

УДК 577.213/217.088

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЗРАЗКІВ СЕЧІ, ВИСУШЕНИХ НА МАРЛІ, ЗА ДОПОМОГОЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ МЕТОДІВ

Кривда Р.Г.

Одеський національний медичний університет

Досліджено кількісний вихід ДНК при виділенні ДНК з експериментальних зразків сечі, висушених на марлі, при зберіганні протягом різного терміну часу, придатність виділеної ДНК для аналізу методом ПЛР, а також якість отриманих ДНК-профілів. Результати проведених досліджень показали відсутність достовірної різниці ($P > 0,05$) у кількості виділеної ДНК на 1, 30, 60 та 90 добу дослідження. Було визначено, що процеси деградації в експериментальних зразках сечі при зберіганні в умовах кімнатної температури (22°C) виражаються в повільному зниженні кількості виділеної ДНК, в середньому, на 2,5% у жінок та на 3,5% у чоловіків. Відповідно до цього, з плями сечі розміром 2,0 x 2,0 см, утвореної рідкою сечею об'ємом 3,0 мл, на 90-у добу зберігання при температурі 22°C теоретично можливо виділити ДНК в кількості достатній для проведення генотипування. На основі висновків проведеного дослідження було розроблено алгоритм проведення судово-медичної експертизи слідів сечі за допомогою молекулярно-генетичних методів.

Ключові слова: судово-медична експертиза, ДНК, полімеразна ланцюгова реакція, сліди сечі, ДНК-профіль.

Постановка проблеми. В судово-медичній практиці дослідження зразків рідкої сечі, які зберігалися у рідкому стані та у висушеному вигляді на марлі, та слідів сечі на речових доказах займає п'яте місце серед всіх досліджених біологічних об'єктів, що складає 2,7% від загальної кількості досліджених біологічних об'єктів. При цьому судово-медичне дослідження саме таких біологічних об'єктів має суттєве значення при розкритті правопорушень та встановлення істини у випадках, коли це єдині докази, або для підвищення рівня доказовості інших експертних досліджень [11].

Традиційні серологічні методи дослідження у більшості випадків не дають можливості ідентифікувати особу, тобто встановити статеву та групову приналежність зразка сечі або слідів сечі на речових доказах, у зв'язку з чим використання молекулярно-генетичних методів в українській судовій практиці цілком виправдане.

На сьогоднішній день більшість судово-медичних експертиз – це комплексні дослідження, які направлені на вирішення питань слідства за допомогою різних біологічних, хімічних та фізичних методів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Зразки сечі в рідкому стані, а також у висушеному стані в більшості випадків досліджуються після проведення судово-медичних токсикологічних експертиз при виникненні підозри на недостовірність результатів, при оскарженні результатів або при виникненні підозри на підміну зразків, які направляються на дослідження.

Судово-медичні токсикологічні дослідження проводяться у встановленому чинним законодавством порядку в обсязі медичного огляду водія або учасника ДТП для визначення стану алкогольного сп'яніння, впливу наркотичних чи токсичних речовин. Для цього відбираються зразки рідкої сечі об'ємом від 10,0 до 12,0 мл, які в опечатаному вигляді у скляних флаконах об'ємом 15,0 мл направляються у бюро судово-медичної експертизи, де у відділенні судово-медичної токсикології зразки піддаються токсикологічному аналізу з метою визначення присутності в організмі етанолу, наркотичних чи токсичних речовин. Відповідно до Правил проведення судово-медичної експертизи, зразки рідкої сечі після дослідження зберігаються протягом 30 діб в умовах побутового холодильника (4°C), після чого знищуються [12].

У випадках, коли виникає підозра на підміну або знищення біологічних зразків від осіб, які проходять у справах, працівники слідства призначають по даній справі судово-медичну молекулярно-генетичну експертизу з метою ідентифікації зразка рідкої сечі та проведенням порівняльного аналізу зі зразком крові особи. Для проведення судово-медичної молекулярно-генетичної експертизи залишається 1,0-1,5 мл зразка рідкої сечі, який зберігався протягом 30 діб та більше.

Сліди та плями сечі також досліджуються як речові докази при розкритті правопорушень.

