

# 实验三、 DNA指纹的遗传分析

主题：个人身份识别和亲缘关系认定

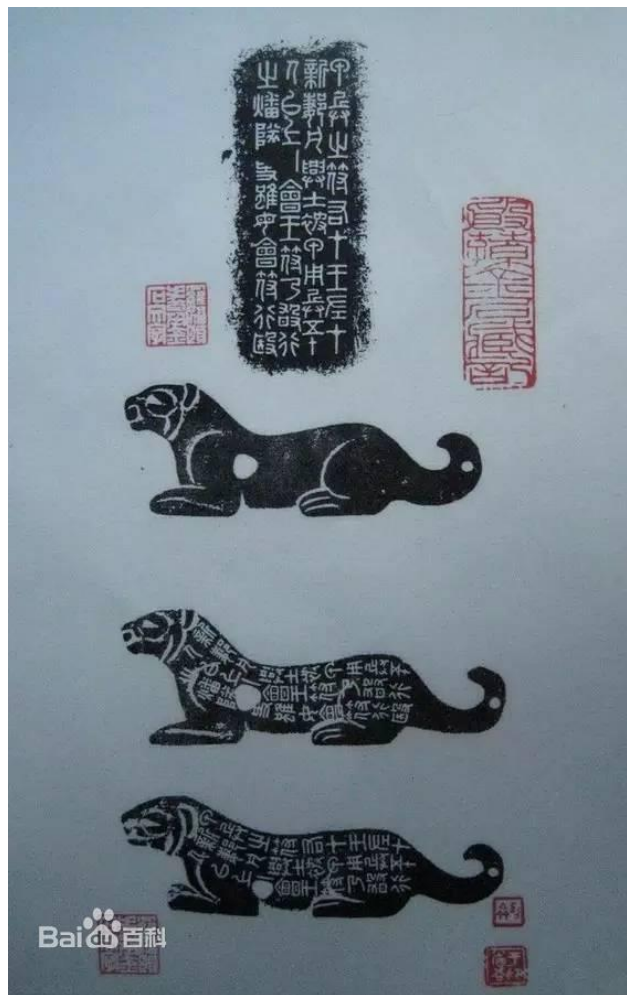
科学与技术：DNA指纹和PCR

---

遵纪守法、惩恶洗冤

保护隐私、创新与创业

# 古人如何证明身份？



# 指纹与指纹识别



**独一无二：**重复率极小，大约150亿分之一。

**终生不变：**胎儿第三四个月产生、第六个月形成，纹样终生不会。即使磨掉了表皮，只要不伤真皮层，伤愈后仍能长出同样的指纹。



## 指纹对比的方法

特征点的例子

分叉点

终止点

中心点

三角点

对比指纹时，通常并不对比整个指纹，而是提取上述细节特征点的类型及位置等进行比对。

- 1880年，Faulds在《自然》杂志提倡将指纹用于识别罪犯。
- 1891年Galton提出著名的高尔顿分类系统。
- 20世纪90年代，用于个人身份鉴定的自动指纹识别系统得到开发和应用。

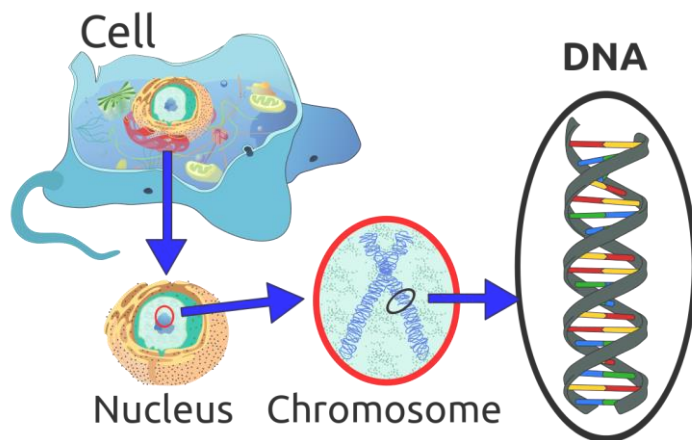
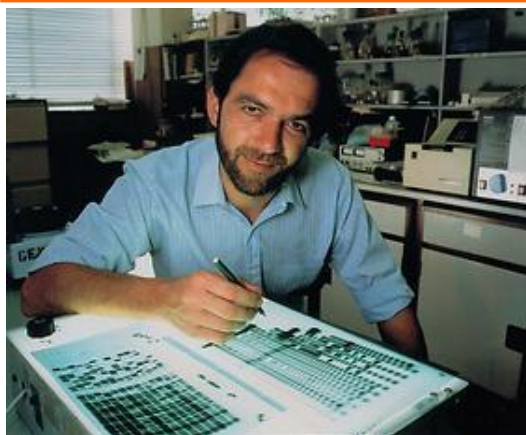
# 本次实验的教学目标

