

DOI: <https://doi.org/10.17816/fm678>

«Быстрая ДНК» — перспективы судебно-экспертного исследования ДНК с использованием генетических анализаторов полного цикла

Е.Ю. Земскова¹, Н.Р. Соколова¹, С.В. Исупов², П.Л. Иванов¹¹ Российский центр судебно-медицинской экспертизы, Москва, Российская Федерация² ООО «Лабиндекс», Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Технология «быстрой ДНК» в перспективе станет оперативной и высокоэффективной процедурой судебно-экспертного молекулярно-генетического исследования, направленного на получение генетической информации о принадлежности биологического материала конкретному лицу.

Цель исследования. Работа представляет собой часть комплексных исследований, проводимых ФГБУ РЦСМЭ Минздрава России, конечной целью которых является развитие новых высокоэффективных технологий молекулярно-генетической индивидуализации и внедрение их в сферу деятельности отечественной судебно-медицинской экспертизы.

Материал и методы. Методической основой работы является генотипирование полиморфных STR-локусов хромосомной ДНК (анализ полиморфизма длины амплифицированных фрагментов хромосомной ДНК) в объектах биологической природы с помощью высокотехнологичных автоматизированных генетических анализаторов полного цикла. В настоящей работе использованы станции IntegenX RapidHIT 200 (IntegenX, США) и RapidHIT ID (Thermo Fisher-IntegenX, США).

Результаты. В качестве валидационных тест-объектов, которые были проанализированы с помощью автоматизированных генетических анализаторов полного цикла, исследованы образцы буккального эпителия и крови как наиболее распространённые в судебно-медицинской практике. Далее были выполнены эксперименты с реальными объектами экспертного исследования: в качестве тест-образцов были исследованы сигаретные окурки, волосы, ногти, кости, жевательная резинка, смывы биоматериала с различных поверхностей. Полученные экспериментальные данные пригодны для судебно-экспертного молекулярно-генетического идентификационного анализа.

Заключение. На основании полученных данных можно констатировать, что технология «быстрой ДНК», реализованная в автоматизированных генетических анализаторах полного цикла, в целом отвечает представлению о целесообразности её внедрения в судебно-экспертную практику ДНК-идентификации.

Ключевые слова: молекулярно-генетическая судебная экспертиза; технология «быстрой ДНК»; генетический анализатор полного цикла RapidHIT 200/RapidHIT ID.

Как цитировать

Земскова Е.Ю., Соколова Н.Р., Исупов С.В., Иванов П.Л. «Быстрая ДНК» — перспективы судебно-экспертного исследования ДНК с использованием генетических анализаторов полного цикла // *Судебная медицина*. 2021. Т. 7, № 4. С. 29–38. DOI: <https://doi.org/10.17816/fm678>

DOI: <https://doi.org/10.17816/fm678>

“Rapid DNA” — new horizons of forensic DNA profiling using full cycle genetic analyzers

Elena Yu. Zemskova¹, Natalia R. Sokolova¹, Sergey V. Isupov², Pavel L. Ivanov¹

¹ Russian Centre of Forensic Medical Expertise, Moscow, Russian Federation

² Limited Liability Company “LABINDEX”, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: The study is a part of a comprehensive research conducted at the Russian Center of Forensic Medical Expertise of the Ministry of Health of the Russian Federation with the ultimate goal of development and implementation of new effective technologies for molecular genetic identity testing and kinship analysis in the realm of national forensic expertise.

AIMS: The objective of the study is to evaluate the possibilities of the “Rapid DNA” technology in application to forensic DNA analysis. One may expect that this technology in the future will ensure the creation of an operational and highly effective procedure for forensic DNA profiling.

MATERIAL AND METHODS: The methodical basis of the work is the genotyping of polymorphic STR-loci of chromosomal DNA in biological material using high-tech fully automated (full cycle) analytical platform RapidHIT: namely, RapidHIT 200 (Integenx, USA) and RapidHIT-ID (Life Technologies/Thermo Fisher, IntegenX (USA) instruments.

RESULTS: Buccal epithelium and blood samples, while being the most common in a forensic DNA testing, have been examined as a validation test objects. Then experiments were carried out with real expert material such as cigarette butts, hair, nails, bones, chewing gum; swabs from different surfaces were examined as test samples as well.

CONCLUSIONS: Based on the data obtained, it can be stated that the Rapid DNA technology as it is implemented in the full-cycle genetic analyzers IntegenX RapidHIT 200 (Integenx, USA) and RapidHIT ID (Thermo Fisher, IntegenX, USA), according to the criteria studied, in general supports the idea of to be introduced into the practice of forensic DNA analysis.

Keywords: forensic DNA identity testing; forensic DNA kinship analysis; Rapid DNA; genetic analyzer RapidHIT 200/RapidHIT ID.

To cite this article

Zemskova EYu, Sokolova NR, Isupov SV, Ivanov PL. “Rapid DNA” — new horizons of forensic DNA profiling using full cycle genetic analyzers // *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2021;7(4):29–38. DOI: <https://doi.org/10.17816/fm678>

Received: 16.12.2021

Accepted: 31.01.2022

Published: 21.02.2022

ОБОСНОВАНИЕ

Совершенствование и повышение эффективности молекулярно-генетических методик представляет очевидный интерес для судебных и следственных органов, поскольку на сегодняшний день это наиболее доказательные методы исследования биологических объектов при производстве судебно-медицинской экспертизы. В последнее время одной из горячих точек в этом направлении стала разработка технологии так называемой «быстрой ДНК» (rapid DNA) — вида судебно-экспертного анализа ДНК, осуществляемого с применением высокотехнологичных автоматизированных генетических анализаторов полного цикла, которые обеспечивают выполнение полного набора необходимых аналитических процедур с минимальным участием эксперта.

