

Содержание:

Image not found or type unknown



Введение

ДНК-Идентификация (Типирование ДНК), установление генетической индивидуальности любого организма на основе анализа особенностей его дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Получаемый при типировании «профиль» ДНК, как и отпечатки пальцев, может использоваться для идентификации личности.

В основе типирования лежат две характеристики ДНК как носителя генетической информации:

1. Последовательность элементов (нуклеотидов) имеет индивидуальные особенности у каждого отдельного животного или растения, кроме идентичных(однойцевых) близнецов или клонированных организмов.
2. У каждой особи ДНК всех соматических клеток (клеток тела) совершенно одинакова.

Процедура Идентификации

Для ДНК-идентификации можно использовать любой биологический материал из живого или мертвого организма, например кровь, семенную жидкость, слюну, корни волос, кожу или же листья либо семена растений. Важно только, чтобы ДНК не была разрушена. На практике при проведении генетического типирования с целью идентификации личности или степени генетического родства (близости или отдаленности) сравнивают профили ДНК из нескольких биологических образцов и оценивают полученный результат, используя вероятностный и статистический анализ.

Процедура типирования состоит из следующих основных этапов:

- Выделение (экстракция) ДНК из биологического материала

- Разделение и выстраивание фрагментов по размерам
- Гибридизация (связывание) полученных фрагментов ДНК с радиоактивными зондами – цепочками сходной ДНК
- Фиксация пространственного распределения фрагментов методом радиоавтографии, т.е. на рентгеновской пленке.

Связанные с радиоактивными зондами фрагменты исследуемой ДНК засвечивают рентгеновскую пленку в виде располагающихся друг под другом черных полосок, так что радиоавтограф ДНК внешне напоминает штриховые коды на упаковках товаров в магазинах.

Сферы применения ДНК в криминалистике.

Причины использования ДНК-идентификации

Идентификация личности на основании данных ДНК-анализа выполняет две основные задачи: анализ соответствия биологических образцов, найденных на месте преступления, с образцами, полученными от подозреваемого в совершении преступления, и установление родства по характеристикам ДНК.

Несомненным преимуществом метода является то, что даже ничтожно малого количества образца оказывается достаточно для проведения анализа. Кроме того, в качестве исходного материала для выделения ДНК могут быть использованы кровь, сперма, слюна, волосы, костные ткани - любые образцы, содержащие хотя бы несколько клеток.

Таким образом, имеется несколько причин, по которым молекула ДНК так привлекательна для использования в судебной идентификации:

1. Уникальность индивидуальной ДНК

Каждый человек в мире генетически индивидуален (кроме, как упоминалось выше, однойцевых близнецов, которые, по сути, являются клонами).

1. Генетическое постоянство организма.

Генетическая информация не изменяется с течением жизни, а также в зависимости от типа клеток, из которых была выделена ДНК.

1. Чувствительность метода.

Для современных методов ДНК-анализа достаточно даже нескольких капель крови, или образца слюны, которой наклеивалась почтовая марка на конверт, или пятна спермы, по площади в 10 раз меньше булавочной головки, или ДНК, оставшейся на выкуренной сигарете.

1. Относительная стабильность молекул ДНК.

В отличие от белков, являющихся нестабильными структурами, молекула ДНК обладает повышенной устойчивостью к воздействиям окружающей среды. Это свойство ДНК является для криминалистов ценным, поскольку позволяет проводить идентификацию по прошествии даже очень большого срока давности, или же если останки человека не могут быть опознаны никакими другими методами (например, в случае авиакатастроф).

