



许冰莹, 女, 教授, 硕士研究生导师, 昆明医科大学教学名师, 民盟盟员, 国家级司法鉴定人, 云南省人民检察院特约人民检察员, 云南省民盟法制委员会委员, 昆明医科大学第 6 届学术委员会委员. 从事法医物证学教学、科研及社会服务工作 31 a. 1984 年毕业于昆明医科大学临床医学系, 留校在法医学系工作, 历任助教、讲师、副教授、教授, 法医物证学教研室主任, 1997 年 -2000 年就读于昆明医科大学生化及分子生物学专业获理学硕士学位, 2005 年 -2006 年在加拿大西安大略大学医学院从事博士后研究 1 a.

主持昆明医科大学质量工程项目 1 项及教改项目 1 项, 参加 10 项国家级、省部级以及校级质量工程项目. 获得云南省教学成果一等奖, 伍达观奖教金一等奖以及红云园丁奖.

主持国家自然科学基金 3 项; 主持云南省社会发展科技计划重点项目 1 项; 主持云南省科技计划项目 2 项; 主持教育部重大专项子项目 1 项; 指导昆明医科大学大学生创新性实验计划项目 8 项; 指导研究生创新基金 1 项, 指导云南省教育厅研究生基金 3 项.

发表学术论文 40 余篇, 其中 SCI 收录论文 6 篇. 获云南省卫生厅科技进步三等奖; 2 次获云南省科技进步三等奖; 昆明市中青年学术和技术带头人; 西山区有突出贡献的优秀专业技术人才; “十一五”云南省科技计划执行先进个人; 云南省有突出贡献优秀专业技术人才, 昆明市科技创新团队领头人.

法医 DNA 序列多态性分析技术的研究进展

自上世纪 80 年代 DNA 分析技术应用于法医学实践以来, 法医物证学技术从以往只能检测基因编码产物水平 (如蛋白质) 飞跃到直接检测基因多态性的分子水平, 这是法医物证检验分析史上的一场重大革新. 法医 DNA 分析技术对犯罪现场遗留的指纹、毛发、唾液、血迹, 甚至一些微量、腐败、污染的生物检材, 均能做到快速的法医 DNA 分析, 以进行个人识别和亲子鉴定, 使现场生物物证的利用率大大提高, 成为认定犯罪的有力证据. 目前, 法医 DNA 分析技术已成为法医生物物证检验的常规技术, 广泛应用于伤害、性侵犯、交通肇事、亲子鉴定等刑事和民事案件中, 为刑事侦查提供线索, 为司法审判提供有力科学证据.

但是, 常规的 STR 分型技术在分析降解检材时, 存在很大的局限性, 科学家们想到了第三代法医 DNA 分析技术——DNA 序列多态性分析技术, 由于单核苷酸多态性广泛存在于人类基因组, 而该分析技术只针对单个核苷酸的多态性进行分析检验, 所以具有更大的应用潜力和前景. 另外, DNA 序列多态性分析还可以针对生物检材的一些

功能基因进行分析, 从而获得生物检材可能的生物特征, 这种 DNA 画像技术将会对法医 DNA 分析有突破性的推动作用. 下面就目前法医 DNA 序列多态性分析技术以及将来可能的发展趋势做一阐述.

1 单核苷酸多态性分析

1.1 SNPs 分析技术

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 指基因组内特定核苷酸位置上存在着两种不同的碱基, 其中最少的一种在人群中的频率不少于 1%. SNPs 主要是由基因水平上的单个核苷酸变异所引起的 DNA 序列多态性, 人类基因组已知多态性的 80% 是 SNPs 多态性, 它是最常见的遗传变异类型. 与限制性片段长度多态性检测技术 (restriction fragment length polymorphisms, RFLP) 和短串联重复序列 (short tandem repeat, STR) 相比, SNPs 更广泛地存在于人类基因组中, 分布密度及数量均远远多于其他类型的 DNA^[1-3].

目前 SNPs 检验技术包括: DNA 芯片 (DNA

chip) 技术、寡核苷酸连接检验 (oligo nucleotide ligation assay, OLA) 技术、基质辅助激光解析电离 / 飞行时间质谱技术 (matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOFMS)、引物延伸技术或微测序技术 (primer extension) 和 TaqMan 荧光探针技术等^[4-6]。

1.2 SNPs 在法医学应用的优越性

与其它遗传标记相比, SNPs 具有以下适用于法医学分析检验的特点和优点: (1) SNPs 位点含量的丰富性及分布的高密度性, 即使单个 SNP 位点可以提供的信息相对较少, 但多个 SNPs 复合分析就能弥补信息量的不足。 (2) SNPs 被认为是一种能稳定遗传的早期突变, 较 STR 等多态标记具有更高的遗传稳定性, 不易发生回复突变, 突变率低, 每代突变率约在 10⁻⁸, 这对于亲子鉴定来说更有意义^[7]。 (3) SNPs 标记作为双等位基因, 结果只表现为简单的 +/ - 或有无形式, 这使 SNPs 的检验方法易于实现自动化或全自动化。 (4) 由于 SNPs 只分析单碱基突变, 所需 DNA 模板片段可以 < 100bp, 弥补了 STR 对降解检材和微量检材分析的局限性。

