

АЗИЙН ШҮҮХИЙН ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ХОЛБООНЫ ГИШҮҮН ОРНУУДЫН ДНХ-ИЙН ЛАБОРАТОРИ ХООРОНДЫН УР ЧАДВАРЫН СОРИЛТОД ОРОЛЦСОН ДҮН

RESULT OF FIRST DNA COLLABORATIVE EXERCISE OF ASIAN FORENSIC SCIENCES NETWORK

Б.ГАНТУЯА, Б.ТЭНҮҮН, Ш.ПҮРЭВДУЛАМ, С.ГАНБОЛД (Ph.D)

Шүүхийн шинжилгээний үндэсний хүрээлэн

GANTUYA B., TENUUN B., PUREVDULAM SH., GANBOLD S. (Ph.D)

National Institute of Forensic Science

Товч агуулга: Сингапур улсын Эрүүл мэндийн шинжлэх ухааны газрын “DNA profiling Laboratory”-иос зохион байгуулсан Азийн шүүхийн шинжилгээний холбооны гишүүн лабораториудын анхдугаар ур чадварын сорилтод ШШҮХ-ийн ДНХ-ийн лаборатори оролцов.

Ур чадварын сорилтод нийт 10 ДНХ лаборатори оролцсон бөгөөд зохион байгуулагчаас Шүүхийн шинжилгээний үндэсний хүрээлэнгийн ДНХ-ийн лабораторид A1, A2, A3, A4 гэж дугаарласан 4 ширхэг сорьц ирүүлсэн болно.

Бид 4 сорьцноос “QIAamp DNA Micro kit” хэрэглэн геномын ДНХ-ийг ялгаж, TE буферын уусмалд уусгав. Сорциос ялгасан ДНХ-г зохион байгуулагч руу явуулахад ДНХ-ийн шинжилгээний үр дүнг гарган авах шаардлага хангасан агууламжтай ДНХ ялгарсан байна гэсэн үр дүн гарлаа.

Abstract: DNA lab National Institute of Forensic Science participated first Asian Forensic Sciences Network Inter-Laboratory Collaborative Exercise, organized by the DNA Profiling Laboratory, Health Sciences Authority Singapore, was to determine and compare the efficiencies of the DNA extraction methods.

A total of 10 laboratories of the Asian Forensic Sciences Network member institutes had participated during the exercises. DNA laboratory of National Institute of Forensic Science received 4 DNA samples which numbered A1, A2, A3 and A4 from Organizer.

We obtained genomic DNA from 4 samples dissolved to TE buffer by “QIAamp DNA Micro kit” Result had risen that rich the requirement of extracted DNA when we sent to the organizer.

ОРШИЛ

Азийн шүүхийн шинжилгээний холбоо нь гишүүн орнуудынхаа хамтын ажиллагаа өргөжүүлэх, лабораторын ур чадварын түвшинг тогтоох, харилцан мэдээлэл солилцох, дотоодын болон олон улсын түвшинд магадлан итгэмжлэлийн шалгуур үзүүлэлтийг хангах зорилгоор энэ үйл ажиллагааг анх удаа зохион байгуулсан юм.

Энэхүү үйл ажиллагаанд Азийн улс орнуудын 10 лаборатори оролцов.

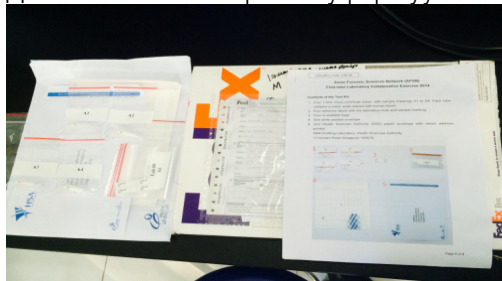
Үүнд: Тайландын Шүүх эмнэлгийн төв институт (Central Institute of Forensic Science, Thailand), Индонезийн Анагаахын болон эрүүл мэндийн үйлчилгээний төв (Centre of Medicine and Health Services, Indonesia), Малайзын Химийн хэлтэс (Department of Chemistry), Индонезийн Эйджкманы молекул биологийн институт (Eijkman Institute for Molecular Biology, Indonesia), Тайландын Mahidol-ын их сургуулийн анагаах ухааны факультет (Faculty of Medicine, Mahi-

