

Сведения о ходе выполнения проекта

по теме: «Разработка системы генетических маркеров X-хромосомы для ДНК-идентификации в криминалистике и судебной медицине» в рамках реализации федеральной целевой программы "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы".

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от 17.06.2014 г. № 14.604.21.0019 с Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» на этапе № 3 в период с 01.07.2015 г. по 31.12.2015 г. выполнялись следующие работы:

1. Разработка предложений и рекомендации по внедрению разрабатываемой тест-системы в криминалистике и судебной медицине.
2. Анализ частот аллелей SNP-маркеров X-хромосомы.
3. Создание и регистрация базы данных по референтным частотам в популяциях России SNP-маркеров X-хромосомы.
4. Подача заявки на получение патента на разработанную тест-систему.
5. Разработка проекта технического задания на выполнение опытно-конструкторской работы по теме «Разработка системы генетических маркеров X-хромосомы для ДНК-идентификации в криминалистике и судебной медицине».

При этом были получены следующие результаты:

1) Разработаны предложения и рекомендации по внедрению разрабатываемой тест-системы в криминалистике и судебной медицине. Применение возможно в области криминалистики, судебной медицины, ДНК-тестирования. Внедрение разрабатываемой отечественной генетической тест-системы на основе мультиплексного генотипирования однонуклеотидных маркеров X-хромосомы человека должно обеспечить использование высокоэффективных, оптимальных по стоимости методов генетической идентификации личности. Разработанная тест-система может быть внедрена в лабораториях ДНК-диагностики и криминалистических лабораториях ЭКЦ МВД РФ и СК РФ может быть использована также в научных лабораториях в исследовательских целях (изучение генетического разнообразия популяций человека). Прикладное значение таких исследований заключается в пополнении баз данных, которые используются для расчета вероятности случайного совпадения генотипов у неродственных индивидов. Сравнение разработанной системы X-SNPid с существующими на настоящий момент аналогами

показало, что разработанная в настоящей работе панель X-сцепленных однонуклеотидных маркеров по технологичности превосходит все имеющиеся аналоги, кроме систем, базирующихся на технологии массового параллельного секвенирования (MPS), которые, на настоящий момент затратны.

Представленная в данной работе панель X-хромосомных однонуклеотидных полиморфных маркеров показала высокую информативность, как в случае индивидуальной идентификации, так и в случае тестирования на родство. Так информативность данной системы, в популяции русский при проведении ДНК-идентификации женщин, превосходит возможности аутомной системы, но эквивалента таковой при анализе мужчин.

В России формируется обширный рынок для генетического тестирования в области криминалистики и судебной медицины. Формирование этого рынка обусловлено несколькими факторами, включая: - обширный спрос на тестирование родства; - необходимость обеспечения выполнения Федерального закона Российской Федерации от 3 декабря 2008 г. N 242-ФЗ "О государственной геномной регистрации в Российской Федерации"; - наличие сети потенциальных потребителей тест-системы, включая Экспертно-криминалистические центры в регионах РФ; следственный комитет РФ; учреждения судебной медицины (судебно-медицинские экспертизы); учреждения, осуществляющие медико-генетическое консультирование, в том числе определение отцовства; частные медицинские учреждения; компании, предоставляющие услуги генетического тестирования.

Полученные результаты обладают широкими перспективами для практического использования в судебной медицине. Наиболее полезны маркеры X-хромосомы при тестировании родства, а также при непрямой молекулярно-генетической идентификации личности. Таким образом, разработанная в данном исследовании панель генетических маркеров может быть использована при опознании тел жертв военных действий, массовых катастроф, терактов, в частности, при идентификации останков военнослужащих, погибших в ходе Второй мировой войны, особенно в тех случаях, когда Y-хромосомные маркеры неинформативны. При этом именно X-SNP система маркеров является наиболее предпочтительной в случае идентификации останков большого срока давности, за счет того, что SNP маркеры более удобны в работе с деградированной ДНК.

2) В ходе выполнения работы охарактеризована генетическая структура ряда популяций Евразии по X-хромосомным SNP. На основе полученных данных выполнена

оценка идентификационной информативности исследуемых маркеров для каждой изученной популяции индивидуально.

Анализ частот аллелей показал, что для популяций, проживающих на территории Российской Федерации и ближнего зарубежья, относящихся к европеоидному расовому типу характерен спектр частот типичный для популяций Европы, к монголоидному расовому типу – типичный для популяций Восточной Азии.

