

## СУДОВО-МЕДИЧНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ОСОБИ ЗА ДОПОМОГОЮ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНОМНОЇ ДНК БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ У ЦИТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТАХ

Одеський національний медичний університет (м. Одеса)

Одеське обласне бюро судово-медичної експертизи (м. Одеса)

Дана робота є фрагментом НДР «Судово-медична молекулярно-генетична ідентифікація особи при дослідженні одиничних ядровмістимих клітин в мікрослідах біологічного походження», № держ. реєстрації 0111U003340.

**Вступ.** На сьогоднішній день в судово-медичній практиці українських експертів знайшли широке застосування сучасні молекулярно-генетичні методи з метою отримання індивідуалізуючої генетичної інформації з біологічного матеріалу для вирішення питань у процесі розслідування кримінальних злочинів, пов'язаних із спричиненням шкоди здоров'ю та життю особи. Впровадження в практику полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та методу аналізу поліморфізму довжини ампліфікованих фрагментів (ПДАФ) надало унікальну можливість та відкрило нові перспективи в дослідженні біологічних слідів різного походження, стану та кількості. Скоєння вищеназваних злочинів супроводжується формуванням специфічних слідів різного біологічного походження (кров, слина, сперма, потово-жирові, піхвові виділення та ін.) на речових доказах, які можуть походити як від злочинця, так і від потерпілого [1]. Результати судово-медичної експертизи біологічних слідів на речових доказах у більшості випадків мають вирішальне значення для слідства при розслідуванні злочинів [2].

Судово-медична біологічна експертиза на початковому етапі вирішує питання встановлення або відсутності в слідах на речових доказах компонентів біологічного походження, визначення їх видової, а за необхідності і органно-тканинної природи. Також проводиться первинне диференціювання виявленого біологічного матеріалу, враховуючи групові характеристики осіб, що проходять за справою.

Загальноприйнята судово-медична практика передбачає дослідження слідів та мікрослідів за встановленими канонами, які на сьогоднішній день практично не відповідають сучасним вимогам слідства, оскільки проводяться із визначенням групової приналежності за ізосерологічною системою АВО [3]. Маркерами цієї системи притаманний дуже низький індивідуалізуючий потенціал через невелику кількість генів, які входять до її складу. Ймовірність випадкового збігу встановлених груп біологічного матеріалу за цією системою у різних осіб достатньо

велика, при цьому важливо максимально зберегти виявлений біологічний матеріал, який найчастіше представлений у слідових кількостях, виробити максимально обґрунтовану тактику дослідження, зорієнтувати слідчого на можливе продовження експертизи за допомогою сучасних молекулярно-генетичних методів, що, в свою чергу, підвищить доказовість та об'єктивність судово-медичних експертних висновків [4].

Внаслідок чого існує необхідність у розробці сучасної концепції застосування оптимального комплексу методів дослідження слідів та мікрослідів біологічного походження на речових доказах.

**Метою нашого дослідження** було визначення можливості використання ядровмістимих клітин у цитологічних препаратах, які були приготовлені зі слідів крові, слини, потово-жирових слідів, змішаних слідів вагінального епітелію та сперми для ідентифікації особи із застосуванням методу ПЛР.

Нами був запропонований алгоритм проведення судово-медичного дослідження біологічного матеріалу на речових доказах з метою ідентифікації особи, який полягає в ефективному поєднанні усіх наявних в лабораторії методів аналізу – біологічних, цитологічних та молекулярно-генетичних з урахуванням якісних та кількісних характеристик біологічного матеріалу.

Алгоритм включав наступні етапи: вивчення супровідної документації та обставин справи; складання плану спільного дослідження; огляд, пошук, опис та фотографування слідів, які могли містити біологічний матеріал; вилучення сліду різноманітними способами; судово-цитологічне дослідження – приготування цитологічних препаратів з вилучених слідів, визначення наявності та кількості ядровмістимих клітин, особливостей їх морфологічної структури та придатності для подальшого дослідження з урахуванням структурних характеристик (пошкодження цілісності ядра); судово-медичне молекулярно-генетичне дослідження – виділення ДНК з клітин у цитологічних препаратах, її ампліфікація та отримання ДНК-профілю з метою ідентифікації особи

Для досягнення мети вирішували наступні **завдання:**

1. Визначали наявність ядровмістимих клітин та збереженість клітинних елементів у цитологічних

препаратах, приготовлених зі слідів крові, слини, пото-жирових слідів, змішаних слідів вагінального епітелію та сперми, які в подальшому планувалося досліджувати із застосуванням молекулярно-генетичних методів;

2. Визначали найбільш придатну групу біологічних об'єктів, зі слідів яких були виготовлені цитологічні препарати, при дослідженні яких із застосуванням індивідуалізуючої системи для ПЛР-ампліфікації «Identifiler Plus» («Applied Biosystems», США) можливо отримати ДНК-профіль та провести позитивну ідентифікацію осіб, які проходять за справою.

