

## Comparative study of serological detection methods on old bloodstain samples

Minji Lee, Eu-Ree Ahn, Da-Hye Kim, Heejin Shin, Ju Yeon Jung,  
Sung-Jin Lee, and Byung-Won Chun★

*Forensic DNA division, National Forensic Service, Wonju 26460, Korea*  
(Received August 21, 2018; Revised October 6, 2018; Accepted October 6, 2018)

### 오래된 혈흔 시료에 대한 혈청학적 식별법의 비교 연구

이민지 · 안우리 · 김다혜 · 신희진 · 정주연 · 이성진 · 전병원★

국립과학수사연구원 법유전자과

(2018. 8. 21. 접수, 2018. 10. 6. 수정, 2018. 10. 6. 승인)

**Abstract:** Blood is a commonly found body fluid at crime scenes, and plays an important role in identifying suspects and in the reconstruction of crime scenes. Although serological detection of blood has been widely used in the field of forensic science, research on the detection of old bloodstains is scarce. This work aimed to compare various methods for the detection of old bloodstains and validate the reliability of their results. Four presumptive tests—Tetramethylbenzidine, Bluestar<sup>®</sup>, Leucomalachite Green, Kastle-Meyer tests—and two confirmatory tests—Fecal Occult Blood (FOB) and Rapid Stain Identification<sup>™</sup>-Blood (RSID<sup>™</sup>-Blood) tests—were compared. Bloodstain samples from post-mortem cases were collected on gauzes and then stored at room temperature for periods from 7 to 30 years. All the presumptive tests were positive, even for the 30-year-old sample. However, FOB and RSID<sup>™</sup>-Blood provided false negative results for some samples stored for 17 years or more (1988 to 2001). The results indicate that FOB and RSID<sup>™</sup>-Blood are not reliable for the detection of old bloodstains. These findings can be useful in the selection of an appropriate detection method for serological testing of old bloodstains. In addition, the information will be useful background knowledge when applied in the field of forensic practice.

**요약:** 혈액은 범죄현장에서 가장 흔하게 볼 수 있는 체액 중 하나이며 용의자를 확인하고 사건 현장을 재구성하는데 중요한 역할을 한다. 혈액의 혈청학적 식별법은 법과학 분야에서 널리 사용되고 있지만, 오래된 혈흔에 대한 혈청학적 식별법의 비교에 관한 연구는 거의 수행되지 않았다. 본 연구의 목적은 오래된 혈흔의 다양한 식별법을 비교하고 그 유효성에 대한 정보를 제공하는 것이다. 본 연구에서는 Tetramethylbenzidine, Bluestar<sup>®</sup>, Leucomalachite Green, Kastle-Meyer의 네 가지 혈액 예비시험과 Fecal Occult Blood (FOB)와 Rapid Stain Identification<sup>™</sup>-Blood (RSID<sup>™</sup>-Blood) 두 가지 혈액 확진시험을 사용하여 비교연구를 수행하였다. 혈흔 시료는 최소 7년부터 최대 30년동안 실온에서 거즈에 보관된 부검 혈

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)33-902-5721 Fax : +82-(0)33-902-5946

E-mail : [chunbw@gmail.com](mailto:chunbw@gmail.com)

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

액을 사용하였다. 실험 결과 네 가지 예비 실험에서는 30년까지 경과된 시료를 포함하여 모든 시료에서 양성반응으로 관찰되었다. 반면에 FOB와 RSID™-Blood는 17년 이상 경과된 일부 시료(1988년부터 2001년)에서 음성이 나타나 오래된 혈흔 시료의 경우 확증시험에서 음성반응이 나타날 수 있음을 확인하였다. 이러한 연구 결과는 오래된 증거물에 대한 혈청학적 감정에서 적절한 혈액 식별법 선정에 도움이 될 수 있을 것으로 기대한다. 더불어 법과학적인 감정분야에서 활용할 때 유용한 배경지식이 되리라 사료된다.