Оценка ожидаемой гетерозиготности и уровня популяционной дифференциации показала снижение уровня генетического разнообразия и увеличение генетической дифференциации популяций в направлении с запада на восток. При этом 28% генетической вариабельности однонуклеотидных маркеров объясняется географическими различиями популяций. В целом, уровень популяционной дифференциации X-хромосомных маркеров превосходит таковой по аутосомным микросателлитам. Таким образом, X-маркеры являются наилучшими кандидатами для формирования идентификационной панели позволяющей определять этническую принадлежность. В работе получены данные о генетической структуре популяций Сибири, Восточной Европы и Средней Азии по ряду X-SNP маркеров. Полученные данные дополняют сведения о генофонде народов Евразии и могут быть использованы для построения генетических карт и геногеографических атласов.

На основе полученных данных о генетическом разнообразии и частотах аллелей была сформирована панель однонуклеотидных полиморфных маркеров наиболее информативных для ДНК-идентификации в российских популяциях, а также создана референсная база данных частот аллелей, что позволяет проводить расчеты частот встречаемости генотипов при идентификации личности и установлении биологического родства.

3) Разработан проект технического задания на выполнение опытно-конструкторской работы по теме «Разработка системы генетических маркеров X-хромосомы для ДНК-идентификации в криминалистике и судебной медицине». В проекте технического задания содержится информация о цели проведения ОКР, основных требованиях к выполнению ОКР, назначении и составе научно-технической продукции, требованиях к функциональным характеристикам, требования к надёжности, требования к составу и параметрам технических средств, оборудованию, реактивам и расходным материалам, необходимым для создания и применения тест-систем, требования к информационной и программной совместимости, разрабатываемой документации, условиям эксплуатации, стандартизации и унификации, а также технико-экономические

показатели. Кроме этого, охарактеризованы планируемые направления применения результата, приведены требования к патентной чистоте и патентоспособности и требования к испытаниям и порядок сдачи-приемки результатов ОКР.

4) По результатам выполнения проекта 24.12.2015г. защищена кандидатская диссертация Вагайцевой К.В. на тему “Генетическое разнообразие популяций Северной Евразии по STR и SNP маркерам X-хромосомы и их ДНК-идентификационный потенциал” по специальности 03.02.07 - генетика.

5) Зарегистрирована электронная база данных «База данных по частотам аллелей SNP маркеров X-хромосомы в популяциях Евразии». Авторы: Вагайцева Ксения Валерьевна, Харьков Владимир Николаевич, Бочарова Анна Владимировна, Чередниченко Анастасия Андреевна, Степанов Вадим Анатольевич (№ 2015Э11846 от 25.11.2015). Разработанная электронная база данных (БД) создана с целью обеспечения доступа к данным базы, внесения и хранения новых данных в едином формате, обеспечения защиты данных. БД содержит данные о генотипах и популяционных частотах аллелей по SNP маркерам X-хромосомы в различных популяциях Евразии. Эта информация необходима при расчете вероятности случайного совпадения генотипов при решении задач судебной генетики и криминалистики. Материал базы данных составлен по генотипам образцов ДНК, выделенных из лейкоцитов крови индивидов, принадлежащих к различным этническим группам населения Сибири и Средней Азии. Охарактеризованы 7 популяционных выборок проживающих на территории Российской Федерации и ближнего зарубежья: русские, сибирские татары г.Томска, ханты, хакасы, казахи, буряты, тувинцы. На настоящий момент общий объем выборки составляет 737 человек.

6) Результаты представлены в докладе на Asia Pacific Conference on Human Genetics 2015. в докладе на International Society for Applied Biological Sciences 2015, Сплит, Хорватия. (Stepanov V.A., Vagaitseva K.V., Kharkov V. Multiplex X-SNP system for forensic genetics // Ninth ISABS conference in forensic, anthropologic and medical genetics and mayo clinic lectures in individualized medicine. – Croatia, 2015. – P.86.)

7) Опубликовано статья в журнале Legal Medicine, 2015. Forensic and population genetic characteristics of 62 X-chromosome SNPs revealed by multiplex PCR and MALDI-TOF mass spectrometry genotyping in 4 North Eurasian populations.

8) Подана заявка на получение патента на разработанную тест-систему. “Тест-система для ДНК-идентификации индивида, основанная на полиморфных маркерах X-хромосомы”. Авторы: Вагайцева Ксения Валерьевна, Харьков Владимир Николаевич, Бочарова Анна Владимировна, Чередниченко Анастасия Андреевна, Степанов Вадим Анатольевич (№ 2015135714 от 24.08.2015). Настоящее изобретение относится к области биотехнологии и может быть использовано в криминалистической и судебно-медицинской идентификационной экспертизе. С целью увеличения информативности генетической экспертизы в сложных случаях, в популяциях России, предложена тест-система, основанная на маркерах X-хромосомы. Тест-система включает в себя 64 однонуклеотидных маркера, показавших высокую информативность для ДНК-идентификации в России.