### **Об'єкт і методи дослідження.**

**Методи дослідження:** стереомікроскопічні, хроматографічні, флюорометричні, цитологічні, метод ПЛР.

Дослідження виконувалося згідно із запропонованим алгоритмом, який передбачав раціональне використання біологічного матеріалу та комплексні методи дослідження.

На першому етапі дослідження ознайомлювалися із супровідною документацією, вивчали обставини справи та складали план дослідження.

Були відібрані речові докази, які фігурували в процесі розслідування та розкриття тяжких кримінальних злочинів. Об'єкти дослідження були розподілені на 4 умовні групи відповідно до приналежності конкретному біологічному матеріалу, який міг бути присутній згідно обставин справи.

Перша група – 32 об'єкти зі слідами крові (до складу групи увійшли змиви та зіскоби з ножів з дерев'яними та пластмасовими рукоятками, автоматичних складаних ножів, вирізки з матеріалу жіночих та чоловічих предметів одягу, змиви та зіскоби із взуття). Розміри слідів варіювалися від 0,1x0,3 см до 0,8x1,0 см, які були слабо помітними на предметі-носії неозброєним оком та локалізувалися в тріщинах, заглибленнях та рельєфних елементах рукояток та клинків, на швах, на клапанах кишень, гудзиках, застібках, під петлями гудзиків, на внутрішній поверхні манжети.

Друга група – 16 об'єктів з пото-жировими слідами (до складу групи увійшли змиви та зіскоби з дерев'яних рукояток ножів, молотків, сокир; деякі рукоятки були з рельєфними елементами, тріщинами, заглибленнями, нерівностями та шершавостями.). Сліди були у вигляді нашарувань на дерев'яних рукоятках темно- або світло-сірого кольорів та розташовувались на нижній третині рукоятки (у місцях ймовірного контакту зі шкірою долонь).

Третя група – 50 об'єктів зі змішаними слідами вагінального епітелію та сперми (до складу групи увійшли змиви із внутрішніх і зовнішніх поверхонь презервативів, вирізки з тампонів з вагінальним вмістом та зі змивів з голівки статевого члену, вирізки з чоловічої та жіночої спідньої білизни, жіночих гігієнічних прокладок). Речові докази та біологічний матеріал (змиви з голівок статевих членів, чоловіча спідня білизна) були спеціально відібрані не пізніше 12 годин з моменту скоєння злочину, при чому деякі

речові докази (використані презервативи, жіноча спідня білизна та жіночі гігієнічні прокладки) були доставлені не пізніше 6 годин з моменту скоєння злочину.

Четверта група – 35 об'єктів зі слідами слини (до складу групи увійшли витяжки з жувальних гумок та недопалків цигарок, змиви зі стаканів).

Наступним етапом був спільний огляд речових доказів (предметів одягу) судово-медичними експертами-цитологами та експертами-генетиками у косопадаючому прохідному світлі із застосуванням змішаних джерел світла (природного та штучного). При дослідженні речових доказів використовували стереомікроскопію місць ймовірної локалізації слідів біологічного походження із застосуванням стереомікроскопу марки MICROmed модель XS-3320. Після огляду речових доказів детально описували їх, сліди фотографували.

Вирізки, змиви, зіскоби та витяжки переносили в пробірки типу «епендорф» об'ємом 1,5мл і додавали по 1,0мл фізіологічного розчину. Інкубували в термостаті «Biosan TS-100» протягом 24 годин в режимі інтенсивного ротаційного перемішування (1000-1200 об/хв) при температурі 18°C. Залишки предмета-носія видаляли. Пробірки з вмістом центрифугували протягом 5 хв при 1500 об/хв на центрифугі Biosan «Фуга/вортекс мікро-спін FV-2400». Надосадову рідину видаляли.

