

PCR在检测人类发干性别中的应用

罗健杨 郭俊明 刘煦文 罗超权 杨英浩 伍新尧

(生物化学教研室)

摘要 从1~2cm发干中提取基因组DNA,以寡核苷酸 y_3 、 y_4 为引物,经过聚合酶链反应,扩增Y染色体特异的片段(446bp)。根据有无该片段的的存在来确定发干的性别。这种方法取材方便,灵敏度高、易于推广。本文还报道了利用本方法检测某案例中5根发干的性别,为侦破工作提供了线索。

关键词 聚合酶链反应;人类发干;性别鉴定

中图分类号 R527.3; D919

由于毛发常常是犯罪现场唯一能够得到的侦破案件的物证,因此国内外许多法医工作者都在研究毛发DNA的检测方法^[1-3]。聚合酶链反应(PCR)技术可以对单根毛发进行基因分析,如 β -球蛋白基因的研究^[1],性别鉴定^[2]和HLA-DQ α 分型等^[3]。这些报道中一个共同的特点是利用拔下的毛发,其发根中带有毛囊上皮细胞,含有相对大量的DNA^[4]。然而在实际案例中往往在现场只能找到自然脱落的毛发或由于搏斗、切割等原因只能找到一段毛发,这时鉴定发干的工作就显得十分重要。为此本文研究发干的性别鉴定以便应用于侦破工作中,现报道如下。

材料与方 法

材 料 ①已知性别的头发取自本室工作人员。②某公安局从嫌疑者(男性)手提袋中搜取的毛发检材(剔除混杂其中的纺织纤维)。

试 剂 蛋白酶K、SDS、Tris(Sigma产品)。FDSD高灵敏度人的性别鉴定试剂盒(复旦大学遗传所),其他试剂为国产分析纯。

方 法

1.发干DNA的提取及扩增 ①发干DNA提取:取已知性别的发干1~2cm,参照吴梅筠^[4]介绍的方法作适当改良提取DNA。②DNA扩增:按试剂盒说明书进行。③扩增DNA的电泳检测:用2%的琼脂糖凝

胶在TAE缓冲液中,4~5V/cm电泳1h,溴化乙锭染色后直接在紫外检测仪下观察结果。

2.盲测法 请他人取男、女性发干1cm和2cm各4例分别编号后,由作者提取DNA并作PCR法扩增DNA。

3.检 案 取送检的5根无根的发干各2cm,另取嫌疑者血痕1cm²和一根2cm的发干,按上述1.方法进行性别检测。

结 果 与 讨 论

10名正常男性的2cm发干DNA经PCR扩增后均可见446bp和124bp两条扩增带,而10名正常女性的2cm发干扩增后只见124bp扩增产物带。为了验证本方法的可靠性和所需发干长度,本研究采取了盲测法,性别判断结果全部正确。1cm发干仍可见清晰的扩增产物带,部分结果如图1所示。

送检的样品经PCR扩增后,结果3根为男性,2根为女性(图2),说明这5根发干来自不同性别的个体,为侦破工作提供了线索。

毛发的性别鉴定是个人识别的一个重要方面,PCR技术应用于法医学为毛发性别鉴定提供了一种有效的方法。由于犯罪现场获得的毛发往往不含发根而且有可能来自不同的个体,因此研究单根发干性别鉴定的方法是非常重要的。刘敬忠^[1]认为头发根部约0.5cm部分为提取DNA的有效部分,但本实验结果显示用

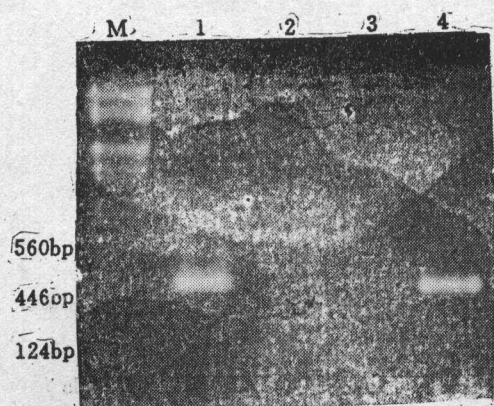


图1 人发干 DNA 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳

1, 2, 3, 4 分别为 1cm、2cm 男性发干;
2, 3 分别为 1cm、2cm 女性发干



图2 送检发干 DNA 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳

M: λ DNA/EcoR I + Hind III; 1. 2cm 女性发干 (阴性对照); 2, 3. 分别为 2cm 男性发干、1cm² 男性血痕 (阳性对照); 4~8: 2cm 送检发干

1~2cm 发干仍可提取到非常微量的 DNA。虽然用电泳方法一般检测不到,但扩增后的结果证明有模板 DNA 存在。由于毛发粗细有个体差异^[1],对于较纤细的毛发可取稍长的发段。

本研究采用复旦大学遗传所的试剂盒,用于判断性别的扩增片段为 446 bp,而男女都会产生(内参照)的片段为 124bp,两片段相差大,易于辨别,结果容易判断,值得推广。

参 考 文 献

1. 刘敬忠,唐奇志. 人头发DNA的提取及其基因扩增. 生物化学与生物物理学进展 1990; 17(3):202
2. 丁 兰,张思仲. 用发根及口腔上皮细胞进行性别诊断的研究. 遗传与疾病 1991;8(3):149
3. Higuchi R, et al. DNA typing from single hairs. Nature 1988;322:543
4. 吴梅筠,孙光云. 分析扩增DNA 序列测定人发的性别. 法医学杂志 1991;7(1):1
(1993-01-16收稿 1993-06-08修回)

SEX DETERMINATION OF HUMAN HAIR-TRUNK BY PCR AND ITS PRACTICAL USE

Luo Jianyang Guo Junming Liu Xuwen Luo Chaoquan

Yang Yinghao Wu Xun Yao

(Department of Biochemistry)

Sex determination of human hair is important in forensic biology. Usually, the hair-trunk could be found rather than the hair with its root in the crime scene, so the hair-trunk has to be used to determine the sex origin. A new method is reported in this paper. The genome DNA was extracted from 1~2cm hair-trunk and was amplified with the primers Y₃, Y₄, their sex origin was determined according to whether the 446bp amplified fragment existed or not. This method had been used in a case work.

Key words polymerase chain reaction; human hair-trunk; sex differentiation