

## **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 № 2 в период с 01.01.2015 г. по 30.06.2015 г. выполнялись следующие работы:

1. Разработка лабораторного регламента изготовления тест-системы для идентификации личности по ДНК маркерам X-хромосомы человека,
2. Генотипирование 7 популяционных выборок проживающих на территории России и ближнего зарубежья по панели 66 SNP-маркеров, сформированной на первом этапе,
3. Верификация данных генотипирования образцов ДНК с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии путем секвенирования анализируемых локусов ДНК X-хромосомы в контрольной группе образцов,
4. Разработка методики применения разрабатываемой тест-системы на основе SNP-маркеров X-хромосомы.

### **При этом были получены следующие результаты:**

1. Разработан лабораторный регламент изготовления тест-системы для идентификации личности по ДНК маркерам X-хромосомы человека. Лабораторный регламент основан на разработанной ранее методике проведения мультиплексной ПЦР набора SNP-маркеров X-хромосомы и методике проведения MALDI-TOF масс-спектрометрии набора SNP-маркеров X-хромосомы. Лабораторный регламент описывает работы по изготовлению тест-системы по идентификации личности по ДНК маркерам X-хромосомы, позволяющей получить комплексный генотип исследуемого образца ДНК человека по шестидесяти шести однонуклеотидным маркерам X-хромосомы. Регламент включает характеристику готового продукта, технологическую схему производства, спецификацию оборудования, характеристика сырья, вспомогательных материалов и полупродуктов, а также определяет реализацию контроля производства, безопасной эксплуатации и охраны окружающей среды.

2. Проведено генотипирование выбранных SNP-маркеров X-хромосомы в популяционных выборках населения России и сопредельных стран. По результатам работы во втором этапе были получены генотипы 665 человек, пример формируемой таблицы с генотипами представлен в таблице 6. Генотипирование популяций по 66 локусам на масс-спектрометре прошло успешно. Для всех включенных в исследование локусов получены генотипы во всех исследованных популяциях. Материалом исследования являются образцы ДНК, выделенной из лейкоцитов крови людей принадлежащих к разным этническим группам. В исследование вошли 7 популяционных выборок принадлежащих к этносам Сибири, Средней Азии и Восточной Европы. Генотипирование осуществлялось методом iPLEX-анализа полиморфизмов на масс-спектрометре «MassARRAY System» в 96 - луночном формате.

3. Выполнена верификация данных генотипирования образцов ДНК с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии путем секвенирования анализируемых локусов ДНК X-хромосомы в контрольной группе образцов. Контрольную группу составили различные образцы ДНК из популяционных выборок. Для каждого локуса были взяты несколько образцов с тремя возможными генотипами – гомозиготы по аллелю 1, гомозиготы по аллелю 2 и гетерозиготы. Верификация данных генотипирования образцов, выполненного ранее с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии оказалась полностью успешной. В итоге выполнения генотипирования образцов ДНК путем секвенирования анализируемых SNP-локусов ДНК X-хромосомы в контрольной группе образцов были подтверждены все полученные ранее генотипы. В 100% наблюдений подтверждены генотипы двух вариантов гомозигот и гетерозигот по всем шестидесяти шести X-хромосомным SNP-маркерам. Таким образом, результаты генотипирования образцов ДНК человека с помощью разработанной тест-системы, полностью подтверждены с помощью независимого молекулярно-генетического метода, являющегося “золотым стандартом” при генотипировании ДНК-маркеров. Разработанная тест-система может быть применена для выявления генотипов однонуклеотидных локусов X-хромосомы человека в образцах ДНК, полученных из биологического материала лиц мужского и женского генетического пола.

4. Разработана методика применения разработанной тест-системы на основе SNP-маркеров X-хромосомы. Методика основана на разработанной ранее методике проведения мультиплексной ПЦР набора SNP-маркеров X-хромосомы и методике проведения MALDI-TOF масс-спектрометрии набора SNP-маркеров X-хромосомы. Методика описывает процесс применения тест-системы по идентификации личности по

ДНК маркерам X-хромосомы, позволяющей получить комплексный генотип исследуемого образца ДНК человека по шестидесяти шести однонуклеотидным маркерам X-хромосомы.

5. Осуществлена валидация разработанной тест-системы. Валидация проводилась по параметрам требуемым Техническим заданием, а также в соответствии с рекомендациями SWGDAM (Scientific Working Group on DNA Analysis Methods). Тестируемые параметры включали в себя: чувствительность, специфичность, количество маркеров, точность генотипирования, погрешность измерения, воспроизводимость результатов, возможность анализа смешанной ДНК. Согласно акту испытаний разработанная тест-система основанная на SNP-маркерах X-хромосомы соответствует заявленным требованиям. Валидация показала, что тест-система соответствует заданным характеристикам по критериям чувствительности, специфичности, количеству маркеров, точности генотипирования, погрешности измерения, воспроизводимости результатов, возможности анализа смешанной ДНК.

6. Выполнена оценка идентификационного потенциала разработанной тест-системы в популяциях России. По результатам генотипирования 7 популяционных выборок по 66 SNP-маркерам были рассчитаны криминалистические показатели тест-системы. В целом тест-система обладает высоким идентификационным потенциалом. В результате проведенной работы было определено, что разрабатываемая тест-система обладает высокой идентификационной информативностью.

Таким образом, разрабатываемая тест-система может быть использована для ДНК-идентификации на территории РФ.

7. Результаты работы представлены в докладе на тематическом семинаре следователей следственного комитета РФ.

8. Результаты представлены в докладе на Human Genome Meeting 2015.

9. Результаты в  
представлены в  
докладе International Society for Applied Biological Sciences 2015.

10. Опубликована статья в журнале Молекулярная биология, 2015, том 49, № 2, с. 305–312.