

*Тема 4: «Криміналістичний  
аналіз ДНК»*

курс «Криміналістична експертиза»  
Кафедра хімії

## Що таке ДНК?

Абревіатура ДНК розшифровується як дезоксирибонуклеїнова кислота.

ДНК містить генетичну інформацію.

ДНК кодує білки, які містять наші тіла, що необхідно для виживання. Таким чином, ДНК є кодом для виробництва білків.

ДНК також визначає скільки білків виробляє кожна клітина.

Порядок амінокислот визначає, який тип білка виготовлений.

**Деякі загальні білки:**

- гемоглобін – переносить кисень від легенів до клітин;
- інсулін – регулює обмін речовин;
- багато типів ферментів – каталізують реакції в організмі, наприклад, розщеплення цукру на енергію.

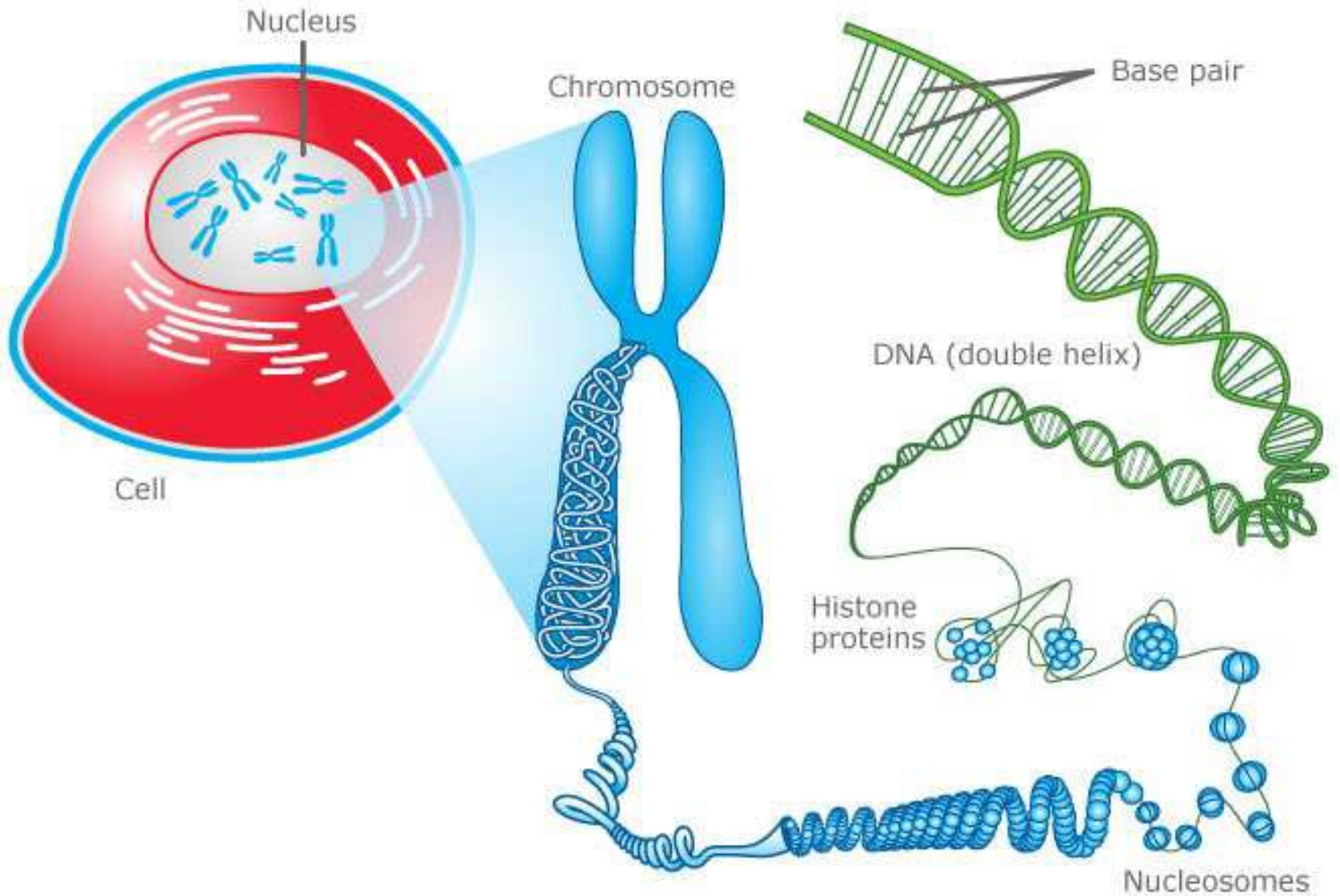
Коли клітини людини присутні в біологічних доказах, їх хромосоми можуть бути вивчені з метою визначення чи є докази чоловічої чи жіночої статі.

Аналіз хромосом відомий як **каріотипування**.

**ДНК-дактилоскопія**, також відома як профілювання ДНК, використовується у кримінальних та юридичних справах для визначення особи чи батьківства, для простеження історії генетичних порушень, визначення походження біологічних слідів (крові, слини тощо) у зразку та визначення жертв війни та масштабних катастроф, таких як авіакатастрофи, цунамі та урагани.