Это понятно: в настоящее время для выполнения судебной молекулярно-генетической экспертизы необходимы специально оборудованные лабораторные помещения, высококвалифицированный персонал и целый парк специализированной аппаратуры. Сам процесс предусматривает множество этапов, и на каждом этапе требуется участие экспертов и лаборантов. При этом всегда, особенно при большом объёме работы, имеется риск человеческой ошибки. Меры по снижению этого риска приводят к дополнительным материальным затратам и увеличению сроков производства экспертизы. Преодоление этих негативных моментов стало побудительным мотивом разработки технологических подходов и технических решений, которые могли бы упростить и одновременно сделать более надёжным процесс извлечения генетической информации из объектов биологической природы.

Очевидно, что достигнуть желаемой цели можно путём минимизации участия в этом процессе человека. В результате на рынке лабораторного оборудования появилось несколько высокоспециализированных аналитических платформ, воплотивших в себе принцип «быстрой ДНК» и предназначенных для решения на новом уровне задач судебной молекулярно-генетической экспертизы. Отличительной чертой этих инструментов является полная автоматизация всего процесса генотипирования — от первичной обработки исходного объекта до получения конечного результата.

Концепция «быстрой ДНК» была впервые сформулирована в 2010-х [1, 2]. Сейчас технология «быстрой ДНК» всё ещё имеет статус экспериментальной, однако накопленный положительный зарубежный опыт [3–6] заставляет задуматься о её внедрении в нашей стране.

Цель исследования — валидационное изучение возможностей технологии «быстрой ДНК» применительно к судебно-экспертным молекулярно-генетическим

исследованиям на примере использования аппаратно-программных комплексов полного цикла семейства RapidHIT: RapidHIT 200 (IntegenX, США) и RapidHIT-ID (Life Technologies/Thermo Fisher-IntegenX, США).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Одноцентровое, интервенционное, одномоментное пилотное исследование.

Условия проведения

Исследование выполнено в 2018–2020 гг. на базе отдела молекулярно-генетических экспертиз ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России (РЦСМЭ). Автоматизированная рабочая станция полного цикла RapidHIT 200 (IntegenX, США) была предоставлена в РЦСМЭ на апробацию компанией ООО «Альгимед» (Россия) — официальным представителем компании-производителя IntegenX на территории Российской Федерации.

Методы исследования

Начальный этап работы был нацелен на изучение возможностей и недостатков одной из первых моделей автоматизированных генетических анализаторов — рабочей станции полного цикла RapidHIT 200 (IntegenX, США). Поскольку формат оригинальной статьи не даёт возможности подробно вникнуть в схему и принцип работы устройства¹, мы ограничимся лишь необходимым кратким описанием.

RapidHIT 200 позволяет анализировать до 7 образцов одновременно. Используемые наборы реагентов представляют собой одноразовые картриджи, содержащие все необходимые компоненты для выделения ДНК, ПЦР-амплификации и капиллярного электрофореза, а также ёмкости для загрузки исследуемых образцов. Разовый запуск состоит из двух картриджей, в каждом из которых имеется по 4 камеры для образцов. Исходные биологические объекты, например образцы крови на специальных картах-носителях, проводят через процедуру пробоподготовки, которая в данном случае сводится к приготовлению вырезок заданного размера. Эти вырезки затем помещают в камеры в операционном картридже. После запуска системы все процессы осуществляются автоматически, без участия пользователя, с применением предусмотренных протоколов. Длительность рабочего цикла менее 2 ч.

RapidHIT 200 способна работать с тремя мультиплексными панелями: NGM Select (Life Technologies, США), PowerPlex 16HS (Promega, США) и GlobalFiler Express (Life

¹ Rapid DNA Solutions — Because Every Minute Counts [Internet]. ThermoFisher Scientific. Режим доступа: <https://www.thermofisher.com/ru/ru/home/industrial/forensics/human-identification/forensic-dna-analysis/dna-analysis/rapidhit-id-system-human-identification.html?cid=fl-WE42547>. Дата обращения: 15.10.2021.

Technologies, США). Анализ данных производится с помощью штатного программного обеспечения GeneMarker HID (SoftGenetics, США); результат читается на встроенном сенсорном экране. Процессированные данные оказываются совместимыми с различными базами данных и другим программным обеспечением для анализа файлов типа «.fsa» или «.hid» (например, GeneMapper ID-X, Life Technologies, США).

Для изучения особенностей генотипирования биологических объектов с применением автоматизированной рабочей станции полного цикла RapidHIT 200 (IntegenX, США) в качестве валидационных тест-объектов были выбраны образцы буккального эпителия и образцы крови как наиболее распространённые в судебно-медицинской практике. В последнем случае тестирование предполагалось проводить в нескольких вариантах, используя для постановки эксперимента участки предмета-носителя разной насыщенности и площади — от стандартной минивырезки (punch) диаметром 1,2 мм до макровырезок площадью от 9 до 144 мм². Далее по аналогичной схеме планировалось выполнить эксперименты с реальными объектами экспертного исследования. Для этого в качестве тест-образцов использовали сигаретные окурки, волосы, жевательную резинку, смывы биоматериала с различных поверхностей.

Второй этап работы приурочен к тому моменту, когда модельный ряд генетических анализаторов полного цикла семейства RapidHIT расширился, и в дополнение к модели RapidHIT 200 появилась новая усовершенствованная аналитическая платформа «быстрой ДНК» — автоматический генетический анализатор RapidHIT ID (Life Technologies/Thermo Fisher-IntegenX, США), в связи с чем дальнейшая работа в рамках выполняемой НИР была переориентирована на использование этой новой модели рабочей станции.

