

法医物证微量检材磁珠提取纯化技术应用

石卫胜, 周一涵, 桑志明

河南周口三川司法鉴定中心, 河南 周口 466000

DOI:10.61369/MRP.2026080029

摘 要 : 磁珠提取纯化技术在法医物证微量检材处理中有着明显的技术优势。该技术利用超顺磁性纳米颗粒表面的硅羟基修饰原理, 用特异性吸附核酸分子达到了分离目标物的目的。本文从技术价值分析、技术架构解析、实践应用方案三个方面展开论述, 主要研究磁珠法在微量血液、接触类脱落细胞等疑难检材中提取流程的优化以及核心参数的控制策略, 为法医 DNA 实验室微量检材处理给出可操作的技术参照。

关 键 词 : 磁珠提取; 微量检材; DNA 纯化

Application of Magnetic Bead Extraction and Purification Technology for Trace Forensic Evidence Samples

Shi Weisheng, Zhou Yihan, Sang Zhiming

Henan Zhoukou Sanchuan Forensic Identification Center, Zhoukou, Henan 466000

Abstract : Magnetic bead extraction and purification technology has significant technical advantages in the processing of trace samples of forensic evidence. This technology utilizes the principle of silicon hydroxyl modification on the surface of superparamagnetic nanoparticles to achieve the separation of target substances through specific adsorption of nucleic acid molecules. This article discusses from three aspects: technical value analysis, technical architecture analysis, and practical application solutions. The main focus is on optimizing the extraction process of magnetic bead method in difficult samples such as trace blood and contact type exfoliated cells, as well as the control strategy of core parameters. It provides operational technical references for micro sample processing in forensic DNA laboratories.

Keywords : magnetic bead extraction; trace sample; DNA purification

法医物证检验工作中, 微量检材的 DNA 提取能力直接影响到后面 STR 分型检测的成功率。传统的酚氯仿提取法存在有机溶剂毒性大、操作步骤繁复、微量样本损失率高等问题。磁珠提取技术依托超顺磁性纳米颗粒的可控分离特性, 有着自动化适配性强、核酸回收率稳定、交叉污染风险低等优点, 逐渐成为法医 DNA 实验室处理微量检材的主流技术方案。本文主要对磁珠提取纯化技术的价值、系统架构、详细的应用进行分析, 为微量检材处理给予技术层面的解决方案。

一、法医物证微量检材磁珠提取纯化技术价值分析

(一) 提升微量 DNA 回收效率

微量检材中可供提取的 DNA 总量一般在 ng 级甚至更低, 传统沉淀法在多次转管过程中容易造成样本的损失。磁珠提取技术用超顺磁性氧化硅纳米颗粒作为固相载体, 比表面积可达 $100 \text{ m}^2/\text{g}$ 以上, 表面有大量的硅羟基基团, 可以以及 DNA 分子形成稳定的氢键融合。在裂解液中, 磁珠对 DNA 的吸附量可达 $20 \mu\text{g}/\text{mg}$ 以上, 对于初始量小于 100 pg 的微量样本, 还是可以保持较高的融合能力。整体提取过程都在单管内完成, 避免了多次离心转移造成的样本损失, 使最终洗脱体积控制在 $30 \mu\text{l}$ 到 $50 \mu\text{l}$ 之间, 大幅度提高了 DNA 的终浓度。该技术途径对于接触类检材中含量极低的脱落细胞 DNA 有不可替代的富集优势。

(二) 降低外源污染风险

法医 DNA 检验对于污染控制的要求十分严格, 任何外源 DNA 的引入都会造成分型结果出现伪峰或者等位基因丢失。磁珠提取技术的反应体系在相对封闭的管式环境中, 样本裂解、核酸融合、洗涤纯化、洗脱回收四个重点环节都在同一个离心管内依次完成, 操作人员不需要在开放环境下多次实行液相转移。磁珠在磁场的作用下快速沉降, 使洗涤过程中残留的裂解液、蛋白质和 PCR 抑制物被快速去除, 洗涤次数一般为 2 次到 3 次即可到了纯度要求。另外, 磁珠法可以与自动化工作站相结合, 减少人为操作环节, 从流程设计上减少气溶胶扩散及交叉污染的发生概率。