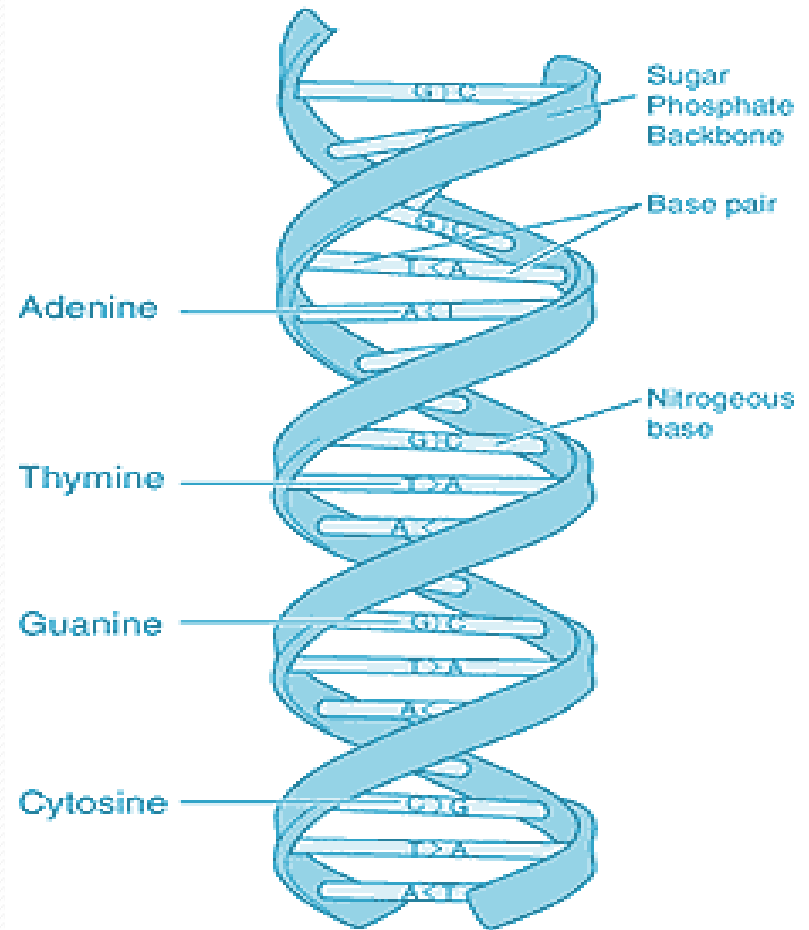
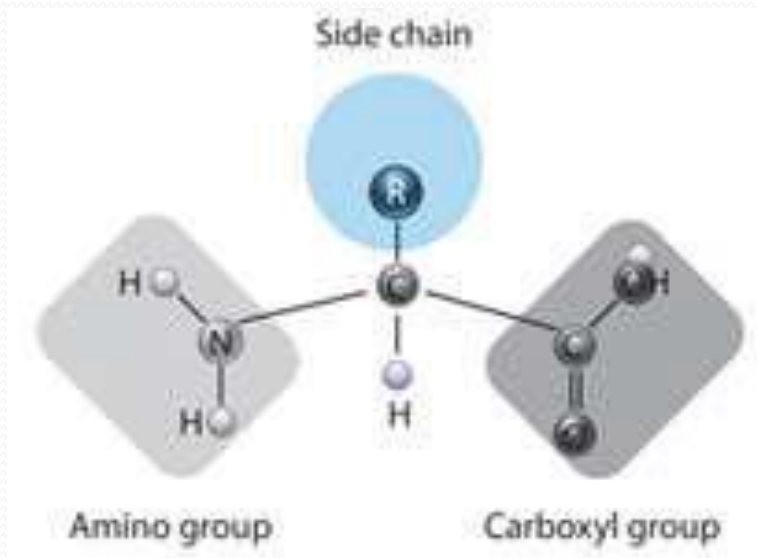
Серед 3 мільярдів основ у ДНК людини, 99% ДНК ідентичні серед людей, а 1% містить значні варіації.

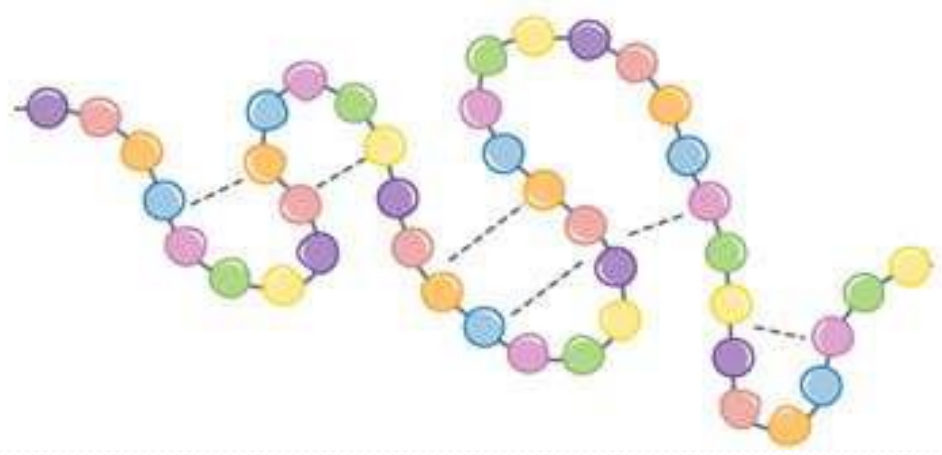
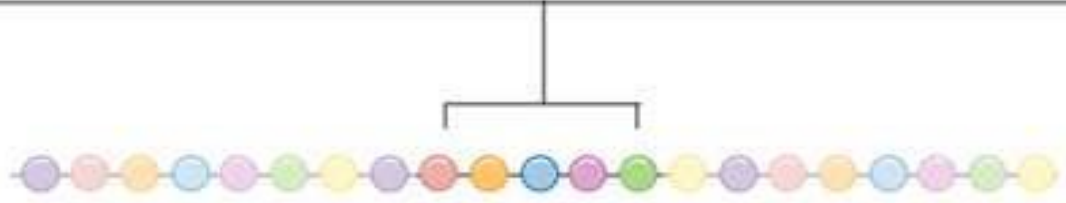
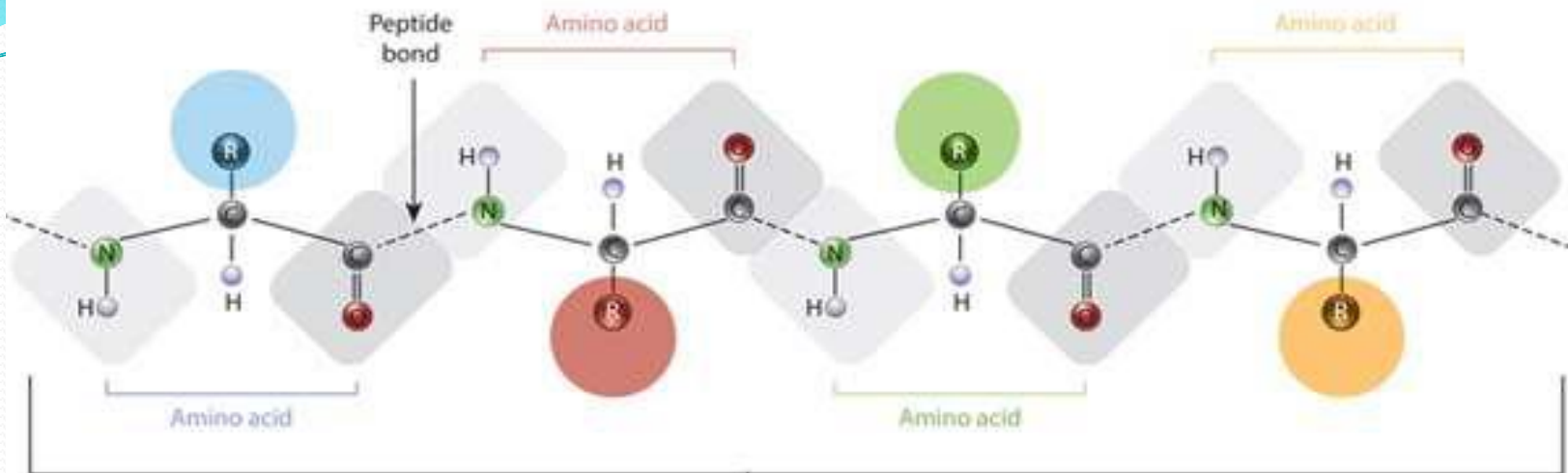
**ДНК-профіль** кожної людини унікальний, окрім однойцевих близнюків.



