

С.Д. Нурбаев¹, У.К. Бисенов², К.С. Ирзагалиев², А.У. Утаубаева³, С. Мамырханова^{1*}

¹ ТОО «Селекция орталыгы», г.Шымкент, Республика Казахстан, sdnurbaev@mail.ru,
sdn_nds@mail.ru*

² Атырауский университет им.Х.Досмухамедова, г. Атырау, Республика Казахстан,
bisenovy@mail.ru, kosybek@inbox.ru

³ Западно-Казахстанский университет им. М.Утемисова, wksu.biology@gmail.com

ВОПРОСЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПОРНОГО РОДСТВА У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ИХ ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ В СУДЕБНОЙ СИСТЕМЕ

Аннотация

Несовершенство законодательной системы в области определения родства у сельскохозяйственных животных открывает лазейки для злоупотреблений. В полной мере это касается технического регулирования в области судебной молекулярно-генетической экспертизы, где от совершенства системы стандартизации в конечном итоге зависит юридический статус и судьба конкретных людей. В настоящее время по этой проблеме существуют лишь разрозненные и зачастую несогласованные внутриведомственные нормативные документы типа методических рекомендаций, методических указаний и инструкций, некоторые положения которых подвергаются справедливой критике. В большинстве «Методических указаний» имеются многочисленные противоречия, неточности, неоднозначные указания, допускающие противоположные трактовки, неполные разъяснения, что недопустимо для руководства, рассматриваемого как юридический документ. Эти вопросы могут стать решающими в суде при согласии или несогласии с результатами ДНК-экспертизы. Такие недостатки способны существенно повлиять на качество судебно-генетической экспертизы и привести к назначению дополнительной или повторной экспертизы. Требования, устанавливаемые нормативными документами по стандартизации, должны основываться на современных достижениях науки, техники и технологии, международных (региональных) стандартах, правилах, нормах и рекомендациях по стандартизации, прогрессивных национальных стандартах других государств.

В этом плане трудно переоценить своевременность публикации «Международных рекомендаций к стандартам по проверке отцовства», которые подготовлены большим коллективом Комиссии по проверке отцовства при Международном обществе по судебной генетике. Заслуживает внимания основной принцип, которым руководствовалась Комиссия: за основу был взят международный стандарт ISO 17025:1999 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий». Особенность стандартов ISO состоит в том, что при применении их в специфических областях допускается введение дополнительных «указаний по применению», если только они никоим образом не изменяют смысла ни одного из параграфов исходного текста.

Исключительно важным представляется требование к профессиональной подготовке персонала лаборатории.

В Казахстане разработан и внедрен с 2019 г. Национальный стандарт Республики Казахстан «Генетический анализ происхождения животных. Методика определения идентификации и контроля» СТ РК 3074 -2017 [9].

Вопросы к установлению более удаленных степеней родства для сельскохозяйственных животных становятся актуальными в связи широким привлечением генетической экспертизы в уголовных и гражданско-правовых системах общества.

Ключевые слова: молекулярно-генетический анализ, ДНК идентификация, Спорное родство сельскохозяйственных животных, Евразийский экономический союз, Международное общество по генетике животных, STR, SNP, ПЦР

Введение

К середине 90-х годов прошлого века английские термины «DNA Fingerprinting», «DNA typing», «DNA Profiling», русские варианты «геномная дактилоскопия», «гонотипоскопия», «генотипирование» прочно вошли в судебную экспертную практику. История применения молекулярного типирования ДНК для судебной экспертизы началась с 1985 г. и связана с именем профессора Лестерского университета Великобритании А. Джеффриза. В журнале "Nature" в соавторстве с другими исследователями им последовательно были опубликованы несколько статей, в которых указывалось, что высокополиморфные сегменты ДНК после последовательной ферментативной обработки нативной молекулы ДНК и гибридизации ее со специфическими зондами способны производить индивидуальные отпечатки ДНК «фингерпринты».

С 1986 г. в Великобритании, а затем и в других странах генетический анализ начали широко применять, для расследования и раскрытия преступлений, а также в судебных процессах по гражданским делам. Отрабатывались методики, накапливались данные по применению методов исследования различных биологических объектов. В этот же период для изучения полиморфных ДНК-фрагментов в экспериментальных целях начали применять полимеразную цепную реакцию (ПЦР), получившую широкое распространение в биологии и медицине, за разработку которой американский ученый К.Мюллис стал лауреатом Нобелевской премии в 1994 г.

Сегодня судебно-биологическую экспертизу невозможно представить без молекулярно-генетического анализа. Данная область прочно вошла и для идентификации ДНК технологиями сельскохозяйственных животных.

В Казахстане в ходе выполнения программы генетическая паспортизация крупного рогатого скота мясного направления продуктивности (2014 г.), молочного скотоводства (2015-2016гг.), для отдельных пород овец (2017г.) и отдельных пород лошадей, верблюдов (2018-2019гг.) созданы базы данных популяционных частот STR локусов референтных популяций вышеперечисленных сельскохозяйственных животных. Наборы STR локусов соответствуют панелям, рекомендованным ISAG (International Society for Animal Genetics) и требованиям ЕАЭС (Евразийский экономический союз). Согласно решению коллегии Евразийской Экономической Комиссии №74 от 2 июня 2020 г. (Об утверждении положения о проведении молекулярной генетической экспертизы племенной продукции государств – членов Евразийского экономического союза) определены генетические маркеры тестирования:

- крупного рогатого скота не менее 12 микросателлитным локусам [1,2];
- мелкого рогатого скота не менее 13 (овцы) и 14 (козы) микросателлитным локусам [3];
- лошадей не менее 17 микросателлитным локусам [4];
- свиней не менее 15 микросателлитным локусам [5];
- верблюдов не менее 8 микросателлитным локусам;
- оленей не менее 9 микросателлитным локусам;
- пчёл не менее 11 микросателлитным локусам.

По данному документу также указан перечень заболеваний, где требуется обязательное тестирование на наличие генетически детерминированных заболеваний сельскохозяйственных племенных животных [6].

Для удобства генотипирования были разработаны наборы, позволяющие амплифицировать одновременно множество полиморфных локусов в одной пробирке, что значительно упрощает и удешевляет анализ. Как правило, в разработанных наборах количество локусов превышает количество рекомендованных ISAG, ЕАЭС локусов.

Для достоверности сравнения генотипов в каждом конкретном случае выбор референтной популяции должен зависеть от того, к какой породе принадлежит тестируемое животное. На практике же референтную популяцию приходится выбирать среди представленных в базах популяций, изученных с использованием данной панели STR-локусов. Чем меньше референтная популяция отражает генофонд тестируемой породы, тем больше животные в ней имеют аллели, отсутствующие в референтной базе данных, что приводит к значительному снижению разрешающей способности метода ДНК идентификации[7].