До отриманого осаду додавали 50,0 мкл фізіологічного розчину, встрішували. З одержаної суспензії клітин відбирали 25 мкл для подальшого ідентифікаційного дослідження із застосуванням молекулярно-генетичних методів та формували таким чином контрольну групу; 25 мкл суспензії клітин направляли у відділення судово-медичної цитології для визначення наявності, кількості та особливостей морфологічної структури ядровмістимих клітин, їх придатності для подальшого дослідження з урахуванням структурних характеристик (пошкодження цілісності ядра). Результати дослідження контрольної групи використовували для порівняльного аналізу ефективності виділення геномної ДНК, її ампліфікації та отримання повного ДНК-профілю з ядровмістимих клітин, які були знайдені у цитологічних препаратах.

Вищенаведені етапи дослідження речових доказів виконувались на базі відділення судово-медичних молекулярно-генетичних експертиз Одеського обласного бюро СМЕ.

Попередні дослідження на наявність крові та визначення її видової приналежності, наявність пото-жирових виділень та слини проводили у відділенні судово-медичної імунології Одеського обласного бюро СМЕ.

У відділенні судово-медичної цитології встановлювали наявність голівок сперматозоїдів та клітин вагінального епітелію у змішаних слідах, буккального епітелію в слідах слини, ядровмістимих клітин в пото-жирових слідах, ядровмістимих клітин крові в слідах крові.

Виходячи з того, що в подальшому планувалося проводити ідентифікаційне дослідження цитологічних препаратів із застосуванням молекулярно-генетичних методів, визначення групової належності біологічного матеріалу не виконували.

Наступним етапом було приготування цитологічних препаратів з вилучених мікрослідів для визначення наявності та кількості ядровмістимих клітин в цих препаратах. Цитологічні препарати готували у вигляді крапель на предметному склі, підсушували та фіксували розчином ацетону та 70% етанолу. Після фіксації одержаний матеріал фарбували. Після фарбування та висушування препарату облік кількості ядровмістимих клітин у цитологічному препараті проводили на світловому мікроскопі з використанням імерсійного об'єктиву (90x) [5].

Наступним етапом дослідження згідно із запропонованим алгоритмом було виділення ДНК з ядровмістимих клітин у цитологічних препаратах.

Виділення геномної ДНК з клітин цитологічних препаратів, а саме лізис клітинної мембрани та структурних елементів клітин в об'єктах досліджуваної групи проводили безпосередньо на предметному склі із використанням набору «Wizard® Genomic DNA Purification Kit», фірми «Promega Corporation» (США) згідно протоколу «Genomic DNA Isolation» [6].

До кожного цитологічного препарату, розташованого на предметному склі, додавали по 250,0 мкл лізуючого нуклеїнового розчину та 60,0 мкл 0,5 М розчину ЕДТА (рН 8. 0). Додавали 10,0 мкл протеїнази К (20 мг/мл). Інкубували в термостаті при температурі 56 °С впродовж 20-40 хвилин в чашках Петрі в умовах вологого середовища.

Охолоджували скельце до кімнатної температури за 5 хв до обробки. З предметного скельця обережно переносили розчин у пробірку типу «епендорф» об'ємом 1,5мл у кількості 300,0 мкл.

До отриманого розчину, охолодженого до температури 22°С, додавали по 100,0 мкл розчину для преципітації протеїнів, м'яко перемішували та центрифугували протягом 5 сек в центрифугі «Вортекс». Після встрякування пробірки переносили до кімнатного холодильника, інкубували протягом 10-15 хв при температурі +4°С. Після інкубації пробірки центрифугували протягом 5 хв при 14500 об/хв. Преципітований білок відділився в формі білого осаду.

Обережно видаляли супернатант, який містив розчин ДНК, та переносили його в нову пробірку для мікроцентрифугування об'ємом 1,5мл, яка містила 600,0 мкл ізопропанолу кімнатної температури.

М'яко перемішували розчин. Центрифугували протягом 40 хв при 14500 об/хв при кімнатній температурі. Супернатант обережно видаляли, отриманий осад промивали 600,0 мкл 70% розчину охолодженого етанолу та м'яко перемішували вміст пробірки для відмивання ДНК. Центрифугували протягом 5 хв при 14500 об/хв при кімнатній температурі.

Акуратно аспірували етанол автоматичним дозатором. На цій стадії ДНК нестійка, тому доклали

максимальних зусиль для запобігання її аспірації дозатором.

Отриманий осад висушували протягом 10-15 хв при температурі +20 – +22°С.