**Key words:** old bloodstain, serological detection, presumptive test, confirmatory test

## 1. 서 론

사건 현장에서 미지의 반흔이 발견되면 그 흔적이 혈액, 정액, 타액 등의 체액에서 유래했는지 여부를 결정하기 위해 체액 식별이 수행된다. 사건 현장에서 체액의 존재와 위치를 파악하는 것만으로도 수사 기관에서 사건을 조사할 때 여러 가지 정보를 제공할 수 있기 때문에 체액을 식별하는 것은 법과학적 분석 측면에서 매우 중요하다. 체액 중에서도 혈액은 사건 현장에서 가장 흔하게 발견되며 사건 정황의 해석을 위한 훌륭한 지표로 사용될 수 있다. 예를 들어 현장에서 발견된 혈흔은 폭행, 살인 등을 암시할 수 있으며, 사건현장 재구성을 위한 혈흔형태분석 등에서도 사용될 수 있다.<sup>1,3</sup>

일반적으로 혈액 식별법은 미지의 시료에서 다양한 체액의 존재 확인과 식별에 초점을 맞추는 법생물학의 한 분야인 혈청학에 기초하고, 식별과정은 다음과 같다. 먼저, 혈액 의심부위를 육안으로 탐색하고, 혈청학적 예비시험과 확증시험을 거쳐 혈액 여부 및 인혈 여부를 판단한다.<sup>4,5</sup>

대부분의 혈액 예비시험은 혈액 내 헤모글로빈의 헴 기능부위(Heme moiety)에 의해 촉매된 산화-환원 반응에 기반하고 있다.<sup>6,8</sup> 헴의 철분이 촉매로 작용하여 무색의 기질들은 산화 반응을 거쳐 화학발광이나 형광 또는 색깔의 변화를 나타내며 이를 통해 혈액의 유무를 추정할 수 있게 된다. 혈액에서 헴을 검출하는 비색 검사 중 하나인 테트라메틸벤지딘(Tetramethylbenzidine, TMB) 시험은 벤지딘(Benzidine)의 테트라메틸(tetramethyl) 유도체로 혈액이 존재할 때 검사패드가 청색부터 녹색까지의 색으로 변화한다.<sup>6</sup> 또 다른 비색 검사인 Leucomalachite Green (LMG) 시험은 말라카이트(Malachite)의 류코(leuco) 염기 형태인 무색의 기질이 산화하여 청색을 띠는 것이며, Kastle-Meyer (KM) 시험은 무색 화합물인 페놀프탈린(Phenolphthalin)이 산화되어 분홍색의 페놀프탈레인(Phenolphthalein)으로

변하게 됨으로써 반응 여부를 확인할 수 있는 시험법이다.<sup>6</sup> 이들은 산화제인 과산화수소가 있는 조건에서 수행되며 육안으로 즉시 확인될 수 있다. 화학발광 검사인 Bluestar® 시험은 루미놀(luminol)계 시약으로 3-Aminophthalhydrazide이 산화하여 최종 산물인 3-Aminophthalate에 의해 청색 발광이 나타난다.<sup>9</sup> 이러한 예비시험은 시험법에 따라 1,000~10,000 배 이상 희석된 혈액에서도 양성반응이 나타나 그의 민감도가 매우 높다.<sup>1,8-13</sup> 법과학 감정기관에서는 혈액 확증시험으로 편리성, 시간, 비용 등의 이유로 면역크로마토그래프(immunochromatographic assay) 원리에 기반한 방법을 주로 사용한다. 혈액 확증시험인 Fecal Occult Blood (FOB)는 사람의 헤모글로빈을 항원으로, Rapid Stain Identification™-Blood (RSID™-Blood)는 적혈구의 세포막에 존재하는 글라이코포린 A(Glycophorin A)를 항원으로 하여 인혈과 특이적으로 반응한다.<sup>14-16</sup>

혈액 식별이 갖는 법과학적 중요성만큼 이에 대한 연구 또한 많이 보고되었다. 루미놀과 네 가지 비화학발광법(non-chemiluminescent)인 KM, LMG, Hemastix®, 법과학 광원(forensic light source)에 대하여 민감도와 사용 용이성, 안정성을 비교한 연구에서는 루미놀이 가장 민감한 방법이며, 루미놀이 적합하지 않을 때 Hemastix®가 대체 가능하다고 보고하였다.<sup>10</sup> 그리고 혈액 확증시험을 위한 세가지 면역학적 키트인 ABACard® Hematrace®, HemDirect, RSID™-Blood에 대하여 특이성과 민감도, 유효성을 비교한 연구에서는 헤모글로빈을 항원으로 혈액을 검출하는 HemDirect의 신뢰도가 높다고 보고하였다.<sup>15</sup> 이 외에도 많은 혈액 예비시험 및 확증시험에 대한 연구가 보고되었으나, 이들 연구는 대부분이 희석한 혈액에 대한 민감도와 유효성을 본 것이 대부분이다.<sup>9,16</sup> 반면에 장기간 시간이 경과된 시료에 대해 혈청학적 혈액 식별법이 유효한 가능성을 갖는지에 대한 연구는 전세계적으로 많지 않다. 이는 시료의 특성상 장기 보관되어 온 시료를 확보하여 사용하는 것이 쉽지 않기 때문이다.