dol University, Thailand), Индонезийн Үндэсний цагдаагийн төвийн шүүхийн шинжилгээний лаборатори (Forensic Laboratory Centre of Indonesia National Police, Indonesia), Тайландын Эзэн хааны цагдаагийн нэгдсэн эмнэлгийн дэргэдэх шүүх эмнэлгийн институт (Institute of Forensic Medicine, Police General Hospital, Royal Thai Police, Thailand), Монголын Шүүхийн шинжилгээний үндэсний хүрээлэн (National Institute of Forensic Science, Mongolia), Филиппиний их сургуулийн байгалийн шинжлэлийн эрдэм шинжилгээний институт (Natural Sciences Research Institute, University of the Philippines, Philippines), БНСУ-ын Ерөнхий прокурорын газар (Supreme Prosecutor's Office, South Korea)-ын зэрэг 10 лабораторид LAB01-10 хүртэл дугаарласнаас манай ДНХ-ийн лабораторид **LAB09** гэж дугаарласан байна.

Судалгааны материал, арга зүй:

Зохион байгуулагч лабораториос A1, A2, A3, A4 гэж дугаарласан үл мэдэгдэх сорьцыг бэлтгэн лабораториудад илгээснийг бид судалгааны материал болгон ашиглав.

Бид Qiagen фирмийн "QIAamp DNA Micro kit" хэрэглэн A1, A2, A3, A4 сорьцоос ДНХ-ийг ялгаж 50 µl TE буферт уусгав.



Зураг 1. Сингапур улсын Эрүүл мэндийн шинжлэх ухааны газрын "DNA profiling Laboratory" буюу зохион байгуулагчаас ирүүлсэн 4 ширхэг сорьцыг үзүүлэв. Сорилтод ирүүлсэн A1, A2, A3, A4 сорьцоос "QIAamp DNA Micro kit" хэрэглэн геномын ДНХ-ийг ялган авсан.

Судалгааны үр дүн

Зохион байгуулагчаас ирүүлсэн сорьцоос /A1, A2, A3, A4/ ШШҮХ-ийн лабораторид ялган авсан ДНХ-ийг битүүмжлэн зохих журмын дагуу буцаан хүргүүлсэн юм. Бид энэхүү судалгаанд өөрийн лабораторид ялгасан ДНХ-ийн агууламжийг ур чадварын сорилтод оролцож байгаа азийн бусад орны лабораторид хийсэн шинжилгээний үр дүнтэй харьцуулан гаргаж бидэнд ирүүлсэн тайланд дүн шинжилгээ хийснээ толилуулж байна.

Зохион байгуулагч лаборатори "X" эмэгтэйгээс авсан цусыг ижил тэнцүү хэмжээтэйгээр шингэрүүлж A1, A2, "Y" эрэгтэйгээс авсан цусыг ижил хэмжээтэйгээр шингэрүүлж A3, A4 гэж дугаарлан оролцогч лабораториудад илгээсэн ба дээрх лабораториудын сорьцоос ялган авсан ДНХ-ийн гарцыг зураг, хүснэгтээр үзүүлэв /Зураг 3, хүснэгт 1/.

Ур чадварын сорилтод оролцсон лабораториудын ДНХ ялган авсан үр дүнгээс харахад LAB06 нь ДНХ-ийг хамгийн өндөр гарцтай ялгасан бол LAB07 ДНХ-ийг хамгийн бага гарцтай ялгасан байна.

Ялган авсан ДНХ-ийг Полимеразийн гинжин урвалаар олшруулж тухайн сорьц дахь ДНХ-ийн тогтоц буюу шинжилгээний үр дүнг гарган авахад хамгийн багадаа 0,5-1,0 нг ДНХ шаардлагатай байдаг. Манай лабораторид ялгасан ДНХ-ийн гарц 3,0-7,33 нанограмм байгаа нь дундаж гарцтай ялгагдсан нь харагдаж байна /хүснэгт 1/.

Хүснэгт 1.

Оролцогч лабораториудаас ирүүлсэн



МОНГОЛЫН
ШҮҮХИЙН
ШИНЖЛЭЭНИЙ
ЛАБОРАТОРИ

ДНХ-ийн концентраци болон тоон үзүүлэлтийг үзүүлэв.