Додавали 10,0 мкл ДНК-регідратаційного розчину та проводили регідратацію ДНК за допомогою термостату при температурі 65 °С протягом 1 години. Періодично перемішували розчин. В якості альтернативи проводили регідратацію ДНК в термостаті «BioSan CH 100» протягом ночі при кімнатній температурі.

Для визначення концентрації ДНК використовували флюорометричний метод із застосуванням флюориметра Qubit2. 0 InstrumentQ 32866 («Invitrogen», США) згідно до інструкції виробника.

Виділену ДНК досліджували за допомогою набору для ПЛР-ампліфікації «AmpFISTR® Identifier Plus» («Applied Biosystems», США), з терміном придатності не менш ніж 10 місяців, відповідно до інструкції, яка додається до набору виробниками реагентів [7]. Геномну ДНК типували за допомогою методу ПЛР за наступними гіперваріабельними локусами: D8S1179 (хромосома 8), D21S11 (хромосома 21q11. 2-q21), D7S820 (хромосома 7q11. 21-22), CSF1PO (хромосома 5q33. 3-34), D3S1358 (хромосома 3p), TH01 (хромосома 11p15. 5), D13S317 (хромосома 13q22-31), D16S539 (хромосома 16q24-qter), D2S1338 (хромосома 2q35-37. 1), D19S433 (хромосома 19q12-13. 1), vWA (хромосома 12p12-pter), TPOX (хромосома 2p23-2pter), D18S51 (хромосома 18q21. 3), AMEL (хромосома X: p22. 1-22. 3; хромосома Y: p11. 2; D5S818 (хромосома 5q21-31), FGA (хромосома 4q28).

При постановці ПЛР здійснювали негативний контроль (реакційна суміш містила всі компоненти, крім ДНК) і позитивний контроль (реакційна суміш містила ДНК із відомим набором алелів за кожним локусом). Зразки контрольної ДНК надані виробником реагентів. Дослідження проводили з використанням системи «GeneAmp® PCR 2720» («Applied Biosystems», США). Кількість циклів реакції збільшували з 28 до 32.

Розділення продуктів ампліфікації проводили з використанням пристрою 3130 Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США). Аналіз продуктів ампліфікації з встановленням алелів проводили за допомогою програми «Gene Mapper ID Software Version 3.1».

В контрольній групі з частини клітин в осаді, яка була залишена для порівняльного дослідження молекулярно-генетичним методом, виділяли ДНК, вимірювали її концентрацію та проводили ампліфікацію згідно з вищеописаними методами [8].

Останнім етапом дослідження було проведення порівняльного генетичного аналізу отриманих характеристик ДНК-профілів об'єктів досліджуваної та контрольної груп для встановлення відтворюваності результатів та порівняння отриманих ДНК-профілів зі зразками осіб, що походять за справою.

**Результати досліджень та їх обговорення.**  
При проведенні судово-цитологічного дослідження було визначено:

1) в цитологічних препаратах, приготовлених зі слідів крові, кількість ядровмістимих клітин менше 50 було виявлено в 1 об'єкті, від 50 до 100 – в 8 об'єктах, більше 100 – в 23 об'єктах.

2) в цитологічних препаратах, приготовлених з пото-жирових слідів, в 4 об'єктах були виявлені одиничні ядровмістимі клітини, регіональну належність яких визначити не виявилось можливим, в 12 цитологічних препаратах ядровмістимих клітин виявлено не було.

3) в цитологічних препаратах, приготовлених зі змішаних слідів вагінального епітелію та сперми були виявлені:

– у 8 об'єктах одиничні сперматозоїди та більше 150 ядровмістимих клітин вагінального епітелію (жіночі гігієнічні прокладки та жіноча спідня білизна);

– у 7 об'єктах – більше 10 сперматозоїдів та інших клітинних елементів, присутніх у спермі, та менше 20 ядровмістимих клітин вагінального епітелію (чоловіча спідня білизна);

– у 9 об'єктах – від 10 до 50 сперматозоїдів та інших клітинних елементів, присутніх у спермі (змиви із зовнішньої поверхні презервативів);

– у 9 об'єктах – більше 50 ядровмістимих клітин вагінального епітелію (змиви із внутрішньої поверхні презервативів).

– у 11 об'єктах – виявлено менше 10 клітин вагінального епітелію та одиничні сперматозоїди (змиви з голівок статевих членів);

– у 6 об'єктах – більше 30 ядровмістимих клітин вагінального епітелію та одиничні сперматозоїди (тампони з вагінальним вмістом).

