

УДК 340.6:616-076:577.2

Ю.Ю. Куслій, експерт Науково-дослідного експертно-криміналістичного центру при УМВС України у Вінницькій області

ТІЛЬЦЕ БАРРА ТА МОЛЕКУЛА ДНК — НАЙКРАЩА ЗБРОЯ ПРИ РОЗКРИТТІ ТА РОЗСЛІДУВАННІ ЗЛОЧИНІВ НА СТАТЕВОМУ ҐРУНТІ

Висвітлено роль комплексного дослідження слідів біологічного походження за допомогою цитологічних і молекулярно-генетичних методів дослідження у розкритті злочинів на статевому ґрунті.

Ключові слова: цитологічне дослідження, молекулярно-генетичне дослідження, тільце Барра, ампліфікація.

Освещена роль комплексного исследования следов биологического происхождения с помощью цитологических и молекулярно-генетических методов исследования в раскрытии преступлений на половой почве.

The article is devoted to the role of complex research traces of biological origin using cytological and molecular genetic methods in solving crimes on sexual grounds.

Злочини проти статевої свободи завжди становили велику суспільну небезпеку, характеризувалися аморальністю та цинічністю дій винних. Здебільшого вони пов'язані з посяганням на статеву свободу особи або її статеву недоторканість, грубим приниженням гідності потерпілих від злочину осіб, заподіянням їй глибокої психічної травми, а також серйозної шкоди здоров'ю. З огляду на надзвичайну небезпечність таких злочинів особливого значення набуває їх розкриття та розслідування.

Насамперед це стосується початкового етапу розслідування, а саме огляду місця події з метою пошуку слідів злочину (дій злочинця), з'ясування обставин його вчинення та інших обставин, які мають певне значення для його розкриття. Об'єкти зі слідами злочину поділяють на предмети, речовини (сипкі, рідкі, газоподібні, мазеподібні), мікрооб'єкти та об'єкти біологічного походження (кров, слина, піт, сперма, волосся, кістки, органи та тканини людського організму). Одну з основних ролей у розкритті злочинів на статевому підґрунті відіграють саме сліди біологічного походження, оскільки завдяки їм можна доволі точно ідентифікувати особу, причетну до вчинення злочину. Характерними особливостями об'єктів біологічного походження є те, що вони, як правило, є менш помітними порівняно з іншими слідами і з часом змінюють свої властивості. А отже, їх пошук і закріплення потребують спеціальних знань, а також використання спеціальних технічних засобів.

Після виявлення та фотофіксації слідової інформації об'єкти біологічного походження вилучають з дотриманням таких вимог:

- усі маніпуляції проводять тільки в стерильних гумових рукавичках, попередньо оброблених антисептичним засобом;
- під час роботи з мікрооб'єктами використовують скальпель, пінцет, ножиці тощо;
- після закінчення роботи з кожним об'єктом інструмент стерилізують;
- усі вилучені об'єкти перед упакуванням висушують при кімнатній температурі [1].

Дослідження слідів біологічного походження проводять у лабораторних умовах, застосовуючи імунологічні, цитологічні та молекулярно-генетичні методи.

Як свідчить експертна практика, особливу увагу під час розкриття злочинів на статевому ґрунті слід приділяти комплексному цитологічному та молекулярно-генетичному дослідженню слідів біологічного походження.

Цитологічні методи дослідження базуються на вивченні за допомогою мікроскопа особливостей будови клітин, клітинного складу органів тканин, рідин організму людини. За допомогою цитологічного аналізу оцінюють стан епітелію, мезотелію, ступінь його проліферації та належність до певних тканин органів.

Молекулярно-генетична ідентифікація є принципово новим науковим знанням, що відкриває надійні перспективи вирішення ідентифікаційних завдань у кримінальному процесі та розвитку доказової бази і має низку переваг перед традиційними серологічними методами дослідження біологічних слідів людини.

Як відомо, під час проведення судово-медичної експертизи питання щодо встановлення походження біологічного матеріалу від певної особи часто виявлялося складним і практично не вирішувалося. Адже традиційні методи дослідження слідів біологічного походження можуть встановлювати не тотожність (ідентичність), а лише відносну можливість походження цих слідів від певної особи з незначним ступенем імовірності. Водночас можливості нового методу молекулярної генетики (методу аналізу поліморфних ділянок геному людини) дають змогу ідентифікувати певну особу за слідами, залишеними нею на місці події.

