

# 阳性FOB试纸条用于DNA检测和法医学应用的探索

曾逸飞<sup>1\*</sup>, 黄仁武<sup>2\*</sup>, 荆 頔<sup>1</sup>, 李映函<sup>1</sup>, 周 倩<sup>1</sup>, 刘林林<sup>1,2</sup>, 聂胜洁<sup>1,2</sup>, 胡利平<sup>1,2#</sup>

<sup>1</sup>昆明医科大学法医学院, 云南 昆明

<sup>2</sup>昆明医科大学司法鉴定中心, 云南 昆明

收稿日期: 2024年12月24日; 录用日期: 2025年3月3日; 发布日期: 2025年3月12日

## 摘 要

目的: 模拟现场快速FOB检测筛选后的阳性结果试纸条, 探索阳性FOB试纸条用于DNA检测的可行性以及DNA检测的最佳区域。为此类案件后续的DNA检测提供新的实验思路, 为侦查提供方向和线索。方法: 以模拟现场快速FOB检测的10份阳性FOB试纸条(6男4女)为研究对象, 将试纸条分为3个不同区域(A加样区, B反应区, C检测线), 选用Chelex-100法对不同分区样本进行DNA的提取, 用VFP (AB公司)试剂盒进行PCR扩增, 用AB公司的3500 xl进行电泳, 并且选用GeneMapper ID-X 1.5软件进行STR分型。通过直接计数法统计不同区域STR分型的得分情况, 并且通过非参数检验的方法Kruskal-Wallis检验进行组间数据分析。结果: 10份阳性FOB试纸条(6男4女)的3个不同区域不同程度地检测出来了人体特异性STR分型, 三个区域得分如下: A区域最高得分43分、最低得分12分、平均得分21.4分; B区域最高得分50分、最低得分46分、平均得分48.9分; C区域最高得分14分、最低得分1分、平均得分7.8分; 通过Kruskal-Wallis检验进行组间比较, 得到P值为<0.05。结论: 通过本次对10份阳性FOB试纸条的不同区域DNA检测表明: 现场快速FOB检测阳性结果的试纸条可以成为犯罪现场一种新型的重要生物检材用于法医DNA分型, 3个不同区域中A、B区(反应区)均能得到较好的DNA检测结果, 以B区检测效果最佳。

## 关键词

FOB试纸条, DNA提取, DNA检测, DNA最佳提取片段

# Exploration of Positive FOB Test Strip for DNA Detection and Forensic Application

Yifei Zeng<sup>1\*</sup>, Renwu Huang<sup>2\*</sup>, Di Jing<sup>1</sup>, Yinghan Li<sup>1</sup>, Qian Zhou<sup>1</sup>, Linlin Liu<sup>1,2</sup>, Shengjie Nie<sup>1,2</sup>, Liping Hu<sup>1,2#</sup>

<sup>1</sup>School of Forensic Medicine, Kunming Medical University, Kunming Yunnan

<sup>2</sup>Judicial Identification Center of Kunming Medical University, Kunming Yunnan

\*黄仁武和曾逸飞对本文有同等贡献。

#通讯作者。

文章引用: 曾逸飞, 黄仁武, 荆頔, 李映函, 周倩, 刘林林, 聂胜洁, 胡利平. 阳性 FOB 试纸条用于 DNA 检测和法医学应用的探索[J]. 生物医学, 2025, 15(2): 283-290. DOI: 10.12677/hjbm.2025.152033

## Abstract

**Objective:** To explore the feasibility of positive FOB test strip for DNA detection and the optimal region of DNA detection by simulating the positive test strip screened by on-site rapid FOB detection. It provides new experimental ideas for the subsequent DNA detection of such cases, and provides direction and clues for investigation. **Methods:** Ten positive FOB test strips (6 males and 4 females) simulated on-site rapid FOB detection were used as the research objects. The test strips were divided into three different regions (A sampling area, B reaction area, C detection line). Chelex-100 method was used to extract DNA from samples in different regions. PCR amplification was performed with VFP (AB) kit, electrophoresis was performed with 3500 xl of AB company, and STR typing was performed using GeneMapper ID-X 1.5 software. The scores of STR typing in different regions were counted by direct counting method, and the data between groups were analyzed by Kruskal-Wallis test. **Results:** Human-specific STR typing was detected in three different regions of 10 positive FOB test strips (6 males and 4 females) to varying degrees. The scores of the three regions were as follows: the highest score of A region was 43 points, the lowest score was 12 points, and the average score was 21.4 points. The highest score of area B was 50 points, the lowest score was 46 points, and the average score was 48.9 points. The highest score of region C was 14 points, the lowest score was 1 point, and the average score was 7.8 points. The Kruskal-Wallis test was used for comparison between groups, and the P value was  $< 0.05$ . **Conclusion:** The DNA detection of different regions of 10 positive FOB test strips showed that the test strips with positive results of rapid FOB detection on site can become a new type of important biological samples for forensic DNA typing at the crime scene. In the three different regions, the A and B regions (reaction regions) can obtain better DNA detection results, and the B region has the best detection effect.

