

ИССЛЕДОВАНИЕ АППЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ У-ХРОМОСОМЫ В СУДЕБНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ

Ш. Пурвэдулам, Б. Тэнуун, Б. Гантуяа, д.б.н. С. Ганболд

Национальный институт судебных экспертиз (дир. – Х. Улзийбаяр) Министерство юстиции Монголии, Улэн-Батор.

Аннотация: Для анализа ДНК в лабораторию были присланы содержимое влагилица потерпевшей, в котором обнаружена сперма /семенная жидкость/ преступника, а также образец крови потерпевшей. Нами была выделена геномная ДНК из крови потерпевшей и спермы преступника, обнаруженной в содержимом влагилица потерпевшей. Были установлены генотипы по аутосомным локусам потерпевшей и гаплотип У-хромосомных микросателлитных локусов преступника и опубликованы результаты ДНК-анализа.

Ключевые слова: половые преступления, судебно-генетическая экспертиза, У-хромосома, STR – локус.

RESULT OF Y-CHROMOSOMAL STR LOCI USED IN FORENSIC GENETIC EXAMINATION

Sh. Purvjedulam, B. Tjenuun, B. Gantujaa, d.b.n. S. Ganbold

Abstract: DNA analysis in the laboratory were done in the sperm /semen/ of criminal evidence from the vaginal swab of the sexually abused children and her blood. Genomic DNA extracted from the blood and sperm /semen/ which left on criminal evidence and vaginal swab of the sexually abused children by selective method, and microsatellite loci of the genotypes of autosome and haplotypes of Y chromosome has analysed from criminal evidence and published the results of a DNA analysis.

Keywords: sex crimes, forensic genetic examination, the Y-chromosome, STR loci

<http://dx.doi.org/10.19048/2411-8729-2016-2-3-38-40>

◇ ВВЕДЕНИЕ

В судебно-экспертной практике встречается немало случаев преступления против половой неприкосновенности и половой свободы личности.

Наиболее распространенным и надежным методом для сбора биологических объектов для анализа ДНК является соскоб или тампон с содержимым, изъятых из влагилица потерпевшей специальной ватной палочкой. После сбора генетического материала, его необходимо передать в ДНК-лабораторию, осуществляющую процедуру определения генотипа и гаплотипа данного человека.

Применение молекулярно-генетических методов исследования спермы может существенно повысить качество экспертизы, связанных с преступлениями против половой неприкосновенности и половой свободы личности.

Сначала мы типировали полиморфные STR-локусы, используя наборы реактивов фирмы Promega Corporation (*PowerPlex16HS System* [1]: *Penta E, D18S51, D21S11, TH01, 3S1358, FGA, TPOX, D8S1179, vWA, Amelogenin, Penta D, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317 и D5S818*). Устанавливали по аутосомной хромосоме генотипы крови потерпевшей и мужской фракции, выделенной из смешанных биологических следов на тампонах, изъятых из влагилица потерпевшей.

Для типирования аллелей У-хромосомы мы использовали наборы реактивов фирмы Promega Corporation (*PowerPlex Y System: DYS391, DYS389I, DYS439, DYS389II, DYS438, DYS437, DYS19, DYS392, DYS393, DYS390, DYS385a/b*) [2] и (*the PowerPlexR Y23 System DYS576, DYS389I, DYS448, DYS389II, DYS19, DYS391, DYS481, DYS549, DYS533, DYS438, DYS437, DYS570, DYS635, DYS390, DYS439, DYS392, DYS643, DYS393, DYS458, DYS385a/b, DYS456 and Y-GATA-H4*) [3].

◇ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами экспертизы являются кровь и смешанные биологические следы на тампонах, изъятых из влагилица потерпевшей.

Из образцов жидкой крови выделяли ДНК стандартным фенол-хлороформным методом [4].

Из смешанных биологических следов на тампонах, изъятых из влагилица потерпевшей, выделяли ДНК, используя стандартный набор для выделения геномной ДНК «ABI Prepfilеr» (*Applied Biosystems*) [5].

Аmplификацию аутосомных и У-STR-локусов проводили в формате мультиплексной ПЦР (один мультиплекс на все 16 аутосомных, 12 и 23 У-хромосомных локусов) на градиентных амплификаторах *Applied Biosystems* в условиях, рекомендуемых производителем коммерческого набора *PowerPlex16HS System, PowerPlex Y System, PowerPlex Y23 System («Promega»)*. Флуоресцентно меченные ПЦР-фрагменты разделяли методом капиллярного гель-электрофореза на генетических анализаторах *ABIPrism 310 и ABIPrism 3130 («Applied Biosystems»)*. Чтение генотипов и гаплотипов проводили с помощью программного обеспечения *GeneMapper («Applied Biosystems»)*. Качество генотипирования контролировали, используя стандартный набор аллелей всех 16, 12 и 23 микросателлитов («лэддер»), поставляемый в составе набора *PowerPlex16HS System, PowerPlex Y System PowerPlex Y23 System*, загружая «лэддер» в каждом цикле генотипирования.

