



## 常用血、潜血手印显现液和紫外光对人血种属、DNA 检验的影响及检验方法的研究

梁传胜<sup>1</sup> 肖 斌<sup>2</sup> 陈爱萍<sup>2</sup> 何雁宾<sup>2</sup> 刘 峰<sup>2</sup>  
杨 硕<sup>2</sup> 黄泳森<sup>2</sup> 郑新明<sup>2</sup>

1. 深圳市公安局刑警支队技术处, 深圳;
2. 深圳市公安局龙岗分局, 深圳

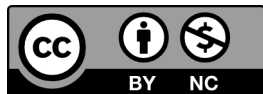
**摘 要** | 为了解决现场遗留的血、潜血手印显现方法对后续人血种属、DNA 检测的影响、规律难题, 项目组通过常用两种波长紫外光和七种常见潜血指纹显现液进行实验, 对其影响、规律进行了研究并建立了检出 DNA 的方法。其中, 研究结果显示, 与 254 nm 波长相比, 365 nm 波长紫外光对血、潜血手印 DNA 检验没有影响, 更适于 DNA 检验。七种显现液中, 除 kyh—显现蓝以外, 其他六种显现液对显现后保存 10 个月内的血、潜血手印 DNA 检验结果无影响, 其中经 BBI 蛋白染(变)色液、考马斯亮蓝、氨基黑 10B 处理后的样本, 显现效果好, 应该优先选择。

**关键词** | 潜血手印; 显现液; 紫外光; 人血种属、DNA 检验; 影响

Copyright © 2020 by author (s) and SciScan Publishing Limited

This article is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



### 一、引言

2007 年在侦办龙岗汪梅被强奸、杀害案中, 痕迹鉴定人员通过现场“EOS”显现液显现的潜血指纹认定了犯罪嫌疑人刘某伟, 法院依此判处刘某伟死刑。犯罪嫌疑人对鉴定的指纹是自己所留没有异议, 但坚称自己没有杀人, 并提起上诉。此案经重新审理, 最后焦点集中在血指纹沾附的血是否是人血, 是否为被害人的血证据上。DNA 检验人员对指纹沾附的血进行了检验, 人血种属为阴性且未检出 DNA 分型, 因检验人员不清楚这个结果是否受到了

显现液的影响, 更没有针对性的检验方法, 因此, 对结论的可靠性正确性不能确认。法官认为证据存疑, 嫌疑人被无罪释放, 案件至今未破。

在现场勘验和检验鉴定中, 勘验和检验技术人员经常使用显现液和紫外光照射方法寻找、发现、显现、提取血和潜血手印, 但后续对人血种属和 DNA 检验的影响没人考虑, 经文献检索和同行交流这方面的研究几乎是空白。命案侦破当中, 犯罪嫌疑人的血、潜血手印是定案的关键证据, 如果认定的血、潜血手印不是人血特别是不为被害人的血极

大可能会造成冤假错案,同时,如果是人血是被害人的而检验不出来,也会错放罪犯造成错案。从龙岗的这起案件中,我们深深感觉到常用血、潜血手印显现液对人血种属、DNA 检验的影响是当前急需解决的问题<sup>[1]</sup>。于是,我们成立了课题组进行了系统的实验研究,经过查阅资料、同行了解、调研工作实际情况,课题组采用了具有代表性的两种波长紫外光和七种常见潜血指纹显现方法,对不同时间、不同留血量、玻璃载玻片上 3000 多个样本进行了实验(经过实验、分析,玻璃载玻片与其他客体实验结果无明显差异,可以代表不同课题的实验结果,因此,主要是采用了这一种客体),其研究成果国内领先并填补了这个领域多项空白。

## 二、实验前的准备

### (一) 实验器具、用品、材料准备

#### 1. 血

选择每次抽取人新鲜的静脉血 5-10 ml,直接用于制作样本。

#### 2. 检测人血试剂条

选择用 biowin 人血红蛋白检测金标试剂条(符合中华人民共和国公共安全行业标准即 GA 765-2008)进行人血种属检验。

#### 3. 紫外光源

选择使用功率为 6 W,波长为 254 nm、365 nm 波段的紫外光源(Spectroline R MODEL EF-160c/12)。通过紫外辐照仪来测定紫外辐照量。