При отсутствии данных о генетической структуре популяций можно применить технологию имитационного моделирования. Если известны популяционные частоты ДНК маркеров в референтных популяциях, то можно моделировать рекуррентным способом, вычисляя распределение вероятности предполагаемого родственника (отец, мать, сибсы и пр.) в отношении интересующего животного. В таком случае, в конечном итоге будут ранжированы вероятностные оценки о степени родства, т.е. к какой породе принадлежит тестируемое животное[8].

Методы и материалы

Развитие технологии вероятностного, ситуационного и статистического моделирования позволяет рассмотреть проблему спорного родства под другим углом зрения. Как отмечены [9] для расчета генетического родства применяют де-факто следующие допущения:

1. Популяция находится в состоянии равновесия Харди-Вайнберга для аллелей всех исследуемых локусов;
2. В популяции наблюдается равновесие по сцеплению между любыми двумя исследуемыми локусами;
3. Все исследуемые локусы являются попарно независимыми.

Для выполнения 2 и 3 условий можно подобрать и заранее утвердить перечень локусов для ДНК идентификации. Достоверность и эффективность ДНК идентификации зависит от двух важнейших факторов – от выбора панели локусов и от выбора референтной популяции. Обычно применяют высокополиморфные генетические маркеры, такие как микросателлиты STR (Short Tandem Repeat), редко однонуклеотидный полиморфизм SNP (Single Nucleotide Polymorphism).

Математический аппарат используемых подходов изложен в работах [10,11].

Не менее важный вопрос - должны быть известны популяционные частоты применяемых генетических маркеров в референтных популяциях.

Результаты и обсуждение

Для удобства при анализе данных в родословной и в родственных связях животных применима технология, успешно апробированная для человека. Имея представление о структуре родословной человека легко можно переносить ее и для животных.

Установление родственных связей в любой степени родства.

Подходы к установлению более удаленных степеней родства (двоюродные братья и сестры, бабушки-дедушки и внуки и пр.) с помощью генотипирования ДНК маркеров осуществляются исследованием множества высокополиморфных локусов разной природы наследования. Важным моментом является наличие популяционных частот для исследованных локусов.

Установление родственных связей по локусам Y хромосомы.

Y-хромосома наследуется по мужской линии. Она передается от отца к сыну, внуку (см. рис. 1). Для установления родственных связей, как правило, используется STR локусы, скорость мутации в них колеблется от $2,4 \cdot 10^{-4}$ до $3,6 \cdot 10^{-4}$ на одно поколение. При анализе родственных связей по мужской линии используется правило, основанное на законах передачи генетического материала - Y-хромосомы. Гаплотип (Y-хромосома) ребенка мужского пола совпадает с гаплотипом (Y-хромосома) биологического отца, в этом случае обычно мутациями в локусах пренебрегают.

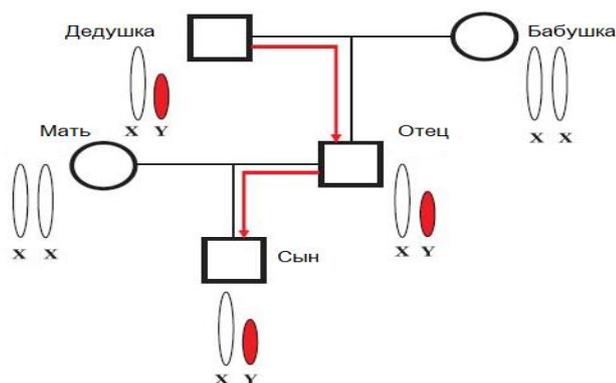


Рисунок 1 - Передача Y-хромосомы по мужской линии.

Изучение родственных связей по мужской линии проводится по стандартной схеме:

- генотипирование биологических образцов исследуемых мужчин по системе STR-локусов Y-хромосомы;
- генетический анализ изученных гаплотипов на совпадение по исследованным локусам.

В случае, когда гаплотипы Y-хромосомы по всем проанализированным STR-локусам совпадают, как было указано в предыдущем разделе, не является 100%-ным доказательством того, что данные мужчины имеют родственные связи, так как существует, вероятность того, что выявленные совпадения гаплотипов Y-хромосомы обусловлены случайностью.

Поэтому перед тем, как сделать положительный вывод о родственных связях, всегда проводится оценка его достоверности, основанная на данных о частоте встречаемости различных гаплотипов Y-хромосомы в разных популяциях.

Несовпадение гаплотипов Y-хромосомы по определенному локусу может быть обусловлено не только тем, что данные мужчины не являются родственниками по мужской линии, но также тем, что в каком-то поколении при передаче Y-хромосомы от отца к сыну произошла мутация в STR-локусе(ах).

Вывод об исключении родства делается только тогда, когда несовпадение гаплотипов Y-хромосомы наблюдается по нескольким STR-локусам.

Установление родственных связей по геному митохондриальной ДНК.

Митохондриальная ДНК наследуется по женской линии. Митохондриальная ДНК человека (мтДНК) локализована в субклеточных органеллах - митохондриях - и представлена двухцепочечной кольцевой молекулой.

В настоящее время идентификационная значимость мтДНК -типирования определяется в основном полиморфной природой гипервариабельных регионов. Так как нуклеотидные последовательности мтДНК идентичны у всех имеющих родственные связи по материнской линии, в методе мтДНК -типирования заложена не идентификация личности, а выяснение принадлежности испытуемой пробы к определенному митотипу.

Установление родственных связей по женской линии основано на особенностях передачи митохондриальной ДНК. Данный геном содержится в митохондриях клетки в виде множественных копий. В случае пренебрежения явлением гетроплазмии, можно считать что в митохондриях детей содержатся молекулы мтДНК, идентичные молекулам мтДНК матери (см. рис. 2).

При генетическом анализе родственных связей по женской линии используется следующее правило, основанное на законах передачи генетического материала мтДНК, митотип ребенка (любого пола) всегда совпадает с митотипом биологической матери.

Генетическое исследование родственных связей по женской линии проводится по стандартной схеме:

- определение митотипов образцов изучаемых лиц;
- генетический анализ полученных митотипов.

