

**КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**СУДЕБНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА
ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ**

Учебное пособие

Для врачей-ординаторов по специальности
31.08.10 – Судебно-медицинская экспертиза

**Казань
2019**

УДК 340.6:343.146(075.8)

ББК 67.53я73

А С89

Печатается по решению
Центрального координационно-методического совета
Казанского ГМУ Минздрава России

Авторы-составители:

В.А. Спиридонов, Е.В. Иогансон, Л.Г. Александрова

Рецензенты:

докт. мед. наук, главный специалист по судебно-медицинской экспертизе, начальник ГБУЗ «Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения Москвы **С.В. Шигеев**

докт. мед. наук, проф., заведующий кафедрой медицинской биологии и генетики Казанского ГМУ Минздрава России **Р.Р. Исламов**

С89 Судебно-биологическая экспертиза вещественных доказательств: учеб. пособие для врачей-ординаторов по специальности 31.08.10 – Судебно-медицинская экспертиза / сост. В.А. Спиридонов, Е.В. Иогансон, Л.Г. Александрова – Казань: КГМУ, 2019. – 70 с.

В учебном пособии приведены основные положения и принципы судебно-биологического исследования вещественных доказательств, изложенные в соответствии с действующими ФГОС и образовательными программами подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 31.08.10 «Судебно-медицинская экспертиза». Учебное пособие предназначено для формирования у врачей-ординаторов профессиональной компетенции в диагностической деятельности по решению задач, возникающих при производстве судебно-биологических экспертиз (исследований). Пособие также может быть использовано врачами, судебно-медицинскими экспертами для закрепления этой компетенции и применения при решении специальных задач.

УДК 340.6:343.146(075.8)

ББК 67.53я73

© Спиридонов В.А., Иогансон Е.В., Александрова Л.Г., 2019

© Казанский ГМУ, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

	Предисловие	4
1.	Общие вопросы судебно-биологической экспертизы вещественных доказательств	5
1.1	История развития	5
1.2	Организационно-правовые аспекты проведения судебно-биологических экспертиз	5-7
1.3	Объекты судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств.	7-12
2.	Порядок проведения судебно-биологической экспертизы	12
2.1	Экспертиза крови	12-18
2.2	Экспертиза по делам о половых преступлениях	18-19
2.3	Экспертиза выделений	19-21
2.4	Экспертиза волос	21-23
3.	Молекулярно-генетическое исследование	23-25
3.1	Основы молекулярной генетики	25-26
3.2	Этапы молекулярно-генетической идентификации личности	27-36
4.	Другие методы судебно-биологического исследования	36-37
5.	Вопросы, разрешаемые при судебно-медицинской экспертизе вещественных доказательств	37-38
6.	Экспертные выводы	39
7.	Тестовые задания	39-44
8.	Задачи	45-47
	Библиографический список	47-48
	Приложения	49-70

ПРЕДИСЛОВИЕ

Вопросы, связанные с исследованием объектов биологического происхождения, актуальны в судебной медицине в связи с особой значимостью лабораторных методов исследования. От эффективности, полноты проведенных исследований, оценки выявленных изменений могут зависеть последующие судебно-следственные мероприятия. Исследование крови, волос, выделений, клеточных и тканевых элементов проводится в судебно-биологическом отделении для установления видовой, групповой, половой, тканевой, индивидуальной принадлежности.

Данное пособие имеет целью обобщение методов, используемых при производстве судебно-биологических исследований/экспертиз. Эти знания будут способствовать решению задачи по формированию у врачей-ординаторов умений и владений навыками в соответствии с особенностями предстоящей практической деятельности, вырабатывая профессиональную компетенцию, согласно действующих ФГОС ВО по правильному подбору биологических объектов для дополнительного исследования и проведению лабораторных методов исследования при решении практических вопросов судебной медицины.

Авторы надеются, что представленные материалы окажут помощь ординаторам в учебном процессе, но также будут полезны и практикующим врачам судебно-медицинским экспертам в повседневных действиях. Все пожелания, замечания и дополнения будут приняты с благодарностью.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ПЦР – полимеразная цепная реакция
STR - короткие tandemные повторы (short tandem repeats)
ПААГ - полиакриламидный гель
ПДАФ – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов
ТЕ-буфер – ТРИС-ЭДТА буфер

1. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ СУДЕБНО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ

1.1 История развития

Судебно-биологическая экспертиза вещественных доказательств в самостоятельный раздел судебной медицины оформилась в середине XX века. Развитие судебно-биологической экспертизы вещественных доказательств шло параллельно с развитием биологии, криминалистики и иммунологии. Криминалистика привнесла в судебную медицину понятия «вещественные доказательства», «следы на вещественных доказательствах», а иммунология дала возможность устанавливать (исключать) принадлежность этих следов конкретным лицам. Судебно-медицинская экспертиза заимствовала и применила на практике открытия структуры и свойств волос, групп крови, видовые различия крови человека и животных и многие другие. Причем началом формирования данного раздела судебной медицины можно считать 1900 год, когда известным австрийским иммунологом Карлом Ландштейнером было открыто явление агглютинации – склеивания эритроцитов, что повлекло за собой открытие групп крови, а также целого ряда иммунологических реакций, которые применяются в судебно-биологических исследованиях до сих пор. На первое десятилетие XX века приходится исследование крови в пятнах – по сути, в следах на вещественных доказательствах. Другим переломным моментом является открытие структуры ДНК Уотсоном и Криком в 1956 году, что заложило основы молекулярно-генетических исследований. Большая часть всех открытий в области судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств произошла в XX веке. В настоящее время идет усовершенствование методик и технологий исследования.

1.2 Организационно-правовые аспекты проведения судебно-биологических экспертиз

Судебно-медицинская экспертная деятельность является неотъемлемой частью государственной судебно-экспертной деятельности. Ее правовая основа и принципы организации регламентированы Федеральным законом от 31 мая 2011 года №

73-ФЗ «О государственной судебно-экспертной деятельности в Российской Федерации». Закон устанавливает в качестве основания для назначения производства любой, в том числе и судебно-медицинской, экспертизы необходимость при исследовании доказательств использовать познания специалистов.

Судебно-биологическая экспертиза является частным разделом судебно-медицинской экспертизы. Поэтому все указанные выше положения применимы и к ней.

Назначение производства экспертизы как процессуальное действие регламентировано ст. 146,195,199,283 УПК РФ. Этими же правовыми нормами определено и содержание постановления (определения) о производстве экспертизы.

Порядок назначения и направления материалов на судебно-медицинскую экспертизу в ходе предварительного расследования регламентирован ст. 199-201,207 УПК РФ.

Кроме того, порядок организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации регламентирован приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации № 346н от 12 мая 2010 года.

Указанный приказ регулирует, в том числе, судебно-медицинскую экспертизу вещественных доказательств и исследование биологических объектов.

Судебно-медицинские экспертизы вещественных доказательств проводятся в региональных бюро судебно-медицинской экспертизы, а также в лабораториях системы Следственного комитета, Министерства внутренних дел (ЭКЦ МВД) и Министерства обороны РФ. Кроме того, такие экспертизы выполняются в Российском центре судебно-медицинской экспертизы Министерства здравоохранения и социального развития РФ.

Судебно-биологическая экспертиза (исследование) вещественных доказательств проводится в судебно-биологическом отделении бюро судебно-медицинской экспертизы. Различают следующие типы судебно-биологических экспертиз: экспертиза крови, экспертиза выделений, экспертиза волос, экспертиза костей и мышц. К выделениям относят сперму, слюну, пот, мочу. Отдельно можно выделить судебно-

цитологическую экспертизу. В данном случае объектом исследования являются клетки организма человека: клетки слюны (буккальные), влагалищные клетки, клетки содержимого прямой кишки (ректальные), клетки уретрального канала (уретральные). Такие клетки, как правило, попадают на вещественные доказательства вместе с жидкой основой выделений. Они содержат информацию о половой и региональной принадлежности (т.е. из какой области тела они происходят). Например, исследуя буккальные клетки можно определить, кому принадлежит слюна: мужчине или женщине. Исследуя клетки крови, можно определить не только половую принадлежность крови, но и ту область тела человека, кровотечение из которой образовало исследуемое пятно. Как правило, такие исследования являются дополнительными и проводятся в рамках основной экспертизы вещественных доказательств.

1.3 Объекты судебно-биологической экспертизы вещественных доказательств

Процесс доказывания, как известно, базируется на собирании доказательств (ст. 74,81,86 УПК РФ). Одним из источников доказательств в уголовном процессе являются вещественные доказательства. Определение понятия «вещественные доказательства» даётся в ст. 81 УПК РФ. Однако в криминалистике и судебной медицине эти понятия имеют различное содержание. Если в первом случае понятие «вещественные доказательства» включает в себя широкий спектр предметов и веществ, то во втором – только лишь объекты биологического происхождения, имеющие отношение к человеческому организму, и реже – к организму животного. Под эту категорию подпадают все биологические жидкости, всевозможные клеточные структуры и производные человеческого организма.

Таким образом, в качестве вещественных доказательств судебно-медицинские эксперты исследуют кровь, её следы, выделения человека, волосы, частички тканей и органов (рис. 1).

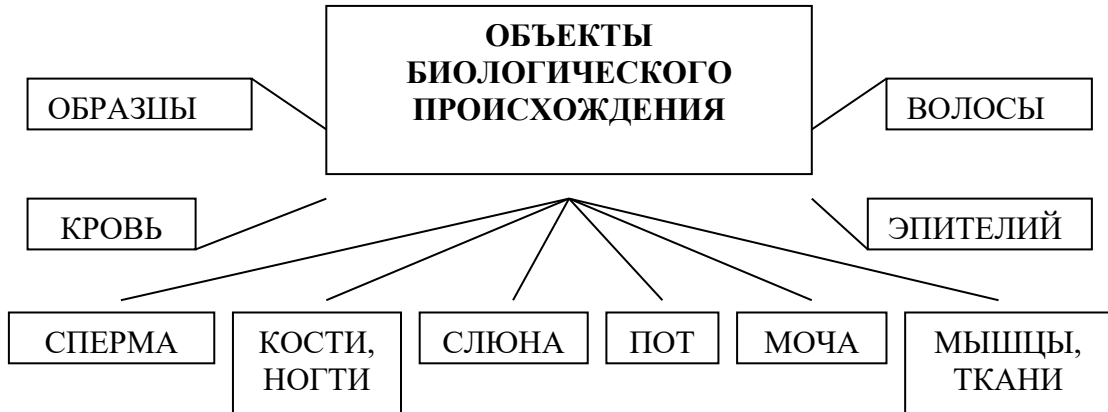


Рис. 1 Объекты судебно-биологической экспертизы

Следует отметить, что к вещественным доказательствам так же относятся образцы крови, волос, слюны и других выделений лиц, проходящих по делу.

1.3.1. Изъятие образцов для сравнительного исследования

Образцы от трупов изымаются судебно-медицинским экспертом при вскрытии трупа.

Образцы крови в обязательном порядке изымаются:

- во всех случаях убийств и при подозрении на убийство;
- при наличии наружного кровотечения;
- при подозрении на половое преступление;
- при обнаружении трупа неизвестного лица, в том числе – новорожденного;
- при всех видах транспортной травмы.

При невозможности изъятия крови (в случае гнилостных изменений трупа) в качестве образца изымается фрагмент мышечной или костной ткани.

Образцы волос и подногтевого содержимого у трупов изымают в обязательном порядке, независимо от характера преступления и факта возбуждения уголовного дела.

Образцы живых лиц изымают в лаборатории бюро судебно-медицинской экспертизы, либо в любом медицинском учреждении на основании постановления об изъятии образцов и при участии понятых.

Образцы крови в обязательном порядке изымаются у потерпевших, подозреваемых, обвиняемых и свидетелей, проходящих по делу, в случаях:

- убийств и при подозрении на убийство;
- при наличии наружного кровотечения;
- при совершении или подозрении в совершении полового преступления;
- при всех видах транспортной травмы;
- при обнаружении в ходе осмотра места происшествия следов, похожих на кровь, сперму, слюну, а также объектов, похожих на волосы;
- при изъятии с места происшествия окурков сигарет, папирос, самокруток;
- в случаях, когда требуется установить принадлежность предметов конкретным лицам, независимо от наличия на этих предметах следов, похожих на кровь или сперму.

Образцы слюны изымаются у живых лиц в случаях половых преступлений, либо при подозрении на них. Для этого, после ополаскивания рта чистой водой, под язык на несколько минут кладут отрезок стерильной марли, сложенный в несколько слоев. Затем образец высушивают и упаковывают описанным выше образом.

Образцы волос живых лиц изымаются, если на месте происшествия, либо на одежде проходящих по делу лиц обнаружены объекты, похожие на волосы.

Изъятие образцов пота, мочи, спермы, влагалищного содержимого требуется крайне редко, проводится, как правило, в условиях лаборатории.

Исследование образцов необходимо для того, чтобы ответить на вопросы следствия о возможности происхождения (исключения происхождения) тех или иных следов от конкретного человека.

В соответствии с п.80.12.7 приказа Минздравсоцразвития РФ от 12.05.2010 N 346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации» в отсутствие потерпевшего или подозреваемого в качестве образцов можно исследовать их носильные вещи и устанавливать группу крови лица, чьи биологические образцы

отсутствуют, путем исследования пота с предметов одежды указанного лица (чаще всего это нижнее белье, рубашки, носки).

В исключительных случаях в качестве образца можно исследовать одежду с пятнами крови, снятую с трупа. В этом случае, обязанность доказывать, что данная одежда принадлежит действительно трупу или потерпевшему, в случаях, когда это живое лицо, возложена на следователя.

1.3.2. Требования, предъявляемые к изъятию объектов биологического происхождения

Особенностью большинства биологических объектов является их неустойчивость к повышенной влажности, повышенной температуре и прямым солнечным лучам. В результате действия указанных факторов уничтожается информативность следов – они разрушаются. Поэтому особо важным является правильное изъятие и хранение вещественных доказательств.

Если предмет с имеющимися на нем следами имеет небольшие размеры и вес, то он направляется в лабораторию целиком, либо отдельная часть или деталь. В противном случае со следов готовятся смывы физиологическим раствором или дистиллированной водой на отрезки марли (бинта). Производство смывов на ватные тампоны не рекомендуется из-за технических характеристик носителя. Приготовленные смывы высушиваются при комнатной температуре, вдали от отопительных приборов и прямых солнечных лучей. Аналогичным образом поступают и с образцами крови и выделений лиц, проходящих по делу.

Следы крови со снега изымают следующим образом: участок снега со следами помещают в чистую тару, на дне которой находится отрезок марли, сложенный в несколько слоев. После таяния кровь остается на марле, которую потом сушат описанным выше способом. Аналогичным образом поступают при обнаружении жидкости, в которой предполагается присутствие крови.

Если следы биологического происхождения предполагаются на грунте, их изымают вместе с грунтом, кроме того, изымается участок грунта без пятен. Влажный грунт предварительно высушивается.

При изъятии следов одновременно изымают контрольный участок предмета-носителя. Т.е., если готовят смыв – значит, готовят смыв и с чистого участка рядом с пятном, если изымается снег – следует изъять участок снега без пятен и высушить его аналогичным образом.