---

1. 通过提取自己的口腔细胞DNA，对D1S80多态性分析，掌握DNA指纹分析的原理、方法和应用。
2. 比较不同DNA分子标记方法的优缺点。
3. 思考分子标记的发展方向及应用，特别是如何帮助“**不放过坏人，不冤枉好人**”。
4. 通过学习PCR发现的历史，思考创新与创业的重要因素和对经济的推动作用。

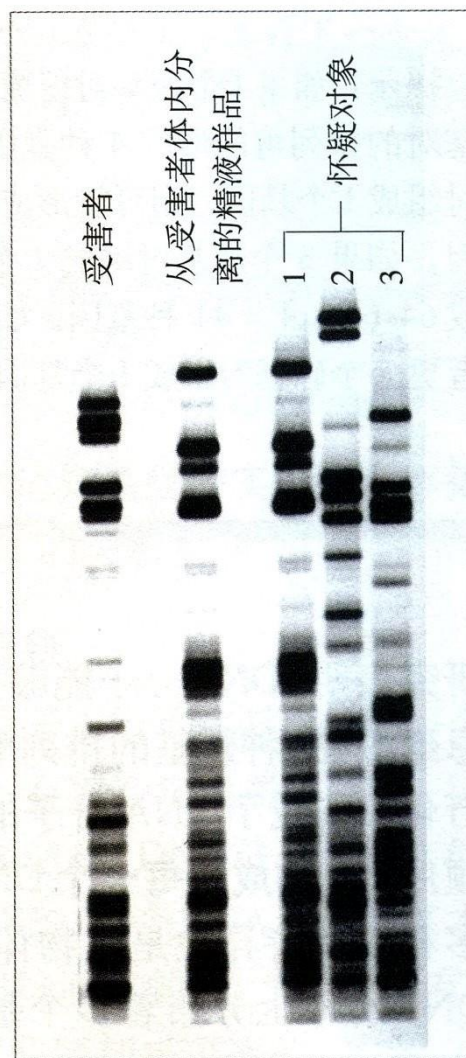


# 一、实验原理



## DNA指纹技术之父 Sir Alec John Jeffreys, University of Leicester, 2005获拉斯克临床医学奖

- 1984年 灵机一动，30秒改变了一生。
- 1985年 “Hypervariable ‘minisatellite’ regions in human DNA”. Nature. 314 (6006): 67–73. 解决移民案。  
<https://www.theguardian.com/science/2009/may/24/dna-fingerprinting-alec-jeffreys>
- 1986年 破获英国莱斯特郡奸杀案。影片《真凶密码，Code of a Killer》，2015英国。
- 1987年 英国批准作为正式法庭物证手段。
- 1989年 美国国会批准作为正式法庭物证手段。
- 世纪大案：辛普森杀妻案（1994指控，1995无罪释放）。