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. В рамках науково-дослідної роботи нашої кафедри було проведено дослідження геномної ДНК, виділеної з об'єктів різного біологічного походження. На попередньому етапі досліджувались зразки рідкої сечі, в результаті чого ми дійшли висновків, що кількість ДНК, виділеної із зразків рідкої сечі, залежить від умов зберігання зразків, а також від статевої належності донорів зразків. Продовжуючи роботу в даному напрямку, необхідно аналізувати також вихід та якість ДНК отриманої з висушених на марлі зразків сечі.

Мета статті. Метою нашої роботи є розробка та впровадження в експертну практику уніфікованого алгоритму проведення судово-медичної експертизи речових доказів у вигляді плям сечі за допомогою сучасних молекулярно-генетичних методів з метою ідентифікації особи.

Виклад основного матеріалу. Для досягнення поставленої мети вирішували наступні завдання:

- визначали кількість виділеної ДНК із експериментальних зразків сечі, висушених на марлі, які зберігалися за однакових температурних умов протягом різного часу;

- визначали придатність виділеної ДНК із висушених на марлі зразків сечі шляхом типування за допомогою ПЛР;

- проводили порівняльний аналіз ДНК-профілів виділеної ДНК із висушених на марлі зразків сечі з ДНК-профілями відповідних зразків для встановлення тотожності за результатами генотипування;

- розробляли рекомендації по проведенню судово-медичної експертизи зразків сечі, висушених на марлі, за допомогою сучасних молекулярно-генетичних методів з метою ідентифікації особи.

Характеристика досліджуваного матеріалу: експериментальні зразки сечі. Для проведення експериментального молекулярно-генетичного дослідження відбирали зразки рідкої сечі від 20 здорових добровольців: 10 чоловіків та 10 жінок, об'єм кожного зразка рідкої сечі складав не менше ніж 200,0 мл, зразки відбирали у стерильні одноразові ємності об'ємом 200,0 мл, після чого зразки рідкої сечі розділяли на аликвоти по 3,0 мл та за допомогою автоматичного дозатора з перемінним об'ємом переносили на стерильну медичну марлю розмірами 6,0 x 6,0 см та маркували. Марлю висушували при кімнатній температурі (22°C), зразки сечі зберігали в паперових конвертах при кімнатній температурі (22°C) протягом 1, 30, 60 та 90 діб.

Контрольну групу зразків сечі сформували з відповідних зразків, біологічний матеріал яких досліджували у день відбору матеріалу.

Від кожного добровольця за його згодою на стерильний ватний тампон за допомогою спеціального набору відбирався зразок букального епітелію, який використовувався для порівняльного аналізу отриманих генотипів.

Вплив факторів зовнішнього середовища був мінімізований: експериментальні зразки розміщували таким чином, щоб пряме сонячне світло та волога на них не потрапляли. Температуру вимірювали аспіраційним психрометром Асмана при точності до 0,1%. Рівень вологості у приміщенні не перевищував 60%.

Виділення ДНК з експериментальних зразків сечі. Процес виділення ДНК з експериментальних зразків сечі проводили на 1 добу, на 30 добу, на 60 добу та на 90 добу. З середини плями з експериментальним зразком сечі, що містилась на марлі, вирізали фрагменти розмірами 2,0 x 2,0 см, які переносили у відповідним чином промарковані мікроцентрифужні пробірки типу «Еппендорф» об'ємом 1,5 мл. Виділення ДНК проводили за допомогою спеціального набору реагентів «PrepFiler® Forensic DNA Extraction Kit» («Applied Biosystems», США) для виділення ДНК з криміналістичних зразків, за стандартним протоколом для виділення геномної ДНК з біологічних об'єктів. Отриману ДНК розчиняли в 5,0 мкл буферу для елюції.

Визначення кількості виділеної ДНК. Кількість виділеної ДНК визначали за допомогою флуорометра Qubit 2.0 Instrument Q 32866 («Invitrogen», США) та набору реагентів виробництва «Invitrogen» (США) з терміном придатності не менш ніж 12 місяців, відповідно до інструкції, яка додається виробниками реагентів.

