



РЕЗУЛЬТАТ УСТАНОВЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО РОДСТВА

На основании частного заказа, в ООО «НПФ «ХЕЛИКС» проведено установление биологического родства.

ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

МАТЕРИАЛЫ, ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ НА ИССЛЕДОВАНИЕ

Исследовались биологические образцы, предоставленные следующими лицами:

Ребенок 1

Дата рождения:

Вид биоматериала: буккальный эпителий

Код образца:

Шифр образца: 1

Предполагаемая тетя 1

Дата рождения:

Вид биоматериала: буккальный эпителий

Код образца:

Шифр образца: 2

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – УСТАНОВИТЬ:

1. Исключается или не исключается матрилинейное родство на уровне «тетя-племянница» донора образца с маркировкой «**Предполагаемая тетя 1**» в отношении донора образца с маркировкой «**Ребенок 1**»?
2. Если родство не исключается, то какова вероятность того, что полученный результат не является следствием случайного совпадения индивидуализирующих признаков неродственных лиц?

ИССЛЕДОВАНИЕ

Обзор

В основе молекулярно-генетического метода исследования лежит идентификация аллелей ряда полиморфных локусов, уникально наследуемых ребенком от биологических родителей. Исследованию подвергается дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК), выделенная из биологического материала, полученного от обследуемых лиц. У каждого человека клетки биологического материала (кровь, слюна, кости, кожа, мышцы, зубы, сперма, луковицы волос и др.) содержат абсолютно одинаковую ДНК. Она остается постоянной на протяжении всей жизни, не подвергаясь изменениям. Поэтому результаты молекулярно-генетического исследования не зависят от того, какой именно биологический материал исследуется в конкретном случае.

При проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) происходит высоко специфичная амплификация (увеличение количества копий в миллионы раз) определенных фрагментов ДНК, содержащих аллели исследуемых локусов. Это позволяет провести электрофоретическое разделение амплифицированных фрагментов и идентифицировать аллели полиморфных локусов, соответствующие этим фрагментам ДНК.

Выявленные аллели исследованных локусов обозначаются в соответствии со стандартной международной номенклатурой, что позволяет при необходимости проводить межлабораторные сравнения полученных результатов.

Результаты исследования интерпретируются в соответствии с тем фактом, что в момент зачатия ребенка происходит слияние яйцеклетки матери и сперматозоида биологического отца, содержащих гаплоидные наборы хромосом (по 23 хромосомы). После оплодотворения эти два гаплоидных набора хромосом формируют диплоидный набор хромосом ребенка (23 пары хромосом). Таким образом, половину генетического материала ребенок получает от матери и другую половину от биологического отца. Отсюда следует, что в геноме ребенка могут присутствовать только такие аллели полиморфных локусов, которые обнаруживаются у матери и биологического отца. Сравнение генотипов ребенка и матери позволяет установить, какие именно аллели унаследованы ребенком от биологического отца (определить «отцовский набор аллелей» у ребенка).

Вывод об исключении отцовства делается, если в генотипах ребенка и предполагаемого отца отсутствуют совпадающие аллели даже по отдельным локусам. При наличии совпадающих аллелей по всем исследованным локусам у ребенка и предполагаемого отца делается вывод о возможности получения ребенком наследственного материала от обследуемого: «не исключение» отцовства. Иными словами, в исследовании выносятся на разрешение следующий вопрос: *присутствует ли в геноме предполагаемого отца генетический материал, который был передан ребенку биологическим отцом?*

Результаты исследования логически неопровержимы лишь в случаях исключения отцовства. В случаях же «не исключения», поскольку генотипы по исследованным локусам не являются уникальными для каждого человека (например, у однойцевых близнецов генотипы по всем локусам идентичны), информативность проведенного исследования оценивается средствами теории вероятности и математической статистики на основании данных о встречаемости аллелей в популяции. Любой случай «не исключения» отцовства, независимо от количества исследованных локусов, не является логически неопровержимым: формально всегда существует вероятность *случайного* совпадения аллелей в сравниваемых образцах ДНК.

Близнецовый тест

Это исследование позволяет установить, являются ли близнецы однойцевыми или разнойцевыми. Возможны два варианта результата исследования: (1) участники могут являться однойцевыми близнецами и (2) участники являются разнойцевыми близнецами. Точность анализа при подтверждении однойцевости - 99.9999% и выше, при исключении – 100%. Для анализа необходимы образцы ДНК двух близнецов.