#### 4. 移液器

选择使用 eppendorf® (2-20  $\mu$ L) 加样枪,每次抽取 3 微升人血。

#### 5. 血、潜血手印显现液

根据实际工作的使用情况,我们选择了七种常见手印显现液:第一种:EOS 蛋白染色液(北京龙昊安华科技有限公司);第二种:BBi 蛋白染(变)色液(北京龙昊安华科技有限公司);第三种:kyh—显现蓝(神奇潜血显现王—显现蓝,又称血迹蓝;北京科源环宇电子技术开发中心);第四种:kyh—显现红(神奇潜血显现王—显现红,又称血迹红;北京科源环宇电子技术开发中心);第五种:考马斯亮蓝(天津市福晨化学试剂厂);第六种:氨基黑 10B(天津市光复精细化工研究所);第七种:四甲基联苯胺(北

京市华兴瑞安科技有限公司)。

四甲基联苯胺主要适用于渗透性客体,其他六种显现液主要适用非渗透性客体。

### (二) 样本制作

#### 1. 血、潜血指纹样本制作

用 DNA 加样枪每次抽取 3 微升新鲜人血滴在玻璃载玻片上,用右手食指研磨使血均匀粘附在手指花纹表面,然后依次连续平面按压到另两块洁净的玻璃载玻片上,每块 4 枚,两块制作 8 枚样本,一次两块为一组,编号依次为 1-8,每组从第 1 枚到第 8 枚血液浓度逐渐降低;其中,1-4 号为血手印(肉眼完全或大部分可见血纹线手印),5-8 号为潜血手印(5-7 号为肉眼完全或大部分不可见血纹线手印,8 号则完全见不到血纹线手印)(见 1-8 号样本照片),共制作指纹样本 400 组,3200 枚指纹。

#### 2. 显现液显现并保存样本

用本课题七种常用显现液对制作的血、潜血手印样本进行指纹显现,随后放置于实验室内常温干燥保存,保存时间为 1、10、30、60 天,5、6、7、9、10 个月,最长达 2 年。

#### 3. 紫外光照射并保存样本

用波段为 254 nm、365 nm 的紫外光源(Spectroline R model ef-160c/12),功率 6W,紫外灯光管离样本垂直距离为 10 cm,辐射强度 800  $\mu$ W/cm<sup>2</sup>,照射制备样本 1 小时、30 分钟、20 分钟、10 分钟、5 分钟、3 分钟、2 分钟、1 分钟、30 秒、10 秒各 4 组。随后进行实验或放置于实验室内常温保存。

## 三、血、潜血手印显现液和紫外光对人血种属检验的影响和检验方法的实验研究

### (一) 人血种属检验方法

先将载玻片上显现液和紫外光显现后的血或潜血指纹用湿润的棉签擦取或刀片刮取后放入小试管中浸泡 5 分钟,然后再将 biowin 人血红蛋白检测金标试剂条放入小试管中按行标 GA 765-2008 进行人

[1] 王昕,张艳云,王科,等. 刑事照相常用紫外光源照射对 DNA 检验的影响研究[J]. 刑事技术,2013(1): 38-41.

血种属实验。观察并记录检验结果,结果分为阳性、弱阳性、阴性三种。

## (二) 常见血、潜血手印显现液显现指纹后人血种属检验的实验研究

### 1. 人血种属检验实验

将七种显现液显现后的指纹样本用“人血红蛋白检测金标试剂条法”<sup>[1]</sup>进行人血种属检验,首先是显现后的样本立即进行检验,然后分别对显现后保存时间为1天、10天、30天、60天的样本进行检验,同时做未显现样本的对照实验。

### 2. 实验结果及讨论与分析

实验结果:

(1) 每种显现液显现前空白试验:①新鲜血指纹样本,第1枚—第8枚均呈阳性;②放置24天血指纹样本,第1枚—第6枚呈阳性,第7枚大多数呈弱阳性少数呈阴性,第8枚均呈阴性;③放置两年血指纹样本(肉眼可见血迹),全部呈阴性。

(2) 七种显现液处理后实验:第1、第2枚样本绝大多数呈阳性,极少数样本呈弱阳性或阴性;第3、第4枚样本绝大多数呈弱阳性或阴性,极少数呈阳性;第5枚样本极个别呈弱阳性,绝大多数呈阴性;第6—第8枚样本均呈阴性。

(3) 正常室温条件下,放置24天的人潜血手印部分样本已不能检出人血,但不影响七种显现液显现血和潜血手印的效果。

(4) 正常室温条件下,放置两年的人血手印样本已不能检出人血,对七种显现液显现血和潜血手印的效果无大的影响,只是显现效果比新鲜血颜色浅些,冲洗时附着物特别是沙粒划伤手印纹线较严重。