Table 1. Presumptive and confirmatory test methods for blood

Method	Presumptive test				Confirmatory test	
	TMB	Bluestar <sup>®</sup>	LMG	KM	FOB	RSID <sup>™</sup> -Blood
Classification	chemical	chemiluminescent	chemical	chemical	immunological	immunological
Positive determination	orange → green/blue-green	colourless → blue light	colourless → blue-green	colourless → bright pink	C, T : Violet line	C, T : Red line
Reaction time	~10 s	~10 s	~10 s	~10 s	10 min.	10 min.
Oxidant	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	-
Catalyst	Heme moiety	Heme Moiety	Heme Moiety	Heme Moiety	-	-
Substrate / Target*	Tetramethylbenzidine	3-Aminophthalhydrazide	Leucomalachite Green	Phenolphthalin	Glycophorin A*	Human hemoglobin*

TMB; Tetramethylbenzidine, LMG; Leucomalachite Green, KM; Kastle-Meyer, FOB; Fecal Occult Blood, RSID<sup>™</sup>-Blood; Rapid Stain Identification<sup>™</sup>-Blood, '-'; not applicable, '\*'; target antigen.

2015년 7월 대한민국에서는 살인 등에 대한 공소시효가 폐지되면서 미제 사건에 대한 재수사가 수행되기 시작하였고, 10년 이상 보관된 증거물에서 체액 식별 및 DNA 감정의 필요성이 증가하였다. 혈청학적 혈액 식별법은 혈액 내 존재하는 헤모글로빈 및 글라이코포린 A 같은 특정 단백질을 촉매로 하는 반응과 이런 물질을 특이적으로 검출하는 방법으로 이루어진다.<sup>1</sup> 사건 현장의 증거물은 다양한 환경에서 채취되며 이러한 증거물은 채취 당시 환경에 의해서일 뿐만 아니라 보관 상태 및 기간에 의해서도 생물학적 물질이 분해될 가능성이 높다.<sup>1,17</sup> 이는 비교적 오래된 시료에서 체액 식별의 가능 여부를 결정하는 단백질들의 자연 분해 정도가 식별 결과에 영향을 줄 수 있음을 의미할 수 있기 때문에 본 연구에서는 혈청학적 감정을 목적으로 현재 법과학적 감정에서 주로 사용하는 네 가지 예비시험(TMB, Bluestar<sup>®</sup>, LMG, KM)과 두 가지 확증시험(FOB, RSID<sup>™</sup>-Blood)이 7년에서 30년 동안 장기간 보관된 혈흔 시료에서 유효한 식별력을 갖는지 알아보려고 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료

실험에 사용한 혈흔 시료는 총 100 개로, 1988년부터 2011년까지 20개년도(1988, 1989, 1992, 1993, 1994, 1995, 1996, 1997, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2008, 2009, 2010, 2011)에 채취된 부검 혈액을 모두 동일한 환경에(실온) 일정 크기(약 3 cm × 3 cm) 거즈에 도포하여 건조된 상태로 보관되어 있었다. 각 연도별로 0.5 cm × 0.5 cm 크기로 시료 5점을 잘라내어 사용하였고, 시료가 없는 연도는

제외하였다. 양성 대조군으로 사용된 혈흔은 지원자로부터 제공받은 것이며, 모든 시료는 Institutional Review Board for National Forensic Service (NFSIRB)에 의해 승인된 정책과 절차에 따라 사용되었다.

### 2.2. 혈청학적 식별법

본 연구에서 사용한 혈청학적 혈액 식별법에 대해 Table 1에 간략히 제시하였다.<sup>1,6,10,15,16</sup> 각 시험에 사용되는 시약들은 동일한 제품 번호(lot number)인 것으로 사용하였고, 양성 대조군은 거즈에 혈액을 묻혀 3 일 동안 실온에서 건조시킨 혈흔을 사용했으며, 음성 대조군으로 혈액을 묻히지 않은 거즈를 사용하였다.