Типування локусів ДНК. Типування гіперваріабельних STR-локусів ДНК геному людини проводили в мультилокусному форматі за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), використовували набір реагентів для ПЛР-ампліфікації «AmpF1STR® Identifier Plus» («Applied Biosystems», США) із застосуванням систем ензиматичної ампліфікації наступних локусів: локуси D8S1179, D2S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA, Amelogenin), з терміном придатності не менш, ніж 9 місяців, відповідно до інструкції, яка додається виробниками реагентів. При постановці ПЛР здійснювали негативний контроль (реакційна суміш містила всі компоненти, крім ДНК) і позитивний контроль (реакційна суміш містила ДНК із відомим набором алелів по кожному локусу). Для оцінки специфічності реакції використовували позитивний контроль (проба контрольної ДНК 9947A: D8S1179: 13, 13; D21S11: 30, 30; D7S820: 10,11; CSF1PO: 10,12; D3S1358: 14,15; TH01: 8, 9,3; D13S317: 11, 11; D16S539: 11, 12; D2S1338: 19, 23; D19S433: 14, 15; vWA: 17, 18; TPOX: 8, 8; D18S51: 15, 19; D5S818: 11, 11; FGA: 23, 24; Amelogenin: X, X. Зразки контрольної ДНК були надані виробником реагентів. Дослідження проводили з використанням системи «GeneAmp® PCR 2720» («Applied Biosystems», США).

Розділення та детекцію флуоресцентно мічених ампліфікованих фрагментів проводили з використанням пристрою «3130 Genetic Analyzer»

(«Applied Biosystems», США) у середовищі полімеру POP-4. Встановлення довжини ампліфікованих фрагментів з встановленням алелів проводили за допомогою програми «Gene Mapper ID Software Version 3.1» на підставі внутрішнього стандарту довжини GeneScan-500 LIZ Size Standard («Applied Biosystems», США) та алельного леддери, який входить до складу набору.

Статистична обробка одержаних результатів.

Статистичний аналіз результатів дослідження проводили з використанням t-критерію Стьюдента, який визначався за допомогою комп'ютерної програми Statistica – 6. Вірогідною вважали різницю між порівнюваними групами при $P < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати проведеної науково-дослідної роботи по дослідженню експериментальних зразків сечі, висушених на марлі, оцінювали відповідно до наступних критеріїв:

1. Кількісний вихід ДНК в нг, тобто кількість виділеної геномної ДНК з експериментальних зразків сечі, які зберігалися за однакових температурних умов протягом різного часу;

2. Придатність виділеної ДНК для аналізу методом ПЛР (можливість отримання продуктів ампліфікації на матриці виділеної ДНК та отримання повного генетичного профілю);

3. Якість ДНК-профілів, отриманих з експериментальних зразків сечі, які зберігалися за однакових температурних умов протягом різного

часу, оцінювали шляхом проведення порівняльного аналізу отриманих ДНК-профілів з ДНК-профілями відповідних зразків для встановлення тотожності за результатами генотипування.

На першому етапі визначали кількість ДНК, виділеної із експериментальних зразків сечі, які зберігалися при кімнатній температурі (22°C) протягом 1, 30, 60, 90 діб. Дані про кількість виділеної ДНК показані в таблиці 1.

З даних, наведених у таблиці 1, випливає наступне:

1. Статистичні дані показують, що кількість ДНК, виділеної з експериментальних зразків сечі, висушених на марлі, які зберігалися при температурі 22 °С протягом 1, 30, 60 та 90 діб, залежить від статі, що виражається у співвідношенні 3,3:1,0 відповідно, та від терміну зберігання.

Висновок: відповідно до отриманих даних, з плями сечі розміром 2,0 x 2,0 см, яка утворена рідкою сечею об'ємом 3,0 мл, відібраною від одного чоловіка, та яка зберігалася протягом 90 діб при температурі 22°C, теоретично можливо виділити ДНК в кількості достатньої для проведення 1 генотипування. З аналогічної плями сечі, утвореної рідкою сечею об'ємом 3,0 мл, відібраною від жінки, та яка зберігалася у аналогічних умовах теоретично можливо виділити ДНК в кількості достатній для проведення 4,6 генотипувань.

2. Процеси деградації ДНК в експериментальних зразках сечі, які зберігалися при температурі 22°C протягом 90 діб, виражаються у повільному зниженні кількості виділеної ДНК, в середньому, на 2,5% у жінок та 3,5% у чоловіків відносно контрольної групи зразків. Деградація має поступовий характер: до 90 доби зберігання експериментальних зразків сечі жінок кількість виділеної ДНК зменшилася на 10,5% відносно контрольної групи, та на 21% у чоловіків, відповідно.