Технологический принцип работы станции RapidHIT ID такой же, как и станции RapidHIT 200, — генотипирование полиморфных STR-локусов хромосомной ДНК. Система состоит из основного блока; одноразовых картриджей, содержащих все необходимые компоненты для экстрагирования ДНК, её последующей амплификации и электрофоретического фракционирования амплифицированных продуктов; встроенного программного обеспечения. Для генотипирования используется высокотехнологичная мультиплексная аналитическая панель GlobalFiler Express (Life Technologies, США): возможно также использование панели AmpFLSTR NGM SElect Express этого же производителя. Основное функциональное отличие заключается в ограничении самостоятельного пользовательского выбора аналитического протокола: тот или иной тип картриджа (на сегодняшний день имеются два типа) строго предопределяет выбор одного из предустановленных рабочих циклов, оптимизированных для работы

с референтными образцами или иными объектами. Второе отличие — анализ электрофореграмм с помощью того же штатного программного обеспечения GeneMarker HID (SoftGenetics, США) позволяет осуществлять последующий импорт данных в аналитическое ПО RapidLink (IntegenX-Life Technologies, США) для выполнения расширенного сравнительного анализа генотипов².

Исходя из того, что основная задача всего исследования — это изучение функциональных возможностей технологии «быстрой ДНК» в применении к объектам судебно-экспертного исследования, на втором этапе работы в качестве приоритетной была поставлена задача оценить на количественном уровне разрешающую способность аналитической платформы RapidHIT ID, а именно возможность разделять амплифицированные фрагменты ДНК с разницей в длине равной *одному* нуклеотиду.

Этическая экспертиза

Проект научного исследования рассмотрен и одобрен на заседании локального этического комитета ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России от 03.12.2021 (протокол No5).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результатом первого этапа работы стали полученные полные генетические профили для всех взятых на исследование валидационных образцов. Все эксперименты выполнялись с использованием в качестве основного и предпочтительного варианта мультиплексной панели RapidHIT GlobalFiler Express Kit (Life Technologies, США), которая относится к последнему поколению аналитических STR-панелей и позволяет проводить генотипирование сразу 24 полиморфных локусов хромосомной ДНК. Репрезентативные данные (электрофореграммы) приведены на рис. 1.

Важно отметить, что эти данные оказались полностью сопоставимыми с результатами генотипирования, полученными по традиционной технологии. Этот вывод явился результатом отдельной аналитической работы: два одинаковых биологических образца от одного и того же человека (использовали заведомо известные данные биологических образцов из архива проведенных экспертиз) были генотипированы параллельно — один по технологии «быстрой ДНК» с использованием станции RapidHIT 200, второй — по традиционной многоэтапной схеме судебно-экспертного анализа ДНК: экстрагирование и очистка генетического материала / оценка матричной активности ДНК в полученном препарате / постановка мультиплексной ПЦР / электрофоретическое фракционирование амплификационных продуктов. Результаты генотипирования, одинаковые во всех гомологичных локусах, представлены на рис. 2.

² Rapid DNA Solutions — Because Every Minute Counts [Internet]. ThermoFisher Scientific. Режим доступа: <https://www.thermofisher.com/ru/ru/home/industrial/forensics/human-identification/forensic-dna-analysis/dna-analysis/rapidhit-id-system-human-identification.html?cid=fl-WE42547>. Дата обращения: 15.10.2021.

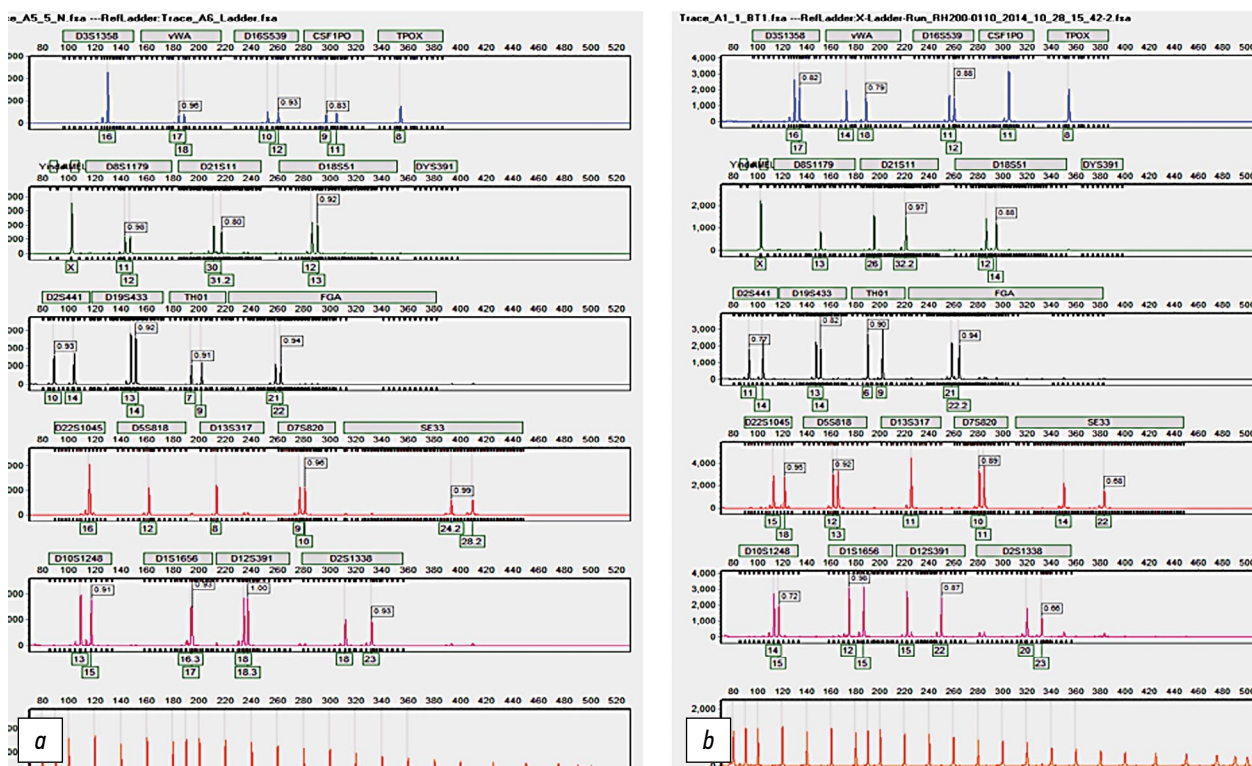


Рис. 1. Генетические профили (электрофореграммы), полученные при помощи генетического анализатора RapidHIT 200: *a* — образец буккального эпителия на стандартном аппликаторе; *b* — образец крови на бумажном носителе (вырезка Ø 1,2 мм).