#### 2.2.1. 예비시험

본 연구에서 사용된 네 가지 예비시험에 사용된 시약은 Joanne L. Webb 등<sup>10</sup>이 제시한 방법 및 제품 설명서를 참고하여 제조 및 시험에 사용하였다. TMB (Multistix 10 SG, Siemens health Care Diagnostics Inc, USA) 시험은 준비된 혈흔 시료에 RSID<sup>™</sup>-Blood (Independent Forensics, USA)에 포함되어 있는 Universal buffer 150 µL를 1 시간 동안 충분히 반응시킨 후 10 µL를 혈액 검사 패드에 분주하였다. 약 10 초 후 검사 패드를 제조사의 판독 기준표와 육안으로 비교하였다. Bluestar<sup>®</sup> 시험은 125 mL 증류수에 Bluestar<sup>®</sup> (SIRCHIE, USA) tablets 한 쌍을 용해하여 시약을 제조하였다. 이 시약은 실험 직전에 암실 조건에서 제조하였으며, 제조 후 3 시간 이내에 사용하였다. 준비된 혈흔 시료에 제조한 시약 약 100 µL를 분주한 후 최대 5 초 내에 청색발광이 나타나는지 관찰하였다. LMG 시험은 1 g Leuco-Malachite Green (Sigma-Aldrich, USA), 100 ml Acetic acid (DUKSAN PURE CHEMICALS,

Korea), 증류수 150 ml을 혼합하여 제조하였으며, 3% 과산화수소수(Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였다. 준비된 혈흔 시료에 바로 LMG 시약 20  $\mu$ L를 분주한 다음 위양성 확인을 위해 약 10 초 이내에 색의 변화가 없음을 확인하고 3%  $H_2O_2$  20  $\mu$ L를 분주한 후 10 초 내에 청록색의 정색반응이 나타나는지 관찰하였다. KM 시험은 Kastle-Meyer 키트(SceneSafe, UK)에 포함된 Absolute ethanol 20  $\mu$ L, Kastle Meyer solution 20  $\mu$ L를 준비된 혈흔 시료에 각각 분주한 후 마찬가지로 위양성 확인을 위해 약 10 초 이내에 색의 변화가 없는 것을 확인하였다. 이 후 키트 내 포함된 6% Hydrogen Peroxide solution을 20  $\mu$ L를 분주하고 즉시 분홍색으로의 변화를 보이는지 관찰하였다.

### 2.2.2. 확증시험

FOB(ASAN Easy Test FOB, Asan Biotech Institute, Korea)는 키트에 포함된 추출 완충액 500  $\mu$ L를, RSID<sup>TM</sup>-Blood(Independent Forensics, USA)는 키트에 포함된 Universal buffer 150  $\mu$ L를 준비된 혈흔 시료와 1 시간 동안 충분히 반응시킨 후, 각각 100  $\mu$ L를 디바이스의 검체 적하부에 분주하였다. 반응 10 분 후, 검체판의 대조선(C)이 완전히 보라색(FOB)이나 적색(RSID<sup>TM</sup>-Blood)으로 변하는지 관찰하고, 검사선(T)에 나타나는 라인의 형성 유무를 판독하였다. 두 시험 모두 디바이스 상에서 나타나는 'C'는 시험의 이상 유무를 확인하기 위한 것으로, 'C' 위치에 나타나는 라인이 없으면 시험이 유효하지 않음을 의미한다. 'C' 위치에만 라인이 나타나면 음성반응을, 'C'와 'T' 위치에 라인이 나타나면 양성반응을 의미한다.

### 2.3. 결과 해석

법과학적 감정에 사용되는 혈청학적 혈액 식별법은 색의 변화를 검출하는 정성적인 방법으로 본 연구에서 구분한 여섯 가지 식별법의 양성 판정 기준을 Fig. 1에 제시하였다. 발광 유무로 결과를 판독하는 Bluestar<sup>®</sup> 시험과 색의 변화로 결과를 판독하는 TMB, LMG, KM 시험은 각각 양성을 의미하는 발광과 색의 변화가 양성 대조군과 동일한 강도로 나타나면 양성(positive)반응으로 판정하였고, 양성 대조군 보다 약한 발광과 색의 변화는 약한 양성(weak positive)반응으로 구분하였다.