## Keywords

FOB Test Strip, DNA Extraction, DNA Detection, Best DNA Fragment

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

## 1. 引言

血迹是凶杀、伤害等案件中最常见和最重要的物证[1], 明确的血迹痕迹有助于对现场进行快速辨认并提供侦查方向[2]。但在实际的现场勘查中, 由于人为因素和环境因素的影响, 血迹往往难以辨认, 易与现场中其他形态相似的物质混淆。因此对血痕进行种属鉴定能为侦查提供方向并为后续的个体识别提供坚实基础, 在法医物证检验中具有重要的意义[3]。

抗人血红蛋白免疫胶体金试纸条(简称 FOB 试纸条)结合了免疫胶体金与人血红蛋白及其特异性抗体的反应特性, 因其具有灵敏性、简易性、快速性的特点, 被广泛运用于目前的血痕种属实验中[4]-[6]。法医物证本身具有易降解、微量、受环境影响大的特点, 同时因为保存与运输等不确定因素往往会导致一些人体血痕检材被影响而不能得到高效检测[7], 在实践中 FOB 试纸条在得到有效的实验结果后便被直接丢弃, 这降低了对生物物证的利用率, 因此本研究目的在于探究阳性 FOB 试纸条能否成为一种新型的法医生物物证用于实践 DNA 检测, 为法医学实践生物物证提供一种重要的补充和新可能。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 样本

收集 6 名男性、4 名女性共 10 名志愿者每人 1 mL 的新鲜血液。

### 2.2. 仪器和试剂

抗人血红蛋白胶体金试纸条(FOB 试纸条)、采血卡、无菌水、蛋白酶 K、Chelex-100 溶液、VFP (verifiler PLUS)试剂盒、甲酰胺; PCR 扩增仪(ABI 9700)、3500 xl 遗传分析仪(Applied Biosystems™ 公司)。

### 2.3. 实验方法

#### 2.3.1. 模拟现场快速筛选阳性 FOB 试纸条准备

10 份血液各取 10  $\mu$ L 加入 EP 管中, 加入 100  $\mu$ L 灭菌水震荡混匀并且进行标记(1~10 号)模拟现场血液可能存在的稀释情况。按照使用说明在 EP 管中分别插入 FOB 试纸条, 3~5 min 后观察检测结果确认其结果为阳性结果。将十个样本分别剪取如图 1 所示的 A、B、C 三个区域并加入 EP 管中并且标记为 1A、1B、1C、2A、2B、2C、3A、3B、3C、4A、4B、4C、4A、4B、4C、5A、5B、5C、6A、6B、6C、7A、7B、7C、8A、8B、8C、9A、9B、9C、10A、10B、10C。

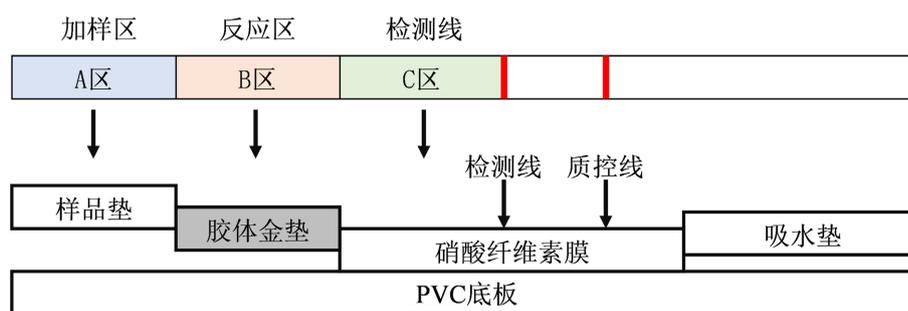


Figure 1. FOB test strip structure diagram and partition situation

图 1. FOB 试纸条结构及分区情况图

#### 2.3.2. 标准样品的制备

1~10 号血液样品各取 200  $\mu$ L 滴加在采血卡上, 在阴凉处自然干燥制备成血卡, 使用打孔器打孔取样 4 孔(直径 1 mm)置于 EP 管作为对照组, 分别标记为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10。