Fig. 1. Analytical electropherograms obtained with RapidHIT 200: *a* — dried buccal swab on standard applicator; *b* — dried blood sample deposited on paper card (punch Ø 1,2 mm)

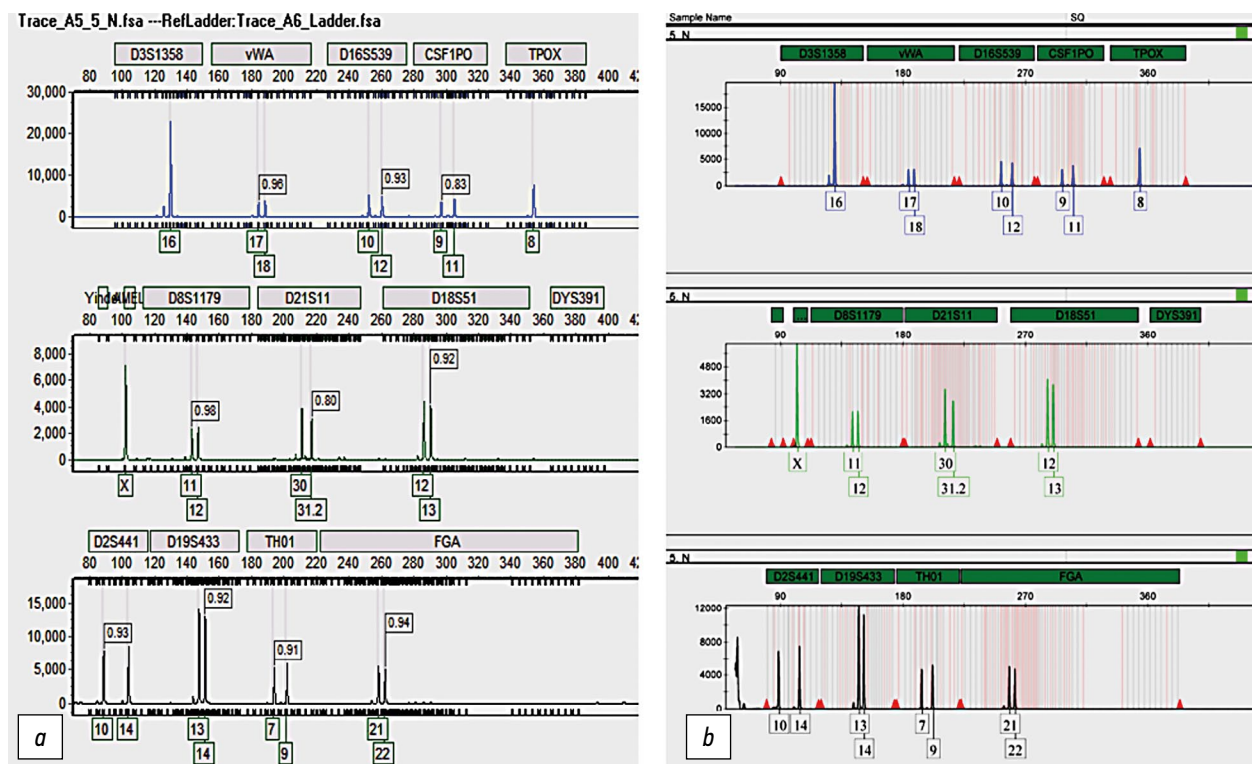


Рис. 2. Генетические профили (фрагмент электрофореграммы), полученные для одного и того же образца буккального эпителия с использованием генетического анализатора полного цикла RapidHIT 200 (*a*) и по стандартной процедуре генотипирования с использованием генетического анализатора ABI 3500 (*b*).

Fig. 2. Analytical electropherograms (a partial image is shown) obtained for the two samples of the same buccal swab: *a* — with RapidHIT 200; *b* — with ABI 3500 (through standard DNA profiling procedure).

Таблица. Репрезентативные данные для RapidHIT 200

Table. Representative data for RapidHIT 200

Маркер	Аллели	Сигнал (среднее значение)	Дисбаланс пиков
D3S1358	14,16	2189	0.86
vWA	16,18	382	0.97
D16S539	9,11	967	0.86
CSF1PO	10,12	557	0.92
TPOX	8,9	1010	0.96
Amel	X	927	-
D8S1179	12,14	220	0.95
D21S11	28,29	651	0.90
D18S51	16,18	604	0.96
D2S441	12,14	2412	0.94
D19S433	14,14	9130	-
TH01	9.3,10	2085	0.85
FGA	20,23	2855	0.99
D22S1045	16,16	3295	-
D5S818	12,13	704	0.98
D13S317	9,10	787	0.65
D7S820	9,12	2150	0.97
SE33	27.2,27.2	4810	-
D10S1248	13,14	2249	0.95
D1S1656	14,18.3	707	0.63
D12S391	18,19	1416	0.77
D2S1338	17,18	1120	0.90
Среднее значение		1874	0.89

Сопоставимыми оказались также величины среднего значения уровня детектируемого сигнала и дисбаланса пиков для гетерозиготных генотипов. Репрезентативные данные для RapidHIT 200 приведены в таблице.