색상을 띠는 라인의 형성 유무를 육안으로 관찰하여 양성반응과 음성반응을 정성적으로 판정하는 FOB 시험과 RSID<sup>TM</sup>-Blood는 'T'위치의 라인을 'C'와 비교

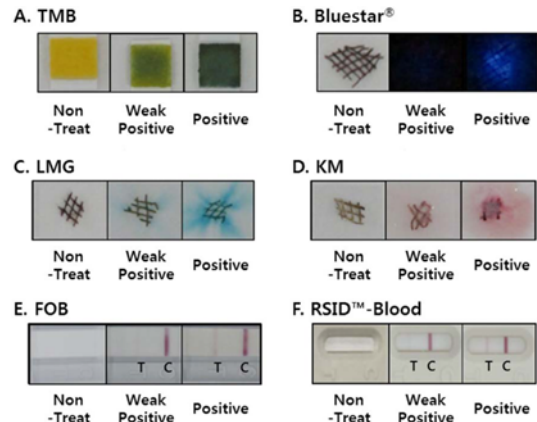


Fig. 1. The criteria for the determination of positive reactions used in this study. In E and F, the right (C) is the control line and left (T) is the test line.

하여 양성(positive)반응, 약한 양성(weak positive)반응, 음성(negative)반응으로 분류하였다. 약한 양성(weak positive)는 양성 대조군과 비교하여 매우 희미하게 식별되는 결과를 의미한다.

## 3. 결과

각 연도별 시료를 대상으로 혈청학적 식별법을 수행한 결과를 Fig. 2에 제시하였다. 여섯 가지 혈액 식별법은 양성 대조군과 음성 대조군을 수행하여 사용한 시약이 제조상의 오류가 없음을 확인하였다. 실험 결과, 1988년부터 2011년의 총 100개의 시료에 대해 예비시험인 TMB, Bluestar<sup>®</sup>, LMG, KM 모두 양성으로 반응한 반면, 확증시험인 FOB와 RSID<sup>TM</sup>-Blood에서는 2001년 이전의 일부 시료에서 음성반응이 관찰되었다.

### 3.1. 예비시험

네 가지 예비시험을 1988년부터 2011년까지의 100개 시료에 수행한 결과 모두 양성(positive)반응으로 판정되었다. 특히 TMB 시험의 경우 제조사의 판독 기준표에 제시된 것 보다 강한 양성반응의 색(dark blue) 변화가 관찰되었다. Bluestar<sup>®</sup> 시험 또한 모든 시료에서 Bluestar<sup>®</sup> 시약 처리 후 청색발광이 나타나는 양성반응으로 판정되었다. 하지만 2002년부터 2011년의 시료에서는 처리 후 즉시 강한 발광이 나타난 반면, 2001년 이전 시료에서는 약한 발광(weak positive)이 다수 관찰되었다(1988년 5개, 1989년 5개, 1992년