Нередко, в качестве вещественных доказательств выступает подногтевое содержимое проходящих по делу лиц. Дело в том, что в случае физического контакта под ногтями у одного человека могут оказаться частицы кожи, крови, слюны и даже спермы другого человека, невооруженным глазом не заметные. Поэтому, если в ходе следствия или дознания предполагается факт насилия и сопротивления, у проходящих по делу лиц следует срезать концевые (дистальные) участки ногтевых пластин. Подногтевое содержимое с каждой руки упаковывают по отдельности.

Обнаруженные на месте происшествия объекты, похожие на волосы изымают и упаковывают в отдельные пакеты, соответственно месту изъятия. Нельзя приклеивать волосы к липкой ленте или бумаге. Образцы волос проходящих по делу лиц изымаются с пяти областей головы: лобной, правой и левой височных, теменной и затылочной. Волосы срезают максимально близко к поверхности кожи. У трупов волосы вырывают. Образцы волос с каждой области головы упаковывают в отдельные пакеты (конверты).

Вещественные доказательства упаковываются в бумажные или полиэтиленовые пакеты. Упаковка не высушенных образцов либо влажных предметов (предметов с не высушенными следами) в полиэтиленовые пакеты не допускается, так как из-за отсутствия доступа воздуха следы загнивают и разрушаются, что ведет к утрате их информационной ценности. На упаковке отмечают точное наименование вещественного доказательства (образца), место и время изъятия, подписи понятых, следователя, специалистов. Упаковку скрепляют печатью и доставляют в лабораторию вместе с постановлением о назначении судебно-биологической экспертизы.

Имеющиеся на месте происшествия, одежде потерпевших и подозреваемых лиц, на предметах обихода, орудиях и оружии следы помогают установить место происшествия, обстоятельства совершения преступления, способствуют обнаружению

преступника, установлению орудия преступления. Все исследования пятен требуют производства вырезок или смывов с предметов, представленных на экспертизу, о чем следственные органы должны быть проинформированы. Следователь (дознатель) в свою очередь должен дать письменное согласие на производство указанных действий.

2. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ СУДЕБНО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ

2.1. Экспертиза крови

На первом этапе экспертизы требуется установить при помощи доказательных методов **наличие** тех или иных следов на исследуемых предметах.

Следы высохшей крови на различных предметах выглядят по-разному. Цвет пятен может быть от зеленовато-серого до черного. Пятна крови могут быть не похожи на кровь, а, например, пятна сока или соуса по внешнему виду могут очень напоминать кровяные. Поэтому эксперт обязан исследовать все пятна, не зависимо от их внешнего вида. На сегодняшний день доказательные методы обнаружения крови основаны на выявлении гемоглобина и его производных. Такими методами являются спектральное исследование, выявление гемоглобина методом хроматографии и обнаружение гемоглобина человека при помощи тест-системы «Гемдирект». Причем последний метод позволяет в микроследах одновременно установить наличие крови, а также её видовую принадлежность.

Определение **видовой** принадлежности обнаруженной крови – обязательный вид исследования. Кровь на предметах может принадлежать не только человеку, но и животному, и птице, и рыбе. Определение видовой принадлежности – не что иное, как определение того, кому принадлежит кровь: человеку или животному (птице, рыбе). Даже на одном и том же предмете может быть обнаружена кровь различной видовой принадлежности. Поэтому необходимо дифференциальная диагностика обнаруженных следов. Определение видовой принадлежности крови проводится при помощи реакции

Чистовича-Уленгутта, которая состоит в осаждении белка из исследуемых вытяжек при их соприкосновении с определенной видовой сывороткой. Для исследования одного пятна необходимо провести эту реакцию с несколькими видовыми сыворотками, не менее пяти видов. Обязательно использование видовой сыворотки крови человека. Подбор остальных сывороток производится исходя из обстоятельств дела.

Если со всеми введенными в реакцию сыворотками получен отрицательный результат, то дальнейшее исследование не проводится, так как последующие возможные результаты не могут считаться объективными.

Если же установлена принадлежность крови человеку, то следующим этапом является определение **групповой** принадлежности крови.

Смысл судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств сводится к определению принадлежности обнаруженных следов конкретным лицам. Поэтому, основным этапом экспертизы является установление групповой природы обнаруженных следов.

Основная система групп крови, используемая в медицинской практике, называется системой АВ0 («а», «б», «ноль») (Таблица 1)

Таблица 1

Группы крови по системе АВ0

Порядковая нумерация	Группы крови по системе АВ0			
	I	II	III	IV
Антигенное обозначение	0αβ	Aβ	Bα	ABo
Антигены	H	A, H	B, H	A, B, H *
Агглютинины	α, β	β	α	отсутствуют

**- в IV группе антиген H присутствует не всегда*

В основе этой системы лежит тот факт, что в крови (в эритроцитах) людей содержатся антигены (сложные органические соединения) в различных сочетаниях. Их условно

обозначили латинскими буквами **A**, **B** и **H** (Таблица 1). Кроме антигенов в крови содержатся агглютинины. Они тоже являются органическими соединениями, их всего две разновидности. Агглютинины принято обозначать греческими буквами α и β . При этом содержание их обусловлено присутствием тех или иных антигенов. Если в крови присутствует антиген **A**, то одновременно может присутствовать только агглютинин β . Если антиген **B** – то агглютинин α . Это связано с тем, что одноименные антигены и агглютинины (**A** и α , **B** и β) способны «приклеиваться» друг к другу и образовывать большие конгломераты (агглютинаты). Образование подобных конгломератов в кровяном русле организма человека неминуемо привело бы к закупорке сосудов. Поэтому в норме в крови одноименные антигены и агглютинины не присутствуют.

Существует две номенклатуры обозначения групп крови. Одна – по наличию или отсутствию тех или иных антигенов. В ней используется буквенное обозначение, читающееся в латинской и греческой транскрипции соответственно (**A**, **B**, **H**, α , β). Вторая – порядковая. В ней используется цифровое обозначение римскими цифрами (**I**, **II**, **III**, **IV**)

Если у человека в крови содержится только антиген H, антигенов **A** и **B** нет – то это **0 $\alpha\beta$ (I) группа**. Читается эта запись, как «ноль альфа/бетта, первая группа». Ноль она называется потому, что в ней нет антигенов **A** и **B**.

Если у человека содержится антиген A, то это **A β (II) группа**. Соответственно «а/бетта, вторая группа».

Если у человека содержится антиген B, это **B α (III) группа**.

У некоторых людей могут в крови содержаться оба антигена A и B, тогда это **AB (IV) группа**. Причем у людей этой группы агглютининов α и β в крови нет.

Следует отметить, что антиген **H** является родоначальником антигенов **A** и **B**. Когда-то все человечество относилось только к одной группе **0 $\alpha\beta$ (I)**, у всех людей присутствовал только антиген **H**. Затем постепенно из антигена **H** сформировались, сначала антиген **A**, затем **B**. Самая «молодая» группа крови – это **AB (IV)**. Ей всего около 200 лет. Результатом такой трансформации является то, что антиген **H** может присутствовать во всех группах, а не только в первой. Если антиген **H** присутствует во второй, третьей и четвертой группах, то он называется

сопутствующим. В судебно-медицинской экспертизе принято использовать только буквенное обозначение, так как для конкретизации выводов имеет значение лишь присутствие (отсутствие) антигенов.

Необходимо знать, что у некоторых животных в крови существуют схожие органические вещества, структура которых похожа на структуру антигенов системы АВ0 человека, что может вызвать ложно положительную реакцию. Поэтому, если в пятнах обнаружена кровь человека с примесью крови животных, определение групповой принадлежности не проводится.

В 30-е годы 20 века Ландштейнер, а вслед за ним и другие авторы обнаружили групповые антигены в сперме, слюне, поте, моче, волосах. Таким образом, если у человека кровь относится, например, к Аβ группе, то у него и в выделениях, моче, волосах будет выявлен антиген А. агглютинины α и β присутствуют только в крови.

В эти же годы началось открытие и других систем в крови и выделениях (рис.2)



Рис. 2 Системы групп крови, используемые при проведении судебно-биологической экспертизы

Следующая по значимости система – это система MNSs. Она представляет собой группу органических веществ, обозначенных как антигены М, N, S, s. Эта система так же является эритроцитарной. Современные технологии позволяют выявлять в сухих следах только антигены М и N. Поэтому в судебно-медицинской практике существует разделение людей на три группы по этой системе: М группа, N группа и MN группа.

Ещё одна система, часто используемая в судебно-медицинской экспертизе вещественных доказательств – это системе «гаптоглобина» Нр. Эта система является сывороточной, так как антигены системы находятся в сыворотке (жидкой части) крови. Гаптоглобин – это белок, который в организме человека выполняет функцию переноса железа. Синтезируется этот белок в печени и может существовать в трех вариантах: Нр 1-1, Нр 2-1 и Нр 2-2. Эти разновидности белка отличаются друг от друга некоторыми физическими и химическими характеристиками, передаются по наследству и в течение жизни не изменяются. Всех людей в соответствии с этим можно разделить на три группы. Причем у животных антигены системы Нр не обнаружены.

Существует более 20 других сывороточных и эритроцитарных систем, определение которых возможно в большей степени в жидкой крови, нежели в пятнах. Поэтому использование их в судебно-медицинской практике ограничено.

2.1.1. Технология определения групповой принадлежности пятен крови

Определение групповой принадлежности основано на выявлении антигенов той или иной системы. Остановимся на определении антигенов системы АВ0, так как антигены этой системы наиболее устойчивы к внешним воздействиям, долго сохраняются в сухой крови.

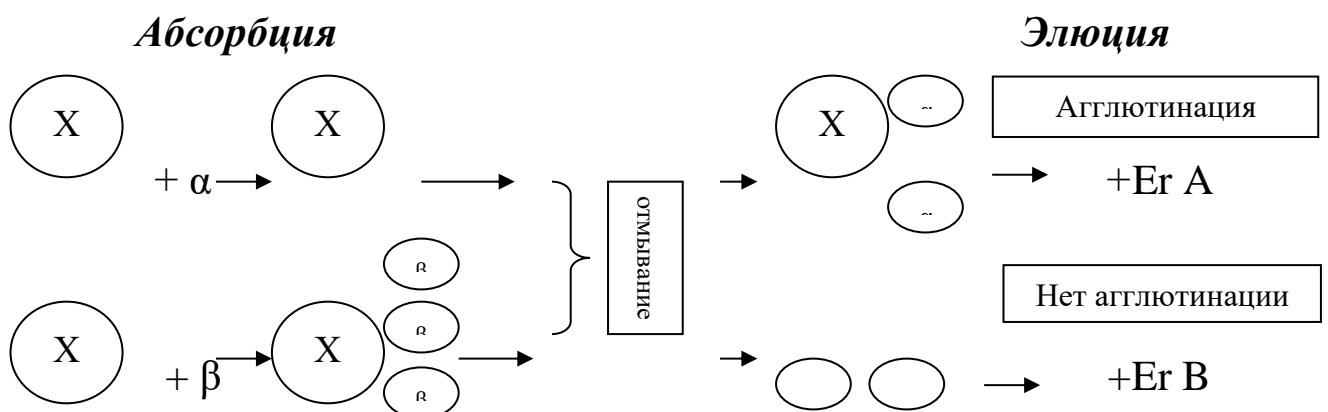
Для установления групповой принадлежности крови в пятнах используется так называемая реакция абсорбции-элюции. Суть её заключается в следующем:

Из пятна крови производятся вырезки размером 0,5x0,5 см для определения одного антигена. Таким образом, из каждого пятна готовится несколько вырезок. Кроме того, готовят вырезки из чистых участков предмета, на котором обнаружено пятно. Если возможно, из тканевого полотна выделяются отдельные нити. При необходимости готовятся смывы с пятен крови и контрольных участков предмета-носителя. Вырезки и смывы заливаются как сыворотками анти-А, так и анти-В. В сыворотке анти-А содержатся агглютинины (антитела) α , в сыворотке анти-В, содержатся агглютинины (антитела) β .

Далее происходит следующее:

– наступает фаза **абсорбции**. Длится она 18-20 часов при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. За это время, одноименные антигены из пятна вступают во взаимодействие с агглютинидами из сыворотки. Низкая температура обеспечивает быстрое наступление связи антиген-антитело. Например, если в пятне присутствует антиген А, то он вступит во взаимодействие с агглютинином α . Это соединение произойдет в том ряду, где присутствует сыворотка анти-А. В ряду, где присутствует сыворотка анти-В – соединения не будет. Следующий этап – отмывание от несвязанных антител. Причём отмывание проводится в обоих рядах, так как мы на этом этапе еще не знаем, какой антиген будет выявлен. Затем отмываемые кусочки (ниточки) материала помещаются в пробирки для следующего этапа:

– фазы **элюции**. Дело в том, что связь антиген-антитело непрочная и при повышении температуры до 52°C она разрывается. Фаза длится в течение 25 минут, при этом антитела отделяются от антигенов пятна и переходят в раствор. Следовательно, если на этапе абсорбции связь антиген-антитело не наступила, то и на фазе элюции в раствор ничего не перейдет. Для того, чтобы выяснить, какие антитела имеются в растворе, в пробирки с растворами из каждого ряда помещают по капле взвеси соответствующих эритроцитов заведомо известной группы крови. В ряд, где присутствовала сыворотка анти-А, закапываются эритроциты группы А, в ряд, где присутствовала сыворотка анти-В – эритроциты группы В. Эритроциты несут антигены, а в растворах у нас - антитела. Таким образом, одноименные антигены и антитела вступают во взаимодействие и образуют конгломераты – агглютинаты, которые можно увидеть под микроскопом. Схематично данная реакция представлена на рис. 3



* - В ходе реакции был выявлен антиген А

X – неизвестный антиген

α , β – антитела

Er A, B – стандартные эритроциты групп А и В соответственно.

Рис. 3 Схема реакции по определению антигенов системы АВО

Установление групповой принадлежности по другим системам, проводится в тех случаях, когда по делу проходит лица с одинаковой групповой принадлежностью по системе АВО. Это необходимо для конкретизации экспертных выводов. Указанная технология называется дифференцированием. Но иногда дифференцирование невозможно в связи с недостаточным количеством материала, либо с тем фактом, что проходящие по делу лица имеют одинаковую групповую принадлежность по всем системам. Тогда проводится молекулярно-генетическое исследование.

2.2. Экспертиза по делам о половых преступлениях

Исследование состоит из следующих этапов:

- установление наличия спермы (влагалищных выделений);
- установление их групповой принадлежности.