Обсуждение результатов. Сначала мы определили генотипы крови потерпевшей и следов спермы на тампоне с содержимым влагилица потерпевшей, используя ДНК-набор «PowerPlex16HS System».

По результату ДНК анализа мы определили генотипы в крови потерпевшей по 15 аутосомным локусам *Penta E(14/16), D18S51(13/15), D21S11(30/31.2), TH01(7/9), 3S1358(15/16), FGA(21/26), TPOX(8/8), D8S1179(14/16), vWA(14/19), Amelogenin(XX), Penta D(10/11), CSF1PO(10/11),*

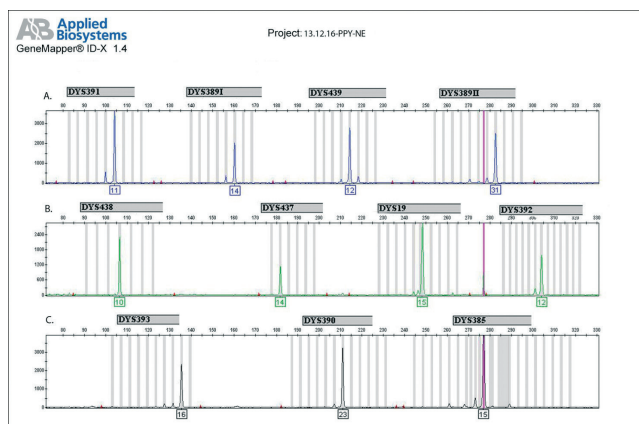


Рис. 1. Панель результатов анализа, полученная с помощью системы PowerPlex® Y System.

D16S539(11/13), D7S820(11/12), D13S317 (9/11) и D5S818 (11/13).

При проведении ДНК-анализа мужской фракции установили смешанный генотип, один из компонентов которого принадлежит мужчине. Поэтому мы провели ДНК-анализ, используя PowerPlex® Y System систему, и определили, что сперма принадлежит мужчине с гаплотипом DYS391(11), DYS389I(14), DYS439(12), DYS389II(31), DYS438(10), DYS437(14), DYS19(15), DYS392(12), DYS393(16), DYS390(23) DYS385(15) (рис. 1).

Смешанные следы на тампоне с содержимым влагалища потерпевшей были амплифицированы, используя систему PowerPlexRY System. Продукты амплификации были смешаны со стандартом (*Internal Lane Standard 600*) и проинжектированы на генетическом анализаторе ABI PRISM® 310, используя 3 кВ, 5-секундные инъекции. Результаты были проанализированы, используя аналитическое программное обеспечение GeneMapper®. На электрофореграмме в панели А показаны пики флуоресцентно-маркированных локусов: DYS391(11), DYS389I(14), DYS439(12) и DYS389II(31). В панели В: DYS438(10), DYS437(14), DYS19(15) и DYS392(12). В панели С: DYS393(16), DYS390(23) и DYS385(15).

Преступник по гаплотипу Y-STR локусов обладает специфической генетической характеристикой, которая ранее не была обнаружена у обследованных людей в монгольской популяции.

По нашим данным, в монгольской популяции по локусу DYS393 аллель «16» до сих пор не наблюдалась [6, 7].

Для подтверждения результата предыдущего анализа мы повторно провели анализ ДНК, используя систему типирования PowerPlex® Y23 System, по которому определили, что сперма принадлежит мужчине с гаплотипами DYS576(17), DYS389I(14), DYS448(20), DYS389II(31), DYS19(15), DYS391(11), DYS481(27), DYS549(12), DYS533(12), DYS438(10), DYS437(14), YS570(18), DYS635(21), DYS390(23), DYS439(12), DYS392(12), DYS643(12), DYS393(16), DYS458(15), DYS385a/b(15), DYS456(15), Y-GATA-H4(11) (рис. 2).

ДНК (2–5 нг), выделенная из мужской фракции смешанных следов на тампоне с содержимым влагалища потерпевшей, была амплифицирована, используя систему PowerPlexR Y23. Продукты амплификации были смешаны со стандартом (*Internal Lane Standard CC5 500 Y23*) и проинжектированы с помощью генетического анализатора ABI3130, используя 3 кВ, 5-секундную инъекцию. Результаты были проанализированы, используя программное обеспечение GeneMapper® ID, версию 3.2.

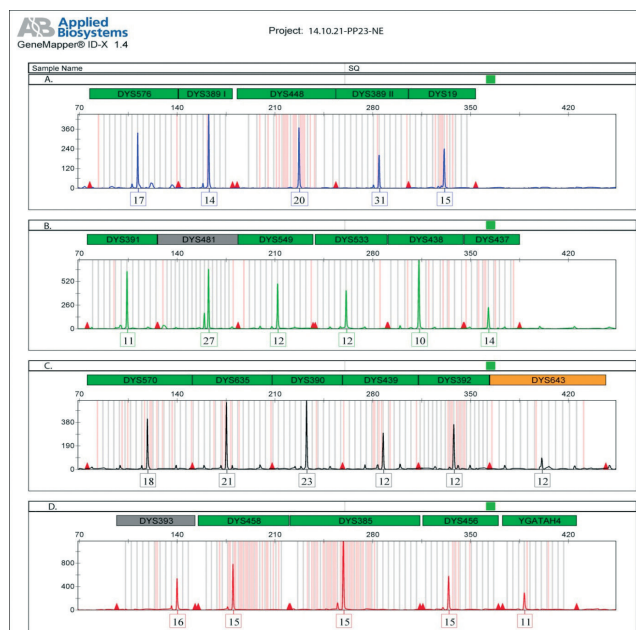


Рис. 2. Панель результатов анализа, полученная с помощью системы PowerPlex® Y23 System.

