**Курс лекции по дисциплине**

**«Молекулярная и судебно-медицинская экспертиза»**

**Лекция 8**

**Применение последних достижений в области генетики, геномики и молекулярной биологии в судебно-медицинской экспертизе.**

*Цель занятия:* Ознакомление студентов с последними достижениями в области генетики, геномики и молекулярной биологии в судебно-медицинской экспертизе.

Молекулярная генетика на службе судебно-медицинской экспертизы активно внедряется в практику правоохранительной деятельности, и это не дань моде, а следствие «революционных» возможностей. Благодаря молекулярной генетике не остаются безнаказанными многие опасные преступления против жизни человека, минимизируются случаи ложного обвинения лица в совершении преступления.

Молекулярно-генетический идентификационный анализ, традиционно называемый *«геномной дактилоскопией»*, направлен на выявление индивидуальных особенностей, «особых примет» генетической конструкции конкретного человека. Этот подход не имеет аналогов среди использовавшихся ранее методов судебно-экспертной идентификации человека, хотя само его название заимствовано из классической судебной науки.

*Дактилоскопия* в настоящее время является самым используемым методом при идентификации человека, изучает приёмы и средства использования следов папиллярных узоров пальцев рук, в целях уголовной регистрации и идентификации по следам, обнаруживаемым на местах происшествий.

В *геномной дактилоскопии* применяется принципиально иная технология установления личности, основанная не на изучении следов пальцев рук, а на анализе клеточной ДНК – универсального носителя наследственной информации.

Целью использования новых методов в судебно-медицинской экспертизе вещественных доказательств является повышение идентификационных возможностей.

*Молекулярно-генетическая экспертиза* – наиболее доказательственный метод анализа биологического материала при расследовании преступлений. Она обеспечивает высокий уровень доказательности благодаря тому, что позволяет экспертам делать выводы о конкретном человеке. Судебно-медицинская молекулярно-генетическая экспертиза назначается по уголовным и гражданским делам, когда возникает необходимость судебно-медицинского исследования вещественных доказательств для идентификации человека, – в ходе расследования убийств, причинения телесных повреждений, изнасилований, при идентификации неопознанных и расчленённых трупов, а также в случаях подмены, похищения детей, установления отцовства.

В практической медицине и криминалистике стало возможным применение новых молекулярно-генетических методов. К наиболее распространенным методам детекции генетических нарушений можно отнести аллель-специфичную полимеразную цепную реакцию (ПЦР), ПЦР в реальном времени, секвенирование ДНК и гибридизацию с использованием ДНК-чипов. Благодаря развитию технологий в качестве стандартного появился метод массивного параллельного секвенирования NGS для определения нуклеотидного состава молекулы ДНК, секвенирования больших участков белок-кодирующих областей генома человека.

При помощи же биочипов идентификация может быть проведена за десять минут. Применение метода биочипов молекулярной биологии в криминалистике и судебной медицине возможно в нескольких направлениях.

Во-первых, для идентификации личности на месте преступления по таким характеристикам, как группа крови, гены, определяющие пол и т. д. Наряду с известными четырьмя группами крови системы АВО существуют до 15-ти подгрупп, что позволяет с высокой степенью достоверности судить о личности преступника. Необходимо отметить, что в ряде случаев красители на одежде могут ингибировать полимеразную реакцию, необходимую для получения ДНК преступника из образца крови. Это представляет собой отдельную, но в большинстве случаев решаемую проблему. Не менее важной является идентификация личности преступника по образцам слюны, спермы или кожи с применением биочипов. Из подобных образцов методом полимеразной цепной реакции (метод ПЦР) можно получить ДНК преступника и сравнить данный образец с ДНК подозреваемого в совершении преступления или с ДНК его родственников, не прибегая к дорогостоящим методам экспертизы.

Если преступник страдает такими заболеваниями, как гепатит С, туберкулез или ВИЧ-инфекция, то у правоохранительных органов появляется дополнительная возможность оценки присутствия данной личности на месте преступления, так как методами молекулярной биологии с применением биочипов можно установить до 40 разновидностей гепатита С по образцам крови, идентифицировать гены туберкулезной палочки в слюне на месте преступления и определить в образце крови присутствие вируса ВИЧ инфекции, что позволит собрать объективную информацию и сформировать доказательную базу данных по присутствию данного лица на месте преступления. Время, которое будет затрачено на проведение подобных анализов, при наличии квалифицированного персонала и необходимых реактивов, составит 2-3 суток от момента обнаружения образцов биологического материала на месте преступления.

В перспективе необходимо создание «генетического паспорта» преступника, своеобразной «генетической дактилоскопии», что может послужить ещё одним из факторов сдерживания преступности в её наиболее жестоких формах.

*Массивное параллельное секвенирование.* Появление технологий массивного параллельного секвенирования позволило не только увеличить производительность и скорость прочтения до миллиардов пар оснований, но и существенно снизить стоимость анализа. Массивное параллельное секвенирование имеет пропускную способность обработки миллионов последовательностей, читая ДНК одновременно. На платформах NGS проводят параллельное секвенирование пулированных нуклеиновых кислот, выделенных из большого количества различных образцов. Для дифференцировки исследуемых образцов используют наборы штрих-кодов или индексов (до 96 вариантов), представляющих собой олигонуклеотиды известной последовательности. Для завершения эксперимента могут потребоваться только один или два прохода оборудования. Три платформы доступных секвенаторов включают 454 GS FLX (Roche), Solexa (Illumina) и SOLiD (Life Technologies), которые используют следующие подходы: секвенирование путем синтеза (Sequencing by Synthesis), секвенирование путем лигирования (Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection). Эти методы имеют исключительно высокую пропускную способность, большую точность и способны обеспечивать более дешевые анализы. Секвенирование на платформах NGS состоит из нескольких этапов. На первом этапе осуществляют процесс подготовки библиотеки ДНК, который включает ферментативное или ультразвуковое фрагментирование ДНК с последующим присоединением к полученным фрагментам ДНК универсальных олигонуклеотидных адаптеров известной последовательности с помощью ПЦР. Адаптеры необходимы для дальнейшей амплификации фрагментов. При проведении анализа необходимо не более 50 нг ДНК на входе для создания библиотеки. Подобный подход может быть использован при определении de novo последовательности генома. Платформы NGS производят более короткие отрезки (35—250 пар нуклеотидов в зависимости от платформы), по сравнению с капиллярными секвенаторами (650—800 пар нуклеотидов), что также может иметь значение для их использования при секвенировании de novo и ресеквенировании генома. Эти платформы имеют высокую надежность и являются экономически эффективными.

# Контрольные вопросы:

1. Молекулярная генетика на службе судебно-медицинской экспертизы.
2. Геномная дактилоскопия.
3. Молекулярно-генетическая экспертиза.
4. Новые молекулярно-генетические методы.
5. Массивное параллельное секвенирование.

