

УДК 343.98+575.86

*Недзвецкая Д. Э., мл. научный сотрудник государственного учреждения «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»,
Котова С. А., канд. хим. наук, заведующий лабораторией государственного учреждения «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»,
Цыбовский И. С., канд. биол. наук, ученый секретарь государственного учреждения «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»,
e-mail: npc@sudexpertiza.by*

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ОТРЯДА ПАРНОКОПЫТНЫХ КАК ИСТОЧНИК ДОКАЗАТЕЛЬСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ ПРИ РАССЛЕДОВАНИИ ПРАВОНАРУШЕНИЙ У ОТНОШЕНИИ ОБЪЕКТОВ ЖИВОТНОГО МИРА

Идентификация объектов является ключевым направлением в судебной экспертизе. В области идентификации образцов человеческого происхождения на данном этапе развития научных технологий остается все меньше непроработанных вопросов. Технологии идентификации образцов животного происхождения в судебной экспертизе только формируются. Во многих странах данные вопросы остаются в целом неосвещенными. Однако уже сейчас понятно, что судебно-экспертный ДНК-анализ животных будет иметь существенное отличие от ДНК-анализа образцов человека.

Установление индивидуальной принадлежности образцов животного происхождения наиболее часто возникает в экспертно-криминалистической практике, связанной с экспертизой качества пищевых продуктов и правонарушениями, касающимися законодательства об охране окружающей среды, главным образом – незаконной охотой [1].

Незаконная охота (ст. 282 УК Республики Беларусь «Незаконная охота») наносит ощутимый экономический ущерб природным ресурсам Беларуси особенно в свете проведения государственной программы по модернизации охотничьих хозяйств, в ходе которой осуществляется пополнение имеющихся генофондов новыми особями с отличными трофейными качествами.

На территории Республики Беларусь наиболее распространенными объектами для незаконной охоты из крупных млекопитающих являются представители семейства Оленевые (лось, олень, косуля, лань) и Свиные (дикий кабан) отряда Парнокопытные. Сложность исследования таких объектов обусловлена тем, что они являются генетически родственными видами и состоят в тесном филогенетическом родстве не только между собой, но и с семейством Полорогие, которое включает большую группу широко распространенных сельскохозяйственных животных. Данный факт требует разработки соответствующего методического инструментария для идентификации биологических следов с мест незаконной охоты на представителей отряда Парнокопытные.

Универсальным инструментом для решения идентификационных криминалистических завдань являются микросателлитные локусы. У соответствующих строгих условиях полимеразной цепной реакции (ПЦР) видоспецифические праймеры дают продукт только в присутствии ДНК данного вида. При наличии информации об анализируемой последовательности можно предсказать длину продукта амплификации, таким образом, идентификация подтверждается, если продуктом ПЦР является ампликон соответствующего размера.

В случаях, когда в область научного интереса одновременно попадает широкая группа родственных видов, для которых отсутствуют детальные сведения о структуре геномов, эффективным может быть подбор для ПЦР общих праймеров за счет использования консервативных праймер-связывающих участков, имеющих сходные последовательности среди близкородственных видов. Использование ДНК-маркеров, разработанных для одного вида животного, при генотипировании ДНК другого вида животного, получило название феномена адресной перекрестной амплификации (англ. cross-amplification, cross-species amplification) [2]. Вид животного, для которого микросателлитный маркер был изначально разработан,

именуется при этом видом-источником, а вид, на котором апробируется указанный маркер – целевым видом. У настоящее время экспертные технологии, направленные на идентификацию биологических объектов, происходящих от диких животных, могут быть созданы только на основе адресного переноса праймеров, поскольку в большинстве случаев детальные сведения о структуре генома диких животных отсутствуют. Одновременно в научной литературе имеется достаточно публикаций об успешной адресной перекрестной амплификации у представителей родственных видов животных различных таксономических групп, часть из них обобщена в более ранней работе [3].

