

被动活动稍受限,经测算其后遗症尚未达到人体损伤残疾程度。

综上,踝关节损伤是法医临床学鉴定实践中较为常见的损伤类型。案例1中被鉴定人梅某踝关节的损伤通常被称为“单踝骨折”,案例2被鉴定人鲁某踝关节的损伤通常被称为“双踝骨折”,案例1的评残与案例2的不予评残都有其各自的特殊性。由于法医临床学鉴定专业性较强,司法鉴定人在回复质询及出庭过程中,通过仔细阅片、明确骨折类型、分析损伤机制从而推断其致伤方式,以此来支持鉴定意见,可增加质询或质疑者对司法鉴定意见的认可度。

#### 参考文献:

- [1] 秦启生. 法医临床学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2005.  
QIN Q S. Clinic forensic[M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005.
- [2] 陈孝平,汪建平,赵继宗. 外科学[M]. 9版. 北京:人民卫生出版社, 2018.  
CHEN X P, WANG J P, ZHAO J Z. Surgery[M]. 9th ed. Beijing: People's Medical Publishing House,

2018.

- [3] 侯志勇,张英泽,潘进社,等. 胫骨下1/3螺旋形骨折合并后踝骨折的致伤机制及漏诊原因分析[J]. 中华创伤杂志, 2006, 22(2): 152-154. doi: 10.3760/j.issn: 1001-8050.2006.02.022.  
HOU Z Y, ZHANG Y Z, PAN J S, et al. Injury mechanism and missed diagnosis of 1/3 spiral fracture of tibia with posterior malleolus fracture[J]. Zhonghua Chuangshang Zazhi, 2006, 22(2): 152-154.
- [4] 张英泽,侯志勇. 介绍一种特殊类型的骨折——胫骨下1/3螺旋形骨折合并后踝骨折[C]//第六届全国创伤学术会议暨第十四届全国创伤学术交流会议论文集, 北京, 2007.  
ZHANG Y Z, HOU Z Y. Introduction of a special type of fracture: 1/3 spiral fracture under tibia with posterior malleolus fracture[C]// Proceedings of the 6th National Trauma academic conference and the 14th National Trauma Academic Exchange Conference, Beijing, 2007.

(收稿日期:2019-02-25)

(本文编辑:夏晴)

## · 案例报道 ·

# 胎盘粉DNA分析1例

王进<sup>1</sup>, 刘健<sup>2</sup>, 彭燕<sup>3</sup>

(1. 贵州通鉴司法鉴定所, 贵州 遵义 563000; 2. 贵州省公安厅物证鉴定中心, 贵州 贵阳 550000; 3. 贵阳市白云公安司法鉴定中心, 贵州 贵阳 550000)

关键词: 法医遗传学; 胎盘; DNA提取; Chelex-100法; M48磁珠法

中图分类号: DF795.2 文献标志码: B doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2020.02.031

文章编号: 1004-5619(2020)02-0290-03



## 1 案 例

### 1.1 简要案情

某年3月5日,某县发生一起强奸致孕案,之后受害人姚某在私人诊所内非法实施引产手术,诊所私自截留胎盘进行干燥、粉碎、加工处理并作为保健品原料贩卖。最后警方根据线索追回疑似受害人姚某引产所留部分胎盘粉,为明确该胎盘粉是否为受害人所留,要求对胎盘粉进行检验。

### 1.2 检验过程

对送检的10g胎盘粉和受害人姚某的血样进行检验。

#### 1.2.1 采用 Chelex-100 法提取胎盘粉和姚某血样的DNA

将胎盘粉置于滤纸上,取胎盘粉适量6份及姚某血样分别置于0.5 mL离心管内,加入10% 100 mg/mL Chelex-100试剂170  $\mu$ L、10 mg/mL蛋白酶K 10  $\mu$ L,

置于56℃恒温金属浴保温2h,100℃保温8min,4℃保存备用。

### 1.2.2 采用M48磁珠法提取胎盘粉的DNA

把胎盘粉倾倒在滤纸上,高频率抖动使粉末分层,用眼科镊在胎盘粉中挑选出较大呈片状的单一细屑10份,分别置于1.5mL离心管中,加入G2裂解液200μL、2mg/mL蛋白酶K 10μL,56℃金属浴2h。将离心管放入离心机中,以离心半径5cm,13000r/min离心5min,将上清液转移至另一个1.5mL离心管中,加入3倍体积的吸附液(MTL)、30μL磁珠悬浮液,振荡15min,置于磁力架上静置10s,弃去上清液,加入500μL洗涤液,将离心管摇匀后置于磁力架上静置10s,弃去上清液,加入80%乙醇溶液500μL,取出离心管摇匀后置于磁力架上静置10s,弃去上清液,用80%乙醇溶液重复洗涤1次,再放置于磁力架上弃去上清液。将离心管置于65℃金属浴中烘干10min,加入65℃去离子水30μL于离心管中洗脱,高速漩涡振荡2s,置于磁力架上吸出上清液,4℃保存备用。