*Литература:*

1 Льюин Б. Гены. – М.: Бином. Лаборатория знаний. 2013. – 896 с.

2 Херрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. – М.: 2013.–540 с.

3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебник для ВУЗов. Н.: Изд-во Новосибирского университета, 2012.

**Лекция 9**

**Применение ПДРФ-анализа для идентификации ДНК в молекулярно-генетической экспертизе.**

*Цель занятия:* Ознакомление студентов с методом ПДРФ-анализа для идентификации ДНК в молекулярно-генетической экспертизе.

Достигнутый прогресс в теоретических и практических разработках молекулярно-генетических методов на основе ДНК-анализа и дальнейшее их совершенствование являются основой для повышения судебно-медицинской экспертизы на качественно новый уровень. Современные способы консервации биологического ядросодержащего материала (криоконсервация крови и спермы, консервация клеток буквального эпителия фиксирующими жидкостями, консервация крови в виде пятен на специальных бумажных носителях и т. д.) создают базу для формирования банка биологического материала сравнения. Создание такого банка важно для лиц, выполнение профессиональных обязанностей которых связано с повышенным риском для жизни, в том числе для военнослужащих.

Например, распространенная сейчас криоконсервация делается без каких-либо последствий для донора. Как пояснили в известном центре «Нова Клиник» — необходимо лишь желание и время для сдачи анализов. Сам материал бережно отправляется в специальные пластмассовые хранилища, где замораживается до температуры -196ºС. Смысл заморозки в том, что при такой температуре все биологичские процессы в сперме прекращаются. Таким образом, со временем, после разморозки, процессы возобновляются исперма сновая явялется «живой», т.е. способной оплодотворить яйцеклетку.

Перед криоконсервированием донор проходит необходимое обследование. Делается спермограмма, анализ на инфекции и вирусы, прочие исследования. Также производится анализ на сопсобность спермы пережить заморозку.

Следует отметить, что криоконсервирование открывает новые горизонты не только для отцов-доноров, но и для судебной медицины. Так, криоконсервированию могут быть подвержены генетические материалы жертв для дальнейшего поиска преступника в будущем.

В аспекте судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств, установления родства и идентификации личности полиморфизм ДНК можно условно разделить на две категории:

— полиморфизм уникальных последовательностей («кодирующих» участков ДНК, детерминирующих синтез биологических продуктов, определяемых иммунологическими, биохимическими и другими методами). Он свойствен, например, генам комплекса HLA, рецептора липопротеина низкой плотности (LDLR), гликофорина A (GYPA), Су-глобина гемоглобина (HBGG) и группоспецифического компонента (GC);

— полиморфизм длины последовательностей («некодирующих» участков ДНК, информация о которых не может быть получена никакими другими способами кроме методов генетического анализа). Он свойствен мультиаллельным генетическим локусам, аллельные варианты которых содержат вариабельное количество тандемных повторов (variable number of tandem repeats — VNTR). Эти локусы можно разделить на две группы: собственно VNTR-локусы с длиной повтора от семи пар нуклеотидов (минисателлиты) и локусы, называемые короткими тандемными повторами, или локусы STR-muna (short tandem repeats — STR), с длиной повтора от двух пар нуклеотидов (микросателлиты). Половую принадлежность объектов биологического происхождения определяют при анализе сегмента амелогенинового гена, представленного в Х- и Y-хромосомах в виде участков с высокой степенью гомологии, цепь Х-хромосомы имеет в этом регионе вставку.

К генетическим маркерам предъявляются определенные требования: они должны обладать высокой полиморфностью и высоким уровнем гетерозиготности; их мишеневые последовательности должны легко и специфично амплифицироваться; методы детекции их аллельных различий не должны быть чрезмерно сложными. Кроме того, обязательное условие — наличие данных о частотах встречаемости интересующих аллелей, что позволяет математически обработать результаты ДНК-анализа, поскольку на основании этих данных производится расчет вероятности случайного совпадения выявленных признаков. Если ДНК-анализу подвергаются в комплексе несколько полиморфных маркеров, то следует обратить внимание на то, чтобы каждый из них наследовался независимо от других.

Открытие А. Джефрисом и соавт. (1985) особого семейства гипервариабельных участков ДНК — минисателлитной ДНК. — произвело революцию в судебно-медицинской экспертизе вещественных доказательств.

*Полиморфизм Длины Рестрикционных Фрагментов (ПДРФ-анализ).* Анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов – метод обнаружения мутаций, основанный на сопоставлении профилей полос после разрезания геномной ДНК специфичными эндонуклеазами рестрикции - рестриктазами.

В 1962 году Арбер выявил особый тип ферментов — рестриктазы, которые способны разрезать молекулы ДНК только в тех местах (сайтах рестрикции), где имеется определенная последовательность нуклеотидов. Однако активное использование рестриктаз для анализа ДНК началось в 70-х годах.

Первоначально методы анализа были основаны на исследовании полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ). Суть метода заключается в ферментативной рестрикции ДНК с помощью рестриктаз, «узнающих» различные последовательности нуклеотидов и разрезающих молекулу ДНК в местах, специфических для каждого вида рестриктазы. Полученные фрагменты разделяются методом гель-электрофореза в зависимости от длины фрагмента, а выявление полиморфных фрагментов из набора фрагментированной ДНК проводится с помощью гибридизационного анализа с использованием мультилокусных или локусоспецифичных зондов ДНК, маркированных радиоактивными или не радиоактивными метками. При использовании мультилокусных зондов на приложенной к мембране авторадиографической пленке образуется графический геномный отпечаток индивида в виде поперечных линий разной толщины, соответствующих числу и виду гипервариабельных фрагментов. Подобные линии, как и отпечатки пальцев, в своей совокупности индивидуальны, поэтому эта технология получила название «дактилоскопический отпечаток генома», или «ДНК-фингерпринт». Локусоспецифичные зонды идентифицируют последовательности, находящиеся в геноме лишь в единственном локусе. Эти зонды комплементарны к детектируемому тандемному повтору, что обеспечивает высокую специфичность исследований.

Применение ПДРФ-анализа в судебно-медицинской экспертизе имеет существенные ограничения. Во-первых, для его проведения требуется довольно большое количество относительно недеградированной ДНК (примерно 50 и 100 нг высокомолекулярной ДНК при использовании соответственно локусоспецифичных и мультилокусных зондов). Получить такие количества не всегда возможно. Для выделения указанного количества ДНК необходимо большое количество материала, при этом значительная часть образцов не может быть исследована повторно. Во-вторых, методами ПДРФ-анализа невозможно исследовать образцы биологического материала со значительной степенью деградации ДНК. В-третьих, широкое применение этого метода ограничивается технической сложностью и временем, затрачиваемым на его проведение (1-2 нед).