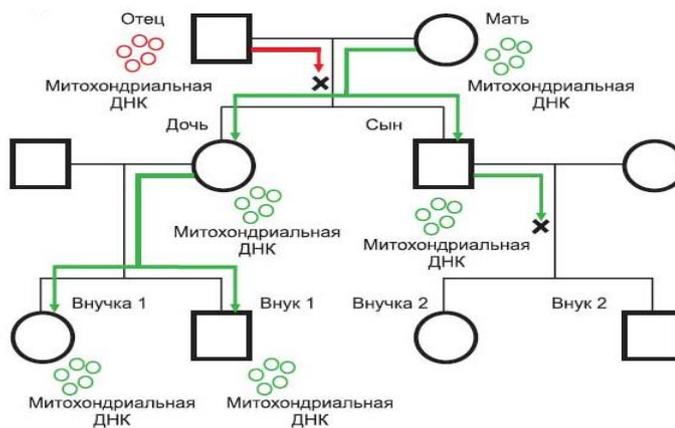


Рисунок 2 - Передача митохондриальной ДНК по женской линии от женщин их детям.

Генотипирование митохондриальной ДНК проводится путем определения нуклеотидных последовательностей в молекулах мтДНК.

Когда митотипы исследуемых лиц совпадают необходимо провести дополнительное исследование. Так как, для утверждения у исследуемых лиц о наличии родственных связей по женской линии, необходимо учесть вероятностный фактор совпадения митотипов.

Следовательно, для вывода о наличии или отсутствии родственных связей, всегда проводится оценка его достоверности, основанная на данных о частоте встречаемости различных митотипов в популяциях. В случае, когда митотипы исследуемых лиц различаются, делаются следующие выводы, зависящие от характера выявленных несовпадений:

- как правило, если митотипы различаются по более двум позициям в сравниваемых последовательностях, то делается вывод об исключении родства;
- если митотипы различаются по одной позиции в сравниваемых последовательностях, то делается вывод о невозможности дать обоснованное заключение о родстве. Данное положение обусловлено тем, что скорость мутаций в мтДНК больше чем в локусах Y-хромосомы.

При учете факта гетероплазии у исследуемых лиц, формирование вывода происходит следующим образом:

1. При наличии у исследуемых лиц совпадающих митотипов делается заключение о неисклучении родства и проводится вероятностный расчет с учетом частоты встречаемости того митотипа, по которому выявлено совпадение.

2. В случае, когда между митотипами исследуемых лиц обнаруживается различие (даже в одном положении нуклеотидной последовательности), делается вывод об исключении родства.

Установление родственных связей братьев и сестер.

Часто встречаются случаи, когда необходимо установить родство для сибсов (имеющих общих родителей или одного общего родителя), но материал предполагаемых родителей недоступен. Рассмотрим основные способы установления родства для предполагаемых сибсов.

Установление родственных связей сибсов по мужской и женской линиям по маркерам X-хромосомы.

При установлении родственных связей для полных сибсов (предположительно имеющих обоих общих родителей) проводится анализ родственных связей как по женской, так и по мужской линиям.

Родственные связи по локусам Y хромосомы.

Рассмотрим родословную, изображенную на рис.3.

Из рисунка видно, что братья получают от общего отца гаплотипы Y-хромосомы, а от общей матери - митохондриальную ДНК.

Родственные связи по геному митохондриальной ДНК.

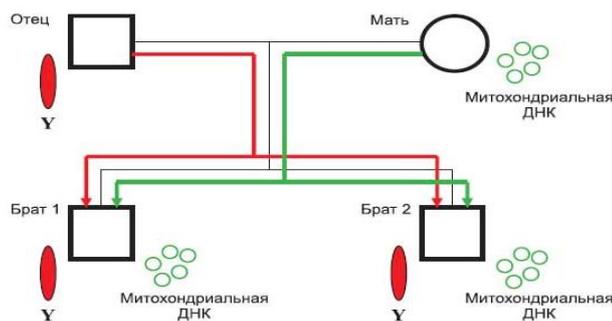


Рисунок 3 - Передача Y-хромосомы от отца сыновьям и митохондриальной ДНК от матери сыновьям.

Рассмотрим родословную, изображенную на рис. 4.

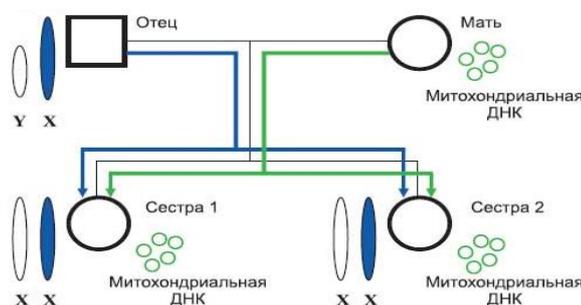


Рисунок 4 - Передача X-хромосомы от отца дочерям и митохондриальной ДНК от матери дочерям.

Из рисунка видно, что сестры получают от общего отца идентичные копии X-хромосомы. Из этого следует, у лиц женского пола, имеющих общего биологического отца, в генотипах по любому локусу X-хромосомы всегда присутствует как минимум один общий аллель. Генетическое исследование лиц женского пола на родственные связи по отцу проводится по схеме:

- генотипирование образцов предполагаемых сестер по отцу по системе STR-локусов X-хромосомы;
- генетический анализ полученных генотипов по STR-локусам.

При наличии совпадающих аллелей STR-локусов в генотипах женщин по исследуемым локусам проводится расчет достоверности положительного вывода о родственных связях по отцу. Наличие совпадающих аллелей STR-локусов X-хромосомы в генотипах у двух женщин - может являться не только следствием их родственных связей по биологическому отцу или случайного совпадения генетических признаков, но и результатом их родственных связей по биологической матери. Данное обстоятельство необходимо учитывать при проведении вероятностных расчетов.

Генотипы по определенному локусу могут свидетельствовать против истинных родственных связей не только вследствие того, что исследуемые лица женского пола не являются сестрами по биологическому отцу, но также по причине мутации. Вывод об исключении родственных связей делается только тогда, когда против истинности родственных связей свидетельствуют генотипы по нескольким локусам.

В случае выявления несовпадений по локусам до необходимого уровня достоверности проводится генотипирование по дополнительной линейке локусов.

Лица женского пола, имеющие общую мать, получили от нее митохондриальную ДНК. Следовательно, для сибсов женского пола, имеющих предположительно общую мать,

проводится анализ на родственные связи по женской линии. При установлении родственных связей для полных сибсов (предположительно имеющих обоих общих родителей) проводится анализ мтДНК, полиморфных локусов X-хромосомы и аутосом.

Родственные связи типа «брат-сестра».

Рассмотрим родословную, изображенную на рис. 5.

Из рисунка видно, что брат и сестра получают от общей матери мтДНК. По этой причине, при установлении родственных связей для разнополых сибсов, имеющих предположительно общую мать, проводится анализ на родственные связи по материнской линии. Для разнополых сибсов, имеющих предположительно общего биологического отца, установление родственных связей невозможно по мужской линии, а также с использованием генотипирования по локусам X-хромосомы. Для такого случая анализ родства проводится по аутосомным генетическим маркерам.