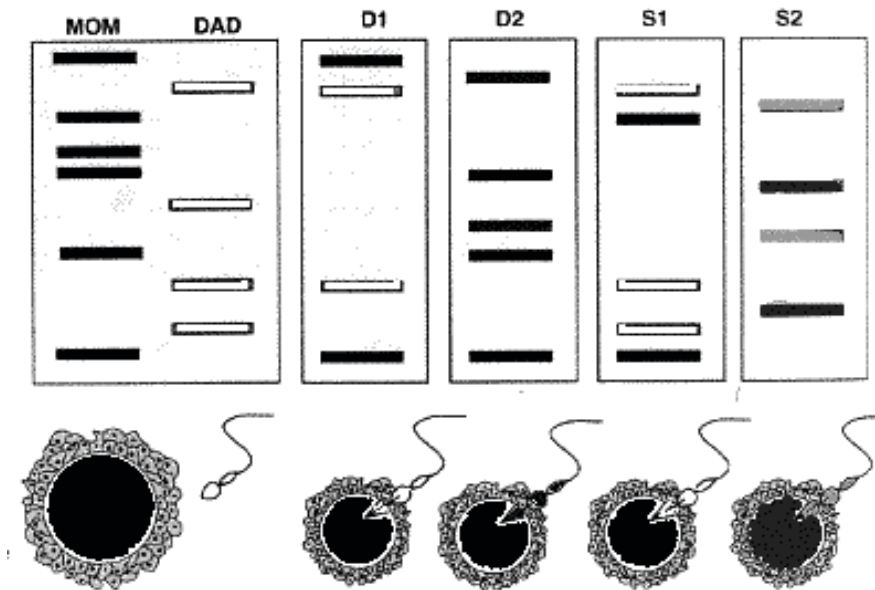
DNA 指纹图

# DNA指纹的特点及应用

1. 高度的特异性
2. 稳定的遗传性
3. 体细胞稳定性

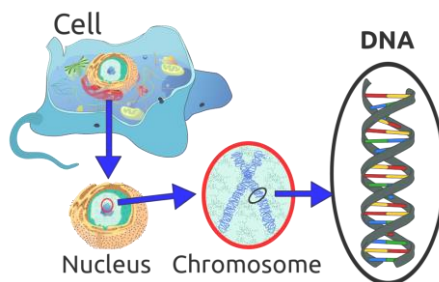
## 应用

1. 法医鉴定
2. 人类医学：个体鉴别、**亲缘关系**、医学诊断、疾病连锁的遗传标记
3. 动物进化学：探明动物种群的起源及进化过程
4. 物种分类：区分不同物种
5. 作物的基因定位及育种



## 二、实验步骤

### 1. 收集DNA样本

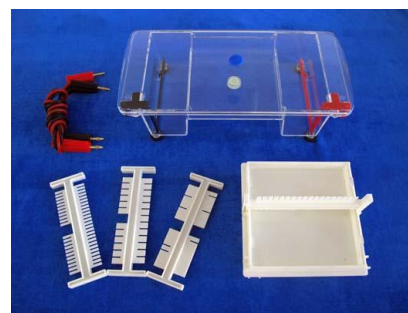


### 2. PCR扩增D1S80等位基因



### 3. 琼脂糖凝胶电泳鉴定PCR扩增产物

### 4. D1S80等位基因分析



# 1. 收集DNA样本（每人做1管）

---

- (1) 漱口后，用灭菌的棉签充分擦刮口腔内壁，然后将该棉签头放入1.5 mL离心管中，加入1 mL无菌水，振荡10 s，10 000 r/min，离心45 s；
- (2) 取出棉签丢弃，注意不要搅动沉淀，如果不慎搅动，可以再次离心；
- (3) 从离心管中吸出970  $\mu$ L无菌水，注意不要吸到沉淀；
- (4) 向离心管中加入200  $\mu$ L 5% Chelex 100（用前务必混匀，200ul枪头剪一下，要吸到小珠子），振荡10 s混匀；
- (5) 加入2  $\mu$ L蛋白酶K，混匀，56°C保温5 min；
- (6) 剧烈振荡10 s，沸水浴8 min；
- (7) 10 000 r/min离心3 min，离心管中溶液分成上下两层：  
下层为Chelex 100和细胞碎片的沉淀  
上层溶液含DNA分子，可以直接用作PCR模板。



## 2. PCR扩增D1S80等位基因（每人做1 or 2管）

---

- (1) 每个人用记号笔在0.2 mL PCR管上**做好标记**；
- (2) 准备冰盒，开始反应前尽量使PCR管保持在**冰上**；
- (3) 依次加入下列成分，配制25  $\mu$ L的PCR反应溶液：

PCR pre-mix	12.5 $\mu$ L
引物PF (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ L
引物PR (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ L
口腔细胞DNA样本	11.5 $\mu$ L