1.3 常染色体和 Y 染色体 SNPs

SNPs 与 STR 在个人身份鉴别时有着同样的功能, 都遵循孟德尔遗传规则, 而且 SNPs 检验的是单个核苷酸的多态性, 在降解检材和微量检材中具有很大的应用潜力, 相对 STR 基因座而言, 突变率更低。目前, 已经有一些通过分析 SNPs 位点应用于个人识别的报道, 例如欧洲法医实验室开发了多个 SNPs 位点的复合嵌板, 并且已在全球多个人群进行频率调查^[8-10]。

Y-SNP 相对 Y-STR 而言具有更低的突变率, 且不容易发生回复突变, 近年来广泛应用于人群地域分布、迁徙等方面的研究, 在法医学领域可以用于推断生物检材的人种或地理来源信息^[11, 12]。

1.4 分析 SNPs 可对个体特征进行描述

个体特征在基因层面多表现为外貌特征和疾病特征, 其中外貌特征包括体表色素、身高等由遗传参与决定的特征。疾病特征主要是被检个体是否存在患有某种与遗传相关疾病的可能, 从这两方面共同推测个体特征, 以达到对生物检材所属个体的特征描绘^[13]。体表色素是指毛发、虹膜、皮肤、雀斑和痣等在人体体表可见的颜色, 是人类外表可见差异的一种。在遗传层面, 色素的生成沉积受到多基因的影响, 色素在人体的分布与黑色素的生成种类、生成量、着色细胞器、合成方式和形态大小有关, 而且有显著的人群特异性

^[14-17]。迄今为止对于很多高遗传性状成因的 SNPs 的研究有了新的进展, 如身高、面部形态的基因定位和应用^[18-20]。疾病相关基因在现今的高通量 SNP 分析技术的帮助下, 已得到大量的关联性资料^[21]。同时, 也有一批与成瘾、精神疾病相关的基因被成功定位^[22-24], 这将会成为生物检材特征描述的有力证据。目前研究显示, 在不同种族之间, 编码个体特征的 DNA 的 SNP 突变存在差异。所以, 需要进行大量详实可靠的人群基础数据的调查, 才能实现对个人特征的准确描绘, 从而锁定个体。

2 线粒体 DNA (mtDNA) 分析

2.1 线粒体 DNA (mtDNA) 多态性分析

人类线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 几乎存在于各种组织、细胞中, 法医 mtDNA 序列检测大多局限于 D-Loop 区, 且多采用测序方法进行检测。线粒体 DNA 测序技术具有以下特点: 除血痕、组织等常见检材外, 还可以分析如毛发、指甲、骨骼、牙齿等没有细胞核或细胞核很少的特殊的无法进行核 DNA 分析的生物检材, 具有很高的排除率和灵敏度; 呈母系遗传方式进行遗传, 所以即使无法找到相关的直系亲属 (父母、子女), 仍可能通过母系亲属, 获得线粒体 DNA 的比对样本。目前, 有学者尝试用联合检测多个 mtDNA 序列多态区的 SNPs 位点的方法来替代常规的 mtDNA 测序技术, 也能达到相同的分辨率^[25]。

2.2 检测线粒体 DNA 推断检材的种属来源

线粒体 DNA (mtDNA) 上的细胞色素 b (cytochrome b, Cyt b) 基因是研究动物进化的靶序列, 在不同种属动物间表现出明显的遗传差异, 而且在同种动物内具有遗传稳定性。此外, Cyt b 基因在细胞内拷贝数多, 分析的灵敏度高, 即使遇到降解的检材仍有希望获得分型, 具有很高的法医学应用价值^[26, 27]。

目前, 法医 DNA 序列多态性分析技术虽然不是当前国内外法医 DNA 分析的主要手段, 但随着法医 DNA 分析技术的不断发展, 相信法医 DNA 序列多态性分析技术必将会广泛地应用于各类案件的生物检材的分析, 为案件的侦破提供线索, 为法庭审判提供依据, 能够为目前还无法分析检验的检材提供解决方法。

[参考文献]