#### 2.3.3. DNA 提取

将标记了 1A~10C 的 30 个 EP 管作为实验组, 并且将其对应的 1~10 号血液样本作为对照组。依次在含有检材的 40 个 EP 管中加入 200  $\mu$ L 的 5% Chelex-100 溶液、10  $\mu$ L 的蛋白酶 K, 震荡混匀后 56 $^{\circ}$ C 水浴加热 2 小时。取出后振荡, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min, 使用高速离心机 13,000 rpm/min 离心 5 min, 离心后取上清液置于 4 $^{\circ}$ C 保存。

#### 2.3.4. PCR 扩增

选用 VFP (verifiler PLUS)试剂盒对 D3S1358、vWA、D16S539、CSF1PO、D6S1043、Yindel、AMEL、D8S1179、D21S11、D18S51、D5S818、D2S441、D19S433、FGA、D10S1248、D22S1045、D1S1656、D13S317、D7S820、Penta E、PentaD、TH01、D12S391、D2S1338、TPOX 共二十五个基因座进行 PCR 复合扩增, 使用 10  $\mu$ L 体系扩增(无菌水:Master Mix:Primer Pair Mix:扩增模板 = 6:2:1:1), 同时设立灭菌纯水为阴性对照样本, 2800 M 为阳性对照样本, 离心 2 min。离心后放入 PCR 扩增仪中, 选择 VFP29 程

序进行扩增, 程序具体如下: ① 95°C, 1 min; ② 96°C, 10 s 后 62°C, 1 min 30 s 循环 2 次; ③ 96°C, 10 s 后 59°C, 1 min 30 s 循环 27 次; ④ 60°C, 5 min; ⑤ 4°C 保存。

### 2.3.5. 电泳与数据分析

在 96 孔板分别加入 liz600 9 μL (1000:20) 扩增产物 1 μL, 最后在板内分别加入 liz600 9 μL (1000:20), 阴性对照 1 μL; liz600 9 MI (1000:20), LD 1 μL; 离心 2 min。选用 3500 xl 进行电泳, 选择 VFP 试剂盒 VFP29 扩增程序对应的电泳程序进行电泳。经 GeneMapper ID-X 1.5 软件分析得到 STR 分型结果。分析方法为 VFP-0322, 分析片段组为 VFP\_Panels\_0322, 内标为 GS600\_LIZ + Normalization\_(60-460)。

## 2.4. 统计方法

使用直接计数法对实验结果进行计分, 将阳性 FOB 试纸条三个区域的 STR 分型结果分别与标准样品的 STR 分型结果进行比对, 一个位点为 2 分共 50 分。以一个基因位点为例, 对比标准样品的与阳性 FOB 试纸条的 STR 分型, 当二者分型全相同时计 2 分, 半相同时计 1 分, 全不同时计 0 分。得到得分后用 Kruskal-Wallis 检验进行各区域组间数据分析。

## 3. 结果

### 3.1. STR 峰型图谱

以一个样本为例, 样本及其 A、B、C 三个区域 D3S1358、vWA、D16S539、CSF1PO、D6S1043 五个基因组位点的 STR 分型见图 2~5。