4) в цитологічних препаратах, приготовлених зі слідів слини, в 14 об'єктах було виявлено менше 50 ядровмістимих клітин буккального епітелію (витяжки із жувальних гумок та недопалків цигарок, змиви зі стаканів), в 21 об'єктах – більше 50 ядровмістимих клітин буккального епітелію (витяжки із жувальних гумок).

Кількість ДНК, виділена з ядровмістимих клітин крові, менше 1,0 нг була визначена в 9 об'єктах досліджуваної групи та 1 об'єкті контрольної групи, більше 1,0 нг – в 23 об'єктах досліджуваної групи та 31 об'єкті контрольної групи.

Кількість ДНК, виділена з біологічного матеріалу в пото-жирових слідах, менше 1,0 нг була визначена в 14 об'єктах контрольної та досліджуваної групи, більше 1,0 нг – в 2 об'єктах контрольної та досліджуваної групи.

Кількість ДНК, виділена з ядровмістимих клітин у змішаних слідах вагінального епітелію та сперми в досліджуваній групі менше 1,0 нг була визначена в 39 об'єктах, більше 1,0 нг – в 11 об'єктах, в контрольній групі – менше 1,0 нг в 31 об'єкті, більше 1,0 нг – в 19 об'єктах.

Кількість ДНК, виділена з ядровмістимих клітин у слідах слини, в досліджуваній групі менше 1,0 нг була

визначена в 14 об'єктах, більше 1,0 нг – в 21 об'єкті, в контрольній групі менше 1,0 нг – в 12 об'єктах, більше 1,0 нг – в 23 об'єктах.

Результат молекулярно-генетичного дослідження у досліджуваній групі вважався позитивним при одержанні продуктів ампліфікації за 15 мікросателітними локусами та локусом для визначення статеві належності (Amel), тобто отримання «повного» ДНК-профілю, та за співпадіння ДНК-профілів об'єктів контрольної групи і ДНК-профілів осіб, які проходять по справі (також у разі походження біологічного матеріалу щонайменше від 2 осіб при дослідженні змішаних слідів вагінального епітелію та сперми). Отримання ДНК-профілю «власника» (тобто людини, у якій відбирали біологічний матеріал або предмети одягу) за 15 мікросателітними локусами та локусом для визначення статеві належності (Amel) або ДНК-профілю з меншою кількістю ампліфікованих локусів вважали за негативний результат. Кількість позитивних результатів (у відсотках від загальної кількості в кожній групі) в контрольній та досліджуваній групах наведені в таблиці.

**Таблиця**

**Кількість позитивних результатів в контрольній та досліджуваній групах, %**

Об'єкти дослідження	Позитивний результат в досліджуваній групі, %	Позитивний результат в контрольній групі, %
Сліди крові	72	97
Пото-жирові сліди	63	88
Змішані сліди вагінального епітелію та сперми	52	85
Сліди слини	59	92

Позитивні результати (повний ДНК-профіль об'єкта) були отримані при дослідженні 23 цитологічних препаратів, приготовлених зі слідів крові розмірами від 0,5x0,6 см та більше, які були виявлені на всмоктуючих поверхнях (дерево, бавовна), в рельєфних елементах та заглибленнях предметів-носіїв, що зменшувало можливість ліквідації сліду особами, причетними до скоєння злочину. При судово-цитологічному дослідженні в препаратах було виявлено більше 100 ядровмістимих клітин крові, кількість виділеної ДНК у вищенаведених об'єктах була більше 1,0 нг, що дало змогу провести повну ампліфікацію досліджених 15 мікросателітних локусів.

Позитивні результати були отримані при дослідженні 10 цитологічних препаратів, приготовлених з пото-жирових слідів (в 4 були виявлені одиничні ядровмістимі клітини, в 6 – ядровмістимих клітин виявлено не було). Кількість ДНК більше 1,0 нг була визначена у 2 об'єктах, менше 1,0 нг – у 8 об'єктах. Цитологічні препарати були приготовлені зі змивів із всмоктуючих поверхонь рукояток ножів, топорів та

сокир зі структурними особливостями (тріщинами, заглибленнями, нерівностями та шершавостями), які могли сприяти мацерації поверхневого шару шкіри та, як наслідок, відкладанню у таких структурних та рельєфних елементах біологічного матеріалу.