Далее по такой же схеме были выполнены эксперименты с реальными объектами экспертного исследования: в качестве тест-образцов были взяты сигаретные окурки, волосы, жевательная резинка, смывы биоматериала с различных поверхностей. В последнем случае целью была оценка возможности работы с так называемыми контактными следами, остающимися на поверхности предметов в результате их физического взаимодействия с телом человека, как модель применения методики «быстрой ДНК» для анализа подобных объектов в экспертной практике, а также для мониторинга контаминации рабочих поверхностей и оборудования в лаборатории. В ходе этого эксперимента положительные результаты с качественными генетическими профилями (средняя интенсивность сигналов 486–2500 RFU) были получены, в том числе, для смывов с двух кофейных чашек и с руля автомобиля. Полученные результаты генотипирования выборочно представлены на рис. 3.

Отмечаем, что установленные генотипические профили полностью совпали с генотипом индивидуумов, которые контактировали с данными предметами, что можно

расценивать как независимое подтверждение истинности полученной генетической информации.

В связи с тем, что в 2019 г. модельный ряд генетических анализаторов полного цикла семейства RapidHIT был расширен, и в дополнение к модели RapidHIT 200 была выпущена новая усовершенствованная аналитическая платформа «быстрой ДНК» — автоматический генетический анализатор RapidHIT ID (Life Technologies/Thermo Fisher-IntegenX, США), дальнейшая работа в рамках выполняемой НИР была переориентирована на использование этой новой модели рабочей станции.

Исходя из того, что основная цель настоящего исследования — это изучение применительно к объектам судебно-экспертного исследования функциональных возможностей технологии «быстрой ДНК» (которая в изучаемом нами частном случае реализована в генетических анализаторах RapidHIT), в качестве приоритетной была поставлена задача оценить на количественном уровне разрешающую способность аналитической платформы RapidHIT ID, а именно возможность разделять (дифференцировать) амплифицированные фрагменты ДНК с разницей в длине равной *одному* нуклеотиду.

С целью удостовериться, что генетический анализатор полного цикла RapidHIT ID отрабатывает требуемый аналитический уровень точности, были генотипированы три биологических образца от трёх индивидуумов

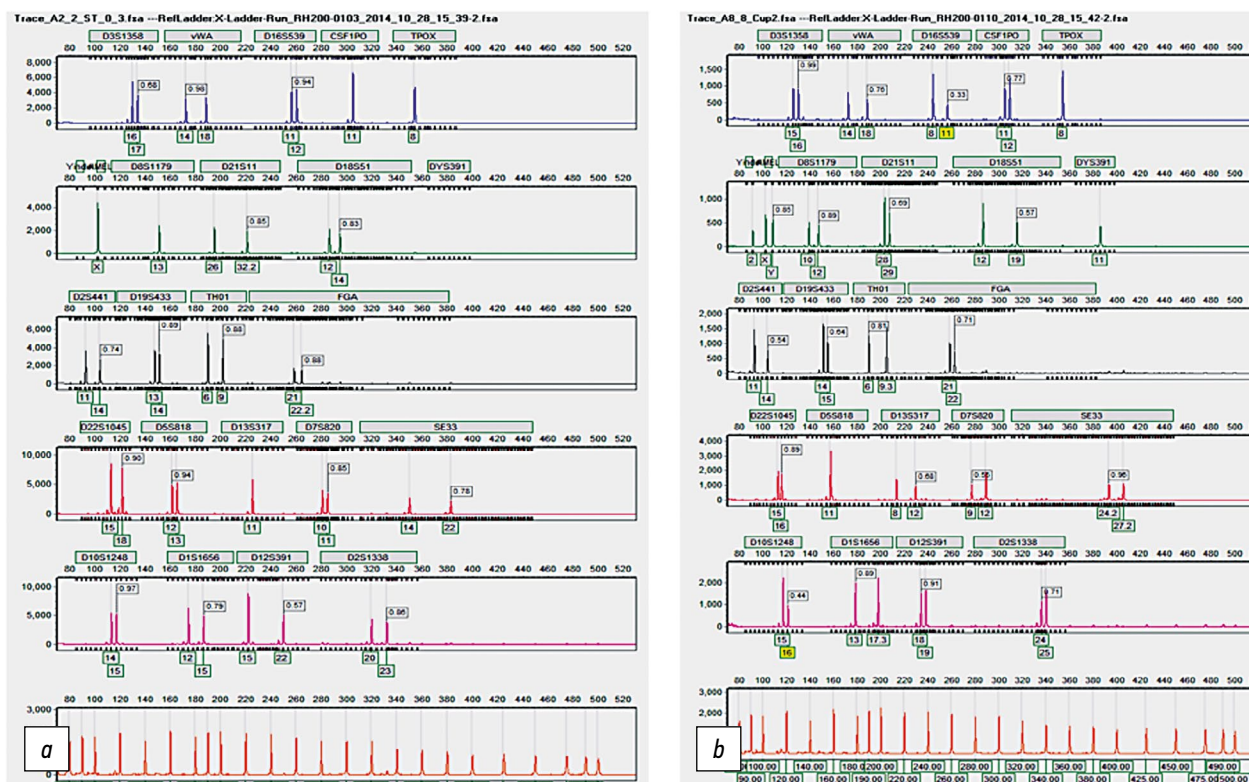


Рис. 3. Генетические профили (электрофореграммы), полученные с использованием генетического анализатора RapidHIT 200: *a* — биологические следы на окурке сигареты; *b* — биологические следы на крае кофейной чашки.

Fig. 3. Analytical electropherograms obtained with RapidHIT 200: *a* — cigarette butt; *b* — swab from the edge of a coffee cup.

(использовали заведомо известные данные биологических образцов из архива проведенных экспертиз) имеющих в своих генотипических характеристиках аллельные пары с однонуклеотидными различиями в размерах аллельных вариантов, а именно *D1S1656* {15.3 ; 16.3 ; 17} и *TH01* {9.3 ; 10}. Дополнительно был исследован ещё один образец с непредставленной в штатном маркере аллельной парой *D12S391* {19.3 ; 20}. Параллельно было выполнено генотипирование этих

же объектов по традиционной многоэтапной схеме судебно-экспертного молекулярно-генетического анализа хромосомной ДНК.