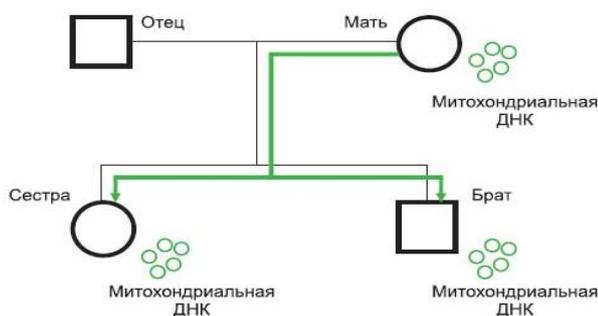


Рисунок 5 - Передача митохондриальной ДНК от матери сыну и дочери.

Необходимо отметить, что положительное заключение о родственных связях предполагаемых сибсов по мужской линии, по женской линии или одновременно по мужской и женской линиям не является доказательством наличия у них одного или нескольких общих родителей (см. рис. 6).

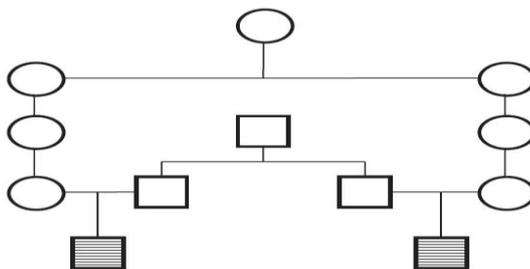


Рисунок 6 - Пример, когда лица (на родословной заштрихованы) являются родственниками одновременно по мужской и женской линиям, но имеют различных родителей.

Установление родства братьев и сестер по аутосомным генетическим маркерам.

Сибсы являются примером такой степени родства, при котором в генотипах родственников по аутосомным локусам не обязательно должны содержаться совпадающие аллели. Несмотря на это, наличие в генотипах по аутосомным локусам совпадающих аллелей у сибсов более вероятно, чем у неродственных лиц, что позволяет использовать подход, основанный на вычислении условных вероятностей. Исследование родственных связей в данном случае проводится по схеме:

- генотипирование исследуемых лиц по аутосомным STR-локусам;
- вычисление отношения правдоподобий на основе популяционных данных частот аллелей исследуемых локусов;
- вычисление вероятности родства.

Если вероятность родства достигает требуемого уровня достоверности, то делается заключение об истинности родства. Если вероятность родства не достигает требуемого уровня достоверности, то либо проводится анализ дополнительных локусов, либо делается вывод о невозможности дать обоснованное заключение.

Установление родственных связей между бабушкой (бабушкой) и внуками. Довольно часто возникают ситуации, когда требуется установить родство в отношении биологического объекта, биологический материал которого по каким-либо причинам недоступен. В ряде случаев (но не всегда) такое исследование можно провести, если есть возможность получить материал близких родственников этого лица.

Рассмотрим варианты установления родственных связей, когда материал предполагаемого отца недоступен, однако доступен материал его родителей (обоих или кого-то одного). Такой анализ, в зависимости от ситуации, проводится с использованием либо аутосомных маркеров, либо маркеров, лежащих в половых хромосомах.

1. Варианты, при которых возможно использование систем на основе аутосомных STR-локусов.

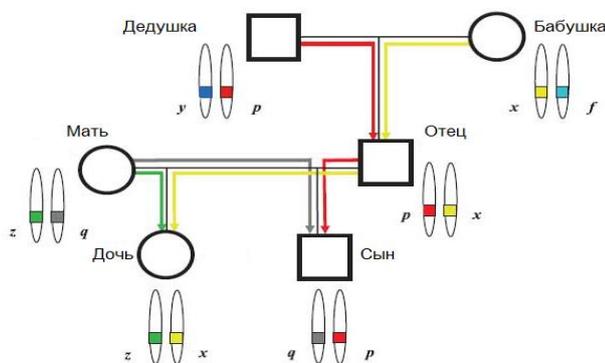


Рисунок 7 - Наличие совпадающего аллеля в генотипе ребенка и в одном из генотипов бабушки и дедушки.

Рассмотрим рис. 7, на котором изображены родословная и генотипы по какому-либо гипотетическому аутосомному локусу сына и дочери, их родителей (мать и отец), а также дедушки и бабушки этих детей по отцу. Различными буквами и цветом обозначены различные аллели данного локуса.

Генотип дочери -zx, сына -qr, матери -zq, отца -rx. Аллелями отцовского происхождения в генотипе дочери является аллель x, а в генотипе сына - аллель r. Каждый из этих аллелей получен отцом от одного из своих родителей, поэтому присутствует либо в генотипе бабушки, либо в генотипе дедушки. Такие же рассуждения справедливы и для аллелей материнского происхождения и генотипов родителей матери (на рисунке не показаны). В генотипе ребенка (независимо от пола ребенка) по любому локусу аллель отцовского происхождения всегда совпадает с одним из аллелей либо в генотипе бабушки по отцу, либо в генотипе дедушки по отцу.

Для случаев, когда в генотипе ребенка нельзя установить аллели аутосомных локусов отцовского и материнского происхождения, в генотипе ребенка (независимо от пола ребенка) по любому локусу один из аллелей всегда совпадает с одним из аллелей аутосомных локусов либо в генотипе бабушки по отцу, либо в генотипе дедушки по отцу.

Генетическое исследование в рассматриваемых случаях проводится по стандартной схеме:

- генотипирование биологических образцов исследуемых лиц;
- генетический анализ полученных результатов генотипов на соответствие проверяемой степени родства.

Рассмотрим примеры, в которых генотипы анализируемых лиц не противоречат предположению о родственных связях.

Вариант 1а. Случай, когда для анализа доступны биоматериалы матери, ребенка и обоих родителей мужчины, для которого требуется установить родство в отношении ребенка. Мать считается априори родной. На рис. 8 показан пример, когда генотипы ребенка, матери и родителей предполагаемого отца по данному локусу свидетельствуют в пользу истинности родства. Генотип сына по выбранному нами локусу - pq , а генотип матери – zq . Так как мать считается априори родной, только аллель q присутствует как в генотипе матери, так и в генотипе ребенка, то именно аллель q был получен ребенком от матери (стрелка зеленого цвета на рисунке). Аллель p получен ребенком от истинного биологического отца и должен присутствовать в генотипе одного из родителей биологического отца. В данном примере в генотипе предполагаемого дедушки ur содержится аллель p , совпадающий с аллелем отцовского происхождения в генотипе ребенка, что свидетельствует в пользу истинности родства (стрелка красного цвета на рисунке).