Для установления наличия спермы в следах на вещественных доказательствах используется основной доказательный метод - морфологический. Суть его заключается в том, что после определенной обработки подозрительных пятен готовятся препараты, в которых под микроскопом эксперт отыскивает форменные элементы – сперматозоиды. Сперма представляет собой жидкую среду – семенную плазму, в которой взвешены морфологические элементы. В состав жидкой фракции спермы входит большое количество белков, липидов, ферментов, витаминов и некоторых других химических веществ. Основным морфологическим элементом – сперматозоиды. В норме, в 1 мл спермы содержится 60-120 млн сперматозоидов. Но часто встречаются патологические состояния, например, некроспермия (неподвижность сперматозоидов), азооспермия (отсутствие

сперматозоидов) и олигоспермия (резкое уменьшение числа сперматозоидов). Поэтому в пятне не всегда можно обнаружить форменные элементы. Но биохимические составляющие жидкой фракции спермы в таком пятне должны присутствовать. Для доказательства действительного отсутствия спермы в следах используются два метода. Это реакция подавления кислой фосфатазы ингибитором (КФ) и реакция на определение простатоспецифического антигена (ПСА), которая применяется в виде теста. Если при исследовании сперматозоиды не обнаружены, КФ и ПСА отрицательные, эксперт вправе сделать вывод о том, что сперма не обнаружена. Если же, в случае отсутствия сперматозоидов, КФ и (или) ПСА положительные, то можно говорить о присутствии в пятне семенной плазмы (семенной жидкости), т.е., по сути, о присутствии спермы.

Кроме того, в следах на вещественных доказательствах в случае совершения половых преступлений могут быть обнаружены эпителиальные клетки: влагалищные, буккальные (клетки слюны), ректальные (клетки прямой кишки). Обнаружение и морфологическую характеристику этих клеток, а также определение их половой принадлежности проводит эксперт-цитолог. Кроме того, в пятне спермы в качестве примеси может присутствовать кровь, слюна, другие выделения. Все эти клетки, выделения, как и сперма, несут ту или иную антигенную характеристику. После обнаружения вышеперечисленных составляющих пятна проводится определение групповой принадлежности реакцией абсорбции-элюции. Техника реакции та же, что и при определении групповой принадлежности крови, отличие лишь в фиксации материала и разведении сывороток.

2.3. Экспертиза выделений

2.3.1. Слюна

Исследование состоит из следующих этапов:

- установление наличия слюны (при необходимости – клеток буккального эпителия);
- установление групповой принадлежности.

Для определения наличия слюны в следах используется так называемая амилазная проба. Слюна является продуктом

деятельности слюнных желез и представляет собой бесцветную вязкую жидкость. Химический состав слюны достаточно сложен. Основную массу составляют белки и аминокислоты. Присутствуют морфологические элементы – клетки протоков слюнных желез, клетки эпителия полости рта – буккальные клетки, микроорганизмы, зерна крахмала. Активной частью слюны как пищеварительного секрета являются ферменты, в частности амилаза. Амилаза - это фермент, способный расщеплять крахмал. На обнаружении активности этого фермента и основан доказательный метод обнаружения слюны.

Видовая принадлежность слюны не определяется. После установления факта наличия переходят к определению групповой принадлежности. Используют реакцию абсорбции-элюции. Антигены выделений зачастую гораздо сильнее, чем антигены крови. Поэтому в ходе фазы элюции связь антиген-антитело может не разорваться и тогда в момент учета результатов агглютинация может не наступить. Поэтому, при определении групповой принадлежности выделений обязательно проводят так называемую пробу на истощение, которая показывает, поглотились ли антитела сыворотки антигенами пятна.

2.3.2. Пот

Исследование состоит из следующих этапов:

- установление наличия пота;
- установление групповой принадлежности.

Для определения наличия пота используется методика выявления аминокислоты серина методом хроматографии. Пот – это продукт деятельности потовых и апокриновых желез. Представляет собой смесь неорганических элементов и органических соединений, растворенных в воде. Кроме того, в поте содержатся морфологические элементы – клетки протоков потовых и апокриновых желез, кристаллы солей, микроорганизмы. Химический состав пота не постоянен, часто меняется в зависимости от состояния обмена веществ организма человека. Наиболее постоянным является присутствие аминокислоты серина. Поэтому именно это органическое соединение и используется для доказательства присутствия пота в пятне. Видовая принадлежность пота так же не определяется.

При определении групповой принадлежности используется та же техника, как и при определении групповой принадлежности слюны.

Слюна и пот являются благоприятным субстратом для развития микроорганизмов, причем пот - в большей степени. Поэтому при определении групповой принадлежности учитывается возможное обсеменение следов микроорганизмами.

2.3.3. Моча

Для определения мочи в пятнах используется так же метод хроматографии. Этим методом выявляют креатинин – органическое соединение, которое содержится в моче постоянно в больших количествах. В таких количествах креатинин содержится лишь в моче, что делает реакцию строго специфичной. Кроме органических и неорганических веществ в моче содержатся кристаллы солей, эпителиальные клетки мочевыводящих путей, микроорганизмы.

Видовую принадлежность мочи можно определить, если в ней присутствует белок. В норме, в моче человека белок не должен присутствовать вообще, либо в очень незначительных количествах. Групповую принадлежность мочи определяют крайне редко.

Кроме вышеперечисленного, при экспертизе вещественных доказательств можно установить наличие кала (ректального эпителия), рвотных масс, молочива (отделяемого молочных желез).

2.4. Экспертиза волос

Судебно-медицинская экспертиза волос – отдельный вид исследования, и основана на установлении морфологического сходства или различия волос-образцов и волос-улик.

Волосы-улики могут быть обнаружены на месте происшествия, на орудиях преступления, одежде проходящих по делу лиц. Обнаруживают и изымают их при первичном и (или) дополнительном осмотре места происшествия. Волосы (объекты, похожие на волосы) относятся к объектам, которые могут быть

утрачены при транспортировке, перемещении, упаковке, поэтому к их изъятию относятся с особой тщательностью.

Волосы – это эпидермальные роговые образования, состоящие из корневой части (луковицы), закрепленной в коже, и стволовой части (стержня), находящейся над поверхностью кожи. В жизнеспособной луковице вырванного волоса имеются клетки с ядрами. Следовательно, по такой луковице можно определить половую принадлежность волос, а также провести молекулярно-генетическое исследование. В стержне волоса центральных слоях находится сердцевина, затем следуют слои коркового вещества. Снаружи расположена кутикула. Сердцевина присутствует в волосах человека не всегда. В корковом веществе расположен пигмент, то самое вещество, которое придает основной цвет волосу. Пигмент представляет собой мелкие зерна, сгруппированные в скопления различной формы. Характер скопления пигмента в волосах одного человека имеет, как правило, постоянный вид, что является отличительным признаком. Кутикула состоит из отдельных клеток, которые в виде черепицы покрывают весь волос. При микроскопическом исследовании края этих клеток представляют собой неровные линии с характерным узором. Такой узор получил название: «рисунок кутикулы».

При исследовании волос судебно-медицинский эксперт описывает и изучает все их макро- и микроскопические характеристики: цвет, форму, длину, толщину, наличие (отсутствие) сердцевины, характер пигмента (его размеры, цвет, форму скопления), характер корневых и периферических концов. На основании этих данных эксперт делает самый первый вывод: о видовой принадлежности волос (человеку или животному принадлежат волосы). Отмечает особенности волос: наличие признаков окраски, обесцвечивания волос, наличие признаков седых (седеющих) волос. Если у волос имеется жизнеспособная луковица – проводится определение половой принадлежности волос. Кроме того, при необходимости можно провести определение групповой характеристики волос реакцией абсорбции-элюции в специальной модификации. Для этого можно использовать и волосы без луковицы или с высохшей луковицей.

Затем все указанные признаки, у волос-улик и волос-образцов, сравниваются и, на основании обнаружения сходных показателей, делается вывод о возможности сходства (различия) исследуемых волос, а также об их особенностях. Для того, чтобы эксперт смог дать конкретный ответ, необходимо предоставить для экспертизы не менее 5 одинаковых волос-улик. Если с места происшествия изъято меньше волос, то эксперт сможет лишь исключить происхождение волос от конкретных лиц, причем только лишь в случае обнаружения резких отличий. В остальных случаях вывод будет иметь неконкретный характер.

3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Молекулярно-генетический идентификационный анализ или генотипирование (в англ. литер. DNA profiling, DNA typing) направлен на выявление индивидуальных особенностей, «особых примет» генетической конституции конкретного человека.

В судебно-медицинской биологической экспертизе в роли основных признаков выступают биохимические показатели (антигенные характеристики крови и тканей, изоформы ряда ферментов). Однако, для конкретной индивидуальной характеристики исследуемых следов, значений этих показателей недостаточно. Например, некоторые биологические признаки, выявляемые антигенами системы АВ0, встречаются у каждого третьего-четвертого человека, а потому вероятность случайного совпадения таких характеристик у разных людей достаточно велика. В последние годы все большее значение приобретают методы молекулярно-генетического исследования, являющиеся на сегодняшний день самым конкретным видом исследования. Однако, проведение молекулярно-генетического исследования не всегда возможно. Это может быть связано с сильным загрязнением следов калом, отсутствием в следах клеток с ядрами (где собственно и расположена ДНК) и некоторыми другими техническими особенностями процесса. Тогда единственной возможностью определения принадлежности следов является биологическое исследование. Оно менее конкретно в части выводов, так же может зависеть от количества и степени загрязненности материала, но более просто в

применении, значительно дешевле, занимает гораздо меньше времени. Наиболее эффективным приемом в области исследования вещественных доказательств можно считать комбинирование биологических и молекулярно-генетических методов.

Молекулярно-генетический анализ обеспечивает наиболее высокий уровень доказательности благодаря тому, что позволяет экспертам дать весьма категоричные выводы о конкретном лице. Например, «следы крови на перочинном ноже, изъятом в ходе выемки у подозреваемого Х., происходят от потерпевшего И.» или «сперма, обнаруженная на трусах малолетней А., происходит от П.». Вероятность происхождения биологических следов от конкретного лица может составлять до 99,999999999999999999999999999999%.

Генетический анализ позволяет выделить особые участки ДНК, имеющие наибольшую изменчивость, которые строго специфичны для каждого индивидуума. Такие участки получили название «локус». Каждый из локусов имеет множество генетических вариантов – «аллелей». Причем у одного локуса может быть 7-10 аллелей, у другого до 20 и более. У каждого человека в каждом локусе свой, сугубо индивидуальный набор аллелей. Определив аллельные варианты каждого локуса для одного человека можно получить, таким образом, его уникальный генетический профиль. Индивидуализирующие признаки, определяемые на уровне ДНК, абсолютно устойчивы и неизменными отображаются в биологических следах человека.

Геном человека содержит около 100 000 генов и состоит из более чем 3 млрд. пар нуклеотидов. При этом молекулы ДНК любых двух людей (не родственников) отличаются в среднем только одним нуклеотидом из каждых 300-400, поэтому практическое значение для целей генетической индивидуализации человека имеют отнюдь не любые гены, а только такие, которые различаются у многих людей, то есть имеют много аллельных форм (вариантов) – гипервариабельные мультиаллельные гены.

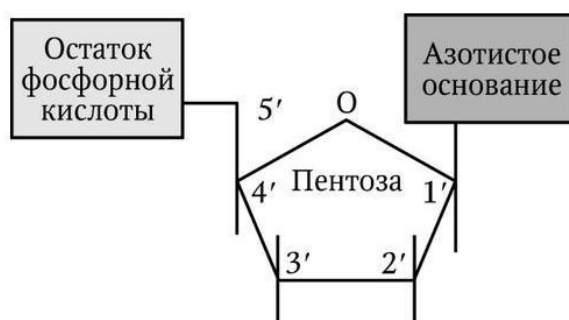
Поскольку хромосомная ДНК содержится во всех ядерных клетках организма, то для судебно-медицинских молекулярно-генетических экспертных исследований пригодны любые биологические субстраты, в которых сохранились хотя бы

единичные ядерные клетки или остатки исходного материала: мягкие ткани, жидкие кровь и выделения, высохшие следы крови и выделений, зубы, волосы, отчлененные части тел и фрагменты частей тел от неопознанных и расчлененных трупов, кости и костные фрагменты.

3.1. Основы молекулярной генетики

Основной носитель наследственной информации – это нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК). Нуклеиновые кислоты – полимеры, мономером которых является нуклеотид (рис. 4). Он включает в себя азотистое основание, углевод пентозу и остаток фосфорной кислоты. Азотистые основания бывают двух типов: пуриновые (аденин и гуанин) и пиримидиновые (тимин, цитозин, урацил). Именно азотистые основания определяют уникальную структуру нуклеиновых кислот.

Рис. 4



Структура нуклеотида

Азотистые основания обозначаются соответствующими буквами А, Т, Г, Ц, У. Формирование линейной полинуклеотидной цепочки происходит путем образования фосфодиэфирной связи пентозы одного нуклеотида и фосфатом другого. Пентозофосфатный остов состоит из 5'-3' связей. Концевой нуклеотид на одном конце цепочки всегда имеет свободную 5' – группу, на другом - 3' – группу

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)

Носитель информации. В ней встречается 4 типа нуклеотидов А, Т, Г, Ц.

Две полинуклеотидные цепочки объединяются друг с другом при помощи водородных связей между азотистыми

основаниями нуклеотидов разных цепей. Соединены азотистые основания по принципу комплементарности А-Т (две водородные связи), Г-Ц (три водородные связи). Полинуклеотидные цепочки всегда антипараллельны. То есть напротив 5'конца одной цепочки находится 3' конец другой.

Структура эукариотического гена

В гене выделяют:

- **экзоны** – участки, кодирующие структуру полипептида,
- **интроны** – участки, не кодирующие структуру полипептида.

Кроме того, в структуре гена имеются регуляторные области.

Удивительной особенностью генома эукариот явились повторяющиеся последовательности, т.е. последовательности, присутствующие в количестве нескольких копий. Выделяют три типа последовательностей:

- уникальные (присутствуют в виде одной или нескольких копий);
- умеренные (присутствуют в количестве от десятка до нескольких тысяч копий на геном);
- высокоповторяющаяся ДНК (от нескольких тысяч до миллиона копий на геном).

Большинство генов представлены уникальными последовательностями. Особое внимание привлекают многократно повторяющиеся последовательности этих областей.

Для целей молекулярно-генетической идентификации личности значение имеют короткие tandemные повторы STR (short tandem repeats): многократно повторяющиеся определенные последовательности пар нуклеотидов, расположенные, как правило, в не кодирующей части гена.

Именно STR-локусы (аллельные варианты STR-локусов) и являются целью идентификационного ДНК анализа.

3.2. Этапы молекулярно-генетической идентификации личности

Технология молекулярно-генетической идентификации личности состоит из следующих этапов:

- выделения ДНК из исходного материала,
- ПЦР-амплификации специфических участков на базе этой ДНК (своего рода «клонирование» необходимых участков выделенной ДНК),
- фрагментного анализа (фракционирования с помощью электрофореза в гелевой среде продуктов амплификации),
- интерпретации результатов.

3.2.1. Выделение ДНК

Выделение ДНК (извлечение ДНК из ядер клеток) – многоэтапная процедура, которая предусматривает разрушение (лизис) клеточных структур, экстракцию ДНК в раствор, очистку ДНК от продуктов лизиса, концентрирование очищенной ДНК.

