

УДК: 340.6:616.71-001.166-079.6:575

© Корниенко И.В., Внукова Н.В., Березовский Д.П., 2011

ОПЫТ ВЫДЕЛЕНИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК ИЗ КОСТНЫХ ОСТАНКОВ, ПОДВЕРГШИХСЯ ТЕРМИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ С ЦЕЛЬЮ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЛИЧНОСТИ

Корниенко^{1,2} И.В., Внукова² Н.В., Березовский³ Д.П.

¹Ожский Федеральный университет; г Ростов-на-Дону, Россия; ²16 Государственный Центр судебно-медицинских и криминалистических экспертиз Северо-Кавказского военного округа, г Ростов-на-Дону, Россия; ³Ростовский государственный медицинский университет; г Ростов-на-Дону, Россия

Корниенко И.В., Внукова Н.В., Березовский Д.П. Опыт выделения ядерной ДНК из костных останков, подвергшихся термическому воздействию с целью идентификации личности // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 139-140.

В статье приводится экспертный случай идентификации костных останков, подвергшихся длительному воздействию пламени с применением методов молекулярно-генетического типирования

Ключевые слова: кость, идентификация, генетическое типирование, сожжение

Корниенко І.В., Внукова Н.В., Березовський Д.П. Досвід виділення ядерної ДНК з кісткових останків, що піддалися термічній дії з метою ідентифікації особи // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 139-140.

У статті приводиться експертний випадок ідентифікації кісткових останків, що піддалися тривалій дії полум'я із застосуванням методів молекулярно-генетичного типіровання

Ключові слова: кість, ідентифікація, генетичне типіровання, спалювання

Kornienko I.V., Vnuкова N.V., Berezovskij D.P. Experience of selection of nuclear DNA from bone remains, exposed to thermal influence with the purpose of authentication of personality // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 139-140.

In this article it is cited an expert case of identification bone remains subjected to flame with application of molecular genetic methods of typing

Key words: bone, authentication, genetic typing, burning

В свободной энциклопедии Википедии термин борьба с преступностью определяется как системная деятельность государственных и общественных органов, направленная на обеспечение соблюдения норм уголовного закона, недопущение причинения вреда охраняемым им интересам и благам, характеризующаяся активным противостоянием преступности и выражающаяся в профилактике преступности (путём воздействия на её детерминанты) и пресечении преступлений, применении мер ответственности к преступникам. Одним из принципов борьбы с преступностью является принцип обеспечения выявления и реального привлечения к ответственности (не обязательно сводящейся к наказанию) наибольшего возможного числа лиц, совершивших преступления (неотвратимость наступления уголовной ответственности). Огромную роль, в сборе доказательной базы при раскрытии преступления играет судебно-медицинская экспертиза. Стоит отметить, что в последние годы судебно-медицинские эксперты не так уж и редко сталкиваются со случаями, когда преступник с целью сокрытия преступления пытается уничтожить труп потерпевшего. И при расследовании дел, связанных с обнаружением костных останков, одной из первостепенных задач, является задача установления (идентификация) личности. Следствие интересует вопрос – какому конкретно лицу принадлежат данные костные останки? Традиционно, и довольно эффективно этот вопрос решается с применением медико-криминалистических методов [1], позволяющих установить пол, возраст костных останков, а в некоторых случаях и высказаться о заболеваниях, которыми страдал потерпевший при жизни. Все эти вопросы хорошо решаются при обнаружении следственными органами целого или относительно целого скелета. Однако, задача существенно усложняется при обнаружении частей скелета, либо фрагментов костей скелета человека. И в этом случае, имеются соответствующие медико-крими-

налистические методики, но их возможность и точность оставляет желать лучшего. Велика погрешность этих методик при исследовании костных фрагментов, подвергшихся в частности термическому воздействию. Поэтому, данная проблема заставляет искать новые методики для идентификации неопознанных костных останков. С 80-х годов для установления принадлежности тому или иному лицу биологических образцов применяется метод ДНК-идентификации [2;3;4].