Таким образом, использование адресной перекрестной амплификации позволяет создать необходимый инструментарий для видовой и индивидуальной идентификации необходимых биологических объектов без больших финансовых и временных затрат, что снимает барьеры для исследования животных, чьи геномы плохо изучены или не охарактеризованы. С другой стороны, поскольку в основе адресного переноса праймеров лежит генетическое родство между видами, определяющее наличие у этих видов схожих консервативных участков генома, использование данного подхода на практике накладывает ряд ограничений. Одно из них – необходимость установления видовой принадлежности биологических следов. На первой стадии исследования в обязательном порядке необходимо установить вид животного, от которого произошли следы, а установление тождества следов и образцов сравнения является задачей второй стадии экспертного процесса. Второе ограничение – невозможность исследования межвидовых смесей крови (типа лось/косуля и т. П.), которые часто присутствуют на вещественных доказательствах с мест незаконной охоты, поскольку задействованные ДНК-маркеры будут активны на ДНК-матрицах обоих видов (в силу генетического родства). При этом в зависимости от вида животного, будет изменяться форма проявления данной активности.

В зависимости от эволюционной дистанции между видом-источником и целевым видом, одни и те же ДНК-маркеры у различных видов могут совсем не амплифицироваться, амплифицироваться единственным аллелем у всех представителей вида (мономорфное выявление) или иметь более одного аллельного варианта (полиморфное выявление). Например, локус RT5 северного оленя, полиморфный у лоса (4 аллеля), становится мономорфным (1 одинаковый признак у всех особей) у оленя благородного и вовсе не амплифицируется у косули. К тому же могут различаться диапазоны молекулярных размеров продуктов ПЦР. Достаточно сложный различающийся комплекс признаков, выявляемый при использовании одних и тех же ДНК-маркеров у генетически родственных видов животных, предопределяет важную роль научных исследований в разработке перечней ДНК-маркеров, условий и средств для генотипирования, оптимальных для выявления индивидуализирующих признаков конкретных особей каждого исследуемого вида.

В научной литературе имеется достаточно исследований, посвященных особенностям полиморфизма ДНК-маркеров у диких и домашних копытных. Среди множества проведенных исследований, в которых используются микросателлитные локусы для исследования полиморфизма парнокопытных, отсутствуют маркерные панели, в которых использовались бы одни и те же наборы ДНК-маркеров. Данный аспект обусловлен огромным генетическим разнообразием копытных и стоящими перед исследователями задачами [4].

Исследование генетических особенностей локальных популяций того или иного вида – это вторая важная задача для научных изысканий, которая должна быть решена на пути создания высоко достоверных средств и методов судебно-экспертной идентификации биологических объектов животного происхождения.

В Республике Беларусь разработка технологий молекулярно-генетической идентификации биологических следов с мест незаконной охоты или других правонарушений в отношении объектов животного мира на системной основе проводится Научно-практическим центром Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь. Основу разработок составляют научные исследования, проводимые в Центре в ходе выполнения плана научных исследований общегосударственного, отраслевого характера, направленных на научно-техническое обеспечение Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, а также научные проекты, реализуемые в русле Государственных научных программ.

При формулировании общей концепции развития нового экспертного направления учитывалось, что разрабатываемые технологии идентификации отдельных особей любого вида должны соответствовать традиционным в судебной экспертизе и включать мультиплексные полихромные ПЦР-системы на основе микросателлитных (STR-) локусов и анализ продуктов

ПЦР методом электрофореза на автоматических секвенаторах. [5]. Информационно-справочное обеспечение должно базироваться на характеристиках генетических признаков, полученных на основе изучения полиморфизма особей, проживающих в диком или одомашненном состоянии на территории Беларуси.

Комплекс проводимых исследований включает: 1) фундаментальные исследования полиморфизма ДНК-маркеров, подбор линейки маркеров и изучение генетической структуры конкретного вида 2) на основе полученных результатов – разработку средств для генотипирования, разработку методики и создание информационно-справочного обеспечения для расчета уровня достоверности экспертных исследований.

