

УДК 343.982.32:343.982.34:577.2

Ю.Ю. Куслій, заступник завідувача відділу —
завідувач сектору Вінницького науково-дослідного
експертно-криміналістичного центру МВС України

Д.Я. Бачара, завідувач сектору
Вінницького науково-дослідного експертно-
криміналістичного центру МВС України

МОЖЛИВІСТЬ ПРОВЕДЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ СЛІДІВ РУК ПІСЛЯ ЇХ ОБРОБКИ ЦІАНОАКРИЛАТОМ

Викладено особливості комплексного дактилоскопічного та молекулярно-генетичного дослідження слідів рук у лабораторних умовах після їх обробки ціаноакрилатом, наведено результати проведеного експериментального дослідження з метою визначення речовини, яка була б розчинником для ціаноакрилату і зберігала цілісність клітинних елементів, для їх подальшого молекулярно-генетичного дослідження.

Ключові слова: молекулярно-генетичне дослідження, дактилоскопічне дослідження, ціаноакрилова камера, димексид, ДНК-профіль.

Изложены особенности комплексного дактилоскопического и молекулярно-генетического исследования следов рук в лабораторных условиях после их обработки цианоакрилатом, приведены результаты проведенного экспериментального исследования с целью определения вещества, которое служило бы растворителем для цианоакрилата и сохраняло целостность клеточных элементов, для их дальнейшего молекулярно-генетического исследования.

The article dedicates to the complex fingerprint and molecular genetic studies of hand prints in the laboratory, after processing with the Cyanoakrylate. The selection of alternative substance was the main purpose of the study. This compound has to be the solvent for Cyanoakrylate and maintains the integrity of the cellular elements for their further molecular genetic studies.

На зростання рівня злочинності сьогодні, як відомо, впливає кілька чинників, основними з яких є низький рівень соціального забезпечення населення, недостатній рівень профілактичної роботи працівників органів внутрішніх справ з населенням, недосконалість судової системи, проведення антитерористичної операції на сході країни тощо.

Розкриттю кримінальних правопорушень значною мірою сприяє якісний експертний супровід їх досудового розслідування. Одним зі шляхів підвищення ефективності експертного забезпечення розслідування правопорушень, створення надійної об'єктивної доказової бази для органів досудового розслідування є комплексний підхід до дослідження об'єктів слідової інформації (наприклад, проведен-

ня за певних умов дактилоскопічного дослідження слідів рук і подальше їх молекулярно-генетичне дослідження, результатом якого буде встановлення генетичних ознак (ДНК-профілю)).

Окремі аспекти проведення дактилоскопічних і молекулярно-генетичних досліджень було розглянуто в працях В.К. Анциферова, А.М. Волинської, І.Г. Галдецької, Л.Г. Еджубова, В.О. Комахи, Н.Е. Кожухової, В.Є. Корноухова, Г.Ф. Кривди, Р.Г. Кривди, Є.Д. Лук'янчикова, Г.В. Мудрецької, Г.А. Самойлова, Ю.М. Сиволап, М.П. Смирнова, О.В. Цикової та ін. Проте питання проведення комплексного дослідження об'єктів слідової інформації, зокрема, дактилоскопічного з використанням ціаноакрилату та подальшого молекулярно-генетичного, потребує ґрунтовнішого вивчення з огляду на його важливість для досудового розслідування, з одного боку, та особливості проведення таких досліджень, з іншого боку. Вивчення можливості проведення зазначених досліджень і становить мету цієї статті.

У сучасній практиці проведення дактилоскопічних досліджень для виявлення слідів рук використовують пари ціаноакрилату (ціаноакрилат — основний компонент ціаноакрилового клею, є інгібітором (речовиною, яка пригнічує реплікацію ДНК) для об'єктів біологічного походження і згідно з чинними методичними рекомендаціями унеможлиблює подальше проведення молекулярно-генетичного дослідження [1]). Ціаноакрилат розчинний у деяких органічних розчинниках, зокрема в диметилсульфоксиді, і не розчинний у воді [2].

Основним завданням експерта-біолога після обробки слідів рук ціаноакрилатом є усунення його впливу на них з метою максимального збереження клітинних елементів (багат шарового плоского зроговілого епітелію), які залишаються при контакті рук зі слідосприймаючою поверхнею.

Для перевірки можливості проведення молекулярно-генетичного дослідження слідів рук після обробки їх ціаноакрилатом у Вінницькому науково-дослідному експертно-криміналістичному центрі МВС України було проведено експеримент. Слідовою інформацією при цьому були сліди рук експертів, залишені ними на поверхнях полімерних пакетів чорного кольору.