Существуют также методики, позволяющие получать препараты ДНК без применения органических растворителей, например, экспресс-метод с использованием неорганического реагента «Килекс» (Chelex 100). Это менее трудоемкий, более простой метод выделения ДНК, который, однако, не предусматривает фазы очистки и концентрации ДНК и дает получение грубого лизата (продукта разрушения) клеток, а потому применяется лишь в некоторых случаях. Однако, данный метод пригоден для извлечения ДНК в случаях незначительного количества исходного биологического материала, например, когда в наличии имеется только одна жизнеспособная волосная луковица, следы пота, брызги крови и т.д. Лизат, полученный таким образом, будет содержать возможный максимум ДНК, но отрицательной стороной данного метода является присутствие в растворе различного рода примесей и загрязнений. Поэтому данный метод не подходит для выделения ДНК из гнилостно-измененного материала, костных и мышечных фрагментов, джинсовой ткани и т.п.

Отдельный частный случай – выделение ДНК из спермы и смешанных с ней следов (крови, клеток влагалищного,

буккального и ректального эпителия). Сперматозоиды устойчивы к стандартным реагентам процедуры выделения ДНК, а потому требуют введения особых реагентов (например, β -меркаптоэтанола). В смешанных со спермой следах требуется двухэтапная процедура разрушения клеток, чтобы разделить ДНК мужчины-донора спермы и ДНК клеток потерпевших (крови, эпителия) при изнасиловании. Данная процедура называется дифференциальным лизисом и требует точного соблюдения протокола проведения реакций.

На сегодняшний день для выделения ДНК чаще всего используют фенол-хлороформный и сорбентный методы, а также метод с использованием магнитных частиц.

1. Фенол-хлороформный

А) Лизис клеточных структур проходит в буферном растворе, основным веществом которого является трисгидроксиаминометан (ТРИС), органическое соединение, позволяющее на протяжении длительного времени сохранять постоянство физико-химических свойств раствора. Кроме того, в буферном растворе присутствует NaCl для имитации клеточных условий, детергент (SDS), взаимодействующий с органическими соединениями, который позволяет в дальнейшем удалить из раствора всю связанную с ним «органику», а также этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), соединение, блокирующее ионы металлов. Обязательной составляющей раствора является протеиназа К – фермент, разрушающий белковую оболочку клетки. Процесс протекает при температуре $+56^{\circ}\text{C}$ в течение часа. В результате в растворе оказывается ДНК, фрагменты белков и липиды.

Б) Стадия экстракции ДНК. При помощи фенола и хлороформа из раствора извлекается все, кроме ДНК. Дополнительная очистка хлороформом позволяет удалить из раствора остатки фенола и липиды. В результате последовательных связываний и центрифугирования в растворе остается ДНК.

В) Стадия очистки ДНК. ДНК нерастворима в этаноле. При соединении с этанолом ДНК выпадает в осадок и извлекается центрифугированием.

Г) **Концентрирование ДНК.** Осажденная ДНК подсушивается на воздухе и растворяется в любом объеме буфера, содержащего ТРИС и ЭДТА. Объем раствора зависит от исходного количества материала, предполагаемого выхода ДНК и необходимой ее концентрации.

Данный метод трудоемок и весьма вреден, поскольку и фенол, и хлороформ являются общеизвестными канцерогенами. Однако данный метод незаменим при работе с гнилостно изменёнными объектами, а также показал хорошие результаты при работе с костными останками.

2. Сорбентный

В данном методе, так же, как и в предыдущем, присутствуют все четыре описанные выше стадии. Основное отличие в стадиях экстракции и очистки ДНК. Экстракция ДНК проходит на сорбенте на основе силикагеля за счет электростатического взаимодействия. Процесс проходит на специальных сорбирующих колонках, выпускаемых разными производителями. Промышленностью разных стран выпускаются специальные наборы, в которые входит полный перечень всех необходимых химических реагентов, «пластика» и расходных материалов. Сорбент с ДНК извлекают из раствора, промывают этанолом. Процесс извлечения ДНК с сорбента происходит в буферной среде при нагревании.

3. Метод магнитных частиц

Магнитные частицы – это парамагнитные полимерные шарики очень малого размера, покрытые специальным полимерным составом, связывающим ДНК из раствора. Для образования комплекса ДНК и полимера на поверхности частиц необходимо присутствие мультикомпонентных химических смесей. У разных производителей состав реагентов в наборах для выделения различен, однако используемый в них принцип действия един.

На первой стадии, так же, как и в предыдущих методах, ДНК извлекается из клетки при помощи лизирующего буфера. На второй стадии происходит связывание ДНК с магнитными частицами. В растворе остаются белки и липиды разрушенной клетки, а также различные химические соединения, имеющиеся

на поверхности предмета-носителя (в случае получения ДНК из следов на вещественных доказательствах). Пробирки с указанным раствором помещаются на магнитный штатив. Магнитные частицы со связанной с ними ДНК «налипают» на стенке пробирки, обращенной к магнитному штативу. В таком положении производится последовательная промывка магнитных частиц различными по составу буферными смесями для того, чтобы смыть с поверхности магнитных частиц остатки загрязнений. В результате на поверхности магнитных частиц остается чистая ДНК, которая извлекается этанолом, подсушивается и элюируется в ТЕ-буфер. Данный метод пригоден для работы с сильно загрязненными и гнилостно-измененными объектами, костными фрагментами. Потери материала незначительны.

3.2.2. Амплификация ДНК

ПЦР (полимеразная цепная реакция) – «сердце» молекулярно-генетической идентификации. Метод был разработан американской корпорацией «Cetus» в 1985-86 г.г. В основу метода легли идеи и эксперименты К. Мюллиса, удостоенного в 1993 г. Нобелевской премии по химии. Применительно к судебной-экспертной практике значение ПЦР заключается в том, что реакция позволяет выделить и размножить любую необходимую для анализа последовательность ДНК (строго определенный участок) в количестве, превышающем исходное, в десятки и даже сотни миллионов раз. Полученная на этапе выделения хромосомная ДНК является матрицей, на базе которой идет синтез копий определенного участка ДНК. Эта реакция проводится в специальном приборе, который называется «программируемый термоциклер» (амплификатор). Это прибор, который поддерживает необходимый температурный уровень реакции: она проходит 25-35 циклов нагрева и охлаждения в интервале температур от 50 до 95°C. За 20 циклов амплификации количество синтезированных молекулярных копий исходного фрагмента ДНК составляет примерно 1 миллион, что позволяет работать с малыми количествами биологического материала. Выбор параметров амплификации зависит от последующего

способа разделения полученных фрагментов ДНК (капиллярный или вертикальный электрофорез) и исходных реагентов (наборов), позволяющих определить тот или иной набор локусов (генетический профиль объекта).

3.2.3. Фрагментный анализ (электрофорез)

Следующий этап – электрофоретическое разделение продуктов амплификации. Электрофорез – это разделение молекул под действием электрического поля на различных носителях. В качестве носителя выступает полиакриламидный гель. Он имеет пористую структуру. При прохождении сквозь поры геля смеси различных молекул происходит её разделение на фракции в зависимости от величины электрического заряда молекул, их массы и размера. В результате образуются группы одинаковых молекул, которые задерживаются в геле на определенном для каждой группы расстоянии от линии начала движения. После специальной окраски эти группы можно увидеть невооруженным глазом. Данная картина называется электрофореграмма. После прочтения фореграмм и проведения специфических расчётов эксперт может сделать вывод о принадлежности следов биологического происхождения конкретным лицам.

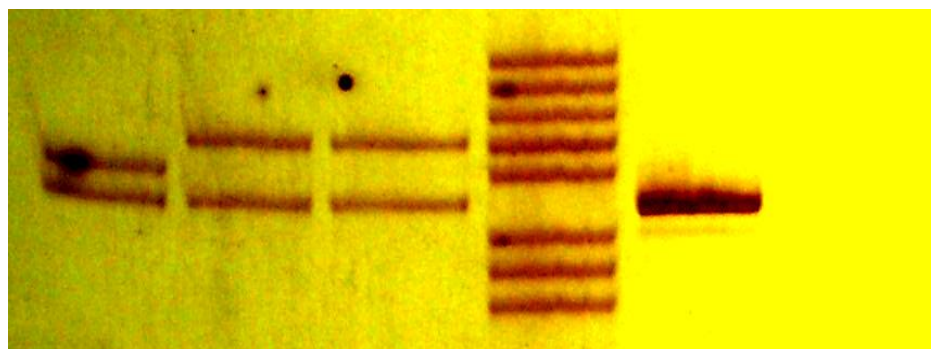
В настоящее время в практике судебно-медицинской идентификации личности и установления кровного родства используются два метода электрофореза: вертикальный электрофорез в ПААГ (полиакриламидный гель) и капиллярный электрофорез. Физический смысл обоих процессов одинаков: разделение макромолекул на группы в полимерном носителе под действием электрического тока. Существенно отличается аппаратная база, способ детекции и интерпретация полученных результатов.

А) Вертикальный электрофорез в ПААГ



Рис. 5. Камера для вертикального электрофореза

Данный процесс проходит в специальных камерах (рис.5), с использованием источника тока с регулируемыми параметрами. ПААГ готовится непосредственно перед проведением исследования согласно установленному протоколу. Подготовленные пробы, меченые специальными красителями (бромфеноловый синий), вносятся в карманы ПААГ и подвергаются электрофоретическому разделению в течение 1-1,5 часов. После проведения электрофореза гели с разделенными фрагментами извлекаются из камер и окрашиваются согласно протоколу. В результате группы одинаковых молекул каждой пробы проявляются в виде полос, соответствующих аллельным вариантам того или иного локуса (рис.6). Обязательным условием является внесение для каждого локуса соответствующего аллельного маркера. Аллельный маркер – это заранее синтезированный набор всех возможных для конкретного локуса аллельных вариантов. Поставляется производителем вместе с наборами реагентов для типирования ДНК.



1 - объект 1
 2 - объект 2
 3 - объект 3
 М – аллельный маркер
 К+ - положительный контроль
 К- - отрицательный контроль выделения ДНК

1 2 3 М К+ К-

Рис. 6. Электрофореграмма локуса CSFPO (не автоматизированный метод)

Б) Капиллярный электрофорез

Данный метод основан на разделении ПЦР-продуктов в кварцевом капилляре под воздействием электрического тока. Для проведения такого электрофореза необходимо специальное оборудование: генетический анализатор. Промышленностью разных стран выпускается ряд таких приборов, различающихся оснащением и базой необходимых реагентов. Принцип работы этих приборов, как правило, одинаков и заключается в следующем. Проба автоматически забирается в капилляр, предварительно заполненный буфером. На концы капилляра подается высокое напряжение, и компоненты смеси начинают двигаться по капилляру с разной скоростью, которая зависит от электрического заряда и массы компонента. В связи с этим разные ПЦР продукты в разное время достигают зоны детекции. Детекция, как правило, лазерная флуоресцентная. Пробы предварительно мечены флуоресцентными красителями с максимумом излучения при определенной длине волны для каждого красителя. Капилляры покрыты полимерным покрытием, не пропускающим УФ-излучение, за исключением участка «зоны» детекции. В окне детекции происходит облучение пробы (а значит и «пришитых» к фрагментам ДНК красителей) узким пучком лазера. Красители поглощают свет, а затем флуоресцируют более длинной волной во всех направлениях.

Прибор собирает испущенный свет (флуоресценцию) с помощью специальной оптической системы. Специальная программа генерирует электрофореграмму для каждой краски и проводит первичный анализ результатов. Последующая обработка результатов производится с помощью дополнительной программы. В результате формируется общая картина, в которой данные представлены в виде графика из пиков различной интенсивности (рис. 7).

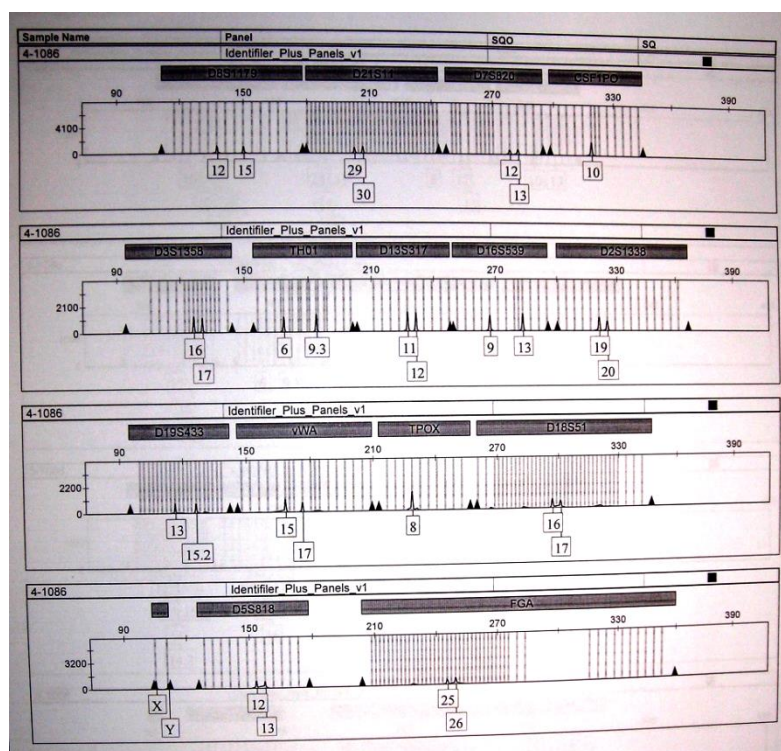


Рис. 7. Электрофореграмма (автоматизированный метод)

3.2.4. Интерпретация и обработка результатов исследований

По окончании инструментальных и лабораторных исследований эксперт в своем распоряжении имеет информацию о качественных и количественных характеристиках генетического профиля объекта (индивидуума). Эти характеристики требуют экспертной оценки, с тем, чтобы в дальнейшем можно было сформулировать экспертные выводы. Помимо «прочтения» электрофореграмм и учета полученных

результатов, их необходимо подвергнуть математической обработке для определения степени вероятности происхождения следов на вещественных доказательствах от конкретного лица, проходящего по делу, либо для определения степени вероятности кровного родства. Основой данных расчетов является Байесова вероятность, традиционно используемая в популяционных исследованиях. Вероятность классически выражается в процентах. Для расчета используются опубликованные частоты встречаемости аллельных вариантов всех используемых в настоящее время локусов.

Международным стандартом криминалистического генотипирования является система CODIS, разработанная в США в 1997 году. В эту систему на данный момент входят 13 аутосомных (не сцепленных с полом) локусов, обязательных для типирования и создания баз криминалистического учета во всем мире. Начиная с 1997 года спектр локусов, доступных для типирования значительно увеличился и насчитывает более 24 локусов, многие из которых содержат до 25 возможных аллельных вариантов. Промышленностью разных США, Германии, Великобритании и России выпускаются различные наборы как для автоматизированного, так и для не автоматизированного анализа ДНК. Выбор экспертом тех или наборов обусловлен составом локусов, техническими и финансовыми возможностями лаборатории. В любом случае, необходимо стремиться к тому, чтобы для исследования было выбрано как можно больше локусов, что позволяет получить наиболее высокую степень вероятности при установлении сходства исследуемых объектов.