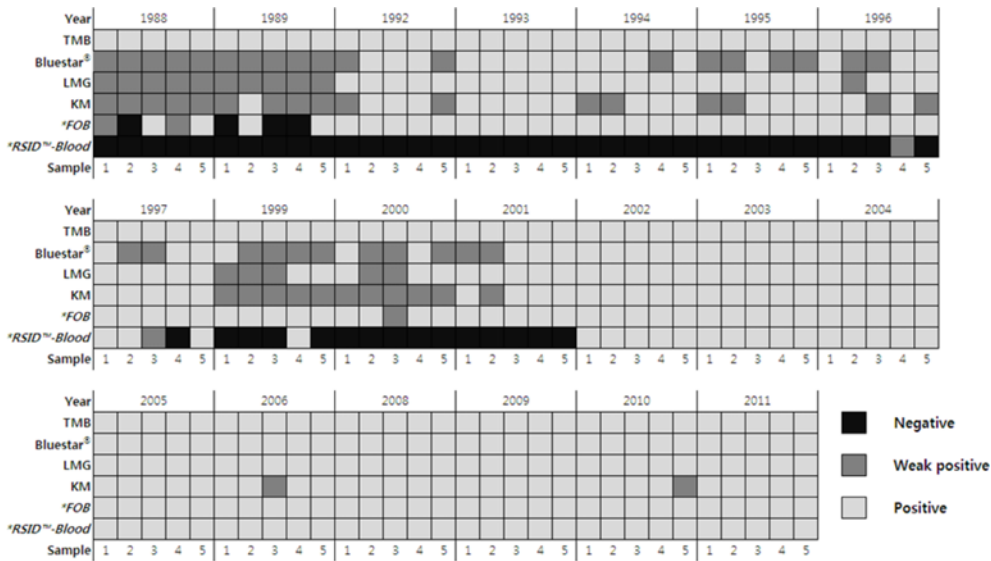


Fig. 2. Results of the serological detection methods. Each square indicates the result for each sample. \* : confirmatory test.

2개, 1994년 1개, 1995년 4개, 1996년 2개, 1997년 2개, 1999년 4개, 2000년 3개, 2001년 2개). 그리고 1997년 이전 시료에서는 시약을 처리하고 약 수초가 지연된 후에 발광이 나타났다. LMG와 KM 시험 수행 결과 또한 1988년부터 2011년까지의 100개 시료에서 모두 LMG와 KM 시약만을 처리하였을 때는 색 변화가 없었으며, 이후 산화제인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분주하였을 때 즉시 발색 반응이 확인되었다. 하지만 두 시험 모두 2001년 이전의 일부 시료에서는 발색 정도가 매우 약하게 나타나는 약한 양성반응을 보였다(LMG: 1988년 5개, 1989년 5개, 1996년 1개, 1999년 3개, 2000년 2개, KM: 1988년 5개, 1989년 4개, 1992년 2개, 1994년 2개, 1995년 2개, 1996년 2개, 1999년 5개, 2000년 5개, 2001년 1개).

3.2. 확증시험

FOB 시험은 1988년 1개, 1989년 3개 시료에서 ‘C’에만 라인이 보이는 음성(negative)반응으로 판정되었으며, 2000년 1개 시료에서 ‘T’의 라인이 매우 희미하게 나타나는 약한 양성반응으로 판정되었으나, 이 외 모든 시료에서 ‘C’와 ‘T’에 라인이 보이는 양성반응으로 판정되었다. 반면에 RSID™-Blood 시험은 1988년부터 1995년까지 30개, 1996년 4개, 1997년 1개, 1999년 4개, 2000년 5개, 2001년 5개 시료에서 음성반응으로 판정되었으며, 1996년 1개, 1997년 1개 시료에서 약한 양성반응이 판정되었으나, 이 외 2002년 이후 시

료부터는 모두 양성반응으로 판정되었다. 따라서 RSID™-Blood의 양성 판정율(51%)와 비교하여 FOB의 양성 판정율(96%)이 확연히 높음을 알 수 있었다.

4. 고찰

현재 과학수사 기법들은 매우 빠르게 발전하고 있으며, 일부 선진국에서는 공소시효가 점차 폐지되면서 발전된 법과학 기술을 이용하여 장기 미제사건을 해결하고자 노력하고 있다. 현재 우리나라는 2015년 7월 31일에 살인사건의 공소시효가 폐지되어 과거 미제 사건의 증거물이 의뢰되고 있다. 장기미제사건 해결에서 결정적 요소가 무엇인가에 대한 조사에 따르면, DNA 분석을 통한 증거자료 확보가 21.3%로 가장 높게 나타났다.<sup>18</sup> DNA 분석을 위해서는 증거물에서 DNA가 있을만한 부위를 찾는 단계가 먼저 수행되므로 적절한 체액 식별법을 선택하는 것이 중요하다.

본 연구에서는 1988년부터 2011년 사이에 채취되어 거즈에 점적한 후 건조된 상태로 보관된 부검 혈액을 사용하여 오래된 혈흔 시료에 대한 혈청학적 혈액 예비시험 및 확증시험의 유효성을 비교하였다. 본 연구 결과에 따르면 예비시험의 경우 일부 시료(2001년 이전 시료)에서는 약한 양성반응을 보여 반응 정도의 차이는 있으나 결과적으로 30년 이상 경과된 시료에서도 모두 양성반응으로 나타나 충분히 오래된 시료에서도 적용이 가능함을 알 수 있었다. 하지만 약 17년

이 경과된 시료에서는 양성반응이 약하게 나타나는 것으로 보아, 시료의 초기 상태, 보관 온도, 기간, 조건 등에 의해서 생물학적 물질이 분해되었을 가능성이 높다.