### 1.2.3 PCR扩增与分型

将上述提取的DNA模板采用AmpFℓSTR™ Identifier™ Plus PCR扩增试剂盒(美国AB公司)在9700型PCR仪(美国AB公司)上进行扩增,扩增模板为2μL,扩增体系为10μL,扩增产物经3130xl型基因分析仪(美国AB公司)电泳检测,采用GeneMapper™ ID v3.2.1进行分型。

### 1.3 检验结果

6份胎盘粉均检出相似的混合DNA分型结果(图1),其中主要成分为一女性个体,该混合DNA分型包含姚某的DNA分型,不排除该样本的主要成分为姚某的胎盘所留。

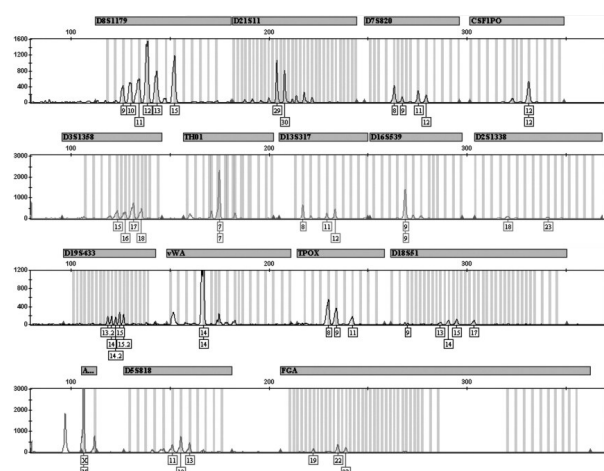


图1 胎盘粉采用Chelex-100法提取的DNA的STR分型结果

Fig. 1 STR typing results of DNA extracted from placenta powder by Chelex-100 method

10份片状胎盘粉中有6份成功分型,均为相同单一女性基因分型(图2),且与姚某基因型相同,认定该胎盘粉为姚某所留。另外4份分型结果显示部分等位基因丢失。

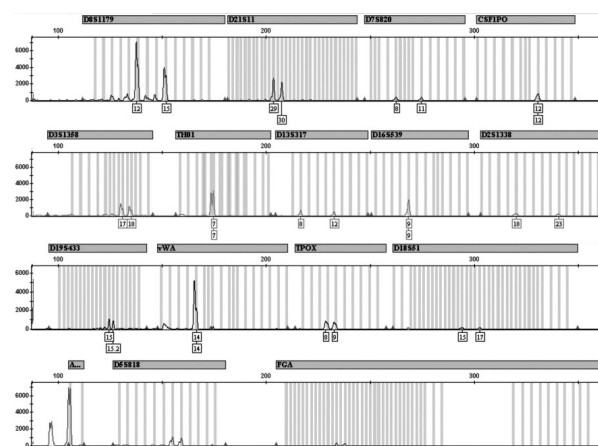


图2 胎盘粉采用M48磁珠法提取的DNA的STR分型结果

Fig. 2 STR typing results of DNA extracted from placenta powder by M48 magnetic bead method

通过上述两种方法提取后对胎盘粉DNA进行STR分型检验,结果显示,经M48磁珠法提取后获得的DNA比经Chelex-100法提取后获得的DNA纯度高。

## 2 讨论

胎盘主要由羊膜、叶状绒毛膜以及底蜕膜组成,是孕妇与胎儿沟通的桥梁,是血液、氧气、营养交换的工具。同时,胎盘还是一味中药,称作紫河车,其中含有大量的蛋白质以及各种酶与激素,具有温肾益精、补气养血等功效<sup>[1]</sup>。具体作用<sup>[1]</sup>有:(1)增强机体抵抗力。(2)抗感染。胎盘γ-球蛋白含有干扰素,可用于预防和控制病毒感染。(3)激素样作用。胎盘中可能含有绒毛膜促性腺激素、雌激素及孕激素成分,因而具有这些激素的药理作用,能显著促进器官发育。(4)对血凝的影响。胎盘中含有尿激酶抑制物,能抑制尿激酶对纤维蛋白溶酶原的“活化”作用,妊娠时纤溶活性降低与此有关。凝血因子能稳定纤维蛋白凝块,促进创伤愈合,临床上可用来治疗因凝血因子Ⅻ缺乏而引起的出血患者。所以某些医疗机构工作人员为了利益会私自截留胎盘进行加工处理后贩卖,这类案件近年时有发生<sup>[2]</sup>,通过本例可为类似案件的检验提供参考。