Молекулярно-генетическая экспертиза также позволяет определить половую принадлежность биологических следов (крови, слюны, клеток) что ещё более конкретизирует экспертные выводы и что особенно важно при невозможности проведения цитологического исследования (например, при непригодности ядер клеток или их малом количестве, при сильном обсеменении препаратов микрофлорой и т.д.). Примеры экспертных выводов: «препарат ДНК, выделенный из крови на носовом платке, изъятом из брюк гр-на И.А.В., представляет собой ДНК женской половой принадлежности» или «препараты ДНК, выделенные из

двух окурков сигарет, обнаруженных в садовом домике, представляют собой ДНК мужской половой принадлежности».

В случаях, когда размер следов невелик (например, брызги крови), когда следы подвергались уничтожению (замыванию), когда предмет-носитель может оказывать неблагоприятное специфическое влияние (красители джинсовой ткани) или он негигроскопичен, т.е. не впитывает влагу (болоньевая ткань), либо когда объект исследования сильно загрязнен (окурки сигарет сильно обпачканы почвенной грязью), когда по делу проходит несколько лиц, а также при особо тяжких преступлениях (особенно половых) целесообразно проводить молекулярно-генетическую экспертизу.

4. ДРУГИЕ МЕТОДЫ СУДЕБНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами судебно-биологического исследования являются клеточные элементы, изучаемые цитологическими методами, а также фрагменты костей, ногтей, мышечной и иной ткани. Изучение перечисленных объектов позволяет установить их видовую, групповую, половую, региональную и индивидуальную принадлежность. Например, половая принадлежность устанавливается выявлением в интерфазных ядрах клеток специфических для пола структур полового хроматина, который является морфологическим выражением различий в хромосомном наборе у лиц мужского и женского пола. Оценка полового хроматина позволяет выявить и разные виды аномалий полового развития: разновидности гермафродитизма, полисомий и пр.

Объектами судебно-биологической экспертизы могут быть не только живые, но, зачастую, и погибшие клетки. В этом случае морфология объектов исследования могут быть обусловлена как процессами, произошедшими в самом организме (физиологическими или патологическими), так и в период после их образования в следах. Изменения могут быть вызваны и механическими повреждениями клеток. Учет этих изменений при анализе материала и правильный вывод о пригодности клеток для

разрешения экспертных вопросов является важным этапом судебно-биологического исследования.

5. ВОПРОСЫ, РАЗРЕШАЕМЫЕ ПРИ СУДЕБНО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ

I. При экспертизе крови

1. Имеются ли на представленных предметах следы крови?
2. Какова их видовая принадлежность?
3. Какова групповая принадлежность обнаруженных следов крови?
4. Какова половая принадлежность крови?
5. Какова региональная принадлежность крови?
6. Может ли кровь принадлежать конкретному лицу?

II. При экспертизе выделений

А. Спермы

1. Имеются ли на представленных предметах следы спермы?
2. Какова групповая принадлежность обнаруженных следов спермы?
3. Может ли сперма принадлежать конкретному лицу?

*Примечание: параллельно может проводиться цитологическая экспертиза на предмет обнаружения в пятне со спермой клеток влагалищного эпителия (женских клеток).

Б. Слюны

1. Имеются ли на представленных предметах следы слюны?
2. Какова групповая принадлежность обнаруженных следов слюны?
3. Какова половая принадлежность слюны?
4. Может ли слюна принадлежать определенному лицу?

В. Пота

1. Имеются ли на представленных предметах следы пота?

2. Какова групповая принадлежность обнаруженных следов пота?
3. Может ли пот принадлежать конкретному лицу?

Г. Мочи

1. Имеются ли на представленных предметах следы мочи?
2. Какова видовая принадлежность мочи?
3. Какова групповая принадлежность обнаруженных следов мочи?
4. Какова половая принадлежность мочи?
5. Может ли моча принадлежать определенному лицу?

III. При экспертизе волос

1. Являются ли представленные на экспертизу объекты волосами?
2. Какова их видовая принадлежность?
3. Региональное происхождение волос?
4. Каков механизм отделения волос?
5. Особенности исследуемых волос?
6. Какова групповая принадлежность волос?
7. Какова половая принадлежность волос?
8. Могут ли волосы принадлежать конкретному лицу?

IV. При экспертизе фрагментов костей, ногтей, мышечной и иной ткани

1. Принадлежат ли фрагменты костей, тканей и т.д. человеку?
2. Какова групповая принадлежность фрагментов?
3. Какова половая принадлежность фрагментов?
4. Не могли ли обнаруженные фрагменты произойти от определенного человека?

V. При цитологической экспертизе

1. Имеются ли на орудии травмы (транспортном средстве, в подногтевом содержимом с рук, на смыве с полового члена, на предметах одежды) какие-либо клетки животного происхождения?

2. Какова региональная принадлежность клеток?
3. Какова половая принадлежность клеток?
4. Не могли ли клетки произойти от определенного лица?

6. ЭКСПЕРТНЫЕ ВЫВОДЫ

Анализируя все данные, полученные в ходе исследования, эксперт переходит к заключительному этапу – составлению экспертных выводов. Вначале дается групповая характеристика крови проходящих по делу лиц. Затем конкретизируются факты наличия или отсутствия тех или иных следов на предметах, представленных на экспертизу. В случае обнаружения следов биологического происхождения дается видовая и групповая характеристика этих следов, при необходимости – половая, а затем – сравнение ее с групповой характеристикой потерпевшего, подозреваемого, обвиняемого, свидетеля, в зависимости от обстоятельств дела. Относительно происхождения исследуемых объектов от конкретного человека экспертные выводы формулируются в одном из двух вариантов: «исключается» или «не исключается», то есть категорическим является лишь вариант исключения. В большинстве случаев, проведенная экспертиза не позволяет утверждать, что объект (кровь, слюна, сперма и т.д.) принадлежит конкретному лицу: выводы носят вероятностный характер. Только молекулярно-генетическое исследование позволяет повысить вероятность происхождения объекта от конкретного лица до 99,9999999999999999999999999999%, что можно считать практически категорическим выводом. В том случае, если следы биологического происхождения не обнаружены, либо не установлена их видовая или групповая (половая, региональная) принадлежность, эксперт обязательно отмечает эти факты в своих выводах.

7. ТЕСТОВЫЕ ВОПРОСЫ

1. Начало формирования судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств приходится на _____.
А) начало XIX века

- Б) конец XIX века
В) начало XX века
Г) середина XX века
Д) конец XX века
- 2 Судебно-медицинская деятельность регулируется _____.
А) Уголовным кодексом
Б) Уголовно-процессуальным кодексом
В) Федеральным законом
Г) Приказом Министерства здравоохранения
Д) Все ответы правильные
- 3 Объектами судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств являются _____.
А) трупы
Б) живые лица
В) образцы крови и выделений человека
Г) вещественные доказательства биологического происхождения
Д) вещественные доказательства биологического происхождения и образцы крови и выделений человека
- 4 Образцы крови у трупов изымаются в обязательном порядке при _____.
А) во всех случаях убийств и при подозрении на убийство
Б) при обнаружении трупа неизвестного лица
В) при всех видах транспортной травмы
Г) ответы А и Б правильные
Д) ответы А, Б, В правильные
- 5 Вопросы о наличии тех или иных следов разрешаются при экспертизе _____.
А) крови
Б) выделений
В) волос
Г) ответы А и Б правильные
Д) ответы А, Б, В правильные
- 6 Вопросы о видовой принадлежности обнаруженных следов разрешаются при экспертизе _____.
А) крови
Б) спермы
В) слюны
Г) пота

- Д) все ответы правильные
- 7 При экспертизе волос определяют _____.
- А) видовую принадлежность волос
 - Б) групповую принадлежность волос
 - В) региональную принадлежность волос
 - Г) половую принадлежность волос
 - Д) все ответы правильные
- 8 Образцы крови и смывы с подозрительных следов высушиваются _____.
- А) при комнатной температуре, вдали от солнечных лучей
 - Б) вблизи источника тепла
 - В) под лучами солнца
 - Г) в холодильнике
 - Д) в сушильном шкафу
- 9 Подногтевое содержимое с рук проходящих по делу лиц изымается _____.
- А) с обеих рук в один пакет
 - Б) с обеих рук в два пакета
 - В) с правой руки
 - Г) с левой руки
 - Д) с каждого пальца в отдельные пакеты
- 10 Обнаруженные на месте происшествия волосы _____.
- А) не изымаются
 - Б) изымаются со всех мест в один пакет
 - В) изымаются со всех мест в отдельные пакеты
 - Г) изымаются на липкую ленту
 - Д) изымаются на дактилоскопическую пленку
- 11 Образцы волос с головы человека изымаются _____.
- А) с одной области
 - Б) с двух областей
 - В) с трех областей
 - Г) с четырех областей
 - Д) с пяти областей
- 12 Образцы волос с головы человека _____.
- А) упаковываются в один пакет
 - Б) не упаковываются
 - В) упаковываются в отдельные пакеты соответственно количеству областей

- Г) упаковываются в два пакета (передняя и задняя области головы)
- Д) упаковываются в два пакета (правая и левая области головы)
- 13 Начальный этап экспертизы крови _____.
- А) определение групповой принадлежности
- Б) определение видовой принадлежности
- В) определения наличия крови
- Д) определение половой принадлежности крови
- 14 При определении групповой принадлежности крови по системе АВО определяют _____.
- А) антигены А и В
- Б) антигены А, В и Н
- В) антиген Н
- Г) антигены А и Н
- Д) антигены В и Н
- 15 При определении групповой принадлежности крови по системе MNSs определяют: _____.
- А) антигены М и S
- Б) антигены М и N
- В) антиген М
- Г) антигены N и S
- Д) антигены М, N, S
- 16 Установление групповой принадлежности следов крови и выделений по системам АВО и MNSs производят _____.
- А) реакцией абсорбции
- Б) реакцией элюции
- В) реакцией абсорбции-элюции
- Г) методом электрофореза
- Д) все ответы правильные
- 17 Установление групповой принадлежности крови по системе Нр производят _____.
- А) реакцией абсорбции
- Б) реакцией элюции
- В) реакцией абсорбции-элюции
- Г) методом электрофореза
- Д) все ответы правильные
- 18 Определение антигенов системы АВО возможно в следах _____.

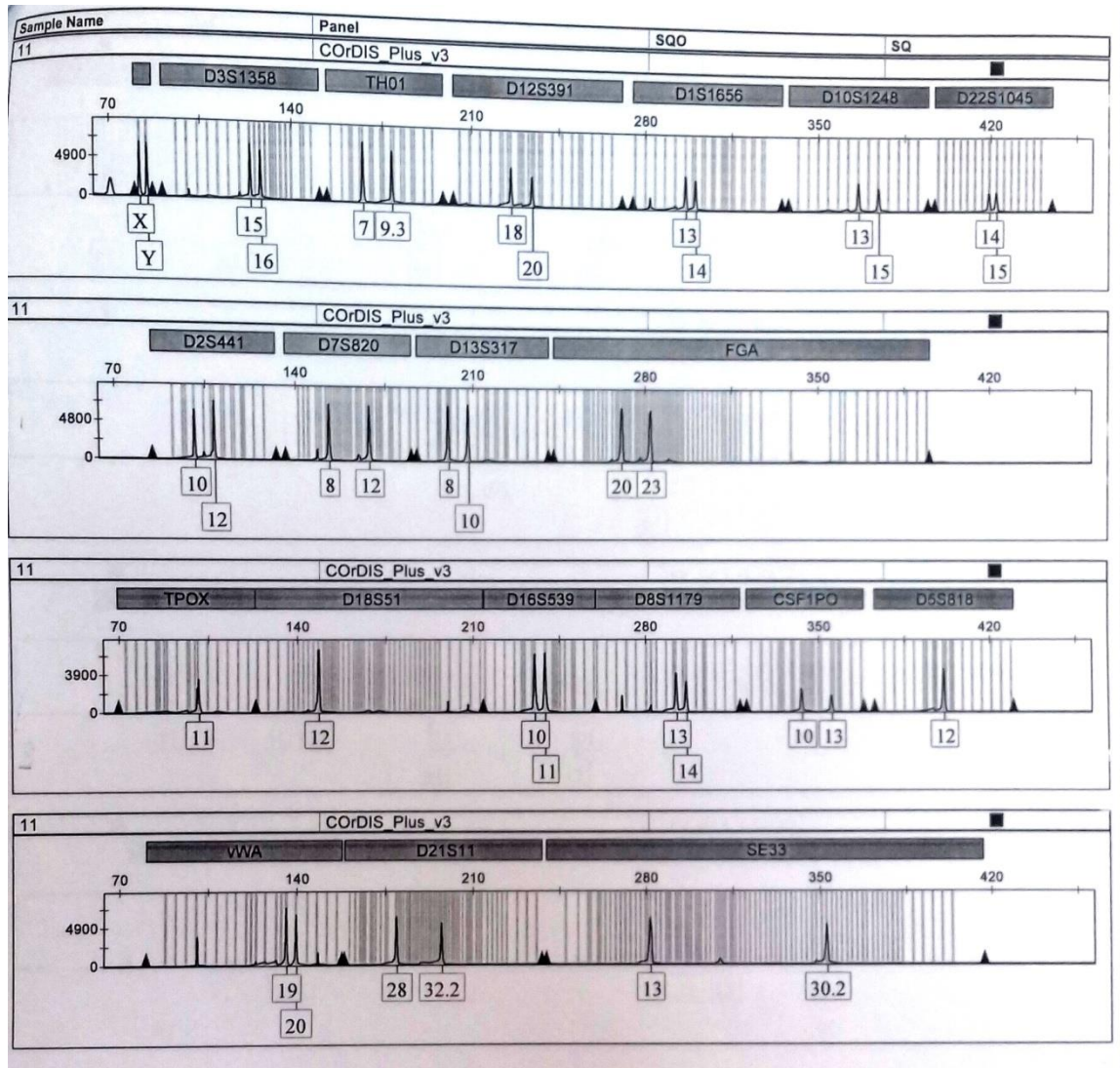
- А) крови
 - Б) выделений
 - В) в волосах
 - Г) ответы А и Б правильные
 - Д) ответы А, Б, В правильные
- 19 Основной доказательный метод установления наличия спермы в следах на вещественных доказательствах _____.
- А) морфологический
 - Б) определение кислой фосфатазы
 - В) определение простатоспецифического антигена
 - Г) хроматографический
 - Д) генетический
- 20 Установление наличия слюны в следах на вещественных доказательствах основано на определении _____.
- А) кислой фосфатазы
 - Б) амилазы
 - В) серина
 - Г) креатинина
 - Д) холина
- 21 Установление наличия пота в следах на вещественных доказательствах основано на определении _____.
- А) кислой фосфатазы
 - Б) амилазы
 - В) серина
 - Г) креатинина
 - Д) холина
- 22 Установление наличия мочи в следах на вещественных доказательствах основано на определении _____.
- А) кислой фосфатазы
 - Б) амилазы
 - В) серина
 - Г) креатинина
 - Д) холина
- 23 Волос состоит из _____.
- а) стержня
 - б) корня и стержня
 - в) луковицы и стержня
 - г) луковицы и корня
 - д) луковицы

- 24 Стержень волоса состоит из _____.
- а) сердцевины, коркового вещества и кутикулы
 - б) сердцевины и коркового вещества
 - в) кутикулы и коркового вещества
 - г) кутикулы и сердцевины
 - д) все ответы правильные
- 25 Этапами молекулярно-генетического исследования являются _____.
- А) выделение ДНК и электрофорез
 - Б) выделение ДНК, амплификация и электрофорез
 - В) выделение ДНК, амплификация, электрофорез, интерпретация результатов
 - В) амплификация, интерпретация результатов
 - Г) электрофорез, амплификация, интерпретация результатов
- 26 Структура заключения эксперта _____.
- А) исследовательская часть и выводы
 - Б) введение, исследовательская часть и выводы
 - В) введение и выводы
 - Г) введение и исследовательская часть
 - Д) все ответы не правильные
- 27 Гомологичными называются хромосомы _____.
- А) Составляющие одну пару и содержащиеся в одном и том же ядре
 - Б) Имеющие одинаковую видовую принадлежность
 - В) Содержащиеся в ядре одной клетки
 - Г) Две соседние хромосомы
 - Д) Имеющие одинаковую длину
- 28 Генетическая функция хромосом _____.
- А) Хранение генов
 - Б) Самовоспроизведение
 - В) Передача генетической информации
 - Г) Рекомбинация генов
 - Д) Все ответы правильные
- 29 В химический состав хромосом входят _____.
- а) ДНК
 - б) гистоновые белки
 - в) РНК
 - г) негистоновые белки
 - д) все ответы правильные

8. ЗАДАЧИ

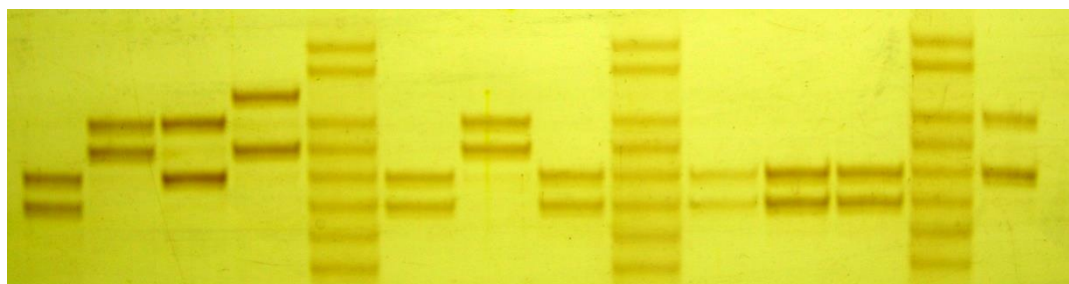
Задача 1.

Прочитать распечатку электрофореза. Определить генотип.



Задача 2.

Рассмотрите электрофореграмму локуса D7S820. Определите аллельные варианты для каждого объекта (1-10). Число повторов аллельного маркера (M) локуса D7S820. составляет от 6 до 14.



1 2 3 4 M 5 6 7 M 8 9 10 M K+

9. ПРАВИЛЬНЫЕ ОТВЕТЫ

Ответы к тестовым вопросам:

- 1 А
- 2 Д
- 3 Д
- 4 Д
- 5 Г
- 6 А
- 7 Д
- 8 А
- 9 Б
- 10 В
- 11 Д
- 12 В
- 13 В
- 14 Б
- 15 Б

16В
17Г
18Д
19А
20Б
21В
22Г
23Б
24А
25В
26Б
27А
28В
29Д

Ответы к задачам:

Задача 1: D3S1358 – 15,16; TH01 – 7, 9.3; D12S391 – 18,20; D1S1656 – 13,14; D10S1248 – 13,15; D22S1045 – 14,15; D2S441 – 10,12; D7S820 – 8,12; FGA – 20,23; TPOX – 11,11; D18S51 – 12,12; D16S539 – 10,11; D8S1179 – 13,14; CSFPO – 10,13; D5S518 – 12,12; vWA – 19,20; D21S11 – 28, 32.2; SE33 – 13,30.2

Задача 2: 1 – 8,9; 2 – 10,11; 3 – 9,11; 4 – 10,12; 5 – 8,9; 6 – 10,11; 7 – 8,9; 8 – 8,9; 9 – 8,9; 9 – 8,9; 10 – 8,9

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

Список рекомендованной литературы:

1. Барсегянц Л.О. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств (кровь, выделения, волосы): Руководство для судебных медиков. – М. : Медицина, 1999. – 272 с.

2. Барсегянц Л.О., Верещака М.Ф. Морфология волос человека и судебно-медицинская экспертиза. – М. : Медицина, 1988. – 215 с.

3. Барсегянц Л.О., Крюков В.Н., Солохин А.А. и др. Судебная медицина. – М. : Медицина, 1997. – 415 с.

4. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. 3-е издание. – М. : Медицина, 2008. – 704 с.
5. Гуртовая С.В. Исследование вещественных доказательств (краткое пособие для судебно-медицинских экспертов). – М., 1995. – 14 с.
6. Захаров И. А. Проведение молекулярно-генетической идентификационной экспертизы по уголовному делу помогло установить серийного насильника и убийцу / И. А. Захаров // Прокурорско-следственная практика. – 2003. – № 3. – С. 21-35.
7. Крюков В.Н. Судебная медицина. – М. : Норма, 2009. – 232 с.
8. Объекты исследования биологического происхождения в системе следственных действий / Э. А. Базикян, В. В. Кучин, П. О. Ромодановский, Е. Х. Баринов. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 104 с.
9. Судебная медицина и судебно-медицинская экспертиза : Национальное руководство / под ред. Ю. И. Пиголкина. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. — 728 с.
10. Томилин В.В., Барсегянц Л.О., Гладких А.С. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств. – М. : Медицина, 1989. – 304 с.
11. Томилин В.В., Пашинян Г.А. Руководство по судебной медицине. – М. : Медицина, 2001. – 576 с.
12. Иванов П.Л. Использование индивидуализирующих систем на основе полиморфизма длины амплифицированных фрагментов (ПДАФ) ДНК в судебно-медицинской экспертизе идентификации личности и установления родства (Методические указания) / Иванов П.Л. // Судебно-медицинская экспертиза. – 1999. – №5. – С. 35-41.
13. Специализированные сайты по судебной медицине: www.Tanatolog.ru; www.forens-med.ru; www.forens-rus.ru; www.webmedinfo.ru; www.consultant.ru
14. Medline – медицинская реферативно-библиографическая база данных/система поиска - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

ПРИЛОЖЕНИЕ 1**Образец (заключения эксперта)**

Министерство здравоохранения...«... бюро судебно-медицинской экспертизы»

Адрес: _____ Телефон/факс

Права эксперта, предусмотренные ст.57 УПК РФ, разъяснены; об ответственности за дачу заведомо ложного заключения по ст.307 УК РФ предупрежден (ы).

Эксперт(ы) _____

**Заключение эксперта
(экспертиза вещественных доказательств)**

№ _____

На основании постановления о назначении судебно-биологической экспертизы, вынесенного ... «___» _____ года, в помещении судебно-медицинской лаборатории ГАУЗ «... бюро судебно-медицинской экспертизы Министерства Здравоохранения ...» врач судебно-медицинский эксперт судебно-биологического отделения..., образование высшее, экспертный стаж работы - ...лет, ...квалификационная категория;

Произвел(и) судебно-медицинскую экспертизу: – футболки, трико, рубашки, трусов и образца крови С., образцов крови Ч., Г.

По делу – об обнаружении трупа С.

При экспертизе присутствовали: фельдшер-лаборант...

Экспертиза начата – «___» 20 __ года.

Экспертиза окончена – «___» 20 __ года.

Вопросы, подлежащие разрешению при экспертизе, и другие разделы «Заключения эксперта» излагаются на _ листах.

На разрешение экспертизы поставлены следующие вопросы:

«1. Имеется ли на представленных предметах кровь человека, сперма, если да, то принадлежит ли она С., Ч., Г. или другому человеку?»

Для разрешения поставленных вопросов в лабораторию из отдела экспертизы трупов была доставлена кровь С. № 1 от «__» 20__ г., в условиях лаборатории взята кровь Ч. № 2 от «__» 2011 года, кровь Г. № 3 от «__» 20__ года.

Обстоятельства дела (из постановления следователя):

«__» 20__1 года, примерно в 12 часов в квартире по адресу г. Казань, ул. Ленина, д. 1, корп. 1, кв. 1 обнаружен труп С. с признаками насильственной смерти...»

Описание вещественных доказательств: Вместе с постановлением следователя в лабораторию «__» 20__ года доставлен полиэтиленовый пакет, перевязанный черной синтетической ниткой, опечатанный круглой мастичной печатью с оттиском: «Следственный комитет Российской Федерации Следственное управление по ... межрайонный следственный отдел. Для пакетов», с сопроводительной надписью: «Уг. дело № «_____» Одежда потерпевшего С. Поняты (две подписи) Следователь (подпись)».

В пакете при вскрытии обнаружены:

- футболка (фото 1) выполненная из синтетического трикотажа жёлтого цвета, с круглым вырезом горловины, обработанным трикотажной резинкой, с короткими рукавами. Вдоль средней оси каждого рукава и вдоль плечевых швов нашиты по три лампаса чёрного цвета. Футболка ношенная, загрязнена. Ширина в плечах 49 см, длина 56 см, длина рукавов 22 см. На передней половине в верхней трети слева, на задней половине вдоль шва резинки горловины, на задней половине в нижней трети справа обнаружены три горизонтальных дефекта ткани в виде разрывов. На лицевой стороне переда в верхней и нижней третях, на обоих рукавах, почти по всей поверхности, и

на спинке, соответственно, обнаружены пять групп пятен буроватого цвета, неопределённой формы, с нечёткими контурами, размером от точки до 23x29 см (объекты 1-5).

- трико (фото 2) из полусинтетического трикотажа чёрного цвета, по верхнему краю собранное на резинку, по нижнему краю каждой штанины пришиты штрипки. Трико ношенное, загрязнено. Окружность в поясе при нерастянутой резинке 82 см, длина по боковому шву 96 см. На лицевой стороне правой передней половины трико в нижней трети и на лицевой стороне левой передней половины трико в верхней трети обнаружены соответственно две группы пятен коричневого и тёмно-коричневого цвета, неопределённой формы, с нечёткими контурами, размером примерно от 1x1,4 см до 6x8 см (объекты 6,7). На лицевой стороне правой задней половины трико в верхней трети вдоль резинки и в средней трети вдоль бокового шва обнаружены два пятна коричневого цвета, неопределённой и неправильно округлой формы, с четкими и нечёткими контурами, размером занимаемой площади 2x2 см (объект 8) и от точки до 2x2,2 см (объект 9). На лицевой стороне левой задней половины трико в верхней трети обнаружено аналогичное пятно размером 1x1 см (объект 10). На остальной поверхности трико имеются следы грязно-серого и серо-белого цвета, различные по форме и величине.

- рубашка (фото 3) выполненная из хлопчатобумажного материала синего цвета, с отложным воротником, с длинными рукавами на манжетах, на сквозной застёжке на семь пластмассовых пуговиц синего цвета (одна отсутствует). Манжеты рукавов застегиваются на аналогичные пуговицы. Рубашка ношенная, загрязнена. Ширина в плечах 47 см, длина 74 см, длина рукавов 56 см. На лицевой стороне правой и левой полочки в верхней трети обнаружены две обширные группы пятен буроватого цвета, неопределённой формы, с нечёткими контурами, размером примерно от 1x1 см до 19x22 см (объекты 11,12). На спинке в верхней трети обнаружено обширное пропитывающее пятно буроватого цвета, неопределённой формы, с нечёткими контурами, занимающее почти 1/3 спинки (объект 13). На поверхности обоих рукавов в верхней и нижней третях обнаружены две группы пятен коричневато-буроватого цвета,

неопределённой формы, с нечёткими контурами, размером от 0,3x0,5 см до 7x19 см (объекты 14,15).

- трусы (фото 4), выполненные из хлопчатобумажного трикотажа с рисунком в вертикальную полоску серого, тёмно-серого, белого, черного и темно-синего цвета, по верхнему краю собранные на широкую резинку. Трусы ношенные, загрязнены. Окружность в поясе при нерастянутой резинке 78 см, длина 35 см. На лицевой стороне левой передней половины трусов на резинке обнаружено пятно коричневого цвета, неопределённой формы, с нечёткими контурами, размером 1x2,5 см (объект 16). На лицевой стороне задней левой половины трусов вдоль нижнего края обнаружено пятно коричневатого цвета, неправильно овальной формы, с нечёткими контурами, размером 0,5x1 см (объект 17). На остальной поверхности трусов, с лицевой и изнаночной сторон, имеются следы сероватого и грязно-серого цвета, различные по форме и величине.

ИССЛЕДОВАНИЕ

При производстве экспертизы были применены следующие технические средства:

1. Термостат электрический суховоздушный ТС-80, диапазон температур в рабочей камере от +28⁰С до + 35⁰С; напряжение сети 220 В;
2. Центрифуга лабораторная медицинская ОС-6М с частотой вращения вала привода до 6000 min⁻¹ предназначена для разделения жидких систем плотностью до 2 g/cm³ в поле центробежных сил;
3. Холодильник бытовой, диапазон температур 0 - + 10⁰С;
4. Микроскоп биологический БИОМЕД-2, объектив 10х (40х), окуляр 16х, наблюдения в проходящем свете в светлом поле.

Определение наличия крови в следах на вещественных доказательствах

Исследованию подвергали вырезки ткани из всех описанных на вещественных доказательствах следов. В качестве контроля в реакцию вводили заведомую кровь из архива лаборатории.

Тонкослойная хроматография – из всех описанных на вещественных доказательствах следов с помощью физиологического раствора готовили вытяжки. Время экстрагирования 18 часов в условиях холодильника. По капле испытуемых и контрольной вытяжек послойно наносили на силуфолевые пластинки, последние прогревали и на 20 минут помещали для разделения в камеры, насыщенные смесью бутанола, ледяной уксусной кислоты и дистиллированной воды в соотношении 4:1:2. После извлечения из камер пластинки просушивали и последовательно проявляли 0,1% спиртовым раствором основного и подкисленного бензидина и 3% перекисью водорода.

При учете результатов отмечено следующее: с вытяжками из следов коричневого, коричневатого, темно-коричневого буроватого и коричневато-буроватого цвета получен положительный результат – наличие голубых образований на одном уровне с вытяжками из заведомого образца крови. С вытяжками из контролей и следов сероватого, грязно-серого и серо-белого цвета получен отрицательный результат.

Таким образом, на футболке (об. 1-5), трико (об. 6-10), рубашке (об. 11-15) и трусах (об. 16,17) потерпевшего С. установлено присутствие крови.

Определение наличия спермы в следах на вещественных доказательствах

Поиски спермы осуществляли на следующем материале: на футболке, трико, рубашке и трусах С.

а) **«Скоростной» метод** – из указанных следов вырезали ниточки, разволокняли их на предметных стёклах в капле 0,5% раствора эритрозина в аммиаке и микроскопировали. При этом сперматозоиды не обнаружены.

б) **Метод концентрированного извлечения сперматозоидов** – из указанных следов вырезали по 7-8 кусочков, помещали их в пробирки и с избытком заливали 10 % раствором аммиака. Экстрагирование при комнатной температуре 20 часов. Кусочки извлекали, отжимали, высушивали и оставляли для возможного последующего изучения, а жидкости центрифугировали и из

осадков готовили мазки. После подсушивания, фиксации и окраски 0,5% эритрозинном мазки подвергали микроскопии. При исследовании сперматозоидов не обнаружено.

в) Реакция подавления кислой фосфатазы (КФ) ингибитором - указанные выше следы изучали в названной реакции. Из объектов и предметов носителей вырезали материал, из которого готовили навески по 3 мг. К приготовленному материалу в пробирках добавляли по 1 капле субстратной смеси и по 3 капли 0,25М водного раствора винной кислоты (ингибитор). Смеси 3,5 часа выдерживали в термостате при 37 С. По истечении указанного срока пробирки извлекали, в них добавляли по 1-2 капли водного раствора аммиака. При дальнейшем учете результатов реакции установлено появление розоватого окрашивания (положительный результат) лишь с вытяжкой из заведомого образца спермы. С остальными вытяжками получен отрицательный результат.

Таким образом, на футболке, трико, рубашке и трусах С. спермы не найдено.

Определение видовой принадлежности крови в пятнах на вещественных доказательствах

Вид крови устанавливали в объектах 1-17, в которых была найдена кровь. В качестве контроля вводили незапятнанные участки предметов-носителей. Исследование проводили методом кольцепреципитации.

Предварительная проба Геллера положительная.

Кольцепреципитация - исследованию подвергали вытяжки из объектов 1-17, приготовленные для определения наличия крови, а также вытяжки предметов-носителей. В реакции использованы сыворотки, преципитирующие белки крови человека, рогатого скота, свиньи, птицы, предварительно проверенные в отношении активности и специфичности. В пробирках путём наслаивания приводили в контакт испытуемые вытяжки и указанные сыворотки. В результате проведённой реакции оказалось, что кольца преципитации в виде белых дисков получены на границе соприкосновения сыворотки, преципитирующей белок крови человека, и вытяжки из

указанных объектов. С остальными сыворотками вытяжки из указанных объектов дали отрицательный результат.

Контроли работали надлежащим образом.

Таким образом, проведённым исследованием установлено, что кровь в объектах 1-17 принадлежит человеку.

Определение групповой принадлежности жидкой крови

Система АВО – жидкую кровь центрифугировали до отделения сыворотки от эритроцитов. Сыворотку испытывали 1% взвесью стандартных эритроцитов А и В. Из испытуемых эритроцитов готовили 1% взвесь, которую приводили во взаимодействие с изогемагглютинирующими сыворотками анти-А и анти-В. Все стандарты перед употреблением были соответствующим образом проверены. Реакция протекала в пробирках. Соотношение ингредиентов 1:2 – 2 капли сыворотки и 4 капли взвеси эритроцитов. Макро- и микроскопический учёт осуществляли после центрифугирования. Полученные результаты внесены в таблицу №1.

Система MNSs – реакцию проводили на плоскости. 1 каплю жидкой крови приводили во взаимодействие с 1 каплей цоликлонов анти-М и анти-Н. После покачивания учёт результатов макро- и микроскопически.

Таблица №1

№	Исследуемые объекты	Станд. сыворотки:		Станд. эритроциты		MNSs	
		анти-А	анти-В	А	В	М	Н
1.	Кровь С.	+	-	-	+	+	+
2.	Кровь Ч.	+	-	-	+	+	+
3.	Кровь Г.	+	-	-	+	-	+

Таким образом, проведёнными исследованиями установлено следующее:

Кровь С. относится к Аβ, MN группе.

Кровь Ч. относится к Аβ, MN группе.

Кровь Г. относится к Аβ, N группе.

Определение групповой принадлежности крови в пятнах

Метод абсорбции-элюции- исследованию подвергали вырезки из объектов 1-17, предметов-носителей, образцы крови проходящих по делу лиц, а также заведомые образцы крови всех групп по системе АВО.

Фиксация материала 20 минут метанолом.

Для абсорбции использованы изогемагглютинирующие сыворотки анти-А, анти-В титре 1:128. Время абсорбции 20 часов в условиях холодильника. Отмывание от свободных антител охлаждённым физиологическим раствором. Элюция в физиологический раствор в термостате при +50*С в течение 25 минут. Затем к элюатам добавляли по 1 капле соответствующих эритроцитов в 1% взвеси. Макро- и микроскопический учёт после центрифугирования и встряхивания пробирок.

Результаты представлены в таблице.

Система MNSs

Выявление антигенов М и N производили методом абсорбции-элюции. Исследовали объекты 1-17, образцы крови проходящих по делу лиц и заведомые образцы крови групп OM и ON. Использовали цоликлоны анти-М и анти-N. Материал заливали двумя каплями цоликлонов. Абсорбция 18 часов в условиях холодильника. Отмывание пятикратное (для анти-М) и троекратное для анти-N. Элюция на предметных стеклах в 0,3% взвесь тест-эритроцитов групп OM и ON соответственно, в термостате при температуре + 48⁰ С в течение 30 минут. Экспозиция при комнатной температуре 2,5 часа. Учет результатов микроскопически, полученные результаты внесены в таблицу №2.

Таблица №2

№	Предметы, объекты	РАЭ		MNSs		Обнаруж. антигены
		А	В	М	N	
1.	Кровь С.	+	-	+	+	А,М, N
	Контроль	-	-	-	-	-
2.	Кровь Ч.	+	-	+	+	А,М, N

	Контроль	-	-	-	-	-
3.	Кровь Г.	+	-	-	+	A, N
	Контроль	-	-	-	-	-
4.	Футболка С.(об. 1-5)	+	-	+	+	A, M, N
	Контроль	-	-	-	-	-
5.	Трико С. (об. 6-10)	+	-	+	+	A, M, N
	Контроль	-	-	-	-	-
6.	Рубашка С. (об. 11-15)	+	-	+	+	A, M, N
	Контроль	-	-	-	-	-
7.	Трусы С. (об. 16,17)	+	-	+	+	A, M, N
	Контроль	-	-	-	-	-

Определение групповой принадлежности крови по системе гаптоглобин (Hr)

При проведении реакции использованы следующие технические средства:

1. Центрифуга лабораторная Sigma 4-15, максимальная скорость 13500 об/мин, ротор для 16 пробирок типа Эппендорф емкостью 1,5-2,2 мл.
2. Камера для электрофореза ЭЛЬФ-8;
3. Источник питания VE 3М, максимальное напряжение 800 В, мощность 80 Вт, сила тока до 200 Ма, напряжение сети 220 В.

Группу крови по системе гаптоглобина (Hr) определяли методом электрофореза в вертикальных пластинах полиакриламидного геля, состоящего из двух слоев: 4,5% - концентрирующего слоя и 8% - разделяющего слоя с использованием трис-глицинового буфера с рН + 8,35. Подготовленные с помощью 1,5% раствора сахарозы на трис-глициновом буфере вытяжки вносили в карманы и проводили электрофорез в течение 5 часов при силе тока 35 и 110 Ма и напряжении 300 вольт. Проявление блока осуществляли раствором бензидина в 10% уксусной кислоте с добавлением пергидроля. Разделение фракций было четким. В каждый блок вносили образцы крови из архива лаборатории с заведомо известными группами гаптоглобина. Полученные результаты внесены в таблицу №3.

№	Предметы, объекты	Нр1-1	Нр 2-1	Нр 2-2
1.	Кровь С.		2-1	
2.	Кровь Ч.			2-2
3.	Кровь Г.		2-1	
4.	Футболка С. (об. 1-5)		2-1	
5.	Трико С. (об. 6-10)		2-1	
6.	Рубашка С. (об. 11-15)		2-1	
7.	Трусы С.(об. 16,17)		2-1	

ВЫВОДЫ

Кровь потерпевшего С. обвиняемых Ч. и Г. по системе АВО одногруппна и относится к Аβ группе.

При дифференцировании их крови по системам MNs и Нр установлено, что кровь С. относится к MN, Нр 2-1 группе, кровь Ч. относится к MN, Нр 2-2 группе, а кровь Г. относится к N, Нр 2-1 группе.

На футболке, трико, рубашке и трусах потерпевшего С. обнаружена кровь человека Аβ, MN, Нр 2-1 группы, что не исключает ее происхождения от самого потерпевшего С. и исключает ее происхождение от обвиняемого Ч. Возможность примеси крови обвиняемого Г. не исключается.

На футболке, трико, рубашке и трусах потерпевшего С. спермы не найдено.

Врач судебно-медицинский эксперт: ... (подпись)

Дата оформления экспертного заключения: «__» 20__ года

ПРИЛОЖЕНИЕ 2*Образец***АКТ****молекулярно-генетического исследования
(не автоматизированный метод)****Фабула дела:**

«Гражданин П. и гражданка К. состояли в гражданском браке. У них родился ребенок – М. Однако, после смерти гр. П., у его матери Н. (т.е. предполагаемой бабушки ребенка) возникли сомнения в действительном отцовстве гр. П. Мать этого ребенка, гр. К. злоупотребляла алкоголем, бабушка хотела оформить опеку над ребенком и для разрешения сомнений в отцовстве гр. П. было принято решение в проведении молекулярно-генетического исследования».

Были изъяты образцы крови ребенка М., матери К. и бабушки Н. В качестве образца крови предполагаемого отца П. было представлено полотенце, которым вытирали следы крови после кровотечения у П. перед его смертью.

Следовательно, перед экспертом стояли следующие задачи:

1. Установить тот факт, что следы крови на полотенце действительно принадлежат П. – т.е. генетическое соответствие этих следов и образца крови его матери (бабушки Н.)
2. Установить факт генетического родства отца П. и ребенка М.

ИССЛЕДОВАНИЕ**Выделение ДНК из образцов сухой крови**

Выделение ДНК из образцов крови матери К., ребенка М., бабушки Н. и полотенца (образца крови П.) проводили стандартным набором реагентов: «Комплект реагентов для выделения ДНК (ExtraPhen)» "АТГ-Биотех" (АТГ-Биотех, Россия).

Анализ ПДАФ хромосомной ДНК

Анализировали препараты ДНК из крови матери К., ребенка М., бабушки Н. и полотенца (образца крови П.) Типирование

полиморфных STR-локусов ДНК проводили в монолокусном формате с помощью полимеразной цепной реакции с использованием систем энзиматической амплификации указанных локусов: LPL, vWA, TH01, TPOX, F13A01, F13B, CSF1PO, FESFPS, D7S820, D13S317, D16S539, D3S1358, D5S818, D8S1179, D18S51, FGA - стандартный набор реагентов "АТГ-Биотех" (АТГ-Биотех, Россия), руководствуясь Методическими указаниями № 98/253 «Использование индивидуализирующих систем на основе полиморфизма длины амплифицированных фрагментов (ПДАФ) ДНК в судебно-медицинской экспертизе идентификации личности и установления родства» (утверждены Минздравом РФ 19.01.1999 г.).

Для оценки специфичности реакции амплификации использовали образец положительной контрольной ДНК (К) с известным генотипическим профилем и отрицательный контроль без ДНК.

Продукты полимеразной цепной реакции фракционировали электрофоретически в ПААГ и анализировали в проходящем свете после окрашивания AgNO_3 стандартным набором реагентов: «Комплект реагентов для детекции ПЦР-продуктов» "АТГ-Биотех" (АТГ-Биотех, Россия). Размеры амплифицированных фрагментов геномной ДНК определяли с использованием локус-специфических аллельных маркеров. Сравнивали индивидуальные генотипические комбинации аллельных вариантов (профили-ПДАФ) указанных STR-локусов у бабушки Н., и ее сына (заявленного отца) – П., а также матери К., ребенка М. и заявленного отца П. (Приложение 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В препаратах ДНК, выделенных из образцов крови матери К., ребенка М., бабушки Н и полотенца (образца крови П.) установлены следующие генотипические аллельные комбинации:

Объект Локус	Мать К.	Ребенок М.	(полотенце) отец П.	Бабушка Н
LPL	10/11	10/10	12/13	12/13
vWA	16/17	15/17	14/ 15	15/16
TH01	9/9.3	7/9	6/9.3	6/9
TPOX	8/10	8/11	8/8	8/8
F13A01	4/7	4/6	6/6	6/6
F13B	8/9	6/9	9/9	9/10
CSF1PO	12/12	11/12	12/ 12	10/ 12
FESFPS	11/11	11/11	8/12	8/12
D7S820	12/12	10/12	10/11	10/11
D13S317	11/12	12/12	10/13	8/10
D16S539	11/12	11/12	11/ 12	12/12
D3S1358	15/18	15/17	15/16	15/16
D5S818	11/12	11/11	12/ 13	11/ 13
D8S1179	14/16	10/14	13/15	11/ 13
D18S51	15/15	12/15	15/18	12/ 15
FGA	22/25	22/24	20/23	23/25

*- жирным шрифтом в генотипе ребенка выделены аллели условно отцовского происхождения и имеющие аналоги в генотипе заявленного отца.

1) Установлено, что для каждой из исследованных STR-систем в геноме заявленной матери гр-на П (бабушки Н) обнаруживается аллель, который формально совпадает с аллелем условно материнского происхождения в геноме П. (полотенце), а именно:

LPL-12 или 13, vWA-15, TH01-6, TPOX-8, F13A01-6, F13B-9, CSF1PO-12, FESFPS-8 или 12, D7S820-10 или 11, D13S317-10, D16S539-12, D3S1358-15 или 16, D5S818-13, D8S1179-13, D18S51-15, FGA-23.

Таким образом, ПДАФ-профиль ребенка (предполагаемого отца П.) формально полностью соответствует таковым его заявленной матери (бабушки Н)

Проведенная оценка статистической значимости указывает на то, что такое совпадение можно считать закономерным, то есть обусловленным кровнородственными родительскими отношениями заявленной матери и ребенка, с вероятностью (РР) не ниже **99,98%**. (ПРИМЕЧАНИЕ: Для расчета вероятности

отцовства использованы консервативные значения аллельных частот указанных локусов для населения Европы и России. Приведенное выше значение вероятности РР соответствует Байесовой вероятности при 50%-ной априорной вероятности отцовства, и показывает вероятность того, что полученный результат не является следствием случайного совпадения признаков у *неродственных* лиц (см. п.7.3.1 Раздела VII «Инструкции по организации и производству экспертных исследований в бюро судебно-медицинской экспертизы» Приказ Минздрава РФ от 24.04.2003 г. №161) (Приложение 2).

2) Установлено, что для **двенадцати из шестнадцати** исследованных систем в геноме заявленного отца П. (полотенце) не обнаруживается аллель, который формально совпадал бы с аллелем условно отцовского происхождения в геноме ребенка М., а именно:

LPL-10, TH01-7, TPOX-11, F13B-6, CSF1PO-11, FESFPS-11, D13S317-12, D3S1358-17, D5S818-11, D8S1179-10, D18S51-12, FGA-24.

Таким образом, указанные аллели не имеют аналогов в ПДАФ-профиле заявленного отца и, очевидно, произошли от другого мужчины, который является биологическим отцом ребенка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В соответствии с законами наследования в геноме ребенка присутствуют только такие аллели, которые обнаруживаются у матери и биологического отца.