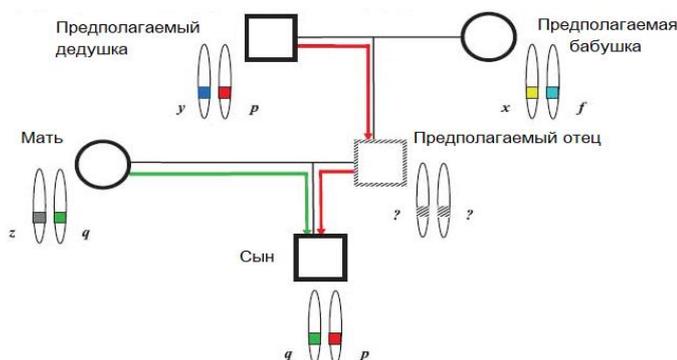


Рисунок 8 - Наличие совпадающего аллеля в генотипе ребенка и в одном из генотипов бабушки и дедушки.

Вариант 1б. Случай, когда для анализа доступен только материал ребенка и обоих родителей мужчины, для которого требуется установить родство в отношении ребенка. На рис. 9 показан пример, когда генотипы ребенка и родителей предполагаемого отца по данному локусу свидетельствуют в пользу истинности родственных связей.

Генотип сына - pq . В соответствии с законами наследования один из аллелей получен от биологической матери, другой от биологического отца. В данном случае генотип матери по анализируемому локусу недоступен, и мы не можем установить, какой аллель получен от матери (стрелка со знаком вопроса на рисунке) и, соответственно, не можем определить аллель отцовского происхождения. Тем не менее, наличие в генотипе предполагаемой бабушки аллеля p , совпадающего с одним из аллелей в генотипе сына свидетельствует в пользу истинности родственных связей (стрелка красного цвета на рисунке). Различными буквами и цветом обозначены различные аллели данного локуса.

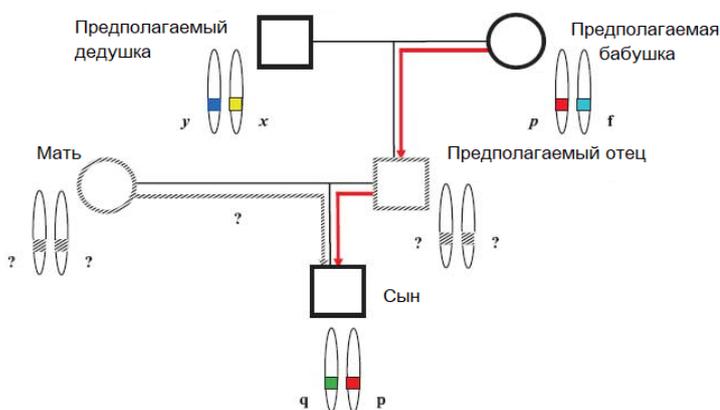


Рисунок 9 - Пример локуса, по которому генотипы ребенка и родителей предполагаемого отца, свидетельствуют в пользу родственных связей.

Следует отметить, что свидетельство генотипов по каждому локусу в пользу родства типа «дедушка-внук» имеет меньший «вес», чем в случае родства типа «отец-сын». Поэтому для достижения одного и того же уровня достоверности, в случае установления отцовства по родителям предполагаемого отца, требуется анализ большего числа локусов, чем в случае, когда материал предполагаемого отца доступен. В ситуациях, когда оказывается недоступным как материал предполагаемого отца, так и матери, более эффективным является установление родства с помощью анализа локусов половых хромосом.

Рассмотрим примеры, в которых генотипы анализируемых лиц свидетельствуют против предположения о родстве.

Вариант 2а. Случай, когда для анализа доступен материал матери, ребенка и обоих родителей мужчины, для которого требуется установить родственные связи в отношении ребенка. Мать считается априори родной. На рис. 10 показан пример, когда генотипы ребенка, его матери и родителей предполагаемого отца по данному локусу свидетельствуют против родственных связей. Генотип сына по выбранному нами локусу - pq , а генотип матери - zq . Так как мать считается априори родной, и только аллель q присутствует как в генотипе матери, так и в генотипе ребенка, то именно аллель q был получен ребенком от матери (стрелка зеленого цвета на рисунке). Аллель p получен сыном от истинного биологического отца и должен присутствовать в генотипе одного из родителей биологического отца. Ни в генотипе предполагаемого дедушки us , ни в генотипе предполагаемой бабушки xf не содержится аллель отцовского происхождения p из генотипа ребенка, что свидетельствует против предположения об истинности родственных связях. Различными буквами и цветом обозначены различные аллели данного локуса.

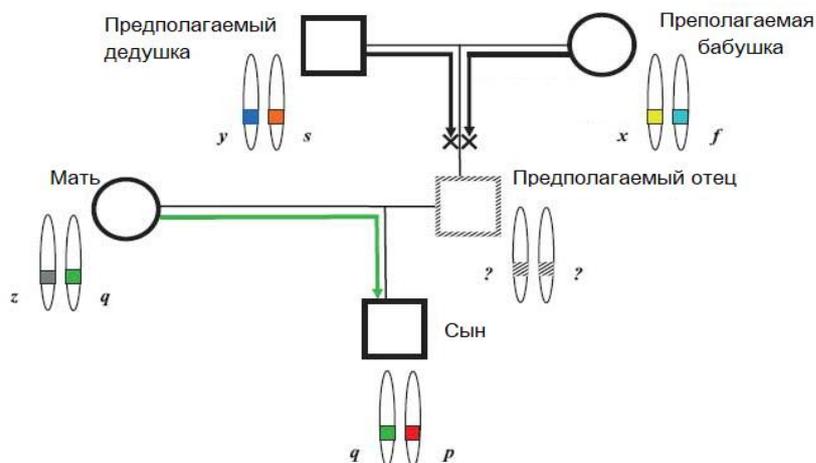


Рисунок 10 - Пример локуса, по которому генотипы ребенка, матери и родителей предполагаемого отца, свидетельствуют против истинности родственных связей.

Вариант 2б. Случай, когда для анализа доступен только материал ребенка и обоих родителей мужчины, для которого требуется установить родственные связи в отношении ребенка. На рис. 11 показан пример, когда генотипы ребенка и родителей предполагаемого отца по данному локусу свидетельствуют против родства.