С учетом названных ограничений безусловно предпочтительным в производстве судебно-медицинских экспертиз (идентификация личности, решение спорного вопроса отцовства и материнства и т. д.) является использование полимеразной цепной реакции (ПЦР), представляющей энзиматический циклический процесс синтеза заданной нуклеотидной последовательности при участии термостабильной ДНК-полимеразы (например, Taq-полимеразы, получаемой из Thermus aquaticus), что обеспечивает накопление (амплификацию) этой последовательности ДНК в экспоненциальной зависимости. Эффективное «размножение» специфического участка ДНК-мишени, высокая чувствительность, специфичность и относительная быстрота исследования делают применение данного метода чрезвычайно удобным для решения задач судебно- медицинской экспертизы. В тоже время высокая чувствительность ПЦР-анализа вызывает ряд проблем: следует помнить о возможном загрязнении (контаминации) образцов чужеродной ДНК, недостаточности амплификации за счет присутствия в реакционной смеси тех или иных веществ- ингибиторов. Контаминация возможна за счет загрязнения вещественных доказательств или подготовленной пробы чужеродной ДНК из внешней среды, взаимного загрязнения между образцами в процессе выделения ДНК или проведения ПЦР, загрязнения образца ДНК, амплифицированной в ходе предыдущих исследований. Для обеспечения минимального риска необходима особая организация работы лаборатории, проводящей исследования с применением ПЦР. В ней должны быть, по крайней мере, три зоны.

Эти зоны необходимо с определенной периодичностью обрабатывать дезинфицирующими средствами и ультрафиолетовыми лучами во избежание загрязнения исследуемых проб чужеродной ДНК.

Особое внимание следует уделять выделению ДНК из субстрата. В настоящее время разработаны различные способы ее экстракции практически из любого ДНК-содержащего материала (крови и ее следов, волос, костной ткани, слюны, зубов и т. д.). Успешно применяется способ «дифференциального лизиса» для извлечения и последующего исследования генетического материала спермы и/или эпителиальных клеток из смешанных следов спермы и вагинального секрета.

Амплификация и анализ ее продуктов (проведение ПЦР и всех манипуляций с амплифицированной ДНК: электрофорез продуктов ПЦР, гибридизация, хранение амплифицированной ДНК)

Помимо классического варианта возможно применение так называемой гнездовой ПЦР (nested PCR), повышающей чувствительность метода в сотни раз. Обычно такая разновидность метода используется для обнаружения латентной вирусной инфекции, когда количество искомой ДНК весьма незначительно. Первоначально реакция проводится с праймерами, соответствующими двум высококонсервативным областям генов, а затем с праймерами для мишеневой ДНК. Широкое распространение получила многомишеневая, или мультилокусная ПЦР, в которой подобранные пары праймеров позволяют проводить детекцию результатов одновременно нескольких ДНК-мишеней одного образца. В качестве альтернативы проведения гибридизации после проведения ПЦР возможно сочетание метода олигонуклеотидного лигирования и иммуно-ферментного анализа.

В практике ПЦР-анализа, применяемого в судебно-медицинской экспертизе вещественных доказательств, при спорности происхождения детей, проведении идентификации личности, чрезвычайно важна интерпретация результатов исследования. Идентификационное значение тех или иных выявленных признаков определяется на базе вероятностных расчетов, основой для которых служат частоты встречаемости этих признаков в популяции, предварительно устанавливаемые опытным путем. Данные о частотах встречаемости аллелей позволяют рассчитать вероятности случайного совпадения идентификационных признаков, что существенно повышает значимость экспертных исследований.

Методы молекулярно-генетического типирования объектов биологического происхождения (преимущественно с применением ПЦР) благодаря своей высокой информативности заняли лидирующее положение в экспертной практике. Вместе с тем применение этих методов связано с целым рядом организационных проблем, например практически с отсутствием каких-либо законодательных актов, регулирующих производство этого вида экспертных исследований. Необходимо снижение чрезмерно высокой себестоимости таких экспертиз, сдерживающей их широкое внедрение, создание оптимального алгоритма исследований подобного рода в случаях идентификации неопознанных тел, особенно при их массовом поступлении..

# Контрольные вопросы:

* 1. ПДРФ-анализ.
  2. Применение ПДРФ-анализа в судебно-медицинской экспертизе.

*Литература:*

1. Льюин Б. Гены. – М.: Бином. Лаборатория знаний. 2013. – 896 с.
2. Херрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. – М.: 2013.–540 с.
3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебник для ВУЗов. Н.: Изд-во Новосибирского университета, 2012.

**Лекция 10**

**Применение методов полимеразной цепной реакции (ПЦР) в судмедэкспертизе.**

*Цель занятия:* Ознакомление студентов с методомполимеразной цепной реакции (ПЦР), применяемой в судмедэкспертизе.

В последние годы все больше молекулярно-биологических методов находят практическое применение в различных областях медицины, промышленности и сельского хозяйства. Один из таких методов полимеразная цепная реакция (ПЦР) – это метод, имитирующий естественную репликацию ДНК и позволяющий обнаружить единственную специфическую молекулу ДНК в присутствии миллионов других молекул. Основные принципы использования праймеров (коротких искусственно синтезированных молекул ДНК) и состав ингредиентов, входящих в реакционную смесь для получения копий ДНК, впервые были описаны Kleppe с соавт. в 1971 году. Однако тогда еще не была продемонстрирована основная черта ПЦР - экспоненциальное увеличение количества копий фрагмента исходной ДНК как результат реакции.

В 1983 году сотрудник фирмы «Cetus» Kary Mullis предложил метод, ставший в дальнейшем известным как полимеразная цепная реакция (ПЦР). Суть метода заключается в многократном копировании(амплификации) впробирке определенных участков ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов. На каждом цикле амплификации синтезированные ранее фрагменты вновь копируются ДНК-полимеразой. Благодаря этому происходит многократное увеличение количества специфических фрагментов ДНК, что значительно упрощает дальнейший анализ. Следует отметить, что этому открытию сопутствовало развитие некоторых технологий. В частности, появление приборов, позволяющих автоматически синтезировать одноцепочечные фрагменты ДНК (олигонуклеотиды).

В тот же период были обнаружены уникальные микроорганизмы, живущие в гейзерах. Их ферментативная система, в частности ДНК- полимераза, выдерживает высокие температуры горячих источников и сохраняет свою биологическую активность вплоть до 95°С, что является необходимым условием для проведения полимеразной цепной реакции. Результатом открытия ПЦР стало почти немедленное практическое применение метода. В 1985 году Saiki с соавт. опубликовали статью, в которой была описана амплификация геномной последовательности β-глобина. С этого момента количество публикаций, в которых авторы сообщали о применении ПЦР в своих работах, стало увеличиваться в геометрической прогрессии. Метод приобрел такую популярность, что сегодня уже трудно представить работу в области молекулярной биологии без его использования. Особенно бурное развитие метод полимеразной цепной реакции получил благодаря международной программе «Геном человека». Были созданы современные лазерные технологии секвенирования (расшифровки нуклеотидных последовательностей ДНК).