또한 이들 예비시험을 현장증거물과 같이 매우 다양한 환경에서 유래된 증거물에 적용할 때엔 여러 주의사항이 필요할 것으로 생각된다. 혈액 존재 시 발광이 나타나는 **Bluestar**<sup>®</sup>는 육안으로 혈흔의 식별이 어려운 증거물에서 혈흔의 유무를 확인하기 위한 선별 검사로 유용할 수 있다.<sup>11</sup> 그러나 본 연구 결과에 따르면 약 20년 이상 된 시료에서는 발광 반응이 지연되어 나타날 수 있으므로 실제 증거물에 사용할 때 결과 판정에 신중한 주의가 기울여져야 한다. LMG와 KM 시험은 생체 시료에 시약을 바로 처리하게 되면 DNA 수율이 낮아진다는 보고가 있다.<sup>12</sup> 오래된 증거물의 경우 긴 보관 시간에 의해 DNA 또한 손상되었을 가능성이 있으므로 이들 방법을 사용할 때에는 특별한 주의가 필요할 것이다.

본 연구에서 수행한 두 가지 확증시험은 네 가지 예비시험과 달리 일부 시료에서는 음성반응을 보였다. 오래된 혈흔 시료에서 예비시험의 감도가 확증시험보다 대체로 높은 이유는 원리적 특성의 차이로 생각된다. 본 연구에서 사용된 예비시험은 특정 기질과의 산화-환원반응에 기반한 화학적 반응이고, 확증시험은 특정 단백질을 이용한 면역학적 반응이다. 오랜 보관 기간에 따른 단백질의 변성 및 분해는 확증시험의 감도를 감소시켰을 것으로 사료된다. 하지만 위양성이 많이 나타나는 예비시험에 비해 확증시험은 정확성이 높다는 장점이 있으므로 혈액 식별에서 보다 정확한 결과를 얻기 위해선 예비시험뿐만 아니라 확증시험을 동반하여 수행하여야 한다.<sup>19</sup>

확증시험의 결과에서는 FOB가 **RSID**<sup>TM</sup>-Blood보다 높은 감도를 보였는데 이는 오래된 시료에서는 GAP를 항원으로 하는 **RSID**<sup>TM</sup>-Blood보다 헤모글로빈을 항원으로 하는 키트가 더 효과적이라고 보고된 연구 결과와 일치한다.<sup>15</sup> 이러한 두 시험법의 차이는 각 키트에서 검출하는 항원 단백질의 양과 적혈구에서의 위치에 기인한 것으로 생각된다. 일반적으로 한 개의 적혈구에 GPA는  $5 \times 10^5 \sim 10 \times 10^5$ 개 존재하는<sup>20</sup> 반면 헤모글로빈은 3억개 정도 존재하여<sup>21</sup> 이러한 양적인 차이가 키트의 감도에 영향을 주었을 것으로 추론된다. 또한 헤모글로빈은 적혈구 세포 내에 존재하는 단백질이나, GPA는 적혈구의 막단백질이며 세포 바깥으로 존재하는 구조를 취하고 있어 외부환경에 의한 생물

학적 분해와 변성에 보다 취약할 가능성이 높다.<sup>20</sup> 두 가지 확증 시험법에서 나타난 결과의 차이는 각 키트에서 검출하는 단백질의 양적 차이 및 분해와 변성 정도의 차이 등이 영향을 미쳤을 가능성이 있으나 이는 추후 더욱 세부적인 연구가 필요하다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 장기간 보관되어 온 혈흔을 대상으로 여섯 가지 혈액 식별법의 유효성을 비교하였다. 연구 결과에 의하면 30년이 경과된 혈흔에서도 네 가지 혈액 예비시험은 유효한 결과를 얻을 수 있었으나, 약 17년이 경과된 시료에서는 **Bluestar**<sup>®</sup>, LMG, KM 시험을 수행하였을 때 약한 양성반응이 나타날 수 있음을 확인하였다. 약 17년 이상이 경과된 혈흔에서는 확증 시험을 수행할 때 음성반응이 나타날 수 있으며, 2가지 확증시험 중 FOB 시험이 **RSID**<sup>TM</sup>-Blood 시험보다 오래된 혈흔을 보다 더 잘 검출할 수 있음을 알 수 있었다. 오래된 증거물에서 혈액 식별법을 수행할 때 예비시험의 경우 반응이 지연되거나 약한 양성반응이 나올 수 있고, 확증시험에서도 위음성(false negative)이 나올 수 있으므로 판정 시 주의가 요구된다.