讨论与分析:

(1) 在人血种属检验显现后的第1—4枚样本中大部分呈阳性和弱阳性,小部分呈阴性;而检验显现后的第5枚样本个别呈弱阳性,其他呈阴性,6—8呈阴性。分析应为1—4枚样本血指纹的血迹较多,显现时显现液未能充分与血迹反应,导致残留的部分血迹与人血红蛋白检测金标试剂条产生阳性反应,而5—8枚样本潜血指纹含血量少,显现后残留血迹极少或没有,所以呈阴性反应,极个别呈阳性。

(2) 人血红蛋白金标试剂条法其检测原理是

血液中的血红蛋白与试剂条里的抗人血红蛋白抗体反应后形成抗原抗体复合物,复合物在反应区与单克隆抗人血红蛋白抗体结合形成紫红色物质。经过BBI、EOS、四甲基联苯胺、氨基黑10B、kyh-显现蓝、kyh-显现红、考马斯亮蓝、四甲基联苯胺显现后的血和潜血指纹,会导致人血红蛋白检测试剂条检验时出现阴性结果,分析原因是七种显现液中含有无水乙醇等有机溶剂,使蛋白质固定后不溶于水,导致血液中的血红蛋白不能与试剂条里的抗人血红蛋白抗体物质结合,导致其无法形成紫红色物质,最终检验结果出现阴性。<sup>[2]</sup>

## (三) 紫外光照射血、潜血手印后对人血种属检验的影响和检验方法的实验研究

### 1. 人血种属检验实验

将254 nm和365 nm的紫外光照射1小时、30分钟、20分钟、10分钟、5分钟、3分钟、2分钟、1分钟、30秒、10秒后的样本用“人血红蛋白检测金标试剂条法”进行人血种属检验,同时做未照射样本的对照实验。

### 2. 实验结果及讨论与分析

实验结果:在254 nm、365 nm波长紫外光照射实验中,血、潜血指纹所有样本的人血种属实验均为阳性。

讨论与分析:紫外光照射血迹后会使血液中的细胞破坏,其破坏主要是因为细胞内DNA中的碱基具有强烈的紫外线吸收特性,会使DNA结构局部变形,但不会对血液中的血红蛋白产生影响,照射后血液里的人血红蛋白仍旧能与试剂条里的抗人血红蛋白抗体物质结合,因此不影响人血种属检验结果。

## (四) 结论

(1) 七种常用血、潜血手印显现液对潜血手印人血种属检验有极显著影响,显现后的手印已不能检出人血;

(2) 七种显现液对血手印人血种属检验有一定影响,手印血量大的显现后还能检出人血,血量

[1] 王桂强. 血指纹的光学显现和照相技术[J]. 刑事技术, 1996(6): 38-42.

[2] 张美芹, 张亭, 秦刚, 等. 血指纹检测研究进展[J]. 应用化学, 2012, 29(1): 1-8.

小的不能检出人血；

(3) 显现液显现后，样本放置的时间长短对人血种属检验结果无影响；

(4) 254 nm、365 nm 波长紫外光对人血种属检验无影响。

#### 四、血、潜血手印显现液和紫外光对 DNA 检验的影响和检验方法实验研究

##### (一) 血、潜血手印显现液对 DNA 检验的影响和检验方法的实验研究

###### 1. DNA 检验实验

由于每组 1 号和 2 号血指纹纹线清晰流畅，血量最大，根据前期实验经验补充实验忽略不做也不影响结果，故后续只对 3-8 号指纹进行检验实验。分别用七种显现液显现后的样本进行 DNA 检验实验，每种显现方法做四组，同时对同等放置时间未显现的样本进行 DNA 检验做对照实验。

###### (1) DNA 定量

应用 7500 实时荧光定量仪 (AB 公司) 对提取的样本进行 DNA 定量，操作步骤按说明书进行。

未经显现的 5 组空白样本放置 1 天后 1-8 号的定量结果 (ng/μL) 见下表。经七种显现方法处理后 1 天、60 天的 8 号样本，进行 DNA 提取后进行定量。

###### (2) DNA 提取

方法 A (硅珠法)：

① 载玻片上显现的血或潜血指纹分别使用手术刀片刮取的方法提取和用湿润的棉签擦取提取，刮下来的碎屑或棉签头剪刀取后放置于离心套管中，向离心套管中加入 200 毫升 75% 医用酒精浸泡 30 min，10 min 震荡一次，13000 g 离心 3 min，去上清。