Позитивні результати були отримані при дослідженні 26 цитологічних препаратів, приготовлених зі змішаних слідів вагінального епітелію та сперми на використаних презервативах, жіночій спідній білизні та жіночих гігієнічних прокладках. У 8 об'єктах виявлені одиничні сперматозоїди та більше 150 ядромістимих клітин вагінального епітелію (жіночі гігієнічні прокладки та жіноча спідня білизна), у 9 об'єктах – від 10 до 50 сперматозоїдів та інших клітинних елементів, присутніх у спермі (змиви із зовнішньої поверхні презервативів), у 9 об'єктах – більше 50 ядромістимих клітин вагінального епітелію (змиви із внутрішньої поверхні презервативів). У 11 об'єктах (змиви з внутрішніх поверхонь презервативів та жіночі гігієнічні прокладки) була визначена кількість ДНК більше 1,0 нг, у 15 об'єктах (змиви із зовнішніх поверхонь презервативів та жіноча спідня білизна) – менше 1,0 нг. Це було зумовлено найбільш сприятливими умовами для збереження біологічного матеріалу (всмоктуюча багатощарова поверхня сприяла кращому накопиченню біоматеріалу при дослідженні жіночих гігієнічних прокладок та спідньої білизни), і своєчасним вилученням досліджених презервативів, які були доставлені не пізніше 6 годин з моменту скоєння злочину.

Позитивні результати були отримані при дослідженні 21 цитологічного препарату, приготовленого зі слідів слини, в яких було більше 50 ядромістимих клітин буккального епітелію. Кількість ДНК у вищевказаних об'єктах була визначена більше 1,0 нг. Цитологічні препарати були приготовлені з витяжок з недопалків цигарок. Позитивний результат був зумовлений тривалим контактом з джерелом біологічного матеріалу та найбільш сприятливими умовами для збереження біологічного матеріалу за рахунок всмоктуючої поверхні предмету-носія (папір гільзи фільтра).

Методика виділення ДНК з ядромістимих клітин у цитологічних препаратах, виготовлених з різних слідів біологічного походження на речових доказах, та їх подальше дослідження (ампліфікація виділеної ДНК) є відтворюваними, про що свідчить одержання позитивних результатів в контрольних групах в умовах даного експерименту.

**Висновки.** Запропонований нами алгоритм дослідження показав можливість використання ядромістимих клітин у цитологічних препаратах, які були приготовлені зі слідів крові, слини, пото-жирових слідів, змішаних слідів вагінального епітелію та сперми для ідентифікації особи із застосуванням методу ПЛР.

Отримання ДНК-профілю за 15 мікросателітними локусами та локусом для визначення статевої належності (Amel) із ядромістимих клітин у цитологічних препаратах, приготовлених зі слідів біологічного

походження, залежить від виду клітин у біологічному сліді, особливостей їх морфологічної структури та придатності для подальшого дослідження з урахуванням структурних характеристик (пошкодження цілісності ядра).

В умовах даної роботи було показано, що із застосуванням вищеописаних алгоритму, методик та устаткування найбільша кількість позитивних результатів була отримана при дослідженні ядромістимих клітин у цитологічних препаратах, приготовлених зі слідів крові, і склала 72% (n=23), що було зумовлено більшою стійкістю клітин крові у зовнішньому середовищі у порівнянні з іншим біологічним матеріалом, більшими відносно інших розмірами об'єкту, особливістю локалізації таких слідів на речових доказах (у тріщинах, складках, рельєфних елементах, що зменшувало можливість ліквідації сліду особами, причетними до скоєння злочину). При дослідженні цитологічних препаратів, приготовлених з пото-жирових слідів, кількість позитивних результатів склала 63% (n=10), препаратів, приготовлених зі змішаних слідів вагінального епітелію та сперми – 52% (n=26), препаратів, приготовлених зі слідів слини – 59% (n=21).

В умовах, коли цитологічний препарат виступає в якості єдиного наявного речового доказу по кримінальній справі, дослідження знайдених в ньому ядромістимих клітин надасть можливість з достатньо високою вірогідністю провести ідентифікацію за допомогою сучасних молекулярно-генетичних методів.

Розроблений алгоритм співпраці судово-медичних експертів-цитологів та експертів-генетиків розширює можливості дослідження мікрослідів біологічного походження, і дає змогу з найбільшою ефективністю використовувати навіть незначні кількості біологічного матеріалу, який раніше вважався не придатним для дослідження.