LAB	A1			A2			A3			A4		
	Average Concentration (ng/μL)	Volume (μL)	Yield (ng)	Average Concentration (ng/μL)	Volume (μL)	Yield (ng)	Average Concentration (ng/μL)	Volume (μL)	Yield (ng)	Average Concentration (ng/μL)	Volume (μL)	Yield (ng)
LAB01	0.2361	41.9	9.89	0.2083	45.7	9.52	0.1396	46.7	6.52	0.1229	49.3	6.06
LAB02	0.1290	48.1	6.20	0.1609	47.8	7.69	0.1501	46.0	6.91	0.1364	44.9	6.12
LAB03	0.0233	46.0	1.07	0.0152	44.4	0.67	0.0095	46.7	0.44	0.0009	33.3	0.03
LAB04	0.1356	38.6	5.24	0.1491	42.9	6.40	0.1408	41.7	5.87	0.1114	41.7	4.64
LAB05	0.0943	46.5	4.39	0.2481	46.0	11.41	0.1737	47.1	8.18	0.1802	48.8	8.79
LAB06	0.2102	43.5	9.14	0.3427	42.6	14.60	0.2957	42.9	12.69	0.2390	42.1	10.06
LAB07	0.0219	34.6	0.76	0.0393	12.4	0.49	0.0124	18.7	0.23	0.0068	37.6	0.26
LAB08	0.0976	51.3	5.01	0.1877	48.9	9.18	0.1047	48.1	5.04	0.1280	46.7	5.98
LAB09	0.1174	38.2	4.49	0.0929	32.3	3.00	0.0877	38.3	3.36	0.2282	32.1	7.33
LAB10	0.1637	45.3	7.41	0.1759	44.8	7.88	0.1829	44.0	8.05	0.2920	44.5	12.99

LAB09 буюу манай лабораторийн A1, A2, A3, A4 сорьцоос ялгасан ДНХ-ийн үр дүнг шар өнгийн хүснэгтэд үзүүлэв.

Лабораториудад ялгасан ДНХ-ийн гарцыг харьцуулж үзэхэд сорьцыг зохион байгуулагч лабораториос лабораториудад хүргүүлэхээр тээвэрлэх хугацаанд цусны дээж задралд орох, ялгасан ДНХ нь зориулалтын бус нөхцөлд тээвэрлэгдсэн зэрэг нь нөлөөлсөн болох нь ажиглагдаж байна.

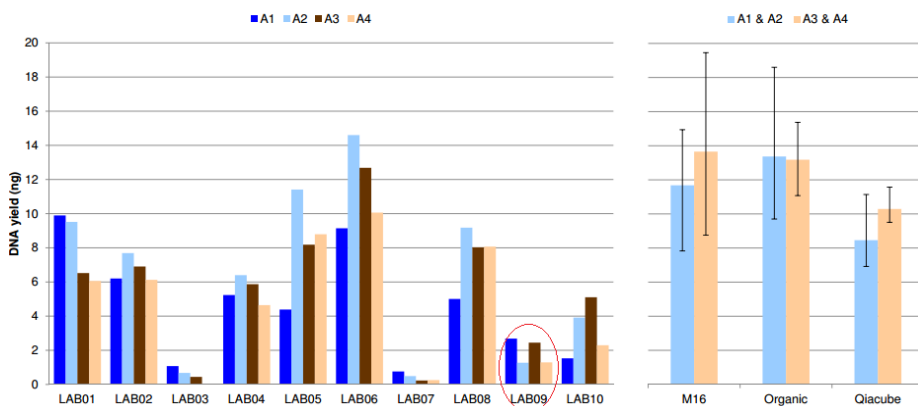
Тухайлбал бүх лабораториудаас ирсэн дээжний эзлэхүүн 50 мкл байх ёстойгоос ууршилтаас болж багассан ба LAB07-ийн сорьцын хувьд 12.4 - 37.6 мкл хүртэл ууршиж алдагдсан байна.

A1, A2 болон A3, A4 сорьцыг анх ижил хэмжээтэйгээр бэлтгэсэн учир онолын хувьд ДНХ-ийн гарц ойролцоо гарах байсан ч тэр зүй тогтол зохион байгуулагч болон сорилтод оролцсон бүх лабораториудад ажиглагдсангүй /Зураг 3/.

