

# 法醫生物跡證鑑驗方法

## Examination Methods for Biological Samples of Forensic Medicine

黃兆清、林俊彥、林忠信、黃純英、袁巧璇、李俊億

Chao-Ching Huang, Chun-Yen Lin, Chun-Sin Lin, Tsun-Ying Huang, Chiao-Hsuan Yuan, James Chun-I Lee

羅卡交換理論：凡接觸過，必留下痕跡。因此暴力與性犯罪必然留下生物跡證，侵入住宅竊盜也常見體液或毛髮遺留在犯罪現場，而屍體殘骸可能是命案的受害者，死者肺臟與蝶竇液之矽藻更是研判溺死或棄屍的關鍵證據之一。這些生物跡證的搜尋需要特定方法，而鑑定方法則大都採用分子生物技術，其準確度高，可有效提升司法審判的品質。本文提供常見法醫生物跡證鑑驗方法之介紹，以見證科學證據之可靠性。

Locard's exchange principle states that every contact leaves a trace. Therefore, there could be biological evidence left during assault or sexual crime, and fluids or hairs could also be seen in residential burglary cases. Furthermore, body parts of remains may be linked to a victim. Diatom identification from body's lung tissue or sphenoid sinus fluid is a key evidence of drown or foul play in death investigation. We perform specific ways to find possible biological evidence, and molecular biology techniques are often used. Its high degree of accuracy will improve the quality of criminal justice. This report provides common examination methods for biological samples of forensic medicine to demonstrate the reliability of scientific evidence.

### 一、前言

生物性跡證的種類十分廣泛，除了人體身上的各種組織(牙齒、骨骼、肌肉，毛髮)和體液(唾液、精液、血液、尿液)，亦包含植物性檢體，例如花粉和藻類，甚至是土壤中的微生物都可以當作證物。利用這些證物不外乎是為了釐清受害者或嫌犯的身分、受害者如何死亡，還有受害者、嫌犯及犯罪現場之間的關連性。其中應用最成熟且為一般民眾所熟知的鑑定科技當屬 DNA 鑑定，因為該技

術幾乎可以百分之百確認該個體身分，也是目前鑑識科技中少數可以達到個化程度的技術。所以，目前該技術大量應用於比對刑事案件中可能嫌犯、親緣關係確認及無名屍之比對。除了分子生物學技術上的革命性發展外，光學技術的進展也使得尋找潛伏跡證的能力大幅提升，例如可見光波長及近紅外線的運用。本文將介紹生物跡證的搜尋、DNA 萃取、DNA 定量、PCR 複製及 DNA 型別分析，最後，介紹矽藻在法醫鑑識上的應用，以一窺法醫生物跡證鑑驗科技之堂奧。

## 二、搜尋潛伏性跡證

「犯罪現場是證據的寶庫」，鑑識人員如何從許多雜亂無章的現場中快速且精準地發現證據，必須仰賴許多高科技幫忙，而刑事光源檢測法就是其中最有效的方法之一。該方法係一種非破壞性檢測方式，經由該方法可以發現許多肉眼所看不見的潛伏性跡證，例如精液斑、唾液斑、血斑、射擊殘跡與輪胎印痕等跡證，發現後精準採取重要跡證，俾利進行後續各項實驗分析。一套完整刑事光源系統必須具備強力光源主機、完整攝影設備及影像擷取系統等三大部分。目前，常用刑事光源系統之光源主機係使用 500 瓦氬氣燈泡，光源主機發射光線後會先經過主機內部各種波長濾色鏡，而產生特定可見光波長，該光源波長範圍為 350 nm、415 nm、450 nm、470 nm、490 nm、505 nm、530 nm、555 nm、590 nm、620 nm 與 650 nm 等 11 個區間波段。另一種光源則是在光導管前端裝上各種波長濾色鏡，而產生近紅外線波長，其波長範圍為大於 610 nm、715 nm、780 nm 及 830 nm 等四個波段，儀器外觀如圖 1 所示。

因此，鑑識人員若欲檢視精液斑、唾液斑、特殊染料、骨骼、纖維、射擊殘跡、槍擊射入口與射出口等跡證時，則可選擇特定可見光波長，當該光線照射於可疑潛伏跡證時，被照射可疑潛伏跡證會吸收特定可見光波長，而釋放出波長較長之螢光。鑑識人員可根據需求選用適當濾色鏡 (例如黃色、橘色及紅色等)，濾除原特定可見光波長，讓螢光透過濾色鏡進入攝影設備 (cooling CCD)，而影像擷取系統可即時顯現可疑螢光跡證情形，選擇適當光圈與快門後，擷取跡證影像，儲存至電腦內，俾利進一步分析。

另一方面，若是於深色材質上欲檢視血液、輪胎印、偽造文書、射擊殘跡、燒毀文書、骨董文物、槍擊射入口及射出口等跡證時<sup>(1, 5)</sup>，則可選擇近紅外線波長進行檢視。該光線檢視可疑潛伏跡證原理是藉由可疑跡證吸收近紅外線波長，而背景材質不吸收近紅外線波長之差異，而使鑑識人員能於攝影設備觀察下，快速發現可疑跡證所在位置，因該影像已經超過可見光範圍，所以必須藉由攝影設備才能觀看。檢視適當跡證影像後，其後續影像擷