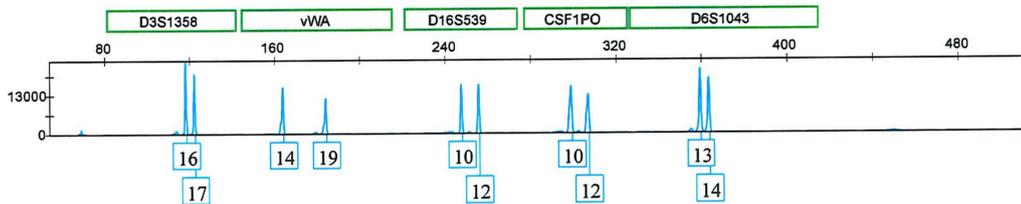


Figure 2. Partial STR typing results of standard samples

图 2. 标准样本部分 STR 分型结果图

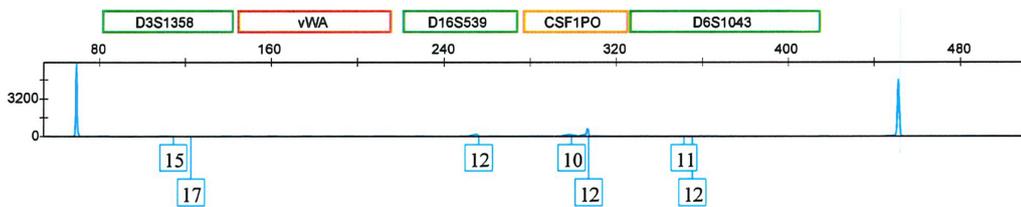


Figure 3. Partial STR typing results of the A region of the positive FOB test strip sample

图 3. 阳性 FOB 试纸条样本 A 区域的部分 STR 分型结果图

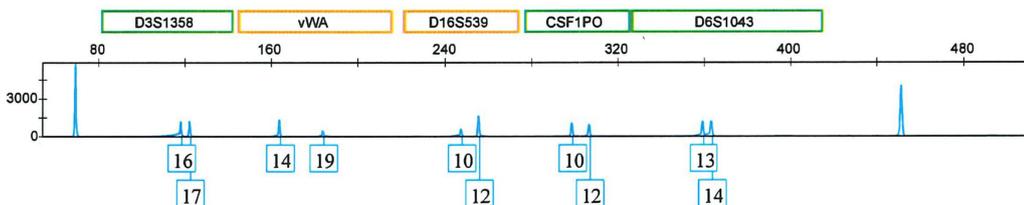
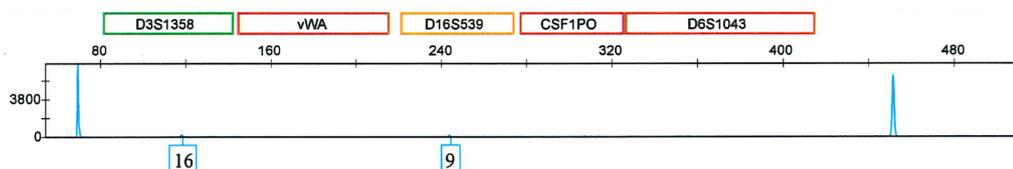


Figure 4. Partial STR typing results of the B region of the positive FOB test strip sample

图 4. 阳性 FOB 试纸条样本 B 区域的部分 STR 分型结果图



**Figure 5.** Partial STR typing results of the C region of the positive FOB test strip sample  
**图 5.** 阳性 FOB 试纸条样本 C 区域的部分 STR 分型结果图

### 3.2. STR 分型结果

列举 1 号和 2 号样本的标准分型以及各自样本 A、B、C 三个区域的 25 个基因座分型结果, 结果见表 1:

**Table 1.** STR typing results of No. 1 and No. 2 samples

**表 1.** 1 号和 2 号样本的 STR 分型结果表

基因座	1 号样本				2 号样本			
	标准分型	1A	1B	1C	标准分型	2A	2B	2C
D3S1358	15	15	15	15	15, 16	15	15, 16	15
vWA	16, 18	14, 16	16, 18	14	14, 16	-	14, 16	14
D16S539	11, 13	-	11, 13	-	11, 12	11	11, 12	-
CSF1PO	10	12	10	-	12	-	10, 12	-
D6S1043	11, 19	-	11, 19.2	-	13	-	11, 13	-
Yindel	1	-	1	1	-	-	-	-
AMEL	X, Y	X, Y	X, Y	X, Y	X	X	X	X
D8S1179	14, 15	14, 15	14, 15	13	12, 14	12, 14	12, 14	-
D21S11	30, 32.2	32.2	30, 32.2	-	29, 31.2	29, 31.2	29, 31.2	31.2
D18S51	13, 15	15	13, 15	-	14, 15	15	14, 15	-
D5S818	12, 13	-	12, 13	-	11, 12	-	11, 12	-
D2S441	10, 11	11	10, 11	10, 11	11, 14	11	11, 14	-
D19S433	15.2, 16	14, 16.2	15.2, 16	-	13, 13.2	13	13, 13.2	-
FGA	19, 25	22	19, 25	-	18, 25	25	18, 25	22
D10S1248	13, 14	13	13, 14	-	13, 15	-	13, 15	-
D22S1045	11, 15	15, 16	11, 15	11, 15	15	15	15	-
D1S1656	15, 17	17	15, 17	15	16, 17.3	16	16, 17.3	-
D13S317	8, 9	8	8, 9	-	8, 11	8	11, 8	-
D7S820	10, 11	10	10, 11	-	8	8	8	-
Penta E	11, 20	16	11, 20	-	11, 13	13	11, 13	-
Penta D	9, 12	9, 11	9, 12	9, 12	9	-	9	9
TH01	6, 7	9	6, 7	6	9	9	9	9
D12S391	17, 20	15, 21	17, 20	-	21	21	21	-
D2S1338	18, 23	19	18, 23	-	20, 24	20	20, 24	-
TPOX	8	8	8	-	8	-	8	-