В настоящее время завершены научные исследования по созданию методического инструментария для идентификации особей лося, оленя и косули. Для этой цели в исследованиях использованы микросателлитные локусы, разработанные для северных оленей (*Rangifer tarandus*), североамериканских оленей вапити (*Cervus elaphus spp.*), чернохвостых оленей (*Odocoileus hemionus*), овец (*Ovis aries*) и крупного рогатого скота (*Bos taurus*). Из анализа литературных данных по исследованию оленевых были отобраны и изучены 54 ДНК-маркера, на основе результатов для дальнейшего экспертного использования отобраны 38 локусов. Из них для целей идентификации образцов Оленя благородного использованы 11 локусов; для идентификации образцов Лося европейского отобраны 15 локусов; для идентификации образцов Косули европейской отобрано 12 локусов.

На выборках целевых видов проведено исследование технических возможностей мультиплексирования микросателлитов. С учетом условий амплификации микросателлитов в монолокусном режиме для каждого вида подобраны мультиплексные тест-системы. Поскольку в мультилокусной реакции может наблюдаться взаимное влияние отдельных компонентов (например, возможно образование кросс-димеров праймеров), для обеспечения равновесной амплификации каждого из локусов конечное соотношение концентраций праймеров подбиралась экспериментально. Точкой отсчета служила интенсивность протекания ПЦР в монолокусных системах. Праймеры и тип флуоресцентной метки были подобраны таким образом, чтобы образующиеся в результате ПЦР продукты амплификации не перекрывались по молекулярным диапазонам в пределах детекции каждой из флуоресцентных меток.

С помощью сконструированных тест-систем проведено генотипирование коллекционных образцов, по результатам которого были сформированы массивы генотипов оленя (n=154), лося (n=383), косули (n=358). Проведена оценка криминалистической пригодности локусов для целей идентификации биологических образцов с мест незаконной охоты. Разработано методическое и информационно-справочное обеспечение, включающее базы данных частот встречаемости исследованных признаков у оленя, лося и косули.

Для всех трех видов проведена экспертная апробация разработок на реальных криминалистических объектах в ходе проведения экспертиз, назначенных правоохранительными органами по делам о незаконной охоте. У общей сложности за 2018 год были проведены 148 экспертизы, в которых исследованы биологические следы по делам о незаконной охоте на Лося европейского (77 экспертиз), по делам о незаконной охоте на Косулю европейскую (50 экспертиз), по делам о незаконной охоте на Оленя благородного (13 экспертиз).

Ранее аналогичная работа проведена в отношении дикого кабана. У исследовании были задействованы массивы образцов дикого кабана (719 образцов) и домашней свиньи (304 образца, 6 пород).

Дальнейшая легализация разработанных методик идентификации биологических образцов диких и домашних животных после проведения апробации заключается в рассмотрении методических материалов на Межведомственном научно-методическом совете в сфере судебно-экспертной деятельности с целью утверждения для включения в Реестр судебно-экспертных методик и иных методических материалов Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь. Предварительно все рассматриваемые методические материалы проходят внутреннее и внешнее рецензирование.

В настоящее время для практикующих экспертных подразделений специалистами Центра подготовлены 6 методик, из которых 3 уже включены в Реестр, а остальные прошли экспертную апробацию. У структуре Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь образован сектор, специализацией которого является молекулярно-биологическое экспертное исследование биологических образцов диких и домашних животных по всему спектру правонарушений в отношении объектов живой природы.

Таким образом, в результате научно-исследовательских работ Научно-практического центра судебных экспертиз Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь созданы научные и методические основы нового вида экспертиз – ДНК-анализа объектов животного происхождения. Разработанные технологические подходы показали свою эффективность в ходе апробации. Проведенная работа позволяет утверждать, что в Республике Беларусь *de facto* создано и успешно функционирует новое экспертное направление. Экспертные исследования биологических следов с мест незаконной охоты, краж и/или разделки сельскохозяйственных животных, хищения мясопродуктов и других правонарушений в отношении объектов животного мира позволяют получить новый слой высоко доказательственной информации, не задействованной ранее в судебно-следственном процессе.