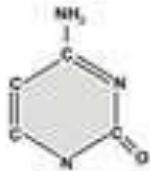
# Структура ДНК

Подвійна спіраль у вигляді «кручених сходів». Сходи ДНК складаються з будівельних блоків, які називаються нуклеотидами. Два ланцюги ДНК є антипаралельними. Дві нитки тримаються разом за допомогою водневих зв'язків, що утворюються між додатковими основами.

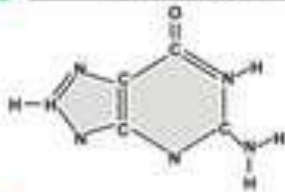




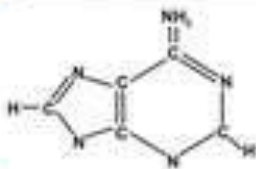
**Cytosine**



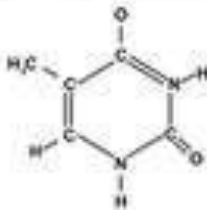
**Guanine**



**Adenine**

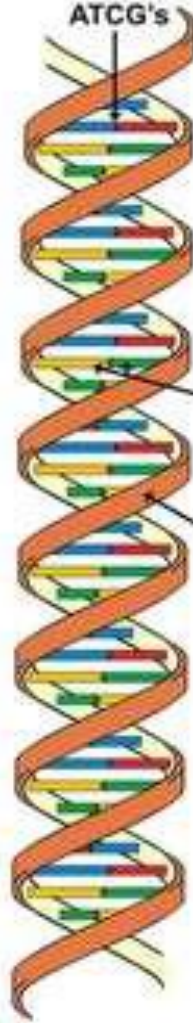


**Thymine**



Nitrogenous  
Bases

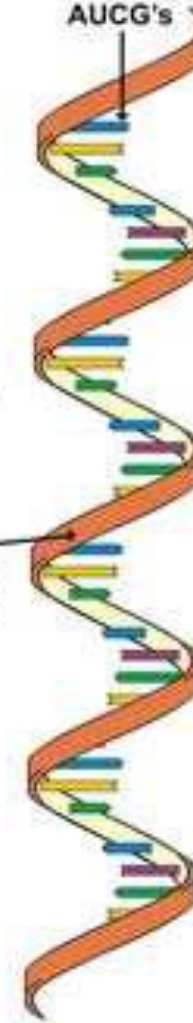
ATCG's



**DNA**

Deoxyribonucleic Acid