Зохион байгуулагч лабораторид Maxwell-16 робот машинаар A1, A2 сорьцоос ялгасан ДНХ-ийн гарц 7-14 нг-ийн хооронд хэлбэлзэж байгаа нь LAB01-д ялган авсан ДНХ-ийн гарцтай хамгийн ойролцоо үр дүн гарсан нь ажиглагдав.

Лабораториуд сорьцоос ДНХ ялгахдаа соронзон нунтаг бүхий уусмал, тусгай

DNA yield



Method	Manual	Automated	Manual	Manual	Manual	Automated	Automated	Automated	Manual	Manual
Platform	-	Automate Express	-	-	-	Maxwell 16	Tecan 150 Evo Freedom	EZ1 Advanced XL	-	-
Technology	Spin Columns	Para magnetic Particles	Para magnetic Particles	Spin Columns	Spin Columns	Para magnetic Particles	Para magnetic Particles	Para magnetic Particles	Spin Columns	-
Kit	QIAamp DNA Micro	PrepLifter Express Forensic DNA Extraction	DNA IQ System	QIAamp DNA Micro	QIAamp DNA Investigator	Casework Pro	DNA IQ System	EZ1 DNA Investigator	QIAamp DNA Micro	Chelex

Automated	Manual	Automated
Maxwell 16	-	Qiacube
Paramagnetic Particles	-	Spin Columns
Casework Pro	Organic	QIAamp DNA Investigator

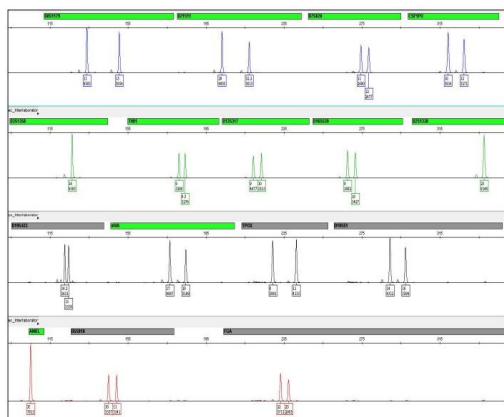
шүүр бүхий колонк хэрэглэснээр ДНХ-ийн гарцад нөлөөлөх мэдэгдэхүйц ялгаа гараагүй нь ажиглагдав. Зохион байгуулагч лабораторид ч энэ үр дүн ажиглагдсан байна.

Зураг 3. ДНХ-ийн гарцын хэмжээг босоо график дээр харуулав. Доод хүснэгтэд лаборатори бүрийн ДНХ ялгасан арга /Method/, ДНХ ялгахад ашигладаг робот машин /Platform/, хэрэглэсэн техник хэрэгслэл /Technology/, иж бүрдэл /Kit/-ийн нэрийг үзүүлэв.

A1 и A2, A3, A4 сорьцоос ялгасан ДНХ-ийн уусмалын агууламжийг тодорхойлсны дараа "Applied Biosystems Identifiler Plus STR" цомог хэрэглэн полимеразийн гинжин урвал явуулав.

ПГУ-аар олшруулсан бүтээгдэхүүнээс 3 мкл авч ABI 3500XL Genetic Analyser-д 1.2kV, 24 секундын горимоор капилляр электрофорез явуулж гарсан үр дүнг GeneMapper® ID-X Software, Version 1.2 программаар уншуулж аутом хромосомын 15 локусын аллель болон хүйсийг тодорхойлов.

ДНХ-ийн шинжилгээний үр дүнгээс харахад A1 и A2 сорьц нь D8S1179 локус 11 болон 15, D21S11 локус 29 болон 32,2, D7S820 локус 11 болон 12, CSF1PO локус 10 болон 12, D3S1358 локус 16, TH01 локус 9 болон 9,3, D13S317 локус 9 болон 10, D16S539 локус 9 болон 10, D2S1338 локус 23, D19S433 локус 14,2 болон 15, vWA локус 17 болон 19, TPOX локус 8 болон 11, D18S51 локус 14 болон

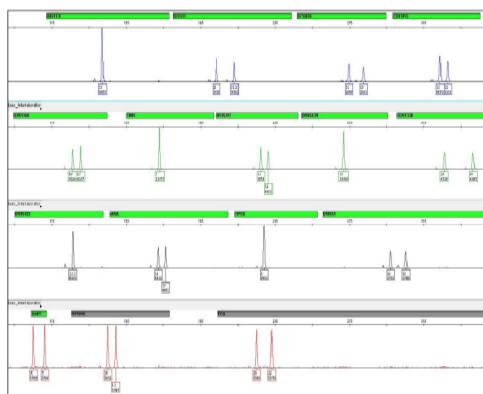


16, D5S818 локус 10 болон 11, FGA локус 22 болон 23, XX генотиптэй нэг эмэгтэй хүний сорьц байна/Зураг 4/.