Генотип сына по выбранному нами локусу - pq , а генотип матери - zq . Так как мать считается априори родной, и только аллель q присутствует как в генотипе матери, так и в генотипе ребенка, то именно аллель q был получен ребенком от матери (стрелка зеленого цвета на рисунке). Аллель p получен сыном от истинного биологического отца и должен присутствовать в генотипе одного из родителей биологического отца. Ни в генотипе предполагаемого дедушки us , ни в генотипе предполагаемой бабушки xf не содержится аллель отцовского происхождения p из генотипа ребенка, что свидетельствует против предположения

об истинности родственных связей. Различными буквами и цветом обозначены различные аллели данного локуса.

Генотип сына - рq. В соответствии с законами наследования один из аллелей получен от биологической матери, другой от биологического отца. В данном случае генотип матери по анализируемому локусу неизвестен и мы не можем установить, какой аллель получен от матери (стрелка со знаком вопроса на рисунке) и соответственно не можем определить аллель отцовского происхождения. Тем не менее, отсутствие в генотипах родителей предполагаемого отца аллелей, совпадающих с одним из аллелей в генотипе сына, свидетельствует против предположения об истинности родственных связей.

Различными буквами и цветом обозначены различные аллели данного локуса. Какой вывод делается, если выявлено несоответствие предположения об истинном родстве законам передачи наследственной информации в генотипах по одному или нескольким локусам?

Генотипы по определенному локусу могут свидетельствовать против истинности родственных связей не только вследствие того, что предполагаемые дедушка и бабушка не приходятся родителями истинному биологическому отцу ребенка, также может присутствовать фактор, что у биологической матери, биологического отца, его родителей и у ребенка произошла мутация по данному локусу. Поэтому вывод об исключении родственных связей делается только тогда, когда против истинности родственных связей свидетельствуют генотипы по нескольким локусам. В случае выявления несовпадений по одному или двум локусам проводится генотипирование по дополнительной линейке локусов.

Вариант 2б. При котором возможно использование STR-локусов X-хромосомы.

В случаях, когда требуется установить отцовство в отношении ребенка женского пола, а материал предполагаемого отца недоступен, проведение анализа возможно, если доступен материал предполагаемой бабушки ребенка по отцу. Данный вид анализа основан на том, что у мужчин в клетках содержится одна копия X-хромосомы и в неизменном виде передается их дочерям.

Поскольку X-хромосома у мужчин только одна и не рекомбинирует в мейозе, то аллели по всем локусам данной хромосомы, полученные мужчиной от своей матери, в неизменном виде передаются его дочерям. Отсюда следует, что в генотипе ребенка женского пола по любому локусу X-хромосомы, один из аллелей всегда совпадает с одним из аллелей в генотипе биологического отца по данному локусу, а другой аллель всегда совпадает с одним из аллелей в генотипе биологической матери по данному локусу. В случае невозможности определения аллелей материнского и отцовского происхождения в генотипе дочери (например, когда биоматериал матери недоступен) по любому локусу X-хромосомы один из аллелей всегда совпадает с одним из аллелей в генотипе матери биологического отца по данному локусу. Генетическое исследование в рассматриваемом случае проводится по следующей схеме:

- генотипирование образцов ребенка женского пола, матери (если биоматериал матери доступен) и предполагаемой бабушки по отцу по системе STR-локусов X-хромосомы;
- генетический анализ полученных данных на соответствие заявленной степени родственных связей.

Вариант, при котором возможно использование STR-локусов Y-хромосомы.

В случаях, когда требуется установить родственные связи в отношении ребенка мужского пола, а биоматериал предполагаемого отца недоступен, проведение анализа возможно, если доступен биоматериал предполагаемого дедушки ребенка по отцу. Такое исследование является частным случаем установления родства по мужской линии. В данном случае используется постулат, гаплотип Y-хромосомы ребенка всегда совпадает с гаплотипом дедушки по отцу (в предположении об отсутствии мутации). Рассмотрим родословную, изображенную на рис. 11. Поскольку сын получил Y-хромосому от отца, а тот, в свою очередь, от дедушки, то гаплотипы сына и дедушки по Y-хромосоме должны совпадать. Генетическое исследование в рассматриваемом случае проводится по следующей схеме:

- генотипирование образцов ребенка мужского пола и предполагаемого дедушки по системе STR-локусов Y-хромосомы;

- генетический анализ полученных гаплотипов на совпадение по всем исследованным локусам.

В случае, когда гаплотипы по всем проанализированным локусам совпадают, это не является доказательством того, что заявленный дедушка является родителем истинного биологического отца ребенка, так как существует, вероятность того, что выявленные совпадения гаплотипов обусловлены случайностью. Поэтому, перед тем как сделать положительный вывод о родственных связях, всегда производится оценка его достоверности, основанная на данных о частоте встречаемости различных гаплотипов в популяциях.

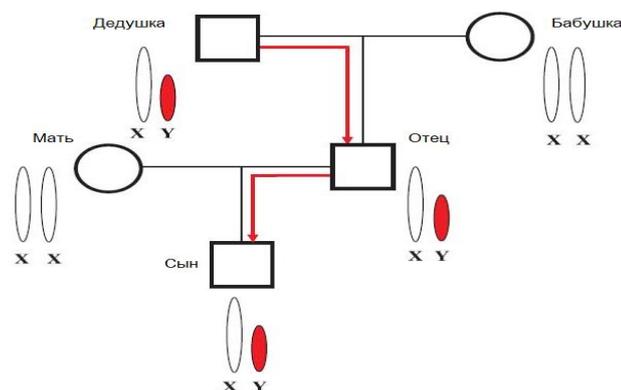


Рисунок 11 - Передача Y-хромосомы по мужской линии от дедушки к отцу и далее к сыну.

Таким образом, подходы к установлению более удаленных родственных связей осуществляются исследованием множества высокополиморфных локусов генома животных. Наличие у родственников, дальней степени родства, в генотипах по аутосомным локусам совпадающих аллелей не является обязательным, ключевую роль играют популяционные частоты исследованных локусов. Несмотря на это, для родственников наличие в генотипах по аутосомным локусам совпадающих аллелей более вероятно, чем для неродственных лиц, что позволяет использовать подход, основанный на вычислении условных вероятностей.

Генетическое исследование родственных связей в таких случаях проводятся по следующей схеме:

- генотипирование исследуемых лиц по аутосомным STR-локусам;
- вычисление на основе популяционных частот аллелей исследуемых локусов вероятности родства.

Если вероятность родственных связей достигает требуемого уровня достоверности, то делается заключение об истинности родства. Если вероятность родственных связей не достигает требуемого уровня достоверности, то либо проводится анализ дополнительных локусов, либо делается вывод о невозможности дать обоснованное заключение.