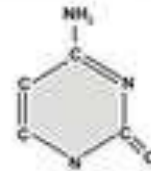
AUCG's



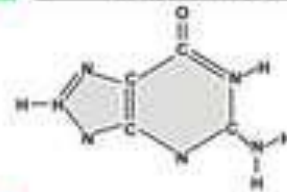
**RNA**

Ribonucleic Acid

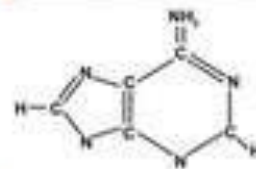
**Cytosine**



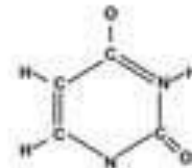
**Guanine**



**Adenine**

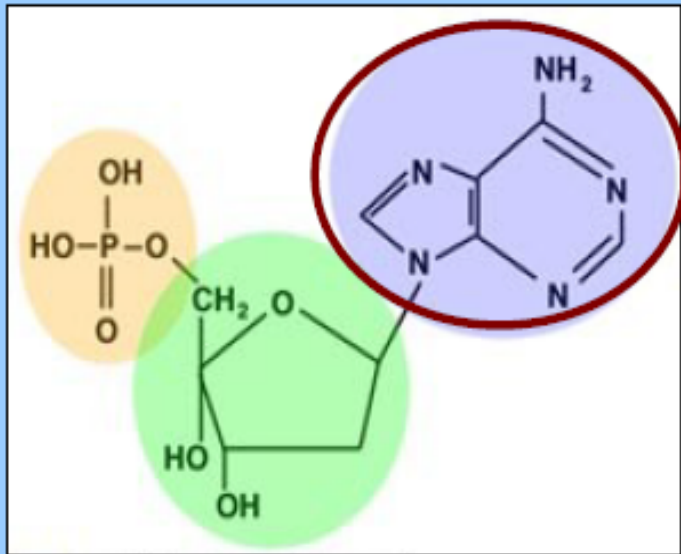


**Uracil**

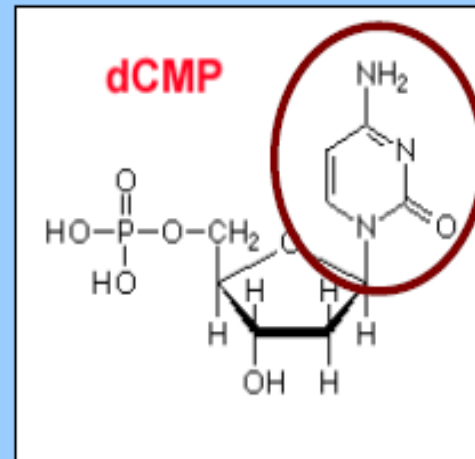


Replaces Thymine in RNA

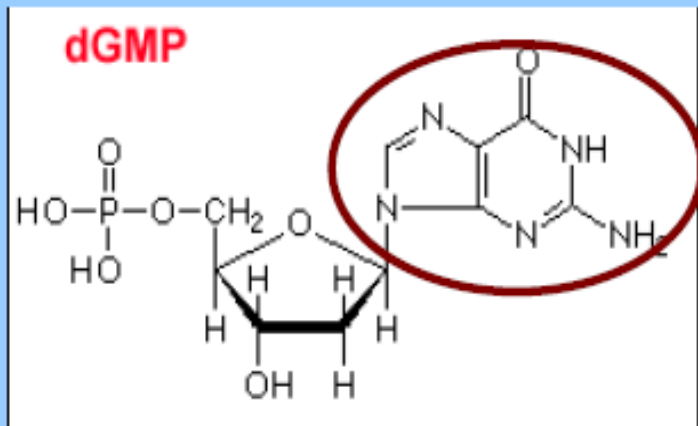
Nitrogenous  
Bases



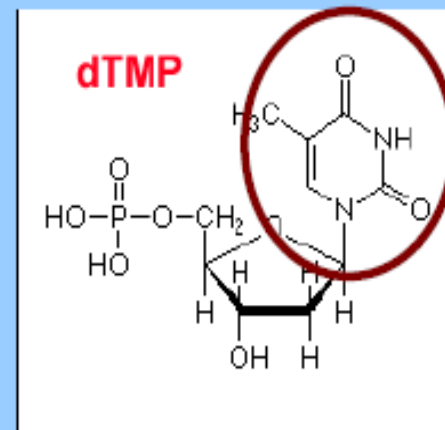
**A**  
Adenine



**C**  
Cytosine



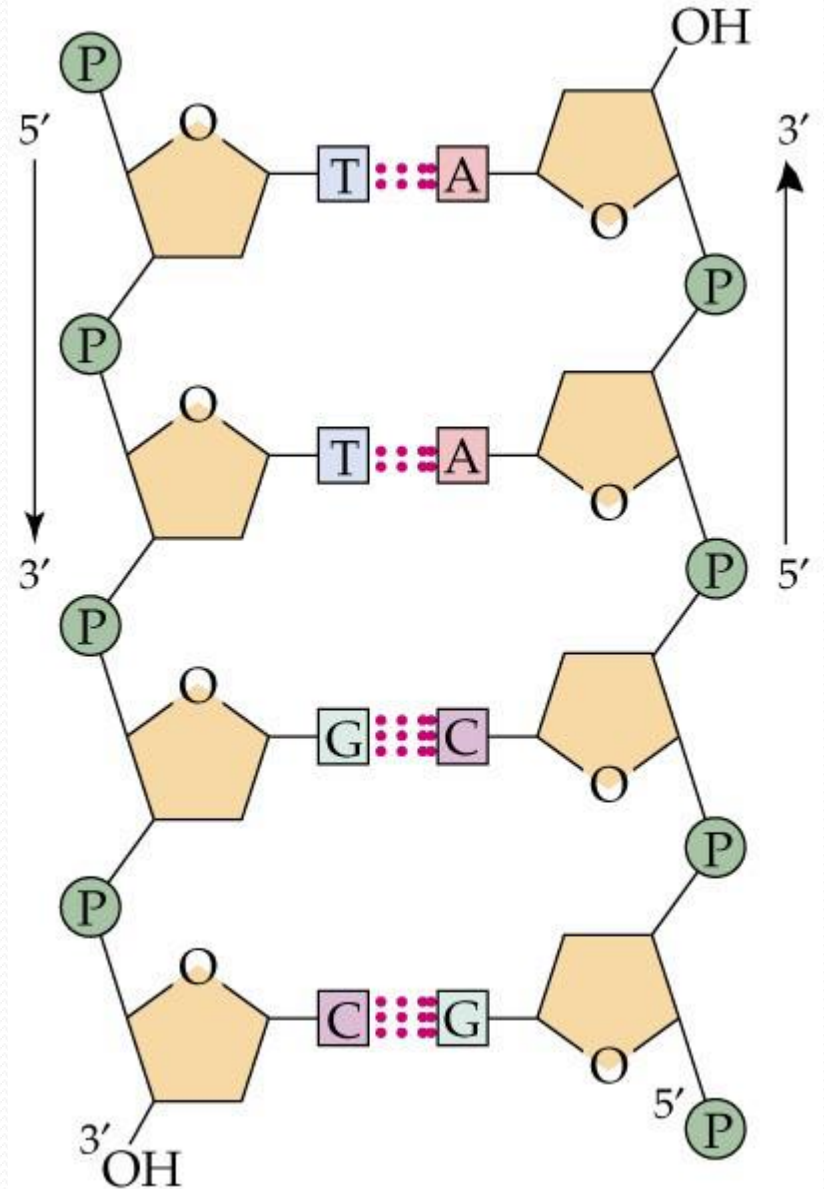
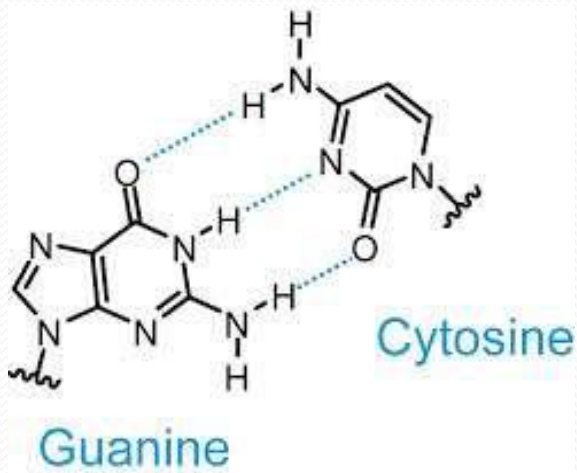
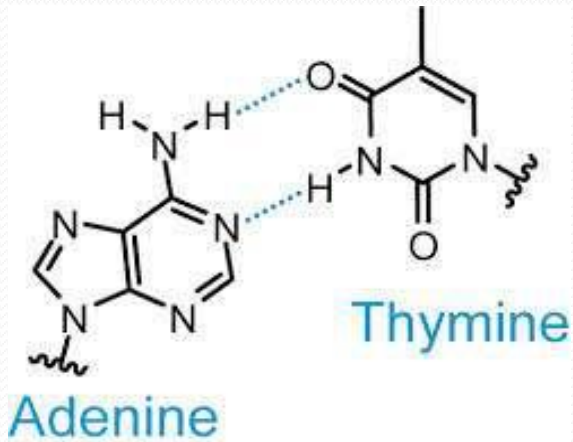
**G**  
Guanine



**T**  
Thymine



# Основи спаруються для формування сходинок



# Криміналістичний аналіз ДНК

## Збір доказів:

### *Типи невідомих зразків:*

кров, плями, слина, волосся, тканини, кістки, зуби тощо.

### *Типи відомих зразків:*

мазки крові / щік від підозрюваного / жертви / іншої відомої особи.

## Уникнення забруднення доказів ДНК:

- Використовуйте одноразові рукавички та одноразові інструменти для обробки кожного зразка.
- Не торкайтесь області, де, на вашу думку, може існувати ДНК.
- Уникайте розмов, чхання та кашлю над доказами.
- Не торкайтесь свого обличчя, носа та рота під час збору та пакування доказів.
- Перед упаковкою ретельно висушіть докази на повітрі, оскільки волога руйнує ДНК.
- Якщо вологі докази неможливо висушити, вони можуть бути заморожені.
- Покладіть докази в нові паперові пакети або конверти.
- Зберігайте зразки при кімнатній температурі та на сонці.

# Етапи обробки зразків, які отримані з місця злочину (або розслідування батьківства)

## Біологічні кроки:

1. Виділення ДНК.
2. Кількісне визначення ДНК.
3. ПЛР-ампліфікація декількох маркерів.

## Технологічні кроки:

1. Поділ та виявлення ПЛР-продуктів.
2. Аналіз генотипного зразка.

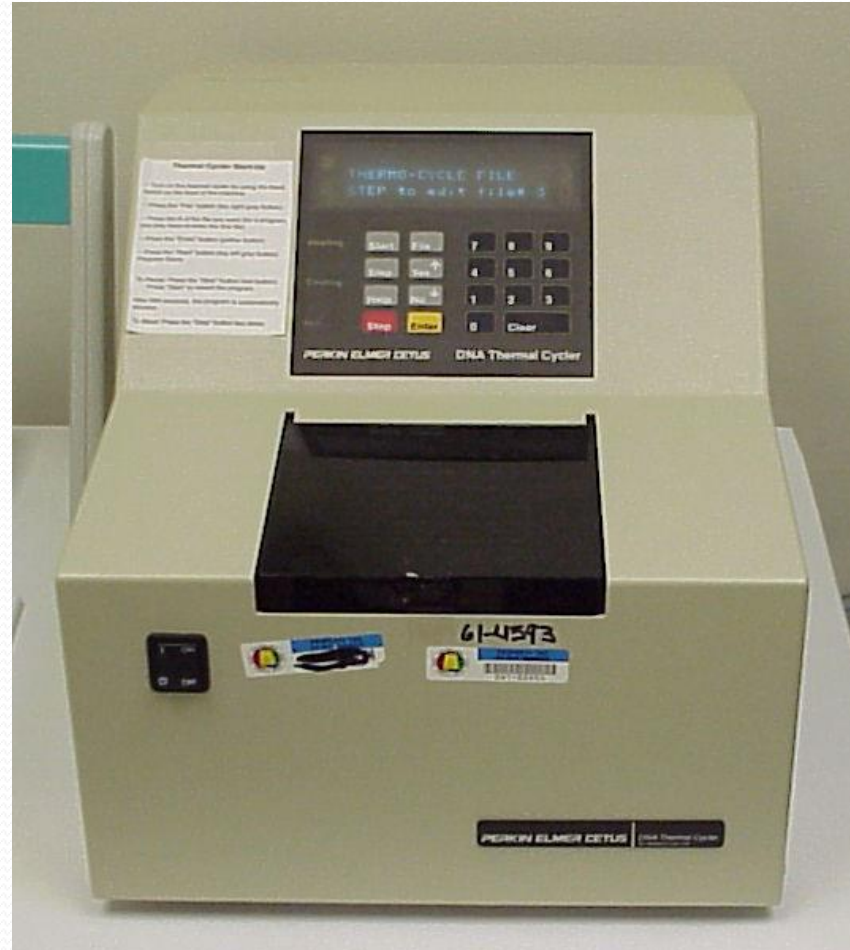
## Генетичні кроки:

1. Результати порівняння генотипного зразка з іншими зразками.
2. Якщо відбувається збіг, то порівняння бази даних ДНК-профілю з популяцією.
3. Формування доказового звіту з випадковою ймовірністю.

# ПЛР-ковпак



# Термальний цикл



Ампліфікує (збільшує) ДНК

# FMBio



**Відокремлює ампліфіковану ДНК**

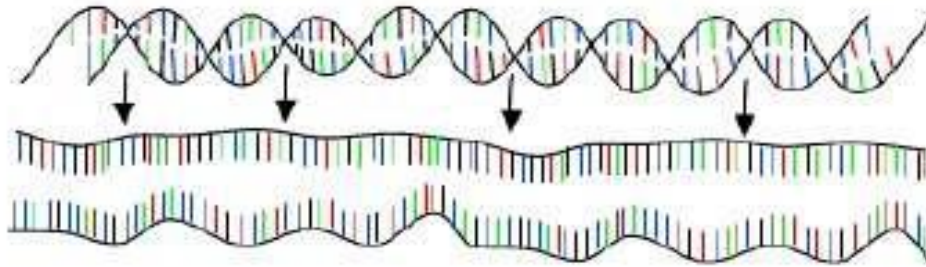
## Полімеразна ланцюгова реакція

Коли обсяг доказів, який залишено на місці злочину є дуже малим, то це вважається слідами доказів. Застосувавши техніку полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) можна генерувати декілька однакових копій з кількості сліду вихідної ДНК. Це дає можливість криміналістам зробити мільярди копій ДНК від невеликої кількості ДНК всього за кілька годин.



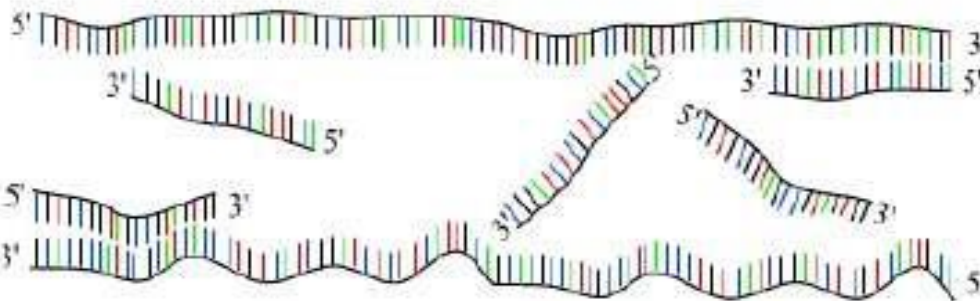
# PCR : Polymerase Chain Reaction

30 - 40 cycles of 3 steps :



**Step 1 : denaturation**

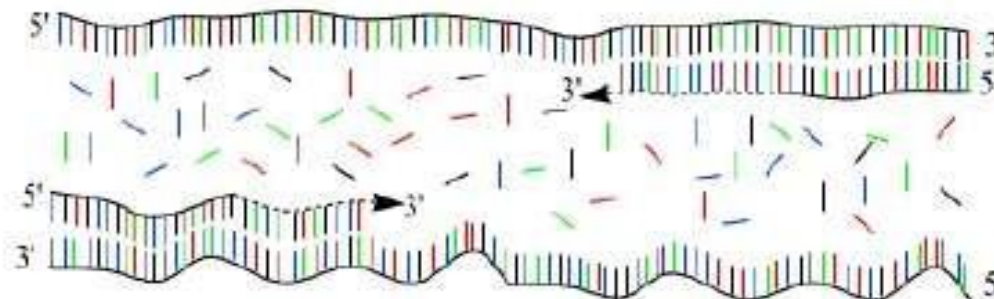
1 minut 94 °C



**Step 2 : annealing**

45 seconds 54 °C

forward and reverse  
primers !!!

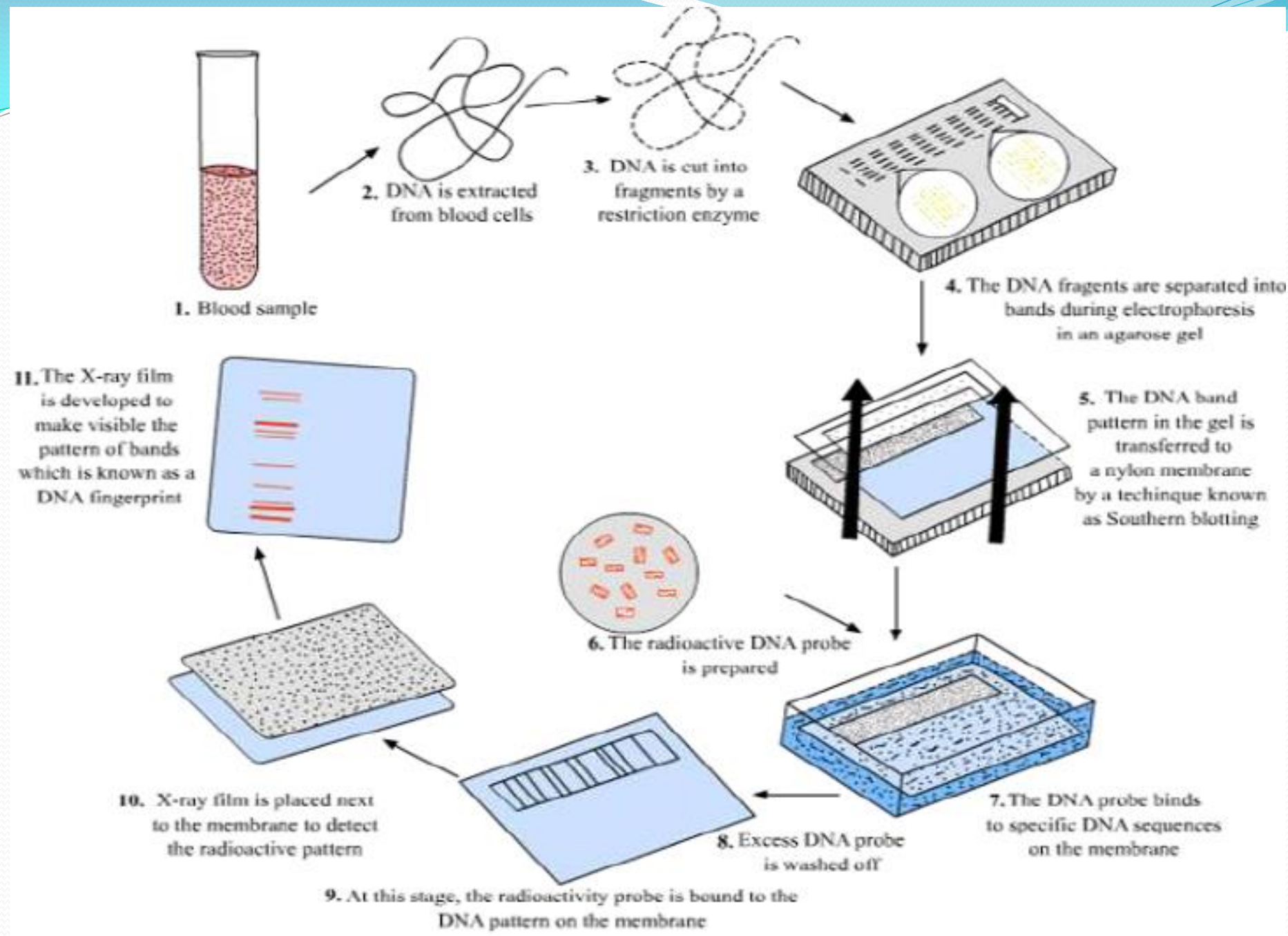


**Step 3 : extension**

2 minutes 72 °C  
only dNTP's

## Етапи ДНК-дактилоскопії

- **Екстракція:** ДНК витягується з клітин або тканин тіла.
- **Фрагменти звуження:** ДНК скорочується рестрикційними ферментами. Рестрикційні ферменти розпізнають унікальний зразок основ ДНК (місця звуження) і скорочують ДНК в цьому конкретному місці. Рестрикційні фрагменти різної довжини утворюються, коли ДНК скорочується.
- **Ампліфікація:** конкретно вибрані фрагменти ДНК ампліфікуються (збільшуються) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції.
- **Електрофорез:** ДНК завантажується в лунки, розміщені в агарозному гелі. Коли електричний струм проходить через гель, негативно заряджені фрагменти ДНК (шматочки ДНК) мігрують до позитивного кінця гелю. Фрагменти ДНК розділені за розмірами, при цьому найменші фрагменти ДНК рухаються найшвидше через гель.
- **Перенесення** ДНК на нейлоновий лист, замочений на ніч.
- **Випробування** проводиться додаванням радіоактивних або кольорових проб до капронового листа до утворення зразка, який називається відбитком ДНК.
- **ДНК-відбиток** будується за допомогою кількох проб (5-10) одночасно.



## ДНК-профілювання

### *Поліморфізм довжини рестрикційного фрагмента* **Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)**

- З метою вивчення структури ДНК, молекули розпадаються на менші фрагменти за допомогою ферментів, які називаються **рестрикційними ферментами**.
- Рестрикційні ферменти не розкладають молекулу ДНК випадково, а "скорочують" її на певних ділянках утворення фрагментів.
- Рестрикційні ферменти скорочують ДНК в різних місцях і так утворюють фрагменти, які легше аналізувати на основі їх довжини.
- Поліморфізм означає багато форм.