Что же может ПЦР? Основные медицинские области применения этого метода – диагностика инфекций и наследственных заболеваний. ПЦР открывает поистине широкие возможности анализа генома человека – выявления дефектных генов, определяющих наследственную предрасположенность к заболеваниям. Вместе с тем, интересно и обнаружение генов, несущих информацию о полезных признаках. Например, генов, снижающих риск опухолевого перерождения тканей, или генов, значительно уменьшающих вероятность заражения ВИЧ-инфекцией.

ПЦР используется также при генетической идентификации личности, определении степени родства. Только результат анализа ДНК позволяет окончательно дать заключение о достоверности отцовства.

Контрольные вопросы:

* 1. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР).
  2. Область применения ПЦР.

*Литература:*

1. Льюин Б. Гены. – М.: Бином. Лаборатория знаний. 2013. – 896 с.

2. Херрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. – М.: 2013.–540 с.

3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебник для ВУЗов. Н.: Изд-во Новосибирского университета, 2012.

4. Макконки Э. Геном человека. - Москва, Техносфера, 2014.- 287 с.

**Лекция 11**

**Преимущества и недостатки различных молекулярно-генетических методов в судмедэкспертизе.**

*Цель занятия:* ознакомление студентов с преимуществами и недостатками различных молекулярно-генетических методов в судмедэкспертизе.

Генети́ческая дактилоскопия, или ДНК-дактилоскопия, — система научных методов биологической идентификации индивидуумов (организмов) на основе уникальности последовательности нуклеотидов ДНК каждого живого существа, своеобразного «генетического отпечатка», остающегося индивидуальным и неизменным на протяжении всей жизни индивидуума (организма). Метод открыт 10 сентября 1984 года британским генетиком Алеком Джеффрисом. Используется во всём мире преимущественно в криминалистике при проведении судебно-медицинских экспертиз для раскрытия самых разных преступлений, а также для установления родства и решения множества других задач, связанных с идентификацией личности[3].

Сегодня ДНК-дактилоскопия проводится даже в портативных лабораториях, и десятки предприятий в мире выпускают оборудование для геномной идентификации личности. Несмотря на то, что 99,9 % последовательностей ДНК человека совпадают по составу, ДНК разных людей достаточно индивидуальны. В ДНК-профилировании анализируется количество повторяющихся элементов в выбранном участке генома. Повторяющийся элемент называется тандемным повтором, и его количество является вариабельным. Чем больше участков генома (или локусов) анализируется при составления ДНК- профиля, тем выше точность идентификации личности. В настоящее время число локусов для составления ДНК-профиля достигает 16 и более. Составление ДНК-профиля человека (ДНК-профилирование) не следует путать с полной расшифровкой его генома. Процесс ДНК-профилирования начинается с подготовки образца ДНК индивидуума (обычно называемый «контрольным образцом»). Наиболее предпочтительным методом отбора эталонного образца является использование буккального (щёчного) мазка, так как при таком способе снижается вероятность его загрязнения. Если это не представляется возможным (например, если для такой процедуры требуется решение суда, которое отсутствует), можно воспользоваться другими методами для сбора образцов крови, слюны, спермы или других подходящих жидкостей либо тканей с личных вещей (например, с зубной щётки, бритвы и т. п.). Можно воспользоваться образцами из хранилищ (например, из банка спермы или из хранилища биопсии тканей). Образцы, полученные из крови биологических родственников, могут служить индикатором профиля индивидуума, равно как и человеческие останки, которые были ранее профилированы.

Контрольный образец затем анализируется для создания ДНК-профиля человека с помощью одного из методов, описанных ниже. После проведения анализа ДНК-профиль можно сравнить с другим образцом, чтобы определить, есть ли генетическое сходство.

В то же время сравнение образцов ДНК, особенно в криминальных расследованиях, может быть недостаточно объективным, особенно в случае, когда эксперты получают дополнительную информацию о подозреваемых.

*ПДРФ-анализ*: Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов. Первыми методами генетического анализа, использовавшимися для ДНК-профилирования, были распознавание эндонуклеазы рестрикции, а затем анализ Саузерн-блоттинг. Хотя в позициях расщепления эндонуклеазы рестрикции может проявляться полиморфизм, чаще всего именно энзимы и ДНК-пробы используются для анализа локусов тандемного повтора. Однако Саузерн-блоттинг является трудоёмким методом и требует большого количества образцов ДНК. Кроме того, оригинальная методика Карла Брауна просмотра многих локусов минисателлитов одновременно увеличивает наблюдаемую вариабельность, что создаёт трудности в различении отдельных аллелей и тем самым исключает этот метод для тестирования на отцовство. Эти ранние методы были вытеснены методами ПЦР-анализа.

*ПЦР-анализ*: Полимеразная цепная реакция. С изобретением метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) ДНК-профилирование сделало огромный шаг вперёд как в отношении разрешающей способности, так и в возможности восстановления информации по очень малым (или деградирующим) образцам. ПЦР позволяет многократно амплифицировать участок ДНК, используя олигонуклеотидные праймеры и термостабильные ДНК-полимеразы. Первые методы анализа, такие как дот-блоттинг, были очень популярны благодаря своей простоте и скорости, с которой можно было получить результат. Однако они не обладали такой разрешающей способностью, как метод ПДРФ. Кроме того, было трудно определить ДНК-профили для смеси образцов, таких как вагинальный мазок у жертв сексуального насилия. К счастью, метод ПЦР был легко адаптирован для анализа локусов тандемных повторов. В США ФБР стандартизировало набор из 13 тандемных повторов для ДНК-профилирования, а также организовало объединённую базу данных ДНК «Combined DNA Index System (CODIS)» для судебно-медицинской идентификации в уголовных делах. Подобные анализы и базы данных были созданы и в других странах. Кроме того, разработаны комплекты инструментальных средств, которые позволяют анализировать одиночный нуклеотидный полиморфизм (ОНП).

*КТП-анализ*: Короткий тандемный повтор. Метод ДНК-профилирования, используемый в настоящее время, основан на методе ПЦР и использует короткие тандемные повторы (КТП). В этом методе анализируются участки с высокой степенью полиморфизма, которые имеют короткие повторяющиеся последовательности ДНК (наиболее распространённым является 4 базовых повтора, но встречаются и другие длины повтора, в том числе 3 и 5 пар оснований). Поскольку разные люди имеют разное число повторяющихся звеньев, эти участки ДНК могут использоваться для установления различий между индивидуумами. К участкам генома, содержащим КТП, подбирают специфичные олигонуклеотидные праймеры, затем с помощью ПЦР амплифицируют соответствующие фрагменты ДНК. Эти фрагменты ДНК затем разделяются и распознаются с помощью электрофореза. Есть два распространённых метода разделения и распознавания: капиллярный электрофорез (КЭ) и гель-электрофорез.