Принцип методу базується на виділенні з біологічного матеріалу людини та очищенні ядерної ДНК і подальшому аналізі визначених ділянок (локусів) молекули ДНК. При вивченні поліморфізму, як правило, аналізують визначені STR-локуси [2], що займають певне положення в геномі, успадковуються за законами Менделя, мають у популяції велику кількість алелей (ознак), які відрізняються одна від одної числом елементів, що повторюються (повторів). Кожна з досліджуваних ознак має групову належність, проте у сукупності вони дозволяють індивідуалізувати об'єкт.

Таким чином, метод ДНК-аналізу дозволяє встановити:

- належність слідів біологічного походження певній особі з високим ступенем імовірності;
- наявність біологічних слідів кожного з учасників події у випадку, коли сліди утворено шляхом змішування;
- біологічне батьківство (у випадку спірного батьківства (материнства), дітовбивства, крадіжки, підміни дітей).

Яскравим прикладом важливого значення комплексного цитологічного та молекулярно-генетичного дослідження об'єктів біологічного походження під час

розкриття злочину проти статевої свободи є експертиза, яку проводили в Науково-дослідному експертно-криміналістичному центрі при УМВС України у Вінницькій області. Досудове розслідування встановило, що група осіб чоловічої статі із застосуванням насильства, природнім і неприроднім шляхом зґвалтували особу жіночої статі. Свою причетність до цього злочину вони заперечували. На експертизу було надано біологічні зразки крові підозрюваних і потерпілої, а також спідню білизну одного з підозрюваних. На вирішення експертизи виносили питання щодо причетності підозрюваних до вчинення цього злочину.

Під час цитологічного дослідження було зроблено вирізки з плями речовини сірого кольору на внутрішній поверхні спідньої білизни одного з підозрюваних [3; 4]. Вирізку поміщали в пробірку, заливали бідистильованою деіонізованою водою з невеликим надлишком та екстрагували в побутовому холодильнику при температурі +4 °С упродовж доби, потім центрифугували 5 хв. при 1500 об/хв. Осад залишали для приготування препарату та виділення ДНК. Частину осаду переносили на знежирене предметне скельце у вигляді краплі, яку висушували при кімнатній температурі. Препарат фіксували етанолом упродовж 10 хв, фарбували фарбою Романовського-Гімзи упродовж 20 хв, промивали проточною водою та висушували [5]. Пофарбований препарат вивчали за допомогою мікроскопа «Primo Star ZEISS» з використанням окулярів 10х, об'єктива 100х з масляною імерсією.

За допомогою мікроскопа у препараті на фоні незначної кількості сторонніх домішок було виявлено фрагмент багатoshарового плоского незроговілого епітелію із зернистою цитоплазмою та гіперхромними ядрами; у власній пластинці спостерігали численні фібробласти. У нижній частині конгломерату виявлено просвіт кінцевого відділу вивідної протоки слинної залози, вистелений секреторними клітинами конічної форми — серицитами, що мають вузьку апікальну частину, яка виступає у просвіт залози; базальна частина клітин більш широка і містить ядро. Це може вказувати на те, що епітелій походить зі слизової оболонки ротової порожнини (рис. 1).

Було також виявлено клітину із сегментованим ядром, яке містило три сегменти, з'єднані між собою тонкими перемичками — сегментоядерний нейтрофіл, на одному з ядер якого був виріст у вигляді «барабанної палички» (статевий хроматин) — тільки Барра (рис. 2).

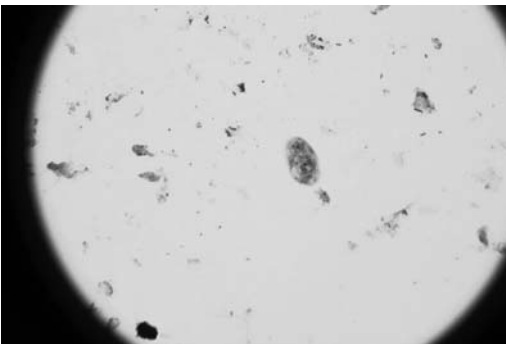


Рис 1. Фрагмент слизової оболонки ротової порожнини

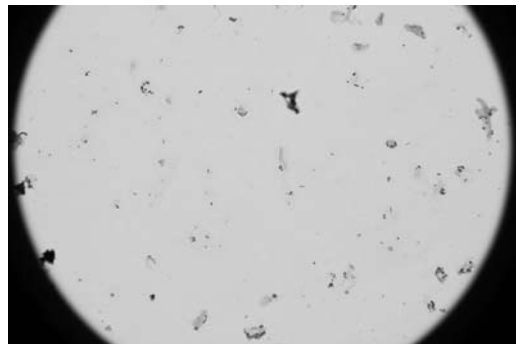


Рис 2. Сегментоядерний нейтрофіл з тількием Барра

Тільце Барра — скупчення гетерохроматину, що відповідає одній X-хромосомі в осіб жіночої статі, яка в інтерфазі щільно скручена і неактивна. Локалізація статевого хроматину всередині ядра відносно постійна для клітин певного типу тканин. У більшості клітин він знаходиться в каріолемі, а в гранулоцитах крові (як у цьому випадку) має вигляд маленької додаткової дольки ядра («барабанної палички»). Виявлення тільця Барра (зазвичай в епітелії клітин слизової оболонки ротової порожнини) використовують як діагностичний тест для визначення генетичної статі. Звичайна жінка має тільки одне тільце Барра в соматичній клітині, тоді як звичайний чоловік не має.