(三) 适配自动化检验流程

伴随法医 DNA 数据库建设规模的扩大、案件现场微量生物检材提取量的增多, 实验室日均处理检材量一直增大, 传统的手工

提取方式已经不能满足高通量检测的要求。磁珠提取技术的固液分离依托外部磁场而不是离心机，所以它天然适合于自动化液体处理平台。自动化工作站可以精确控制裂解液加入量、磁珠悬浮时间、磁场吸附时间、洗涤液置换次数等核心参数，移液精度到了1μl级别，远高于人工操作的重复性水平。标准化程序运行可以保证每批次96份样本的处理条件完全一致，消除人为因素造成的批次间差异。该技术途径的自动化适配性给实验室创建规模化、标准化的微量检材处理流程赋予了硬件支撑。

（四）拓展疑难检材适用范围

法医实践中经常会遇到陈旧骨骼、降解血迹、微量接触痕迹等疑难检材，此类样本普遍存在着DNA片段化严重、抑制剂含量高或者目标物含量极低等状况。磁珠提取技术通过改善裂解液组分以及磁珠表面修饰基团，可以在强变性条件下释放出融合周密的DNA分子，调节磁珠投入量可以到了对痕量目标物的有效捕获。含腐殖酸、血红素等PCR抑制剂的检材，用磁珠法加专用洗涤缓冲液可以保留核酸，去除小分子抑制物。该技术途径把可检测样本的DNA起始量下限扩大到10pg级别，使以前因为含量不足而被排除的微量检材重新有着检验价值。

二、法医物证微量检材磁珠提取纯化技术架构

（一）磁珠载体结构设计

磁珠提取系统的重点就是功能性纳米载体的结构设计。目前法医DNA检验领域中常用的核壳型超顺磁性纳米颗粒内核为Fe₃O₄或者γ-Fe₂O₃晶体，粒径控制在200nm到500nm之间，外加磁场时可以快速响应，撤去磁场后可以均匀悬浮。外壳用硅烷化反应包覆二氧化硅层，厚度20nm到50nm，表面修饰有密集的硅羟基基团，在离液盐存在的缓冲体系中，凭借氢键及静电作用特异性吸附DNA分子。磁珠的饱和磁化强度一般要到40 emu/g以上，才能保证在磁场的作用下，在30s内完成完全沉降。磁珠悬液的固含量一般为50mg/mL，使用时每份样本加入10μl到20μl的剂量标准，该投加量可以在融合容量以及成本之间取得平衡。

（二）裂解结合反应体系

裂解融合是DNA释放和捕获的重要阶段，反应体系组分设计的好坏直接影响提取能力。裂解液一般用pH 7.5~8.0的Tris-HCl缓冲液，内含4 M~6 M的异硫氰酸胍作为离液剂，该组分可破坏细胞膜和核膜结构，使蛋白质变性。蛋白酶K的添加量控制在20mg/mL，反应温度为56℃，孵育时间根据检材种类调整为30min到120min。裂解后向体系中加入无水乙醇至终浓度为30%~40%，乙醇可以减少DNA在液相中的溶解度，助推DNA以及磁珠表面硅羟基的融合。磁珠加入后需要在室温下振荡融合10 min到15 min，使磁珠及DNA分子充分接触。整体裂解融合阶段要严格控制温度波动范围在±2℃以内，保证蛋白质消化完全、DNA结构完整。

（三）磁场分离控制模块

磁场分离模块是实现固液高效分离的执行单元，磁场强度及作用时间直接影响分离能力。实验室级磁分离架一般用钕铁硼

永磁体阵列，表面磁场强度到了4000Gs到6000Gs，可以在离心管侧壁形成局部强磁场区域。当磁珠悬液置于磁场中时，超顺磁性颗粒在30s到60s内定向迁移至管壁并形成致密沉淀，此时上清液中的细胞碎片、蛋白质和抑制剂可以借助倾弃或者吸液的方式去除。磁场作用时间要准确控制，时间过短会造成磁珠回收不完全，时间过长会造成磁珠过度聚集，增加后续重悬的难度。分离完成后，撤去磁场，加入洗涤缓冲液，用涡旋振荡使磁珠重新均匀分散，重复2次到3次即可到了纯度要求。磁场分离模块的设计要顾及磁珠回收率及操作的方便性。

（四）洗涤纯化工艺流程

洗涤纯化是去除蛋白质、盐离子以及PCR抑制物的关键步骤，工艺流程是否严谨决定最终DNA产物的纯度。第一次洗涤用含异硫氰酸胍的缓冲液，浓度为2M到3M，主要去除残留的蛋白质及细胞碎片。第二次洗涤用体积分数为80%的乙醇溶液，目的是清除盐分以及有机溶剂残留。每次洗涤后加入磁珠重悬步骤，使磁珠颗粒充分分散并以及洗涤液充分接触。洗涤后在室温下静置3min至5min，使残余乙醇完全挥发，防止乙醇对后续PCR反应的抑制。最终洗脱液用pH 8.0~8.5的TE缓冲液或去离子水，洗脱体积为30μl~50μl，洗脱温度为60℃~70℃，振荡孵育5 min后再次磁分离，吸取上清液即为纯化后的DNA溶液。整体洗涤纯化过程应在洁净工作台内实行，环境洁净度应到了万级。