*Митохондриальный анализ:* Митохондриальная ДНК. Для сильно деградированных био-образцов иногда бывает невозможно получить достаточное количество ядерной ДНК. В таких ситуациях анализируется митохондриальная ДНК (мтДНК), поскольку в клетке существует много копий мтДНК, тогда как ядерной ДНК может быть не более 1-2 копий. Митохондриальный анализ является полезным дополнением при идентификации в таких случаях, как поиск пропавших без вести лиц, когда имеются только родственники, связанные по материнской линии. Митохондриальная ДНК может быть получена из таких био-материалов, как волосы (с корнем), старые кости или зубы. Этот метод, в частности, был использован в установлении того факта, что одна из наиболее известных в мире самозванок Анна Андерсон на самом деле не являлась великой русской княжной Анастасией Николаевной Романовой, за которую она себя выдавала.

Возможности генетической криминалистической экспертизы. Сравнительно просто получить ДНК из свежего образца крови, слюны и спермы, но получить ДНК с объектов, к которым человек просто прикасался, весьма сложно. До 2000 года было невозможно составить профиль ДНК на основе крошечных образцов биоматериала. Но в наше время профиль ДНК может генерироваться только из 50 пикограммов ДНК (количество, содержащееся примерно в 8 клетках человека). Такой след нельзя увидеть невооруженным глазом. При этом следует иметь в виду, что если количество анализируемого материала слишком мало, то его можно спутать с фоновой ДНК (появившейся до совершения преступления и не имеющая к нему отношения) или ДНК другого человека (например, жертвы). ДНК-экспертиза позволяет установить пол человека. Определить цвет его глаз и волос с помощью ДНК сложнее, а другие данные о нём (например, рост) установить с помощью ДНК пока невозможно. ДНК-экспертиза также позволяет достоверно определить принадлежность человека, оставившего след, к основным континентальным группам (африканской, западно-евразийской, восточно- и южно-азиатской, коренной американской (индейской)).

*Применение секвенирования по Сенгеру в криминалистике*. Секвенирование ДНК — это группа методов, позволяющих прочитывать последовательность нуклеотидов. Своим появлением метод секвенирования по Сэнгеру во многом обязан британскому биофизику Фредерику Сэнгеру, который получил сразу две Нобелевские премии по химии. Одна из этих престижных научных наград нашла его как раз за разработку метода считывания нуклеотидных последовательностей (ДНК и РНК), ныне известного как секвенирование [2]. Метод получил настолько широкое распространение и общемировое признание, что до сих пор используется как в фундаментальной науке, так и в самых различных наукоемких отраслях промышленности. Не смогла обойтись без этого типа анализа и криминалистика.Секвенирование (англ. sequence – последовательность) - метод определения последовательности нуклеотидов исследуемой ДНК.

Исторически открыты два основных метода секвенирования:

– Максама-Гильберта (химическое расщепление ДНК по одному основанию) и дидезоксисеквенирование – метод Сэнгера.

В связи со сложностью и дороговизной химический метод Максама-Гильберта в настоящее время практически не используется.

Дидезоксисеквенирование по Сэнгеру – метод определения последовательностей нуклеотидов ДНК путем получения комплементарных молекул ДНК, различающихся по длине на одно основание с использованием дидезоксинуклеотидов и радиоизотопов или флюорохромных красителей.

Исторически метод Сэнджера проводился с использованием радиоизотопов. Суть метода заключалась в следующем. Вначале ДНК денатурируют. Затем добавляют секвенирующий праймер, проводят отжиг праймера и инициируют синтез ДНК, добавляя в реакционную смесь ДНК-полимеразу и дезоксинуклеотидтрифосфаты – dATP, dCTP, dGTP, dTTP, один из которых радиоактивен. Синтез ведут в четырех параллельных пробирках, в каждую из которых добавляют один из специфических дидезоксинуклеотидтрифосфатов, или терминаторов– ddNTP. При встраивании ddNTP на место соответствующего нуклеотида синтез ДНК прекращается.

Таким образом, в каждой из пробирок получают набор различающихся по длине радиоактивно меченых фрагментов ДНК с одним и тем же специфическим для данной пробирки дидезокситерминатором на конце молекулы.

После одновременного электрофоретического разделения этих фрагментов на четырех соседних дорожках и радиоавтографии размер синтезированных фрагментов может быть определен, а значит, определена и локализация ddNTP, и порядок соответствующих им нуклеотидов в исходной молекуле ДНК.

В настоящее время метод секвенирования с использованием радионуклидов не применяется. Используется метод автоматического секвенирования при помощи присоединенных к каждому из ddNTP четырех разных флюоресцентных маркеров.

Непрерывное совершенствование технологий секвенирования привело к тому, что проект по секвенированию человеческого генома, «Геном человека» (Human Genome Project, HGP), был реализован за один год в 2001 году после десяти лет работы (Watson J, 1990; Venter J, et al, 2001). Ожидается, что секвенирование генома (sequencing, считывание информации с ДНК) предоставит человечеству преимущества в понимании здоровья людей и позволит перейти к индивидуальному лечению. В процессе секвенирования генома (или полногеномного секвенирования, whole genome sequencing) исследователь или клинический специалист получает информацию о всей ДНК, находящейся в 23 хромосомах клеток человека, которые содержат примерно 3 млрд. пар нуклеотидов. Эта информация включает последовательности всех генов (20 тыс.) и некодирующих участков (которые составляют большую часть генома человека и участвуют, в частности, в регуляции работы генов; однако функции некодирующей части генома еще только предстоит узнать).

Таким образом, в результате одного исследования (секвенирования) генома возможно получить гигантский массив информации, который будет использоваться в клинической практике, как с уже имеющимися данными, так и с данными, которые учёные будут получать по мере научного прогресса в будущем.

Последние 20 лет доминирует автоматизированное секвенирование по методу Сенгера. Этот метод был использован в глобальных проектах по секвенированию генома человека, различных животных, бактерий и вирусов. Однако данный метод оказался не подходящим для быстрого рутинного секвенирования человеческих геномов в клинических целях. Поэтому появилась необходимость в изобретении новых технологий полногеномного секвенирования. Автоматизированное секвенирование по Сенгеру считается "методом первого поколения", тогда как современные методы называются "методами нового, или второго, поколения" (Next-Generation Sequencing, NGS). В основе этих технологий находятся различные стратегии, основанные на уникальных комбинациях приготовления ДНК-матриц, секвенирования, визуализации, а также выравнивания и составления последовательностей (sequences или "сиквенсов") ДНК. Основным преимуществом секвенирования нового поколения является рентабельность продукции огромного массива данных за короткое время. Индивидуальное геномное секвенирование – это быстрорастущая область технологии и медицины. Как ожидается, существенный прогресс последних лет в секвенировании в скором времени может привести к уменьшению стоимости секвенирования до 1000 долларов на индивидуальный геном. С практической стороны каждый метод обладает своими преимуществами и недостатками.