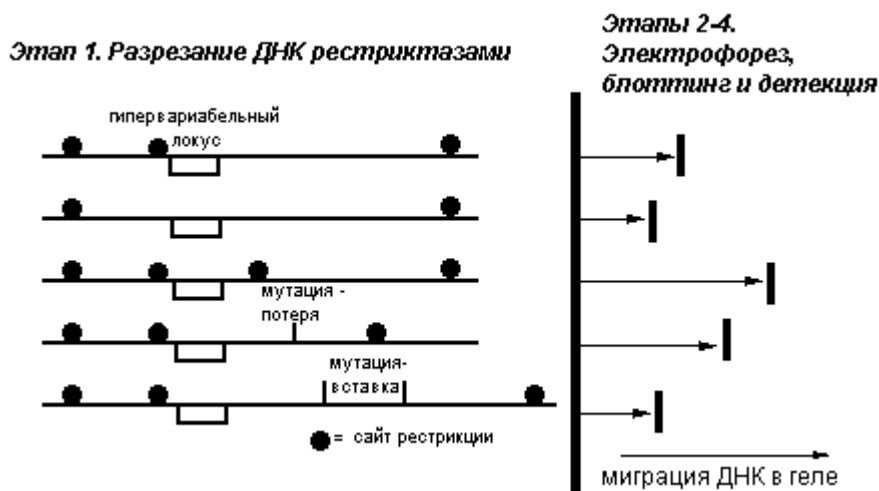
Методы типирования ДНК

Различия между ДНК различных людей локализованы в определенных регионах (*локусах*) хромосом. Такие локусы получили название *гипервариабельных участков*. Они, как правило, расположены в зонах негенной (некодирующей, или *junk*) ДНК, а, следовательно, не являются генами, т.е. не кодируют белки или РНК.

Анализ полиморфизма длины фрагментов рестрикции (RFLP), впервые описанный Алемом Джеффрисом, создал предпосылку для идентификации личности на основании индивидуальных генетических различий. Этот метод является интегральным и выявляет изменения как в числе и расположении специфических участков для распознавания рестриктазами (т. наз. *сайтов рестрикции*), так и изменения (удлинение или укорочение) самих *гипервариабельных участков*.

Появление новых или исчезновение существующих сайтов рестрикции происходит вследствие мутаций: замен отдельных нуклеотидов, а также инверсий ("перевертываний"), делеций (потерь) и инсерций (вставок) участков ДНК. Изменения же длины гипервариабельных участков обусловлено более сложными реорганизациями генома: транспозициями, неравными рекомбинациями и "проскальзыванием" ДНК-полимеразного комплекса.

В результате подобных редких "сбоев" ДНК различных людей режется рестриктазами на разные неравные "куски". (Рисунок ниже)



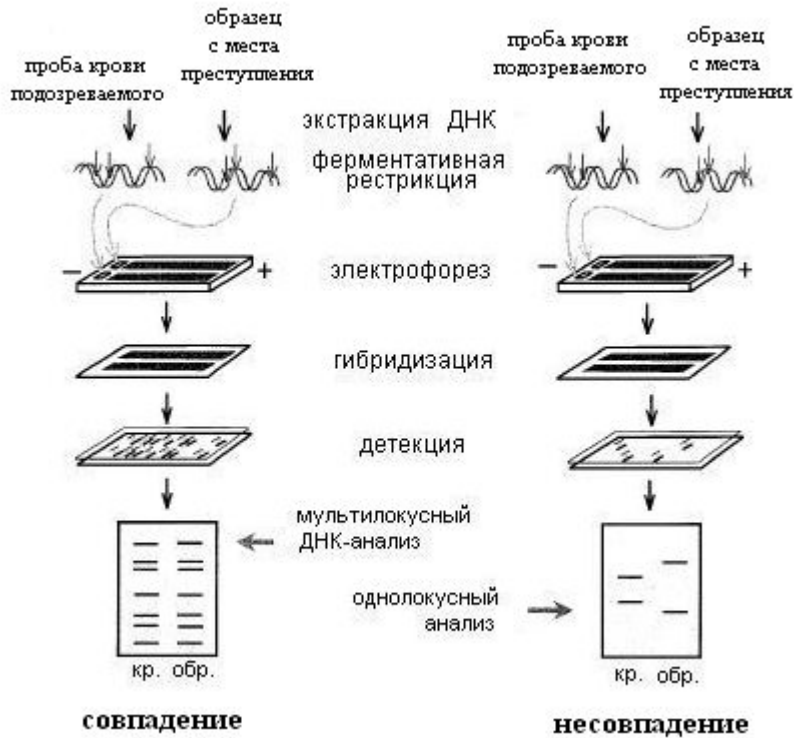
Принцип метода RFLP

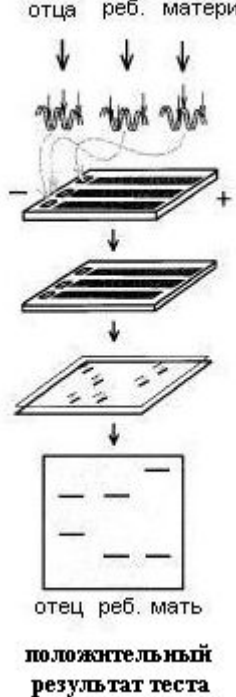
Схематично RFLP-анализ можно представить следующим образом: после обработки ферментами рестрикции различные образцы ДНК помещают на разные дорожки в гель и подвергают воздействию электрического поля (процесс носит название *гель-электрофореза*). Электрическое поле заставляет их двигаться по своим дорожкам, причем более мелкие фрагменты движутся быстрее, чем крупные. Далее фрагменты переносятся на нитроцеллюлозную мембрану (процесс *блоттинга*), с которой они прочно связываются. Мембрана помещается в раствор, содержащий радиоактивную ДНК-пробу, где происходит гибридизация пробы с уникальными последовательностями гипервариабельных участков. Затем мембрану накладывают на рентгеновскую пленку и получают радиоавтограф, на котором радиоактивные элементы выявляются в виде серии полос, число и положение которых различно для каждого индивида.