表1 磁珠提取纯化关键参数对照表

参数名称	裂解阶段	融合阶段	洗涤阶段	洗脱阶段
温度/°C	56±2	室温	室温	60~70
时间/min	30~120	10~15	2~3/次	5
磁珠量/μl	—	10~20	—	—
磁场强度/Gs	—	—	4000~6000	4000~6000
缓冲液体积/μl	200~400	—	500~700/次	30~50

从表1可以看出，磁珠提取纯化各阶段的核心参数有明显的差别。裂解阶段需要在56℃条件下维持30min到120min的恒温孵育，该温度区间可以保证蛋白酶K的最适活性，助推细胞膜的裂解。融合阶段室温下振荡反应10min至15min，磁珠投入量为10μl至20μl，该剂量可以保证微量DNA的充分捕获。洗涤阶段用4000Gs到6000Gs的磁场强度实行2次到3次分离纯化，每次洗涤缓冲液体积为500μl到700μl，用大体积稀释来减少抑制剂残留浓度。洗脱阶段将温度增加到60℃到70℃，利用热运动增加DNA分子从磁珠表面的解吸能力，洗脱液体积控制在30μl到50μl，以到了浓缩目标物的目的。各个阶段参数的配合使用是保证提取能力和产物纯度的技术基础。

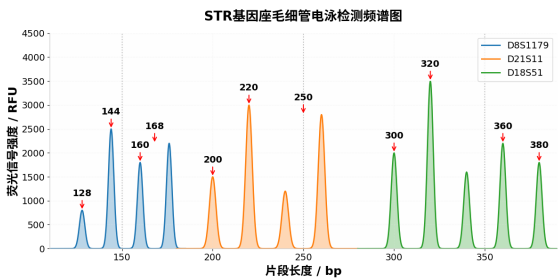


图1 不同裂解时间下DNA提取浓度变化曲线

图1中三条曲线分别代表微量血液、接触类脱落细胞及降解检材在不同的裂解时间下DNA提取浓度的变化规律。微量血液检材在裂解时间为60min时DNA浓度到了0.15ng/μl,继续延长到120min时浓度只增加到0.19ng/μl,增长趋势明显变缓,说明60min已经接近该类检材的裂解饱和点。接触类脱落细胞的DNA释放速率相对缓慢,60min时浓度为0.09ng/μl,90min时到了0.12ng/μl,至120min趋于稳定在0.13ng/μl,该类检材建议将裂解时间设定为90min以上以保证细胞核膜充分破裂。降解检材由于DNA本身存在片段化、交联问题,裂解120min后浓度为0.09ng/μl,但是其曲线在90min到120min区间依旧呈上升趋势,说明延长裂解时间对降解样本有持续的DNA释放促进作用。融合三类检材的曲线特征,裂解时间的设定要根据检材类型来差异化调整,不能使用统一的标准。

三、法医物证微量检材磁珠提取纯化技术应用

(一)微量血液检材处理方案

微量血液检材多见于作案工具表面、衣物纤维间隙或者现场微量喷溅痕迹,其DNA含量一般在100pg到1ng之间。处理此类检材时无菌棉签或者滤纸载体实行物理采集,采集面积控制在1cm²到2cm²之间。将载体剪碎后加入1.5mL离心管中,加入200μl裂解缓冲液和10μl蛋白酶K溶液,在56℃恒温振荡器中孵育60min。裂解完成后加入300μl融合缓冲液以及15μl磁珠悬液,室温振荡12min使DNA充分吸附。然后将离心管放在磁分离架上静置45s,待磁珠完全沉降后弃去上清液。加入600μl洗涤液A实行第一次洗涤,磁分离后弃液,再加入600μl体积分数80%的乙醇实行第二次洗涤。洗涤结束后室温开盖静置4min挥发乙醇,最后加入40μl洗脱液在65℃条件下振荡洗脱5min,磁分离后吸取上清液即为纯化DNA。该方案借助控制裂解时间、磁珠投加量,可以在一份微量血液检材中得到浓度大于0.1ng/μl的DNA模板。

