

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра материаловедения, технологии
и управления качеством

**ОЦЕНКА МЕТОДОВ АНАЛИЗА ДНК, ПРИМЕНЯЕМЫХ В
КРИМИНАЛИСТИКЕ, С ПОМОЩЬЮ ИНСТРУМЕНТОВ КОНТРОЛЯ
КАЧЕСТВА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 4 курса

по направлению 27.03.02 «Управление качеством»

факультета нано- и биомедицинских технологий

Саратовцевой Валерии Александровны

Научный руководитель

доцент, к.ф.-м.н., Ph. D.

должность, уч. степень, уч. звание

А. А Клецов

дата, подпись

инициалы, фамилия

Заведующий кафедрой

профессор, д.ф.-м.н.

должность, уч. степень, уч. звание

С. Б. Вениг

дата, подпись

инициалы, фамилия

Саратов 2017

ВВЕДЕНИЕ

Для ДНК-идентификации личности во всем мире применяют несколько проверенных систем. Как правило, идентификация с использованием этих систем достаточно надежна, но только при условии, что ни на одном из этапов следственных действий и ДНК-экспертизы не было допущено ошибок. Ошибки же могут возникать на любом этапе – от сбора проб до составления итогового заключения эксперта. Так в статье [1-2] говорится о многочисленных примерах вынесения необоснованного заключения ДНК-экспертизы вследствие несовершенства самой процедуры исследования. Актуальность работы обусловлена наличием подобных примеров в судебной практике.

Изучение методов анализа ДНК с помощью инструментов контроля качества – новый подход, не применявшийся ранее.

Целью выпускной квалификационной работы является изучение методов анализа ДНК и оценка их с помощью доступных инструментов управления качеством. Задачами теоретической части работы является:

- классификация методов анализа ДНК, применяемых в криминалистике;
- выделение основных этапов применяемых методологий;
- сравнительный анализ указанных методов;
- определение возможных рисков на каждом этапе проведения экспертизы.

Задачами практической части является:

- выявление возможных причин недостоверного результата анализа ДНК;
- выявление наиболее значимых причин недостоверного результата анализа ДНК;
- составление рекомендаций по улучшению процесса анализа ДНК.

При подготовке работы использовались программные средства: Microsoft Word, Microsoft Publisher.

Дипломная работа состоит из введения, трёх основных разделов с подразделами, заключения и списка использованных источников .

Дипломная работа занимает 39 страниц, имеет 8 рисунков и 1 таблицу. Обзор составлен по 20 информационным источникам.

Во введение рассматривается актуальность работы, устанавливается цель и выдвигаются задачи для достижения поставленной цели.

В первом разделе даётся описание методов анализа ДНК и приведена их сравнительная характеристика. Второй раздел описывает риски, возникающие на каждом этапе работы. Третий раздел посвящён изучению поставленной проблемы с помощью инструментов управления качеством – диаграммы связей и диаграммы Исикавы. Соответствующие диаграммы представлены в работе.

Основное содержание работы

Обзор основных методов ДНК-анализа В настоящее время в криминалистике существует несколько основных методов анализа ДНК. Выбор необходимого метода осуществляется с помощью основных критериев: количества необходимого биологического материала, качества указанного материала, наличия посторонних примесей, экономических соображений, наличия временных ресурсов и пр. В целом, все методы анализа ДНК можно свести к общему алгоритму.

Обобщённые этапы анализа ДНК:

1. Выделение общей ДНК из клеток интересующего организма.
2. Приготовление векторной ДНК для клонирования нужного гена.
3. Анализ полученной ДНК с помощью одного из методов детекции.

Наиболее часто используемыми в криминалистике методами исследования ДНК являются следующие: *полиморфизм длины фрагментов рестрикции* (далее – ПДРФ) и *секвенирование*. В дипломной работе каждый из указанных методов рассмотрен подробно.

Полиморфизм длины фрагментов рестрикции. Указанный метод основан на способности бактериальных ферментов, называемых ферментами рестрикции, распознавать строго определенные последовательности ДНК и разрезать ее по областям распознавания. Было обнаружено, что длина образующихся фрагментов различается для разных людей.[3]. Именно поэтому ПДРФ-анализ пригоден для идентификации человека.

ПДРФ-анализ можно представить в виде следующего алгоритма:

1. Обработка образцов ДНК ферментами рестрикции
2. Помещение образцов в гель
3. Воздействие электрического поля.
4. Перенос фрагментов на нитроцеллюлозную мембрану, с которой они прочно связываются.

5. Помещение мембраны в раствор, содержащий радиоактивную ДНК-пробу, где происходит гибридизация пробы с уникальными последовательностями гипервариабельных участков.

6. Наложение мембраны на рентгеновскую пленку и получение радиоавтографа, на котором радиоактивные элементы выявляются в виде серии полос, число и положение которых различно для каждого индивида.

Секвенирование. Другим вариантом технологии исследования полиморфизма нуклеотидной последовательности является непосредственная расшифровка изучаемых последовательностей методом секвенирования. В общем случае эту процедуру можно описать поэтапно:

1. Амплификация полиморфного участка анализируемого образца ДНК методом ПЦР.

2. Денатурация продуктов ПЦР.