Одно из представлений *гипервариабельных участков ДНК* являются структуры, известные как VNTR (Variable Number of Tandem Repeats, переменное число тандемных повторов) и широко использующихся для целей идентификации по настоящее время.

В каждый VNTR-локус входит от 500 до 10 000 пар нуклеотидов. Особенность VNTR заключается в том, что они целиком состоят из одной-двух ключевых последовательностей нуклеотидов, длиной обычно в 15 - 35 пар оснований, которые непрерывно повторяются большое количество раз (поэтому вся последовательность VNTR и называется *тандемной*). Именно к таким тандемным последовательностям VNTR и подбирают зонды при детекции по методу RFLP.

Каждая конкретная последовательность VNTR может быть либо уникальной в геноме (т.е. находиться только в одном локусе), либо "разбросанной" по нескольким участкам ДНК. Соответственно, анализ с использованием зонда к уникальной последовательности (монолокусный анализ) даст в результате одну или две полосы на "ДНК-дорожке". Одна полоса образуется в том случае, если отец и мать исследуемого индивида обладали одной и той же разновидностью данного гипервариабельного участка VNTR. Полилокусный (мультилокусный) же анализ даст более сложную картину из множества чередующихся полос.





Использование анализа VNTR очень удобно и для целей

установления отцовства. Для вынесения вердикта рассматриваются те локусы, по которым ребенок является *гетерозиготным*, то есть когда варианты VNTR, полученные им от отца и от матери, различны. В этом случае положение каждой из дорожек должно совпадать с дорожкой того из родителей, от которого был унаследован соответствующий VNTR.

И все же в некоторых случаях использование VNTR оказывается невозможным. Такие ситуации возникают, например, если имеется недостаточное количество образца для проведения анализа. К тому же, большое число повторов в VNTR, способствующее их большей вариабельности, в некоторых случаях может оказаться их недостатком: чем длиннее фрагмент ДНК, тем больше вероятность того, что он подвергнется деградирующему действию различных повреждающих внешних факторов.

Так, анализ VNTR часто оказывается неприемлемым для идентификации останков по прошествии длительного отрезка времени, а также сильно поврежденных останков. Поэтому в таких случаях используются анализы фрагментов других типов. (Например STR)

Заключение

В мире существует несколько систем с установленным стандартным набором локусов, по которым проводится ДНК-идентификация. В США, например, принята система CODIS, в которую входит 14 STR-локусов. Они находятся на разных хромосомах, и их независимое распределение делает статистический анализ более достоверным. В Европейских странах более распространен набор ENFSI, по которому исследуется 9 локусов. В России часто используют набор фирмы Promega. Также существуют другие локусы, анализ которых проводится по мере необходимости.

Что касается лабораторных ошибок, возможность которых никогда нельзя исключать при проведении анализа, то именно они являются причиной нарастающего скепсиса общественности в отношении ДНК-идентификации. Ошибки могут возникать на каждом из этапов экспертизы - от сбора образцов до вынесения итогового заключения. Совсем несложно перенести ДНК с одного места на другое, смешать пробы и т. д., то есть сфальсифицировать результаты судебного исследования. Причем допущенные ошибки могут быть обращены как во вред, так и в пользу подозреваемого.

И все же результаты применения молекулярно-генетических методов в криминалистике очевидны: во всем мире начинают выпускать на свободу людей, проведших долгие годы в заключении вследствие несправедливого обвинения. Анализ давних дел, по которым подозреваемые в совершении преступления были признаны виновными, проводится регулярно, однако лишь четверть пересмотренных с использованием новых технологий дел заканчивается освобождением осужденного. И именно ради таких людей ДНК-идентификация и должна была появиться.

Источники

1. http://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/biologiya/DNK-IDENTIFIKATSIYA.html
2. <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1196907&uri=1.html>
3. <http://www.genetechnology.ru/?q=ru/node/112>
4. <http://www.vechnayamolodost.ru/articles/biotvzhiz/dnkvkriminali70/>
5. <http://dnk-krim.narod.ru/articles/Lutarevich.htm>