**Перспективи подальших досліджень.** Оскільки в останні роки стала нагальною проблема профілактики рецидивів злочинів особами, які раніше притягалися до кримінальної відповідальності, існує необхідність в створенні баз даних ідентифікуючих генетичних характеристик, які є унікальними для кожного індивідуума і не змінюються з плином часу, і можуть бути занесені в базу даних ДНК-профілів для подальшого перспективного порівняльного ДНК-аналізу ймовірного підозрюваного з відомими біологічними об'єктами [9]. Таким чином, застосування концепції оптимального комплексу лабораторних досліджень, а саме розробленого нами алгоритму проведення судово-медичних досліджень, дозволить використання архівного матеріалу, який зберігається у відділеннях судово-медичної цитології регіональних бюро судово-медичної експертизи України, для отримання ідентифікуючих генетичних характеристик, а саме ДНК-профілів, і подальшого їх занесення до баз даних.

## Список літератури

1. Надоненко О. Н. Криминалистическое значение следов биологического происхождения: дис. на соискание уч. степени канд. юр. наук: 12. 00. 09 / Надоненко Ольга Николаевна. – Екатеринбург, 2002. – 192 С.
2. Спутьник С. В. Комплексный подход к проведению экспертиз крови в судебно-биологическом отделении РБСМЭ МЗ РТ / С. В. Спутьник, М. В. Перельман // Актуальные вопросы судебной медицины и права – 2011. – Вып. 2. – С. 35-42.
3. Иванов П. Л. Индивидуализация человека и идентификация личности: молекулярная биология в судебной медицине / П. Л. Иванов // Вестник Российской Академии наук. – 2003. – Т. 73, № 12. – С. 1085 – 1097.
4. Сабурова Л. М. Тактика проведения комплексных биологических, цитологических и молекулярно-генетических исследований / Л. М. Сабурова, Г. В. Червоная, Л. Н. Орлова // Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики. – 2008. – Вып. 14. – С. 155-158.
5. Старовойтова Р. О. Судово-медична цитологія: навч. -метод. посібник / Р. О. Старовойтова, В. Д. Мішалов, Г. Ф. Кривда. – Одеса: Астропринт, 2007. – 200 С.
6. Протокол для виділення ДНК «Genomic DNA Isolation» набору для виділення ДНК «Wizard® Genomic DNA Purification Kit» («Promega», США). – 2005. – С. 5-7.
7. Руководство пользователя набора для ПЦР-амплификации «AmpFISTR®Identifiler Plus» («Applied Biosystems», США). – 2010. – С. 44-54.
8. Пат. 56521 Україна, МПК (2011. 01) А61В 5/00 А61В 10/00 Спосіб ідентифікації особи / Кривда Г. Ф., Кривда Р. Г., Уманський Д. О., Константиновська І. О., Яворський Б. І.; заявник і патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. – № U 201013439; заявл. 12. 11. 2010; опубл. 10. 01. 2011, Бюл. № 1. – 3 С.
9. Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of trace quantities of DNA through skin contact/ R. A. Wickenheiser // Forensic Sci. – 2002. – V. 47(3). – P. 442-450.

УДК 340. 6:616-076:577. 21

### СУДОВО-МЕДИЧНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ОСОБИ ЗА ДОПОМОГОЮ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНОМНОЇ ДНК БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ У ЦИТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТАХ

Уманський Д. О., Кривда Р. Г., Кривда Г. Ф.

**Резюме.** У роботі вивчалась можливість використання ядровмістимих клітин у цитологічних препаратах, приготовлених зі слідів крові та слини, пото-жирових слідів та змішаних слідів вагінального епітелію та сперми на речових доказах, для ідентифікації особи із застосуванням молекулярно-генетичних методів дослідження. Розроблений алгоритм спільної взаємодії судово-медичних експертів-цитологів та експертів-генетиків, який дозволяє ефективно досліджувати сліди біологічного матеріалу на речових доказах з метою встановлення їх належності конкретним особам. Запропоновано нову методику екстракції та лізису ядровмістимих клітин із ядровмістимих клітин, що містяться у цитологічних препаратах. В умовах даної роботи було показано, що найбільша кількість позитивних результатів була отримана при дослідженні ядровмістимих клітин у цитологічних препаратах, приготовлених зі слідів крові, і склала 72%. При дослідженні цитологічних препаратів, приготовлених з пото-жирових слідів, кількість позитивних результатів склала 63%, препаратів, приготовлених зі змішаних слідів вагінального епітелію та сперми – 52%, препаратів, приготовлених зі слідів слини – 59%. В умовах, коли цитологічний препарат виступає в якості єдиного наявного речового доказу по кримінальній справі, дослідження знайдених в ньому ядровмістимих клітин надасть можливість з достатньо високою вірогідністю провести ідентифікацію за допомогою сучасних молекулярно-генетичних методів. Також розроблений алгоритм дозволить використовувати архівний матеріал, який зберігається у відділеннях судово-медичної цитології регіональних бюро судово-медичної експертизи України, для отримання ідентифікуючих генетичних характеристик, а саме ДНК-профілів, і подальшого їх занесення до баз даних.