LAB09 буюу манай лабораторид ялгасан сорьцын ДНХ-ийн тогтоц нь зохион байгуулагч лабораторид хийгдсэн сорьцын ДНХ-ийн тогтоцтой ижил буюу нэг хүний дээжүүд байна.

Зураг 4. A1, A2 сорьцын генотип.

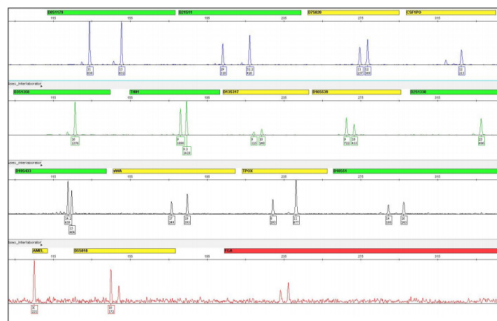
A3, A4 сорьц нь D8S1179 локус 13, D21S11 локус 29 болон 31,2, D7S820 локус 11 болон 13, CSF1PO локус 11 болон 12, D3S1358 локус 16 болон 17, TH01 локус 7, D13S317 локус 11 болон 12, D16S539 локус 10, D2S1338 локус 20 болон 24, D19S433 локус 15,2, vWA локус 16 болон



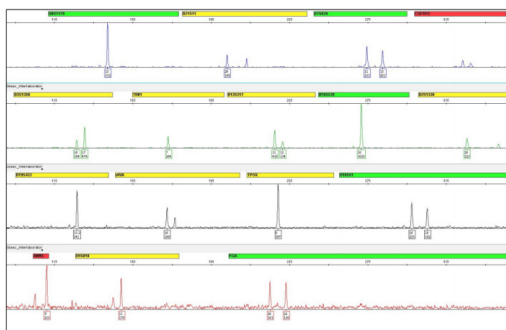
17, TPOX локус 8, D18S51 локус 16 болон 18, D5S818 локус 10 болон 11, FGA локус 20 болон 22, XY генотиптэй нэг эрэгтэй хүнийх болохыг тогтоов/Зураг5/.

Зураг 5. A3, A4 сорьцын генотип.

Лабораториудад ялгасан ДНХ-ийн чанарт үнэлгээ хийж үзэхэд LAB03-д ялгасан A3 сорьцийн зарим локусын (D21S11, CSF1PO, D2S1338, vWA,



МОНГОЛЫН
ХҮҮЛЬ САХИУЛАХ
УРЛАГЧ
ЛАБОРАТОРИ



D5S818, XY) аллель бүрэн гараагүй, LAB07-д ялгасан A1 сорьцын зарим локусын (CSF1PO, D5S818, FGA) аллель тодорхойлогдохгүй байгаа нь ажиглагдав /зураг 6/.

Зураг 6. LAB03 болон LAB07 лабораториудад ялгасан ДНХ-ийн үр дүн LAB03-д ялгасан A4 ба LAB07-д ялгасан A3, A4 сорьцид ДНХ-ийн шинжилгээний үр дүнг гарган авах боломжгүй байв.

Дээр дурдсанаас бусад тохиодолд ур чадварын сорилтод оролцсон лабораториудад ялгасан ДНХ-ийн чанар сайн, зохион байгуулагч лабораторид хийгдсэн ДНХ-ийн шинжилгээний үр дүнтэй тохирч байгаа үр дүн гарлаа.

Хэлцэмж.

ДНХ-ийн шинжилгээний хамгийн чухал үе шат бол шинжилгээнд ирсэн биологийн гаралтай объектоос агууламж өндөртэй, цэвэршилт сайтай ДНХ ялган авах явдал байдаг. Тэр ч утгаараа ур чадварын энэхүү сорилт тухайн лабораторын түвшинг үнэлэх чухал үзүүлэлт болж өгдөг.