Выводы

1. Практическое применение фундаментальных знаний по генетике в актуальных социально-экономических вопросах общества показывает возрастающую роль генетики в повседневной жизни каждого члена общества.

2. Мировой опыт показывает, что достижения генетики могут быть реализованы не только в животноводстве, но и в вопросах юриспруденции, при решении проблем установления породной принадлежности, идентификации животных. Это стало возможным в полной мере только там, где предусмотрен комплексный подход в совместной работе генетиков, животноводов и юристов.

3. Создание биобанков образцов основных видов племенных сельскохозяйственных животных, пчел и аквакультуры, встречающейся в РК является актуальной задачей на современном этапе развития сельскохозяйственной отрасли в целом.

Список литературы

1. <https://strbase.nist.gov//cattleSTRs.htm>
2. https://www.isag.us/Docs/Workshop_report_CMMPT_2021.pdf
3. <https://www.isag.us/Docs/SmallRumGenGenom2019.pdf>
4. <https://www.isag.us/Docs/EquineGenParentage2021.pdf>
5. <https://www.isag.us/Docs/PigDNAGenotSkype2012.pdf>
6. <https://e-ecolog.ru/docs/HE1PsW6CV9Bm7WLJPvpp6/104>
7. Gjertson D.W. ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing [Text] /. D.W.Gjertson, C.H. Brenner, M.P. Baur, A. Carracedo, F. Guidet, J.A. Luque, R. Lessig, W.R. Mayr, V.L. Pascali, M. Prinz, P.M. Schneider, N. Morling // Forensic Science International Genet., 2007, 1. – P. 223-231.
8. Нурбаев С.Д. Определение чистопородности популяций крупного рогатого скота мясного направления продуктивности Казахстана по микросателлитным ДНК [Текст]/ С.Д. Нурбаев, А.М. Омбаев, Т.Н. Карымсаков, О.В. Даниленко, М.В. Тамаровский, М.Б. Каратаева // Зоотехния, 2017, №8, С.10-13.
9. Нурбаев С.Д. Методы определения родства у сельскохозяйственных животных с помощью молекулярно-генетических способов [Текст]/ С.Д. Нурбаев, М.Б. Каратаева, Т.Н. Карымсаков // Алматы: Изд-во Литера, 2017. – 30 с.
10. Нурбаев С.Д. Разработка математической модели механизма идентификации сельскохозяйственного животного к определенной породе по генетическим маркерам [Текст] / С.Д. Нурбаев, М.Б. Каратаева, И.К. Байдилдаева, А.Б. Досболды // Материалы междунар. научно – практ. конференции, г.Казань, 8-9 июнь 2015 г. Казань: Каз. гос. ун-т, 2015. С. 22-27.
11. Почешхова Э.А. Генетика и наследственные болезни в популяциях: учебное пособие [Текст] / Э.А. Почешхова, С.Д. Нурбаев // Майкоп: Изд-во Магарин О.Г., 2023. – 118 с.

References

1. <https://strbase.nist.gov//cattleSTRs.htm>
2. https://www.isag.us/Docs/Workshop_report_CMMPT_2021.pdf
3. <https://www.isag.us/Docs/SmallRumGenGenom2019.pdf>
4. <https://www.isag.us/Docs/EquineGenParentage2021.pdf>
5. <https://www.isag.us/Docs/PigDNAGenotSkype2012.pdf>
6. <https://e-ecolog.ru/docs/HE1PsW6CV9Bm7WLJPvpp6/104>
7. Gjertson D.W. ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing [Text] /. D.W.Gjertson, C.H. Brenner, M.P. Baur, A. Carracedo, F. Guidet, J.A. Luque, R. Lessig, W.R. Mayr, V.L. Pascali, M. Prinz, P.M. Schneider, N. Morling // Forensic Science International Genet., 2007, 1. – P. 223-231.
8. Nurbaev S.D. Opredelenie chistoporodnosti populyatsij krupnogo rogatogo skota myasnogo napravleniya produktivnosti Kazakhstana po mikrosatellitnym DNK [Tekst]/
9. Nurbaev S.D., A.M. Ombaev, T.N. Karymsakov, O.V. Danilenko, M.V. Tamarovskij, M.B. Karataeva // Zootekhniya, 2017, №8, S.10-13.
10. Nurbaev S.D. Razrabotka matematicheskoy modeli mekhanizma identifikatsii sel'skokhozyajstvennogo zhivotnogo k opredelennoj porode po geneticheskim markeram [Tekst] / S.D. Nurbaev, M.B. Karataeva, I.K. Bajdildaeva, A.B. Dosboldy // Materialy mezhdunar. nauchno – prakt. konferentsii, g.Kazan', 8-9 iyun' 2015 g. Kazan': Kaz. gos. un-t, 2015. S. 22-27.
11. Pocheshkhova E.H.A. Genetika i nasledstvennyye bolezni v populyatsiyakh: uchebnoe posobie [Tekst] / E.H.A. Pocheshkhova, S.D. Nurbaev // Majkop: Izd-vo Magarin O.G., 2023. – 118 s.

С.Д. Нурбаев¹, Ө.К. Бисенов², Қ.С. Ырзағалиев², А.У. Утаубаева³, С. Мамырқанова^{1*}
¹«Селекция орталығы» ЖШС, Шымкент қаласы, Қазақстан Республикасы, sdnurbaev@mail.ru,
sdn_nds@mail.ru*

²Досмұхамедов атындағы Атырау университеті, Атырау қ., Қазақстан Республикасы,
bisenovy@mail.ru, kosybek@inbox.ru

³М. Өтемісов атындағы Батыс Қазақстан университеті, wksu.biology@gmail.com

АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҒЫ ЖАНУАРЛАРЫНЫҢ ДАУЛЫ ТУЫСТЫҒЫН ЖӘНЕ ОЛАРДЫҢ СОТ ЖҮЙЕСІНДЕГІ ҚОЛДАНБАЛЫ МӘНІН АНЫҚТАУ МӘСЕЛЕЛЕРІ

Аңдатпа

Ауыл шаруашылығы жануарларының туыстығын анықтау саласындағы заңнамалық жүйенің жетілдірілмеуі теріс пайдаланудың жолын ашады. Бұл сот молекулярлық-генетикалық сараптама саласындағы техникалық реттеуге толық көлемде қатысты, онда стандарттау жүйесінің жетілдірілуіне нақты адамдардың заңды мәртебесі мен тағдыры тәуелді болады. Қазіргі уақытта бұл проблема бойынша кейбір ережелері әділ сынға ұшырайтын әдістемелік ұсынымдар, әдістемелік нұсқаулар мен нұсқаулар түріндегі бөлінген және көбінесе келіспеген ішкі ведомстволық нормативтік құжаттар ғана бар.

