

The DNA Detection Technology of Epithelial Cells Used in Traffic Accident Cases Identification

Fei Zhao¹, Yanling Jiang¹, Renwu Huang², Ning Zhang¹, Shuo Yang¹, Shouxun Zhang¹, Sheng Xia¹, Shurong Zhong^{1,2}

¹School of Forensic Medicine, Kunming Medical University, Kunming Yunnan

²Judicial Identification Center of Kunming Medical University, Kunming Yunnan

Email: 274284738@qq.com

Received: Feb. 20th, 2018; accepted: Mar. 6th, 2018; published: Mar. 13th, 2018

Abstract

Nowadays to examine biological trace samples is not only one of the most complicated problems in the forensic cases, but also one of research hotspots and difficulties in forensic genetics currently. Due to its characteristics, such as small size, trace and difficulty of identifying, it is often overlooked by person handling the traffic accident case. In combination with the related case, we analyzed and studied how to identify the vehicle and recreate the truth of the case by examination of the STR typing of biological trace sample left at accident scene. And in this case, epithelial cell samples were examined by the DNA detection technology.

Keywords

Epithelial Cells, STR Typing

脱落细胞DNA检测在肇事车辆认定中应用一例

赵 斐¹, 姜焰凌¹, 黄仁武², 张 柠¹, 杨 朔¹, 张寿勋¹, 夏 生¹, 钟树荣^{1,2}

¹昆明医科大学法医学院, 云南 昆明

²昆明医科大学司法鉴定中心, 云南 昆明

Email: 274284738@qq.com

收稿日期: 2018年2月20日; 录用日期: 2018年3月6日; 发布日期: 2018年3月13日

摘 要

微量生物检材是目前检案中经常遇到的疑难生物物证, 也是目前法医遗传领域的研究热点和难点之一。

文章引用: 赵斐, 姜焰凌, 黄仁武, 张柠, 杨朔, 张寿勋, 夏生, 钟树荣. 脱落细胞DNA检测在肇事车辆认定中应用一例[J]. 自然科学, 2018, 6(2): 121-125. DOI: 10.12677/ojns.2018.62018

在交通事故中, 此类微量生物检材由于体积小、微量、不易被识别等特点, 往往被当事人忽略。本案例通过事故现场提取的微量检材的脱落细胞DNA检测, 成功获得STR分型图谱, 从而确定了肇事车辆, 并还原了交通事故案件真相。

关键词

脱落细胞, STR分型

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 案例资料

1.1. 简要案情

2017年06月11日4时许, 陈某驾驶小型轿车至某市公交车站路段时, 与行人李某相撞, 造成交通事故。事故发生后, 陈某驾车逃逸。

1.2. 样本

- 1号检材: 李某口腔拭子一份。
- 2号检材: 车辆前挡风玻璃碎屑处提取的可疑生物检材一份(胶带粘取)。
- 3号检材: 车辆前挡风玻璃碎屑处提取的可疑生物检材一份(棉线擦拭转移)。

1.3. 方法

1.3.1. DAN 的提取

1号检材采用 Chelex-100 法提取 DNA; 2号与3号检材采用 QIAamp[®] DNA Investigator Kit(50)试剂盒(德国 QIAGEN 公司)提取 DNA。

1.3.2. 扩增与分型

采用 PowerPlex[®] 21 试剂盒(美国 Promega 公司)进行复合扩增, 反应体系 10 μ L, 模板 DNA 1 μ L, 同时设立灭菌纯水为阴性对照样本, 2800 M 为阳性对照样本。采用 AB3130xL 自动遗传分析仪(美国 AB 公司), 对 PCR 复合扩增产物进行分析, 用 AB 的 GeneMapperID-X1.5 软件进行数据处理。

1.4. 结果

上述3份检材用 PowerPlex[®] 21 试剂盒进行 PCR 复合扩增时, 阴性对照未检出特异性扩增产物, 阳性对照基因分型正确, 3份检材均得到特异性扩增产物。上述3份检材的 STR 分型图谱见图 1、图 2 和图 3; 3份检材 21 个 STR 基因座分型结果的数据统计分析见表 1。

分析上述二十一个 STR 基因座的检测结果, 1号检材的基因分型和 2号、3号检材的基因分型完全一致, 计算1号检材与2号、3号检材在上述20个常染色体 STR 基因座的累积随机匹配概率(CPM)为 9.3403×10^{-33} , 似然率(LR)为 1.0706×10^{32} 。对 DNA 检测结果的分析表明: 从可疑车辆前挡风玻璃碎屑上提取的微量检材为李某所留。