В связи с чем, целью нашего сообщения является публикация нашего опыта идентификации фрагментов костных останков при расследовании одного уголовного дела при попытке преступника сокрытия следов преступления путем сожжения трупов потерпевших.

Согласно обстоятельствам дела 17.02.2010 г. следственным отделом прокуратуры было возбуждено уголовное дело по ч. 1 ст. 105 УК РФ, по факту обнаружения человеческих останков в лесном массиве Национального парка. В кострище были обнаружены обугленные фрагменты костей, принадлежность которых к животному либо человеку с применением медико-криминалистических (антропологических) методов определить не представлялось возможным. По этой причине, следственным комитетом было вынесено постановление о назначении проведения молекулярно-генетической экспертизы. Следствие предполагало, что данные останки могут принадлежать гр. Н и М. Также, следствие располагало биологическими образцами, принадлежащих близким родственникам пропавших Н и М. Дополнительно, имелись сведения, что тела потерпевших были подвергнуты двойному сожжению на костре с использованием дров в течение нескольких часов. Стоит отметить, что с момента пропажи потерпевших Н и М до обнаружения костных останков в кострище прошло не более 4-х месяцев, время пропажи середина осени 2009 года.

Для проведения молекулярно-генетической экспертизы были предоставлены костные фрагменты преимущественно длинных трубчатых костей, фрагменты костей таза и пирамид височных костей. Визуальным осмотром, при проведении экспертизы было установлено, что в предоставленных фрагментах имеется две левых пирамиды височных костей. Однако, проведенный сравнительный анатомический метод исследования фрагментов костей (за исключением пирамид левых височных костей) не позволял выявить достаточно четких анатомических признаков в виде сосудистых отверстий, анатомических вырезок, анатомических ямок и т.п.. Данный факт лишил возможности экспертов однозначно только лишь по макроскопическим признакам высказать о видовой принадлежности, а также принадлежности отдельных фрагментов конкретно к той или иной кости скелета человека.

Поэтому, на следующем этапе проведения экспертизы было отобрано 14 фрагментов длинных трубчатых костей размерами примерно от 1,1x0,7x0,4 см до 10,4x1,5x0,6 см в стадиях серого, черного и белого каления, а также два фрагмента длинных трубчатых костей на которых были обугленные мягкие ткани (мышцы).

Из отобранных костных фрагментов была приготовлена костная стружка, которую в количестве 0,5-2,5 г помещали в отдельные стерильные 15 мл пробирки, заливали 10 мл 0,5 М ЭДТА (рН 8,0) и инкубировали смесь 72 часа при комнатной температуре периодически, примерно каждые 12 часов, заменяя раствор ЭДТА свежим. Затем костную стружку заливали 2 мл лизирующего раствора (10мМ трис-НСl, рН 7,5, 10 мМ ЭДТА, 50 мМ NaCl, 2% ДСН) с добавлением 200 мкл раствора протениназы К (10 мг/мл) и 100 мкл 1 М дитиотрейтола. Смесь инкубировали 18 ч при t +56 С. Затем вносили еще 100 мкл раствора протениназы К (10 мг/мл), 50 мкл 1 М дитиотрейтола и инкубировали еще 3 часа при t +56С. Смесь не менее трех раз (до тех пор, пока раздел фаз не остался чистым) экстрагировали смесью фенол/хлороформ/изоамилол (25:24:1). Переносили верхнюю водную часть, содержащую ДНК, в чистую пробирку и добавляли 2 мл водонасыщенного н-бутанола с целью удаления остатков фенол-хлороформа. Встряхивали на вортке (смесителе) в течение 10 сек и центрифугировали в течение 1 мин при 10000 об/мин. Верхний слой, содержащий бутанол, удаляли. Для концентрации и очистки ДНК использовали устройство "Amicon 30" производства фирмы MILLIPORE, США.