Висновок: відповідно до отриманих даних, можливо припустити, що час збереження експериментальних зразків сечі, висушених на марлі, від жінок та чоловіків при температурі 22°C може складати більше, ніж 90 діб, тобто після 90 діб вищевказані зразки сечі ще можливо використовувати для генотипування, при цьому кількість виділеної ДНК буде достатньою для генотипування.

На другому етапі дослідження визначали придатність виділеної з експериментальних зразків сечі жінок та чоловіків ДНК для аналізу методом ПЛР за наступними критеріями: отримання повного або неповного (часткового) генетичного профілю (ДНК-профілю) при типуванні 15 гіперваріабельних STR-локусів ДНК геному людини при використанні набору реагентів для ПЛР-ампліфікації «AmpF1STR®Identifiler®Plus» («Applied Biosystems», США), враховуючи ефекти «випадіння» алелей або повну відсутність продуктів ензиматичної ампліфікації.

Результати позитивного генотипування – отримання повного ДНК-профілю при типуванні 15 гіперваріабельних STR-локусів залежали від кількості виділеної ДНК, яка, в свою чергу, залежала від терміну зберігання зразків.

В процесі дослідження кореляції між терміном зберігання та температурою зберігання експериментальних зразків сечі, які були відібрані,

Таблиця 1

Кількість ДНК (нг), виділеної із експериментальних зразків сечі, які зберігалися при кімнатній температурі (22 °С) протягом 1, 30, 60, 90 діб

№ з/п об'єкта дослідження	Період зберігання, діб				
	к	1	30	60	90
Жінки (n = 10)					
1	8,50	8,50	8,20	8,10	7,60
2	9,00	9,00	8,90	8,70	8,10
3	7,50	7,50	7,45	7,30	6,70
4	8,20	8,20	7,90	7,70	7,30
5	9,50	9,50	9,10	8,90	8,50
6	7,00	7,00	6,90	6,70	6,30
7	6,00	6,00	5,80	5,75	5,40
8	10,00	10,00	9,80	9,60	9,00
9	8,80	8,80	8,50	8,45	7,90
10	6,50	6,50	6,40	6,30	5,70
Чоловіки (n = 10)					
1	1,50	1,50	1,45	1,40	1,20
2	2,50	2,50	2,35	2,30	2,00
3	2,00	2,00	1,90	1,85	1,60
4	2,80	2,80	2,75	2,65	2,20
5	3,40	3,40	3,20	3,00	2,70
6	3,10	3,10	3,00	2,80	2,40
7	1,80	1,80	1,75	1,70	1,40
8	3,50	3,50	3,40	3,30	2,80
9	2,20	2,20	2,15	2,10	1,70
10	3,00	3,00	2,95	2,85	2,40

Примітка: К – контрольна група зразків сечі, сформована з відповідних зразків, біологічний матеріал яких досліджували у день відбору матеріалу.

Джерело: розроблено автором

було встановлено: для зразків сечі, висушених на марлі, відібраних від жінок та чоловіків, максимальний термін зберігання при температурі 22°C складає більше 90 дів.

У зв'язку із цим нами перевірялись на придатність для генотипування лише експериментальні зразки сечі, які зберігалися 90 дів при температурі 22°C (див. табл. 2).

Таблиця 2
**Результати типування ДНК,
виділеної із експериментальних зразків сечі,
які зберігалися 90 дів
при температурі 22°C зразків (n=20)**

№ з/п об'єкта дослідження	Жінки	Чоловіки
1	+	±
2	+	+
3	+	±
4	+	+
5	+	+
6	+	+
7	+	±
8	+	+
9	+	±
10	+	+

Примітка: «+» - отримання повного ДНК-профілю при типуванні 15 гіперваріабельних STR-локусів ДНК геному людини при використанні набору реагентів для ПЛР-ампліфікації «AmpF1STR@Identifiler@Plus» («Applied Biosystems», США); «±» - отримання неповного ДНК-профілю при типуванні 15 гіперваріабельних STR-локусів ДНК геному людини при використанні набору реагентів для ПЛР-ампліфікації «AmpF1STR@Identifiler@Plus» («Applied Biosystems», США).

Джерело: розроблено автором

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, ДНК, виділена із експериментальних зразків сечі, які зберігалися при температурі 22 °C протягом 90 дів, та були відібрані від жінок (n=10), придатна для генотипування у 100% об'єктів – для всіх об'єктів був отриманий повний ДНК-профіль при типуванні 15 гіперваріабельних STR-локусів.

При типуванні ДНК, виділеної із експериментальних зразків сечі, які зберігалися при температурі 22°C протягом 90 дів, та були відібрані від чоловіків (n=10), повні ДНК-профілі отримані для шести з десяти об'єктів (60%), для чотирьох об'єктів встановлений неповний ДНК-профіль (40%), даний факт пов'язаний з кількістю виділеної ДНК з об'єктів № 1, № 3, № 7 і № 9, де кількість виділеної ДНК не перевищувала 1,2 нг (див. табл. 1).

На третьому етапі дослідження визначали якість ДНК-профілів, отриманих за допомогою

ампліфікації ДНК, виділеної з експериментальних зразків сечі, які зберігалися за однакових температурних умов протягом різного часу, шляхом проведення порівняльного аналізу отриманих ДНК-профілів з ДНК-профілями відповідних зразків для встановлення тотожності за результатами генотипування.

Відповідно до отриманих даних, можливо зробити наступний висновок: при проведенні порівняльного аналізу отриманих повних ДНК-профілів досліджуваних експериментальних зразків з ДНК-профілями зразків букального епітелію було визначено повне співпадіння ДНК-профілів, для неповних ДНК-профілів ця умова працювала тільки для встановлених алелів за відповідними визначеними локусами.

Висновки і пропозиції.

1. Статистична обробка отриманих результатів проведених досліджень відносно кореляції між терміном зберігання (1, 30, 60, 90 дів при температурі 22°C) та кількістю виділеної ДНК із експериментальних зразків сечі від жінок та чоловіків, показує відсутність достовірної різниці між терміном зберігання та кількістю виділеної ДНК;

2. Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що термін зберігання експериментальних зразків сечі, висушених на марлі, при температурі 22°C, при якому кількість та придатність виділеної ДНК буде достатньою для генотипування зразків, відібраних від жінок, складає більше, ніж 90 дів, для чоловіків складає менше, ніж 90 дів; для отримання достовірних даних про максимальний термін зберігання експериментальних зразків слідів сечі необхідно провести додаткові дослідження зі слідами, які зберігалися протягом значно довшого часу.

Рекомендації: після проведення судово-медичного токсикологічного дослідження зразки сечі на марлі можна зберігати при кімнатній температурі (22°C), термін зберігання в вищезазначених умовах може перевищувати 90 дів зразків, що відібрані від жінок, і не може перевищувати 90 дів для зразків, що отримані від чоловіків. Теоретично при рівні деградації 2,5-3,5% відносно контрольної групи зразків, максимальний термін зберігання зразків слідів сечі від жінок, при якому можливо отримати якісний та повний ДНК-профіль, може складати 2 роки, від чоловіків – 1 рік; для отримання достовірних даних про максимальний термін зберігання експериментальних зразків слідів сечі необхідно провести додаткові дослідження зі слідами, які зберігалися протягом значно довшого часу.

Список літератури:

1. Graff L.A. Handbook of Routine Urinalysis / J.B. Lippincott Co. // Philadelphia PA. – 1983.
2. Johnson D.J. Variation in nuclear DNA concentrations during urination / Calderaro AC and Roberts KA // J. Forensic Sci. 52. – 2007. – P. 110-113.
3. Ingersoll J. Stability of Trichomonas vaginalis DNA in urine specimens / Bythwood T., Abdul-Ali D., Wingood G.M., et al. // J. Clin. Microbiol. 46. – 2008. – P. 1628-1630.
4. Cannas A. Implications of storing urinary DNA from different populations for molecular analyses / Kalunga G., Green C., Calvo L., et al. // PLoS One 4: e69852. – 2009.
5. Chen R.H. Study on typing of DNA extracted from urine and urine stains / Chin. Gu LH, Ping Y et al. // J. Forensic Med. 20. – 2005. – P. 71-73.
6. Sołtyszewski I. DNA typeability in liquid urine and urine stains using AmpFISTR SGM Plus / Pepinski W., Dobrzynska-Tarasiuk A and Janica J. // Adv. Med. Sci. 51. – 2006. – P. 36-38.

7. Ziegler A. Personalized medicine using DNA biomarkers: a review / Koch A., Krockenberger K., Grosshennig A. // Hum Genet. – 2012. – P. 1627–1638.
8. Bryzgunova O.E. Isolation and comparative study of cell-free nucleic acids from human urine / Skvortsova T.E., Kolesnikova E.V., et al. // Ann N.Y. Acad Sci. – 2006. – P. 334–340.
9. Anker P. Circulating nucleic acids in plasma and serum as a noninvasive investigation for cancer: time for large-scale clinical studies? / Mulcahy H., Stroun M. // Int J. Cancer. – 2003. – P. 149–152.
10. Botezatu I. Genetic analysis of DNA excreted in urine: a new approach for detecting specific genomic DNA sequences from cells dying in an organism / Serdyuk O., Potapova G., et al. // ClinChem. – 2000. – P. 1078–1084.
11. Кривда Р.Г. Використання методів ДНК-аналізу у практиці Одеського обласного бюро судово-медичної експертизи при дослідженні слідів сечі. – Матеріали міжнародної науково-практичної конференції – Одеса. – 2014. – 167–170 с.
12. Кривда Р.Г. Використання сучасних методів ДНК-аналізу, які застосовуються у практиці Одеського обласного бюро судово-медичної експертизи при дослідженні зразків рідкої сечі. – Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції – Київ. – 2014. – 48–51 с.

Кривда Р.Г.

Одесский национальный медицинский университет

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ МОЧИ, ВЫСУШЕННЫХ НА МАРЛЕ, С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Аннотация

Исследован количественный выход ДНК при выделении ДНК из экспериментальных образцов мочи, высушенных на марле, при хранении в течение разных промежутков времени, пригодность выделенной ДНК для анализа методом ПЦР, а также качество полученных ДНК-профилей. Результаты проведенных исследований показали отсутствие достоверной разницы ($P > 0,05$) в количестве выделенной ДНК на 1, 30, 60 и 90 сутки исследования. Было установлено, что процессы деградации в экспериментальных образцах мочи, высушенных на марле, при хранении в условиях комнатной температуры (22°C) выражаются в медленном снижении количества выделенной ДНК, в среднем, на 2,5% у женщин и на 3,5% у мужчин. В соответствии с этим, из пятна мочи размерами 2,0 x 2,0 см, образованного жидкой мочой объемом 3,0 мл, на 90-е сутки хранения при температуре 22°C теоретически можно выделить ДНК в количестве достаточном для проведения генотипирования. На основании выводов проведенного исследования был разработан алгоритм проведения судебно-медицинской экспертизы следов мочи с помощью молекулярно-генетических методов.

Ключевые слова: судебно-медицинская экспертиза, ДНК, полимеразная цепная реакция, следы мочи, ДНК-профиль.

Kryvda R.G.

Odessa National Medical University

THE STUDY OF URINE SPOT SAMPLES DRIED ON THE CHEESECLOTH USING METHODS OF MOLECULAR GENETICS

Summary

In our study, we have investigated the amount of DNA, isolated from experimental urine samples, kept at the same temperature during the different periods of time, and the compatibility of isolated DNA for the further typing via PCR; also the quality of obtained DNA profiles was evaluated. The results have demonstrated the absence of significant difference ($P > 0,05$) in the quantity of isolated DNA on the 1, 30, 60 and 90 day. As was shown in our study, the degradation process in the urine samples kept at room temperature (22°C) manifests itself by gradual decrease of amount of the obtained DNA, on average, by 2,5% in women and by 3,5% in men. Thus, this is theoretically possible to obtain the amount of DNA sufficient for the further genetic typing from the spot of urine 2,0 x 2,0 cm containing 3,0 ml of urine, on the 90th day. On the basis of conclusions of our investigation we have proposed an algorithm of realization of forensic medical examination of urine samples dried on the cheesecloth using the methods of molecular genetics.

Keywords: forensic medical examination, DNA, polymerase chain reaction, urine spot samples, DNA profile.