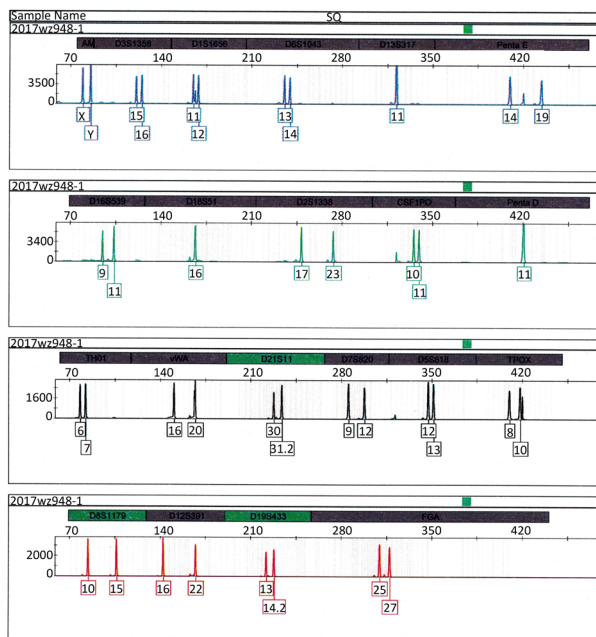


Figure 1. STR typing map of Sample 1
图 1. 1号检材的STR分型图谱

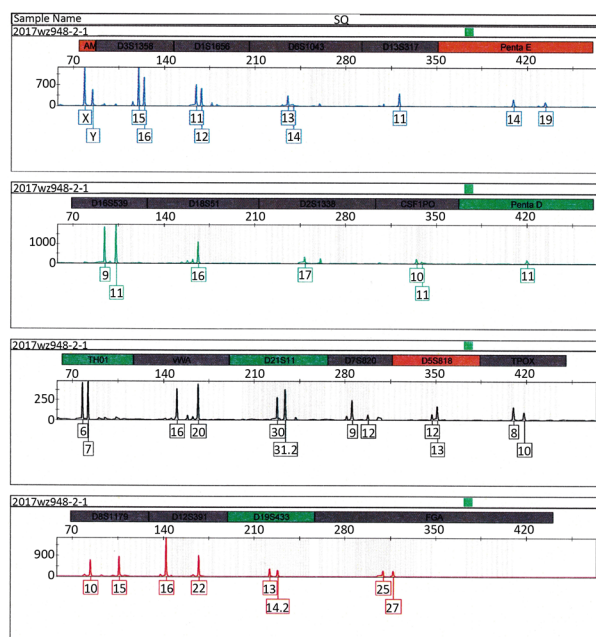


Figure 2. STR typing map of Sample 2
图 2. 2号检材的STR分型图谱

2. 讨论

通过勘察事故现场, 我们从嫌疑肇事车辆上, 可以发现和提取到诸如毛发、体液、分泌物、人体组织等常规生物检材, 进行DNA检验, 以解决肇事车辆认定问题。然而有时, 在事故车辆碰撞处, 虽然与人体有接触, 但是可能找不到肉眼可见的诸如血液、毛发等常规生物检材。如本案中, 在受撞击的车前挡风玻璃上, 未发现明显的生物检材。我们分别用粘取法和擦拭法提取了该车辆前挡风玻璃碎屑表面的可

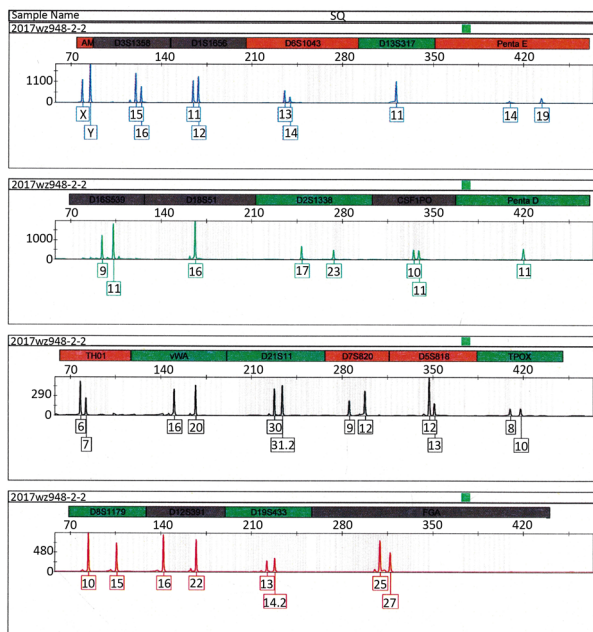


Figure 3. STR typing map of Sample 3
图 3. 3 号检材的 STR 分型图谱

Table 1. 3 samples of the results of genotyping
表 1. 3 份检材基因分型结果

基因座	1 号检材	2 号检材	3 号检材	随机匹配概率
D3S1358	15, 16	15, 16	15, 16	0.2312
D1S1656	11, 12	11, 12	11, 12	0.0071
D6S1043	13, 14	13, 14	13, 14	0.0341
D13S317	11	11	11	0.0588
Penta E	14, 19	14, 19	14, 19	0.0091
D16S539	9, 11	9, 11	9, 11	0.1486
D18S51	16	16	16	0.0182
D2S1338	17, 23	17, 23	17, 23	0.0284
CSF1PO	10, 11	10, 11	10, 11	0.1196
Penta D	11	11	11	0.0147
TH01	6, 7	6, 7	6, 7	0.0524
vWA	16, 20	16, 20	16, 20	0.0058
D21S11	30, 31.2	30, 31.2	30, 31.2	0.0440
D7S820	9, 12	9, 12	9, 12	0.0226
D5S818	12, 13	12, 13	12, 13	0.0613
TPOX	8, 10	8, 10	8, 10	0.0271
D8S1179	10, 15	10, 15	10, 15	0.0413
D12S391	16, 22	16, 22	16, 22	0.0015
D19S433	13, 14.2	13, 14.2	13, 14.2	0.0552
FGA	25, 27	25, 27	25, 27	0.0013
Amelogenin	X, Y	X, Y	X, Y	-