[1] JUDSON R, SALISBURY B, SCHNEIDER J, et al. How m-

- any SNPs does a genome-wide haplotype map require [J]. *Pharmacogenomics*, 2002, 3(3):379 – 391.
- [2] CARLSON C S, NEWMAN T L, NICKERSON D A. SNPing in the human genome [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2001, 5(1):78 – 85.
- [3] COLLINS F S, PATRINOS A, JORDAN E, et al. New goals for the U.S. Human Genome Project: 1998–2003 [J]. *Science*, 1998, 282(5389):682 – 689.
- [4] TSUCHIHASHI Z, DRACOPOLI N C. Progress in high-throughput SNP genotyping methods [J]. *Pharmacogenomics J*, 2002, 2(2):103 – 110.
- [5] DING C, JIN S. High-throughput methods for SNP genotyping [J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 578:245 – 54.
- [6] RAGOISSIS J. Genotyping technologies for genetic research [J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2009, 10:117 – 133.
- [7] CAMPBELL D, EICHLER E. Properties and rates of germline mutations in humans [J]. *Trends Genet*, 2013, 29(10):575 – 584.
- [8] MORENO F, FREIRE-ARADAS A, PHILLIPS C, et al. L-areu MV. SNP variation with latitude: Analysis of the SNPforID 52-plex markers in north, mid-region and south Chilean populations [J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2014, 10:12 – 16.
- [9] PORRAS L, PHILLIPS C, FONDEVILA M, et al. Genetic variability of the SNPforID 52-plex identification-SNP panel in Central West Colombia [J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2009, 4(1):e9 – e10.
- [10] WEI Y L, QIN C J, LIU H B, et al. Validation of 58 autosomal individual identification SNPs in three Chinese populations [J]. *Croat Med J*, 2014, 55(1):10 – 13.
- [11] BOUAKAZE C, KEYSER C, AMORY S, et al. First successful assay of Y-SNP typing by SNaPshot minisequencing on ancient DNA [J]. *Int J Legal Med*, 2007, 121(6):493 – 499.
- [12] SHI H, ZHONG H, PENG Y, et al. Y chromosome evidence of earliest modern human settlement in East Asia and multiple origins of Tibetan and Japanese populations [J]. *BMC Biol*, 2008, 6:45.
- [13] NOWOTNY P, KWON J M, GOATE A M. SNP analysis to dissect human traits [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 2001, 11(5):637 – 641.
- [14] DONNELLY M P, PASCHOU P, GRIGORENKO E, et al. A global view of the OCA2-HERC2 region and pigmentation [J]. *Hum Genet*, 2012, 131(5):683 – 696.
- [15] DUFFY D L, MONTGOMERY G W, CHEN W, et al. A three-single-nucleotide polymorphism haplotype in intron 1 of OCA2 explains most human eye-color variation [J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 80(2):241 – 252.
- [16] KENNY E E, TIMPSON N J, SIKORA M, et al. Melanesian blond hair is caused by an amino acid change in TYRP1 [J]. *Science*, 2012, 336(6081):554.
- [17] POSPIECH E, DRAUS-BARINI J, KUPIEC T, et al. Gene gene interactions contribute to eye colour variation in humans [J]. *J Hum Genet*, 2011, 56(6):447 – 455.
- [18] CLAES P, LIBERTON D K, DANIELS K, et al. Modeling 3D Facial Shape from DNA [J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(3):e1004224.
- [19] LIU F, HENDRIKS A E, RALF A, et al. Common DNA variants predict tall stature in Europeans [J]. *Human Genetics*, 2014, 133(5):587 – 597.
- [20] GUDBJARTSSON D F, WALTERS G B, Thorleifsson G, et al. Many sequence variants affecting diversity of adult human height [J]. *Nat Genet*, 2008, 40(5):609 – 615.
- [21] WRIGHT A F. Genomics of common diseases: approaching the tipping point [J]. *Genome Med*, 2011, 3(10):70.
- [22] BUNTEN H, LIANG W J, POUNDER D J, et al. Interindividual variability in the prevalence of OPRM1 and CYP2B6 gene variations may identify drug-susceptible populations [J]. *J Anal Toxicol*, 2011, 35(7):431 – 437.
- [23] ZHAO B, ZHU Y, WANG W, et al. Analysis of variations in the glutamate receptor, N-methyl D-aspartate 2A (GRIN2A) gene reveals their relative importance as genetic susceptibility factors for heroin addiction [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e70817.
- [24] NIELSEN D A, KREEK M J. Common and specific liability to addiction: approaches to association studies of opioid addiction [J]. *Drug Alcohol Depend*, 2012, 123 Suppl 1: S33 – S41.
- [25] ALONSO A, ALBARRAN C, MMARTIN P, et al. Usefulness of microchip electrophoresis for the analysis of mitochondrial DNA in forensic and ancient DNA studies [J]. *Electrophoresis*, 2006, 27(24):5101 – 5109.
- [26] TOBE S S, LINACRE A M T. A multiplex assay to identify 18 European mammal species from mixtures using the mitochondrial cytochrome b gene [J]. *Electrophoresis*, 2008, 29(2):340 – 347.
- [27] 张学卫, 张智婷, 原占国, 等. 昆虫线粒体DNA Cyt b基因研究进展 [J]. *河北林果研究*, 2010, 25(2):173 – 176.

(2014-04-10 收稿)