Репрезентативные данные генотипирования одного из таких образцов — с генотипической аллельной парой *D1S1656* {16.3 ; 17} — по технологии «быстрой ДНК» с использованием станции RapidHIT ID представлены на рис. 4 (а). Для сравнения, на рис. 4 (b) представлен результат генотипирования того же самого тест-объекта

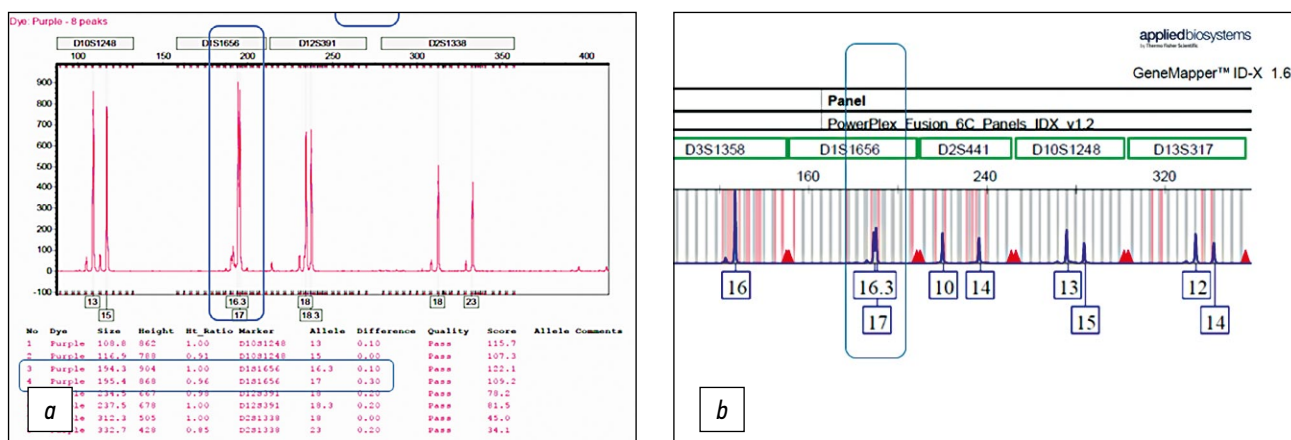


Рис. 4. Генетические профили (фрагмент электрофореграммы), полученные для одного и того же тест-объекта (образец крови) с генотипической аллельной парой *D1S1656* {16.3 ; 17} с использованием генетического анализатора полного цикла RapidHIT ID (а) и по стандартной процедуре генотипирования с использованием генетического анализатора ABI 3500 (b).

Fig. 4. Analytical electropherograms (a partial image is shown) obtained for the same blood sample with the genotype *D1S1656* {16.3 ; 17}: *a* — with RapidHIT ID; *b* — with ABI 3500 (through standard DNA profiling procedure).

с генотипической аллельной парой *D1S1656* {16.3 ; 17} по традиционной схеме.

Дополнительные результаты исследования

Отдельно стоит отметить, что в работе с RapidHIT ID (Life Technologies/Thermo Fisher-IntegenX, США), как в случае использования генетического анализатора RapidHIT 200 (IntegenX, США), оставшийся в картридже после процессинга образец при необходимости можно использовать для повторного анализа, поскольку уровень полезного сигнала уменьшается не более чем в два-три раза. Это повышает привлекательность использования технологии «быстрой ДНК» по сравнению с традиционной.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

С помощью применения автоматизированных генетических анализаторов полного цикла RapidHIT 200 (IntegenX, США) и RapidHIT ID (Life Technologies/Thermo Fisher-IntegenX, США) были исследованы в качестве валидационных тест-объектов образцы буккального эпителия и образцы крови человека; выполнены также эксперименты с реальными объектами экспертного исследования, такими как сигаретные окурки, волосы, ногти, кости, жевательная резинка, смывы биоматериала с различных поверхностей. Достигнутые результаты оцениваются авторами как положительные в части решения поставленных валидационных задач в области технологии «быстрой ДНК» и в целом как перспективные с точки зрения их реализации в практическом направлении.

Обсуждение основного результата исследования

Основная задача настоящего исследования — это изучение функциональных возможностей технологии «быстрой ДНК» в применении к объектам судебно-экспертного молекулярно-генетического исследования. Исходя из этого, в качестве приоритетной задачи было предпринято изучение на количественном уровне разрешающей способности аналитической платформы RapidHIT ID (Life Technologies/Thermo Fisher-IntegenX, США) в плане возможности дифференцирования амплифицированных фрагментов ДНК с разницей в длине равной *одному* нуклеотиду.

Это очень важная характеристика, которая играет принципиальную роль при позиционном сопоставлении сигналов на электрофореграмме. Для адекватного сравнения амплификационных профилей требуется, чтобы применяемая аналитическая система позволяла надёжно различать аллельные варианты, отличающиеся по длине как минимум на одно повторяющееся звено (так называемый аллельный шаг). Иначе можно ошибочно признать идентичными те анализируемые фрагменты ДНК, которые на самом деле имеют близкую, но не одинаковую длину.