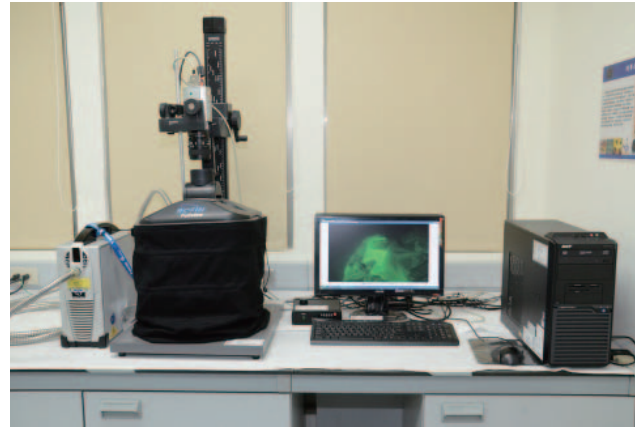


圖 1. 使用刑事光源機組檢視疑似侵害案件中衛生紙上疑似精液斑。

取及處理方式，與特定可見光波長相同。

使用刑事光源檢視系統可以檢視之跡證種類非常多，且不斷有新的應用，對於未知檢體必須施以全波長之檢驗，以避免搜尋潛伏跡證時有所遺漏。

## 三、DNA 萃取

一般刑事鑑識實驗室所鑑定的證物大多數為新鮮檢體或 DNA 含量豐富者，例如：新鮮血液、口腔棉棒、檳榔渣、口香糖與煙蒂等，只要將 DNA 萃取液加入檢體中，反應約 2 小時後即可溶解細胞，萃取 DNA，這些檢體所需前處理時間短、處理過程簡單，且 DNA 型別檢出率較高。反觀法醫檢體大都是腐敗的血液、組織、骨骼或牙齒等，則需歷經繁瑣的分離程序，才能溶解細胞，最後獲得 DNA。以骨骼為例，首先必須先檢視骨骼新鮮與否，若是檢體陳舊或嚴重裂解呈枯骨時，需採用骨骼脫鈣法，可使深藏在骨骼緻密質細胞中 DNA 釋出，以有效提升 DNA 檢出率。骨骼包含有機質和無機質兩部分，有機質部分包括骨基質和細胞，骨基質中有 95% 為膠原蛋白。無機質中主要有磷酸鈣，利用乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 螯合劑可以結合鈣離子的特性，形成螯合物，使骨骼中鈣質釋出，先將緻密骨骼完全軟化後，再進行組織消化及 DNA 萃取步驟。首先，必須先去除骨骼上腐肉，去除乾淨後將骨骼浸泡丙酮及乙醚溶劑約一天左右，去除骨骼中脂類及水

分，乾燥後將骨骼放置於研鉢中，加入液態氮，以研鉢將骨骼敲擊成細小骨碎片，將 EDTA 溶液加入細小骨碎片中，並置於旋轉式烘箱中反應一天以上，洗去 EDTA 後，將已完成脫鈣反應檢體加入 DNA 萃取液，同樣置於旋轉式烘箱 (圖 2) 中反應 12 小時以上，再以各種萃取法進行萃取，因法醫檢體難度高，必須使用各種不同萃取法進行檢體純化。茲列舉三種主要 DNA 萃取法。

### 1. 有機溶劑萃取法

一般傳統均利用 phenol/chloroform/isoamyl alcohol = 25 : 24 : 1 法，先加入與 DNA 萃取溶液等體積之 phenol，利用 phenol 去結合變性蛋白，而 DNA 留在水層中，再加入與 DNA 萃取溶液等體積之 phenol/chloroform/isoamyl alcohol = 25 : 24 : 1，以 chloroform 去結合殘餘在水層中的 phenol，至少需進行兩次循環操作，若檢體狀況不佳，可視情況增加循環操作次數，最後加入純酒精，使 DNA 沉澱，以去離子水或緩衝液溶解 DNA。本法最大優點是適合腐敗性的檢體，萃取 DNA 的回收效率高，但是使用有機溶劑則有影響人體健康及汙染環境的風險。

### 2. 矽管柱萃取法

矽管柱萃取法是一種固相萃取法，利用管柱內的矽膜 (silica membrane) 能與 DNA 吸附的特性，藉由調整溶液的 pH 值和鹽類濃度，先讓水解蛋白和其他雜質通過管柱，然後再以去離子水或緩衝



圖 3. 核酸自動化萃取儀外觀 (磁珠 DNA 萃取法原理)。

液將矽膜上 DNA 洗提出來。管柱法優點是操作簡易、快速及 DNA 回收率高，適用新鮮的檢體，如血液、口腔棉棒與新鮮的組織等。

### 3. 磁珠萃取法

從溶解細胞到 DNA 萃取均可以機器自動完成，其主要原理就是利用磁珠吸附 DNA 的特性。當細胞被溶解之後，DNA 裸露出來，磁珠包覆著可以和 DNA 吸附的纖維素 (cellulose)，使 DNA 被吸附到磁珠上，再經由磁力吸引磁珠，便可將溶液中的雜質分離，之後經過洗滌，其目的是為了將吸附在磁珠上的水解蛋白質去除，最後以調控 pH 值的方式將吸附於磁珠上的 DNA 釋出。機器內部構造主要由吸引接頭 (nozzles)、吸引手臂 (chuck) 及馬達驅動整個流程 (圖 3)，而緩衝溶液、酵素及磁珠部分都被包含在試劑套組 (kit) 中，操作流程十分簡單，對於減輕鑑識工作量有極大的幫助，一次可以處理 16 個檢體，整個流程只需約 40 分鐘，除了快速及自動化的好處，還可以避免交互汙染。法醫檢體所處環境常伴隨許多嚴重影響 DNA 分析之惡劣物質，例如化學物質、土壤與染料等，進而影響後續 PCR 反應，使用磁珠萃取法可以有效去除抑制物。本法適合較新鮮或 DNA 含量較大的檢體，如血液、口腔棉棒與新鮮的組織等，但是若遇到法醫檢體已呈現屍蠟狀，本法亦有不錯之萃取 DNA 效果。

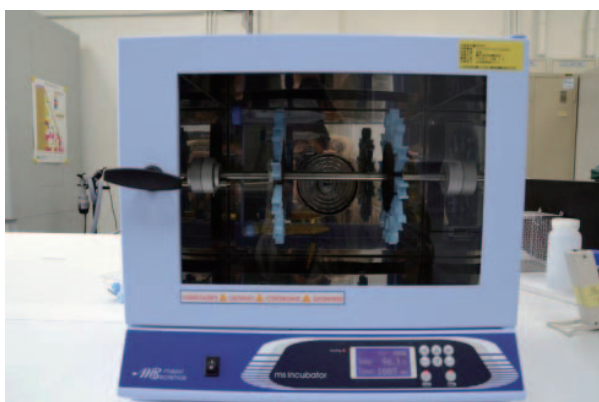


圖 2. 旋轉式烘箱，進行檢體脫鈣反應。

經過上述各種 DNA 萃取之檢體，常需進行 DNA 定量，以瞭解人類 DNA 及人類男性 Y 染色體 DNA 之含量，並利後續鑑驗工作。

#### 四、DNA 定量

將萃取後的 DNA 檢體進行 DNA 定量分析，而一般傳統方法為瓊脂膠 (agarose) 電泳法，在電泳後以 320 nm 波長之 UV 燈照射電泳膠，比對與 DNA 結合之 EtBr 被激發波長 590 nm 之螢光強度在待測 DNA 與已知標準 DNA marker 的差異，可達到半定量需求與評估 DNA 之品質。但此法受限於比較電泳膠之螢光強度，無法獲得精確 DNA 濃度，因此近年來皆以即時 PCR (real-time PCR) 定量 DNA，俾利進行 STR、Y-STR 或 mtDNA 之 PCR 反應。