**Ключові слова:** сліди біологічного походження, цитологічний препарат, ДНК-ідентифікація, алгоритм проведення ідентифікаційного дослідження, бази даних ДНК-профілів.

УДК 340. 6:616-076:577. 21

### СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЛИЧНОСТИ С ПОМОЩЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ

Уманский Д. А., Кривда Р. Г., Кривда Г. Ф.

**Резюме.** В работе изучалась возможность использования ядродержащих клеток в цитологических препаратах, приготовленных со следов крови и слюны, пото-жировых следов и смешанных следов влагалищного эпителия и спермы на вещественных доказательствах, для идентификации личности с использованием молекулярно-генетических методов исследования. Разработан алгоритм совместного взаимодействия судебно-медицинских экспертов-цитологов и экспертов-генетиков, который позволяет эффективно исследовать следы биологического материала на вещественных доказательствах с целью установления их принадлежности конкретным лицам. Предложена новая методика экстракции и лизиса ядродержащих клеток, которые содержатся в цитологических препаратах. В условиях данной работы было показано, что наибольшее количество позитивных результатов было получено при исследовании ядродержащих клеток в цитологических препаратах, приготовленных со следов крови, и составило 72%.

При исследовании цитологических препаратов, приготовленных из пото-жировых следов, количество позитивных результатов составило 63%, препаратов, приготовленных со смешанных следов влагалищного эпителия и спермы – 52%, препаратов, приготовленных со следов слюны – 59%. В условиях, когда цитологический препарат выступает в роли единственного вещественного доказательства по уголовному делу, исследование обнаруженных в нем ядросодержащих клеток предоставит возможность с достаточно высокой вероятностью провести идентификацию, используя современные молекулярно-генетические методы. Также разработанный алгоритм позволит использовать архивный материал, который хранится в отделениях судебно-медицинской цитологии региональных бюро судебно-медицинской экспертизы Украины, для получения идентифицирующих генетических характеристик, а именно ДНК-профилей, и их дальнейшего занесения в базы данных.

**Ключевые слова:** следы биологического происхождения, цитологический препарат, ДНК-идентификация, алгоритм проведения идентификационного исследования, базы данных ДНК-профилей.

UDC 340. 6:616-076:577. 21

**Forensic-medical Person's Identification, Researching the Genomic DNA of Biological Material in Cytological Specimens**

**Umanskiy D. A., Krivda R. G., Krivda G. F.**

**Summary.** The possibility of application of nucleus-containing cells in cytological specimens, produced from blood and saliva traces, mixed sebum and sweat traces, mixed vaginal epithelium and sperm traces on the material evidences, was studied for person's identification with molecular-genetic methods. Algorithm of cooperation between forensic medical experts-cytologists and experts-geneticists was developed, what resulted the effective examination of biological traces on the material evidences to determine their origin from defined persons. New method of extraction and lysis of nucleus-containing cells in cytological specimens was developed. It was discovered, that in conditions of this work the most effective was the research of nucleus-containing cells in cytological specimens, produced from blood (72%). The effectiveness rate of research of the cytological specimens, produced from mixed sweat and sebaceous traces was 63%, from mixed vaginal epithelium and sperm traces – 52%, from saliva – 59%. In case when cytological specimen is the only present material evidence, examination of nucleus-containing cells in it will give an opportunity to perform the identification on high likelihood level using molecular-genetic methods. Developed algorithm gives an opportunity to examine the archive material, which is being preserved in forensic-cytological departments of regional forensic-medical examinations bureau of Ukraine, and to receive the identifying genetic characteristics (DNA-profiles), which can be included in data base of DNA-profiles.

**Key words:** biological traces, cytological specimens, DNA-identification, algorithm of identification research, data base of DNA-profiles.

Стаття надійшла 2. 08. 2012 р.  
Рецензент – проф. Олійник С. А.