### 3.3. 各样本不同区域得分结果

通过直接计数法计算各样本 A、B、C 三个区域的得分, 得分结果见表 2:

**Table 2.** Score results of different regions of each sample

**表 2.** 各样本不同区域得分结果表

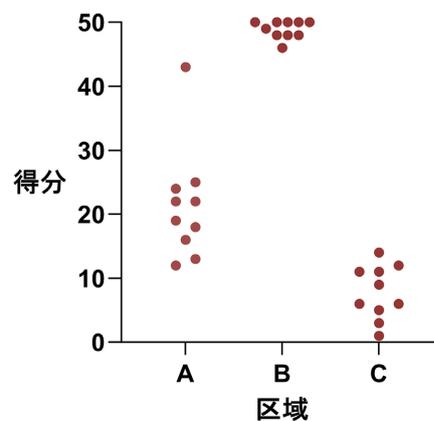
样本编号	A 区域得分	B 区域得分	C 区域得分
1	18	49	14
2	24	46	9
3	43	50	11
4	22	50	5
5	25	50	6
6	22	48	11
7	16	48	1
8	19	50	3
9	13	50	6
10	12	48	12

### 3.4. 统计学分析结果

**Table 3.** Pairwise comparison results of Dunn test

**表 3.** Dunn 检验的成对比较结果表

区域比对	检验统计量	标准误	标准检验统计量	显著性	校正后的显著性
C-A	9.500	3.925	2.421	0.015	0.046
C-B	19.750	3.925	5.032	0.000	0.000
A-B	-10.250	3.925	-2.612	0.009	0.009



**Figure 6.** The scatter plot of the scores of the three regions A, B and C

**图 6.** A、B、C 三个区域得分情况的散点图

本次实验的 10 份阳性 FOB 试纸条(6 男 4 女)的 3 个区域不同程度地检测出来了人体特异性 STR 分型, 通过直接计数法统计不同区域 STR 分型的得分情况。三个区域得分如下: A 区域最高得分 43 分、最低得分 12 分、平均得分 21.4 分; B 区域最高得分 50 分、最低得分 46 分、平均得分 48.9 分; C 区域

最高得分 14 分、最低得分 1 分、平均得分 7.8 分, 得分分布情况如图 6; 通过对数据进行正态性检验发现, 数据不符合正态分布, 因此采用 Kruskal-Wallis H 检验评估不同区域(A、B、C)得分的分布是否存在显著差异。检验结果显示, Kruskal-Wallis H 值为 25.335, 自由度为 2, 对应的显著性水平为  $P < 0.001$ , 因此我们拒绝原假设, 认为至少有两个区域的得分分布存在显著差异。为了进一步探究具体哪些区域之间存在显著差异, 我们进行了 Dunn 检验, 并采用 Bonferroni 方法对多重比较的显著性水平进行了校正。检验结果表明, 区域 C 与区域 A (校正后  $P = 0.046$ )、区域 C 与区域 B (校正后  $P = 0.000$ )以及区域 A 与区域 B (校正后  $P = 0.027$ )之间的得分差异均达到了统计学显著性水平, 结果见表 3。