1) Сравнительный анализ профилей ПДАФ хромосомной ДНК бабушки Н. и полотенца, предоставленного в качестве образца крови ее сына П., показал, что для всех исследованных систем аллели условно материнского происхождения в геноме П. совпадают с таковыми в геноме бабушки Н. Это означает, что для всех исследованных молекулярно-генетических систем выполняются условия комплементарного совпадения аллелей в генотипах заявленной матери и ребенка.

Таким образом, в рамках проведенного исследования данных, исключающих материнство бабушки Н. в отношении ее сына П., не получено. То есть, бабушка Н. может являться

биологической матерью лица, чья ДНК присутствует в крови на полотенце, а именно гражданина П. Вероятность (РР) того, что бабушка Н. действительно является биологической матерью указанного лица по результатам настоящей экспертизы, составляет **не менее 99,98%**.

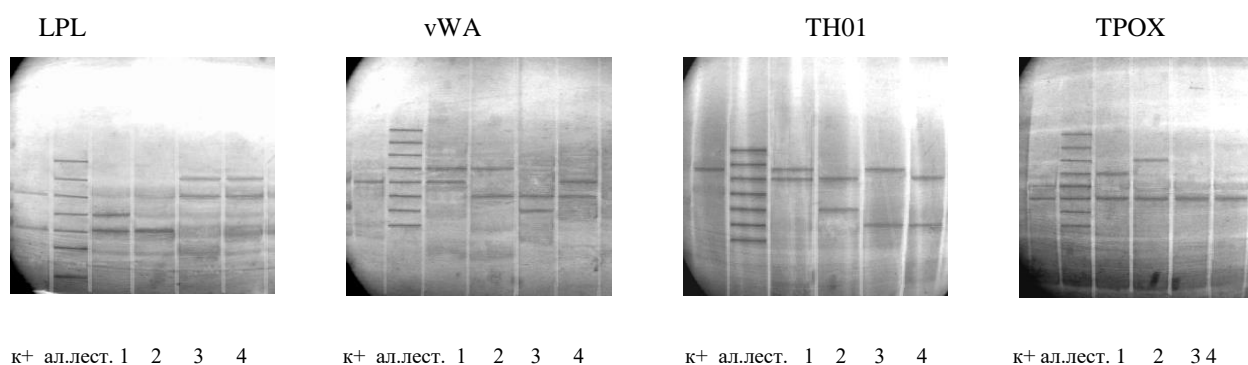
Примечание: в случае не исключения отцовства, в соответствии с п.7.3.7.2. Раздела VII «Инструкции по организации и производству экспертных исследований в бюро судебно-медицинской экспертизы» (Приказ Минздрава РФ от 24.04.2003 г. №161), по достижении расчетной величины вероятности отцовства (для дуета ребенок - предполагаемый отец) 99,75% и выше, экспертное исследование следует считать **завершенным**.

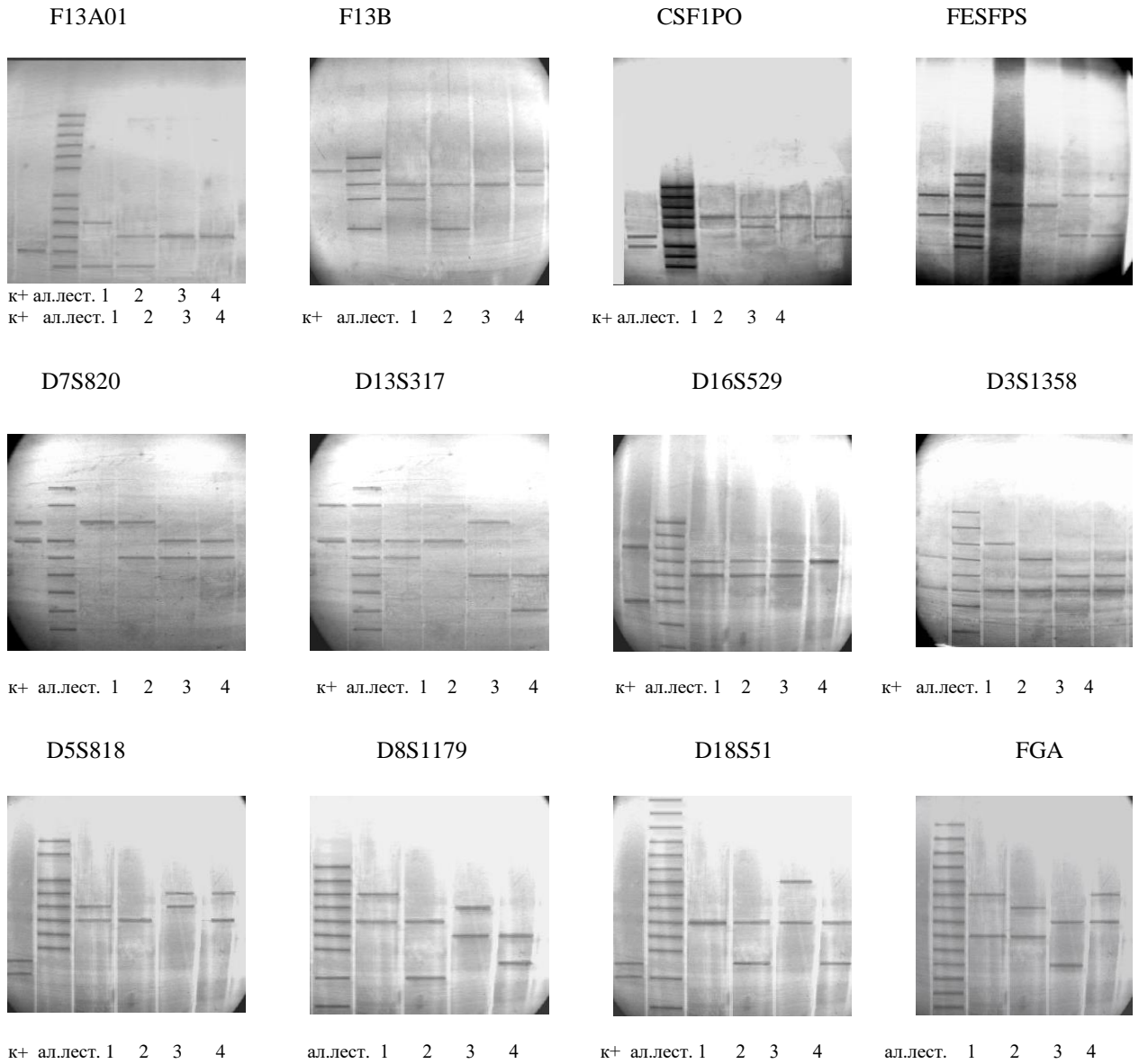
2) Сравнительный анализ профилей ПДАФ хромосомной ДНК анализируемых лиц показал, что в геноме ребенка М присутствуют такие условно отцовские аллели, которые не обнаруживаются в геноме заявленного отца П и, очевидно, произошли от другого мужчины – истинного (биологического) отца ребенка.

Таким образом, отцовство гражданина П. в отношении ребенка М., родившегося 17.11.2004 г.р. у гр-ки К., **исключается**. Отцом ребенка является другой мужчина.

Врач судебно-медицинский эксперт:...

Приложение к акту молекулярно-генетического исследования





1 – гр-ка К.
2 – ребенок М.
3 – предполагаемый отец П. (полотенце)
4 – бабушка Н.

Врач судебно-медицинский эксперт:

Расчет
вероятности родства

Вариант I: Предполагаемая мать гомозиготна				Вариант II: Предполагаемая мать гетерозиготна							
Формула расчета статистической частоты материнского аллеля в генотипе ребенка											
Q=q(2-q)				Q=(q ₁ +q ₂)(2-q ₁ -q ₂)							
№ п/п	Название локуса	Аллель предполагаемой матери, совпадающий с ребёнком		№ п/п	Название локуса	Аллель предполагаемой матери, совпадающий с ребёнком		Аллель предполагаемой матери, не совпадающий с ребёнком, либо второй аллель, совпадающий с ребёнком, в случае, когда генотипы одинаковы		PI=1/∏ _{i=1} ⁿ Q _n (индекс материнства)	PP=[1/(1+∏ _{i=1} ⁿ Q _n)]100% (вероятность материнства %)
		NT R	частота аллеля, q			NTR	частота аллеля, q ₁	NT R	частота аллеля, q ₂		
1	TPO X	8	0,535	1	LPL	13	0,049	12	0,203	8928	99,988801 %
2	F13A 01	6	0,287	2	vWA	15	0,111	16	0,2		
3	D16S 359	12	0,326	3	TH01	6	0,232	9	0,114		

4				4	F13B	9	0,215	10	0,402
5				5	CSF1 PO	12	0,361	10	0,217
6				6	FESF PS	8	0,014	12	0,225
7				7	D7S8 20	10	0,243	11	0,207
8				8	D13S 317	10	0,051	8	0,113
9				9	D3S1 358	15	0,262	16	0,253
10				10	D5S8 18	13	0,141	11	0,361
11				11	D8S1 179	13	0,305	11	0,083
12				12	D18S 51	15		12	0,127
13				13	FGA	23	0,134	25	0,071

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ОСНОВАННЫХ НА ПРИМЕНЕНИИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

Требования к помещениям

Осуществление судебно-медицинских технологий основанных на применении молекулярно-генетических методов анализа возможно только в специализированной лаборатории бюро судебно-медицинской экспертизы. Основные требования к помещениям изложены в соответствующих Методических указаниях Минздрава РФ^{1,2,3}. Главным требованием является обеспечение и строгое соблюдение принципа *компарментализации* основных стадий рабочего процесса. Компарментализация рабочего процесса, связанного с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР), служит необходимой мерой предосторожности, которая позволяет свести к минимуму риск случайных загрязнений компонентов реакции ранее амплифицированными продуктами или молекулами ДНК из посторонних источников. Способность ПЦР амплифицировать единичные молекулы ДНК означает, что опасность представляют даже самые незначительные, следовые количества ДНК-контаминатов, которые могут вовлекаться в реакцию как матричные молекулы. Это приводит к искажению результатов исследования.

Чтобы такого не случилось, в лаборатории должны быть выделены три территориально автономные операционные зоны, каждая из которых предназначена для выполнения строго определенного круга операций. Каждая зона должна быть укомплектована спецодеждой, лабораторным и офисным

-
1. Методические указания Минздрава РФ № 98/253 от 19.01.1999 г. «Использование индивидуализирующих систем на основе полиморфизма длины амплифицированных фрагментов (ПДАФ) ДНК в судебно-медицинской экспертизе идентификации личности и установления родства».
 2. Методические указания Минздрава РФ № 4/2001 от 26.01.2001 г. «Применение молекулярно-генетической индивидуализирующей системы на основе полиморфизма нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК в судебно-медицинской экспертизе идентификации личности и установления биологического родства».
 3. Методические указания Минздрава РФ № 2001/191 от 11.04.2002 г. «Метод верификации амплификационных профилей ДНК с помощью электрофореза в разных гелевых средах».

оборудованием, лабораторной посудой, которые предназначены для использования только в границах данной зоны:

1. Лабораторная зона общего назначения: помещения для хранения и препарирования вещественных доказательств, забора крови, выделения и очистки ДНК, мойки и стерилизации посуды; к этой зоне относятся кабинеты экспертов, лаборантские и санитарские помещения, аппаратные (каб. №№ ...);
2. Чистая зона полимеразной цепной реакции (ПЦР): стерильные, оборудованные УФ-облучателями боксированные помещения с приточно-нагнетательной вентиляцией - для приготовления реагентов, компонентов реакционных смесей, для пробоподготовки и постановки ПЦР (каб. №№ ...);
3. Зона для анализа и очистки продуктов амплификации: оборудованные УФ-облучателями и моечной арматурой боксированные помещения с вытяжной вентиляцией - для проведения электрофореза ДНК, окрашивания гелей, элюции и преципитации ДНК, документирования электрофореграмм. Здесь же осуществляется постановка секвенирующих реакций, очистка продуктов секвенирующих реакций и пробоподготовка для секвенирующего электрофореза (каб. №№ ...).

Необходимое оборудование

Стерильный шкаф-бокс с ультрафиолетовым облучателем, ДНК-амплификатор, стандартные аппараты для электрофореза в гелях агарозы и полиакриламида (соответственно, горизонтальные и вертикальные), печь СВЧ, источники постоянного тока для электрофореза - низковольтный (300в/300мА) и высоковольтный (1000в/500мА), УФ-транслюминатор (6х15вт), снабженный документной фото- или видеокамерой, желательно - прибор для вакуумной сушки гелей.

Анализ результатов электрофореза (детекция фрагментов ДНК) требует наличия фото- или компьютерной системы видеодокументирования и обработки первичных экспертных данных.

Постановка секвенирующих реакций требует наличия стерильного шкафа-бокса с ультрафиолетовым облучателем, а также ДНК-амплификатора.

Очистка продуктов секвенирующих реакций и пробоподготовка для секвенирующего электрофореза требует стандартного оснащения диагностической лаборатории для молекулярно-биологических исследований: вытяжной шкаф, дистиллятор и установка для получения деионизованной воды с показателем электрического сопротивления не хуже 18,2 МΩ, мини- и микроцентрифуга, термостат, РН-метр, спектрофотометр или флуориметр, прецизионные весы, микродозаторы автоматические, стеклянная и пластиковая лабораторная посуда, холодильник (+4°C), морозильник (-20°C) низкотемпературный морозильник (-30-70°C).

Детекция и анализ фрагментов ДНК - продуктов секвенирующих реакций, выполненных в формате флуоресцентных технологий, требует наличия автоматического флуоресцентного секвенатора ДНК - аппаратно-программной системы, который позволяет в автоматическом режиме и с высокой точностью разделять флуоресцентно-меченые фрагменты ДНК на основе различий в их электрофоретических свойствах, регистрировать и обрабатывать данные с использованием встроенных программных средств, и в результате обеспечивать полную расшифровку нуклеотидной последовательности анализируемого фрагмента ДНК. В качестве примера можно указать модели секвенаторов ДНК ABI 377 PRISM и ABI 310 PRISM или ABI 3100 PRISM фирмы Applied Biosystems (США) (регистрационное удостоверение Минздрава РФ № 98/1360, № 2001/1290 и № 2001/1292) и использующие другую реагентную базу модели фирмы Amersham-Pharmacia (США-Швеция) или другие аналоги. Секвенатор ДНК должен обеспечивать получение надежных, воспроизводимых и предельно высокой степени разрешения (1 нуклеотид) данных, а программное обеспечение - их обработку, архивирование, и хранение как для целей анализа продуктов секвенирующих реакций, так и фрагментного анализа.

Используется стандартный набор химикатов и реактивов для энзиматической амплификации и секвенирования ДНК.

Разработчик: РЦ СМЭ МЗ РФ г. Москва

Спиридонов В.А., Иогансон Е.В., Александрова Л.Г.

**СУДЕБНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА
ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВ**

Учебное пособие

Для врачей-ординаторов по специальности
31.08.10 – Судебно-медицинская экспертиза

Редактор Амирова Р.М.