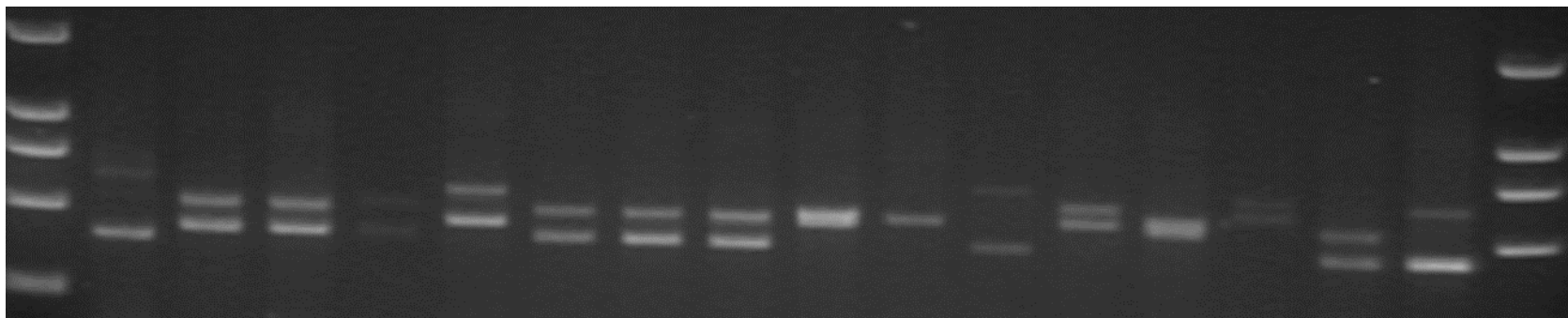
- (4) 轻弹管壁，混匀溶液，离心10 s，使管壁上的液滴落下；
- (5) 按下列程序开始PCR反应：**约需50min**  
94°C, 1 min  $\rightarrow$  (94°C, 15 s; 68°C, 15 s; 72°C, 15 s)  $\times$  35 cycles  
 $\rightarrow$  72°C, 10 min  $\rightarrow$  冰上或4°C暂时放置，直至开始电泳。

### 3. PCR扩增产物鉴定

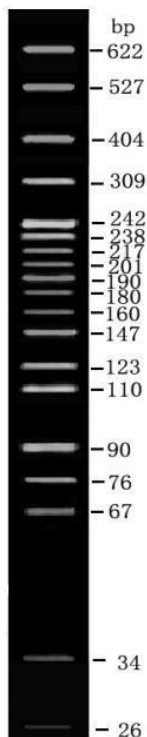
---

- (1) 用1×TAE电泳缓冲液配制**2%琼脂糖电泳凝胶**（含万分之一的GelRed显示液），凝胶20 min；
- (2) 准备冰盒，取出含有扩增产物的PCR管，放冰上待用；
- (3) 在凝胶两端孔中加入10  $\mu$ L的 pBR322 DNA/MsP1 **Marker**；
- (4) 每人将**10  $\mu$ L PCR扩增产物**各自加入凝胶样孔；
- (5) 60 V电泳 **40-60 min**；
- (6) 凝胶用UVP紫外分析仪拍照，记录各自的DNA条带数目及其位置。

# 结果分析：2008 级 生物技术



pBR322 DNA/*Msp*I



注：重复数为1的*D1S80* PCR产物长**161 bp**

重复数每增加一个，序列增加长度为**16 bp**

据此可以推算：

$$\text{重复数} = 1 + (\text{PCR产物大小} - 161) / 16$$

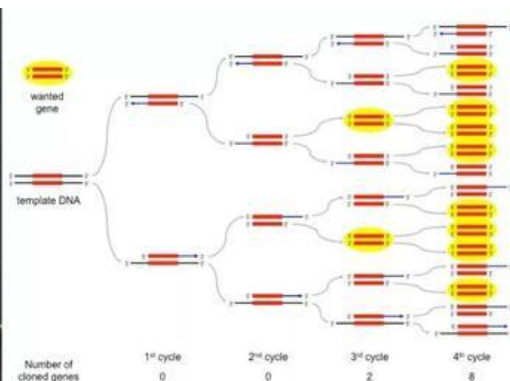
人群中*D1S80*座位的杂合率约为**86%**。从理论上讲，可能存在**435种不同的等位基因组合**。

姓 名	<i>D1S80</i> DNA指纹特征		
	大小 /bp	长度（重复数）	杂合/纯合

## 诺奖PCR发现史及其启发

**PCR之父Kary B. Mullis**。The Nobel Prize in Chemistry 1993 “for his invention of the polymerase chain reaction (PCR) method”。