② 离心套管内加入混匀的试剂 260 μL (包含了超敏 DNA 提取试剂盒中 100 μL 裂解液 A、20 μL 裂解液 B 溶液以及 20 μL DTT 溶液、20 μL 蛋白酶 K 溶液和 100 μL EDTA 脱钙液)，56℃ 裂解 2 h，99℃ 裂解 10 min。该实验步骤中，56℃ 裂解时需要震荡混匀两次。

③ 13000 g 离心 10 sec，开盖加入吸附液 200 μL，13000 g 离心 2 min，去除离心套管，

加入吸附液 950 μL，加入混匀后吸附珠悬液 16 μL，室温下静置 15 min。

④ 8000 g 离心 30 min，充分去除上清液，先在 A 管沉淀物中加入 -20℃ 漂洗液 750 μL，充分混匀后将 A 管中的液体转移至 B 管，再将 B 管沉淀物充分混匀。

⑤ 8000 g 离心 30 min，充分去除漂洗液，开启管盖状态下 56℃ 烘干吸附珠 1 min。加入洗脱液 30 μL，充分混匀后 56℃ 保温 15 分钟。8000 g 离心 30 sec，取上清液备用。

方法 B (硅胶模法)：

① 载玻片上显现的血或潜血指纹分别使用手术刀片刮取的方法提取和用湿润的棉签擦取提取，刮下来的碎屑或棉签头剪刀取后放置于离心套管中，向离心套管中加入 200 毫升 75% 医用酒精浸泡 30 min，10 min 震荡一次，13000 g 离心 3 min，去上清。

② 离心套管内加入混匀的试剂 260 μL，包含了超敏 DNA 提取试剂盒 (博坤生物科技有限公司) 中 100 μL 裂解液 A、20 μL 裂解液 B 溶液以及 20 μL DTT 溶液、20 μL 蛋白酶 K 溶液和 100 μL EDTA 脱钙液。56℃ 裂解 2 h，99℃ 裂解 10 min。该实验步骤中，56℃ 裂解时需要震荡混匀两次。

③ 离心套管 13000 rpm 离心 2 分钟，弃套管上层，使用 QIAquick PCR Purification Kit (250) 试剂盒 (凯杰企业管理有限公司) 对离心所得液体进行纯化。

④ 按 5 : 1 比例混匀 Buffer PB 和步骤 3 所得液体。每次 700 μL 将混合液加入到试剂盒配套的 MinElute 管中。13000 rpm 离心 1 分钟，弃离心液，直到所有提取液完成离心。加入 750 μL Buffer PE，13000 rpm 离心 1 分钟，弃离心液。再次 13000 rpm 离心 1 分钟，将上层套管转移到一个洁净的 1.5 μL 离心管上。将 30 μL EB 滴到 MinElute 膜中央，静置 1-3 分钟，13000 rpm 离心 1 分钟，离心液直接用于扩增。

注：前期 (2017 年以前) 实验主要采用方法 A 进行 DNA 提取，后期由于在检案中发现方法 B 更为简便，且经过对比发现两种方法在本实验检出率上没有显著差异，故后期 (2017 年以后) 采用方法 B 对 7 种显现液显现后的潜血指纹样本进行 DNA 检验。



### (3) PCR 扩增

采用 Identifiler Plus® 扩增试剂盒 (AB 公司) 扩增, 反应总体积 25  $\mu$ L。热循环条件按照 Identifiler Plus® 扩增试剂盒推荐参数。

### (4) 电泳检测

扩增产物经 3130xL/3500xL 遗传分析仪 (AB 公司) 进行检测, GeneMapperID-X 软件进行 STR 分型, 电泳条件按说明书进行。

## 2. DNA 检验方法比较

本实验在摸索 DNA 检验方法时, 对提取方法进行了对比, 发现 Chelex-100 法 (按行标 GA/T383-2014 操作) 不如硅珠法/硅胶膜法检出率高, 且硅珠法/硅胶膜法比其他纯化方法操作简便, 故本实验采用硅珠法/硅胶膜法作为样本提取方法。在最先的 DNA 检验时发现载玻片上显现后的指纹用刮取的方法提取的检材检出效果明显好于用擦取方式提取的检材, 故后期载玻片上的指纹提取方式均使用手术刀片刮取法。

## 3. 实验结果及讨论与分析

实验结果:

(1) 指纹显现后放置 1 个月内进行 DNA 检验, 七种显现液所有样本都检出了有效的 STR 分型。

(2) 指纹显现后放置 2 个月和 5 个月进行 DNA 检验, 除 kyh—显现蓝外, 其他六种显现液所有样本都检出了有效的 STR 分型。kyh—显现蓝显现液 3 号样本都检出了有效的 STR 分型, 4 号及以下所有样本都不能获得有效的 STR 分型;

(3) 指纹显现后放置 6 个月进行 DNA 检验, 除 kyh—显现蓝外, 其他六种显现液所有样本都检出了有效的 STR 分型。kyh—显现蓝显现液 3 号样本都检出了有效的 STR 分型, 4 号两组两个 (50%) 检出了有效的 STR 分型, 其他样本都不能检出有效的 STR 分型。

(4) 指纹显现后放置 7 个月进行 DNA 检验, 除 kyh—显现蓝外, 其他六种显现液所有样本都检出了有效的 STR 分型。kyh—显现蓝显现液 3 号样本都检出了有效的 STR 分型, 4 号、5 号各两组两个 (50%) 获得了有效的 STR 分型, 其他所有样本都不能获得有效的 STR 分型。

(5) 指纹显现后放置 9 个月进行 DNA 检验, 除 kyh—显现蓝外, 其他六种显现液所有样本都检出了有效的 STR 分型。kyh—显现蓝显现液 3 号、4

号均检出了有效的 STR 分型, 5 号有一组一个 (25%) 检出了有效的 STR 分型, 其他全部样本都没能检出有效的 STR 分型。

(6) 指纹显现后放置 10 个月进行 DNA 检验, 除 kyh—显现蓝和 EOS 一组一个 8 号样本外, 其他六种显现液所有样本都检出了有效的 STR 分型。kyh—显现蓝显现液 3 号样本都检出了有效的 STR 分型, 4 号及以下所有样本均未检出有效的 STR 分型。

## 讨论与分析

(1) 四甲基联苯胺显现后至放置 10 个月, 所有样本均可检出有效的 STR 分型, 但放置 9 个月和 10 个月的 8 号样本出现等位基因丢失的现象, 峰高和峰面积都小于空白对照。可认为四甲基联苯胺显现后的微量样本, 存放时间长 (9 个月以上) 对后续 DNA 检验有一定影响, 但仍能检出有效分型。

(2) EOS 显现后至放置 2 个月, 所有样本均可检出有效的 STR 分型, 但放置 2 个月以上的 8 号样本出现等位基因丢失的现象, 峰高和峰面积都小于空白对照, 但仍可检出有效的 STR 分型。可认为 EOS 显现后的微量样本, 存放较长时间 (2 个月以上) 对后续 DNA 检验有影响, 但仍能检出有效分型。

(3) kyh—显现红显现后至放置 2 个月, 所有样本均可检出有效的 STR 分型, 但放置 2 个月以上的 8 号样本出现等位基因丢失的现象, 峰高和峰面积都小于空白对照, 但仍可检出有效的 STR 分型。可认为 kyh—显现红显现后的微量样本, 存放较长时间 (2 个月以上) 对后续 DNA 检验有影响, 但仍能检出有效分型。

(4) kyh—显现蓝显现后至放置 10 天, 所有样本均可检出有效的 STR 分型。放置 30 天以上的 8 号样本出现等位基因丢失的现象, 峰高和峰面积都小于空白对照, 但仍可检出有效的 STR 分型。放置两个月以上的样本, 除有核细胞含量最多的 3 号检材外, 均无法稳定检出有效的 STR 分型。可认为 kyh—显现蓝显现后的潜血指纹样本, 存放 10 天以上对后续的 DNA 检验有影响, 存放 1 个月以上除有核细胞含量较多的检材外, 均无法检出有效的 STR 分型。

(5) 经 BBI、考马斯亮蓝、氨基黑 10 B 处理后的潜血指纹样本, 存放较长时间 (10 个月内) 仍可检出完整 STR 分型, 且样本 DNA 定量结果高于

空白对照,由本实验结果可见,这三种显现液对后续 DNA 检验没有影响。

(6) 经对比, BBI 处理后检验 DNA 的结果比较稳定, 血迹蓝处理后影响较大。七种显现液处理后的潜血指纹样本 DNA 检出率由大到小的顺序是: BBI、考马斯亮蓝、氨基黑 10 B、四甲基联苯胺、EOS、kyh—显现红、kyh—显现蓝。