«Әдістемелік нұсқаулардың» көпшілігінде қарама-қарсы түсіндірмелерге жол беретін көптеген қарама-қайшылықтар, нақты емес, біркелкі емес нұсқаулар, заң құжаты ретінде қаралатын басшылыққа жол берілмейтін толық емес түсіндірмелер бар. Бұл мәселелер ДНҚ-сараптамасының нәтижелерімен келіскен немесе келіспеген жағдайда сотта шешуші болуы мүмкін. Мұндай кемшіліктер сот-генетикалық сараптаманың сапасына айтарлықтай әсер етуге және қосымша немесе қайта сараптама тағайындауға әкеп соқтыруға қабілетті. Стандарттау жөніндегі нормативтік құжаттарда белгіленетін талаптар ғылымның, техника мен технологияның қазіргі заманғы жетістіктеріне, халықаралық (өңірлік) стандарттарға, стандарттау жөніндегі қағидаларға, нормалар мен ұсынымдарға, басқа мемлекеттердің прогрессивті ұлттық стандарттарына негізделуге тиіс.

Бұл тұрғыда Сот генетикасы жөніндегі халықаралық қоғам жанындағы Әке болуды тексеру жөніндегі комиссияның үлкен ұжымы дайындаған «Әке болуды тексеру жөніндегі стандарттарға халықаралық ұсынымдарды» уақытылы жариялауды қайта бағалау қиын. «Сынақ және калибрлеу зертханаларының құзыреттілігіне қойылатын жалпы талаптар» ISO 17025:1999 халықаралық стандарты негізге алынды. ISO стандарттарының ерекшелігі, егер олар бастапқы мәтін параграфтарының ешқайсысының мағынасын ешқандай түрде өзгертпесе, оларды ерекше салаларда қолдану кезінде қосымша «қолдану жөніндегі нұсқауларды» енгізуге жол беріледі.

Зертхана персоналының кәсіби даярлығына қойылатын талаптар ерекше маңызды болып табылады.

Қазақстанда негізінде әзірленді және 2019 жылдан бастап "Жануарлардың шығу тегін генетикалық талдау. Сәйкестендіруді айқындау және бақылау әдістемесі" ҚР СТ 3074 -2017 ендірілді [9].

Қоғамның қылмыстық және азаматтық-құқықтық жүйелерінде генетикалық сараптаманың кеңінен тартылуына байланысты ауыл шаруашылығы жануарлары үшін неғұрлым алшақ туыстық дәрежелерін белгілеу мәселелері өзекті болып отыр.

Кілт сөздер: Молекулярлық-генетикалық талдау, ДНҚ сәйкестендіру, ауыл шаруашылығы жануарларының даулы туыстығы, Еуразиялық экономикалық одақ, Жануарлар генетикасы бойынша халықаралық қоғам, STR, SNP, ПТР.

S.D. Nurbaev¹, U.K. Bisenov³, K.S. Irzagaliev³, A.U. Utaubaeva⁴, S. Mamyrkhanova^{1*}
¹LLC " Center for Selection of Farm Animals ", Shymkent, Republic of Kazakhstan, sdnurbaev@mail.ru,
sdn_nds@mail.ru*

²Atyrau Dosmukhamedov University, Atyrau, Republic of Kazakhstan, bisenovy@mail.ru,
kosybek@inbox.ru

³M.Utemisov West Kazakhstan University, Oral, Republic of Kazakhstan, wksu.biology@gmail.com

ISSUES OF DETERMINING DISPUTED KINSHIP IN FARM ANIMALS AND THEIR APPLIED SIGNIFICANCE IN THE JUDICIAL SYSTEM

Abstract

The imperfection of the legislative system in determining kinship in farm animals opens loopholes for abuse. This fully concerns technical regulation in the field of forensic molecular genetic examination, where the legal status and fate of specific people ultimately depends on the perfection of the standardization system. Currently, there are only disparate and often inconsistent internal regulations on this issue, such as guidelines, recommendations and instructions, some of which are fairly criticized. In most of the "Methodological guidelines" there are numerous contradictions, inaccuracies, ambiguous instructions that allow opposite interpretations, incomplete explanations, which is unacceptable for management, which is considered as a legal document. These issues can become decisive in court if they agree or disagree with the results of DNA examination. Such shortcomings can significantly affect the quality of forensic genetic examination and lead to the appointment of additional or repeated examination. The requirements established by regulatory documents for standardization should be based on modern achievements of science, technology and technology, international (regional) standards, rules, norms and recommendations for standardization, progressive national standards of other states.

In this regard, it is difficult to overstate the timeliness of the publication of the "International Recommendations for Standards of Paternity Verification," which are prepared by a large team of the Paternity Verification Commission at the International Society for Forensic Genetics. It is noteworthy that the basic principle that guided the Commission was taken as the basis for the international standard ISO 17025:1999 "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories". The peculiarity of ISO standards is that when applying them in specific areas, the introduction of additional "instructions for use" is allowed, unless they in no way change the meaning of any of the paragraphs of the original text.

The requirement for professional training of laboratory personnel seems extremely important.

In Kazakhstan, the National Standard of the Republic of Kazakhstan "Genetic Analysis of the Origin of Animals" has been developed on the basis of and introduced since 2019. Procedure for Identification and Control Determination, ST RK 3074 -2017 [9].

Questions to establish more distant degrees of kinship for farm animals become relevant in connection with the widespread involvement of genetic expertise in the criminal and civil law systems of society.

Keywords: Molecular genetic analysis, DNA identification, disputed relationship of farm animals, Eurasian Economic Union, International Society for Animal Genetics, STR, SNP, PCR .

МРНТИ 68.00.00

DOI <https://doi.org/10.37884/2-2023/03>

[ID](#)К.Махмаден¹, [ID](#)А.Д. Серикбаева², А.Е. Паритова^{3*}, А.Е. Слямова⁴

¹Казахский национальный университет им.Аль-Фараби, Алматы, Республика Казахстан, mahmadenkalima@gmail.com

²Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Республика Казахстан, serikbayeva@yandex.kz

³Казахский агротехнический исследовательский университет им.С.Сейфуллина, Астана, Республика Казахстан, paritova87@mail.ru*

⁴Северо-западный университет сельского хозяйства и лесного хозяйства, Китай, s_ayana_e@mail.ru

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ КОБЫЛЬЕГО МОЛОКА ПУТЕМ ИЗУЧЕНИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

Аннотация

В статье представлены результаты исследования кобыльего молока на свежесть и безопасность с использованием общепринятых органолептических и физико-химических