Сиблинговый тест

Это исследование проводится исключительно при невозможности анализа биологического материала предполагаемого родителя ребенка. Тест на основании анализа аутосомных маркеров позволяет определить вероятность того, что два человека имеют одного или обоих общих родителей (т.е. являются полусиблингами или полными сиблингами). Существуют три разновидности сиблингового теста: 1) полносиблиновый тест, при котором априори известно о том, что у участников один общий родитель, и необходимо установить вероятность того, что участники имеют второго общего родителя); 2) полносиблиновый тест, при котором необходимо установить вероятность того, что участники являются полными сиблингами, а не неродственными друг другу людьми; 3) полусиблинговый тест, при котором необходимо установить вероятность того, что у участников один общий родитель. Возможны три варианта интерпретации результата анализа: (1) участники могут являться полными (или полу-) сиблингами, (2) сиблинговое родство маловероятно, (3) неопределенный результат (когда генетические данные не позволяют сделать выводы о возможности того или иного родства).

Величина условной вероятности сиблингового родства рассчитывается на основе индекса родства (отношение правдоподобия сравниваемых гипотез LR). Установлены следующие стандарты интерпретации результатов исследования (Standards for Relationship Testing Laboratories, 13th edition (The AABB Standards Program Committee, 2018)):

Индекс родства <0.1 – родство

маловероятно Индекс родства >10 –

родство вероятно

Индекс родства от 0.1 до 10 – неопределенный результат

Для анализа необходимы образцы ДНК ребенка, его предполагаемого сиблинга, и их беспорных родителей.

Важно! Одновременное исследование дополнительных биологических родственников предполагаемого родителя ребенка существенно повышает точность анализа.

Авункулярный тест

Это исследование проводится исключительно при невозможности анализа биологического материала предполагаемого родителя ребенка. Тест на основании анализа аутосомных маркеров позволяет дать заключение о вероятности родства между ребенком и предполагаемым дядей (предполагаемой тетей). Возможны три варианта интерпретации результата исследования: (1) родство вероятно, (2) родство маловероятно (3)



неопределенный результат (когда генетические данные не позволяют сделать выводы о возможности того или иного родства).

Величина условной вероятности авункулярного родства рассчитывается на основе индекса родства (отношение правдоподобия сравниваемых гипотез LR). Установлены следующие стандарты интерпретации результатов исследования (Standards for Relationship Testing Laboratories, 13th edition (The AABB Standards Program Committee, 2018)):

Индекс родства <0.1 – родство

маловероятно Индекс родства >10 –

родство вероятно

Индекс родства от 0.1 до 10 – неопределенный результат

Для анализа необходимы образцы ДНК двух людей, находящихся в предполагаемом родстве, а также биологического родителя ребенка.

Важно! Одновременное исследование дополнительных биологических родственников предполагаемого родителя ребенка существенно повышает точность анализа.

Дедушка/бабушка – внук/внучка

Это исследование проводится исключительно при невозможности анализа биологического материала предполагаемого родителя ребенка. Тест на основании анализа аутосомных маркеров позволяет дать заключение о наличии родства между ребенком и предполагаемым дедушкой и/или бабушкой. Существует два типа анализов на такой вид родства - (1) внук (внучка) и бабушка (дедушка) и (2) внук (внучка), бабушка и дедушка. Одновременное исследование образцов бабушки и дедушки значительно повышает точность исследования и в определенных случаях позволяет полностью исключить родство (что невозможно в случаях, когда для анализа предоставлен только образец от бабушки или от дедушки). Возможны четыре варианта интерпретации результата исследования: (1) родство вероятно, (2) родство маловероятно (3) неопределенный результат (когда генетические данные не позволяют сделать выводы о возможности того или иного родства) и (4) родство полностью исключено (только для случаев, когда участвуют и бабушка, и дедушка).

Величина условной вероятности родства рассчитывается на основе индекса родства (отношение правдоподобия сравниваемых гипотез LR). Установлены следующие стандарты интерпретации результатов исследования с участием только одного биологического родителя предполагаемого родителя ребенка (Standards for Relationship Testing Laboratories, 13th edition (The AABB Standards Program Committee, 2018)):

Индекс родства <0.1 – родство

маловероятно Индекс родства >10 –

родство вероятно

Индекс родства от 0.1 до 10 – неопределенный результат

Для анализа необходимы образцы ребенка и бабушки (дедушки), или же ребёнка, бабушки и дедушки, а также биологического родителя ребенка.



