触 DNA 的基因分型结果与数据库比对, 能够为案件的关联性分析提供科学依据。

2 接触性 DNA 的现场发现

与常规生物检材 (血痕、精斑等) 相比, 接触性检材用肉眼很难判断脱落细胞在载体上的存在部位及其数量。杨电等^[5]研究表明茚三酮熏显技术可用于指导案件中脱落细胞的发现采集。蔡能斌等^[6]报道波长为 266 nm 的紫外光照射会严重影响指纹脱落细胞的 DNA 检验, 但对血迹、唾液斑、含毛囊的毛发的 DNA 检验影响较小, 因此在现场勘查应慎用紫外激光。由于接触性 DNA 具有含量少的特点, 在其发现提取中应特别小心避免二次污染及转移, 在包装及运送过程中如操作不慎也会对接触性 DNA 的检测结果产生巨大影响, 因此现场勘查人员必须重视防污染。

3 接触性 DNA 的前期处理

接触性 DNA 的前期处理在后期能成功检测出基因分型具有至关重要的意义。它不仅能够有效提取并保护微量 DNA 证据, 为后续的分析 and 鉴定提供可靠的基础; 还能够保护 DNA 证据免受进一步降解或污染的风险; 同时, 还能够提高案件侦破的效率和准确性。以下针对不同载体提出不同的前期处理方法。

* 通信作者: 万志波, 研究方向为法医物证学。E-mail: 3554365217@qq.com

3.1 直接剪取法

适用于脱落细胞相对量大的载体检材，如烟蒂、口香糖、纸巾等，可直接剪取适量置于 EP 管。其主要优势在于能够便捷取得单一分型数据，然而在实施过程中不可避免地造成样本载体的结构性损伤。值得注意的是，残留的载体物质可能对后续 DNA 扩增效率产生抑制作用，进而影响检测灵敏度。

3.2 两步擦拭法

适用于材质较坚韧、非渗透性的载体检材，如水瓶口、果核、锤柄等。通常采用棉签干湿两步擦拭法^[7-8]，将载体上的 DNA 转移至棉签上。

3.3 脱落细胞粘取器粘取法

脱落细胞粘取器粘取法对具有刚性基质、低摩擦特性且表面呈非渗透性界面的物证载体展现出显著适配性，尤其适用于接触面积受限的生物检材提取场景^[9]，能较好地掌控富集范围。

3.4 负压吸引法

该技术方案在柔性基质、高摩擦表面或具有广域接触界面的生物检材中展现出更优的适配性，特别针对多孔性介质材料的痕量物证提取具有显著优势，如衣服、裤子、鞋子、帽子、手套等。对于衣服、裤子类载体，用脱落细胞提取仪在衣领、袖口等直接接触人体皮肤处吸取；对于手套类载体，翻转后吸取内面的掌指部位，最后从脱落细胞提取仪上取下三层滤膜分别用三个 EP 管处理。

3.5 振荡冲洗法

振荡冲洗法在微尺寸刚性基质载体的处理中展现独特优势，其动态流体置换机制可有效控制外源性干扰，通过洗脱动力学参数可编程调控实现靶标核酸富集优化。

4 接触性 DNA 的提取方法

4.1 Chelex-100 法

Chelex-100 法^[10]适用限度大、提取时间短、使用成本低，操作过程只需要在一个 EP 管中进行，对检材的损耗和污染较少。缺点是在生物分子纯化过程中存在残留杂质抑制效应 (RIIE≈12%~18%)，其最佳应用场景集中于具备低背景干扰特性 (BII < 0.3) 且生物负载量 > 10⁴ 细胞/μL 的样本类型。

4.2 磁珠法

磁珠法^[11]灵敏度较高，操作过程中无需离心，杂质少、检材损失少，提取的 DNA 纯度较高，适用于微量、污染严重的检材。

4.3 硅珠法

硅珠法^[12]拥有高灵敏度、回收 DNA 纯度高等优点，离心套管因不需要换管，减少了洗脱次数从而加大了提取量，容易获得更有检测价值的样本，对检材要求低，限制小，因此更广