Chelex-100法提取DNA操作简便、快速,适用范围广。该方法是利用温度变化和蛋白酶K促使细胞核膜破裂释放DNA,整个提取过程在一个离心管中进行,可避免二次污染,但是Chelex-100不能有效去除杂质和降解的DNA片段,所以获得的DNA含量和

纯度会受到一定的影响<sup>[3]</sup>。M48磁珠法是利用细胞裂解液促使细胞膜、核膜发生变化,获得DNA片段后,以磁珠为载体在吸附液(MTL)环境中结合DNA,而杂质不被磁珠吸附或结合,再利用磁力架聚集磁珠,杂质在80%乙醇溶液的二次洗涤过程中被吸弃,最后通过洗脱程序,将磁珠上吸附的DNA释放于水中,得到纯度较高的DNA模板<sup>[4]</sup>。本案中,诊所工作人员对胎盘进行干燥粉碎加工处理后贩卖,在这一过程中胎盘可能被污染并混合杂质,这给胎盘粉中DNA的提取和检验增加了难度。通过Chelex-100法提取胎盘粉DNA后经STR分型得到的结果为混合基因型,可能在制作胎盘粉及运输包装过程中被污染并可能含有杂质,同时,常规Chelex-100法所得的DNA纯度较低<sup>[5]</sup>。采用M48磁珠法提取胎盘粉DNA经STR分型后得到6份图谱出峰单一、完全;另外4份分型结果显示部分等位基因丢失,可能是选取粉末量少或在实验操作过程中存在失误导致所提取的DNA含量不足,同时,在提取过程中可能存在DNA的损耗<sup>[6]</sup>。与Chelex-100法相比,M48磁珠法在提取DNA时可以有效去除轻度污染和部分杂质<sup>[3]</sup>,故通过M48磁珠法获得的DNA比Chelex-100法获得的DNA纯度要高,STR分型效果更好,并据此最终确定该胎盘粉为受害人姚某所留。

建议此类检材在进行DNA提取时选用磁珠法,可有效去除杂质,获得纯度较高的模板DNA。在提取微量DNA时,要注意避免检材的二次污染,在检材量足够的情况下,同时多提取几份检材的DNA并进行梯度扩增,可对得到的STR分型进行有效对比。总之,在日常检验工作中,我们应该根据案件实际情况选取合适的提取方法和试剂以及相应的扩增体系,方能达到理想的效果,为案件侦破提供有力支持。

#### 参考文献:

- [1] 郭方英,刘家安. 紫河车功效及药理作用探析[J]. 中国民间疗法,2014,22(11):77-78.  
GUO F Y, LIU J A. Study on the efficacy and pharmacological action of human placenta[J]. Zhongguo Minjian Liaofa,2014,22(11):77-78.
- [2] 市卫计委调查“人体胎盘倒卖”事件[N/OL]. 新京报. (2017-05-23)[2018-06-01]. <https://baijiahao.baidu.com/s?id=1568122452319367&wfr=spider&for=pc>. Investigation of “human placenta resale” by Municipal Health and Family Planning Commission[N/OL]. The Beijing News. (2017-05-23)[2018-06-01]. <https://baijiahao.baidu.com/s?id=1568122452319367&wfr=spider&for=pc>.
- [3] 王彦涛,宋道江. M48磁珠法和Chelex-100法提取脱落细胞DNA的初步比较[J]. 刑事技术,2013(2):53-54. doi:10.3969/j.issn.1008-3650.2013.02.017.  
WANG Y T, SONG D J. Comparison study on application of M48 kit and Chelex-100 in trace DNA extraction[J]. Xingshi Jishu,2013(2):53-54.
- [4] 王芳,李达,程冲,等. M48磁珠法提取脱落细胞DNA的改良方法[J]. 海峡科学,2015(10):31-32. doi:10.3969/j.issn.1673-8683.2015.10.013.  
WANG F, LI D, CHENG C, et al. An improved method of DNA extraction from exfoliated cells by M48 magnetic beads[J]. Haixia Kexue,2015(10):31-32.
- [5] 畅晶晶,张素华,李莉. 全血中DNA 6种提取方法的比较[J]. 法医学杂志,2009,25(2):109-111,114. doi:10.3969/j.issn.1004-5619.2009.02.009.  
CHANG J J, ZHANG S H, LI L. Comparing and evaluating six methods of extracting human genomic DNA from whole blood[J]. Fayixue Zazhi,2009,25(2):109-111,114.
- [6] 杨电,张丽萍,刘超,等. Chelex法和两种磁珠法提取接触DNA效果的比较[J]. 刑事技术,2012(1):11-13. doi:10.3969/j.issn.1008-3650.2012.01.003.  
YANG D, ZHANG L P, LIU C, et al. The comparison of the extraction effects of touch DNA by the Chelex-100 and magnetic beads[J]. Xingshi Jishu,2012(1):11-13.

(收稿日期:2018-06-14)

(本文编辑:张素华)