Исследование Y-хромосомы

Это исследование позволяет определить, состоят ли двое мужчин в близком патрилинейном родстве (полусиблинговом, либо полносиблинговом, родстве на уровне дедушка - внук, либо дядя - племянник). Заключение даётся на основании исследования маркеров Y-хромосомы, которая передаётся исключительно по мужской линии от отца к сыну. При помощи этого исследования можно подтвердить или опровергнуть, являются ли двое мужчин членами одной семьи (при условии того, что у них один предполагаемый мужской прародитель). Также это исследование можно использовать для установления отцовства в отношении мальчиков при отсутствии ДНК отца, когда есть возможность исследовать образцы дедушки по отцовской линии или родного брата отца. Для исследования необходимы образцы ДНК двух мужчин, которые предположительно могут принадлежать одной и той же мужской линии.

Исследование X-хромосомы

Это исследование имеет ограниченное применение, но иногда позволяет установить родственные отношения тогда, когда другие виды исследования дают неопределённый результат. Он особенно информативен в случаях, когда ребёнок девочка (девочки получают X-хромосому от отца), предполагаемый отец не доступен для анализа, но есть биологическая мать предполагаемого отца или предполагаемая сестра ребенка по отцу. В отличие от исследования аутомомных маркеров, анализ X-хромосомы в приведенной выше конфигурации участников позволяет исключить родство. При неисклучении родства рассчитываются индекс и вероятность родства. Для исследования необходимы образцы ребёнка (девочки) и ее родственника женского пола (биологическая мать предполагаемого отца или сестра ребенка по отцу) по отцовской линии. Важно! Одновременное исследование биологической матери ребёнка и (в случае теста на полусиблинговое родство) биологической матери предполагаемой сестры ребенка существенно повышает точность анализа.

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК

Выделение ДНК из образцов биологического материала проводили реагентом «ДНК - экспресс» (НПФ «Литех», Россия).

Для мониторинга возможной контаминации при выделении ДНК использовался отрицательный контроль выделения (КВ).

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

Анализ последовательности фрагментов HV1 и HVII контрольного региона митохондриальной ДНК человека проводили с использованием набора реагентов для анализа последовательности митохондриальной ДНК человека MitoPlex (ООО «ГОРДИЗ», Россия). ПЦР- продукты анализировали методом Сэнгера с использованием автоматизированной системы капиллярного электрофореза 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Полученные данные анализировали с использованием программного обеспечения MitoPlex. В качестве референтной последовательности мтДНК использовалась

Revised Cambridge Reference Sequence (rCRS). Наименование различий в позициях 309 (302) и 315 (310) указано в соответствии с международной номенклатурой (Parson W. (2014), «DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: revised and extended guidelines for mitochondrial DNA typing», FSIG 13, 134- 142). Для вероятностно-статистической обработки результатов использовали международную базу данных EMPOP (<http://empop.online/>).

РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Номер объекта: 1

Проанализированные последовательности

	Исследованная область	Гаплотип
HVI	16015 - 16390	CRS
HVII	51 - 382	146C 263G 315.1C

Номер объекта: 2

Проанализированные последовательности

	Исследованная область	Гаплотип
HVI	16015 - 16390	CRS
HVII	51 - 382	146C 263G 315.1C

По результатам проведенного исследования полиморфизма мтДНК близкое матрилинейное родство Ребенка 1 и Предполагаемой тети 1 не может быть исключено. Индекс родства равняется 320.65 и указывает на то, что полученные генетические данные в 320.65 раза более вероятны, если Ребенок 1 и Предполагаемая тетья 1 являются матрилинейными родственниками, а не случайно взятыми людьми. Считая априорную вероятность родства равной 50%, вероятность родства в настоящем случае составляет 99.6891%.

Выводы:

1. Матрилинейное родство на уровне «тетя-племянница» донора образца с маркировкой **«Предполагаемая тетья 1»** в отношении донора образца с маркировкой **«Ребенок 1»**, в рамках проведенного исследования, не исключается.
2. Вероятность того, что полученный результат не является следствием случайного совпадения индивидуализирующих признаков неродственных лиц, составляет 99.6891%.