# Контрольные вопросы:

* 1. Преимущества и недостатки методов ДНК анализа в криминалистике: ПДРФ, ПЦР, КТП-анализа и анализа митохондриальной ДНК.
  2. Секвенирование по Сенгеру в криминалистике.

*Литература:*

1. Льюин Б. Гены. – М.: Бином. Лаборатория знаний. 2013. – 896 с.

2. Херрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. – М.: 2013.–540 с.

3. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебник для ВУЗов. Н.: Изд-во Новосибирского университета, 2012.

4. Макконки Э. Геном человека. - Москва, Техносфера, 2014.- 287 с.

**Лекция 12**

**Использование высокопроизводительного секвенирования (NGS) в геномике, палеогенетике и криминалистике.**

*Цель занятия:* ознакомление с применением высокопроизводительного секвенирования (NGS) в геномике, палеогенетике и криминалистике.

Высокопроизводительное секвенирование (NGS). Появление и развитие методов современного высокопроизводительного секвенирования ДНК (next-generation sequencing, NGS) способствовало значительному прогрессу в геномике и молекулярной биологии. Эти обладающие высокой пропускной способностью технологии (миллионы молекул ДНК за один запуск) и низкой себестоимостью в пересчете на один прочитанный нуклеотид быстро развивались в последние годы и стали важным аналитическим инструментом в геномных исследованиях. К настоящему времени их применение стало рутинной процедурой, которая внедряется во многих сферах деятельности, в том числе и в криминалистике. Преимущество этих методов состоит в том, что, в отличие от ранее описанных методов RFLP- и STR-анализов, размер анализируемых фрагментов ДНК может составлять несколько десятков нуклеотидов, что позволяет работать с сильно деградировавшим биологическим материалом, подвергшимся воздействию термических, химических и прочих факторов. Именно эти методы генетического анализа существенно продвинули современную палеогенетику, позволив восстановить геномы неандертальца, денисовского человека или шерстистого мамонта, обитавших на нашей планете десятки тысяч лет назад. Эти же подходы наиболее эффективны в работе со сложными криминалистическими образцами, позволяя воссоздать генотип и подтвердить наличие на вещественных доказательствах биологического материала преступника или жертвы.

За последние полтора десятка лет коммерческие компании предложили сразу несколько методов высокопроизводительного секвенирования. Некоторые из них — пиросеквенирование от компании Roche или классическое лигазное секвенирование — ушли в историю, другие сохранились и продолжают модифицироваться. Здесь мы рассмотрим только те технологии, которые остаются актуальными для криминалистических исследований в 2020 году.

Полупроводниковое секвенирование основано на регистрации локального изменения рН в момент удлинения синтезируемой цепи ДНК-полимеразой на матрице ДНК и реализована в приборах биотехнологической компании Thermo Fisher Scientific — Ion S5 / Ion S5 XL.

Секвенирование на молекулярных кластерах реализовано в приборах компании Illumina (MiniSeq, MiSeq, NextSeq и NovaSeq) и основывается на переводе информации о флуоресценции в ходе синтеза дочерней цепи ДНК в последовательность нуклеотидов.

Нанопоровое секвенирование появилось на биотехнологическом рынке сравнительно недавно и пока не завоевало значительного признания в криминалистике по причине относительно большого количества ошибок. Однако и оно имеет свои перспективы, в том числе из-за простоты и потрясающей скорости пробоподготовки и секвенирования. Технология реализована на приборах компании Oxford Nanopore (MinION, GridION X5, PromethION и SmidgION) и основывается на детекции изменений силы тока при прохождении молекул нуклеиновых кислот через специальные белковые поры. Изменение силы тока в процессе миграции молекулы ДНК через белковую пору позволяет определять тип нуклеотида, проходящего через пору в конкретный отрезок времени [21].

Благодаря использованию технологий высокопроизводительного секвенирования криминалистика получила эффективный инструмент, который открыл новые возможности для одновременного анализа многочисленных участков (локусов) ядерного и митохондриального геномов. Важным плюсом этих методов является возможность отличать даже однояйцевых близнецов (по соматическим мутациям), что невозможно при проведении RFLP- или STR-анализов.

# Контрольные вопросы:

* 1. Высокопроизводительное секвенирование (NGS).
  2. Нанопоровое секвенирование.
  3. Преимущества технологий высокопроизводительного секвенирования в криминалистике.

*Литература:*

1. Херрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. – М.: 2013.–540 с.

2. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебник для ВУЗов. Н.: Изд-во Новосибирского университета, 2012.

3. Макконки Э. Геном человека. - Москва, Техносфера, 2014.- 287 с.

**Лекция 13**

**Судебная молекулярно-генетическая экспертиза объектов биологического происхождения (флора, фауна) в борьбе с их незаконным оборотом.**

*Цель занятия:* ознакомление магистрантов с судебно-генетической экспертизой объектов биологического происхождения (флора, фауна) в борьбе с их незаконным оборотом.

В настоящее время при исследовании объектов биологического происхождения увеличиваются объемы производства наиболее востребованных видов экспертиз, сопровождающихся необходимостью использования молекулярно-генетических методов, что обусловлено практикой борьбы с преступлениями против человека, дикой флоры и фауны. Данные методы особенно актуальны в условиях постоянного роста количества особо тяжких преступлений против личности, в том числе заказных, хорошо спланированных и организованных убийств, а также противоправных действий, направленных на уничтожение диких животных и дикорастущих растений, включая браконьерство и контрабанду. Наиболее часто следы биологического происхождения исследуют в связи с преступлениями против жизни и здоровья человека, особенно половыми преступлениями.

Новым направлением развития судебно-экспертного ДНК-анализа во всем мире

является молекулярно-генетическая идентификация биологических образцов животного и растительного происхождения.

*Применение молекулярно-генетической экспертизы для исследования объектов флоры и фауны.* Теоретические и практические методики, лежащие в основе судебной молекулярно-генетической экспертизы, постоянно совершенствуются, что открывает новые возможности для применения ДНК-анализа в экспертной практике.

Запреты и усиление правоохранительных мер по защите дикой фауны со стороны государства не приводят к значительному снижению уровня незаконной охоты и вылова животных. Не останавливает нелегальных добытчиков и ответственность за посягательство на объекты животного мира. Создание аквакультурных хозяйств по разведению осетровых рыб с целью реализации их в торговой сети, к сожалению, также не способствует полному исчезновению браконьерской икры.

Правонарушения данного рода являются сложно доказуемыми. После совершения преступления злоумышленники пытаются скрыть факт убийства животного.

Браконьеры разделывают тушу животного, делая невозможным его видовое определение по морфологическим признакам. В таком случае следы биологического материала, оставленные на месте происшествия, одежде и обуви браконьеров, на орудиях преступления, транспортных средствах, могли бы стать принципиально новой доказательственной информацией в расследовании дел о незаконной охоте и добыче водных ресурсов. Для расследования преступлений против дикой природы судебные и следственные органы нуждаются в принципиально новой доказательственной информации, полученной новыми экспертными средствами исследования вещественных доказательств, до сих пор не задействованной в расследовании.