Mullis的贡献使得PCR成为生物化学和分子生物学的核心技术，1998被《纽约时报》盛赞为：**高度创新**，非常重要，作为分水岭，将生物学划分为两个时代，那就是：**PCR前时代和PCR后时代**。自传《Dancing naked in the mind field, 心灵裸舞》。



1983：灵感。

DNA复制一次能变成两个

复制十次就是2的10次方，1024个

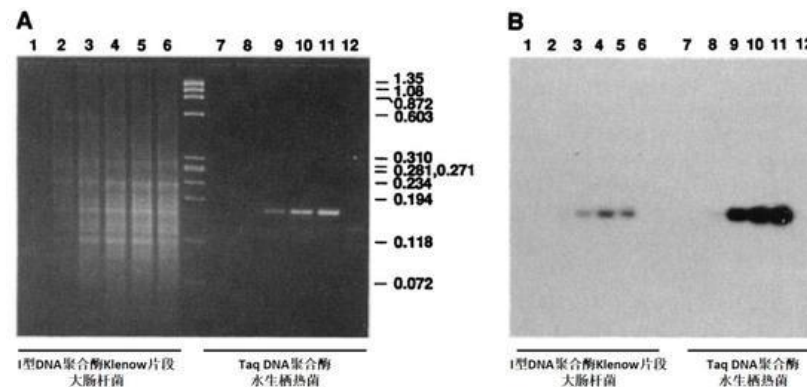
复制二十次就有100多万个了

复制30次的话，就有10亿个了

1984：申请专利

1985：发表论文

1986：“人类分子生物学”专题研讨会



20世纪70年代，华裔女科学家钱嘉韵（Alice Chien）从美国黄石国家公园的热泉中分离到能够耐受极高温度的DNA聚合酶——Taq DNA聚合酶。

创新。

复利。

$$1.01^{365}=37.78$$
$$0.99^{365}=0.025$$

良性循环。

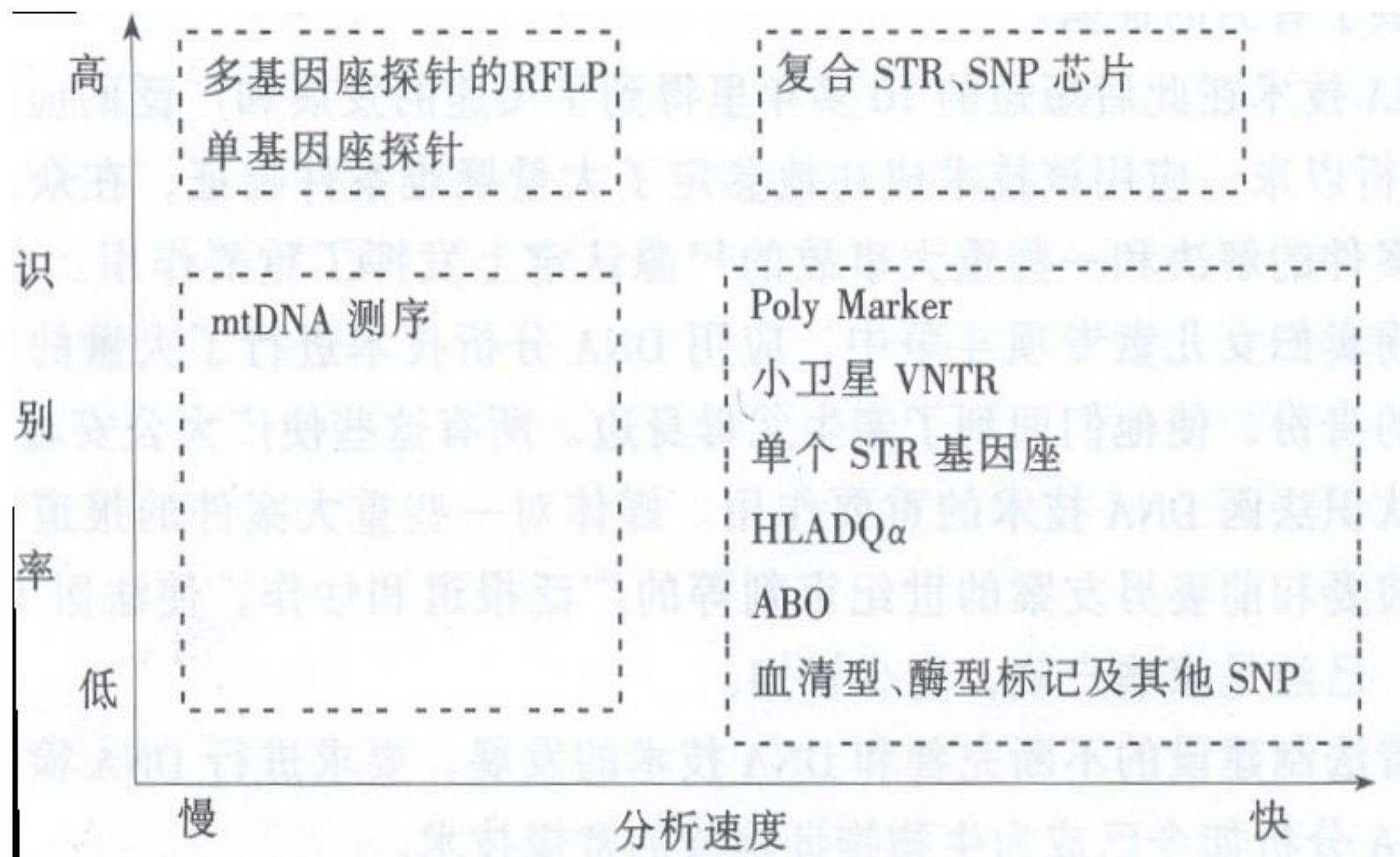
滚雪球。



# 作业及思考题

---

1. 分析自己和全班其他同学的D1S80 PCR产物。
2. 论述分子标记的发展方向及应用，思考它是如何帮助“不放过坏人，不冤枉好人”；如何平衡个人隐私的保护。
3. 简述PCR的发现历史，思考科学发现的重要因素及对经济的推动作用。



# STR(Short Tandem Repeats)

短串联重复序列(STR)是由2—6bp重复单位构成核心序列，是一种广泛分布在人类基因组中的DNA片段，主要由核心序列拷贝数目的变化产生长度多态性。

其最大的特点是具有很高的突变率，从而表现出广泛的多态性，适合于记录短期的进化事件，近年来已成为人类遗传学研究的有效遗传标记。

Y染色体是单倍体，呈父系遗传，除拟常染色体区域外，其余的Y染色体特异区不会发生重组，因此通过对Y染色体上DNA(Y—DNA)的系统分析可直接反映种族或人群的父系演化历史。Y—STR位于Y染色体的非编码区，属于Y染色体的特异区，利用其多态性，可研究在父系进化历史中发生的突变事件，探讨关系较近的群体之间的亲缘关系和他们之间存在的微进化关系。

2019年11月28日，身负七  
条人命、潜逃20年的逃犯  
**劳荣枝**在厦门某商场被抓获



**法子英**



“法网恢恢，疏而不漏”  
白银杀人案告破-DNA Hit of the Year 2017

**1988-2002 Serial Murders**

Baiyin, China – Suspect arrested August 2016

- Ten young women and one child murdered between 1988 – 2002
- Killer targeted women wearing red
- Killer mutilated victims' reproductive organs
- Called the “Chinese Jack the Ripper” by authorities
- 现场留有指纹、脚印、精斑等犯罪证据，但苦无线索。



Y-STR analysis  
focuses on short  
tandem repeats  
(STRs)

[https://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_Y-STR\\_markers](https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_Y-STR_markers)