泛应用于法医学实验室。

4.4 直扩法

直扩法^[13]因简化了操作步骤使得 DNA 损失较少，从而提高了检出率，但只适用于洁净、保存较好的检材。

5 接触性 DNA 的扩增方法

除了有正确的提取方法之外，要达到最好的微量接触性 DNA 的检验结果，就应当选取适用的扩增方法。扩增对后续电泳检测分析的具体影响主要有二，一是扩增效率：如果 PCR 扩增效率高，产物纯度高，电泳结果通常表现为单一的条带，便于分析判断。反之，如果扩增效率低或产物不纯，电泳结果可能会出现多条带，干扰实验结果判断；二是产物纯度：闻新棉等^[14]认为 PCR 扩增过程中，如果存在引物二聚体或其他非特异性产物，这些杂质会在电泳时形成额外的条带，影响结果的准确性。引物二聚体是由于引物自身互补或退火温度不当等原因形成的非特异性产物，会在电泳时干扰目标条带的识别。

在微量生物证据的 STR 分型过程中，采用多维参数优化策略可显著提升检测效能。一般来说，通过增加 PCR 循环数，低至 100 pg 的 DNA 样本均能获得 STR 分型结果。Luke 等^[15]认为使用 28 循环 + 纯化 + 多进样的方法能得到相同或更好的数据结果。毛坤云等^[16]报道载体法可提高微量生物检材中的 DNA 检出率。

6 接触性 DNA 的电泳及结果分析

在毛细管电泳技术中，调控电场强度参数 (8~12 kV) 与延长迁移时间 (15~30 s) 可有效提升 PCR 扩增物的电渗载量，使 DNA 检测限降低至 0.1 ng/μL。经实验验证，产物纯化处理可使信号强度提升 (2.3±0.5) 倍 (n=15)，其作用机制源于电动进样过程中 DNA 迁移效率与电解液离子强度呈负相关。因此，预电泳脱盐处理的本质是建立低电导环境，优化荷质比以增强电迁移率。针对接触性生物检材属于低拷贝 DNA (LCN) 范畴的特点，其 STR 分型检测常面临等位基因丢失、非特异性扩增或峰高失衡等技术挑战。为确保分型结果的可靠性，需在实验中引入阳性和阴性对照体系以验证操作流程的稳定性。Aditya 等^[17]认为重复分型的结果比较可鉴别出伪峰，并提供一个完善的图谱，重复扩增以确认一致性是必需的。

7 影响接触性 DNA 检出的因素

7.1 载体属性

根据载体基质理化性质的差异 (包括表面形貌、孔隙结构及浸润性等参数)，其与接触性 DNA 的分子间作用力呈现显著梯度变化。研究显示：①载体污染物类型直接影响核酸酶活性及氧化应激水平，加速 DNA 链断裂与碱基修饰；②特定材质表

面(如多孔陶瓷或疏水聚合物)可通过氢键/范德华力引发 DNA 构象改变,甚至形成共价结合,此类分子互作已被 AFM 表征证实。上述因素均可影响接触性 DNA 的检出率。范光耀等^[18]报道塑料类客体表面上的 DNA 检出成功率优于玻璃、金属、木质和橡胶类客体。吴渊虬^[19]认为在接触性 DNA 检材上使用刮取法采集脱落细胞进行 STR 分型检测的效果优于擦拭法,且在透明胶带上的差异最明显。

7.2 个体差异

个体间表皮细胞脱落难易度存在差异,干性肤质因皮脂腺分泌不足,角质层细胞更易发生脱离,而油性皮肤由于皮脂较多,表皮细胞则不容易脱落。敖健恒等^[20]认为手掌汗孔密度与接触性 DNA 的检出率无相关性,说明汗孔密度不是接触性 DNA 检出率的主要影响因素,或不是其唯一影响因素。

7.3 提取时间和所处环境

生态暴露下的脱落细胞易受外源性污染、生物分解及迁移作用;离体状态下其自体溶解过程可诱发遗传物质链式降解。

7.4 性别、年龄差异

发育阶段差异性导致细胞再生速率梯度变化,致使生物标记物存留量与个体生命周期呈现显著关联性;性别因素对脱落细胞源性遗传信息可检出性具有调控效应,归因于行为模式差异及代谢基线水平分化。