(7) 除 kyh—显现蓝以外, 其他六种显现液处理后 300 天, 均可检出有效的 STR 分型; 其中, BBI、考马斯亮蓝两种显现液 16 个基因座全部检出明显多于空白样本(空白有两组, 一组检出 15 个基因座, 另一组检出 14 个基因座), 其他四种显现液也略多于空白样本, 说明六种显现液有保护作用。与未处理的检材对照, 同等保存条件下保存时间越长显现后的检材检出效果更好。

(8) 经过 BBI、EOS、kyh—显现蓝、kyh—显现红、考马斯亮蓝、氨基黑 10 B、四甲基联苯胺七种显现液显现后的血和潜血指纹, 由于这些显现液中加了或处理过程中加了无水乙醇等物质做为固定剂, 血或者潜血指纹被牢牢的固定在遗留客体上, 棉签擦拭提取的效果非常差, 直接影响检验结果, 可能导致出现错误结论; 因此对于检材 DNA 提取时一定要使用洁净的手术刀片刮取。

(9) 根据实验结果分析, 这些显现液中还可能含有其他一些对扩增酶造成影响的物质, 可能会直接导致扩增失败, 尽量去除这些物质成分是检验成功的关键。在进行 DNA 检验时, 要注意使用纯化试剂盒对样本进行纯化, 尽可能的减少扩增抑制剂的存在, 以减少蛋白抑制剂和杂质在 DNA 扩增时影响。本实验室使用硅胶膜法提取 DNA, 可有效去除杂质, 且操作过程中步骤相对简单, 尤其具有不需要移管的优势, 这样处理既有效减少了 DNA 的损失, 又缩短了检验时间。

#### 4. 结论

(1) 除 kyh—显现蓝以外, 其他六种显现液使用洁净手术刀片提取, 采用硅胶膜法/硅珠法检验, 对显现后保存 10 个月内的血、潜血手印 DNA 检验结果无影响。

(2) kyh—显现蓝显现液使用洁净手术刀片提取, 采用硅胶膜法/硅珠法检验, 对显现后保存 10 个月内的血手印 DNA 检验结果基本无影响(个别 4 号手印有影响); 对显现后保存 1 个月及少于 1 个

月的潜血手印 DNA 检验结果无影响, 2 个月及以后有效检出率很低, 有显著影响。

(3) 七种显现液显现后的血指纹样本除 kyh—显现蓝外其他六种显现液 DNA 检出率相同, 16 个基因座均全部检出。

(4) 七种显现液处理后的潜血指纹样本 DNA 检出率由大到小的顺序是: BBI、考马斯亮蓝、氨基黑 10 B、四甲基联苯胺、EOS、kyh—显现红、kyh—显现蓝。

(5) 六种主要适用于非渗透性客体的蛋白显现液对血、潜血指纹显现效果好的排序依次为: BBI 蛋白染(变)色液、考马斯亮蓝、氨基黑 10 B、EOS 蛋白染色液、kyh—显现红、kyh—显现蓝。

(6) 六种主要适用于非渗透性客体的蛋白显现液从显现效果好且对 DNA 检验影响程度小的排序依次为: BBI 蛋白染(变)色液、考马斯亮蓝、氨基黑 10 B、EOS 蛋白染色液、kyh—显现红、kyh—显现蓝。kyh—显现蓝显现效果好, 但对 DNA 检验的影响最大。经过实验比较, BBI 蛋白染(变)色液显现效果最好, 对 DNA 影响最小, 而且操作简单、携带方便, 应为最佳血、潜血手印显现液。

## (二) 紫外光对 DNA 检验的影响和检验方法的实验研究

### 1. DNA 检验实验

由于每组 1 号和 2 号血指纹纹线清晰流畅, 在实际案例中并不需要使用紫外光源照射显现, 实验只对 3 - 8 号捺印的血、潜血指纹进行检验实验。

将棉签头剪成多条长度约 0.5 cm 的棉线, 用两步擦拭法擦拭经紫外照射后的血或潜血指纹, 置于离心管中, 用 60  $\mu$  L Chelex-100 试剂提取, 提取后的样本采用 Identifiler Plus<sup>®</sup> 扩增试剂盒(AB 公司)和 ABI 9700 扩增仪(AB 公司)扩增, 使用 25  $\mu$  L 反应体系, 按操作手册设置仪器参数。扩增产物经 ABI 3130XL 遗传分析仪(AB 公司)检测, Gene Mapper-IDX 软件分析。

### 2. 实验结果及讨论与分析

实验结果:

(1) 254 nm 紫外光照射时长为 10 s, 3-8 号血、潜血指纹样本全部可检出有效的 STR 分型;