目前常用的 DNA 即時 PCR 定量法，有幾種偵測系統，如人類定量試劑有 Quantifiler (Applied Biosystems)、Plexor HY System (Promega) 以及 Investigator™ Quantiplex (Qiagen) 等系統，其原理都相同，只是 PCR 複製區域與使用的探針不同而已。以 TaqMan 探針定量方法為例，使用人類體染色體或 Y 性染色體上某特定標的序列，設計專一性探針，利用 Taq DNA 聚合酶的耐熱性與 5' 端往 3' 端外切核酸序列及 5' 端往 3' 端聚合核酸序列的能力、TaqMan 探針雜交反應 (probe hybridization)、螢光共振能量轉移者轉移螢光能量之特性 (fluorescence resonance energy transfer, FRET)，在 PCR 反應進行變性 (denature) 過程時，雙股 DNA 變性分離成單股 DNA，TaqMan 探針結合在特定 DNA 序列之特性，其 5' 端帶有 reporter dyes，在 3' 端帶有 quencher dyes，在特定激發光源照射下，reporter dyes 與 quencher dyes 因同時存在且距離接近，而進行螢光共振能量轉移，受特定波長激發的 reporter dyes 能量轉至 quencher dyes，進而抑制 reporter dyes 發出螢光。隨著 PCR 反應進行引子黏合 (annealing)、引子延伸 (extension)、DNA 股聚合 (polymerization) 的步驟時，引子 (forward primer) 黏合到變性的 DNA 模版上，且 Taq DNA 聚合酶將引子 3' 端往下游方向聚合 DNA

模版之互補股，由於 Taq DNA 聚合酶具有 5' 端往 3' 端外切核酸序列能力，在聚合過程遇有 DNA 模版上結合的 TaqMan 探針，此探針將被水解，使得引子可以繼續延伸完成聚合，並釋出 reporter dyes 與 quencher dyes。在激發光源照射下，reporter dyes 因與 quencher dyes 遠離，所以表現出 reporter dyes 發射螢光，不會受 quencher dyes 之干擾。在每一個 PCR 循環被切除的 TaqMan 探針會釋出 reporter dyes，這些 reporter dyes 所激發出螢光強度會與每一個循環 PCR 增幅序列片段產物量成正比。藉由光學系統即時偵測螢光，經軟體分析後可得知證物檢體中 DNA 的濃度<sup>(2)</sup>，圖 4 為原理示意圖。

即時螢光定量 PCR 儀主要裝置為 (1) 光源裝置：鎢鹵素燈泡 (tungsten-halogen lamp)，(2) 螢光偵測器 (CCD camera)，(3) 轉盤式光濾鏡 (5

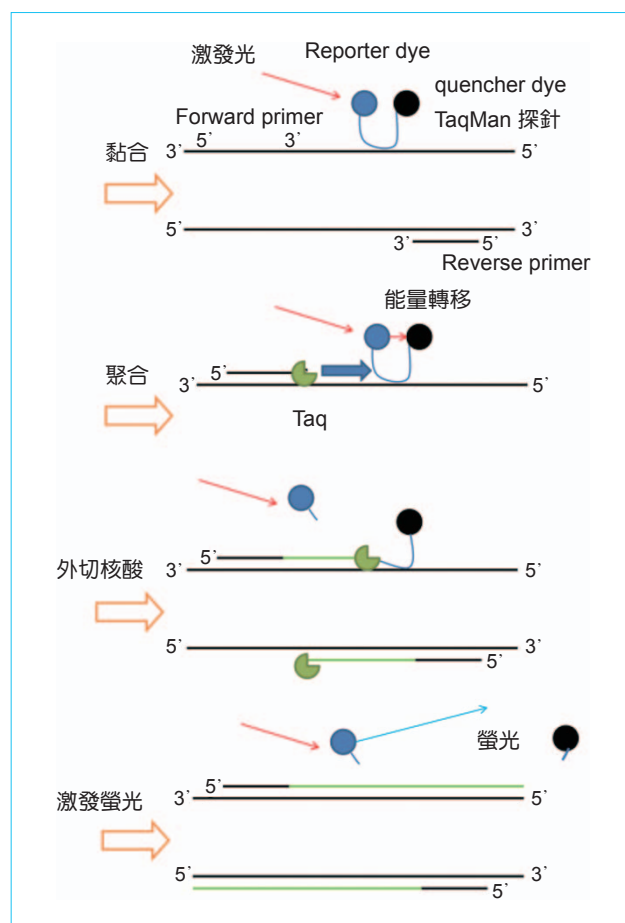


圖 4. TaqMan 探針即時 PCR 定量原理示意圖。

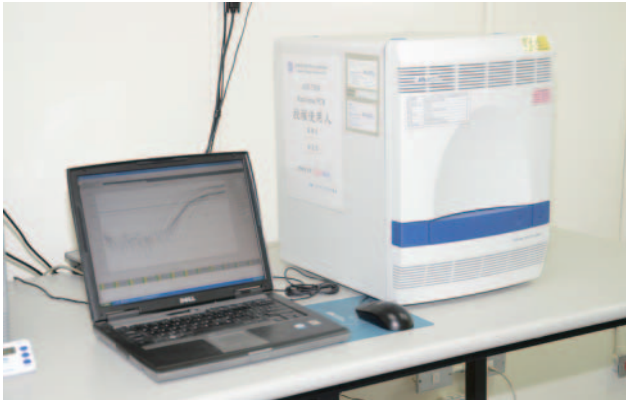


圖 5. ABI 7500 即時 PCR 定量儀外觀。

excitation/5 emission filter wheel), (4) 熱循環儀 (thermal cycler), 外觀如圖 5 所示。

即時螢光定量 PCR 反應儀進行樣本分析流程，是將待測 DNA 檢體放入 96 孔光學盤，封膜後進行定量，使用鎢鹵素燈泡通過濾鏡形成特定波段激發光束照射 DNA 檢體，使螢光物質發出螢光，96 孔光學盤內的檢體每進行一個 PCR 循環反應，可即時被螢光偵測器偵測接收，最後利用軟體分析檢體濃度，如圖 6 所示。