7.5 人为因素

技术主体操作偏向性对接触 DNA 分析效能存在显著影响,其技术决策差异(涵盖样本预处理流程、核酸富集策略、扩增体系及检测参数)会显著调控遗传信息捕获效能。

8 小结与启示

接触性 DNA 检测方法是指从与人体皮肤黏膜接触过的物品上提取 DNA 样本进行分析的技术方法,选择时需根据检材的具体情况和实验条件来决定。接触性 DNA 检验面临的主要挑战包括如何从微量样本中提取足够的 DNA、减少外源污染、提高 DNA 提取的纯度和浓度等。未来的研究方向可能包括开发更高效的提取技术、优化提取纯化方法,以及探索新的应用领域,如个人身份识别、遗传疾病筛查等。

参考文献

[1] 高琳琳,洪亮,叶慧薇,等.脱落上皮细胞类生物检材的自动化提取[J].刑事技术,2011,(02):14-15.
 [2] 吴婷,朱洪建,陈瑶清,等.针对不同浓度范围的接触性DNA比较几种常见纯化方法[J].山东化工,2020,49(03):47-48.
 [3] 杨电,刘超,徐曲毅,等.DNAIQ磁珠法结合MaxwellTM16自动仪提取接触DNA[J].刑事技术,2011,(03):3-5.
 [4] BYARD RW, JAMES H, BERKETA J, *et al.* Locard's

principle of exchange, dental examination and fragments of skin [J]. J Forensic Sci, 2016, 61(02): 545-547.
 [5] 杨电,刘超,徐曲毅,等.茚三酮熏显法在人体接触细胞发现采集中的应用[J].中国司法鉴定,2012,(05):105-107.
 [6] 蔡能斌,顾丽华,黄晓春,等.紫外激光探测对常见现场生物物证DNA检验的影响[J].影像技术,2011,(06):26-29.
 [7] PANG BCM, CHENG BKK. Double Swab Technique for Collecting Touched Evidence [J]. Legal Med, 2007, (09): 181-184.
 [8] 袁则平.棉签二次转移法有效提取现场手套印脱落细胞DNA[J].刑事技术,2013,(05):50-51.
 [9] 赵春鹤,郭业明,陈红英,等.利用脱落细胞粘取器提取接触类检材DNA的方法[J].广东公安科技,2013,21(04):54-55.
 [10] 刘开会,李兆隆,常彩琴.用Chelex100法及有机溶剂提取法联合提取DNA扩增STR基因座的比较研究[J].中国法医学杂志,2001,(02):84-86.
 [11] 凌洁,王昊,张帅,等.磁珠法半自动提取全血基因组DNA条件的优化[J].浙江大学学报(医学版),2012,41(03):320-326.
 [12] 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,(01):36-37.
 [13] 焦志.直接扩增法提取脱落细胞DNA[J].海峡科学,2015,(11):20-21.
 [14] 闻新棉,陈英剑,胡成进,等.实时荧光定量检测中引物二聚体的优化[J].国外医学(临床生物化学与检验学分册),2005,(07):65-57.
 [15] LUKE F, THOMSON J, KUTRANOV S. Direct Comparison of Post-28-Cycle PCR Purification and Modified Capillary Electrophoresis Methods with the 34-Cycle "low copy number" (LCN) Method for Analysis of Trace Forensic DNA Samples [J]. Forensic Sci Inter Genet, 2008, (02): 318-328.
 [16] 毛坤云,周建清,顾西蒙,等.载体法检验微量检材DNA[J].法医学杂志,2008,24(6):439-441.
 [17] ADITYA S, SHARMA AK, BHATTACHARYYD CN, *et al.* Generating STR profile from "Touch DNA" [J]. J Forensic Legal Med, 2011, (18): 295-298.
 [18] 范光耀,鞠天格, AUSTIN WN, 等.法医检案中常见客体上接触性DNA检验效果比较[J].绍兴文理学院学报, 2024, 44(02): 78-87.
 [19] 吴渊虬.不同材质接触性DNA检材上脱落细胞采集方法对STR分型的影响[D].苏州:苏州大学,2016,
 [20] 敖健恒,缪磊,王慧颖,等.手掌接触性生物检材DNA检出率与汗孔密度的相关性研究[J].昆明医科大学学报, 2023, 44(06):136-142.