Для контроля чистоты реагентов в процессе выделения ДНК проводили экстракцию пробы, содержащей реактивы, используемые в процессе выделения (холостая проба). Генотипирование исследуемых образцов ДНК проводилось по системе Identifiler: (локусы STR: D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TH01, D16S539, D2S1338, D19S433, TPOX и locus Amelogenin, определяющий половую принадлежность). Амплификацию ДНК осуществляли методом ПЦР на термоциклере «GeneAmp PCR System 9700» «PE Applied Biosystems». Для оценки специфичности реакции амплификации использовали положительный (проба с ДНК 9947A) и отрицательный (проба без ДНК) контроли. Электрофоретическое разделение образцов проводили на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3130 в соответствии с руководством

[5]. В процессе электрофореза информация о сканировании геля лазером и детекции флуоресценции автоматически передавалась на управляющий компьютер и обрабатывалась программой Run 3130 Data Collection v 3.0. Обработка результатов и идентификация аллелей проходила автоматически с помощью программы GeneMapper ID v 3.2.

По результат генетического типирования, из 14 костных фрагментов, лишь в трех был получен идентичный генетический профиль, соответствовавший профилю потерпевшему N. Что касается характеристики костных фрагментов, из которых был получен этот генетический профиль, то именно на этих фрагментах были останки мягких тканей и частично сохранившаяся надкостница. При типировании же костных фрагментов от серого до белого каления, выделить ядерную ДНК не представилось возможным.

Таким образом, полученные результаты типирования костных останков позволили установить личность одного из двух погибших людей. В обсуждении этого экспертного случая уместно добавить, что идентификация неопознанных тел вообще, и в частности подвергшихся воздействию пламени традиционно основаны на обнаружении индивидуальных признаков – в виде следов от бывших оперативных вмешательств, наличия татуировок, признаков перенесенных ранее заболеваний, исследования зубной формулы [6]. Однако, в данном случае все традиционные медико-криминалистические методы оказались неперспективными. Особо стоит отметить, что на исследование были предоставлены только костные останки, и только из них был шанс получить образцы ДНК. В предоставленном материале как это ни странно не оказалось, ни одного зуба потерпевшего, несмотря на то, что зубы наиболее стойкие к воздействию высокой температуры.

Данный случай наглядно демонстрирует, что, несмотря на воздействие высокой температуры в течение нескольких часов при наличии обугленных останков, при условии сохранения надкостницы на длинных трубчатых костях с целью идентификации имеются довольно высокие шансы выделения ядерной ДНК без признаков деградации и можно надеяться на успешную идентификацию личности неопознанного человека.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Томилан В.В. Медико-криминалистическая идентификация. Настольная книга судебно-медицинского эксперта. Издательская группа НОРМА-ИНФРА М, Москва, 2000 – 472 с
2. Josi Arnaldo Soares-Vieira Ana Elisa Correia Billerbeck Edna Sadayo Miazato Iwamura Lans de Almeida Cardoso Daniel Romero Mucos Post-mortem forensic identity testing: application of PCR to the identification of fire victim Sao Paulo Med. J. vol.118 n.3 Sro Paulo May 2000
3. Williams D, Lewis M, Franzen T, Lissett V, Adams C, Whittaker D, Tysoe C, Butler R. Sci Justice. 2004 Apr-Jun;44(2):89-94. Sex determination by PCR analysis of DNA extracted from incinerated, deciduous teeth
4. Meyer HJ. The Kaprun cable car fire disaster--aspects of forensic organisation following a mass fatality with 155 victims. Forensic Sci Int. 2003 Dec 17;138(1-3):1-7
5. ABI Prism 3130 Sequencer User's Manual. – 1998
6. Cardoza AR. Dental forensic identification in the 2003 Cedar Fire. J Calif Dent Assoc. 2004 Aug;32(8):689-93.

Надійшла 12.09.2011 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін