



Порівняльна характеристика методів виділення за допомогою іонообмінної смоли Chelex® 100 та за допомогою набору PrepFiler™ Express Forensic DNA Extraction Kit під час роботи з деградованими зразками букального епітелію

Кристина Машкова

доктор філософії в галузі «Біологія», головний судовий експерт сектору молекулярно-генетичних досліджень відділу біологічних досліджень та обліку, Донецький науково-дослідний експертно-криміналістичний центр Міністерства внутрішніх справ України, м. Дніпро, Україна, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2986-4895>, e-mail: tonks1511@gmail.com

Вячеслав Марійко

аспірант, ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна; завідувач відділу проведення стажувань лабораторії біологічних досліджень, Державний науково-дослідний експертно-криміналістичний центр Міністерства внутрішніх справ України, м. Київ, Україна, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7439-0910>, e-mail: viacheslavmariiko@gmail.com

В даній роботі проведено порівняння ефективності двох основних методів виділення при роботі зі зразками букального епітелію, що мають ознаки деградації. Встановлено, що виділення за допомогою магнітної сепарації дозволяє знизити ефект деградації на результати ПЛР у реальному часі та на повноту ДНК-профілю.

Ключові слова: виділення ДНК; деградація ДНК; ПЛР; капілярний електрофорез; STR-локуси; генетика людини.

Comparative Characteristics of DNA Extraction Methods Using Chelex® 100 Ion-Exchange Resin and the PrepFiler™ Express Forensic DNA Extraction Kit When Working With Degraded Buccal Epithelial Samples

Krystyna Mashkova, Viacheslav Mariiko

This study compares the efficiency of two main DNA extraction methods when working with degraded buccal epithelial samples. It was established that extraction based on magnetic separation reduces the effect of degradation on real-time PCR results and improves the completeness of the DNA profile.

Keywords: DNA isolation; DNA degradation; PCR; capillary electrophoresis; STR loci; human DNA.

Сьогодні метод молекулярно-генетичної експертизи (ДНК-аналіз) біологічних зразків та слідів біологічного походження у цивільних та кримінальних справах широко використовується для ідентифікації слідів біологічного походження при розслідуванні злочинів, ідентифікації невпізнаних тіл та встановлення фактів біологічного батьківства в установах Експертної служби МВС [1].

Зразки букального епітелію є одним із найпоширеніших видів біологічного матеріалу, що підлягає ДНК-аналізу в установах Експертної служби МВС. З початком функ-

ціонування Електронного реєстру геномної інформації людини [2], на дослідження надходить велика кількість зразків букального епітелію родичів осіб зниклих безвісти, задушених та підозрюваних. Такі об'єкти зазвичай мають достатню кількість ДНК, а тому, як правило, вони демонструють високий рівень успішності профілювання ДНК. Проте внаслідок порушення умов відбору, пакування або зберігання, зразки букального епітелію можуть піддаватися деградуєчому впливу навколишнього середовища або гниття, що часто призводить до часткової або повної

втрасти генетичних ознак у таких об'єктах [3, 4]. Одним з основних способів підвищення ефективності ДНК-аналізу деградованих зразків є підбір оптимального методу виділення ДНК. Тому, одним з основних завдань експертів-генетиків сьогодні є оптимізація методів виділення ДНК для роботи зі зразками, що мають ознаки деградації.

Метою роботи було порівняння якості ДНК, виділеної зі зразків букального епітелію з ознаками деградації, за допомогою іонообмінної смоли *Chelex® 100* (Bio-Rad, США) та комерційного набору *PrepFiler™ Express Forensic DNA Extraction kit* та приладу *AutoMate Express™ Forensic DNA Extraction System* (Applied Biosystems, США). Для дослідження було обрано саме ці два методи виділення, оскільки вони є основними методами виділення ДНК, що використовуються в установах Експертної служби МВС [1].

Для досягнення поставленої мети було досліджено 100 зразків букального епітелію з ознаками деградації, які надійшли до Донецького НДЕКЦ МВС у період з 2024 по 2025 роки. Наявність деградації ДНК в об'єкті визначали візуально за наявністю на зразках гнилісних змін або нашарувань невстановленого походження, а також за високими показниками індексу деградації, отриманими після проведення ПЛР у реальному часі з використанням набору *Quantifiler™ Human Plus DNA Quantification Kit* та приладу *Quantstudio™ 5* (Applied Biosystems, США).

Виділення ДНК з досліджуваних зразків проводили з використанням методу виділення за допомогою іонообмінної смоли *Chelex® 100* (Bio-Rad, США) та паралельно методом магнітної сепарації з використанням комерційного набору *PrepFiler™ Express Forensic DNA Extraction Kit* та приладу *AutoMate Express™ Forensic DNA Extraction System* (Applied Biosystems, США).

Оцінку якості виділеної ДНК проводили за індексом деградації, встановленим за допомогою ПЛР у реальному часі з використанням набору *Quantifiler™ Human Plus DNA Quantification Kit* та приладу *Quantstudio™ 5* (Applied Biosystems, США) та за повнотою ДНК-профілів, отриманих після ампліфікації

розчинів виділеної ДНК за допомогою набору *PowerPlex® Fusion 6C System* (Promega Corporation, США) і подальшим розділенням ампліконів методом капілярного електрофорезу за допомогою автоматичного аналізатора ДНК *3500 Genetic Analyzer* (Applied Biosystems, США).

В результаті оцінки індексу деградації досліджуваних зразків виявлено, що після проведення ПЛР у реальному часі відсутність ознак деградації - індекс деградації від 0 до 1, спостерігали у 4,2 рази частіше при виділенні за допомогою магнітної сепарації (25 об'єктів), ніж при виділенні за допомогою іонообмінної смоли (6 об'єктів). Кількість зразків, які мали ознаки можливої деградації ДНК — індекс деградації від 1 до 5, не відрізнялася при виділенням обома досліджуваними методами (66 об'єктів). Присутність деградації — індекс деградації 5 і вище, спостерігали у 3,1 рази частіше при виділенні за допомогою іонообмінної смоли (28 об'єктів), ніж при виділенні за допомогою магнітної сепарації (9 об'єктів). Результати оцінки індексу деградації у досліджуваних зразках наведені на *рис. 1*.

В результаті оцінки повноти отриманих ДНК-профілів виявлено, що випадіння однієї або обох алелей спостерігалось лише в локусах *Penta E*, *CSF1PO*, *Penta D*, *D5S818*, *TPOX*, *SE33* та *D22S104*, алелі яких мають найбільшу довжину серед всіх локусів набору для ПЛР *PowerPlex® Fusion 6C*. Це пов'язано з тим, що існує зворотна залежність між розміром локусу та його успішною ПЛР-ампліфікацією у деградованих об'єктах. *STR*-локуси з більш «важкими» (довгими) ампліконами першими випадають з ДНК-профілю під час ампліфікації деградованих зразків ДНК [4]. Встановлено, що в усіх вищезазначених локусах, випадіння виявляли частіше у ДНК-профілях зразків, виділених за допомогою іонообмінної смоли, ніж у зразків, виділених за допомогою магнітної сепарації (*рис. 2*). При цьому найбільшу різницю спостерігали у локусах *Penta E*, *Penta D*, *SE33* та *D22S104*: після виділення іонообмінною смолою випадіння спостерігали вдвічі частіше (10, 12, 10 та 12 зразків відповідно), ніж після магнітної сепарації (5, 6, 5 та 6 зразків відповідно).

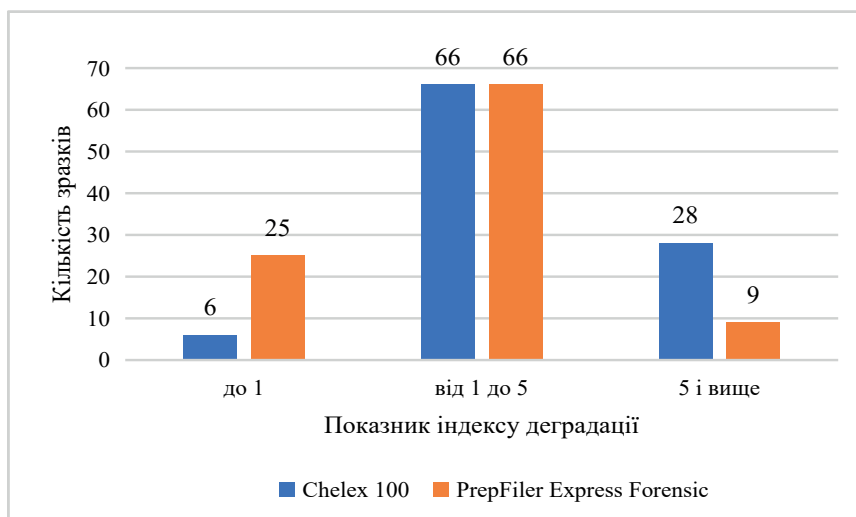


Рис. 1. Кількість зразків з різними показниками індексу деградації, виділених за допомогою досліджуваних методів виділення ДНК

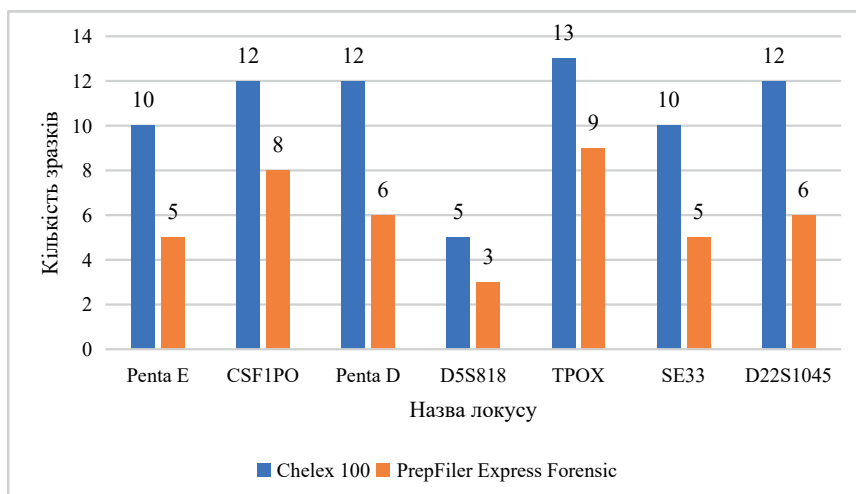


Рис. 2. Кількість зразків з випадінням однієї або обох алелей у ДНК-профілях зразків, виділених досліджуваними методами

Отримані результати свідчать, що при виділенні ДНК зі зразків букального епітелію з ознаками деградації, використання *PrepFiler™ Express Forensic DNA Extraction Kit* та приладу *AutoMate Express™ Forensic DNA Extraction System* дозволяє значно знизити ефект деградації на результати молекулярно-генетичного дослідження і, як наслідок, отримати більш повні ДНК-профілі у порівнянні з виділенням методом іонообмінної смоли *Chelex® 100*. Таким чином, у разі спостереження візуальних ознак деградації

зразків, рекомендується проводити виділення ДНК з таких об'єктів за допомогою магнітної сепарації.

Перелік джерел посилання

1. Костіков, І. Ю., Марійко В. В., Щербакова Ю. В. та ін. Молекулярно-генетична ідентифікація осіб, загиблих під час російської збройної агресії проти України: успіхи та проблеми. *Криміналістичний вісник*. 2023. Т. 39, № 1. С. 10–28. DOI: 10.37025/1992-4437/2023-39-1-10 (дата звернення: 25.01.2026).



2. Положення про Електронний реєстр геномної інформації людини : затв. наказ. МВС України від 04.08.2023 р. № 639. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1657-23#Text> (дата звернення: 25.01.2026).
3. Sheree Hughes-Stamm. DNA typing methods for highly degraded samples / A thesis submitted in total fulfilment of the requirements of the degree of Doctor of Philosophy by Research. July 2012.
4. Butler J. M. Fundamentals of Forensic DNA Typing. San Diego: Elsevier Academic Press, 2010. 500 p.
5. Методика проведення молекулярно-генетичних досліджень / Аббасов Р. Г., Повх А. С., Романчук С. М.. Київ, 2018. 75 с.