Список використаних джерел:

1. Linacre A., Tobe S. S An overview to the investigative approach to species testing in wildlife forensic science. *Investigative Genetics*. 2011. Vol. 2, № 2. P. 1–9.
2. Sun H. S., Kirkpatrick B.W. Exploiting dinucleotide microsatellites conserved among mammalian species. *Mammalian Genome*. 1996. Vol. 7. P. 128–132.
3. Hoffmann G. S., Johannesen J., Griebeler E. M. Species cross-amplification, identification and genetic variation of 17 species of deer (*Cervidae*) with microsatellite and mitochondrial DNA from antlers. *Mol. Biol. Rep.* 2015. Vol. 42, № 6. P. 1059–1067.
4. Котова С. А. и др. Феномен перекрестной амплификации микросателлитных ДНК-маркеров в исследовании видов отряда *Artiodactyla* (Парнокопытные). *Труды БГУ*. 2016. Т. 11, № 2. С. 56–69
5. Jobin R. M., Patterson D., Zhang Y. DNA typing in populations of mule deer for forensic use in the Province of Alberta. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2008. Vol. 2, № 3. P. 190–197.

УДК 343.982.32

Василенко В. С., судовий експерт Запорізького НДЕКЦ МВС
України,
e-mail: niekczp@ukr.net

ЗАГАЛЬНА ТЕОРІЯ ПРОВЕДЕННЯ ДНК-ЕКСПЕРТИЗИ

ДНК-експертиза – можливо, наймолодший напрямок експертизи при розслідуванні кримінальних правопорушень, але, не дивлячись на це, він дуже стрімко розвивається. Такий стрімкий розвиток зумовлений з одного боку розвитком наукового підґрунтя для проведення експертизи, а з іншого боку – стрімким збільшенням попиту на проведення цієї експертизи при розслідуванні кримінальних правопорушень, що в свою чергу зумовлено вагомою інформативністю результатів ДНК-експертизи.

Перші кримінальні справи, у яких була проведена ДНК-експертиза, – це статеві злочини, які відрізняються своєю специфікою, зокрема, тим, що серед речових доказів, найчастіше, є сліди біологічних виділень (а саме – сім'яна рідина) злочинця. І ДНК-експертиза дає відповідь лише на одне, але дуже важливе питання з великою долею ймовірності: наявні біологічні сліди походять, або не походять від конкретної особи, а, в даних конкретних випадках, це часто є найважливішим питанням.

З часом методи проведення експертизи вдосконалювались, чутливість методу збільшувалась, і на даний час для проведення експертизи потрібні дуже незначні кількості ДНК, це означає, що з великою долею ймовірності можна отримати ДНК-профіль людини, яка тримала в руках зброю, залишила недопалок, власника одягу тощо.

Висока чутливість методу – це, безумовно, сильна сторона, але одночасно з тим це є і його слабкою стороною, оскільки зразки схильні до забруднення сторонньою ДНК – це може бути ДНК слідчого, або іншої особи, яка вилучала речові докази з місця скоєння кримінального правопорушення, особи, яка оглядала речові докази, особи, яка проводила експертизу, або забруднення ДНК з іншого зразка. Тому до лабораторій, які проводять ДНК-експертизу, висуваються дуже жорсткі правила, які максимально унеможливають перехресне забруднення зразків та забруднення зразків сторонньою ДНК.

Щоб пояснити що собою являє ДНК-експертиза та які її можливості, потрібно спочатку пояснити що таке молекула ДНК, та які її основні особливості. ДНК – це скорочення від дезоксирибонуклеїнова кислота. Вона забезпечує збереження, передачу з покоління в покоління і реалізацію генетичної програми розвитку й функціонування живих організмів.