法醫 DNA 鑑識的案件常收到各種檢體 (如：骨骼、血液等組織)，為了辨別是否為人類組織，可使用人類定量試劑進行即時螢光定量法，藉由專一性人類探針的雜交反應來辨別，作為初步檢測方式。在性侵案件中，為了檢視物證是否有涉嫌男性 DNA 時，可使用人類男性 Y 染色體定量試劑進行

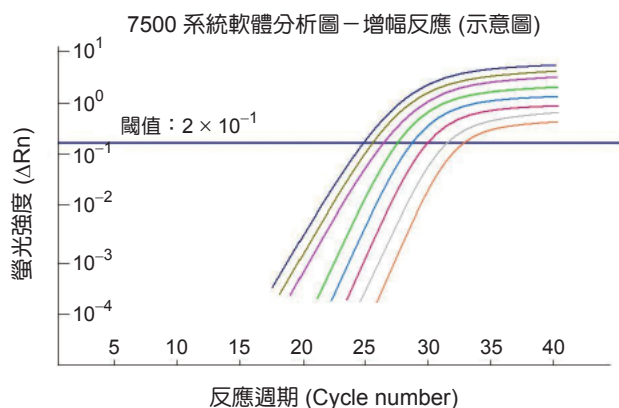


圖 6. 即時 PCR 定量儀 DNA 濃度分析曲線示意圖。

即時螢光定量法，作為初步檢測分析，並提供犯罪偵查上參考的依據。經過定量後的 DNA 檢體濃度調整成 0.05–0.125 ng/μL 範圍，以避免後續 PCR 反應時，因 DNA 量太多或太少，導致 DNA 圖譜發生嚴重偏差，造成 DNA 型別或序列誤判，此定量觀念格外重要，鑑識人員必須謹記在心。

## 五、PCR 複製

為將 DNA 技術有效應用於法醫鑑識，鑑識科學家選擇了不具連鎖關係 (unlinkage) 且沒有生物性功能之基因，以提供人身鑑別、親緣關係及刑事案件等鑑定之應用。目前國內外刑事實驗室常用來分析及鑑定的體染色體計有 15 組 STR 基因，包含 D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、TH01、D13S317、D16S539、D2S1338、D19S433、VWA、TPOX、D18S51、D5S818 及 FGA 等。國內學者<sup>(3)</sup> 曾於西元 2006 年整合國內刑事鑑識實驗室及親子鑑定實驗室等 10 個單位，共計收集 3794 個隨機樣品，進行各項 STR 型別統計分析，計算各基因之隨機相符機率為  $6.3 \times 10^{-18}$ ，最常見型相符機率為  $1.08 \times 10^{-13}$ ，並計算以此基因系統進行三人組親子排除能力 (power of exclusion, CPE) 為 0.9999992，而二人組親子排除能力為 0.9997963，顯示此基因系統功能非常強大，明顯提升人別與親緣鑑定之證明力。

在 Y-STR 基因部分，實驗室常分析之 Y 染色體上之 STR 基因有 17 個，此類基因在具有父系血緣關係之人，其 Y-STR 型別均相同，17 個 Y-STR 基因包含 DYS456、DYS389I、DYS390、DYS389II、DYS458、DYS19、DYS385a、DYS385b、DYS393、DYS391、DYS439、DYS635、DYS392、Y\_GATA\_H4、DYS437、DYS438 及 DYS448 等。國內學者<sup>(4)</sup> 曾於西元 2007 年收集 338 個隨機樣品，進行 Y-STR 型別統計分析，該系統應用於臺灣地區人口 Y-STR DNA 鑑別力約為 0.9531。雖然其鑑別力不如 STR 基因來得高，但對於父系血緣關係鑑定有極大助益，例如，父子、兄弟、叔伯，或同父異母的半手足關係時，甚至好幾代可能具有父系血緣關係者，亦可利用

此基因鑑定系統進行鑑定，例如美國傑弗遜總統與黑人女僕之私生子案，利用這種特殊鑑定方式是 STR 體染色體所無法辦到的。

粒線體 DNA 呈雙股環狀穩定結構，具母系遺傳，每個細胞存在多套基因組等特性，即使體染色體 DNA 嚴重裂解或 DNA 含量過少時，仍可進行粒線體 DNA 鑑定。鑑識科學家發現粒線體 DNA 序列中唯一的非密碼區 (non-coding region)，該區中的 HV1 及 HV2 等二個片段為高變異區，二個產物片段長度大約 300 bp，因不同母系個體間其序列變異高，實驗後所得之 HV1 和 HV2 數據與人類粒線體 DNA 參考序列 (revised cambridge reference sequence, rCRS) 進行比對，分析其二者變異點之差異情形及數目，若當事人或法醫檢體為同母系血緣關係，則其鹼基變異點應具有一致性。

根據統計，隨機二個人平均約有 7 個鹼基變異點差異，該系統應用於臺灣地區漢人粒線體 DNA 鑑別力約為 0.9986<sup>(7)</sup>，雖然其鑑別力不如 STR 基因位來得高，但對於母系血緣關係鑑定有極大助益。例如母子、姊妹、姨甥，同母異父的半手足關係時，粒線體 DNA 鑑定更是不可或缺的工具<sup>(6,7)</sup>，甚至好幾世代可能具有母系血緣關係者，亦可利用此基因鑑定系統進行鑑定，例如俄國沙皇尼古拉二世家族遺骸鑑定案，該鑑定技術常用來輔助 STR 體染色體鑑定，獲得相當好的成效。

## 六、螢光毛細管電泳分析

近年來 DNA 鑑識科學應用於分析親子鑑定、刑事鑑定以及法醫科學領域，然而傳統平板膠體電泳方法鑑驗 DNA 分子曠日費時，慢慢已被自動化毛細管膠體電泳法取代，利用高電壓毛細管電泳快速分離大小不同並帶有螢光 DNA 片段分子，並藉由偵測不同螢光顏色標幟且不同大小的 PCR 產物，俾利於取得人類短重複片段序列 (short tandem repeat, STR)、Y-STR、X-STR、G-Plex STR 或粒線體 DNA 序列資料。

### 1. 毛細管電泳原理

毛細管內充滿電解緩衝溶液及液態電泳膠介

質 (POP-4、POP-6 或 POP-7)，管路兩端分別連接到緩衝液的容器 (陽極緩衝溶液罐與陰極緩衝溶液槽)，由高電壓電源提供高電場，並進行電泳，使帶負電荷的 DNA 樣本快速分離，經由毛細管取樣端陰電極以電動力 (electrokinetic injection) 快速取樣 DNA 樣本 (此為帶有螢光標幟之 STR PCR 產物)。微量 DNA 由毛細管一端進入後，藉由高壓電場作用，造成 DNA 檢體受電滲流移動 (electroosmotic flow) 及電泳移動率 (electrophoretic mobility) 影響，帶電荷的 DNA 樣本由陰極緩衝溶液槽往陽極緩衝溶液罐方向移動，並經膠體分離標幟有不同螢光 STR 大小片段<sup>(8)</sup>。粒線體分析：將欲偵測粒線體 DNA 檢體樣本的特定序列 (HV1 和 HV2) 基因複製和基因產物純化，採用 fluorescent dye terminator sequencing 方式，循環定序後，放入自動樣本盤取樣後，進行粒線體定序分析。

### 2. 毛細管電泳系統

自動化毛細管膠體電泳系統主要由 (1) 電泳裝置：由 1 至 96 根毛細管 (fused silica capillary)、陽極緩衝溶液罐與陰極緩衝溶液槽 (buffer)、高電壓電源控制系統、膠體傳動幫浦 (polymer delivery pump, PDP)、膠體管路以及電泳膠等組成，(2) 恆溫控制室，(3) 氬離子雷射光源 (argon ion laser, 488 nm)，(4) 螢光偵測器 (CCD)，(5) 稜鏡光譜儀 (prism spectrograph)，(6) 自動取樣器 (autosampler) 所組成，儀器外觀如圖 7 所示。

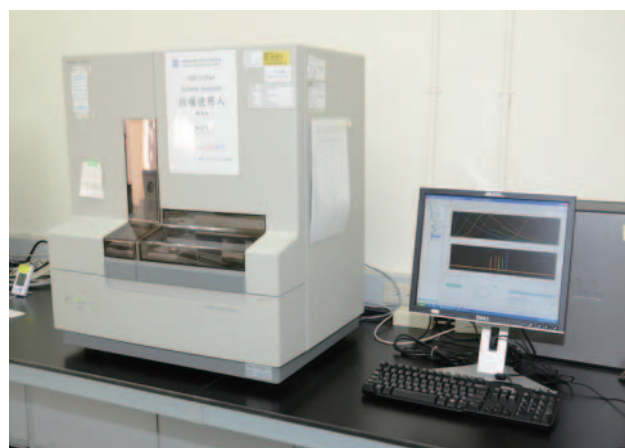


圖 7. ABI 3130XL 16 根螢光毛細管電泳儀外觀。

### 3. 毛細管電泳系統分析樣本種類

STR 型別：使用 HiDi formamide 讓 STR 產物變性，加熱後 STR 產物形成單股狀態，再迅速冷卻降溫後 (使 DNA 單股不再黏回去)，放入自動樣本盤，在高電壓的液態膠體中進行電泳，依 DNA 片段大小進行分離，以氬離子雷射光 (argon ion) 激發電泳中帶有五種不同螢光物質 (如：藍色 6-FAM、綠色 VIC、黃色 NED、紅色 PET、橘色 LIZ) 的 multiplex PCR 產物及內標準物 (internal lane size standard)，經由氬離子雷射光源激發螢光分子，螢光經稜鏡光譜儀分離出各色譜 (color separation)，螢光偵測器偵測五種不同顏色螢光 DNA 分子，並分析結果。藉由 DNA 樣品參考尺規 (ladder) 與內標準物提供標準的 STR DNA 片段定位，可以快速分析法醫檢體之 STR 型別，例如 STR、Y-STR、X-STR 及 G-Plex STR 等，以利後續同一性比對或親緣關係鑑定等應用。

粒線體 DNA 序列：採用 fluorescent dye terminator sequencing 方式，將粒線體 DNA 產物進行循環定序反應，接著純化循環定序反應產物，

最後將產物放入自動樣本盤進行粒線體 DNA 定序分析，其毛細管電泳系統分析原理與 STR 大致相同，不再贅述。將分析後之檢體進行序列排比，若法醫檢體確定為人類檢體時，常分析的粒線體 DNA 片段為 HV1 (圖譜如圖 8) 和 HV2，將檢體序列與人類粒線體 DNA 參考序列進行比對，並分析其變異點之差異。若為非人類檢體時，常用來分析種屬之粒線體 DNA 片段為 Cyt b 基因，將 Cyt b 基因序列排比後，送至 NCBI 資料庫進行比對，俾利研判法醫檢體之種屬<sup>(9, 10)</sup>，提供偵審單位參考。

## 七、DNA 比對

上述多型 DNA 之型別鑑定完成後，即可進行檢體來源之研判，在研判前需進行下列比對工作。

### 1. 汙染比對

一般案件之生物性跡證 DNA 型別經分析後，應先將 DNA 型別進行汙染比對，比對實驗室過去資料中是否有檢體與該 DNA 型別相同，若發現有

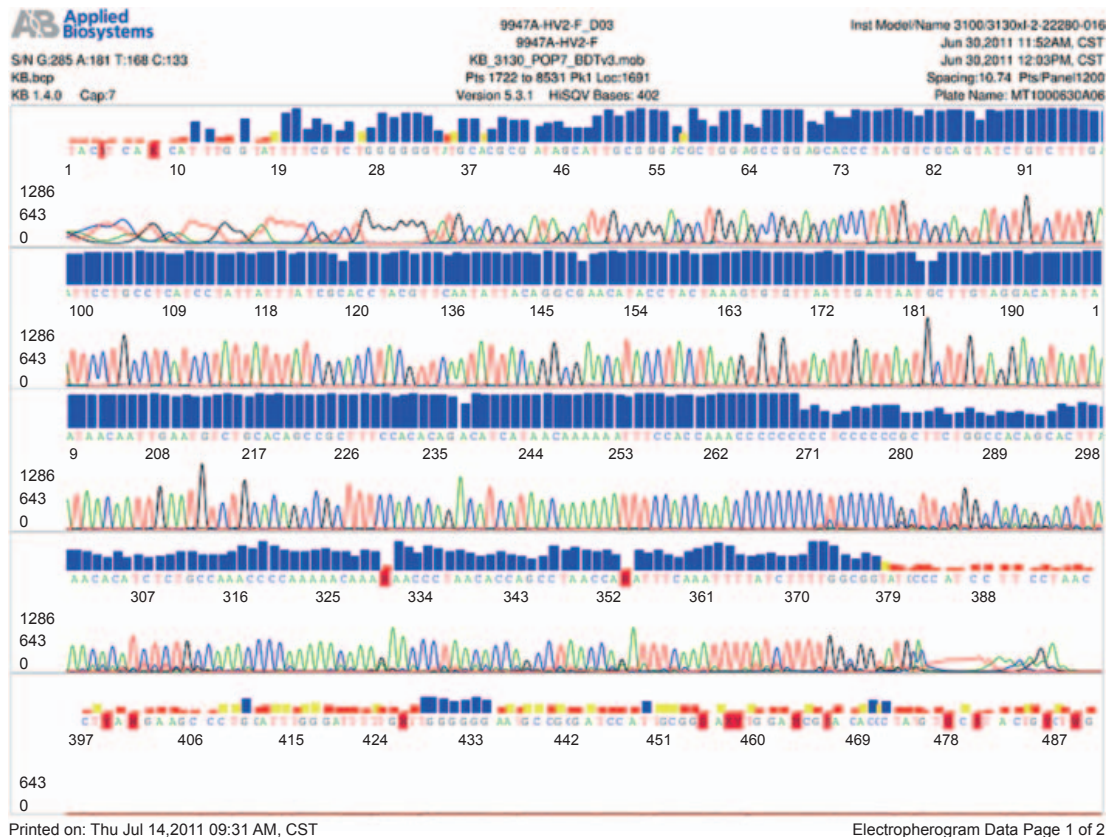


圖 8. 人類粒線體 DNA HV1 圖譜。

檢體與該檢體具有相同 DNA 型別時，必須確認檢體是否受到汙染或是涉及前案等，若發生汙染情事必須依照實驗室規範處理，若無汙染情形時，再進行各項比對及鑑定作業。

## 2. 同一性比對

將所有法醫生物性檢體進行交叉比對，搜尋 15 組 STR DNA 型別是否均相同，若發現有相同者，先查詢相關資料，例如，該死者是否存在同卵雙胞胎之手足，或可能來自同一具遺體，或是涉嫌人遺留於犯罪現場之生物性跡證等，藉由計算這些基因隨機相符頻率，可判定二者是否來自同源。其計算公式為  $\Pr(\text{ID}|E, N) = 1/[1 + (N - 1)f]$ ，若設定檢體相符機率為 99.99 % (Pr)，目前地球上總人口數約為 70 億 (N) 人，則檢體隨機相符頻率為  $f$ ，經計算後  $f = 1.43 \times 10^{-13}$ 。為使研判上能更嚴謹，故設定  $10^{-14}$  為門檻值，亦即二者生物跡證研判是否來自同源時，其隨機相符頻率必須達  $10^{-14}$  以下，此重複率遠低於地球上人口數，表示世界上 70 億人口中除了涉嫌人外，不會有第二個人具有相同的 DNA 型別，如此嚴謹的要求是希望提供最可靠的鑑定結果。

## 3. 親緣關係比對

根據社團法人中華民國鑑識科學學會 98.12 第二次修訂親緣 DNA 鑑定實驗室認證技術規範中「5.4.4 以體染色體基因座進行親緣鑑定時，實驗室應使用各自獨立的多基因座進行分析，組合之各基因座親子排除率應達 99.99%，對不能排除的系爭父親之親子指數應達 10,000 以上。」因此一般親子鑑定時，研判當事人具有一親等血緣關係之親子指數至少應達  $10^4$  以上，始可獲得正確研判。但若是遇到大型災難如南亞海嘯、911 世貿大樓攻擊事件或莫拉克風災等，罹難者身分不確定，且人數眾多，所以僅以家屬 DNA 在不確定人數與身分範圍的罹難者中，比對當時所尋獲的部分遺骸來找出最可能的對象。此種方式很容易造成誤判，而且因地緣關係，許多受災家庭可能具有親緣關係，更增加鑑定上的難度，所以必須更謹慎，並制訂更嚴格的判定標準作為研判依據。根據美國對於大型

災難罹難者身分鑑定判斷方式，親緣關係確定率至少為 99.9%，以莫拉克風災為例，風災期間失蹤人數若估計約為 1000 人，事前機率以 (1/1000) 表示，將上述數據代入貝氏定理，計算公式為  $10^3 = (1/1000) \times \text{LR}$ ，故 LR (likelihood ratio) 值為  $10^6$ ，所以比對莫拉克罹難者親緣關係指數門檻值就是以  $10^6$  為判定標準<sup>(11, 12)</sup>。

依據孟德爾遺傳定律，子代的半套對偶基因型遺傳自父親，另半套對偶基因型則來自母親，而大部分的親緣關係鑑定案件，都是以父母子三人模式進行親子關係比對，因使用 15 組 STR 基因位鑑定系統 (圖譜如圖 9)，既快速且正確。但是現實社會中往往父母雙親二人已經往生 (或失聯)，或其中一人已經往生 (或失聯)，或死者沒有子代 (往生或失聯)，來尋親家屬可能是單親、手足或其他親等較遠之親屬，各種不同複雜情況，造成鑑定人員比對上莫大困擾。若再遇到當事人是較常見之基因型別時，其親緣關係指數就容易偏低，指數未達到  $10^4$  以上，鑑定單位無法研判當事人親緣關係，使得司法單位無法確認當事人或屍體身分，以致案件延宕，另一方面尋親家屬無法順利領回家人遺體又是另一種痛苦。為解決上述問題，有效提升親緣關係確定率，可利用多位尋親家屬交叉比對，以提升親緣關係指數，例如父 (母) 子子尋母 (父)、子子尋父 (母)、父 (母) 子尋子、子子尋子、子子尋半子等多人親屬比對模式，再依據當事人之族群，引用該族群基因頻率，計算親緣關係指數，如此計算方式，可顯著提高親緣關係確定率，對於案件偵辦提供莫大的幫助。