На электрофореграмме в панели А показаны пики флуоресцентно-маркированных локусов: DYS576(17), DYS389I(14), DYS448(20), DYS389II(31) и DYS19(15).

Панель В: DYS391(11), DYS481(27), DYS549(12), DYS533(12), DYS438(10) и DYS437(14).

Панель С: YS570(18), DYS635(21), DYS390(23), DYS439(12), DYS392(12) и DYS643(12).

Панель D: DYS393(16), DYS458(15), DYS385a/b(15), DYS456(15) и Y-GATA-H4(11).

Мы расширили панель по Y-STR локусам и протипировали ДНК, используя ДНК-набор PowerPlex Y23 System. Подтверждением одинакового результата исследования является то, что оба результата совпали между собой. Поэтому, нет необходимости сомневаться в результате исследования.

При поиске данного гаплотипа в базе данных типирования PowerPlex Y23 системы наборов по всему миру был получен следующий ответ от автоматизированных вебсайтов поиска [8]: «В мировой базе данных установленный гаплотип не наблюдался в зарегистрированных 26,869 гаплотипах, протипированных по PowerPlex Y23 системе наборов» [8].

По расчету Каппа/Карра// приблизительно ожидается 1 матч в 244,993 гаплотипах.

Приблизительно 1 матч в 100,000,000 гаплотипов, проявляясь главным образом в Евразийском – Европейском – Западноевропейском Метанаселении, n+1/N+1.

Приблизительно 1 матч в 26,870 гаплотипах (95% Ki: 4,823 – 1,061,309) Результаты основаны на Выпуске R51, действительном, согласно 2016–01–06 11:43:35 UTC. Этот вопрос послали в 2016–01–28 8:57:29 UTC.

◇ ВЫВОДЫ

Описанный случай показывает, что есть необходимость проведения более широких исследований Y-хромосомных микросателлитных локусов популяции монгольского населения.

Очевидно, что в монгольскую судебную практику следует внедрять и другие методы анализа – например, анализ Y-SNP и мтДНК последовательностей – и публиковать полученные результаты.

Надо искать данного преступника среди людей со следующим гаплотипом: DYS576-DYS389I-DYS448-DYS389II-DYS19-DYS391-DYS481-DYS549-DYS533-DYS438-DYS437-YS570-DYS635-DYS390-DYS439-DYS392-DYS643-DYS393-DYS458-DYS385a/b-DYS456-Y-GATA-H4 (11-17-14-20-31-15-11-27-12-12-10-14-18-21-23-12-12-12-16-15-15-11).

◇ ЛИТЕРАТУРА

1. Technical Manual PowerPlex® 16 HS System instructions for use of products DC2100 and DC2101, Printed in USA, 5/12, Part# TMD 022.
2. Technical Manual PowerPlex® Y System instructions for use of products DC6760 and DC6761, Printed in USA, 8/03, Part# TMD 018.
3. Technical Manual PowerPlex® Y23 System instructions for use of products DC2305 and DC2320, Printed in USA, 7/12, Part# TMD 035.
4. Mathem V.G., //Methods in Molecular Biology // Eds J. Walker. – London, 1984-Vol. 2. P. 31–34.
5. PrepFiler™ and PrepFiler™ BTA Forensic DNA Extraction Kits User Guide, Publication Part Number 4468126 Revision Date 04 January 2012, (Rev. B), Applied Biosystems, Foster City, (USA), www.lifetechnologies.com.
6. Kyoung Don Kwak., Ganbold S., Tundewrentsen S., Han Jun Jin., Seung Bun Hong., Myun Soo Han., Wook Kim., «Y-Chromosome STR haplotype profiling in the Mongolian population»- Journal Legal Medicine, pp.58–61, (2005).
7. Wook Kim (1), Ki-Cheol Kim., Uyanga Ganbold., Suren Ganbold., Tsagaan Erdenechimeg contributed 261 Haplotypes on September 7, 2015 to the population Ulaanbaatar, Mongolia [*Mongolian*]. Contribution with the Accession Number YA004127.
8. <https://yhrd.org/>

Для корреспонденции:

GANBOLD Suren – Ph.D, Chief of Department of Scientific Analysis National Institute of Forensic Science of Mongolia, ÷ Peace avenue, S.Zorig district-1, Ulaanbaatar, Mongolia. Ulaanbaatar-46, Post box-611, +9 (769) 976–39–09 • ganbold@mail.ru

■ Конфликт интересов отсутствует.