Першим етапом дослідження було надання контрасту слідам папілярних узорів і виявлення інших латентних слідів рук на зовнішніх поверхнях полімерних пакетів шляхом застосування фізико-хімічного методу, зокрема ефірів ціаноакрилату. Ціаноакрилову камеру попередньо обробили дезінфікуючим розчином «Бацилол» з метою знищення чужорідної ДНК, після чого до неї помістили полімерні пакети для прискореної обробки ціаноакрилатом CN-315 (Україна).

У фольговану ємність наливали 10—15 крапель рідкого ціаноакрилату BVDA В-83050 (Голландія), герметично закривали двері камери та запірні клапани. Термін обробки становив 40 хв при вологості 70 % й температурі нагріву клею $T = 80—100\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Через деякий час на досліджуваних об'єктах почав утворюватися білий наліт, добре видимий неозброєним оком. Після цього полімерні пакети діставали з камери та візуально оглядали за допомогою криміналістичної лупи (збільшення 3х) при різних нахилах щодо джерела світла.

Під час огляду було встановлено наявність на поверхнях полімерних пакетів слідів папілярних узорів у вигляді папілярних ліній білого кольору [3].

На другому етапі експерименту було обрано методи вилучення слідів рук з

предмета-носія після їх обробки ціаноакрилатом, виділення ДНК, визначення кількості та якості виділеної ДНК та проведено інтерпретацію результатів капілярного електрофорезу.

Сліди рук, оброблені ціаноакрилатом, вилучали такими методами:

- нитками стерильної марлевої серветки, змоченими бідистильованою деіонізованою водою, робили змиви зі слідів рук, які поміщали до пробірки типу «еппендорф»;

- за допомогою стерильного скальпеля зі змінним одноразовим лезом робили зіскрібки папілярних візерунків слідів, які поміщали до пробірки «еппендорф»;

- нитками стерильної марлевої серветки, змоченими розчином диметилсульфоксиду (димексиду), робили змиви зі слідів рук, які поміщали до пробірки типу «еппендорф».

Виділення ДНК з вилучених слідів (об'єктів досліджень) проводили двома методами:

- за допомогою іонообмінної смоли Chelex 100. 5 % розчин Chelex 100 додавали до пробірок з об'єктами досліджень до кінцевого об'єму 200 мкл, ретельно перемішували і витримували 30 хв при $T = +56\text{ }^{\circ}\text{C}$. Потім 8 хв витримували на киплячій водяній бані. Після центрифугування протягом 5 хв на центрифугузі зі швидкістю обертання 12 000 об/хв при кімнатній температурі супернатанти (надосадову рідину) переносили до нових пробірок [4];

- за допомогою автоматизованого приладу AutoMate Express™ Instrument фірми Applied Biosystems (США) з використанням спеціального набору реагентів для автоматизованого виділення ДНК PrepFiler™ Express™ Forensic DNA Extraction Kit з відповідними рекомендованими протоколами.

Для проведення етапу лізису ДНК до пробірок з об'єктами додавали по 500 мкл лізуючого буферу та по 5 мкл дитіотреїтопу (ДТТ; 1 М). Пробірки з об'єктами 40 хв інкубували на термошейкері при $T = +70\text{ }^{\circ}\text{C}$ зі швидкістю обертання 900 об/хв та центрифугували при максимальній швидкості обертання протягом 2 хв для осадження лізату. Лізати об'єктів переносили до чистих пробірок для зразків PrepFiler. Наступні етапи виділення ДНК (зв'язування, відмивання, елюція ДНК) проводились автоматично [5].

Кількісну та якісну оцінку виділеної ДНК проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (далі – ПЛР) у реальному часі з використанням стандартного набору реактивів (специфічного лише для ДНК людини) для проведення кількісного аналізу Quantifiler Human DNA Quantification Kit виробництва фірми Applied Biosystems (США) відповідно до інструкції, наданої виробником реагентів, на приладі 7500 Real Time PCR Systems фірми Applied Biosystems (США) [6].

Тестування об'єкта, отриманого шляхом змивання розчином димексиду, за свідчило прийнятний рівень матричної активності. Причому концентрація ДНК в об'єкті, який виділяли за допомогою набору PrepFiler™ (0,015 нг/мкл), була вищою, ніж в об'єкті, який підлягав екстракції методом виділення за допомогою іонообмінної смоли 5 % Chelex 100 (0,012 нг/мкл).

Під час тестування об'єкта, отриманого шляхом змивання бідистильованою деіонізованою водою, спостерігали низький (0,007 нг/мкл при виділенні набором PrepFiler™) та вкрай низький (0,001 нг/мкл при виділенні іонообмінною смолою 5 % Chelex 100) рівень матричної активності, що свідчить про низький вміст ДНК у цих об'єктах.