## 八、矽藻於刑事鑑定上的應用

在疑似溺死案件中往往困擾法醫師的問題是死後落水還是生前落水，此多半因為浸泡在水中多日，使得屍體腐敗而難以取得可使用的證物。除了身分需要確認外，還需鑑定死亡的原因，經由解剖可以取得法醫病理學上的證據，另外，亦可經由水裡棲息的矽藻生物來提供線索。

矽藻鑑定是目前判斷生前落水或死後落水的方

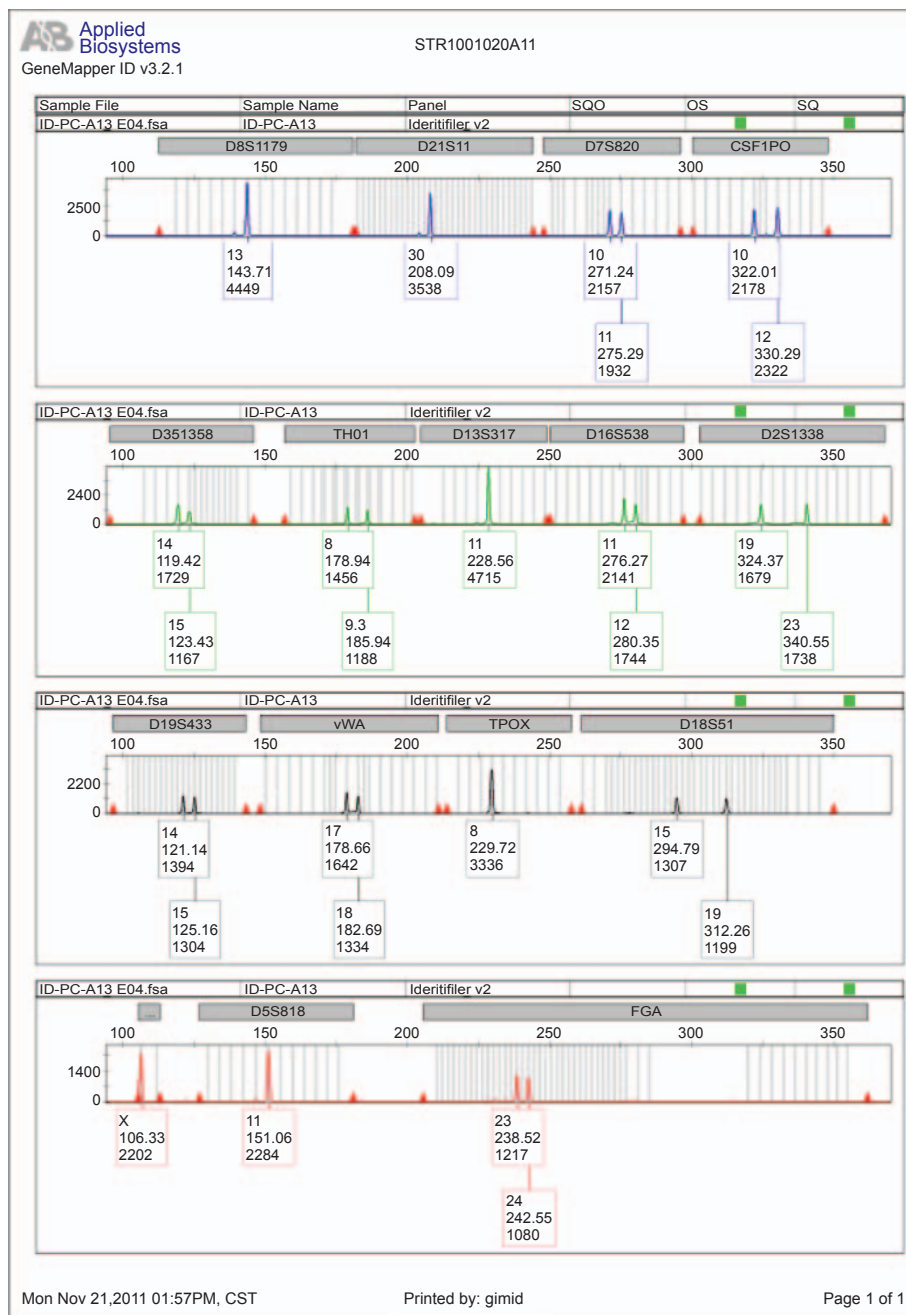


圖 9.  
人類體染色體 15 組 STR DNA  
圖譜。

可以抵擋環境中各種因素的破壞。因為溺水者會在水中吸入溺液，而矽藻廣泛生長在各種自然水域中，由口鼻吸入的溺液經由循環，會把伴隨溺液進入身體的矽藻，運送到肺臟位置或身體中更遠端的地方，而死後落水的屍體，由於呼吸作用及循環作用停止，溺液只能被動的進入身體內，停留在較淺層的位置，而無法進入更遠端更深層的臟器部位。

目前的作法是採集特定臟器，檢體其中是否含有矽藻及其數量，作為溺死證據之一。檢驗方法是

將檢體以強酸硝化，除去所有有機物質後，將殘留物做成玻片，再以微分干涉差顯微鏡搜尋矽藻。

微分干涉差顯微鏡的原理主要為利用平行分裂光透過標本產生光程差干涉，讓標本產生明暗的立體圖像，在辨別矽藻的種屬上很有幫助，可以更清楚顯現矽藻外殼結構上的一些細微特徵。其顯微鏡在結構上主要有四個特殊的光學元件：偏振器 (polarizer)、DIC 稜鏡、DIC 滑行者 (DIC slider) 和檢偏器 (analyzer)。