3. Проведение четырех вариантов реакции синтеза второй цепи ДНК, используя одноцепочечную ДНК в качестве матрицы.

4. Введение в каждый из вариантов реакционной смеси все необходимые для синтеза цепи компоненты, а также один из четырех видов 2',3'-дидезоксинуклеозидтрифосфатов.

5. Электрофорез продуктов синтеза

Благодаря разноцветным флуоресцентным меткам, имеется возможность анализировать несколько локусов одновременно [4].

Вспомогательные методики. Представленные выше этапы методов анализа ДНК включают в себя такие важные процедуры как ПЦР, электрофорез и гибридизация. Каждую из указанных процедур также можно разделить на этапы. В работе подробно рассмотрены этапы дополнительных методик.

Выявление рисков и подбор инструментария. Каждый из вышеперечисленных методов имеет свои преимущества и недостатки. Особую важность представляют ограничения каждого из метода, поскольку, преодолев их, повышается достоверность получаемой информации и

возрастает доверие к полученному исходу ДНК-анализа. В дипломной работе построена сравнительная таблица двух методов и показано, что все выявленные недостатки можно отнести к:

- методической части;
- интерпретации результатов исследования;
- вероятностным расчетам;
- представлению в заключении хода и результатов исследования;
- формулированию выводов.

Оценка методов анализа ДНК с помощью инструментов контроля качества. Для оценки методов анализа ДНК были выбраны следующие инструменты контроля качества: диаграмма связей и диаграмма Исикавы.

В практической части работы построены диаграммы связей для проблем «Недостовверный результат анализа ДНК методом ПДРФ», «Потеря биологического материала в процессе проведения ПЦР», «Заражение сторонней ДНК в процессе проведения ПЦР» и «Недостовверный результат секвенирования». Из диаграмм видно, что наибольший риск получения недостовверного результата сосредоточен на этапе проведения электрофореза. Несмотря на то, что процесс электрофореза автоматизирован, он является самым сложным и многоступенчатым. Именно поэтому при проведении электрофореза важно следить за соблюдением всех требуемых условий.

Использование второго инструмента, диаграммы Исикавы, показало, что наиболее часто встречающейся проблемой является контаминация, возможности для которой существуют практически на всех этапах. Также из диаграммы видно большое число возможностей сбоя процесса. Особое внимание при проведении секвенирования необходимо уделить контролю за соблюдением условий ПЦП и электрофореза. Автоматизация этих процессов не исключает возможности сбоя, а влияние человеческого фактора прослеживается на каждом этапе.

Выводы и рекомендации. Основное назначение инструментов контроля качества – повышение качества готового продукта через улучшение

текущего процесса. Применение инструментов контроля качества совместно позволяет глубже рассмотреть существующую проблему, подойти к решению комплексно [5]. Применение этих инструментов дополняет данные каждой из диаграмм и, одновременно с этим, более детально и глубже погружается в проблему. Так, поиск первоисточника причины недостоверного результата исследований вместе с построением диаграммы связей показал влияние одной причины не единожды. В дипломной работе сформулированы рекомендации по совершенствованию процедур ДНК-анализа. Соблюдение приведённых рекомендаций позволит снизить частоту недостоверных результатов при проведении ДНК исследований и, соответственно, повысить степень доверия судебных органов и других заинтересованных лиц к результатам анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На протяжении всей выпускной квалификационной работы решились следующие задачи:

1. проведена классификация методов анализа ДНК, применяемых в криминалистике;
2. выделены основные этапы применяемых методологий;
3. проведен сравнительный анализ указанных методов;
4. определены возможные риски на каждом этапе проведения экспертизы;
5. выявлены возможные причины недостоверного результата анализа ДНК;
6. обозначены наиболее значимые причины недостоверного результата анализа ДНК;
7. составлены рекомендации по улучшению процесса анализа ДНК.

Таким образом, в процессе написания работы была достигнута цель: изучены методы анализа ДНК и произведена их оценка с помощью доступных инструментов управления качеством.

Настоящая выпускная квалификационная работа автора данного автореферата содержит более детальный отчёт о проделанной работе.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Животовский, Л. А. ДНК в суде / Л. А. Животовский // Химия и Жизнь. 2001. Т. 33, №12. С 23-27.

2 Разработка проблемы судебно-медицинской генетической идентификации [Электронный ресурс] // Судебная экспертиза [Электронный ресурс] : [сайт]. URL: <http://www.kpress.ru/bh/2002/4/perepetchina/perepetchina.asp> (дата обращения: 21.04.2017). Загл. с экрана. Яз. рус.

3 ДНК в криминалистике [Электронный ресурс] // Научная сеть [Электронный ресурс] : [сайт]. URL: <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1196907&uri=1.html> (дата обращения: 21.04.2017). Загл. с экрана. Яз. рус.

4 ДНК в криминалистике [Электронный ресурс] // Идентификация объекта [Электронный ресурс] : [сайт]. URL: <http://dnk-krim.narod.ru/articles/Lutarevich.htm> (дата обращения: 21.04.2017). Загл. с экрана. Яз. рус.

5 Пономарев, С. В., Мищенко, С. В., Герасимов, Б. И. Квалиметрия и управление качеством. Инструменты управления качеством / С. В. Пономарев. Тамбов. : ТГТУ, 2005. 687 с.