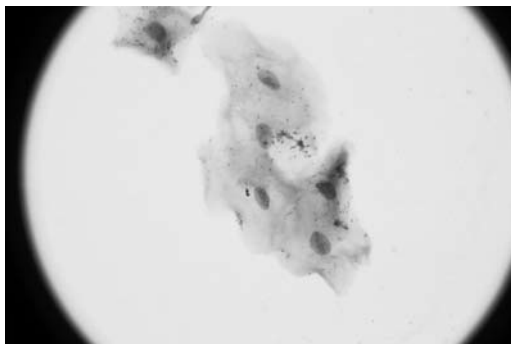


Рис 3. Багат шаровий плоский незроговілий епітелій

Крім того, у препараті на фоні мікробної флори було виявлено фрагмент багат шарового плоского незроговілого епітелію з гіперхромними ядрами (рис. 3).

Отже, за результатами цитологічного дослідження можна дійти попереднього висновку про наявність на спідній білизні підозрюваного епітелію слизової оболонки ротової порожнини, який належить особі жіночої статі.

На першому етапі молекулярно-генетичного дослідження було виділено

ядерну ДНК з осаду об'єкта, що залишився після проведення цитологічного дослідження (при цьому завдяки лізису клітинної мембрани та ядерної оболонки клітини хроматин з клітини переходить у розчин) [6]. З огляду на недостатню кількість виділеної ядерної ДНК після виділення для подальшої детекції та ідентифікації копії ДНК було збільшено у мільйони разів за рахунок реакції ампліфікації (що лежить в основі полімеразної ланцюгової реакції) з використанням стандартного набору реактивів для ідентифікації «Identifiler» виробництва фірми «Applied Biosystems» за локусами D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1P0, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA та Amelogenin [7; 8]. Після цього було проведено розділення та детекцію ампліфікованих фрагментів з використанням автоматичного генного аналізатора, в основі роботи якого лежить метод електрофорезу [9].

Отримані результати комплексного цитологічного та молекулярно-генетичного дослідження дозволили встановити, що генетичні ознаки фрагментів епітеліальних тканин на спідній білизні одного з підозрюваних є змішаними та містять генетичні ознаки зразків крові підозрюваного та потерпілої.

Таким чином, комплексне цитологічне та молекулярно-генетичне дослідження дає змогу максимально ефективно отримати ДНК-профіль з малої кількості біологічного матеріалу, який є у мікрослідах і нашаруваннях на об'єктах дослідження.

Список використаної літератури

1. Дяченко Н.М. Вилучення та сучасні можливості криміналістичного дослідження об'єктів біологічного походження : метод. реком. / Н.М. Дяченко, С.М. Гурін. — К. : РВВ МВС України, 2000. — 24 с.

2. *Ольховець С.О.* Дослідження розподілу частот алелів STR-локусів у змішаній популяції України : метод. реком. / С.О. Ольховець. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2009. — 12 с.
3. *Виноградов И.В.* Судебная медицина : учеб. / И.В. Виноградов, В.В. Томилин. — М. : Юрид. л-ра, 1991. — 240 с.
4. *Геньбом Р.Г.* Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств / Р.Г. Геньбом, Н.П. Корнеева-Асадчих. — М. : МЗО СССР, 1972. — 205 с.
5. *Туманов А.К.* Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств / А.К. Туманов. — М. : Юрид. л-ра, 1961. — 579 с.
6. *Методика виділення ДНК з кісток та іншого біоматеріалу за допомогою реагентів PrepFiler* / [уклад. О.А. Костильова, А.С. Повх]. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2013. — 14 с.
7. *Дяченко Н.М.* Дослідження ДНК з об'єктів біологічного походження методом полімеразної ланцюгової реакції : метод. реком. / Дяченко Н.М., Ольховець С.О., Лагус В.І. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2003. — 39 с.
8. *Инструкция Amp FISTR Identifiler.* Набор для ПЦР-амплификации. Руководство пользователя. — Applied Biosystems, 2005. — 188 с.
9. *Getting Started Guid.* Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer. — USA, 2007. — Part Nuber 4352715 Rev. — 170 p.