疑微量检材,用特异性的 DNA 纯化试剂盒结合 Chelex-100 法处理提取 DNA,并进行复合扩增,成功获得了 STR 分型,与李某的口腔拭子样本 DNA 比对,最终解决了肇事车辆认定问题。

在交通事故中。嫌疑车辆的挡风玻璃、保险杠、汽车轮胎花纹内可能存在着肉眼无法发现的微量生物检材,此类检材由于体积小、微量、不易被识别等特点,往往易被现场勘察人员忽略。因此我们在勘察事故现场时,尤其要重视一些较为关键的重点部位,不能忽略微量检材的提取。在微量检材中含有人体脱落细胞。人体脱落细胞多为角质上皮细胞,细胞核多已退化,但也有尚未完全角化就已经脱落的细胞,从这些细胞中有可能获得未完全降解的核 DNA。所以,脱落细胞的富集和 DNA 提取,是获取完整 STR 分型图谱的关键[1] [2] [3]。根据脱落细胞的载体性质的不同,可以分为渗透性载体(如衣物、鞋帽等纺织类)和非渗透性载体(如门把手等钢制金属类)。针对不同类型的载体,所采用的脱落细胞的富集方法也不同。有文献记载,针对渗透性载体,使用直接剪取法获得的 DNA 检测量较高;针对非渗透性载体,胶带粘取法和真空吸附法获得的 DNA 检测量较高[4]。在本案中,受撞击的车前挡风玻璃就属于非渗透性载体,我们采用胶带粘取法和擦拭转移均成功富集到了脱落细胞[5]。另外,从可疑肇事车辆上提取的生物检材,往往容易沾有灰尘、泥土等杂质。为了去除污染物及抑制剂对后续 PCR 扩增的影响,仅仅采用经典的 Chelex-100 法进行 DNA 的抽提是不够的,我们必须采用专业的纯化试剂盒提取 DNA,以实现 PCR 的有效扩增[6]。在本案中,我们采用 QIAamp[®] DNA Investigator Kit(50)试剂盒,对现场提取的两份微量生物检材都进行了 DNA 纯化与浓缩,有效提高了微量生物检材的利用率,最终成功获得了 STR 分型。

脱落细胞的 DNA 检测成功率普遍不高。如何提高 DNA 的检出率,使之更好地得到应用,细致的现场勘验收集检材、正确适当的脱落细胞富集、优良的 DNA 提取方法、稳定的 PCR 系统的选择以及正确的结果分析均是关键。如何在脱落细胞的检材的检验过程中防止污染也是至关重要的。所以在提取的过程中,一是要注意防止污染;二是要尽量少处理和触摸所擦拭的区域;三是分区域进行检材的提取和检测。脱落细胞大多通过接触转移而遗留在现场载体上,对检验出的结果要正确认识,要考虑到所有接触到该载体的个体,都有可能将细胞遗留在载体上。所以要结合现场勘查、调查走访及案件资料等,对脱落细胞的分型结果进行综合判断,最终确定检材为罪犯遗留的可能性。

参考文献

- [1] Alessandrini, F., Cecati, M., Pesaresi, M., *et al.* (2003) Fingerprints as Evidence for a Genetic Profile: Morphological Study on Fingerprints and Analysis of Exogenous and Individual Factors Affecting DNA Typing. *Journal of Forensic Sciences*, **48**, 586-592. <https://doi.org/10.1520/JFS2002260>
- [2] van Oorschot, R.A. and Jones, M.K. (1997) DNA Fingerprints from Fingerprints. *Nature*, **387**, 767-787. <https://doi.org/10.1038/42838>
- [3] Danielb, Q. (2012) Cell Free DNA as a Component of Forensic Evidence Recovered from Touched Surfaces. *Forensic Science International: Genetics*, **6**, 26-30. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.01.004>
- [4] 董会, 王晶, 李彩霞, 等. 不同载体上微量接触类检材的相关问题研究[J]. 生命科学研究, 2015, 19(2): 145-153.
- [5] 董会, 魏丽, 张涛, 等. 微量接触类生物检材的游离 DNA 问题分析[J]. 分子影像学杂志, 2015, 38(3): 177-181.
- [6] 刘亚举, 张俊涛. 纯化 PCR 产物检出微量生物检材 STR 分型 1 例[J]. 河南科技大学学报科技版(医学版), 2016, 34(2): 141-142.

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2330-1724，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：ojs@hanspub.org