В об'єкті, отриманому шляхом зіскрібання, взагалі не було продуктів ампліфікації ДНК за наявності сигналу від внутрішнього позитивного контролю, що свідчить про відсутність інгібування ПЛР. Такий результат можна пояснити надзвичайно низьким вмістом ДНК (або її відсутністю) у цьому об'єкті, якого недостатньо для проведення ідентифікаційного аналізу наявними методами. Концентрація ДНК у зазначеному об'єкті становила 0,001 нг/мкл із застосуванням набору PrepFiler™ та 0,000 нг/мкл – із застосуванням іонообмінної смоли 5 % Chelex 100.

Результати оцінки електрофореграм за допомогою програмного забезпечення GeneMapper ID-X v. 1.1. [7] засвідчили таке:

– ДНК-профіль об'єкта, який вилучали за допомогою розчину димексиду, є повним (наявні всі 16 STR-локусів), спостерігається незначний дисбаланс у гетерозиготних локусах і низький RFU (мінімальна висота алеля становить 32);

– ДНК-профіль об'єкта, який вилучали за допомогою бідистильованої деіонізованої води, є неякісним і неповним (наявні 6 повних із 16 STR-локусів), спостерігається значний дисбаланс у гетерозиготних локусах з випадінням алелів;

– ДНК-профіль об'єкта, який вилучали за допомогою зіскрібання ціаноакрилату, є непридатним для ідентифікації (наявні 2 повні із 16 STR-локусів), спостерігається випадіння алелів майже в кожному локусі.

З огляду на зазначене можна дійти висновку, що оптимальним методом під час роботи зі слідами рук, обробленими ціаноакрилатом, є проведення змивів за допомогою розчину димексиду з подальшою екстракцією набором реагентів PrepFiler™.

Результати оцінки ДНК-профілів наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Повнота та якість ДНК-профілів при застосуванні різних методів виділення та способів вилучення об'єктів

Метод виділення ДНК	Способи вилучення об'єктів					
	Зіскрібок		Змив бідистильованою водою		Змив розчином димексиду	
	Повнота ДНК-профілю	Концентрація ДНК (нг/мкл)	Повнота ДНК-профілю	Концентрація ДНК (нг/мкл)	Повнота ДНК-профілю	Концентрація ДНК (нг/мкл)
Іонообмінна смола Chelex 100	—	—	—	0,001	100 %	0,012
Prep Filer	12,5 %	0,001	37,5 %	0,007	100 %	0,015

На третьому етапі експертного експериментального дослідження визначали оптимальну концентрацію розчину димексиду для отримання найбільш якісного ДНК-профілю. Застосовані розчини димексиду наведено в таблиці 2.

Було проведено змиви зі слідів рук, оброблених ціаноакрилатом, нитками стерильної марлевої серветки, змоченими 10 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 90 % розчинами димексиду і нерозведеним димексидом, які поміщено до окремих пробірок типу «еппENDORF». Відповідно до методичних рекомендацій проведено виділення ДНК, її кількісну та якісну оцінку.

Приготування водного розчину димексиду

Вміст димексиду	Кількість частин димексиду	Кількість частин води
10 %	1	9
20 %	1	4
25 %	1	3
30 %	3	7
40 %	2	3
50 %	1	1
90 %	9	1

Оцінка електрофореграм засвідчила таке:

– ДНК-профіль об'єкта, який вилучали за допомогою 10 % розчину димексиду, є якісним (мінімальний RFU (relative fluorescence units — відносні одиниці флуорисценції, за якими визначають висоту алелів) становить 260), повним (наявні всі 16 STR-локусів) та збалансованим;

– ДНК-профілі об'єктів, які вилучали за допомогою 25 %, 30 % та 40 % розчинів димексиду, є повними (наявні всі 16 STR-локусів), проте спостерігається значний дисбаланс у гетерозиготних локусах;

– ДНК-профілі об'єктів, які вилучали за допомогою 20 %, 50 %, 90 % та 100 % розчинів димексиду, є неякісними та неповними, майже у кожному гетерозиготному локусі спостерігається випадіння одного з алелів, подальша інтерпретація результатів яких не можлива.

Отже, як засвідчили результати дослідження, оптимальна концентрація розчину димексиду для отримання якісного та повного ДНК-профілю становить 10 %.

На четвертому, завершальному, етапі експериментального дослідження визначали проміжки часу від моменту проведення змивів до етапу виділення ДНК, потрібні для отримання максимально якісного, повного та збалансованого ДНК-профілю.

Після проведення змивів зі слідів рук, оброблених ціаноакрилатом, нитками стерильної марлевої серветки, змоченими 10 % розчином димексиду, перший об'єкт виокремлювали відразу, а наступні поміщали до пробірок з відкритими кришками і витримували протягом 10 хв, 20 хв, 30 хв, 40 хв, 50 хв та 60 хв, після чого переходили до етапів виділення ДНК, її кількісної та якісної оцінки.

Як засвідчила оцінка електрофореграм:

– ДНК-профіль об'єкта, який вилучали за допомогою 10 % розчину димексиду з витримкою перед виділенням ДНК у 40 хв, є якісним, повним (наявні всі 16 STR-локусів) та збалансованим;

– динаміка ДНК-профілів об'єктів, які вилучали за допомогою 10 % розчину димексиду без витримки та з витримкою перед виділенням ДНК протягом 10 хв, 20 хв, 30 хв, 50 хв та 60 хв, погіршується, спостерігається випадіння алелів, дисбаланс у гетерозиготних локусах, поява додаткових позабінових піків, що негативно впливає на аналіз електрофореграм.

Результати випробувань наведено в таблиці 3.

Таблиця 3

Характеристика ДНК-профілів залежно від часу витримки перед етапом виділення ДНК

Характеристики ДНК-профілів	Час від моменту проведення змивів до етапу виділення ДНК						
	0 хв	10 хв	20 хв	30 хв	40 хв	50 хв	60 хв
Повнота ДНК-профілю	87,5 %	93,75 %	93,75 %	81,25 %	100 %	81,25 %	75 %
Концентрація ДНК (нг/мкл)	0,006	0,046	0,006	0,024	0,063	0,012	0,005

За результатами проведених досліджень можна дійти висновку, що для отримання якісного та повного ДНК-профілю після обробки слідів рук ціаноакрилатом потрібно проводити прицільні змиви 10% розчином димексиду, з витримкою перед виділенням ДНК протягом 40 хв і використанням набору для виділення PrepFiler™.

Отже, розчин димексиду є оптимальним розчинником для ціаноакрилату, який зберігає цілісність структури ядерних клітинних елементів, що дає змогу отримати придатний для подальшої ідентифікації ДНК-профіль після обробки слідів рук ціаноакрилатом.

Список використаної літератури

1. *Комплексне дослідження слідів рук на вогнепальній зброї : метод. реком. / ДНДЕКЦ МВС України / [Борзов О.П., Костильова О.А., Кузнецов В.А., Щавелев А.В.]. — К. : ДНДЕКЦ, 2011. — 21 с. : іл.*
2. *Айрапетян Л.Х. Справочник по клеям / Айрапетян Л.Х., Заика В.Д., Яшина Л.А. — Л. : Химия, 1980. — 304 с.*
3. *Методика дактилоскопічної експертизи. Експертна спеціальність 4.6 «Дактилоскопічні дослідження» / [укл. Жолтанська І.І., Кузнецов В.А., Щавелев А.В. та ін.]. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2014. — 119 с. : іл.*
4. *Дяченко Н.М. Дослідження ДНК з об'єктів біологічного походження методом полімеразної ланцюгової реакції : метод. реком. / Дяченко Н.М., Ольховець С.О., Лагус В.І. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2003. — 39 с.*
5. *Виділення ДНК з біологічних слідів людини з використанням автоматизованого приладу AutoMate Express™ Instrument (Applied Biosystems, США) : метод. реком. / [укл. С.В. Петричук, А.С. Повх]. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2014. — 16 с.*
6. *Костильова О.А. Визначення кількості та якості виділеної ДНК : метод. реком. / О.А. Костильова, А.С. Повх. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2013. — 17 с.*
7. *Программное обеспечение GeneMapper ID-X Версия 1.1. : руководство по началу работы | Applied Biosystems: Part Number 4375574 Rev. A. — Foster Citi : Applied Biosystems, 2007. — 176 p.*
8. *Наборы Quantifiler : руководство пользователя. — Foster Citi : Applied Biosystems, 2003.*
9. *Дяченко Н.М. Вилучення та сучасні можливості криміналістичного дослідження об'єктів біологічного походження : метод. реком. / Н.М. Дяченко, С.М. Гурін. — К. : РВВ МВС України, 2000. — 24 с.*
10. *Ольховець С.О. Дослідження розподілу частот алелів STR-локусів у змішаній популяції України : метод. реком. / С.О. Ольховець. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2009. — 12 с.*
11. *Туманов А.К. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств / А.К. Туманов. — М. : Гос. изд-во юрид. л-ры, 1961. — 579 с.*

12. *Инструкция Amp FISTR Identifiler Plus*. Набор для ПЦР-амплификации : руководство пользователя. — Foster Citi : Applied Biosystems, 2009. — 188 с.

13. *Getting Started Guide / Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer: Part Number 4352715 Rev.* — Foster Citi : Applied Biosystems, 2007. — 170 p.

14. *Пименов М.Г.* Научные и практические аспекты криминалистического ДНК-анализа : учеб. пособ. / Пименов М.Г., Культин А.Ю., Кондрашов С.А. — М. : ГУ ЭКЦ МВД России, 2001. — 144 с.