(2) 254 nm 紫外光照射时长为 30 s, 8 号潜血指纹样本无法检出有效 STR 分型, 7 号两组(50%)

潜血指纹样本无法检出有效 STR 分型, 其余样本均可检出有效的 STR 分型;

(3) 254 nm 紫外光照射时长为 1 分钟, 6 号、7 号、8 号潜血指纹样本无法检出有效 STR 分型, 其余样本均可检出有效的 STR 分型。

(4) 254 nm 紫外光照射时长为 2 分钟, 6 号、7 号、8 号潜血指纹样本无法检出有效 STR 分型, 5 号潜血指纹样本两组 (50%) 可以检出有效 STR 分型, 其余样本均可检出有效的 STR 分型;

(5) 254 nm 紫外光照射时长为 3 分钟, 6 号、7 号、8 号潜血指纹样本无法检出有效 STR 分型, 其余样本均可检出有效的 STR 分型;

(6) 254 nm 紫外光照射时长为 5 分钟, 5-8 号潜血指纹样本无法检出有效 STR 分型, 3 号、4 号血指纹样本两组 (50%) 可以检出有效 STR 分型;

(7) 254 nm 紫外光照射时长为 10 分钟, 5-8 号潜血指纹样本无法检出有效 STR 分型, 4 号血指纹样本一组 (25%) 检出有效的 STR 分型, 3 号血指纹样本两组 (50%) 检出有效的 STR 分型。

(8) 254 nm 紫外光照射 20 分钟、30 分钟、1 小时, 3-8 号血、潜血指纹样本均无法检出有效的 STR 分型。

(9) 365 nm 紫外光照射时长分别为 10 秒、30 秒、1 分钟、2 分钟、3 分钟、5 分钟、10 分钟、20 分钟、30 分钟、1 小时, 3-8 号血、潜血指纹样本全部可检出有效的 STR 分型。其中, 照射时长为 1 小时的 7 号、8 号潜血指纹样本有两组 (50%) 未检出全部基因座, 其他全部检出全部基因座; 两组中 7 号少 1 个基因座, 8 号少 2 个基因座。

#### 讨论与分析:

(1) 血量依次递减的 3-8 号血或潜血指纹, 经 254 nm 波长紫外光不同时长各照射 4 组后得到的 STR 基因座数。血或潜血指纹样本经 254 nm 紫外光照射后, DNA 检出率与阳性对照相比显著降低; 照射 1 小时后的样本完全不能检出, 随着照射时间的缩短, 能检出的基因座数逐渐增多; 照射 2 min 以内的样本, 血量较多的血指纹 (3、4 号) 能检出全部 16 个 STR 基因座, 而血量最少的 8 号样本即使照射时长只有 30 秒, 最好检验效果的也只能检出 3 个 STR 基因座, 不能达到个体识别的要求。在本实验条件下, 只有照射时长为 10 s 的样本可以全部检出有效的 STR 分型。由此可见, 254 nm 紫

外光照射潜血指纹对后续的 DNA 检验有显著影响, 照射时间越长, 潜血指纹样本的 DNA 检出率越低; 潜血指纹的血量越少, 照射后越不易获得 DNA 检验结果。

(2) 血、潜血手印对 254 nm 波长的紫外光有较强吸收, 遗留客体对 254 nm 波长的紫外光有较弱的可见荧光, 一些光滑的遗留客体表面有反射光, 利用血、潜血指纹和遗留客体间的不同反差可对血、潜血指纹进行紫外荧光和短波紫外反射方法进行照相。但由于紫外照射后, DNA 同一链上相邻的两个嘧啶核苷酸共价联接形成环丁烷环, 使得 DNA 的结构改变, 在复制过程中抑制 DNA 链的延伸, 从而影响 PCR 扩增, 降低 DNA 检出率。从本实验结果可见, 只需要极短的照射时间 (30 秒), 254 nm 紫外光即可导致 DNA 的结构变化从而影响 PCR 扩增降低检出率, 对血量微少的样本影响尤其严重。这提示我们在今后的工作中, 若需使用 254 nm 紫外光对血或潜血指纹样本进行照相, 应尽量缩短照射时间, 若需要较长时间照射, 或血、潜血指纹的血量极其微少, 应选用对后续 DNA 检验没有影响的其他显现方法。