본 연구 결과를 종합하면 오래된 증거물의 경우 보관되어 온 기간에 따라 검출 대상이 되는 생물학적 물질이 손상 받을 수 있으며, 이것이 혈액 식별시험 시 음성반응을 나타나게 할 수 있음을 확인하였다. 오래된 증거물에서 혈흔으로 추정되는 흔적이 있을 때 적절한 혈액 식별법의 선택과 법과학적 감정에 유용한 배경지식을 제공할 것으로 기대한다.

#### 감사의 글

이 논문은 행정안전부 주관 국립과학수사연구원 중장기과학수사감정기법연구개발(R&D) 사업의 지원을 받아 수행한 연구임(2018-유전자-02).

#### References

1. K. Virkler and I. K. Lednev, *Forensic Sci. Int.*, **188**, 1-17 (2009).
2. H. Y. Lee, K.-J. Shin, and W. I. Yang, *Korean J. Leg. Med.*, **33**, 84-88 (2009).
3. J. H. An, K.-J. Shin, and W. I. Yang, *BMB Rep.*, **45**(10), 545-553 (2012).

4. L. Kobilinsky, 'Forensic Chemistry Handbook', John Wiley&Sons, New Jersey, 2011.
5. 한면수, 과학수사와 증거재판에서 DNA프로필의 역할, 경찰학연구 제4호, 경찰대학, 173-269 (2003).
6. R. Li, 'Forensic Biology', 2nd Ed., Boca Raton, 2008.
7. J. Siegel and P. Saukko, 'Encyclopedia of Forensic Sciences', 2nd ed., London, 2012.
8. R. Saferstein, 'Forensic Science Handbook', Vol. 2, New Jersey, 1988.
9. L. J. Blum, P. Esperanca, and S. Rocquefelte., *Can. Soc. Forensic Sci. J.*, **39**, 81-100 (2006).
10. J. L. Webb, J. I. Creamer, and T. I. Quichenden., *Luminescence*, **21**(4), 214-220 (2006).
11. M. vandewoestyne and T. lepez., *J. Forensic Sci.*, **60**(3), 707-711 (2015).
12. S. S. Tobe, N. Watson, and N. N. Daeid, *J. Forensic Sci.*, **52**(1), 102-109 (2007).
13. E. Johnston, C. E. Ames, K. E. Dagnall, and J. Foster., *J. Forensic Sci.*, **53**(3), 687-689 (2008).
14. S. K. Lim, K. W. Park, and S. K. Choi., *Anal. Sci. & Technol.*, **17**, 211-216 (2004).
15. I. horjan, L. Barbaric, and G. Mrsic., *J. Forensic Leg Med.*, **38**, 101-105 (2016).
16. S. Turrina and G. Filippini., *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series*, **1**, 74-75 (2008).
17. H. C. Lee, T. Palmbach, and M. T. Miller. 'Henry Lee's Crime scene handbook. '1st Ed., London, 2001.
18. 김택수, 황문규, 김슬기, '중요강력범죄 장기미제사건 수사를 위한 효율적 제도 연구', 경찰청 용역연구보고서, 2013.
19. Claudia Gomes, Cesar Lopez-Matayoshi, Sara Palome-Diez, Ana Maria Lopez-Parra, Pedro Cuesta-Alvaro, Carlos Baeza-Richer, Juan F. Gibaja, and Eduardo Arroyo-Pardo, *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Series*, **6**, e546-e548 (2017).
20. Blanchard, D., *Transfus. Med. Rev.*, **4**(3), 170-186 (1990).
21. S. Alters, 'Biology: Understanding Life', 3rd Ed., Jones & Bartlett Learning, Massachusetts, (2000).

---

#### Authors' Positions

Minji Lee	: Research Scientist
Eu-Ree Ahn	: Research Scientist
Da-Hye Kim	: Research Scientist
Heejin Shin	: Research Scientist
Ju Yeon Jung	: Research Scientist
Sung-Jin Lee	: Research Scientist
Byung-Won Chun	: Division Director