Для большинства используемых в качестве маркеров STR-локусов хромосомной ДНК, у которых длина

повторяющейся кор-последовательности составляет 4–5 пар нуклеотидов, «аллельный шаг» имеет такую же величину. При средней длине амплифицированных фрагментов порядка 200–400 пар нуклеотидов (п.н.) это означает, что для целей дифференцирования соседствующих аллелей применяемые на практике молекулярно-генетические индивидуализирующие тест-системы, основанные на анализе полиморфизма длины STR-локусов с варьирующим числом tandemных повторов, должны быть способны различать фрагменты ДНК, которые отличаются по длине на 1–2%. Такая разрешающая способность вполне достижима для современных систем электрофоретического фракционирования ДНК. Но это — в общем случае. В частной реальности ситуацию существенно усложняет факт наличия у некоторых STR-локусов «неканонических» аллелей, которые могут отличаться от соседних аллелей на меньшую длину, чем стандартный «аллельный шаг» в четыре нуклеотида. Так, например, в аналитической мультиплексной панели RapidHIT GlobalFiler Express Kit (Life Technologies, США) в двух из 24 используемых STR-локусов хромосомной ДНК имеются заявленные производителем (и они достаточно распространены) такие «неканонические» аллели, которые отличаются от соседних аллелей не на четыре, а всего лишь на *один* нуклеотид: это аллели 14.3, 15.3 и 16.3 в локусе *D1S1656* и аллель 9.3 в локусе *TH01*. Разница в длине между аллельными парами *D1S1656* {14.3÷15 (186÷187 п.н.)}, {15.3÷16 (190÷191 п.н.)} и {16.3÷17 (194÷195 п.н.)} составляет, соответственно, 0,53; 0,52 и 0,51%, а для аллельной пары *TH01* {9.3÷10 (205÷206 п.н.)} эта разница составляет менее 0,49% [7]. Разрешение на таком уровне способна обеспечить уже далеко не любая электрофоретическая система.

При испытательном анализе штатного аллельного маркера нами было показано, что генетический анализатор полного цикла RapidHIT ID, работающий в режиме «быстрой ДНК», способен достоверно дифференцировать указанные аллели. Тем не менее необходимо было убедиться, что требуемая дискриминирующая способность обеспечивается не только на уровне анализа поставляемого производителем специально подготовленного продукта, но и на уровне реальных объектов экспертизы.

С целью удостовериться, что генетический анализатор RapidHIT ID отрабатывает требуемый аналитический уровень точности, были генотипированы три биологических образца от трёх индивидуумов, имеющих в своих генотипических характеристиках указанные аллельные пары с однонуклеотидными различиями в размерах аллельных вариантов, и дополнительно ещё один образец с более редкой «неканонической» аллельной парой *D12S391* {19.3 ; 20 (241÷242 п.н.)}, для которой разница в длине ещё меньше — всего лишь 0,41%.

Параллельно было выполнено генотипирование этих же объектов по традиционной многоэтапной схеме судебно-экспертного молекулярно-генетического анализа хромосомной ДНК: экстрагирование и очистка генетического

материала / оценка матричной активности ДНК в полученном препарате / постановка мультиплексной ПЦР / электрофоретическое фракционирование амплификационных продуктов.

Полученные экспериментальные данные наглядно продемонстрировали высокую дискриминирующую способность аналитической платформы RapidHIT ID, реализующей технологию «быстрой ДНК»: во всех случаях в полностью автоматическом режиме была достигнута достоверная дифференциация однонуклеотидных аллелей. Такие результаты пригодны для судебно-экспертного молекулярно-генетического идентификационного анализа практически на тех же условиях, что и результаты судебно-экспертного молекулярно-генетического анализа хромосомной ДНК, выполненного по традиционной многоэтапной схеме.

Ограничения исследования

Как сказано выше, достигнутые результаты представленной работы оцениваются авторами как положительные в части решения поставленных валидационных задач в области технологии «быстрой ДНК» и в целом как перспективные с точки зрения их реализации в практическом направлении. Однако надо понимать, что это лишь начальная и самая общая оценка. Для поднятия описанного в настоящей работе лабораторного методического подхода до уровня стандартизированной экспертной процедуры неизбежно требуется проведение дополнительных, более широких и более глубоких исследований. Тогда сделанные наработки могут быть использованы для создания полноценной судебно-экспертной методики применения технологии «быстрой ДНК» для генотипирования полиморфизма амплифицированных фрагментов хромосомной ДНК человека. Авторы продолжают работу в этом направлении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ФГБУ РЦСМЭ Минздрава России в рамках утверждённых государственным заданием плановых тем НИР выполняются комплексные исследования, проводимые с конечной целью развития и внедрения новых высокоэффективных технологий молекулярно-генетической индивидуализации в сферу деятельности отечественной судебно-медицинской экспертизы. Настоящее оригинальное исследование выполнено в русле этого направления и посвящено изучению возможностей технологии «быстрой ДНК» в применении к судебно-экспертным молекулярно-генетическим исследованиям.

На основании полученных экспериментальных данных можно заключить, что технология «быстрой ДНК», реализованная в тестируемых в настоящей работе генетических анализаторах полного цикла IntegenX RapidHIT 200 (IntegenX, США) и RapidHIT ID (Thermo Fisher-IntegenX, США), а именно полностью автоматизированный аналитический алгоритм генотипирования STR-локусов

хромосомной ДНК «образец → результат», по исследованным критериям (высокая скорость анализа, необходимая высокая разрешающая способность, сопоставимость с данными генотипирования, получаемыми традиционными методами) в целом удовлетворяет требованиям, предъявляемым к современному молекулярно-генетическому судебно-экспертному инструментарию, и отвечает представлению о целесообразности её внедрения в судебно-экспертную практику ДНК-идентификации.

Можно ожидать, что эта технология в перспективе обеспечит создание оперативной и высокоэффективной процедуры судебно-экспертного молекулярно-генетического исследования, направленного на получение генетической информации о принадлежности биологического материала конкретному лицу.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Источник финансирования. Исследование выполнено на средства федерального бюджета в рамках исполнения утверждённого государственным заданием темы НИР «Оценка возможностей технологии «быстрой ДНК» для целей судебно-экспертных молекулярно-генетических исследований» (Рег. № НИОКТР АААА-А18-118020690054-6).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е.Ю. Земскова — проведение исследования и написание статьи; Н.Р. Соколова, С.В. Исапов — проведение ряда целевых экспериментов и написание статьи; П.Л. Иванов — разработка дизайна исследования, поисково-аналитическая составляющая работы и написание статьи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Благодарности. Авторы выражают благодарность лаборантам отдела молекулярно-генетических экспертиз ФГБУ РЦСМЭ Минздрава России Д.Б. Джерелиевскому, А.В. Вайману и А.В. Алябьеву за профессиональную помощь в выполнении отдельных экспериментов.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The study was funded by the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. АААА-А18-118020690054-6).