Сорилтод оролцсон лабораториуд сорьцоос геномын ДНХ-ийг 3 янзын арга хэрэглэн ялгасан байна. Үүнд

1.Promega корпорацид үйлдвэрлсэн "Maxwell 16" робот машин ашиглан "Case-work Extraction kit" ба "Casework Pro kit" хэрэглэн ДНХ ялгах

2.Уламжлалт органик гар арга (Протеиназа К, Лаурат сульфатын давс / $C_{12}H_{25}NaO_4S$ / SDS, фенол-хлороформ, этилийн спиртээр тундасжуулах, тусгай зориулалтын гелин шүүлтүүр бүхий колонк)-аар

3.Qiagen корпорацид үйлдвэрлсэн "Qiacube" робот машин ашиглан "QIAamp DNA Investigation" иж бүрдэл хэрэглэн ДНХ ялгасан байна.

Лабораториуд ДНХ ялгахдаа дэлхийн шинжлэх ухаан технологи өндөр хөгжсөн улс оронд үйлдвэрлэгдсэн олон янзын робот машин ашиглан, ДНХ ялгахад зориулж үйлдвэрлэсэн өндөр цэвэршилттэй, мэдрэг иж бүрдэл, бусад хэрэглэгдэхүүн хэрэглэн үйл ажиллагаагаа явуулж ихээхэн амжилтад хүрч байгаагаа дурдсан байна /Хүснэгт 2, 3/.

Хүснэгт 2

Зохион байгуулагч болон оролцогч лабораториудад хэрэглэгдэж байгаа ДНХ ялгах иж бүрдэл, хэрэглэгдэхүүнүүд.

KIT	No of Lab
Chelex	5
Organic	5
Qiagen QIAamp DNA Micro	5
Promega DNA IQ System	4
Qiagen QIAamp DNA Investigator	4
Qiagen QIAamp DNA Mini	3
Promega Casework Pro	2
Qiagen EZ1 DNA investigator	2
ABI Prepfilier BTA forensic DNA Extraction	2



МОНГОЛЫН
ХҮҮЛЬ САХИУЛАХ
УРЛАГЧИЙН
ТӨВӨН
ХАМГААГАХ
ИДЭВХ

ABI Prepfilers Express Forensic DNA extraction	2
ABI Prepfilers Forensic DNA Extraction	2
Qiagen QIAamp DNA Blood Extraction	2
Promega Differex System	1
E-Prep	1
GeneAll DNA	1
Qiagen QIAamp DNA FFPE Tissue	1
Salting Out	1

Хүснэгт 3

Зохион байгуулагч оролцогч лабораториудад хэрэглэгдэж байгаа ДНХ-ийн робот машинууд

Platform	No of Lab
Promega Maxwell 16	3
ABI Automate Express	2
Qiagen EZ1 Advanced XL	2
Qiagen Qiacube	2
Tecan 150 Evo Freedom	1
Tecan HID EVOLution	1

ДҮГНЭЛТ

1.ШШҮХ-ийн ДНХ-ийн лаборатори нь Азийн шүүхийн шинжилгээний холбооны гишүүн орнуудын лаборатори хоорондын ур чадварын сорилтод анх удаа оролцсон нь өөрийн лабораторийн түвшинг тогтоох, Стандарт хэмжил зүйн газрын үндэсний магадлан итгэмжлэлд хамрагдахад ихээхэн түлхэц өгсөн ажил боллоо.

2.Манай лабораторид ялган авсан 4 сорьцын ДНХ-ийг цаашид ПГУ-аар олшруулан тухайн сорьцын ДНХ-ийн шинжилгээний үр дүнг гарган авахад бүрэн боломжтой байна.

3.2015 оны 9-р сард зохион байгуулагдах 2 дахь шатны ур чадварын сорилтод оролцох сонирхолтой байгаагаа уламжлах нь зүйтэй.

ЭХ СУРВАЛЖИЙН ЖАГСААЛТ

- 1.The Asian Forensic Sciences Network Newsletter, Issue 6, 2014, Face page.
- 2.1st Asian Forensic Sciences Network Inter-Laboratory Collaborative Exercise Summary Report
- 3.QIAamp DNA Micro Handbook.

Уншиж танилцан нийтлэхийг зөвшөөрсөн, Сэтгүүлийн зөвлөлийн гишүүн, хууль зүйн доктор, цагдаагийн хурандаа Т.Бямбаа