(3) 3-8 号血或潜血指纹经 365 nm 波长紫外光不同时长各照射 4 组后得到的 STR 基因座数。血或潜血指纹样本经 365 nm 紫外光照射后, STR 分型图谱的峰高和峰面积与阳性对照相比有所减少, 但照射 30 min 以内的样本 DNA 检出率没有变化, 仅有照射 1 小时的部分 7 号和 8 号样本基因座不能全部检出, 但至少能检出 13 个 STR 基因座, 不影响样本的个体识别。这说明随着 365 nm 紫外光照射时间的延长和样本血量的减少, 血或潜血指纹基因座的检出率有所降低, 但相比 254 nm 紫外光, 降低的程度要小得多, 对 DNA 的破坏不严重。由于 365 nm 的紫外光源主要用于血或潜血指纹的现场搜寻, 实践中对血或潜血指纹的照射时长一般不会超过半个小时, 所以 365 nm 的紫外光照射作为发现血或潜血指纹的方法, 可以认为对后续 DNA 检验影响不大, 但在应用时仍需尽量控制照射时长。

#### 3. 结论

(1) 254 nm 紫外光照射血指纹随着时间的不同对后续 DNA 检验的影响也不同。从本实验的结果看, 254 nm 紫外光照射 3 分钟以下 (包括 3 分钟) 对后续的 DNA 检验没有影响, 所有样本均可检出

全部 16 个基因座；254 nm 紫外光照射 20 分钟以上（包括 20 分钟）对后续的 DNA 检验有极显著影响，所有样本均不能检出有效的 STR 分型；254 nm 紫外光照射 3 分钟至 20 分钟之间对后续的 DNA 检验有显著影响，照射时间越长，血量越少，血指纹样本的 DNA 检出率越低。

（2）254 nm 紫外光照射潜血指纹对后续的 DNA 检验有显著影响。从本实验的结果看，254 nm 紫外光照射 10 秒钟以下（包括 10 秒）对后续的 DNA 检验没有影响，所有样本均检出了有效的 STR 分型（除 8 号样本有一组一个是 15 个基因座外，其他的都是 16 个基因座）；254 nm 紫外光照射 5 分钟（包括 5 分钟）以上所有样本均未检出了有效的 STR 分型；在 10 秒至 5 分钟之间，照射时间越长，血量越少，潜血指纹样本的 DNA 检出率越低。

（3）365 nm 紫外光对血、潜血手印照射 1 小时以内（包括 1 小时）对后续 DNA 检验无影响。<sup>[1]</sup>在实际工作中，365 nm 紫外光照射现场手印和手印拍照的时间一般不会超过 1 小时，且照射距离会更远，辐射强度更小，所以可以认为 365 nm 紫外光作为发现血、潜血手印的和拍照方法，对后续 DNA 检验没有影响。

（4）在今后的工作中，若需使用 254 nm 紫外光对血、潜血指纹样本进行照相，应尽量缩短照射时间，血指纹照射时长不应超过 3 分钟，潜血指纹照射时长不应超过 10 秒。若需要较长时间照射，或样本的血量极其微少，应选用对后续 DNA 检验没有影响的其他显现方法。

（责任编辑：田 伟）

## Effect and Testing Methods of DNA Analysis and Blood Species Identified after Detected by Common Detecting-latent Blood/blood-fingerprint Reagents and Ultraviolet Ray

Liang Chuansheng<sup>1</sup> Xiao Bin<sup>2</sup> Chen Aiping<sup>2</sup> He Yanbin<sup>2</sup> Liu Feng<sup>2</sup>  
Yang Shuo<sup>2</sup> Huang Yongsun<sup>2</sup> Zheng Xinming<sup>2</sup>

1. Technology Division of Shenzhen Public Security Bureau, Shenzhen;

2. Longgang Branch of Shenzhen Public Security Bureau, Shenzhen

**Abstract:** To explore the influences of latent blood/blood-fingerprint disclosing solutions on the following DNA analysis and human blood species identified, the team tested more than 3000 samples with two wavelength Ultraviolet ray and seven common methods of Detecting-latent blood/blood-fingerprint. The results showed that the 365nm Ultraviolet ray made on difference on the following DNA testing compared to the 254nm Ultraviolet ray. The six disclosing solutions made on difference on the following DNA testing of latent blood/blood-fingerprint after stored for ten months, expect for super-developer of latent blood fingerprint-blue. And the BBI, coomassie brilliant blue and amido black 10B should be priority selected because they had higher testing ability and fewer influences on DNA testing.

**Key words:** Latent blood fingerprint; Disclosing solution; Ultraviolet ray; Human blood species; DNA testing

[1] 罗瑞彪. 疑难手印显现 [M]. 北京: 群众出版, 2005.