哲学三大终极问题：

我是谁？我从哪里来？我要到哪里去？

Y染色体追踪人类亚当



2013年8月2日美国《科学》杂志上发表的两篇文章都认为，Y染色体亚当与以前发现的线粒体夏娃出现的时间大致相同。大约9.9万年至14.8万年前。

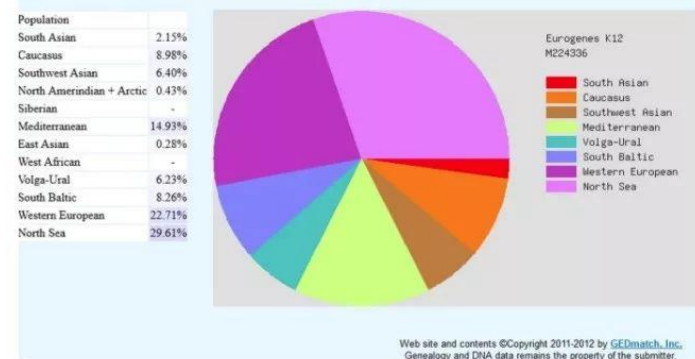
# 金州杀人狂破案记千算万算，没算到会栽在一个DNA寻祖网站上



2018年，72岁的金州杀手迪安杰洛（Joseph James DeAngelo）被捕，他在**1976到1986**年间，在加州各地犯下12项杀人案以及50多起性侵案，被害人年龄从13岁到41岁。

[http://www.guancha.cn/america/2018\\_05\\_01\\_455445.shtml](http://www.guancha.cn/america/2018_05_01_455445.shtml)

## 2. GEDMatch.com



Another popular DNA analysis platform, GEDMatch, allows you to upload raw data from three DNA testing services; AncestryDNA, 23andMe, and FamilyTreeDNA.

Using GEDMatch.com, you can:

- Check for DNA matches with other people who have used different DNA testing services.
- Perform triangulation. This is a process of comparing your DNA with that of known family members to determine how you are related.
- Determine exactly how much DNA you share with your matches.
- Learn about your ancestry composition (image). You can check whether you have Native American or European ancestry.
- Check whether two people are related, for example, your parents.
- Determine family connections as far back as possible by carrying out X-chromosome comparisons.

For instructions on how to upload your data, GEDMatch.com provides an excellent tutorial. 英国那些事儿





## 被鉴定人身份登记:

姓名	性别	出生年月	证件号码
郑礼昆	男	1952 年 05 月 01 日	350526195205012018
郑传都	男	2001 年 07 月 18 日	/

## 二、情况摘要

2014 年 09 月 15 日, 郑礼昆委托本司法鉴定中心, 要求对郑礼昆与郑传都之间是否存在亲生血缘关系进行 DNA 鉴定。

三、检测过程 本检验按照 SF/Z JD0105001-2010 鉴定技术规范进行。

1、DNA 检验: 用 Chelex 法提取血样 DNA, 使用 Goldeneye 20A 系统, 经 PCR 方法扩增多个 STR 基因座, 用 3500XL 测序仪进行基因分析, 得到基因型。

## 2、检测结果:

检测系统	郑礼昆	郑传都	
AmeIogenin	X, Y	X, Y	PI
D19S433	13.2, 15.2	13.2, 15.2	8.23
D6S818	7, 10	7, 11	11.74
D21S11	28, 30	28, 31	4.51
D18S51	15, 15	14, 15	2.92
D6S1043	12, 20	20, 20	19.23
D3S1358	17, 18	17, 18	5.14
D13S317	8, 13	8, 10	0.87
D7S820	8, 11	11, 12	0.72
D16S539	10, 12	10, 13	1.96
CSF1PO	9, 12	9, 10	4.87
Penta D	9, 13	12, 13	2.47
vWA	14, 17	17, 17	2.12
D8S1179	14, 15	13, 16	1.46
TPOX	8, 8	8, 12	0.97
Penta E	14, 18	12, 18	3.24
TH01	7, 9	7, 7	1.88
D12S391	17, 17	17, 20	5.65
D2S1338	19, 19	19, 22	2.54
FGA	24, 25	24, 24	2.64
累积亲权指数 (CPI)			1287594600.90

## 四、分析说明:

D8S1179 等 19 个 STR 基因座均为人类的遗传学标记, 遵循孟德尔遗传定律, 联合应用可进行亲权鉴定, 其累积非父排除率为 0.999999989。

在上述结果中, 被检孩子的等位基因均可从被检父的基因型中找到来源, 经计算, 累积亲权指数为  $1.2876 \times 10^9$ 。

## 五、鉴定结论

依据 SF/Z JD0105001-2010 标准, 支持郑礼昆与郑传都之间存在亲生血缘关系。

司法鉴定人: 赵武荣

《司法鉴定人执业证》证号: 350504001003

司法鉴定人: 陈卡斌

《司法鉴定人执业证》证号: 350506040001

二〇一四年九月十六日