## 4. 讨论

### 阳性 FOB 试纸条用于 DNA 检测的意义

法医物证在案件侦破中极为关键, 它通过分析现场痕迹和物品, 为侦查提供线索, 明确犯罪事实, 并为法庭审判提供科学依据[8]。但由于法医物证本身微量和易降解性特性、案件类型的多样性和犯罪现场的复杂性给法医学实践带来了很多的不确定性和挑战, 同时由于法医物证检材不可避免地会在发现、包装、保存和送检过程中受到环境和人为因素的二次影响[9]。以血迹痕迹为例, 作为法医学实践中最为常见和复杂的生物物证, 任何不当的提取方法和保存运输条件都可能对检材造成再次破坏, 导致检测效率降低, 进而影响案件侦破效率。目前, 降解、微量的血迹痕迹是法医物证检验中的难题, 任何一点包含生物信息的检材都至关重要, 因此本研究发现, 用于现场快速筛查的阳性 FOB 试纸条也能进行法医 DNA 检测, 成为一种新型重要生物物证, 是法医生物物证的重要补充, 从而提高了法医生物物证的证据效能。

随着 DNA 检测技术不断发展, DNA 检测的灵敏度不断提高, 使得许多微量 DNA 检材的成功分型成为一种可能[10], 同时 DNA 检测灵敏度的提高为阳性 FOB 试纸条用于法医 STR 分型提供了新希望。在实验中, 采用了法医实践中常用的 Chlexe-100 法提取样本 DNA, FOB 试纸条 A、B 区均能得到较好的 STR 分型结果, 其中 B 区 STR 分型结果最佳。基于以上结果, 我们认为在实践中使用其它更为高效的微量 DNA 提取方法同样能提取到现场快速筛查的阳性 FOB 试纸条的 DNA 并进行成功 STR 分型, 比如磁珠法、硅膜法和自动化提取工作站。

在现场发现可疑血痕时, 使用 FOB 试纸条进行种属鉴别和快速筛查能为侦查提供方向, 此时检材部分人体生物信息被固定在 FOB 试纸条的吸附区和反应区, 减少了如腐殖酸等物质对检材的降解与破坏以及保存运输过程对生物物证的影响, 因此将阳性的 FOB 试纸条作为一种新的生物检材进行保存并送检, 能提高生物检材的利用效率、DNA 检出率和数据库的比对效率。

## 5. 结论

通过本次对模拟现场快速 FOB 检测 10 份阳性 FOB 试纸条不同区域 DNA 检测表明: 犯罪现场快速 FOB 检测阳性结果的试纸条可以成为一种新型生物检材用于法医实践 STR 分型, 3 个不同区域中 B 区(反应区)的 STR 分型效果最佳, 为法医学实践个人识别和亲子鉴定提供强有力的技术支撑。

### 基金项目

上海市法医学重点实验室暨司法部司法鉴定重点实验室开放课题(项目编号: KF202309)。

### 参考文献

[1] 霍塞虎, 梁小锋. 血痕预试验检测的应用现状与研究进展[J]. 中国法医学杂志, 2014, 29(4): 339-341.

- [2] 蒋伍省, 仲琦峰. 命案现场血迹形态分析 1 例[J]. 中国法医学杂志, 2016, 31(S2): 216-217.
- [3] 薛天羽, 赵杨, 林锦锋, 等. 免疫学方法确证人血痕的研究及应用现状[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2014, 17(12): 2101-2106.
- [4] 李兆隆, 王俭. 免疫胶体金技术及其法医学意义[J]. 中国法医学杂志, 2002(2): 123-125.
- [5] 巫家盛, 赵荣昌, 黎增强. 血痕试纸在血痕预试验中的效能评价[J]. 广东公安科技, 2022, 30(1): 57-59.
- [6] 唐嘉, 袁超璐, 乐美君, 等. 抗人血红蛋白胶体金免疫层析试纸条的研制[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(9): 789-793.
- [7] 侯一平. 法医学物证学[M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- [8] Thomas, M.J. (2017) The Role and Impact of Forensic Evidence on the Criminal Justice System, 2004-2008 [United States]. <https://doi.org/10.3886/ICPSR33462.v1>
- [9] Kaur, A., Jamal, F., Shikha Ramesh, A., Sojan, A. and Dileep, D. (2021) Collection, Preservation, and Packaging: Forensic Evidence Management. In: *Crime Scene Management within Forensic Science*, Springer, 51-105. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-4091-9\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-16-4091-9_4)
- [10] 接昭玮, 刘卓, 王继芬, 等. 光谱分析结合化学计量学方法在法庭物证鉴定领域中的应用进展[J]. 应用激光, 2024, 44(3): 192-203.