(二)接触类脱落细胞提取方案

接触类检材如手套痕迹、门把手擦拭物等所含的脱落细胞数量很少且分散度高,单个检材的DNA总量一般小于100pg。对于该类检材,应该使用载体整体裂解的方式,防止转移过程中细胞的损失。将采集载体直接放入2.0mL离心管中,加入400μl裂解液以及20μl蛋白酶K,适当延长裂解时间至90min以保证细胞核膜完全破裂。裂解后加入异硫氰酸胍到终浓度5M,再加入20μl磁珠悬液实行15min的融合反应。考虑到接触类检材常带有油脂、汗液等干扰物,洗涤阶段要严格实行3次洗涤,第1次用含离液盐的洗涤液去除蛋白质,第2次和第3次均用体积分数80%的乙醇溶液清除脂溶性杂质。每次洗涤后要充分振荡重悬磁珠,防止颗粒聚集造成洗

涤死角。最终使用30μl小体积洗脱,使痕量DNA浓缩到较高浓度水平,来满足后续微量DNA检测试剂盒的灵敏度要求。

(三)混合斑痕分离纯化方案

混合斑痕多见于性侵案件中阴道拭子或者血迹混合样本,技术难点在于实现不同来源DNA的有效分离及纯化。磁珠法处理混合斑痕时,先用差异裂解法把精子细胞和上皮细胞分开。加入含二硫苏糖醇的裂解液在37℃条件下处理20min,优先裂解上皮细胞释放其DNA,此时实行第一次磁珠捕获可以分离出女性来源的DNA组分。保留沉淀部分后加入高浓度蛋白酶K裂解液,在56℃下处理90min,充分裂解精子细胞核膜,用第二次磁珠捕获获得男性来源的DNA。两次捕获均用15μl磁珠投加量以及12min融合时间,洗涤阶段都执行3次标准洗涤程序。该方案利用磁珠提取的可控分离特性,在同一检材中分步获得不同细胞类型的DNA,避免了传统离心法中细胞团块混杂的问题,为混合样本的DNA分型给出了高纯度的模板基础。

(四)降解检材修复提取方案

降解检材如陈旧骨骼、腐败组织或者长期暴露在恶劣环境中的痕迹物证,其DNA分子有着高度片段化的特点,片段长度大多在100bp到300bp之间。处理此类检材时,裂解液中要加入10mM EDTA螯合金属离子,抑制核酸酶活性,将蛋白酶K浓度增加到30mg/mL,延长裂解时间到120min,助推交联蛋白质的降解。磁珠选择时选用粒径300nm到400nm的小粒径磁珠,比表面积有利于捕获短片段DNA。融合阶段将乙醇浓度增加到40%,增加短片段DNA的疏水吸附能力。洗涤阶段减少乙醇洗涤次数到2次,防止过度洗涤造成短片段DNA的机械损失。洗脱液用pH 8.5的弱碱性TE缓冲液,洗脱温度为70℃,增加解吸能力回收片段化DNA。该方案根据降解DNA的理化特性来调整技术参数,可以增加短片段模板的回收率。

四、结语

磁珠提取纯化技术给法医物证微量检材处理给予了一条高效可靠的途径。本文从技术价值、系统架构、实践应用三个方面对技术进行分析,得出该技术在微量DNA回收、污染控制、自动化适配等方面的优势,整理出磁珠载体设计、裂解融合、磁场分离、洗涤纯化核心技术参数,针对微量血液、接触类脱落细胞、混合斑痕、降解检材提出了不同的处理方案。伴随着纳米材料技术以及自动化设备的不断发展,磁珠提取技术在法医DNA检验领域的应用深度会越来越深,给疑难微量检材的鉴定提供更有力的技术支持。

参考文献

- [1] 张雅昕,赵星天,艾康,等.微量降解检材DNA提取方法的现状与进展[J/OL].生命科学研究,1-10[2026-06-01].<https://doi.org/10.16605/j.cnki.1007-7847.2025.09.0169>.
- [2] 朱波峰.多组学视域下的精准鉴识:法医物证学研究现状、挑战与展望[J].法医学杂志,2025,41(5):421-440.
- [3] 杨志雄,蒋芸,李超然,等.痕迹物证与法医物证在道路交通事故鉴定中的综合应用[J].法制博览,2025,(15):88-91.
- [4] 苗鑫刚,赖婉冬.分子生物学技术在法医物证鉴定中的创新应用[J].法制博览,2025,(14):76-78.
- [5] 巴华杰,聂昊,张星辰,等.核酸纯化仪结合真空浓缩仪对DNA回收率影响的研究[J].中国法医学杂志,2025,40(2):241-243.DOI:10.13618/j.issn.1001-5728.2025.02.020.