Информация подобного рода содержится в многочисленных объектах, присутствующих на разных этапах правонарушения. Биологические следы, обнаруженные на месте отстрела животного, на месте разделки туши, на орудиях убийства или орудиях разделки, на транспортных средствах, использованных для перемещения туши, на поверхности одежды и обуви участников охоты (или разделки), а также в местах хранения мясопродуктов – в случае доказательства их происхождения от одной и той же особи животного, – дают информацию, позволяющую восполнить существенную часть недостающих сведений о материальной структуре преступления – незаконной охоте.

# Контрольные вопросы:

* 1. Применение молекулярно-генетической экспертизы для исследования объектов флоры и фауны.
  2. Судебная молекулярно-генетическая экспертиза объектов биологического происхождения (флора, фауна) в борьбе с их незаконным оборотом.

*Литература:*

1. Херрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. – М.: 2013.–540 с.

2. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебник для ВУЗов. Н.: Изд-во Новосибирского университета, 2012.

3. Макконки Э. Геном человека. - Москва, Техносфера, 2014.- 287 с.

**Лекция 14**

**Использование SNP анализа в криминалистике для идентификации человека.**

*Цель занятия:* ознакомление магистрантов с применением SNP анализа в криминалистике для идентификации человека.

В настоящее время всё большее внимание уделяется генотипированию однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в судебной медицине. Причём подобное типирование используется не только для Y–хромосомы или митохондриальной ДНК, но и для аутосомальных SNP. Интерес судебных экспертов к аутосомальным SNP вызван рядом потенциальных преимуществ, таких как низкий уровень мутационных изменений и облегчение анализа деградированных образцов с помощью коротких ампликонов. Постоянно разрабатываются новые методы генотипирования SNP, реактивы для генотипирования, а также новые платформы. Поэтому трудно выделить лучшую технологию из доступных на сегодняшний день.

До появления молекулярно-генетических методов анализа центральное место в экспертизе вещественных доказательств занимало установление принадлежности тканей и выделений человека по системе АВ0 путем выявления соответствующих антигенов иммунологическими методами. Установление группы крови не несет идентифицирующей информации, однако представляется важным определять принадлежность биологических объектов к основным группам системы АВ0, которая указывается в медицинских картах и является, таким образом, установочным признаком. Выявление групповой принадлежности биологических следов, изъятых на месте преступления или с вещественных доказательств, позволит скорректировать направление поисковых мероприятий и провести скрининг при большом количестве подозреваемых.

За последние годы появилось большое количество сообщений о различных молекулярно-генетических способах установления групповой принадлежности. Иммунологический подход, использующийся при проведении судебно-медицинской экспертизы (СМЭ), имеет определенные недостатки: возможность неспецифических взаимодействий используемых антител, присутствие иных антигенов со схожей иммунологической специфичностью (загрязнение образцов микробной флорой, биоматериалом животных), смешение биологического материала от разных лиц, трудности в типировании различных вариантов подгрупп системы АВ0, модификации антигенных структур под влиянием окружающей среды. Все это может привести к ошибочной интерпретации результатов. Указанные факторы не влияют на результаты определения молекулярно-генетическим методом, поскольку анализируется ген, ответственный за биосинтез антигена.

Преимущества такого подхода очевидны: возможность выявления редких вариантов, универсальность для объектов экспертизы любого происхождения, содержащих ядерную ДНК человека, полнота характеристики исследуемого признака по сочетанию наследуемых от обоих родителей аллелей. Таким образом, для установления групповой принадлежности криминалистических образцов применение.

ДНК-анализа является предпочтительным. Данный подход актуален при исследовании микрообъектов, поскольку весь имеющийся биологический материал можно использовать для генетического исследования, в рамках которого проводится установление группы крови по системе АВ0.

Применение ДНК-анализа стало возможным после изучения структуры гена АВ0, начатого F. Yamamoto и соавт. Экспрессию антигенов А и В контролируют аллели гена АВ0, расположенного на 9-й хромосоме в позиции 9q34. При наличии аллеля А образуется N-ацетилгалактозаминилтрансфераза, которая переносит N-ацетилгалактозамин на фукозилированный остаток галактозы Н-антигена. Таким образом формируется А-активная структура антигена. При наличии аллеля В образуется фермент галактозилтрансфераза, переносится галактоза и формируется В-активная структура. При наличии аллеля 0 активный фермент не продуцируется, Н-структура остается в неизмененном состоянии.

Известно около 88 аллельных вариантов гена АВ0. Высказано предположение, что ген А является геном предшественником, что позволяет объяснить наличие большого количества фенотипических вариантов в А-группе и сравнительно малое количество в группе В. В целом для отнесения образца к одной из четырех фенотипических групп можно выделить наиболее значимые мутации (относительно последовательности гена А).

Они сосредоточены в экзонах 6 и 7, наибольших по размерам и содержащих 77% кодирующей последовательности. В экзоне 6 делеция гуанидина в позиции 261, характерная для аллеля 0, приводит к сдвигу рамки считывания и синтезу неактивного фермента, что выражается в неизменности структуры антигена Н. Замены 297А/G, 526С/G и 802G/A в экзоне 7 при отсутствии делеции 261G, что характерно для аллеля 03, приводят к потере трансферазной активности. Кроме того, в экзоне 7 расположены несколько точек полиморфизма, мутации по которым проявляются в изменении структуры фермента и в конечном счете в синтезе антигена В. Этим объясняется ориентированность многих тест-систем именно на эти два участка. Позиции полиморфизма в экзонах 6 и 7, определяют основные варианты. При разработке дизайна тест-систем, как правило, используют определенные точки полиморфизма. Всегда исследуют позицию 261 как определяющую фенотип 0(I).

Для более полного установления этого фенотипа среди белых европейцев выявляют мутацию 802G/A, которая при отсутствии делеции 261G указывает на аллель 03. Дополнительно исследуют один или несколько полиморфизмов, характерных для аллеля В: 526C/G, 703G/A, 796C/A, 803G/C.

Интернациональная команда ученых создала новый веб-инструмент — программу, которая позволяет прогнозировать цвет глаз, волос и тон кожи. Её название: «HIrisPlex-S». Создатели программы уверены, что это открывает новые границы для науки, тем более, что программа бесплатна и любые правоохранительные или силовые структуры могут её использовать. Команду, разработавшую новый инструмент для фенотипирования, возглавляет Сьюзен Уолш из Университета Индианы (Purdue University Indianapolis School of Science). Уолш в интервью журналу Forensic Magazine сказала, что их команда заинтересована в том, чтобы выяснить, насколько точно работает их программа, а где может возникнуть ошибка. Именно поэтому они сделали программу бесплатной и доступной для всех, кто в ней заинтересован. Уолш и ее коллеги считают эту программу на сегодня самым совершенным инструментом.