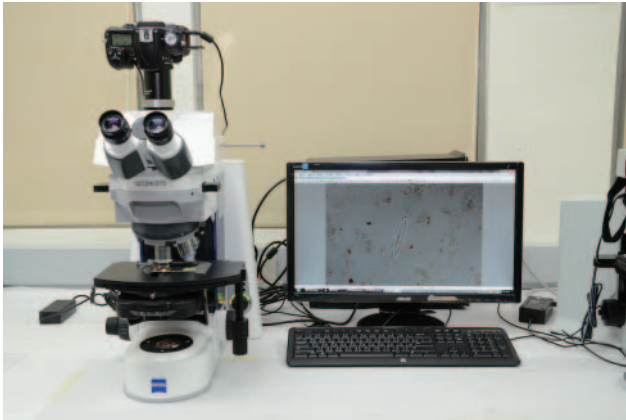


圖 10. 微分干涉差 (differential interference contrast, DIC) 顯微鏡，檢視疑似溺水案件法醫檢體中可疑矽藻情形。

偏振器和檢偏器如同在相位差顯微鏡的角色，都是讓光線發生線性偏振，而微分干涉差顯微鏡最主要就是有 DIC 稜鏡，又叫 Wollaston 稜鏡或 Nomaski 稜鏡，目的就是讓各向同性 (isotropic) 的物質也能得到干涉的光程差，此稜鏡可將一束光分解成偏振方向不同的兩束光，而 DIC 滑行者 (DIC slider) 又可將兩束光波合併成一束，最後通過目鏡，讓影像可被觀測，使用顯微鏡如圖 10 所示。

建立主要河川矽藻的生態分布資料庫，用來比對疑似溺水屍體檢體中發現的矽藻種屬，更能藉以推測出可能的落水地點。

## 九、結論

法醫生物跡證鑑驗方法的提升對犯罪偵查與司法審判的影響甚鉅，唯有以科學才能捍衛正義，以科學證據為基礎，才能讓司法判決獲得信賴。近年來 DNA 鑑定科技應用在法醫生物跡證鑑定上非常普及，也由於司法對於此類科技的信賴，使得實驗室在鑑定管理與技術要求之品質保證上，應特別嚴謹，以確保鑑定品質。

## 參考文獻

1. C. Y. Lin, H. M. Hsieh, L. C. Tsai, A. Linacre, and C. I. Lee, *Journal of Forensic Science*, **52** (5), 1148 (2007).

2. P. M. Holland, R. D. Abramson, R. Watson, and D. H. Gelfand, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **88** (16), 7276 (1991).
3. 李俊億, 張奕元, 蘇志文, 曾成槐, 蒲長恩, 韓台賢, 張家璋, 劉大智, 林芳如, 林永鈞, 陳銘憲, 中華民國鑑識科學學會 2006 年鑑識科學研討會論文集, 27 (2006).
4. H. M. Liu, P. S. Chen, Y. J. Chen, J. Y. Lyou, H. Y. Hu, J. S. Lin, and C. H. Tzeng, *Transfusion*, **47** (5), 918 (2007).
5. 林俊彥, 刑事檢體檢視及 DNA 鑑定之研究博士論文, 中央警察大學發行, 120 (2010).
6. H. L. Hwa, T. M. Ko, Y. C. Chen, Y. Y. Chang, L. H. Tseng, Y. N. Su, and C. I. Lee, *Journal of Forensic Science*, **55** (1), 167 (2010).
7. L. C. Tsai, C. I. Lee, C. Y. Lin, C. H. Su, S. J. Chen, and H. M. Hsieh, *Forensic Science Journal*, **8** (1), 29 (2009).
8. J. M. Butler, E. Buel, F. Crivellente, and B.R. McCord, *Electrophoresis*, **25** (10-11), 1397 (2004).
9. H. L. Chiang, L. C. Tsai, S. Y. Lai, N. E. Huang, A. Linacre, and J. C. I Lee., *Forensic Science International*, **122**, 7 (2001).
10. H. M. Hsieh, L. H. Huang, L. C. Tsai, Y. C. Kuo, H. H. Meng, A. Linacre, and J. C. I Lee., *Forensic Science International*, **136**, 1 (2003).
11. 莫拉克風災法醫鑑識實錄, 法務部法醫研究所初版, 16 (2010).
12. C. Y. Lin, T. Y. Huang, H. C. Shih, C. H. Yuan, L. J. Chen, H. S. Tsai, C. H. Pan, H. M. Chiang, H. L. Liu, W. C. Su, K. T. Wu, C. H. Chao, N. E. Huang, K. D. Yang, H. M. Hsieh, L. C. Tsai, A. Linacre, Y. J. Yu, Y. Y. Lin, P. C. Chu, and J. C. I Lee, *International Journal of Legal Medicine*, **125**, 637 (2011).



黃兆清先生為國立陽明大學遺傳碩士，現任法務部法醫研究所技士。

Chao-Ching Huang received his M.S. in genetics from National Yang-Ming University. He is currently an associate technical specialist at the Institute of Forensic Medicine, Ministry of Justice.

Chao-Ching Huang received his M.S. in genetics from National Yang-Ming University. He is currently an associate technical specialist at the Institute of Forensic Medicine, Ministry of Justice.



林俊彥先生為中央警察大學鑑識科學博士，現任法務部法醫研究所組長。

Chun-Yen Lin received his Ph.D. in forensic science from Central Police University. He is currently a division head at the Institute of Forensic Medicine, Ministry of Justice.

Chun-Yen Lin received his Ph.D. in forensic science from Central Police University. He is currently a division head at the Institute of Forensic Medicine, Ministry of Justice.



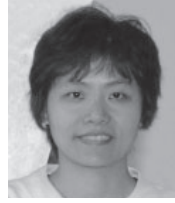
林忠信先生為國立中正大學分子生物碩士，現任法務部法醫研究所約僱人員。

Chun-Sin Lin received his M.S. in molecular biology from National Chung Cheng University. He is currently a contract-based employee at the Institute of Forensic Medicine, Ministry of Justice.



黃純英小姐為台北醫學大學生物醫學技術碩士，現任法務部法醫研究所副研究員。

Tsun-Ying Huang received her M.S. in biomedical technology from Taipei Medical University. She is currently an associate researcher at the Institute of Forensic Medicine, Ministry of Justice.



袁巧璇小姐為國立交通大學生物科技碩士，現任法務部法醫研究所研究助理。

Chiao-Hsuan Yuan received her M.S. in biological technology from National Chiao Tung University. She is currently a research assistant at the Institute of Forensic Medicine, Ministry of Justice.



李俊億先生為英國史查克萊德大學鑑識科學博士，現為法務部法醫研究所所長。

James Chun-I Lee received his Ph.D. in forensic science from the University of Strathclyde, UK. He is currently the director of the Institute of Forensic Medicine, Ministry of Justice.