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. E.Yu. Zemskova — a contribution to the research and drafting of the manuscript; N.R. Sokolova, S.V. Isupov — a contribution to a number of targeted experiments and drafting of the manuscript; P.L. Ivanov — the development of the design of the study, the search and analytical component of the work, and drafting of the manuscript. Authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the

version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Acknowledgments. The authors are grateful to the laboratory assistants of the Department of Molecular Genetic Expertise of the Federal

State Budgetary Institution Russian Center of Forensic Medical Expertise of Ministry of Health of the Russian Federation D.B. Dzhirelievsky, A.V. Weinman, and A.V. Alyabiev for professional assistance in performing individual experiments.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hopwood A.J., Hurth C., Yang J., et al. Integrated microfluidic system for rapid forensic DNA analysis: sample collection to DNA profile // *Anal Chem*. 2010. Vol. 82, N 16. P. 6991–6999. doi: 10.1021/ac101355r
2. Liu P., Li X., Greenspoon S.A., et al. Integrated DNA purification, PCR, sample cleanup, and capillary electrophoresis microchip for forensic human identification // *Lab Chip*. 2011. Vol. 11, N 6. P. 1041–1048. doi: 10.1039/c0lc00533a
3. DiZinno J. 90 Minute DNA Profiles on a Fully Validated, Automated System // *Proc. 7th International DNA Users' Conference for Investigative Officers*, 7 Nov 2013 Interpol Headquarters, Lyon, France. 2013.
4. Gold S. RapidDNA: a game changer in the law enforcement identification stakes // *Biometric Technology Today*. 2013. N 1. P. 7–10. doi: 10.1016/S0969-4765(13)70015-8

5. LaRue B.L., Moore A., King J.L., et al. An evaluation of the RapidHIT® system for reliably genotyping reference samples // *Forensic Sci Int Genet*. 2014. Vol. 13. P. 104–111. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.06.012
6. Date-Chong M., Hudlow W.R., Buoncristiani M.R. Evaluation of the RapidHIT™ 200 and RapidHIT GlobalFiler® Express kit for fully automated STR genotyping // *Forensic Sci Int Genet*. 2016. Vol. 23. P. 1–8.
7. GlobalFiler™ and GlobalFiler™ IQC PCR Amplification Kits [Internet]. Life Technologies Ltd. 7 Kingsland Grange. Woolston, Warrington WA1 4SR. United Kingdom. Режим доступа: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/4477604.pdf>. Дата обращения: 15.10.2021.

REFERENCES

1. Hopwood AJ, Hurth C, Yang J, et al. Integrated microfluidic system for rapid forensic DNA analysis: sample collection to DNA profile. *Anal Chem*. 2010;82(16):6991–6999. doi: 10.1021/ac101355r
2. Liu P, Li X, Greenspoon SA, et al. Integrated DNA purification, PCR, sample cleanup, and capillary electrophoresis microchip for forensic human identification. *Lab Chip*. 2011;11(6):1041–1048. doi: 10.1039/c0lc00533a
3. DiZinno J. 90 Minute DNA Profiles on a Fully Validated, Automated System. In: *Proc. 7th International DNA Users' Conference for Investigative Officers*, 7 Nov 2013 Interpol Headquarters, Lyon, France. 2013.
4. Gold S. RapidDNA: a game changer in the law enforcement identification stakes. *Biometric Technology Today*. 2013;(1):7–10. doi: 10.1016/S0969-4765(13)70015-8

5. LaRue BL, Moore A, King JL, et al. An evaluation of the RapidHIT® system for reliably genotyping reference samples. *Forensic Sci Int Genet*. 2014;13:104–111. doi: 10.1016/j.fsigen.2014.06.012
6. Date-Chong M, Hudlow WR, Buoncristiani MR. Evaluation of the RapidHIT™ 200 and RapidHIT GlobalFiler® Express kit for fully automated STR genotyping. *Forensic Sci Int Genet*. 2016;23:1–8.
7. GlobalFiler™ and GlobalFiler™ IQC PCR Amplification Kits [Internet]. Life Technologies Ltd. 7 Kingsland Grange. Woolston, Warrington WA1 4SR. United Kingdom. Available from: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/4477604.pdf>. Accessed: 15.10.2021.

ОБ АВТОРАХ

* **Иванов Павел Леонидович**, д.б.н., профессор;
адрес: Россия, 125284, Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4753-3125>;
eLibrary SPIN: 1566-958; e-mail: dna@rc-sme.ru

Земскова Елена Юрьевна, к.м.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2669-0877>;
eLibrary SPIN: 5835-2788; e-mail: zemskova@rc-sme.ru

Соколова Наталья Робиковна,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0481-7646>;
eLibrary SPIN: 9381-3968; e-mail: sokolova.n@rc-sme.ru

Исупов Сергей Владимирович;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9437-4569>;
e-mail: sergey.isupov@labindex.ru

AUTHORS INFO

* **Pavel L. Ivanov**, Dr. Sci. (Biol.), Professor;
address: 12/13 Polikarpova str., Moscow, 125284, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4753-3125>;
eLibrary SPIN: 1566-9582; e-mail: dna@rc-sme.ru

Elena Yu. Zemskova, MD, Cand. Sci. (Med.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2669-0877>;
eLibrary SPIN: 5835-2788; e-mail: zemskova@rc-sme.ru

Natalia R. Sokolova, MD;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0481-7646>;
eLibrary SPIN: 9381-3968; e-mail: sokolova.n@rc-sme.ru

Sergey V. Isupov;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9437-4569>;
e-mail: sergey.isupov@labindex.ru

* Автор, ответственный за переписку / The author responsible for the correspondence