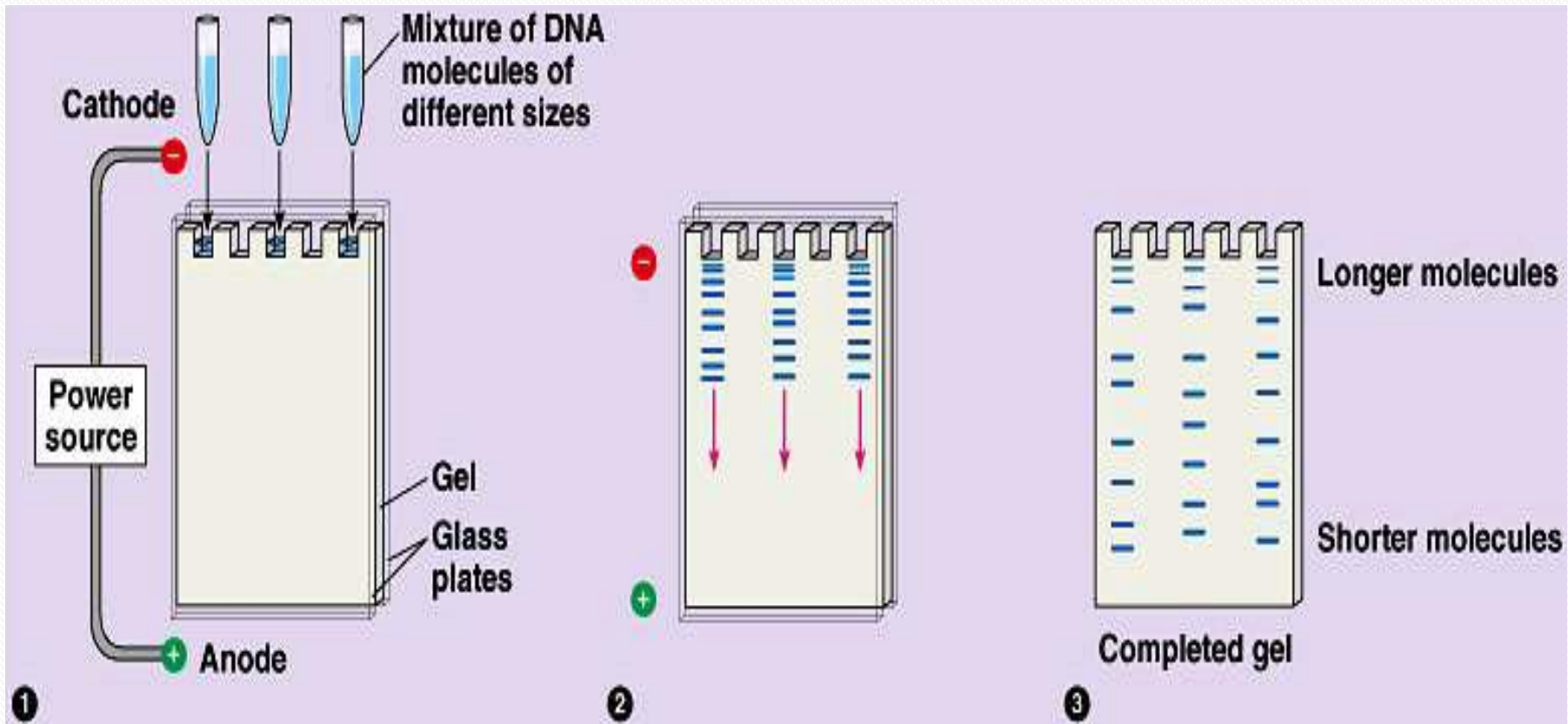
# Короткий тандемний повтор

## Short Tandem Repeat (STR)

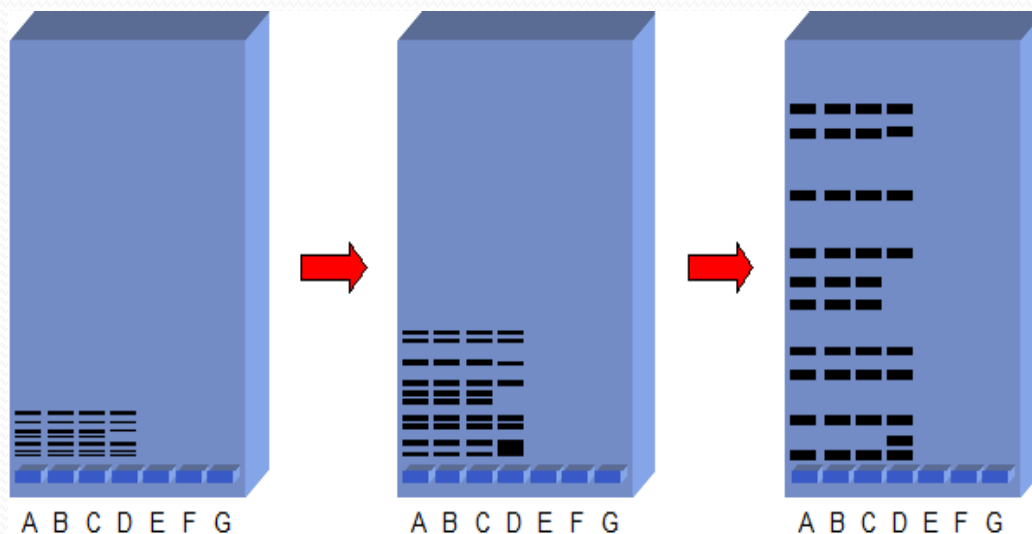
- STR-технологія використовується для оцінки конкретних місць (локацій) в межах ядра ДНК. Варіабельність у STR-місцях може використовуватися для відокремлення одного профілю ДНК від іншого.
- **Короткий**, оскільки зазвичай 1-4 нуклеотиди в довжині.
- **Тандем**, оскільки вони трапляються один після іншого.
- **Повтор**, оскільки вони є повторами однієї послідовності ДНК.

## RFLP-електрофорез

- **Електрофорез** – це метод поділу, який заснований на рухливості іонів у електричному полі. Позитивно заряджені іони мігрують у бік негативного електрода і негативно заряджені іони мігрують у бік позитивного електрода.
- Електрофорез став можливим завдяки відкриттю, що фрагменти нуклеотидів можуть бути розділені переміщенням їх через пористий матеріал (агарозу) всередині електричного поля, а смуги ДНК повинні бути забарвлені, щоб зробити їх видимими. Забарвлена етідій бромідом ДНК флуоресцирує при освітленні ультрафіолетовим світлом.



- Найменші фрагменти рухатимуться найшвидше, оскільки вони здатні рухатися швидше через пори в желатині. Смуги будуть вироблятися на желатині, де накопичуються уламки. Найкоротші фрагменти накопичуватимуться біля одного кінця желатину і довші, що рухаються повільніше, залишаться біля іншого кінця.
- На діаграмі нижче чотири зразки ДНК поміщали на желатин. Після певного періоду подавали електричний струм, фрагменти розділялися. Зверніть увагу, що зразок D праворуч не відповідає іншим трьом зразкам.





## Застосування ДНК-дактилоскопії

### 1. Діагностика та розробка засобів лікування спадкових розладів:

- ДНК-дактилоскопія використовується для діагностики спадкових порушень як в пренатальному стані, так і в новонароджених дітей у лікарнях по всьому світу.
- Ці розлади можуть включати муковісцидоз, гемофілію, хворобу Хантінгтона, сімейну хворобу Альцгеймера, серповидноклітинну анемію, таласемію та багато інших.
- Раннє виявлення таких розладів дозволяє медичному персоналу і батькам підготуватися до належного ставлення до дитини.
- У деяких програмах генетичні консультанти використовують інформацію про ДНК-відбитки для допомоги майбутнім батькам (для розуміння ризику народження постраждалої дитини).
- В інших програмах майбутні батьки використовують у своїх даних інформацію про ДНК-відбитки для рішення щодо продовження вагітності.

## Застосування ДНК-дактилоскопії

### 2. Біологічні докази для встановлення злочинців:

- Там, де відбитки пальців відсутні, але біологічні зразки доступні, такі як кров, плями, волосся або предмети одягу на місці злочину, ці предмети можуть виявитися цінними джерелами ДНК злочинця.

### 3. Суперечки щодо батьківства:

- Іншим важливим використанням ДНК-відбитків у судовій системі є встановлення батьківства під вартою та судовий процес щодо аліментів на дитину. У цих застосуваннях ДНК-відбитки приносять безпрецедентну, майже ідеальну точність визначення.

### 4. Персональне посвідчення особи:

- ДНК, можливо, найкращий спосіб ідентифікувати людину, так як усі тканини та органи організму містять один і той же тип ДНК. Потрібний зразок також дуже малий.



**Дякую за увагу!**