Система прогнозирования опирается на анализ SNP (однонуклеоидных полиморфизмов): 36 SNP — для тона кожи; 6 SNP — для цвета глаз и 22 SNP - для цвета волос. То есть, программа может выделить 5 разных оттенков кожи, 3 разных цвета глаз и 4 разных оттенка волос. Программа может сделать анализ даже неполных или нечетких следов ДНК. Для анализа необходимо 63 пикограмм генетического материала.

Точность прогноза зависит от генетических особенностей. Например, точность прогноза для темных оттенков кожи составляет 97%, а для светлых и белокожих - только 74%. Такие же нюансы есть и при прогнозе разных оттенков глаз и волос.

Команда ученых уже работала с полицией штата Индиана по некоторым нераскрытым преступлениям. Программа «HIrisPlex-S» доступна и бесплатна для всех экспертов по всему миру. «Я очень хочу, чтобы следователи, эксперты, полиция увидели, как это работает», - заявила Уолш. - «Провести анализ можно самостоятельно по всем тем делам, которые кажутся неразрешимыми, или в которых следствие застряло.»

Уолш скептически относится к разработкам программ по реконструкции лица, которые выполняют частные компании для правоохранительных органов. Она считает, что невозможно прогнозировать черты лица, это не основано на генетике. В отличие от пигмента кожи, глаз и волос.

# Контрольные вопросы:

* 1. Анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в судебной медицине.
  2. Прогнозирование физических характеристик человека на основе SNP анализа.

*Литература:*

1. Херрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. – М.: 2013.–540 с.

2. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебник для ВУЗов. Н.: Изд-во Новосибирского университета, 2012.

3. Макконки Э. Геном человека. - Москва, Техносфера, 2014.- 287 с.

**Лекция 15**

**Этические аспекты проведения судебно-медицинских исследований.**

*Цель занятия:* ознакомление с этическими аспектами, лежащими в основе проведения судебно-медицинских исследований.

Термин «этика» был впервые предложен Аристотелем, который под ним понимал науку о человеческой морали. Врачебная этика представляет собой совокупность принципов регулирования и норм поведения врачей, обусловленных спецификой их деятельности, положением и той ролью, которая отводится им в обществе.

Расследование преступлений тесно связано с проведением судебно-медицинской экспертизы, в большей мере касающейся живого человека по разным поводам. Сюда, прежде всего, следует отнести определение вреда здоровью и решение сопутствующих вопросов: (давность нанесения, орудие травматизации, механизм нанесения и пр.); определение размеров стойкой утраты общей и профессиональной трудоспособности; определение состояния здоровья, искусственных болезней, симуляции и аггравации; экспертизу при изнасиловании, развратных половых действиях, насильственных действиях сексуального характера; заражение венерической болезнью, СПИДом; определение некоторых половых состояний (истинного пола, производительной способности, беременности, бывших родов, аборта и пр.); определение возраста, тождества личности и другие вопросы, возникающие в процессе расследования или судебного разбирательства.

*Судебно-медицинский эксперт*, который проводит экспертизу, – это прежде всего врач, поэтому соблюдение всех принципов и требований медицинской деонтологии является для него обязательным. Вместе с тем специфика профессиональной деятельности судебно-медицинских экспертов определяет ряд особенностей *деонтологии*, присущих этой специальности.

Термин «деонтология» – греческого происхождения, где «деон» означает должное и «логос» – учение. Этот термин был предложен английским философом И. Бентамом в ХIХ в. как наименование науки о профессиональном поведении человека. Врачебная деонтология в широком смысле – это учение о поведении, взаимоотношениях и действиях врача, которые необходимы для сохранности психики больного, его близких и окружающих, правильной организации лечебного процесса, полного использования всех возможностей при оказании помощи больному. Положение врачебной деонтологии (нормы, запреты, критерии, оценки) предписываются врачу в императивном порядке.

Амбулаторный прием, и особенно беседа с пострадавшим, требует тщательного соблюдения следующих норм медицинской этики: чуткость, внимательность и тактичность по отношению к любому лицу, независимо от существа дела. При беседе пациента с врачом важную роль играет и материальное окружение: мебель, освещение, оформление кабинета, внешний вид врача. Экстравагантная с обилием украшений или неряшливая одежда вызывает реакцию отчуждения у пациента. Не вызывает доверия у пациента или его близких врач, который во время беседы с ним постоянно пишет или говорит по телефону. Заваленный бумагами стол врача может вызвать подозрение в низкой квалификации и постоянной черновой работе, а пустой стол – наводит на мысль о безделии. Недопустимо выражать собственное отношение к личности свидетельствуемого из-за тех или иных обстоятельств получения повреждений. Освидетельствуемый уже перенес моральную и физическую травму и как человек он ожидает проявлений сострадания и понимания к себе, представляет судебно-медицинского эксперта как лицо, действующее в соответствии с законом в интересах правосудия.

Когда судебно-медицинский эксперт проводит исследование мертвого тела, то он должен помнить о том, что труп – это не только объект экспертного исследования, а в недавнем времени – живой человек, у него есть близкие, которые переживают его утрату. В связи с этим следует избегать излишнего травмирования мертвого тела, необходимо, насколько это возможно, после исследования трупа придать ему подобающий для ритуальных мероприятий вид. При общении с близкими покойного эксперт должен быть участливым и доброжелательным, избегать дополнительного психического травмирования собеседников. Им следует сообщать только необходимую объективную и достоверную информацию, которая не составляет следственной тайны.

При исследовании трупов лиц погибших в стационарах, решается вопрос об адекватности медицинской помощи, допущенных ошибках при проведении медицинских манипуляций, своевременности диагностики и лечебных процедур, полноты лечения. В случаях, когда идет речь о врачебных ошибках или дефектах медицинской помощи, эксперт не может высказывать свое суждение о правильности или дефектности врачебной помощи - это решается коллегиально экспертами и врачами-специалистами высокой квалификации.

При проведении такого рода исследования судебно-медицинский эксперт разрабатывает комплекс вопросов, связанных с законодательными проблемами регламентации прав, обязанностей и ответственности медицинских работников в процессе выполнения ими профессиональных обязанностей.

Почти каждое заключение эксперта, являющееся доказательством в уголовных и гражданских делах, влечет за собой важные социальные последствия, что накладывает на него высокую профессиональную и моральную ответственность.

# Контрольные вопросы:

* 1. Судебно-медицинский эксперт. Принципы и требования к судебно-медицинскому эксперту.
  2. Этика и деонтология. Положение врачебной деонтологии.

*Литература:*

1. Херрингтон С., Макги Дж. Молекулярная клиническая диагностика. Методы. – М.: 2013.–540 с.

2. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Учебник для ВУЗов. Н.: Изд-во Новосибирского университета, 2012.

3. Макконки Э. Геном человека. - Москва, Техносфера, 2014.- 287 с.